

PRAKTISK KURS I HEMATOLOGI

Modul 1

**Kursansvarlig:
Professor Karin Toska
Overlege, spesialist medisinsk biokjemi**

Praktiske opplysninger om kurset og kursheftet.

NB: Du må ha lest gjennom kursheftet før du møter på kurset.

Detaljert timeplan for kursdagene finner du på Mine studier. Der er det også linker til egne instruksjons-sider og annet materiell.

Det er tre kursdager for hver student. Dag 1 og dag 2 arbeider dere på kurssalen i grupper på 4 studenter. Dag 3 er digital med gruppearbeid; dere deles inn i grupper basert på LSB grupper. Kursdag 1 og 2 må du få underskrift i din egen fremmøtebok. Digitalt kurs dag 3 registrerer vi alle som er pålogget: Skriv navnet ditt når du logger deg på. Vi tar flere stikkprøver underveis i kurset for å se at du fortsatt er pålogget og deltar i gruppearbeidet.

På kurssalen legger vi fram korte beskrivelser av de aktivitetene du skal gå gjennom og et flytskjema for arbeidet den aktuelle dagen.

Dag 1 På kurssal. 4 timer.

Mål: Trene på bruk av utstyr og teknikk for venepunksjon og kapillærpunksjon. Analyse av erytrocytter (røde blodceller).

Praktisk gjennomføring: Dere arbeider i grupper på 4

- Utføre minst en venepunksjon på prøvearm under supervisjon.
- Utføre kapillærpunksjon på medstudent: alle skal ta blod som skal brukes for å:
- Måle hemoglobin (Hb) og EVF (=hematokrit)
- Beregne konsentrasjon av erytrocytter ut fra oppgitt talletall for erytrocytter og beregne MCV
- Bruke blod som er satt fram: farge, lage blodutstryk og telle retikulocytter i mikroskop

Innlevering: Bruk utdelt papirskjema som kladd: Til slutt legger hver enkelt svarene inn i eget nettskjema. Husk å få underskrift for frammøte i din egen bok.

Dag 2 På kurssal. 4,5 timer.

Mål: Venepunksjon av medstudent. Analyse av leukocytter (hvite blodceller). Påvise fysiologisk leukocytose og endring i koagulasjon av blod (APTT) etter 5 min sykling med høy intensitet.

Praktisk gjennomføring: Dere arbeider i grupper på 4.

- En student på hver gruppe sykler 5 minutter med høy intensitet.
- Før og rett etter sykling: Venepunksjon (Ta ett citratrør og ett EDTA rør). Telle puls.
- EDTA rør: Måle hemoglobin (Hb). Før og etter sykling.
- EDTA rør: Lage og mikroskopere blodutstryk (kun fra blod fra før sykling).
- EDTA rør: Leverer begge rør, fra før og etter sykling, til maskinell telling av leukocytter med differensialtelling.
- Citratrør: Måle APTT før og etter sykling.

Innlevering: Ett papirskjema per gruppe. Skriv navn på alle i gruppen på skjema. Skjema leveres ved avslutning av kursdag 2. Husk å få underskrift for frammøte i din egen bok.

Dag 3 Digitalt kurs. 4,5 timer

Kasuistikker som løses i grupper (breakout-rooms). Ingen innlevering.

Læringsmål for kurset

-Kunne forklare fremgangsmåten for kapillær og venøs blodprøvetaking

-Kunne gjøre rede for enkle hematologiske undersøkelser, med vanlige feilkilder og krav til nøyaktig utførelse

Ferdigheter

-Utføre kapillær og venøs blodprøvetaking med adekvate tiltak for beskyttelse mot blodsmitte

-Lage et blodutstryk for undersøkelse i mikroskop

-Utføre og tolke noen enkle laboratorieprøver med relasjon til hematopoiese og hemostase

Hvorfor skal vi lære dette?

Undersøkelser av pasienter innebærer ofte at det blir tatt og analysert blodprøver. Disse tas vanligvis fra en vene i albuen: venøs blodprøve, eller fra et stikk i fingeren: kapillær prøve. Prøvene kan analyseres på legekontoret eller sendes til et laboratorium. Det er viktig at disse prøvene tas på riktig måte, i riktig prøverør og at prøvene behandles riktig før analyse. For å tolke prøvesvarene er det nødvendig å kjenne til feilkilder som oppstår ved forberedelse av pasient, teknikk ved prøvetaking og bruk av riktig prøvebeholder.

Analysen: måleprinsipp og utførelse av analysene gir forståelse for fysiologiske prosesser og hvordan vi kan få innsikt i pasientens helsetilstand.

Laboratoriearbeid: Forebygging av blodsmitte

I løpet av kurset vil dere komme i kontakt med *blod*, som kan inneholde smittestoffer:

Hepatittvirus (Hepatitt B og hepatitt C; virus som kan gi leverbetennelse)

HIV (Hiv er et virus som medfører svekkelse av immunforsvaret slik at kroppen er mer mottakelig for infeksjoner og sykdom. Aids er diagnosen som brukes ved langt kommet hivinfeksjon med komplikasjoner).

Blod skal alltid behandles som om det er smittefarlig.

Benkepapiret er definert som «urent område».

Blod og utstyr som kommer i kontakt med blod skal håndteres på benkepapiret.

Legg ikke ting som skal tas med ut fra kurssalen på benkepapiret, som kurshefte, veiledninger etc.

Ikke spis eller drikk på kurssalen.

Arbeid rolig og konsentrert når du håndterer kanyler, blod, spisse gjenstander, glassutstyr etc.

Bruk laboratoriefrakk. (Blod på klær fjernes best med kaldt vann).

Vask huden med 70 % etanol før dere stikker.

Bruk hansker. Unngå blodsøl.

Unngå stikkskader. De kanylene vi setter i kanyleholderen er spiss i begge ender!

Sprøytespisser, glass- og alt stikkende eller blodig avfall kastes straks i **gule avfallskontainere**.

Hansker: Vær oppmerksom på at hanskene kan bli forurenset under bruk. Bytt derfor hansker ofte, og bytt straks hvis du søler blod på hanskene. Vær spesielt observant hvis du har sår på fingrene. Gjenstander som telefoner, dørhåndtak og annet utstyr skal ikke berøres med hanskene.

Hygienisk **håndvask** er et av de viktigste smitteforebyggende tiltak ved laboratoriearbeid.

Hansker kan være utette og håndvask er derfor viktig selv om man har brukt hansker.

Foreta derfor alltid håndvask/eller bruk håndsprit etter avsluttet prosedyre, også når du har brukt hansker.

Ved søl på benk eller sentrifuger: Fukt området med 5 % kloramin 1 time og vask med 70 % sprit.

Rutiner dersom noen stikker seg på kanyler eller annet med blodinnhold:

UiO stikkskade [stikkskadekonvolutt.pdf \(uio.no\)](https://www.uio.no/stikkskadekonvolutt.pdf)

4.1 Strakstiltak/førstehjelp etter stikkskade

	1	2	3
Stikkskade med spontan blødning	La det blø til det stopper spontant	Skyll med rikelig vann i 10 min.	Desinfiser med Klorhexidinsprit 5 mg/ml
Stikkskade uten spontan blødning	Ikke provoser fram blødning ved å klemme	Skyll med rikelig vann i 10 min.	Desinfiser med Klorhexidinsprit 5 mg/ml
Blodsprut på øyne eller slimhinner		Skyll med rikelig vann i 10 min.	
Blodsøl i sår		Skyll med rikelig vann i 10 min	Desinfiser med Klorhexidinsprit 5 mg/ml

Venepunksjon

For at dere skal lykkes med venepunksjon, må dere kjenne alt utstyret dere skal bruke. Dere må derfor øve og teste bruken av utstyret *før dere utfører venepunksjon*.

Dag 1: Dere skal først gjøre dere kjent med utstyret på egen plass. Det er lagt ut veiledning som dere skal følge. Deretter skal dere utføre minst en venepunksjon på prøvearm under veiledning og få denne godkjent.

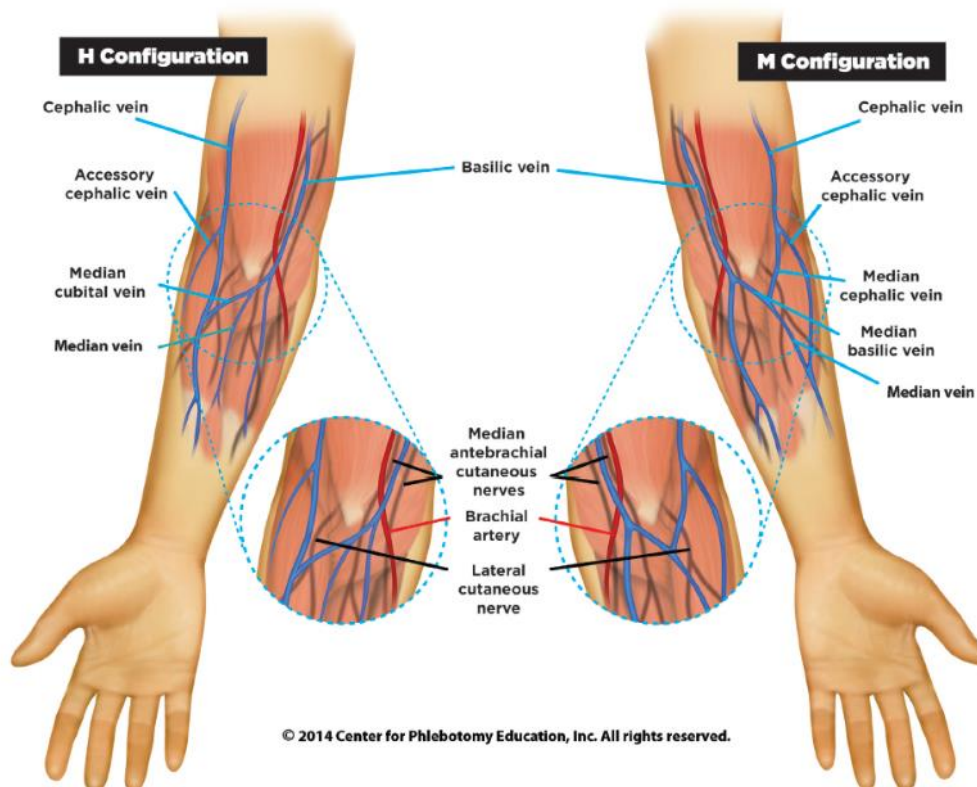
Dag 2: Dere skal utføre venepunksjon på hverandre. Venepunksjon skal da utføres ved en av stasjonene som er satt opp for dette, under observasjon av en av kurslederne.

En venepunksjon av en pasient skal gjennomføres etter en helt standardisert prosedyre. Se gjennom en instruksjonsvideo som brukes i utdanning av bioingeniører.

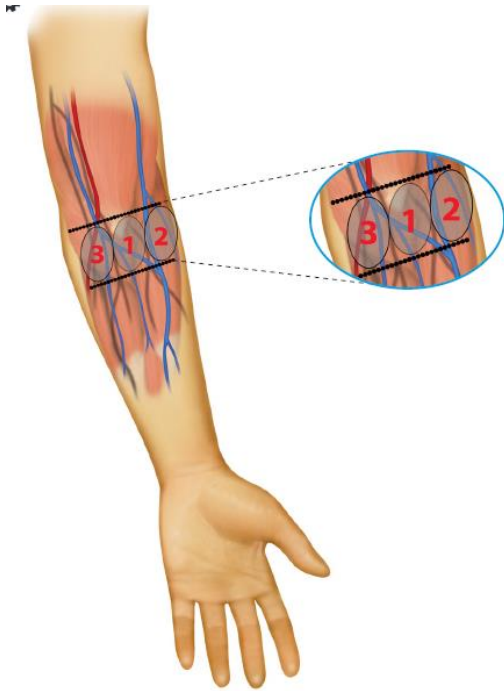
<https://www.youtube.com/watch?v=L0clErLHxYw&t=94s>

Det er individuelle forskjeller på anatomisk plassering av venene. For å finne en vene for venepunksjon må du gjøre en *veneprioritering på pasienten* og **planlegge hvor og hvordan** du skal stikke kanylen slik at den kommer inn i venen.

Vanligste varianter i veneanatomi :



Hvordan velge punksjonssted = veneprioritering. Vanligvis velger man i prioritert rekkefølge:



For å undersøke hvilken vene som er best å bruke, setter du på et stasebånd og kjenner på venene i albuebøyen med pekefingeren. Stasebåndet stopper blodstrøm oppover i venen (tilbake til hjertet), slik at venene i armen nedenfor blir utspilt og dermed lettere å kjenne og bedre å stikke i.

Kjenn at venen lar seg trykke sammen. Bruk fingeren og synet og lag deg et tredimensjonalt bilde av **hvor, under hudoverflaten, venen ligger og hvilken vei den går**. Bestem deg for hvor du vil stikke inn kanylen og i hvilken retning du vil føre den, slik at kanylespissen kommer inn i venen. Tenk deg at du fører kanylespissen inn i et tynt rør som ligger under hudoverflaten.

Du må holde kanyleholderen (vakutainerholderen) slik at du har et stødig grep og slik at du ikke stenger for åpningen der du skal føre inn prøverørene når du har kommet inn i venen.

DET ER BARE EN GOD MÅTE Å HOLDE KANYLEHOLDEREN.
TREN PÅ DETTE GREPET. Pekefinger og langfinger under, tommelen oppå.



To fingre stødig mot underlaget og tommelen over vakutainerholderen, gir et godt grep.

Før du gjør din første venepunksjon må du øve på å sette prøverør inn i kanyleholderen når kanylen er plassert i venen. Det gjelder å holde kanylen som ligger inne i venen helt i ro mens du fyller de nødvendige prøverørene. Dere skal bruke rør, kanyle, kanyleholder og øve dere på dette **før dere går til prøvearmen.**

Sette røret inn i kanyleholderen:



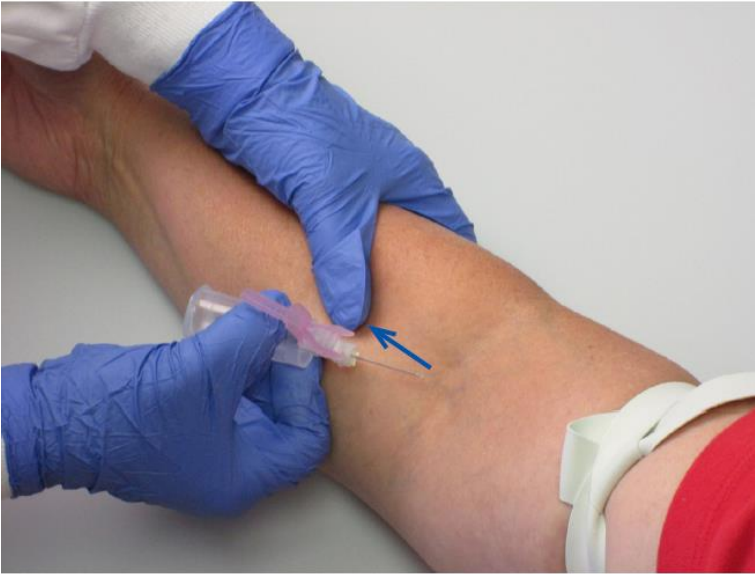
Hold pekefinger og langfinger bak de to vingene nederst på kanyleholderen. Trykk tommelfingeren mot bunnen av røret og press imot med fingrene, slik at du trykker røret inn i kanyleholderen. Den spisse enden av kanylen inni kanyleholderen vil perforere korken i røret. Da kan blodet strømme fra hullet i kanylen som ligger inni venen og gjennom hullet som nå er inni røret. I røret er det undertrykk, slik at blodet suges inn i prøverøret og det fyller seg.

Trekke røret ut av kanyleholderen:



Når du skal trekke ut røret som er fylt, holder du mot enden av kanyleholderen når du trekker ut, slik at kanylespissen som fortsatt ligger inni venen ikke rører på seg.

Sånn holder du hendene og pasientens arm når du skal stikke inn kanylen.



Venstre hånd griper om underarmen. Venstre tommel strekker huden nedenfor venen slik at venen ikke ruller bort når du stikker i den.

Høyre hånd: Du holder kanyleholder med tommel på oversiden og to fingre på undersiden. Støtt fingrene mot pasientens arm.



Stikk kanylen inn i venen i samme retning som venen går, med en vinkel på 20-30 grader. Hullet foran på kanylen skal peke opp.

Her er en video som i detalj forteller om hvordan du skal stikke kanylen inn i blodåren:

https://youtu.be/wxu_BzBwjzc

Dere får utdelt kanyler som har et lite vindu rett før kanylen går inn i kanyleholderen (kalles Visio). Dette vinduet fylles med blod straks du er inne i venen. Det er til stor hjelp. Når du ser at det kommer blod i vinduet, er du akkurat kommet inn i venen: du fører da kanylen noen millimeter lenger oppover i venens retning slik at den blir liggende fritt inni venen.



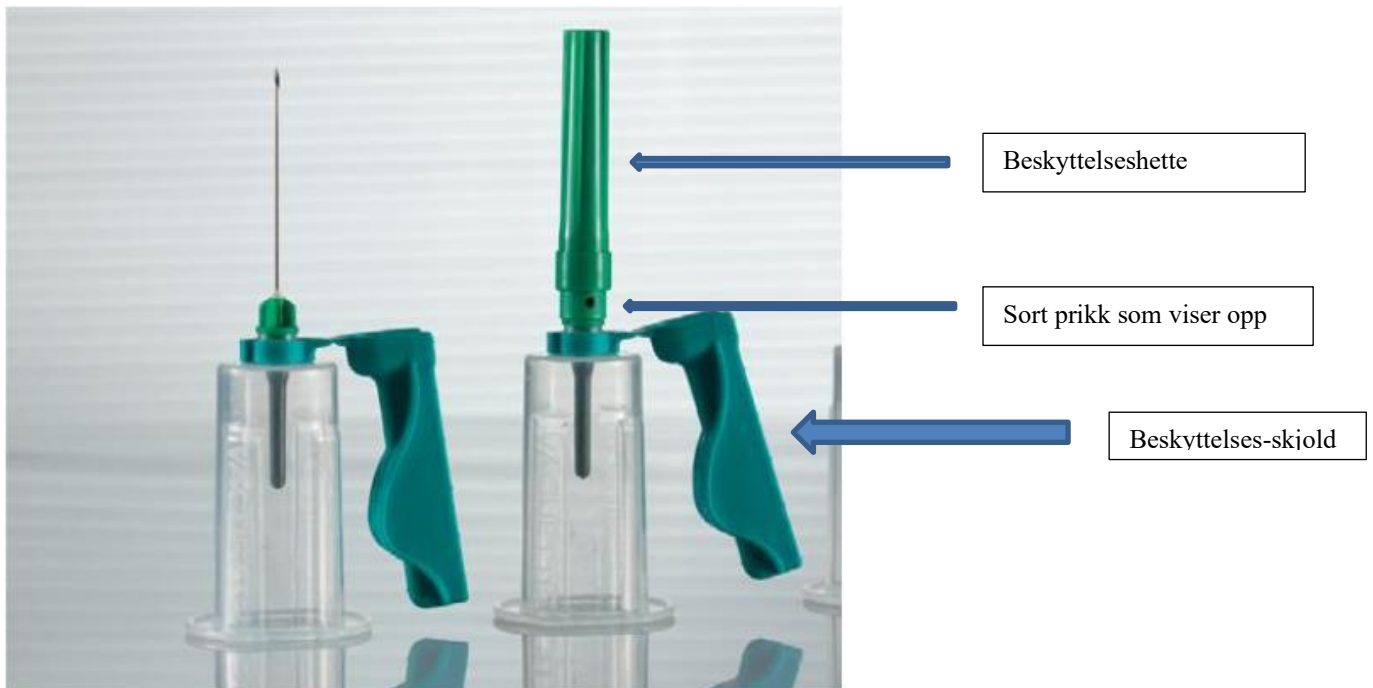
Se at nålen er skåret skjevt helt foran. Det er en spiss på nålen som skal være ned mot huden og et hull i nålen som skal peke opp.

Før du har tatt av beskyttelseshetten, ser du en sort prikk på kanten av hetten. Denne prikken angir hva som er opp, altså hvor hullet i sprøytespissen er under hetten.

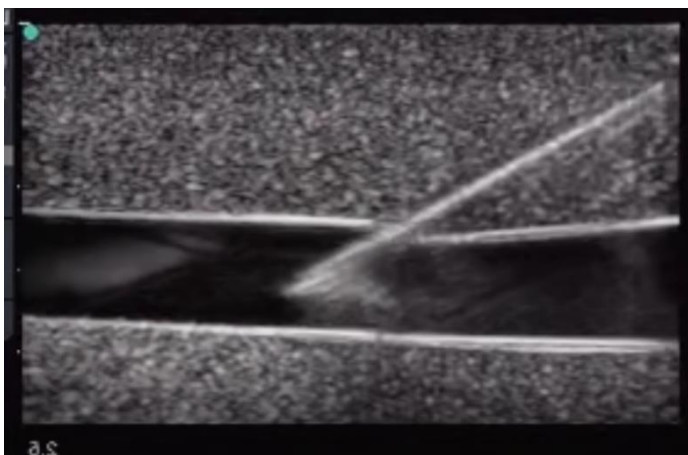
Du tar av beskyttelseshetten rett før du stikker, altså når alt er klart og du holder nåleholderen i posisjon.

For å hindre stikkskader:

Det siste du gjør før du stikker, er å ta av beskyttelseshetten. Det første du gjør når du tar ut kanylen, er å sette beskyttelses-skjoldet over nålen.



Nåleholder med beskyttelseshette, den er tatt av til venstre. Straks du har tatt ut nålen etter venepunksjonen skal du med etthåndsgrepet sette på skjoldet. Skjoldet dekker da over nålen og beskytter mot stikkskader.



Tenk deg at du stikker inn i et blodfylt «rør», og du skal bare stikke gjennom den fremre veggen og inn i venen («røret»). Skyv deretter kanylen noen millimeter oppover i venen. Du må da vinkle kanylen slik at den går i venens retning. Se ultralydbildet til venstre.

Her ser du hvordan kanylen har gått gjennom fremre vegg av venen, og nå må den vinkles enda mer i retningen langs veneveggen og skyves litt lenger oppover i venen. Da ligger hullet i kanylen godt inni venen.

Når kanylen ligger inne i venen, skal prøverøret stikkes inn i den andre enden av kanylen, inni kanylholderen. Da kan blodet strømme gjennom kanylen og ned i prøverøret. I prøverøret er det et undertrykk (vakuumbør) slik at blodet suges inn i røret.

Video som i detalj forteller om hvordan du skal stikke kanylen inn i blodåren:

https://youtu.be/wxu_BzBwjzc

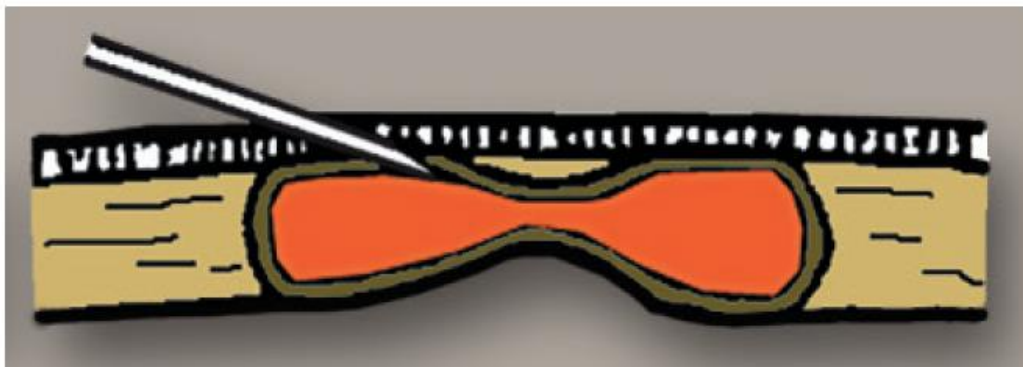
Vakuumbør: Størrelsen på undertrykket i røret er tilpasset ønsket fylning av røret, slik at når det slutter å strømme blod inn i røret skal det være riktig fylt. Det er et merke (en sort strek eller en sort trekant) på etiketten på røret som viser hvor mye blod som skal være i røret når det er fylt.

For rør som inneholder væske med antikoagulas (citratrør, blå kork, og senkningsrør, sort kork f.eks) er det spesielt viktig med riktig fylning av røret, slik at fortykning av blodet er som forventet. For rør som inneholder tilsetning som pulver (EDTA-rør for eksempel), er det ikke så kritisk med nøyaktig volum, men fortsatt bør det være samsvar mellom tilsetning og blodvolum slik at konsentrasjonen av tilsetningen er korrekt. Prøverør er merket med holdbarhetsdato og etter denne kan det f.eks. være for lite undertrykk og røret blir ikke skikkelig fylt. Prøverør skal ikke brukes til pasientprøver etter holdbarhetsdato.

Et tips:

Noen ganger slutter blodet å strømme inn i prøverøret nesten med en gang du setter det på. Det kan være fordi kanyle-åpningen inne blodåren har sugd seg fast i veneveggen. Se figuren nedenfor. Når du setter prøverøret, som har undertrykk, inn i bakre spiss på kanylen, kan åpningen på kanylens spiss inni venen suge seg fast i veneveggen.

Da hjelper det å rotere kanylen rundt kanylens akse, slik at kanylspissen slipper veneveggen.



Når prøverøret er fylt med blod:

Straks du har tatt røret ut, må du med en gang blande blodet med tilsetningene i røret.

Du skal vende røret rolig 180 grader flere ganger. De fleste laboratorier angir at du skal vende røret 5-10 ganger.



Når alle rørene er fylt, kan du trekke ut kanylen og presse en tupfer eller en bomullsdott mot innstikkstedet (hullet i huden og blodåren). Press i noen minutter, så det ikke blør. Be evt. pasienten om å presse på dotten noen min. før du setter på plaster.

Straks kanylen er ute skal du bruke etthåndsgrep og presse beskyttelses-skjoldet over kanylen så spissen beskyttes. Bruk tommelen eller pekefingeren. Se hvordan du bruker skjoldet med etthåndsgrep slik at kanylens spiss raskt dekkes etter venepunksjonen på denne videoen:

<https://www.youtube.com/watch?v=o7RKI1g2Xss>



Kapillærpunksjon

Slik skal en kapillærpunksjon av en pasient gjennomføres:

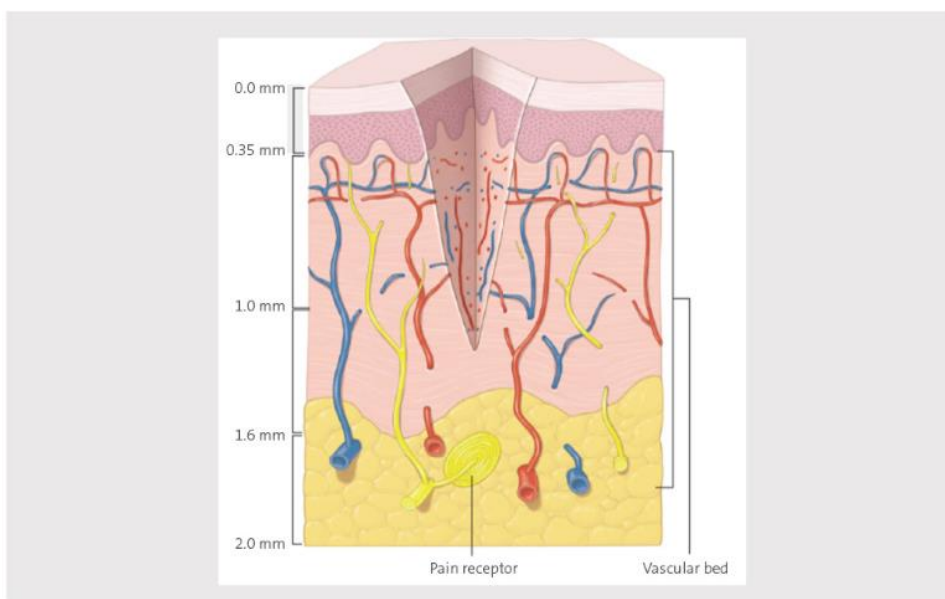
<https://www.youtube.com/watch?v=UM3-fYNmtKs>

På slutten av videoen vises hvordan man samler opp et større blodvolum. På dette kurset skal dere bare fylle 2 kapillærrør til å måle EVF og 1 kyvette for Hb måling.

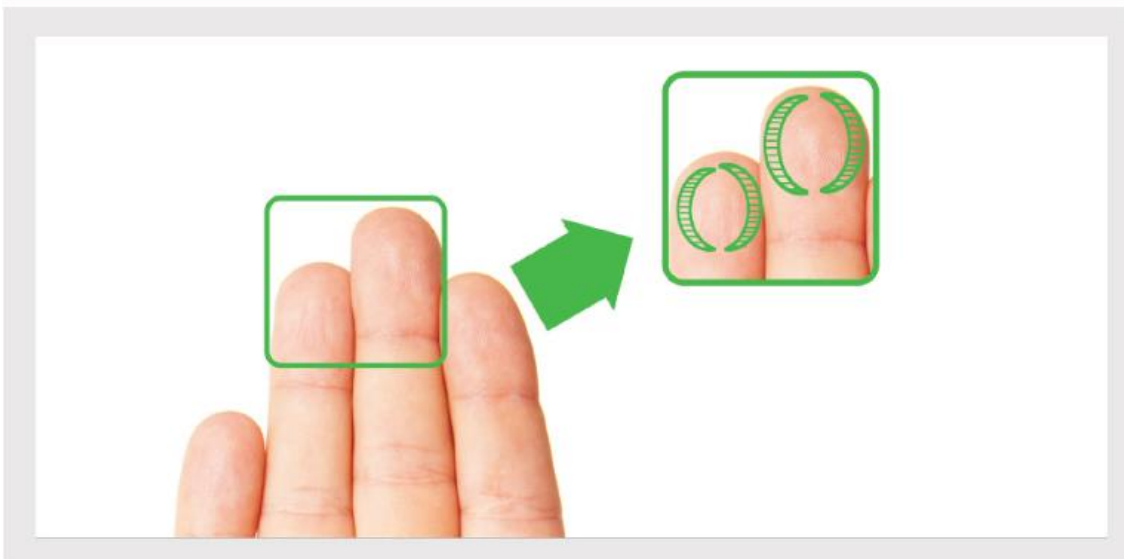
Hva er kapillærpunksjon:

Når du skjærer inn i huden med lansetten kommer det en blødning fra de minste blodkarene i huden. Det kan også komme litt væske fra vevet, mest i starten.

Vanligvis tørkes de første 1-2 dråpene bort, da blør det bedre og lengre. Blodet som kommer ut vil stamme fra de minste venulene, arteriolene og kapillærene. Hvis fingeren er varm og med god gjennomblødning vil blodet likne mye på arterieblod.



Lansetten stikkes inn på siden av langfinger eller ringfinger, merket med grønt. Ta av ringe.



Her er en beskrivelse av kapillær-punksjon, trinn for trinn. Husk at du skal bruke hansker.



1. Pass på at pasienten sitter bekvemt. Har pasienten kalde hender, bør de varmes i varmt vann. For at blodet skal kunne sirkulere uhindret, bør en ikke stikke i en finger med ring. Ved å se til at alle finger er utstrakte, uten å være anspente, unngår man uønskede staseeffekter.



2. Bruk enten langfinger eller ringfinger (uten ring) for prøvetaking. Vask prøvetakingsstedet med desinfeksjonsmiddel og la det tørke.



3. Stryk lett med tommelen fra siste fingerledd og opp mot fingertuppen. Dette stimulerer blodtilførselen opp mot prøvetakingsstedet.



4. Her har tommelen blitt strøket lett opp mot fingertuppen. Stikk på siden av fingertuppen, der er blodtilførselen best og smertefølelsen minst.



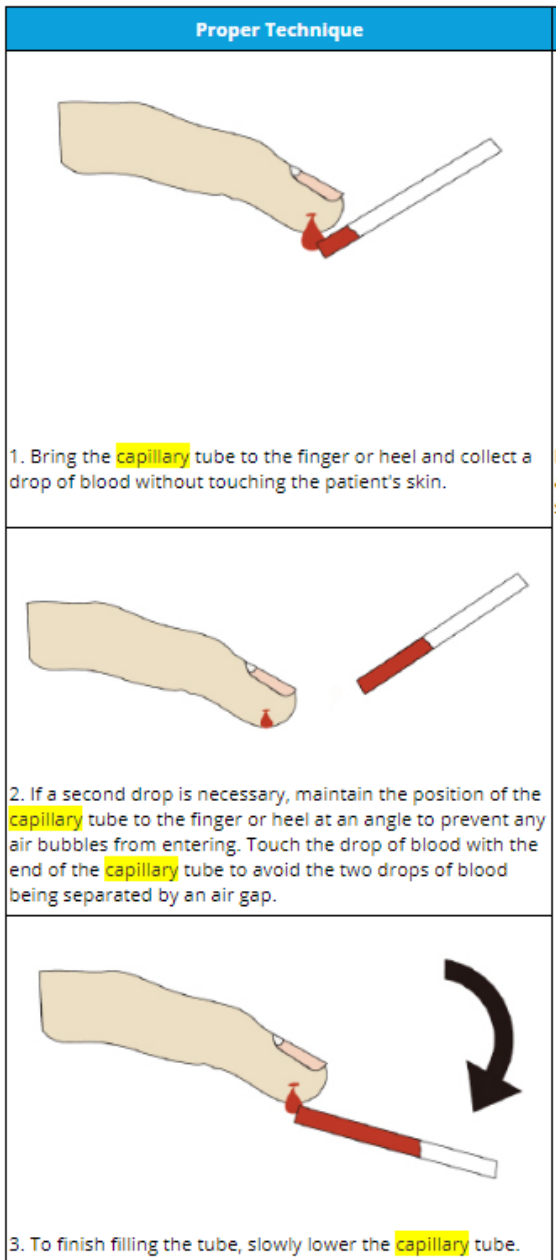
5. Tørk av de to, tre første bloddråpene. Dette stimulerer blodtilførselen. Om nødvendig, press igjen med tommelen til ny bloddråpe kommer frem. Unngå å "melke" fingeren.



6. Pass på at bloddråpen er stor nok til å fylle kyvetten eller glassrøret helt. Sett spissen mot midten av bloddråpen.

Når du skal fylle kapillærrør er det viktig å ikke få luft inn i røret. Dette er spesielt viktig når du tar prøve til syrebase/blodgass undersøkelse. Vi skal bare fylle en kyvette til hemoglobinmåling og to kapillærrør til EVF måling. Stikk kyvette og kapillærrør inn i blodråpen så det kommer minst mulig luft til.

Proper Technique



1. Bring the **capillary** tube to the finger or heel and collect a drop of blood without touching the patient's skin.

2. If a second drop is necessary, maintain the position of the **capillary** tube to the finger or heel at an angle to prevent any air bubbles from entering. Touch the drop of blood with the end of the **capillary** tube to avoid the two drops of blood being separated by an air gap.

3. To finish filling the tube, slowly lower the **capillary** tube.

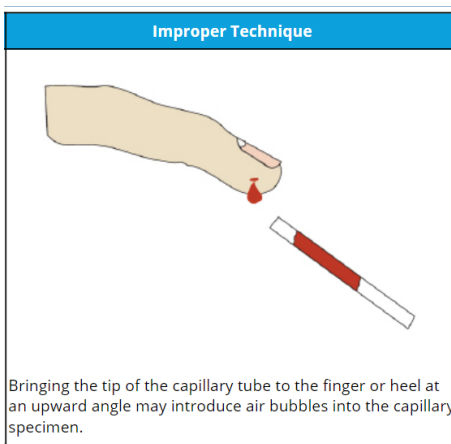
Hold den enden som du fyller med blod lavest, slik at det ikke kommer luft inn i kapillær-røret.

Sett kapillæret inn i blodråpen, ikke berør huden.

Hvis du må vente på at det kommer en ny dråpe, hold fortsatt røret med den tomme siden opp.

Helt på slutten av fyllingen kan du senke røret

Improper Technique



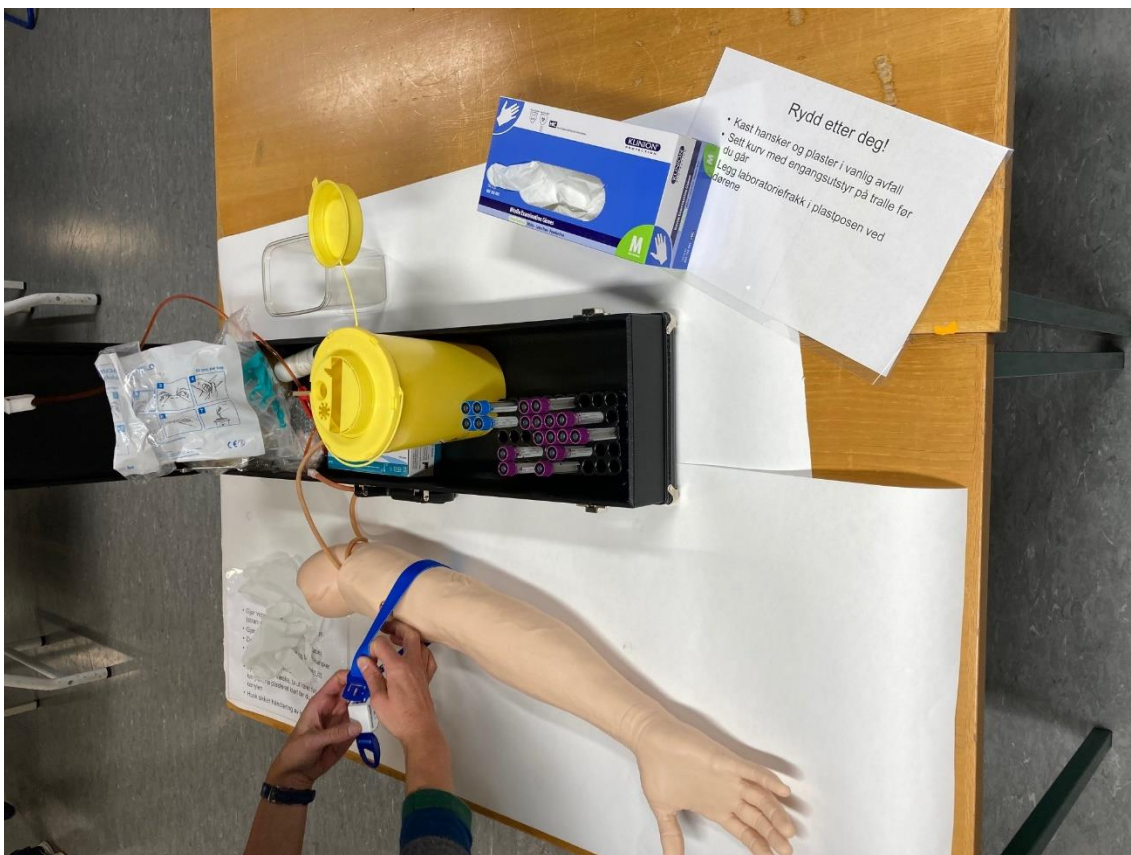
Bringing the tip of the capillary tube to the finger or heel at an upward angle may introduce air bubbles into the capillary specimen.

Ikke gjør dette:

Hvis du holder kapillær-røret nedover utenfor blodråpen vil det komme inn luft i kapillær-røret.

Blodkurs Dag 1 På kurssal

- Kursdagen skal gi dere kunnskap om de røde blodcellenes fysiologi. Metodene dere skal utføre er:
- Kapillærpunksjon: blodprøvetaking fra fingertupp på hverandre.
- En bloddråpe fra kapillærpunksjon tas til kyvette til måling av hemoglobin (Hb) på et lite pasientnært instrument, HemoCue.
- Bloddråpe fra kapillærpunksjon fylles i kapillærrør, gjør dette to ganger. Disse to kapillærrørene brukes til parallellmåling av EVF (Erytrocytt Volum Fraksjon = hematokrit).
- Beregning av MCV: bruk utlevert *tall for antall-konsentrasjon av erytrocytter* for å regne ut konsentrasjon av røde blodlegemer i blodet. Bruk gjennomsnitt av de to målte EVF.
- Finn blod som er satt fram: Bland en dråpe blod og en dråpe fargevæske og lag et blodutstryk som brukes til å telle retikulocytter (umodne erytrocytter) i mikroskop.
- Øve med utstyr for venepunksjon og utføre venepunksjon på prøvearm



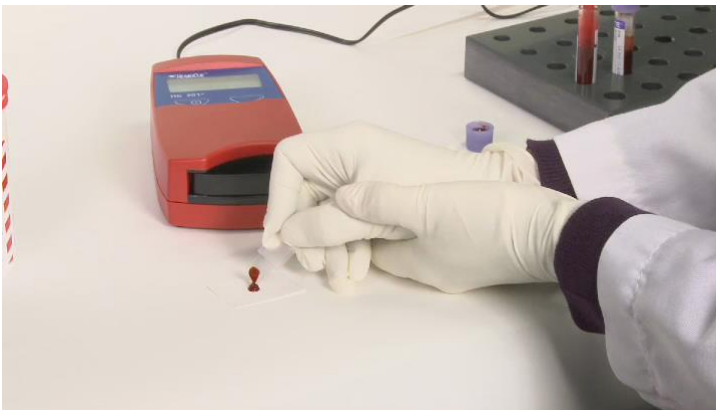
Hvorfor måle hemoglobin (Hb)

Slå opp informasjon om Hb: [Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk biokjemi \(brukerhandboken.no\)](http://nasjonal.brugerhandbok.no)

Måling av hemoglobin er en av de aller vanligste blodprøvene som blir tatt av pasienter. Hb er konsentrasjonen av proteinet hemoglobin som finnes inne i de røde blodlegemene. Det er de røde blodcellene som frakter oksygen fra lungene til alt vev i blodet, og hovedmengden av oksygen finnes i blodet bundet til hemoglobin. Jo høyere konsentrasjon vi har av dette proteinet, jo bedre kapasitet har vi til å frakte oksygen til vevet. Dette er spesielt viktig når det skal utføres et kraftig fysisk arbeid. Derfor vil en høy verdi av hemoglobin vise at personen har høy kapasitet for å frakte oksygen. Det er mulig å bruke dopingmidler for å øke hemoglobin, det kan være å ta inn kunstig erythropoetin (EPO) som stimulerer til nydannelse av røde blodlegemer, eller å tappe ut eget blod som settes tilbake like før konkurranse (bloddoping). For å kontrollere dette, er det satt en øvre grense for hvor høy hemoglobinkonsentrasjon en idrettsutøver kan ha. For å følge utviklingen av hemoglobinnivået kan det settes krav om at idrettsutøvere skal legge fram et blodsertifikat, en jevnlig måling av hemoglobin for å se at det ikke er mistenkelige endringer over tid. For å produsere hemoglobin trenger kroppen blant annet jern, og ved jernmangel kan man utvikle for lavt hemoglobin-nivå, dette kalles jernmangelanemi. Anemi er et for lavt nivå av hemoglobin.

Hb-måling med HemoCue

Dere bruker bloddråpe fra kapillærpunksjon, Hver student skal bli tatt prøve av slik at alle får prøver med eget blod og kan måle på dette. La kyvetten fylles fullstendig med én gang. Etterfyll aldri en kyvette! (For å unngå luftbobler.)



Tørk evt av overskudd av blod på utsiden av kyvetten med papir. Pass på at ikke noe blod suges ut av kyvetten.

Bildet viser en bloddråpe som er satt av på et glatt papir, og blodet trekkes opp i kyvetten. Slik gjør dere på dag 2 for å måle Hb på blod fra EDTA rør som er tatt før og etter sykling.

På dag 1 skal dere trekke bloddråpen direkte fra kapillærpunksjon i fingeren og inn i kyvetten.

Vent 40-45 sekunder for å la reagensene i kyvetten virke. Du kan se mot lyset at sirkelen inne i kyvetten klarer opp. Dette skjer fordi det inni kyvetten er et stoff som hemolyserer (ødelegger membranen) de røde blodlegemene. Da fordeler hemoglobinet seg i hele væskeflaten, og vi måler hemoglobinkonsentrasjonen i blod.



Sett mikrokyvetten inn i fotometeret.
 Vent til dere ser 3 streker i display (- - -) og lukk kyvetteskuffen.
 Prøven skal analyseres innen 10 minutter etter at kyvetten er fylt.
 Resultatet kan avleses etter 15-45 sekunder



Legg merke til hvilke enheter instrumentet er innstilt på. I Norge bruker vi enheten g/dl (= g/100 ml) for hemoglobinkonsentrasjonen

Referansenivå: (kan variere noe mellom laboratoriene)

> 18 år, Kvinner	11,7 - 15,3
> 18 år, Menn	13,4 - 17,0

Hvorfor måle EVF

Slå opp informasjon om EVF: [Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk biokjemi \(brukerhandboken.no\)](http://brukerhandboken.no)

EVF (Erythrocytt Volum Fraksjon) angir fraksjonen av blodvolumet som består av blodlegemer. Det uttrykker mye av det samme som Hb, fordi jo høyere andel av blodvolumet som utgjøres av de røde blodlegemene, jo mer har vi av det proteinet som finnes i blodcellene: Hemoglobin. Men det er ikke helt entydig sammenheng, fordi konsentrasjonen av hemoglobin i erythrocyttene kan variere. EVF brukes i f. eks. USA mer som vi bruker Hb.

Måle erythrocytt volum fraksjon (EVF = Hematokrit)

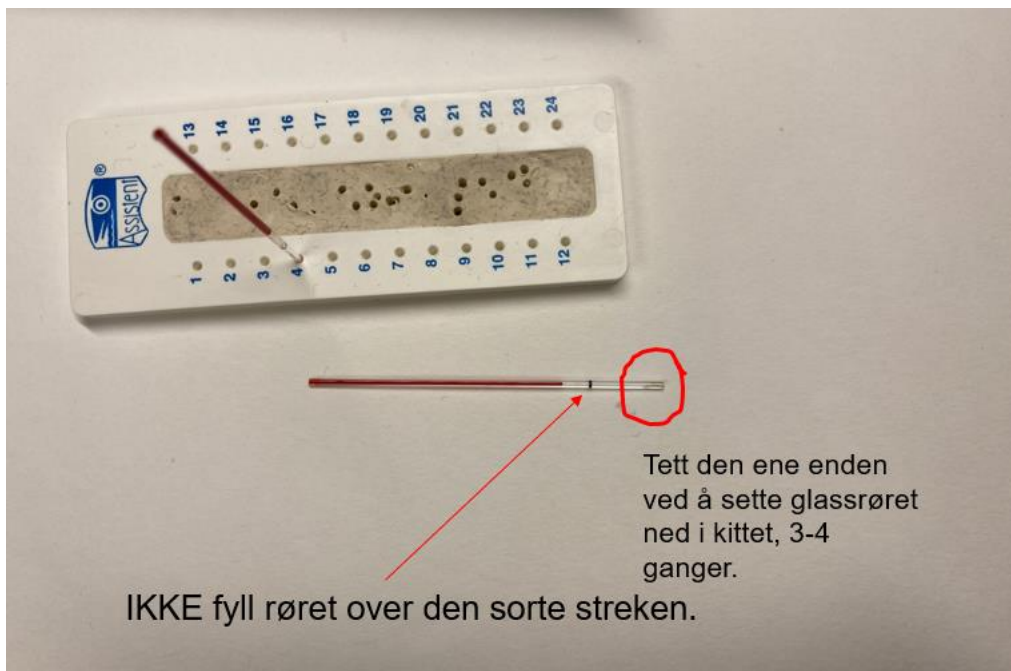
Blod består av plasma og blodceller; erythrocytter, leukocytter og blodplater.

Vi fyller et tynt kapillærrør som er tilsatt litt heparin med blod, og sentrifugerer dette kraftig. Da vil blodcellene legge seg nederst og plasma øverst. Vi måler hvor stor andel av totalvolumet som består av de røde blodcellene. Dette er erythrocytt volum fraksjon, EVF. Volumet av de tettpakkede røde blodceller måles da i forhold til det totale volumet av blodcellene pluss plasma. Størrelsen på EVF sier omtrent det samme som hemoglobin-konsentrasjonen hos et friskt menneske.



Kapillærrør til måling av EVF

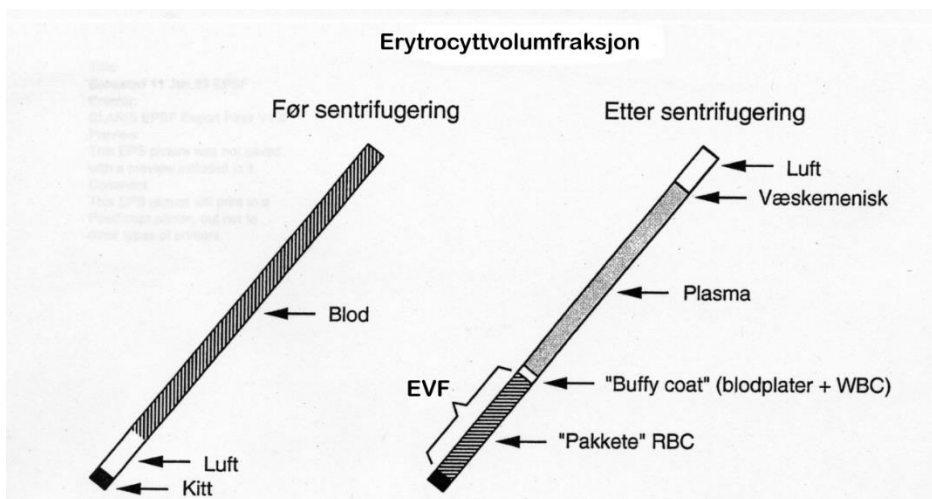
To ferdig hepariniserte kapillærrør (hematokritrør) fylles ca. 3/4 fulle med blod fra fingertupp. De tettes med spesialvoks i den enden som er fri for blod (så kittet ikke blir blodtilblandet; det må da kasseres).



Rørene sentrifugeres i 5 min med 10.000 r.p.m. (runder per minutt) i særskilt sentrifuge. Den enden som har kitt skal vende *utover* i ringen. Det er viktig å sette på begge lokkene. Vær sikker på at det innerste lokket sitter godt.

På kurset skal dere bruke en spesialskive for måling av EVF, den regner ut prosent basert på lengden av blodsøylen og hele lengden av blodsøyle pluss plasma.

Bruksanvisning ligger fremme ved måleskivene.



Målemetoden for erythrocyttvolumfraksjon illustrerer at blodet består av ca. 40 % blodlegemer og ca. 60 % blodplasma.

Referanseverdier: Menn 0.40-0.50. Kvinner 0.35-0.46.

Hvorfor beregner vi mengde/andel av erythrocyttene som er RETIKULOCYTTTER?

Husk at retikulocytterne er stadiet før disse cellene blir til modne erythrocytter. Retikulocytterne er de helt ferske røde blodlegemene som kommer ut fra beinmargen. De sirkulerer som retikulocytter kun 1-2 dager før de blir modne erythrocytter. Andelen av retikulocytter gir oss informasjon om det er normal, økt eller for lav produksjon av erythrocytter i blodmargen. Dette kan være svært verdifull informasjon om tilstanden i beinmargen, for eksempel om en beinmarg som er transplantert er begynt å fungere. Svært lav andel (ingen retikulocytter) kan vise at beinmargen ikke fungerer, og dette kan være en grunn til at pasienten har anemi (lav Hb).

Telling av retikulocytter i mikroskop.

Retikulocytter er unge, røde blodceller som nylig er kommet over i blodsirkulasjonen fra produksjonsstedet i beinmargen. De har ennå ikke kvittet seg med hele sitt proteinsyntese-apparat (RNA). Ved farging vil RNA vises som punkter og nettverk (retikkel) i disse røde blodcellene. Retikulocytterne skal telles i mikroskop.

Telling av retikulocytter kan brukes til å avgjøre om en anemi skyldes beinmargssvikt eller blødning/hemolyse.

Beinmargssvikt: Ingen retikulocytter.

Blødning/hemolyse med frisk beinmarg: Mange retikulocytter fordi det mobiliseres fra beinmarg slik at det kommer mange retikulocytter ut.

Utførelse:

Hver student lager flere utstryk av fremsatt blod og teller retikulocytter i de(t) beste av dem.

Farging:

Like mengder fargevæske (briljantkresylblått) og kapillær- eller veneblod blandes i et reagensrør. La stå ca. 10 min. Bland, med lett knipsing mot glasset eller med pasteurpipette.

På kurset kan dere lage blodutstryk selv med et objektglass og et utstryksglass, se nedenfor.

For å gjøre arbeidet med blodutstryk enklere, har vi tilgjengelig et instrument som lager utstryket:

Dere legger en liten dråpe blod på utstryksglasset, det kan lages to utstryk samtidig. Trykk ned hendelen rolig og bestemt. Ta opp utstryket og lufttørre det ved å vifte kraftig.

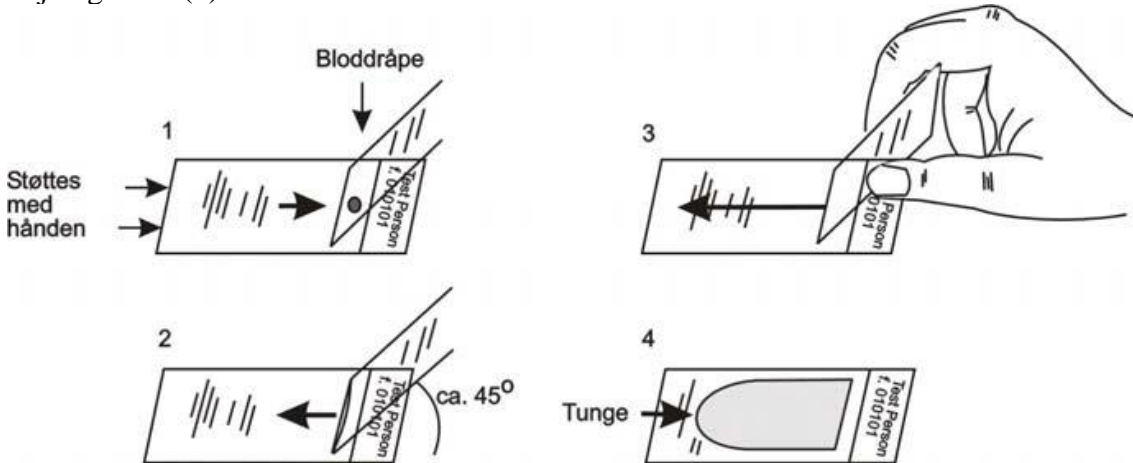


Manuelt laget utstryk:

En *liten* bloddråpe fra blandingen plasseres ved hjelp av f.eks. en pasteurpipette et par cm fra enden (eller rett ved skriveflaten) av et *helt rent* objektglass (1).

Sett utstryksglasset med kanten ned mot objektglasset litt nærmere midten enn bloddråpen. Utstryksglasset trekkes inntil bloddråpen, og da vil blodet trekke seg ut langs kanten på utstryksglasset (2).

Deretter føres utstryksglasset jevnt, raskt og lett *fra* bloddråpen slik at blodet fordeler seg på objektglasset (3).



Ved riktig dråpestørrelse skal blodet ende i en "tunge" et par cm fra enden av objektglasset.

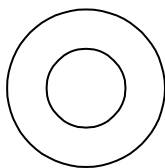
Vift straks utstryket tørt, med hurtige bevegelser.

Det planslipte utstryksglasset skal vaskes og legges i en flaske med 5 % kloramin; det skal brukes om igjen!

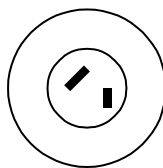
Tell retikulocytter i mikroskop ved 100x forstørrelse, bruk immersjonsolje.

NB: spør før bruk dersom dere ikke kjenner til bruken av immersjonsolje.

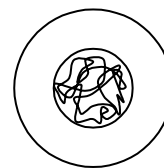
Oljen tørkes etterpå forsiktig av linsen med bløtt linsepapir fuktet med rensesvæske!



Erytrocytt



Retikulocytter



Før dere tar på immersjonsolje, må dere bruke noen minutter på å finne et godt område av preparatet å telle i.

Start med å fokusere på 10x objektiv, finn et område hvor erytrocyttene ligger jevnt spredd, «skulder til skulder», i hvert fall ikke i doble lag.

Gå videre til 40 x, og fokuser på ny.

Deretter tar dere objektivet vekk fra preparatet, skrur til 100 x-objektivet og legger på en liten dråpe immersjonsolje.

NB! Aldri la 40x eller 10x objektivene komme i kontakt med oljen.

Retikulocytter skal inneholde minst 2 distinkt blå korn eller tråder.

Det finnes ofte krystalliknende artefakter i erytrocyttene, som da kan likne retikulocytter. Artefakt-inklusionene - men ikke ekte retikkel - forandrer farge fra lyst til mørkt ved bruk av fininnstillings-(mikrometer-) skruen.

Retikulocytt-prosenten telles manuelt som andel retikulocytter av totalt antall celler, multiplisert med 100. Siden det ofte er relativt få retikulocytter, er det gjerne nødvendig å telle mange synsfelt for å få et rimelig nøyaktig resultat.

For å forenkle tellingen, kan du telle retikulocytter i hvert tilstøtende synsfelt, mens du bare teller totalantall erytrocytter i noen få av feltene. Da antar du at totalantallet erytrocytter er det samme i de andre feltene.

Eksempel: Du teller retikulocytter i 6 synsfelt og totalt antall (erytrocytter + retikulocytter) i 2 av disse 6 synsfeltene. Regn ut gjennomsnitt av totaltall i disse to synsfeltene og bruk dette til å anslå totalt antall røde celler som 6 ganger dette gjennomsnittet. Legg sammen antall retikulocytter som du fant i de 6 feltene, og del disse to tallene på hverandre: antall retikulocytter/totalt antall røde celler. For å få tallet i % multipliserer du med 100.

$$\text{Retikulocytt\%} = \frac{\text{antall retikulocytter}}{\text{totalt antall erytrocytter}} \times 100\%$$

Referanseverdi for voksne: **0.5-1.5 % av alle erytrocytter.**

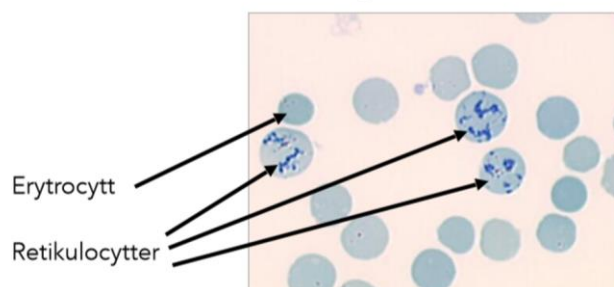
Typiske sykdomstilstander som kan øke retikulocyttprosenten, er blødningsanemier eller hemolytisk anemi. Så lenge produksjonsstedet i benmargen har normal funksjon, og det er nok byggestener tilgjengelig (blant annet nok jern), vil blødningsanemier eller vedvarende ødeleggelse av erytrocyttene (hemolyse) føre til økt erytropoiesen.

Ved benmargsvikt vil erytropoiesen være nedsatt. Nyresvikt vil også gi lav retikulocyttprosent, fordi det ikke skjer tilstrekkelig stimulering av erytropoiesen.

Retikulocyttmengden i blodet brukes gjerne som et mål på produksjonshastigheten av erytrocytter i benmargen. Retikulocyttmengden, men ikke prosent, er litt høyere hos menn, ettersom mannlige kjønnshormoner stimulerer EPO-produksjonen.

Retikulocytter: nydannede RBC

- Nydannede RBC som nylig er kommet over i blodet fra benmargen. Ref.: 0.5-1.5% av RBC
- Ikke kvittet seg med hele sitt proteinsynteseapparat (RNA)
- RNA kondenseres til retikkel og punkter ved vitalfarging. Retikkelet farges av basiske blå farger.
- Retikulocytterne sirkulerer i blodet i ca 1 døgn før cellene er modne RBC.



Maskinell telling av erythrocytter (=røde blodceller)

På kurset utførte vi tidligere elektronisk telling av celler med flowcytometri. Nå vil vi bare forklare hvordan dette ble gjort, og dere får i stedet oppgitt et typisk talletall fra en slik telling. Dere bruker det oppgitte talletall til å beregne konsentrasjonen av røde blodlegemer i fullblod.

Praktisk utførelse:

For å telle erythrocytter, må blodprøven først fortynnes. Dette ble gjort ved å måle opp 20 mikroL blod (i et lite kapillær-rør) og dette ble fortynnet i et lite målebeger med oppmålt 10 mL væske (tilsvarer 10 000 mikroL): Nå er det fortynnet 20:10000 (det vil si 1:500 altså 500 ganger)



Denne fortynningen ble blandet godt, og det ble tatt ut 20 mikroL av blandingen. Denne ble igjen fortynnet i 10 mL væske. Igjen er fortynning 20:10000 (det vil si 1:500 altså 500 ganger)



En fortynning 20/10000 fortynnet 20/10000 vil si at det først er fortynnet 500 ganger, så igjen fortynnet 500 ganger og resultatet er at den opprinnelige blodprøven nå er fortynnet 250 000 ganger ($500 \times 500 = 250\,000$).

Den fortynnete prøve ble talt i et instrument, Coulter, som benytter en teknikk som heter flowcytometri med impedansmåling. Dere skal bruke i den videre beregningen at det telles i den fortynnete prøven **1750 antall røde blodlegemer i et volum på 100 mikroL.**

Tips:

$1\ \mu\text{l} = 1\ \text{mikroL} = 1/1000\ \text{mL} = 1$

milliontedels L = $1 \times 10^{-6}\ \text{L}$.

$1\ \text{mL} = 1000\ \text{mikroL} = 1\ \text{tusendels}$

liter = $1 \times 10^{-3}\ \text{L}$.

$1\ \text{L} = 1000\ \text{mL} = 1\,000\,000\ \mu\text{L}$.



Dere skal altså regne om fra en konsentrasjon på 1750/100 mikroL til antall per liter. Og ved å ta hensyn til fortynningen blir til det til sist konsentrasjonen av erythrocytter i blodprøven
Eksempel: dersom apparatet teller 2000 celler pr 100µl (dvs. 20 celler/µl) og fortynningen er 250 000 ganger (dvs. 5 000 000 celler/µL blod), og dere skal regne om fra µL til L, blir resultatet 5×10^{12} celler/L.)

Referanseverdi erythrocytter:

Menn: $4.25\text{-}5.71 \times 10^{12}/\text{L}$. Kvinner: $3.94\text{-}5.16 \times 10^{12}/\text{L}$.

Utrekning av MCV

EVF angir hvor stor andel av blodvolumet som består av erythrocytter.

Nå skal du bruke gjennomsnittet av de to parallellene av EVF:

For eksempel: hvis EVF er 40 % altså en andel på 0,4:

Det betyr at i en liter blod vil 40 % være erythrocytter.

Volumet av erythrocyttene i en liter blod er i dette eksempelet 0,4 L

Dere har fått oppgitt telletall for erythrocyttkonsentrasjonen i en fortynnet prøve og har beregnet antall erythrocytter i en liter blod.

Da tar vi volumet av erythrocyttene i 1 L blod: 0,4 L og deler på antall erythrocytter i 1 L blod:

Dermed har vi beregnet gjennomsnittlig volum av hver erythrocytt: MCV=Mean Corpuscular Volume

MCV= mean corpuscular volume= Volumet av en rød blodcelle.

Det er et meget lavt tall. Vi i bruker enheten fl=femtoliter = 10^{-15} L

MCV (mean cell volume), gjennomsnittlig erythrocyttvolum:
(**normalt 82 - 112 fL**, femtoliter = 10^{-15} L):

Notatskjema for kladd, føres inn i nettskjema

Navn: _____ Prøvedato _____

Kladd, skal føres inn i nettskjema, link er

<https://nettskjema.no/a/282303#/page/1>

Måling av Hemoglobin, Hb: En prøve av eget kapillærblod:

_____ g/dl (= g/100 ml)

Måling av EVF, dobbeltprøver av eget kapillærblod oppgis i %

Prøve 1 : _____ %

Prøve 2: _____ %

Beregning av erytrocyttkonsentrasjon basert på elektronisk telling av erytrocytter. Se beskrivelsen Maskinell telling av erytrocytter på side 23. Oppgitt verdi av talletall etter fortytning er 1750/100 mikroL.

Utregning:

Oppgitt verdi av talletall etter fortytning er 1750/100 mikroL. Prøven var fortynnet 250 000 ganger.

Dere må regne om til antall erytrocytter per liter (L). Siden tallet blir veldig høyt, oppgis dette i 10^{12} /L

Husk:

1 mikroL = 1/1000 mL = 1 milliontedels L = 1×10^{-6} L.1 mL = 1000 mikroL = 1 tusendels L = 1×10^{-3} L.

1L = 1000 mL = 1 000 000 µL.

RBC = Red Bloodcell Concentration = erytrocyttkonsentrasjonen Oppgis per L.

Beregnet verdi erytrocyttkonsentrasjon _____

Beregnet MCV _____ (mean cell volume), gjennomsnittlig erytrocyttvolum

Resultat av retikulocyt-tellingene i mikroskop, bruk 2 desimaler

Egen verdi: _____ %

De andre 3 på laget fikk:

1 _____ %

2 _____ %

3 _____ %

Blodkurs Dag 2 På kurssal

Konsentrasjonen av leukocytter i blod kan være økt (= leukocytose) ved infeksjoner blant annet.

Konsentrasjon av **de ulike typene** leukocytter beregnes ved å gjøre en differensialtelling: Da bestemmer man hvor mange lymfocytter, neutrofile granulocytter, eosinofile granulocytter, monocytter og basofile granulocytter som sees per 100 leukocytter.

Det er viktig å kjenne til **den fysiologiske leukocytose**, som er økt konsentrasjon av leukocytter på grunn av fysisk aktivitet før prøvetaking. Fysisk aktivitet kan også påvirke hemostasen, dette skal vi undersøke ved en koagulasjonstest, APTT før og etter et kraftig fysisk arbeid sykle (5 minutter).

Pass på at dere velger den på laget med best vener til det fysiske arbeidet. Dere skal ta blodprøve og telle puls først i hvilesituasjon og på nytt like etter 5 minutters kraftig sykling.



- Citratrør
 - Tilsatt Na-citrat som antikoagulans
 - Citrat-plasma til koagulasjonsanalyser

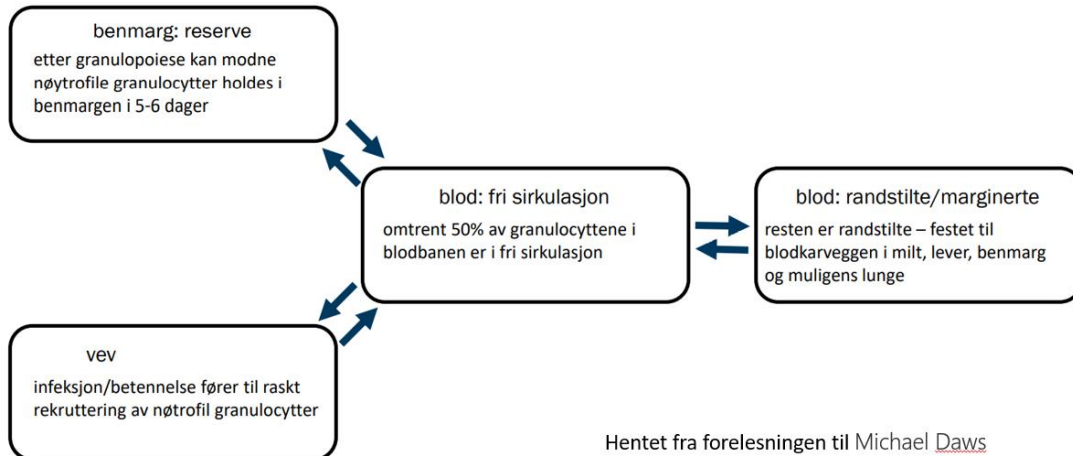


- EDTA-rør
 - Tilsatt EDTA som antikoagulans
 - Fullblod til hematologiske analyser
 - Kan sentrifugeres umiddelbart
 - Plasma til kjemiske analyser



Ved kraftig fysisk aktivitet vil vi øke blodstrøms hastigheten og celler i blodet som vanligvis er randstilte, det vil si at de ligger rolig ved åreveggen der strømningshastigheten er lav, vil mobiliseres til det sirkulerende blodvolumet. Vi finner derfor mer leukocytter i blodet når vi tar en blodprøve like etter fysisk aktivitet som 5 min. sykling.

Nøytrofile granulocytter finnes i ulike «pool»



25

Når man utfører et **langvarig** fysisk arbeid, vil det etter hvert skje en mobilisering av blodceller *fra beinmarg*. Det vil føre til at antall leukocytter øker. Fordi noe av økningen består av umodne celler, altså stavkjernete som ennå ikke er blitt til segmentkjernete granulocytter. Dette vil vi kunne påvise med en differensialtelling av blodet flere timer etter langvarig fysisk aktivitet.

Maskinell telling av leukocytter med differentialtelling

HemoCue WBC DIFF er et system for in vitro-diagnostikk som brukes til kvantitativ bestemmelse av konsentrasjonen av leukocytter (White Blood Cells, WBC) i kapillært eller venøst blod.



Som ved måling av hemoglobin bruker vi spesialkyvetter. Kyvettene til WBC DIFF inneholder et hemoliserende middel som løser opp de røde blodcellene og et fargestoff, metylenblått, som farger de hvite blodcellene. Et kamera i instrumentet tar 37 bilder av kyvetten, på forskjellige steder, og cellene blir telt med bildeanalyse og klassifisert i hver subgruppering.

Dere leverer de to EDTA rørene, tatt før og etter 5 minutter sykling, til instruktør som utfører undersøkelsen i dette instrumentet. Husk at disse rørene må være godt merket med navn og før/etter.

HemoCue WBC DIFF oppgir både totalt antall leukocytter i $10^9/L$ og en 5-punkts differensialtelling: nøytrofile granulocytter, lymfocytter, monocytter, eosinofile granulocytter og basofile granulocytter. Dere får oppgitt verdiene når deres prøve er analysert. Ta med utskrift fra Instrumentet (både $10^9/L$ og %). Det kjøres en prøve fra før og etter sykling pr lag.

Referanseverdier for leukocyttkonsentrasjonen er hos voksne ca. $3,5 - 10,0 \times 10^9/L$.

Barn har gjerne noe høyere totalverdier og flere lymfocytter enn voksne. Lavest konsentrasjon finnes gjerne om morgenen; etter hardt muskelarbeid heves nivået.

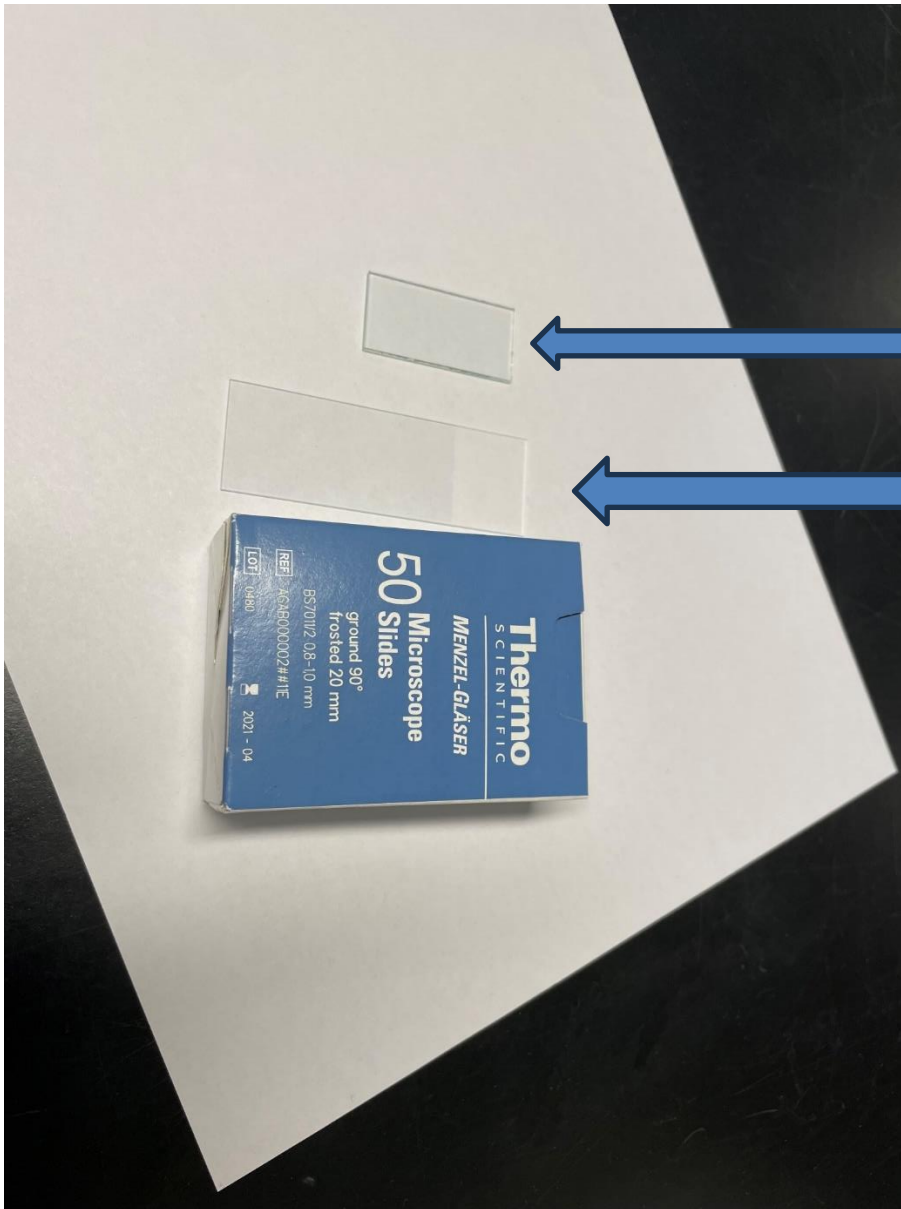
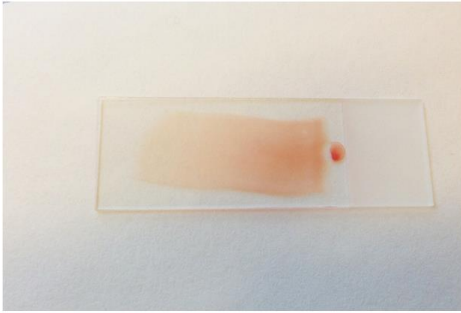
Emosjoner kan også føre til økt leukocyt konsentrasjon, med liknende mekanisme som kroppsarbeidet (økt adrenalin og hjertets minuttvolum). Måltider påvirker trolig ikke leukocyttnivået.

På kurset kan dere lage blodutstryk selv med et objektglass og et utstryksglass, se nedenfor. For å gjøre arbeidet med blodutstryk enklere, har vi tilgjengelig et instrument som lager utstryket:

Dere legger en liten dråpe blod på utstryksglasset, det kan lages to utstryk samtidig. Trykk ned hendelen rolig og bestemt. Ta opp utstryket og lufttørre det ved å vifte kraftig.



Manuelt lage og vurdere blodutstryk



Utstryksglass. Bruk den korte siden

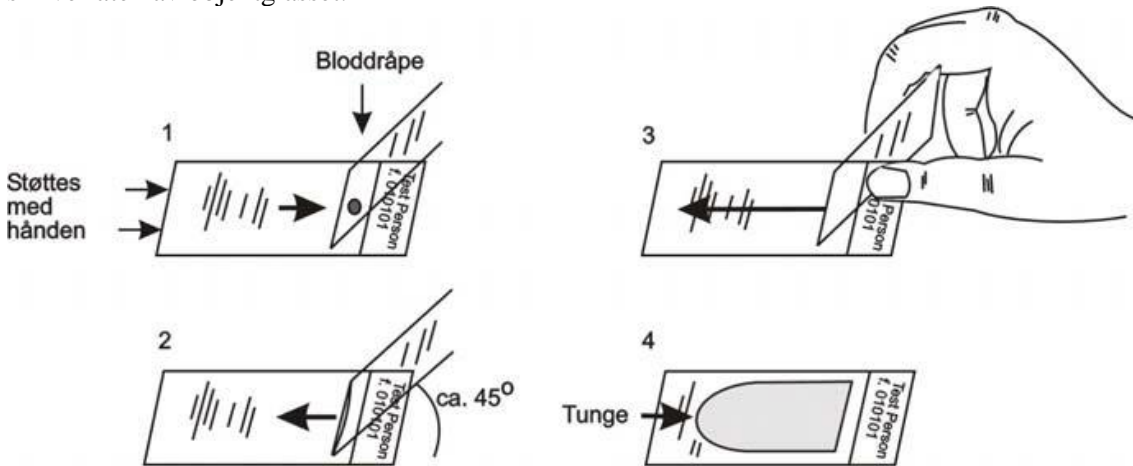
Objektglass

Blodutstryk og differensiantelling - 3 Utførelse

<https://www.youtube.com/watch?v=6LSB4O7A7vc&list=PLarScrkuNgTp18A5BliHluOfHkUQqsY8K&index=3>

[\(35\) Blodutstryk og differensiantelling - 4 Vurdering og differensiantelling - YouTube](#)

Utstryket skal lages som på dag 1 for retikulocyt-telling, men vi lager nå utstryket før farging. Bland blodet i EDTA-røret (med blod tappet før sykling) godt før uttak, og sett av en liten bloddråpe nær skriveflaten av objektglasset.



Straks etter utstrykningen lufttørkes preparatet hurtig ved energisk vifting. Lag flere utstryk fra vakumrøret med EDTA-blod tatt før trening, og velg ut de tre beste til farging.

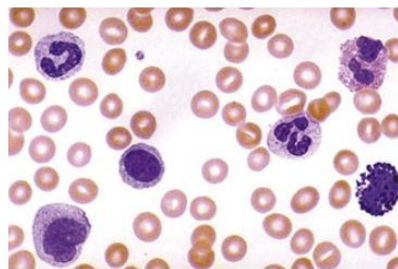
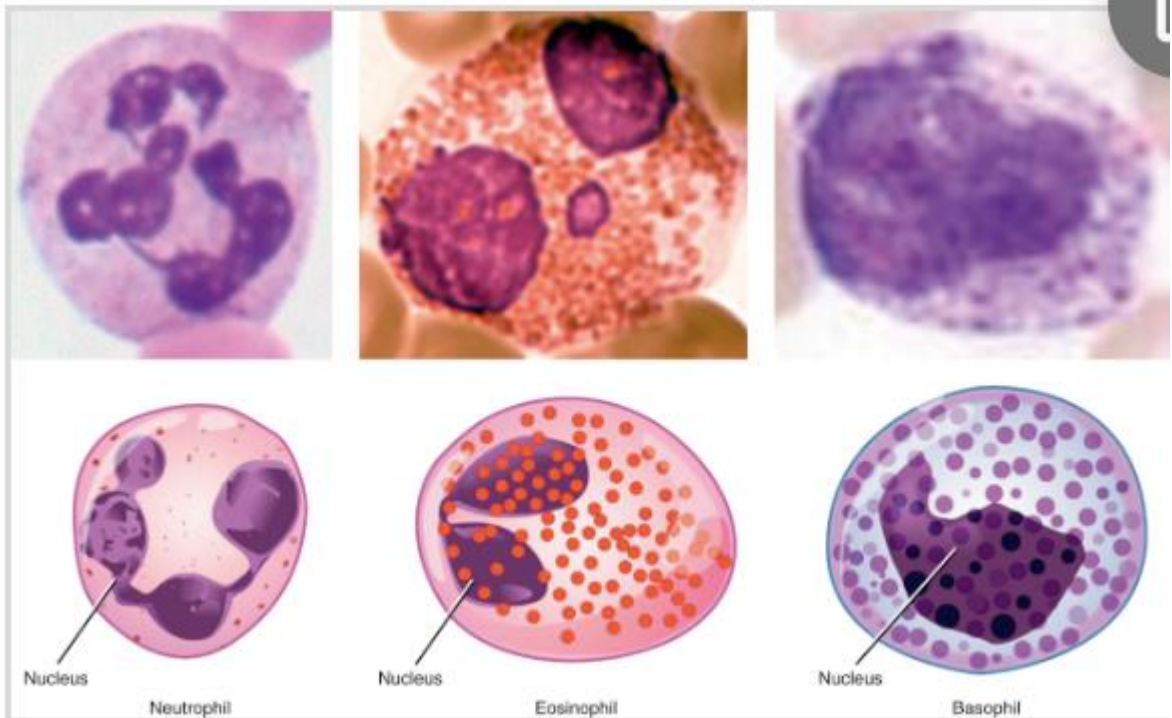
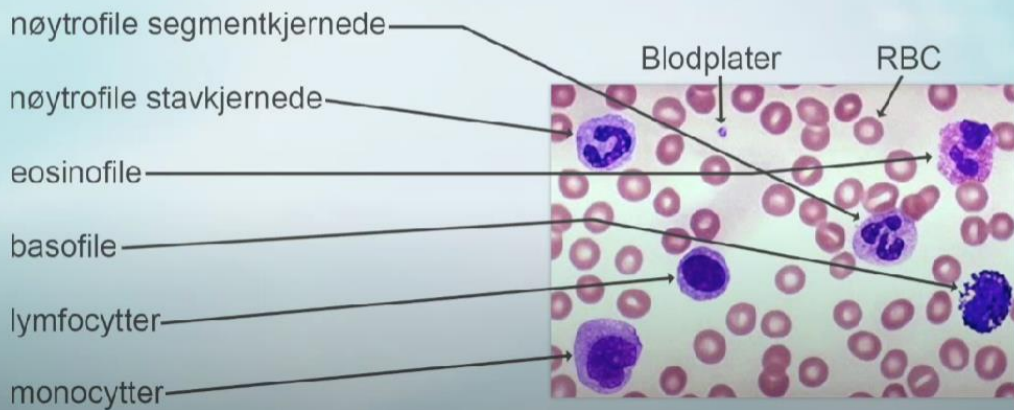
Farging av blodutstryk til differensialtelling:

1. Fargeløsningene finnes i separate fargebeger, på fargestasjonen.
2. Dypp blodutstryket 5 ganger à 1 sekund i fiksérbadet og la resterende fiksérvæske suges av, dvs. trykk enden av objektglasset mot et håndklepapir.
3. Dypp objektglasset i rødt fargebad, 5 ganger à 1 sekund. La overskudd av fargeløsning suges av.
4. Dypp objektglasset i blått fargebad, 5 ganger à 1 sekund. La resterende fargeløsning suges av.
5. Preparatet skylles så *forsiktig* i en skål med vann. (Vannet må være rent. Bytt det ofte.)
6. Preparatet viftes tørt.

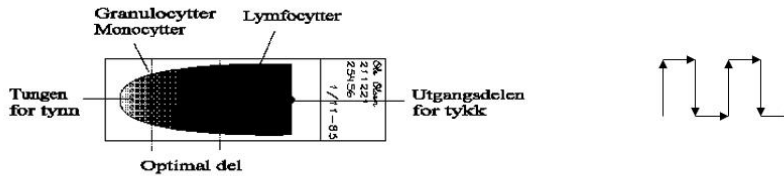
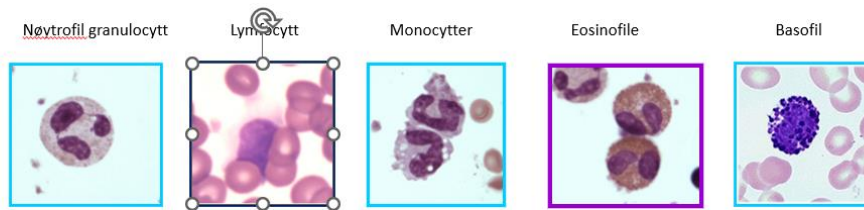
Objektglassene kan farges enkeltvis eller mange samtidig, i holder. Fiksérvæsken som består av metanol, må byttes oftere enn fargevæskene. Fargevæskene byttes ved utfelling, eller dersom fargen gir avvik fra normal fargetone. Den røde og blå fargeintensiteten på utstrykene kan varieres ved å variere antall dypp i de respektive bad. Bruk imidlertid aldri færre dypp enn 3 i noe bad. Utstryket undersøkes i mikroskop, med oljeimmersjonslinse (100x forstørrelse).

NB! Oljen fjernes fra linsen med rensesvæske når dere er ferdige.

Vurdering og differensialtelling av leukocytter



1-3 Peripheral blood smear (Wright stained) with six leukocytes: band neutrophil (*upper left*), eosinophil (*upper right*), basophil (*lower right*), monocyte (*lower left*), lymphocyte (*middle left*), and segmented neutrophil (*middle right*). A single platelet is noted to the right of the band neutrophil. The remaining cells in the field are red blood cells.

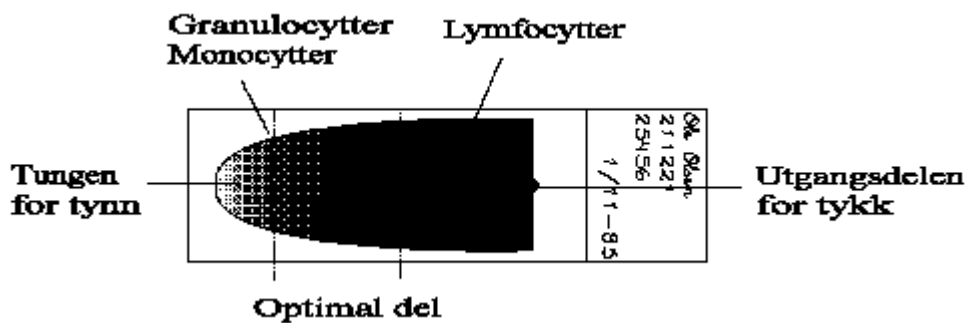


Seg.	Stav				
kjern.	kjern.	Lymfo.	Mono.	Eos.	Baso

Tell 100 WBC

Husk! Det planslipte glasset vaskes og legges i en flaske med 5 % kloramin; det skal brukes om igjen!

Tradisjonelt skjer tellingen fra side til side på tvers av preparatet, fordi cellene angivelig ikke fordeler seg likt i utstryket, slik at monocytter og granulocytter konsentreres noe ut mot kantene og i "halen". Det er litt større tetthet av hvite blodceller langs sidekantene, slik at mikroskoperingen går raskere her, og cellene er dessuten gjerne bedre strukket ut her, så det er lettere å se forskjellen på de ulike mononukleære cellene.



Helst bør man også ha med en kategori for ødelagte og uklassifiserbare leukocytter under differensialtelling.

Notér også erythrocyttenes utseende og se etter om det er omtrent normalantall blodplater til stede (ca. én blodplate pr. 20 røde blodceller).

Inspisér de rødes utseende inne i utstryket, 1-2 cm fra enden av det, fordi de vil ha kunstig god fargemetning og mangler den sentrale oppklaring i enden av preparatet og ytterst i sidekantene.

Hver student skriver inn ett sett verdier på rapportskjemaet i tabellen for differensialtelling. Sammenlign med referanseverdiene.

Referanseverdier for leukocyttypene (WBC x % ved differensialtellingen):

	Relative verdier i %	Absolutte verdier $\times 10^9$ /L
Segmentkjernede granulocytter	45 - 60	1,6 - 6,0
Stavkjernede granulocytter	5 - 10	0,2 - 1,0
Lymfocytter	20 - 45	0,7 - 4,5
Monocytter	2 - 8	0,1 - 0,8
Eosinofile	1 - 6	0,0 - 0,6
Basofile	<2	< 0,2

Måleprinsipp APTT klot

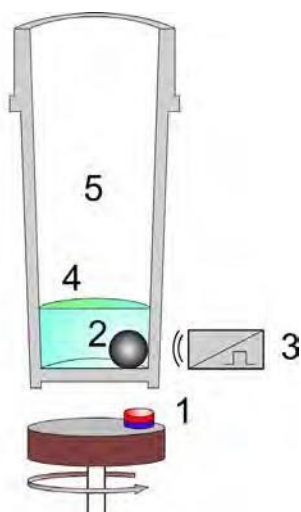


Fig. 1 APTT

Når koagulasjonen starter, vil viskositeten i prøven endres, og påvirke bevegelsen til kulen. Dannelse av fibrinnettverket vil føre til at stålkulen stanser.

Koagulasjonstiden i sekunder vil vises i display.

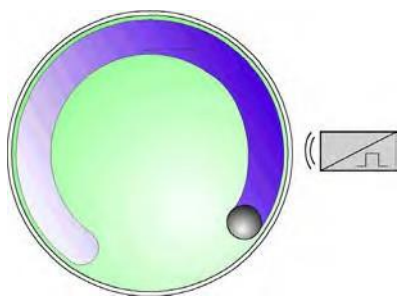
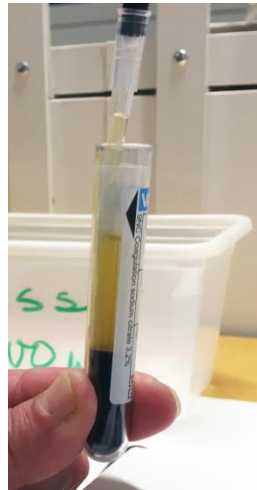


Fig. 2 APTT

Utførelse av testen:

La APTT-reagens og kalsiumløsning forvarmes i 37°C.
Skift til ny pipettespiss mellom alle reagensene.

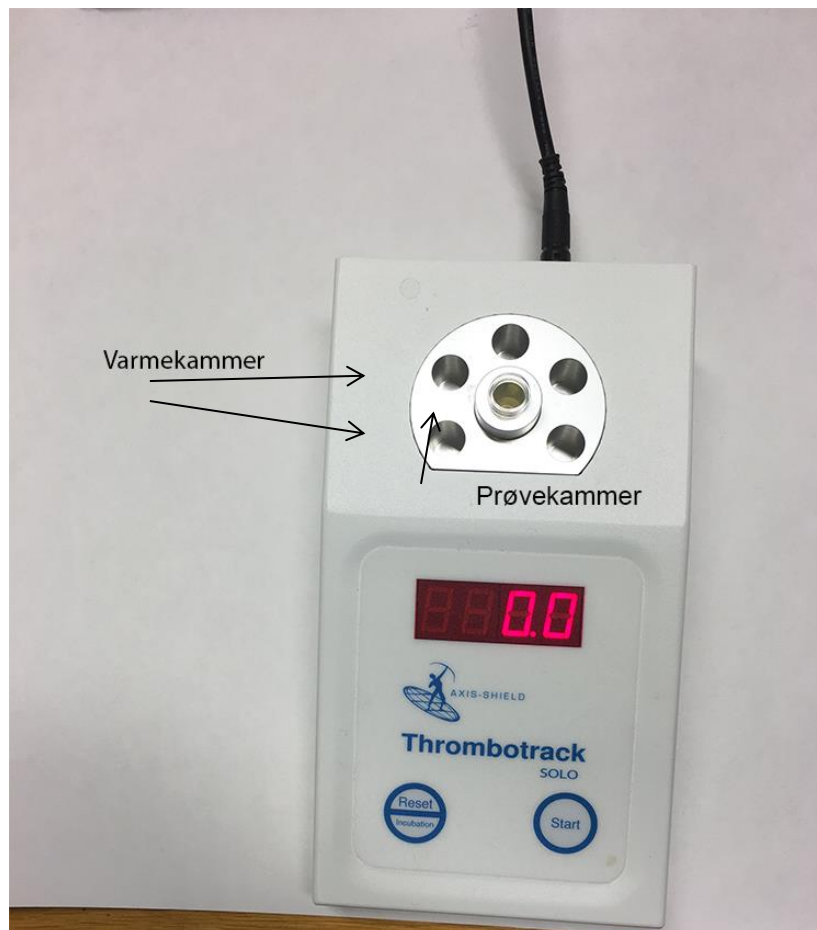
- Tilsett 1 (pass på at det er bare 1) stålkule vha dispenserpenn til en tom kyvette.
- Tilsett 100µL APTT-reagens og 100µL platefritt citratplasma (fra sentrifugert prøve) til kyvetten og sett den i et varmekammer i apparatet i 3 minutter. Apparatet holder 37°C.



Til APTT brukes blodplatefritt citratplasma, dvs. etter sentrifugering skal dere bare bruke det gule plasmaet.

Unngå å bevege for mye på røret. Unngå å stikke pipettespissen ned i laget med celler.

- Etter 3-5 minutter: flytt kyvetten med prøven til prøvekammeret. Mål opp 100µL kalsiumløsning.



- Trykk Reset , deretter Start på apparatet. Thrombotrack starter nedtelling fra 3 til 1, og lager en pipelyd når kalsiumløsningen skal tilsettes i kyvetten.
- Observer det som skjer i kyvetten. Apparatet stopper selv.
- Notér tiden i sekunder.

Enkeltprøve. 1 fra Før aktivitet, og 1 fra Etter aktivitet.

Notatskjema dag 2 for hver enkelt student

Navn: _____ Dato: _____ Skal ikke leveres inn

Alle bruker blod fra rør med EDTA blod (lilla kork) fra syklist *før sykling*:

Hver enkelt student på 4-mannslaget skal selv lage blodutstryk, farge dette og utføre differensialtelling av leukocytter i mikroskop. Finn et godt område med 10-objektivet. Gå videre fra synsfelt til synsfelt med 100 * objektivet med immersjonsolje og identifiserer de ulike typene av leukocytter inntil du har funnet i alt minst 100 leukocytter. Sett strek i tabellen nedenfor for hver celle du identifiserer og regn sammen antallet i linjen under.

Den nederste raden i tabellen kan du først fylle ut etter at gruppen har fått resultatene fra maskinell telling av leukocytter med differensialtelling se kursheftet. Bruk konsentrasjonen av leukocytter (før sykling) til å beregne konsentrasjon av hver enkelt celletype ut fra prosent av denne celletypen.

Her kan dere bruke app, lastes ned på din egen telefon:

<https://apps.apple.com/tr/app/diff-counter/id1439521172>

eller lage en strek for hver celle i skjema nedenfor:

Type celle	Segmentkjernete nøytrofile granulocytter	Stavkjernete nøytrofile granulocytter	Lymfocytter	Monocytter	Eosinofile granulocytter	Basofile granulo- cytter	Totalt antall leukocytter
Sett en strek for hver enkelt celle du identifiserer							Ikke sett streker her men tell sammen totalt antall nedenfor
Antall celler							
% av totalt antall leukocytter							
Konsentrasjon Regnes ut etter at dere har fått resultat fra maskinell telling Enhet $10^9/L$ <i>NB: føres over i samletabell innlevering</i>							Sett inn konsentrasjon av leukocytter fra maskinell telling enhet $10^9/L$

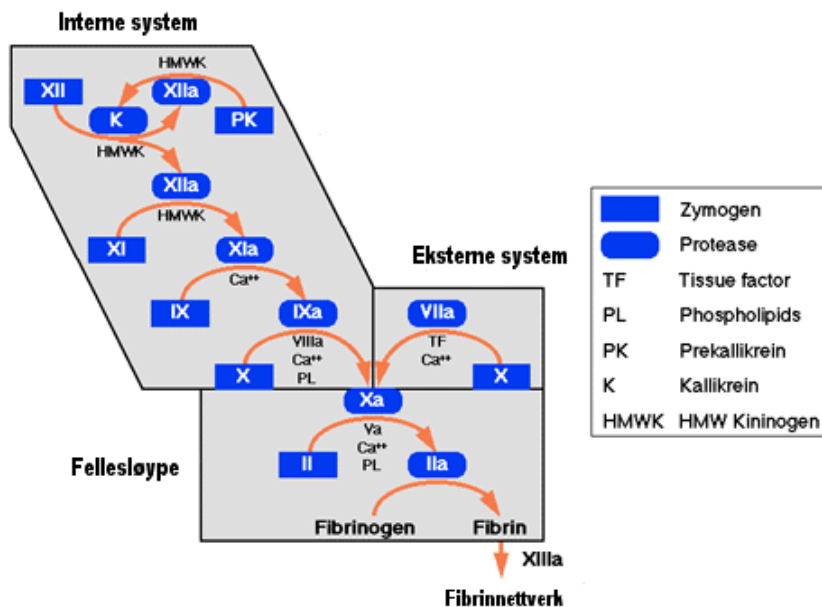
Koagulasjonstest, APTT

Hemostase er en fellesbetegnelse for de prosesser som forhindrer eller stanser blødninger. Skjematisk kan de hemostatiske prosesser deles i tre:

1. Vasokonstriksjon av skadede og nærliggende blodårer.
2. Dannelse av blodplateplugg.
3. Plasmakoagulasjon (fibrindannelse).

Disse tre typer prosesser vil gjensidig understøtte og influere hverandre. Vasokonstriksjon og dannelse av blodplateplugg kalles den primære hemostase, og fibrindannelsen kalles den sekundære.

Koagulasjonskaskaden:



HMW – High Molecular Weight

Under plasmakoagulasjonen er det et internt og et eksternt system. Det eksterne systemet trigges av vevsfaktorer (vevstromboplastin, VII og Ca²⁺) som frigjøres under en vevsskade. Det interne systemet aktiveres av kontakt mellom faktor XII og kollagen-fibre (eller fremmed flate).

Begge systemene kan aktivere, alene eller i kombinasjon, plasma faktor X, som sammen med andre faktorer omdanner protrombin (FII) til trombin, som i sin tur omdanner fibrinogen (FI) til fibrin. Systemene har dermed en fellesløpe fra X → Xa.

Både det eksterne og det interne system er nødvendige for normal hemostase.

APTT-testen dere skal bruke, er følsom for koagulasjonsfaktormangler i det indre koagulasjonssystem og felles reaksjonsvei, men det er først og fremst mangel på FVIII og FIX (som mangler i henholdsvis hemofili A og B), som forlenger APTT-tiden, bortsett fra personer som får K-vitamin-antagonister, siden Warfarin (Marevan®) reduserer faktorene II, VII, IX og X.

Prøven er ufølsom for defekt faktor VII og XIII. APTT kan også brukes som metode for måling av heparineffekt, siden heparin aktiviserer anti-trombin. Prøvematerialet til testen er citratplasma fra den som har syklet og et APTT-reagens med ellaginsyre og fosfolipider fra dyrehjerne. Kalsiumioner tilsettes for å starte reaksjonen.

Testprinsipp:

APTT-testen er basert på aktivering av plasmaet vha en kontaktaktivator (ellaginsyre – negativt ladet) i nærvær av fosfolipider, som en erstatning for aktiverte blodplater.

Den er en såkalt «Clot-test».

Etter blanding og inkubering ved rett temperatur tilsettes et overskudd av kalsiumioner.

Koaguleringstiden som oppnås, vil bestemmes av mengden koagulasjonsfaktorer som er til stede i plasmaprøven.

På denne måten vil nedsatt konsentrasjon eller funksjon av noen av de involverte faktorene, (sjeldnere spesifikke eller uspesifikke hemmere i prøven), gi en økning av koagulasjonstiden.

Referanseområdet for APTT er satt etter måling på friske, ustressede, personer som har vært i ro minst 20 minutter før blodprøvetaking. Det er kjent at APTT reduseres umiddelbart etter hardt fysisk arbeid, men at verdien normaliseres ganske raskt etter anstrengelsen.

Venøst blod tappes i vacutainerrør tilsatt 3,2 % natriumcitrat. Bland blod og antikoagulant forsiktig ved hjelp av vending av røret, minst 5 ganger. Merk rørene med navn (og E eller F), og sett dem i stativ fremme på kateteret. Vi sentrifugerer de korkede rørene ved romtemperatur i minst 10 minutter ved 3000 rcf. Prøver der det endelige forholdet mellom Na-citrat og prøve ikke er korrekt (dvs. ikke nok blod), eller hemolyse (rødt plasma) vil gi feil prøvesvar.

Referanseområde: Avhengig av hvilke reagenser som brukes. 25-39 sekunder.

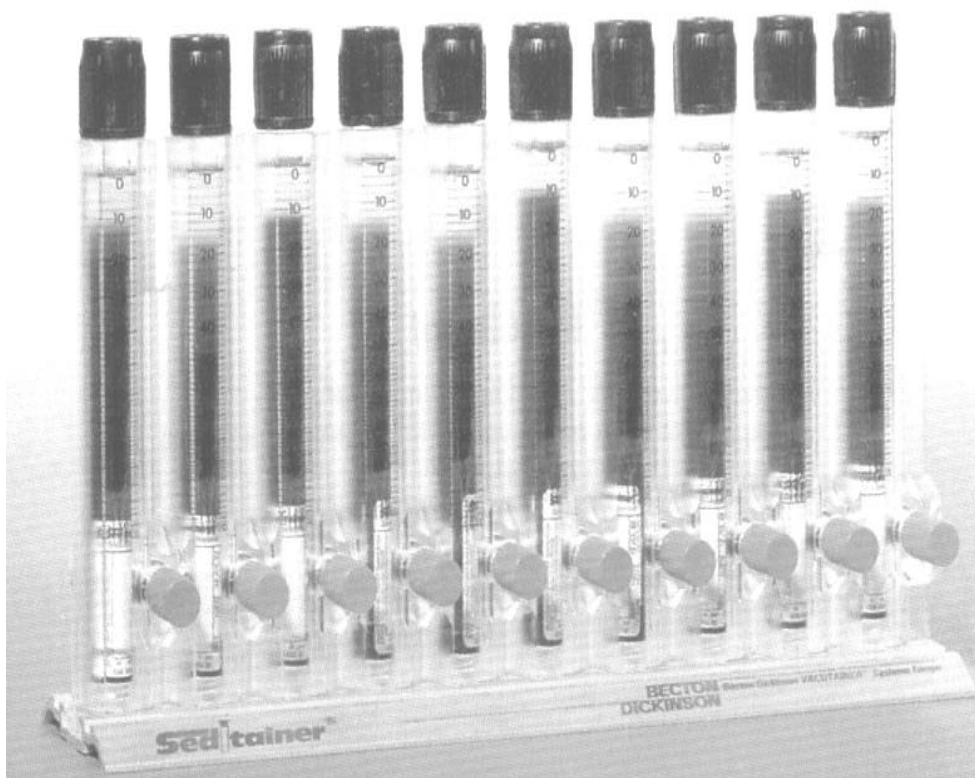
Blodkurs Dag 3 Digitalt

Senkningsreaksjonen SR

Mekanismen for erytrocytt-sedimenteringen (SR). Erytrocytter (RBC) er tyngre enn plasma. Når antikoagulert blod står stille, vil blodlegemene synke nedover (sedimentere). Sedimenteringshastigheten vil øke hvis erytrocyttene legger seg på rekke og rad etter hverandre, vi kaller dette "pengerull-dannelse" ("rouleaux"-formasjon). De viktigste faktorer som stimulerer til "pengerull-dannelse", er plasmaproteiner med høy molekylvekt og langstrakt form, som fibrinogen. Størrelse og form på erytrocyttene spiller også en rolle. Små erytrocytter danner lettere pengeruller enn normalt store celler. "Pengerulldannelse" øker også når EVF synker (anemi).

Vi bruker spesialrør: **Seditainer-rør:** Silikonert vakuumbør med 1.3 ml citratløsning, indre diameter: ca. 9 mm, blodsylenes lengde 100 mm. Røret fylles automatisk med 5.2 ml blod ved venepunksjon, og du må blande grundig ved å snu opp-ned minst 8-10 ganger. Røret settes deretter i spesialstativ og avleses etter *nøyaktig* 60 min.

Referanseverdier: Menn: 0-15 (> 50 år: 0-20), kvinner: 0-20 (> 50 år: 0-25) mm/time. SR øker med alderen, over 60 år kan både menn og kvinner ha verdier på ca. 20 uten spesiell årsak. Forhøyede verdier også ved anemi og svangerskap.



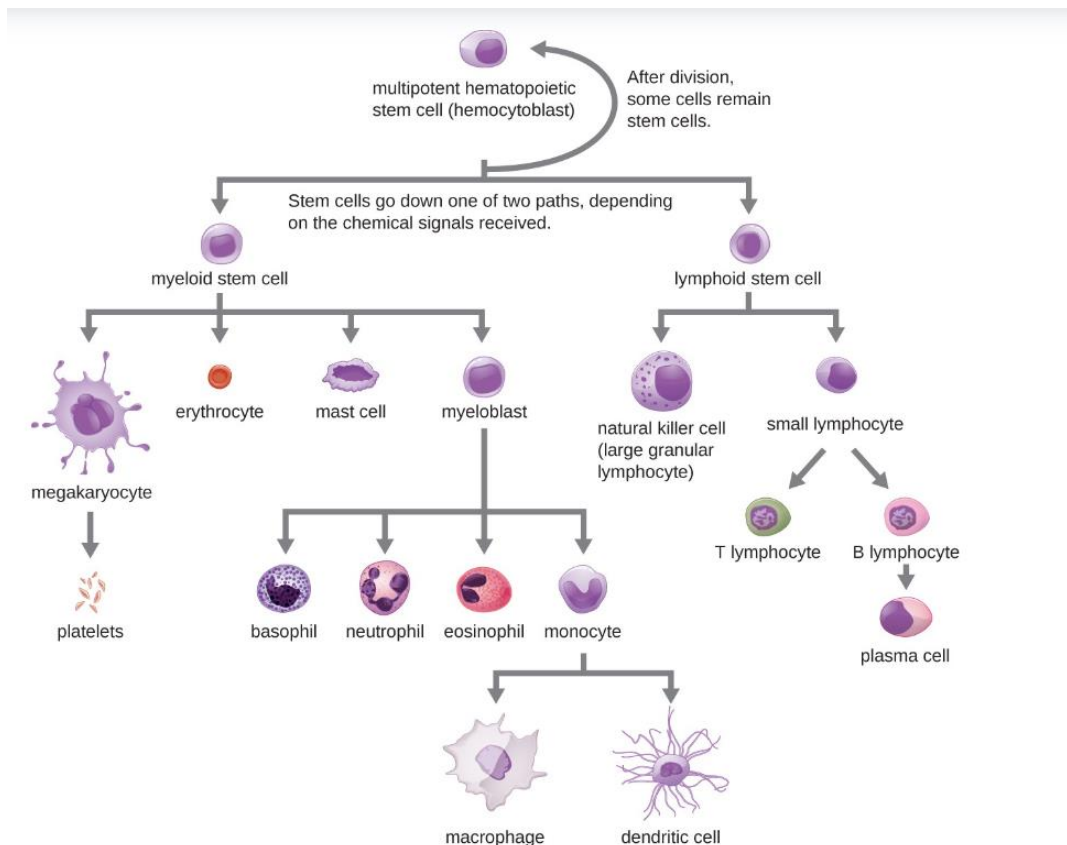
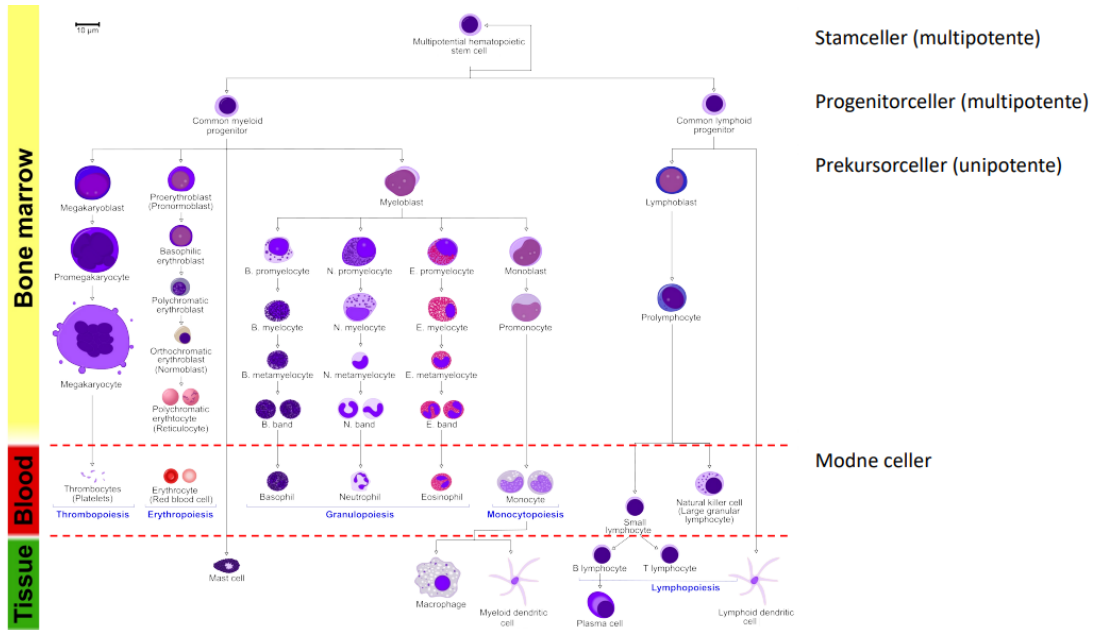
Liste over aktuelle pasienter som dere skal diagnostisere Dag 3 (digitalt kurs)

1. Frisk, 22 år gammel mannlig medisinstudent som nylig har tatt vaksine.
2. Kvinnelig, 23 år gammel medisinstudent som lenge har hatt sterke menstruasjonsblødninger.
3. Mann, 60 år, med kronisk myelogen (granulocytær) leukemi, ukontrollert dannelse av granulocytter som «oversvømmer» organismen. Mange flere leukocytter enn normalt i blodet, inklusive umodne granulocytter.
4. Mann, 70 år, med kronisk lymfatisk leukemi (mange lymfocytter i blodet, ofte ødelagt i utstryk). Se lærematerialet nevnt under pasient 3.
5. Barn, 4 år, med akutt lymfatisk leukemi (anemi og lymfoblaster i blodet; se lærematerialet ovenfor).
6. Mann, 40 år, med akutt myelogen leukemi (anemi og myeloblaster/promyelocytter i blodet; se lærematerialet).
7. Mann, 45 år, med benmargsaplasi etter langvarig medikamentforbruk (se kompendiet «Blodcellenes fysiologi og hemostasen»).
8. Kvinne, 30 år, med hudblødninger p.g.a. allergisk trombocytopeni (svært få blodplater i blodet).
9. Mann, 70 år, med anemi p.g.a. tykktarmskreft.
10. Kvinne, 65 år, med anemi p.g.a. kronisk nyrebekkenbetennelse. (Gjentatte, øvre urinveisinfeksjoner.)
11. Mannlig medisinstudent, 23 år, fra filariasis-endemisk område. Filariasis er en parasitt- (orme-)sykdom.

Teori, blodcellene

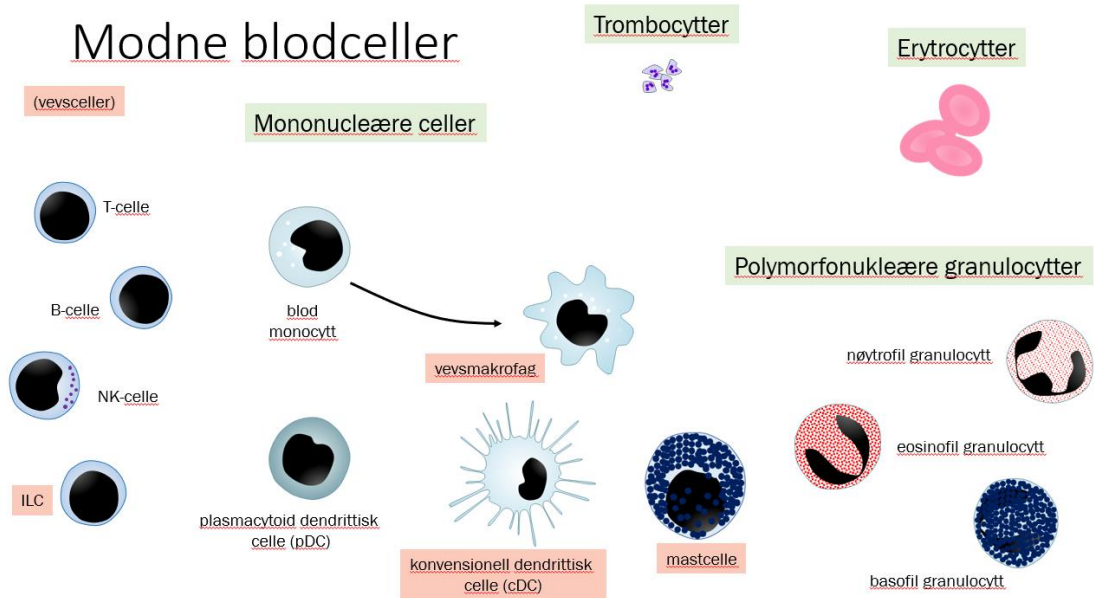
Forelesninger og histologi-kurs beskriver de ulike blodcellene og deres funksjon. Cellene produseres i beinmarg og frisettes til blodet.

Vi har den myeloide rekken og den lymfoide rekken.



Hentet fra forelesningen til Michael Daws

Modne blodceller



Leukocytter = Hvite blodceller De fire leukemitypene

<p>Akutt lymfatisk leukemi</p> <p>Foto: F. Wisløff</p>		<p>Akutt myelogen leukemi</p> <p>Foto: F. Wisløff</p>
<p>Kronisk lymfatisk leukemi</p> <p>Foto: E. Knudsen</p>	<p>Kronisk myelogen leukemi</p> <p>Foto: F. Wisløff</p>	

<https://kreftlex.no/Leukemi>
Om leukemi

Leukemi er blodkreft og betyr "hvitt blod".

Akutt leukemi skyldes ondartet vekst av umodne hvite blodlegemer som fører til en opphopning av umodne hvite blodlegemer (blaster) i benmargen og blodet.

Kjennskap til konsentrasjonen av **leukocytter, WBC**, er ofte viktig i praktisk medisin. En mengde patologiske tilstander er ledsaget av avvik fra normal leukocyttkonsentrasjon i blodet. Ved de vanligste bakterielle infeksjonssykdommer øker tallet av sirkulerende *nøytrofile granulocytter*, dessuten sees ofte ikke helt modne granulocytter, spesielt stavkjernede, i blodet («venstreforskyvning»).

De nøytrofile granulocytter har kort levetid både i blod (halveringstid ca. 7 timer) og i vev (maks. 1-2 døgn). De er fagocyterende og kan drepe og bryte ned oppspiste mikrober. Fagosom-membranen og nøytrofile granula inneholder de nødvendige enzymer etc. for disse funksjonene (oksidaser, peroksidaser, kationiske proteiner, lactoferrin, sure hydrolaser, alkalisk fosfatase, lysozym, etc.). Granulocytt-produkter frigjøres ikke bare til endocytosevakuolene, men også til ekstra-cellulært vev, som dermed kan skades.

Eosinofile granulocytter, med tydelig større korn enn de nøytrofile, finnes i øket mengde i blod og affiserte vev ved visse overømfintlighets-tilstander (allergi) og ved parasitt-infeksjoner. Funksjonen er til dels ukjent, men bl.a. cytokinet eotaxin og histamin synes å tiltrekke de eosinofile granulocytter, som antas å drepe parasitter og bidra til vevsskaden ved allergiske reaksjoner som bronkial astma.

Basofile granulocytter vet man enda mindre om. De er trolig funksjonelt beslektet med mastcellene som finnes i alt løst bindevev og som bl.a. inneholder histamin, andre betennelsesmediatorer og heparin i granula.

Monocytter dannes i beinmargen, sirkulerer få dager eller timer i blodet og utvikler seg til makrofager i vevene.

Lymfocytter er morfologisk pregløse, men funksjonelt forskjellig-artede. De kan være kortlivede (dager) eller lang-livede (opptil flere år, "hukommelses-celler"). De langlivede utgjør majoriteten i blodet. Lymfocytter dannet i thymus (T-lymfocytter) er effektorceller i det *cellulære immunsvaret*. B-lymfocytter fra beinmargen sørger for det humorale immunsvaret, ved at de utvikles til plasmaceller som lager immunoglobuliner (antistoffene). *Non-T-non-B-mononukleære leukocytter* (dvs. bl.a. NK-celler) spiller kanskje viktige roller i forkastelsesreaksjoner. De har gjerne mer cytoplasma enn de typiske lymfocytene, samt cytoplasmatiske granula. Lymfocytter finnes i økt mengde i blodet ved en del virussykdommer og kroniske sykdommer. Antallet kan synke bl.a. hos kreft-pasienter som behandles med cellegifter.

Erytrocytter = Røde blodceller

Dette er celler som ikke har kjerne, den fjernes fra cellen helt i slutten av utviklingen i beinmargen. Etter at cellekjernen er fjernet er det rester av proteinsynteseapparatet i noen dager og cellen kalles da en retikulyocyt i noen dager kan den sirkulere i perifert blod før den blir til en moden erytrocytt.

Det er ca. 1000 ganger flere erytrocytter enn leukocytt. Blodcellenes levealder:

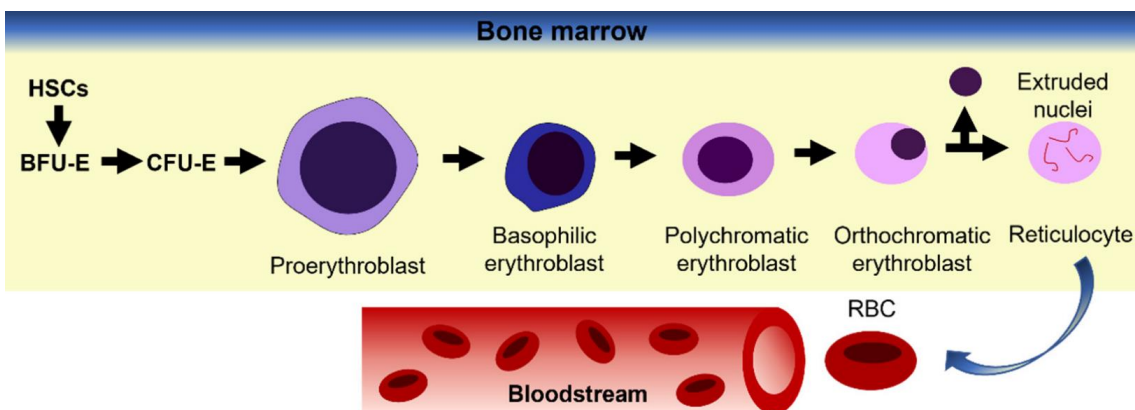
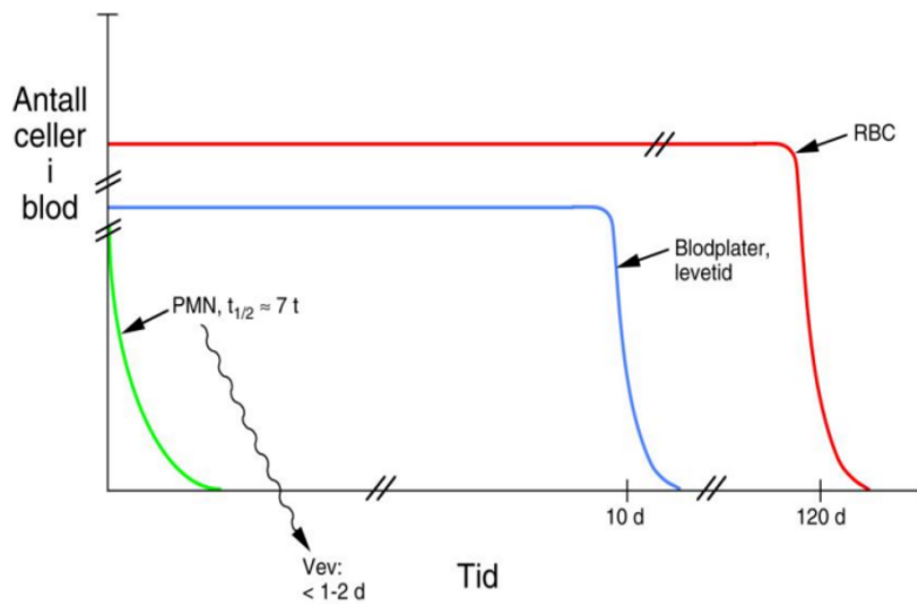
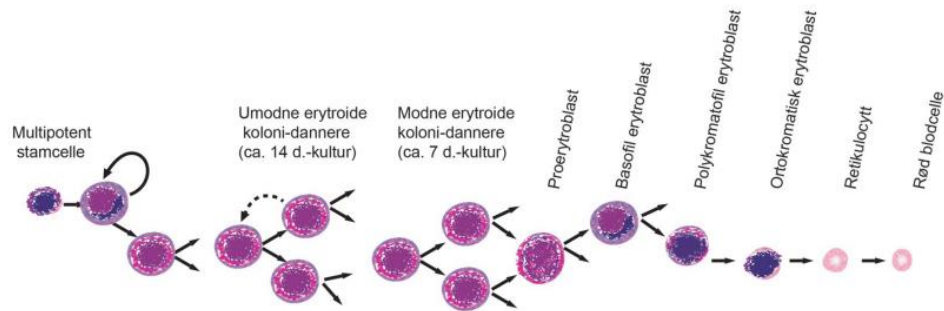


Figure 3. Erythropoiesis model. Hemopoietic stem cells (HSC) resident in the bone marrow proliferate and differentiate into burst-forming units (BFU-E) which further differentiate into highly proliferative colony forming units (CFU-E). Further differentiation gives rise to the earliest erythroblast progenitors, proerythroblasts. Maturation of erythroid progenitors is marked by changes in cell size, hemoglobinization, increased chromatin condensation and finally enucleation. The resultant cell is a reticulocyte which is released into the circulation to complete the final stage of maturation into an erythrocyte. Adapted from Shah, Huang and Cheng [46].

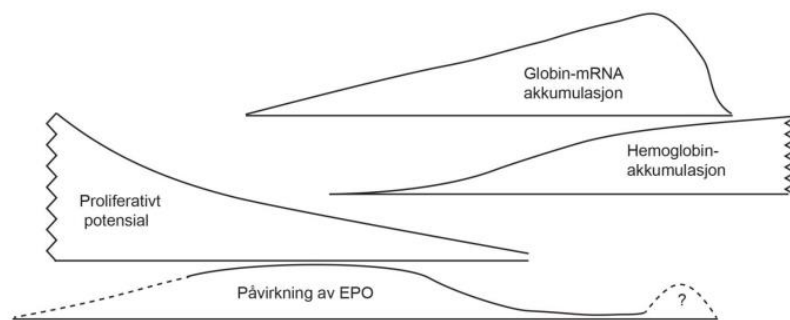
Erytropoiese



Erytropoiesen

Også påvirket av:

- Andre hormoner og cytokiner (IL-3, SCF, IGF1, kortisol, etc.)



Sigdcellesykdom

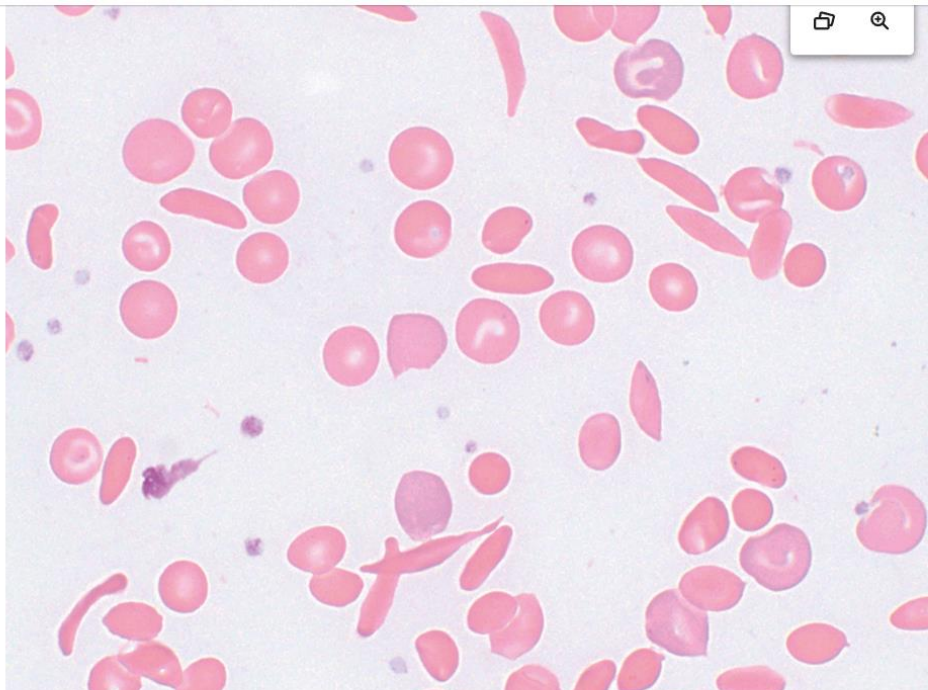


FIG. 3-10 Sickle cell anemia. Peripheral smear demonstrating numerous sickle cells and increased reticulocytes (100× objective).

Trombocytter = Blodplater

Trombocytt-dannelse og regulering

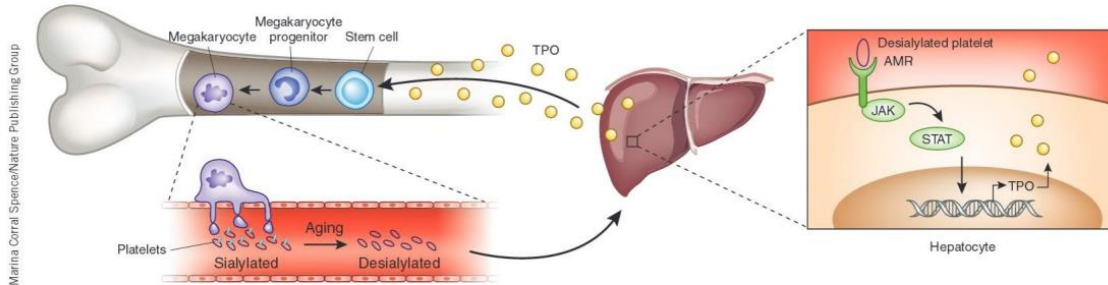


Figure 1 Regulation of TPO production. Grozovsky *et al.*¹¹ now identify a sensing mechanism that can modulate the rate of TPO synthesis and subsequent platelet production. They show that clearance of aged platelets by the AMR on hepatocytes triggers upregulation of liver TPO production. Sialic acid is lost from the surface of platelets as they circulate, exposing galactose moieties. This triggers recognition by the AMR. Uptake of desialylated platelets by hepatocytes stimulates JAK-STAT signaling and subsequent upregulation of TPO mRNA expression. This leads to a rise in serum TPO levels and consequent increase in megakaryopoiesis and platelet biogenesis.

Kile BT. (2015) *Nature Medicine* 21:11.

Trombocytter, *blodplater*, dannes fra benmargens megakaryocytter. De er viktige for hemostasen først og fremst ved at de kan danne en forseglende plateplugg. De inneholder også visse koagulasjonsfaktorer og er ansvarlige for koagelretraksjonen. Man skal alltid se til at de er til stede i blodutstryk som differensialtelles. Normalt skal du se omtrent en trombocytt pr. 20 erytrocytter. Utstryk av blod fra punksjonssår er mindre egnet til dette. Platene klumper seg lett og adhererer dessuten til sårrendene. EDTA-blod tatt med venepunksjon er meget bedre til bedømmelse av platetallet i blodutstryk. I klinikken telles blodplatene elektronisk.

Fysiologisk leukocytose

Ved fysisk aktivitet vil det skje forbigående endringer i konsentrasjon av erythrocytter og leukocytter i blodet. Derfor bør ikke blodprøver tas i timene etter større anstrengelser, og pasienten bør sitte i ro minst 15 minutter før prøven blir tatt.

Etter kortvarig fysisk aktivitet, som for eksempel 5 minutter sykling på kursdag 2, vil vi finne en økt konsentrasjon av leukocytter. Denne økningen består vanligvis av både granulocytter og lymfocytter.

Disse leukocytene kommer *ikke fra nyproduksjon i beinmargen*, men fra blodårene i milt, lever, lunger og beinmarg. I disse blodårene ligger det leukocytter langs veggene, vi kaller det randstilte leukocytter. Når sirkulasjonen øker ved fysisk aktivitet, vil blodet strømme fortere og celler som ligger langs veggene kommer i bevegelse (blir mobilisert). Derfor kommer disse, som var gjemt bort langs veggene, med i en venøs blodprøve. Etter at fysisk aktivitet er avsluttet vil tilstanden gå tilbake til at disse cellene igjen ligger randstilt, og leukocyttkonsentrasjonen i den venøse prøver synker igjen.

Imidlertid vil langvarig fysisk aktivitet føre til at det mobiliseres leukocytter fra nyproduksjonen i beinmarg. Det kommer altså nye leukocytter, hovedsakelig neutrofile granulocytter, fra beinmarg over i blodsirkulasjonen. Økningen her kan være større enn ved den kortvarige fysiske aktiviteten, og den varer ved i lang tid etter avsluttet aktivitet. Siden dette er nyproduserte celler, vil vi finne en økt andel av stavkjernete neutrofile granulocytter (dette kalles venstreforskyvning).

Nedenfor ser du resultatet fra tidligere kurs der noen studenter utførte et langvarig fysisk arbeid, de løp i 1 time. Prøve ble tatt før løping og 3 timer etter avsluttet løping.




Sammenlign dette med det dere finner ved 5 minutter sykling.

Resultater, fra kurs 2019: Prøver tatt før student startet å løpe i 1 time, og ny prøve tatt 3 timer etter avsluttet løping. Verdiene er differansen etter – før: **Median** med 95 % konfidensintervall i parentes

N=44	Puls	Hb	Leuko-cytter	Segmenterte neutrofile granulocytter	Stavkjernete neutrofile granulocytter	Lymfo-cytter	Mono-cytter	Eosino-file
Enhet	Slag/min	g/dl	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L	10 ⁹ /L
Etter -før	-1 (-5 til 2)	0 (-0,2 til 0,1)	5,97 (4,8 til 8,3)	4,82 (3,79 til 6,48)	0,96 (0,54 til 1,63)	0,11 (0,05 til 0,38)	0,13 (-0,05 til 0,29)	0,07 (-0,04 til 0,19)

Hjelpemidler



<https://www.cellavision.com/en/cellavision-cellatlas>


CELLAVISION Our products Customer stories About us Careers Contact us   


🏠 > CellaVision® CellAtlas

Welcome to CellaVision® CellAtlas


CellaVision CellAtlas is an app developed by CellaVision in close partnership with morphology experts from around the world. It combines a series of mini lectures with an extensive cell image library – giving students and laboratory professionals a top-line introduction to cell morphology. Download it on your smartphone today or explore the online- version below.







Hematopoiesis



Leukocytes in
Peripheral Blood



Erythrocytes in
Peripheral Blood





Other findings in
Peripheral Blood

<http://brukerhandboken.no/index.php>

Et fint sted å lese om laboratorieanalyser: Finnes også som App

<http://brukerhandboken.no/index.php>

 **Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi**

Søk i analyselisten ... 

Analyser som begynner på ... **A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z Æ Ø Å 1 2 5**

Analyseoversikt >

Oppdatert 09.03.2022

**Prøvetaking og -
håndtering** >

Oppdatert 11.10.2021

Tolking av prøvesvar >

Oppdatert 03.09.2021


**Om analyse-
beskrivelsene** >

Oppdatert 09.09.2014

Redaktørgruppen
 Morten Lindberg (leder), Sykehuset i Vestfold
 Gunhild Garmo Hov, St.Olavs hospital
 Ingrid Hardang, Akerhus universitetssykehus
 Anne-Lise Bierke Mønsen, Haukeland universitetssykehus

<https://ous.labfag.no/>

Se også <https://ous.labfag.no/> for startside i ny Brukerhåndbok.

Søk i hele analyselisten til OUS ... 

Analysersom begynner på ... **A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z Æ Ø Å 1 2 3 5 6 7**

Medisinsk biokjemi Brukerhåndbok - Oppdatert 20.04.2022 >	Medisinsk mikrobiologi Brukerhåndbok - Oppdatert 22.04.2022 >	Immunologi og transfusjonsmedisin Brukerhåndbok - Oppdatert 26.04.2022 >
Klinisk farmakologi Brukerhåndbok - Oppdatert 25.03.2022 >	Patologi Brukerhåndbok og rekvisisjoner >	Genetikk Brukerhåndbok - Oppdatert 21.04.2022 >