

## Tentamens

### Hematologie 2007

#### Vraag 1

De heer C. wordt in 2005 verwezen naar de polikliniek Interne Geneeskunde in verband met een door de huisarts geconstateerde leukocytose. In het ziekenhuis worden de volgende laboratoriumuitslagen gevonden:

Hb	8,9	mmol/l
Erytrocyten	4,67	$\times 10^{12}/l$
MCV	92	fl
MCH	1,9	fmol
MCHC	20,5	mmol/l
Trombocyten	352	$\times 10^9/l$
Leukocyten	26,4	$\times 10^9/l$

Leukocytendifferentiatie (hemocytometrie-automaat)

Neutrofielen	28%	7,3	$\times 10^9/l$
Lymfocyten	66%	17,1	$\times 10^9/l$
Monocyten	3%	1,0	$\times 10^9/l$
Eosinofielen	2%	0,6	$\times 10^9/l$
Basofielen	1%	0,4	$\times 10^9/l$

- a) Indien de heer C. 17 jaar is, aan welke diagnose zou U als eerste denken?  
Indien de heer C. 57 jaar is, aan welke diagnoses zou U als eerste denken?

Omdat er door de hemocytometrie-automaat een 'flag' is gegenereerd bij de lymfocyten is een manuele microscopische differentiatie op 100 cellen uitgevoerd. Resultaat van deze differentiatie:

Neutrofielen	37%	9,7	$\times 10^9/l$
Lymfocyten	44%	11,9	$\times 10^9/l$
Monocyten	6%	1,6	$\times 10^9/l$
Eosinofielen	4%	1,1	$\times 10^9/l$
Basofielen	4%	1,0	$\times 10^9/l$
Staven	4%	1,1	$\times 10^9/l$
Atypische lymfocyten		+++	
Gumprechtse schollen		+++	

- b) Vindt u de twee lymfocytentellingen onderling verschillend en zo ja, verklaar dit verschil (bijlage: Rümke-nomogram voor het bepalen van de 95%-betrouwbaarheids grenzen voor percentages, zoals in een differentiële telling).
- c) Welke bevinding mist u in de manuele differentiatie m.b.t. de diagnose?  
Op grond van de lymfocytose werd een immunofenotypering uitgevoerd.
- d) In de bijlage vindt u 4 beelden van lymfoïde cellen (1, 2, 3, 4), evenals 4 flowcytometrieplaatjes (A, B, C, D). Koppel de morfologiebeelden (nummers) aan de bijbehorende flowcytometrieplaatjes (letters).

#### Antwoorden vraag 1

- a) Bij een jongeman van 17 jaar is een viraal infectie, in het bijzonder een morbus Pfeiffer, het meest waarschijnlijk. Indien de heer 57 jaar is moet u vooral denken aan een lymfoproliferatieve ziekte, in het bijzonder aan een CLL.
- b) Manuele differentiaties hebben een grote statistische fout, zie hiervoor het zogenaamde Rümke-nomogram. In de hier uitgevoerde celtelling vinden we 44% lymfocyten. Dit geeft een 95%-betrouwbaarheidsinterval tussen 35% en 55% lymfocyten, indien 100 cellen worden geteld. In de absolute telling betekent dit een interval tussen 9,2 en 14,5  $\times 10^9/l$ . In de hemocytometrie-automaat worden echter 17,1  $\times 10^9/l$  lymfocyten geteld, een beduidend hoger aantal dan 14,5  $\times 10^9/l$ . Het verschil in de tellingen zal dan ook niet worden veroorzaakt door onnauwkeurigheid in de telling. De verklaring ligt zeer waarschijnlijk bij de Gumprechtse schollen. De kapotte lymfocyten worden niet meegeteld in de manuele differentiatie, maar als intacte lymfocyten worden ze wel meegeteld in de hemocytometrieautomaat.
- c) Een beschrijving van het aspect van de lymfoïde cellen ontbreekt. In het geval van een lymfocytose met Gumprechtse schollen geeft een beschrijving van de celkern (wel of niet blastair, gekliefd of juist met grumelee-patroon) belangrijke informatie m.b.t. de diagnose.
- d) Morfologiebeeld 1 toont het beeld van een chronische lymfatische leukemie, CLL. Dit past bij flowcytometriebeeld D: de cellen zijn zowel positief voor CD5 als voor CD23. Morfologiebeeld 2 toont het beeld van lymfocyten met enige chromatinecondensatie en een duidelijke nucleolus wat past bij een prolymfocyten leukemie, PLL. Dit type cellen hebben een sterke expressie van immunoglobuline-lichte-ketens die monoklonaal is; flowcytometriebeeld C. Morfologiebeeld 3 toont lymfocyttaire cellen met een harige cytoplasmairand: 'hairy cel'-leukemie, HCL. Dit past bij flowcytometriebeeld A: de cellen zijn zowel positief voor CD103 als voor CD25. Morfologiebeeld 4 toont cellen met een gekliefd kern zoals bij een leukemisch non-hodgkinlymfoom, mogelijk van het folliculaire subtype. Dit past bij flowcytometriebeeld B: de cellen zijn zowel positief voor CD20 als voor CD10. N.B.: de NHL-cellen hebben ook een sterke expressie van immunoglobulineketens, dus flowcytometriebeeld C is hier ook van toepassing, echter prolymfocyten passen niet bij flowcytometriebeeld B.

## Vraag 2

- a) Geef minstens 4 ziektebeelden die passen bij een macrocytaire anemie.  
U wordt gebeld door een huisarts over een mannelijke patiënt van 60 jaar met blasten en erytroblasten (normoblasten) in het perifere bloed.

### Laboratoriumresultaten

Hb	6,2	mmol/l
MCV	110	fl
Trombocyten	60	$\times 10^9/l$
Leukocyten	2,1	$\times 10^9/l$
LD	250	U//ml

### De handdifferentiatie\*

Neutrofielen	24 %	0,5	$\times 10^9/l$
Lymfocyten	62 %	1,3	$\times 10^9/l$
Monocyten	5 %	0,1	$\times 10^9/l$
Eosinofielen	5 %	0,1	$\times 10^9/l$
Blasten	5 %	0,1	$\times 10^9/l$
Erytroblasten:	10 /100 leukocyten		

\*opmerking bij de differentiatie: elliptocyten, poikilocytose en traandruppelcellen aanwezig.

- b) De huisarts vraagt u, in algemene zin, dus los van deze patiënt, naar de klinische betekenis van erytroblasten in het perifere bloed. Betrek in uw antwoord ook de leeftijd van de patiënten.
- c) Heeft u bij de bepaling van erytroblasten behoefte aan een nauwkeurig bepaalde concentratie of is een semi-kwantitatieve bepaling voldoende?
- d) Hoe interpreteert u de uitslagen bij deze patiënt en welk aanvullend onderzoek stelt u voor?  
Bij interpretatie van beenmergonderzoek is o.a. de celrijkdom van belang. Soms is er wat dat betreft een discrepantie tussen cytologisch onderzoek en histologisch onderzoek door de patholoog-anatoom.
- e) Welke factoren kunnen een discrepantie in celrijkdom tussen cytologisch en histologisch beenmergonderzoek verklaren?
- f) Noem 3 belangrijke verschillen in de AML-subklassificatie volgens de WHO versus AML-subklassificatie volgens de FAB.

## Antwoorden vraag 2

- a) Ziektebeelden die passen bij een macrocytaire anemie zijn onder andere: tekort aan foliumzuur of vitamine B12 (pernicieuze of megaloblastaire anemie), MDS, anemie bij alcoholabusus, hypothyreoïdie en hemolytische anemie.
- b) Bij (premature) neonaten kunnen erytroblasten in perifere bloed worden gevonden zonder evidente pathologie, deze verdwijnen meestal binnen enkele dagen. De referentiewaarden voor kinderen en volwassenen is <1%. Aanwezigheid van erytroblasten in het bloed is bij deze patiënten dus altijd afwijkend, echter niet specifiek voor een bepaalde aandoening. Het kan passen bij een sterke linksverschuiving in de rode reeks door acuut bloedverlies of hemolyse, vaak in combinatie met reticulocytose. Maar ook bij beenmergziekten zoals MDS,

myelofibrose en leukemie kunnen erytroblasten in perifere bloed worden aangetroffen. Dit laatste komt vaker voor bij de oudere patiënt.

- c) Voor de kliniek is een semikwantitatieve benadering van het aantal erytroblasten in principe voldoende. Echter, erytroblasten worden vaak door de hemocytometrieautomaat geteld als leukocyten. Voor een juiste correctie van de leukocytenconcentratie is een exacte telling vereist.
- d) Er is sprake van een pancytopenie met een leukoerytroblastair bloedbeeld. Door het ontbreken van klinische gegevens is de differentiaaldiagnose vrij uitgebreid.

Dit beeld kan primair passen bij beenmergziekten zoals MDS, leukemie en extramedullaire hematopoïese (door verdringing of myelofibrose). De aanwezigheid van traandruppelcellen in combinatie met erytroblasten doet sterk denken aan dit laatste. Voor vervolgonderzoek zou men moeten adviseren: beenmergonderzoek en cytogenetica. Flowcytometrie is niet per definitie noodzakelijk, maar kan eventueel nuttig zijn om blasten te typeren.

Vitamine-B12- of foliumzuurtekort als belangrijkste verklaring voor het complete bloedbeeld is minder waarschijnlijk (gezien het MCV en het ontbreken van hypersegmentatie). Dit geldt ook voor hemolyse, maar de diverse parameters kunnen wel in het vervolgonderzoek worden meegenomen.

- e) In principe geeft histologisch onderzoek de celrijkdom het beste weer. Mogelijke redenen voor discrepanties in celrijkdom tussen cytologisch materiaal (aspiraats) en histologisch materiaal (biopt) zijn de volgende.

- Een technisch slecht uitgevoerde punctie met veel bloedbimenging in het aspiraats, een biopt zal dan een ander beeld van de celrijkdom geven.
- Een 'dry tap', bij hypercellulair merg bij leukemie ('packed marrow'). Een goed biopt zal in dat geval juist celrijk zijn.
- Beenmerg is niet overal even celrijk, zeker bij de oudere patiënt. Zo kan er een verschil zijn tussen sternum en crista, maar ook is er soms sprake van celrijke haarden of ordening van cellen langs de botbalkjes. De term 'sampling error' is hierbij ook van toepassing.

- f) Verschillen tussen de AML-subclassificatie volgens de WHO en de FAB:

Bij de WHO spelen cytogenetische afwijkingen een meer prominente rol bij de subclassificatie. Morfologie en immuuncytologie zijn belangrijk indien specifieke cytogenetische afwijkingen ontbreken.

Patiënten met AML die in de voorgeschiedenis cytotoxische therapie hebben ondergaan vormen een aparte categorie. Bij de FAB is dit niet het geval. AML met dysplastische kenmerken in meerdere cellijnen is een aparte entiteit geworden. Deze is mogelijk ontstaan uit een MDS.

Het minimale aantal blasten voor de diagnose acute leukemie is verlaagd van 30% naar 20%. Daarmee is de FAB-categorie RAEB-t komen te vervallen.

### Vraag 3

Na een langdurig verblijf in een ander ziekenhuis wordt een 60-jarige man een respiratoire insufficiëntie opgenomen op de intensive care van uw ziekenhuis. Bij opname op de intensive care wordt bloedonderzoek gedaan:

#### Laboratoriumresultaten

Hb	5,5	mmol/l
Trombocyten	40	$\times 10^9/l$
Leukocyten	15,3	$\times 10^9/l$
APTT	59,1	sec
PT	35,7	sec

De patiënt gebruikt geen cumarinderivaten of ongefractioneerd heparine, wel laagmoleculairgewichtheparine in profylactische dosering. U mag er van uitgaan dat er geen sprake is van pseudotrombocytopenie.

- Wat betekenen de afkortingen 'PT' en 'APTT'? Beschrijf van beide testen in welke stappen ze verlopen en welke reagentia daarbij gebruikt worden (geen merknamen maar beschrijvend). Welke parameters worden er per test mee gemeten?
- Noem drie belangrijke mogelijke oorzaken, niet specifiek voor deze patiënt, voor een combinatie van een verlaagde trombocytenconcentratie en verlengde PT- en APTT-waarden.

Aanvullende uitslagen van deze patiënt (zelfde bloedafname):

			Referentiewaarden
D-dimeren	0,46	mg/l	< 0,5* = beslissgrens uitsluiten VTE
Fibrinogeen	2,9	g/l	1,8 - 3,8

- Hoe interpreteert u deze aanvullende uitslagen bij deze patiënt? Kunt u op basis van deze waarden één of meer van de in 'vraag b' gevraagde oorzaken uitsluiten?

De volgende bepalingen worden gedaan in materiaal van dezelfde bloedafname. Bovendien blijkt bij de patiënt sprake te zijn van langdurige multi-organfalen, waarbij zowel de nieren, darmen, lever en milt betrokken zijn.

	Dag 1		Referentiewaarden
Antitrombine	31	%	80-140
Factor V	84	%	75-120
Factor VII	7	%	75-120
Factor VIII	166	%	60-150
Factor IX	28	%	60-150
Factor X	15	%	75-120

- Waar ziet u de primaire oorzaak voor de verlaagde stollingsfactoren? En voor het verlaagde antitrombine?
- Hebt u nu het verlaagde aantal trombocyten verklaard? Zo ja licht toe, zo nee welk aanvullend onderzoek is nodig?

### Antwoorden vraag 3

- PT betekent protrombinetijd en APTT is de geactiveerde partiële tromboplastinetijd.

PT: door toevoeging van tromboplastine ('tissue factor' en fosfolipiden) en calcium aan citraatplasma van de patiënt wordt factor VII en dus de extrinsieke activatieroute geactiveerd. De tijd tussen recalcificatie en de vorming van fibrine wordt gemeten. Een verlengde PT wijst op deficiënties van factoren uit de extrinsieke en de gemeenschappelijke route (VII, X, V, II, en fibrinogeen).

APTT: citraatplasma van de patiënt wordt gemengd met een activator van factor XII (glas, silica, elaginezuur) en fosfolipiden. Dit wordt na een korte precubatie gerecalcificeerd. De tijd tussen recalcificatie en fibrinevorming wordt gemeten. Verlengde waarden worden gevonden bij tekort van factoren uit de intrinsieke en de gemeenschappelijke route (XII, HMWK, prekallikreïne, XI, IX, VIII, X, V, II, en fibrinogeen)

- Oorzaken voor een combinatie van een verlaagde trombocytenconcentratie en verlengde stollingsfactoren zijn de volgende.

- Groot, niet acuut bloedverlies door een combinatie van depletie en verbruik (eventueel treedt ook verdunning op bij een massale erythrocytentransfusie).
- Diffuse intravasale stolling geeft verbruik van trombocyten en stollingsfactoren.
- Hepatosplenomegalie, of leverfalen in combinatie met hypersplenisme, geeft een aanmaakdefect van stollingsfactoren in de lever en trombocytenpooling in de milt.

Andere combinatiebeelden zijn ook mogelijk maar meestal minder waarschijnlijk.

- D-dimeerconcentratie is niet verhoogd. Blijkbaar is er geen toegenomen fibrinevorming. Dit duidt op een ontbreken van stollingsactivatie. Het maakt verbruik van stollingsfactoren als basis voor de verlengde PT en APTT onwaarschijnlijk, waarmee DIS lijkt uitgesloten. Fibrinogeen is een acuutfase-eiwit. Daarom moet men voorzichtig zijn bij het interpreteren van deze uitslag. Een verlaging treedt op bij o.a. DIS en leverfalen.
- Alle vitamine-K-afhankelijke stollingsfactoren zijn verlaagd. Een langdurige darmstoornis kan vitamine-K-deficiëntie tot gevolg hebben. Eiwitverlies via de nier speelt mogelijk ook nog een rol, dit kan een verklaring zijn voor o.a. het verlaagde anti-trombine. Bij een nefrotisch syndroom treedt vaak verlies van anti-trombine op, maar die conclusie kan bij deze patiënt niet met zekerheid worden getrokken op basis van de gegevens. Een aanmaakstoornis in de lever lijkt niet aan de orde want factor VIII, factor V en fibrinogeen zijn niet verlaagd. Ook verbruik is minder waarschijnlijk (zie vraag c).
- Het lage trombocytenaantal is nog niet verklaard. Aanvullend onderzoek naar mogelijke oorzaken van de trombopenie is geïndiceerd. Hierbij is verbruik en afbraak van trombocyten meer waarschijnlijk de oorzaak dan een aanmaakstoornis:

Pooling in de milt stelt men vast op basis van het klinisch beeld.

HIT (heparin induced trombocytopenia) treedt vaker op bij ongefractioneerd heparine, maar soms ook bij laagmoleculairgewichtheparine (LMWH, bijv. Fragmin). Een stijging van het trombocytentelgetal na het staken van de toediening is hiervoor een aanwijzing, of onderzoek naar antistoffen tegen PF4-heparinecomplexen.

TTP kan fragmentocyten in het perifeer bloeduitstrijkje te zien geven; verder kenmerken van hemolyse.

ITP is een diagnose per exclusionem.

Voor het vaststellen van een aanmaakstoornis is beenmergonderzoek vereist.

#### Vraag 4

Vandaag, 3 november, wordt voor de heer S., 50 jaar, bloedserologisch onderzoek aangevraagd i.v.m. een vandaag noodzakelijke transfusie. De voorgeschiedenis vermeldt:

- 1996 Ziekenhuisopname ten gevolge van een auto-ongeluk, waarbij een splenectomie noodzakelijk was en tevens veel bloed werd getransfundeerd.
- 1999 Nierlijden met een in de tijd steeds verder oplopende creatininespiegel in het bloed.
- 2002 In verban met de verslechterde nierfunctie wordt besloten tot nierdialyse.
- 2007 24 september: niertransplantatie, waarbij de nier door zijn oudere zus (die HLA-compatibel bleek te zijn) wordt gedoneerd.

Zowel gedurende de jaren van dialyse als tijdens en na de niertransplantatie zijn geen bloedproducten toegediend.

Bij het bloedserologisch onderzoek worden kolomagglutinatietechnieken gebruikt.

Resultaten van het pretransplantatie bloedserologisch onderzoek op 20 september jl.:

Patiëntenerythrocyten		Patiëntenplasma	
Anti-A:	negatief	A1 erythrocyten	3+
Anti-B:	negatief	B erythrocyten	2+
Anti-D:	4+		
Anti-K:	negatief		
Anti-C:	negatief		
Anti-E:	4+		
Anti-c:	4+		
Anti-e:	negatief		

Screeningscellen		DAGT	
Cel 1:	3+	Polyklonaal anti-Hu-Ig:	negatief
Cel 2:	negatief	Anti-IgG:	negatief
Cel 3:	+	Anti-C3d:	negatief

Naar aanleiding van de positieve IAGT-screening verricht het laboratorium de identificatie van irregulaire antistoffen met het plasma van de patiënt en heeft hiervoor een 11-celpanel ingezet. De resultaten van het onderzoek van '20 september' voor de niertransplantatie en van vandaag zijn weergegeven op de panelbladen genaamd '20 september' en vandaag.

Daarnaast blijkt vandaag (3 november) ook de DAGT positief te zijn:

DAGT: Polyklonaal anti-Hu-Ig 3+; anti-IgG 3+; anti-C3d negatief

- a) Wat is de bloedgroep en wat is het resusfenotype van de patiënt?
- b) Welke irregulaire antistoffen zijn vóór de niertransplantatie (20 september) aanwezig? Welke antistoffen kunt u op basis van dit ene panel niet uitsluiten?
- c) Welke extra irregulaire antistof wordt op 3 november gevonden?
- d) Wat kan de oorzaak zijn van de vandaag op 3 november gevonden extra antistof?
- e) Is het noodzakelijk dat er i.v.m. het resultaat van de DAGT een elutie van de erythrocyten wordt uitgevoerd, alvorens bloed kan worden uitgegeven?

#### Antwoorden vraag 4

- a) Bloedgroep: O, Rh(D)-positief; K-negatief; resuspatroon: ccDEE.
- b) Voor de niertransplantatie zijn irregulaire antistoffen aanwezig tegen C, K en Fy<sup>a</sup>. Niet uitgesloten zijn: Cw, Kp<sup>a</sup>; Lu<sup>a</sup> 1x heterozygoot uitgesloten.
- c) Op 3 november worden irregulaire antistoffen tegen D gevonden.
- d) Er zijn verschillende verklaringen mogelijk voor de aanwezigheid van een anti-D. In deze casus is het echter het meest voor de hand liggend dat er sprake is van anti-D-antistofvorming door meegetransplanteerde lymfocyten in de nier van de donor. Bijvoorbeeld, als de oudere zus zelf anti-D-antistoffen heeft, welke gevormd zijn na een zwangerschap (zie ook QC-rondzending van Sanquin: Pelicase 2, 2007).
- e) Gezien het feit dat er recent geen transfusies zijn gegeven, wordt de positieve DAGT alleen veroorzaakt door anti-D. De anti-D-antistoffen zijn al aangetoond in het serum van de patiënt en hij is Rh(D)-positief. De antistoffen zullen ook aanwezig zijn in het eluaat. Het is niet noodzakelijk eerst een elutie uit te voeren voordat het te transfunderen bloed kan worden uitgegeven.

#### Vraag 5

Een jongetje van 9 maanden oud komt bij de kinderarts ter analyse van anemie. Op basis van de uitslagen wordt vervolgonderzoek ingezet:

Hb	5,8	mmol/l
Erythrocyten	5,3	x10 <sup>9</sup> /l
MCV	57	fl
HbA <sub>0</sub>	87	%
HbF	0,3	%
HbA <sub>2</sub>	5,5	%
Reticulocyten	134	x10 <sup>9</sup> /l
ZPP	87	µmol/mol heem
Leukocyten	7,0	x10 <sup>9</sup> /l
Trombocyten	254	x10 <sup>9</sup> /l

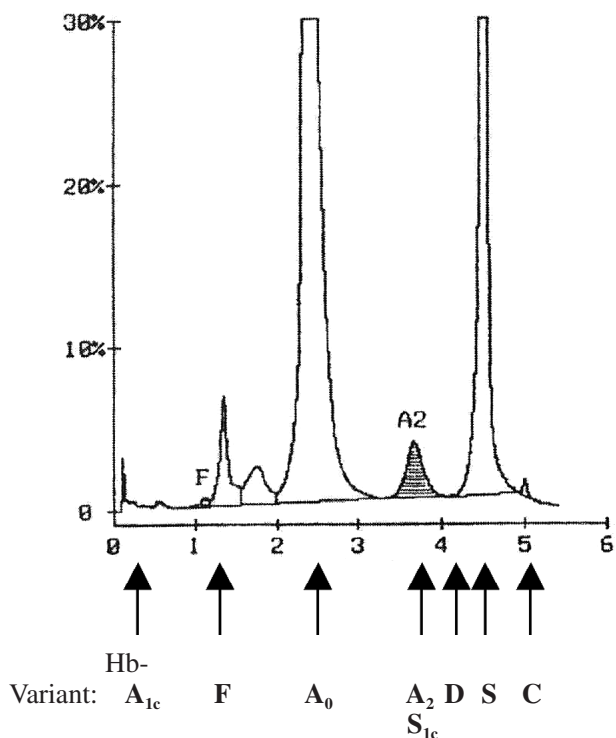
- a) Verklaar de microcytaire anemie
- b) Bij naslaan van de historie blijkt dat het navelstrengbloed van deze patiënt negen maanden eer-

der een Hb-concentratie van 11,9 mmol/l bevatte, bij een MCV van 101 fl. Verklaar de snelle daling van de hemoglobineconcentratie, negen maanden na de geboorte.

Twee zusjes van resp. 4 (zus A) en 5 jaar (zus B) oud komen op de poli ter analyse van anemie. Door de behandelend kinderarts is hemoglobinopathie/thalassemie-onderzoek aangevraagd. Op uw laboratorium wordt dit met HPLC (kationenwisselingskolom) met UV-detectie uitgevoerd. De ouders van de meisjes zijn van Surinaams-Hindoestaanse afkomst. Navraag leert dat in de familie sikkelcelanemie en thalassemie voorkomen.

	Zus A	Zus B	
Hb	6,7	5,9	mmol/l
MCV	81	65	fl
Erytrocyten	4,0	5,1	$\times 10^9/l$
Reticulocyten	82	124	$\times 10^9/l$
Leukocyten	10,3	8,8	$\times 10^9/l$
Trombocyten	356	285	$\times 10^9/l$
HbA0	56,1	68,3	%
HbF	2,3	0,5	%
HbA2	4,4	4,4	%
HbS	36	25	%
ZPP	38	68	$\mu\text{mol/mol heem}$

Een HPLC-patroon zoals onderstaand weergegeven werd gevonden voor zus A.



Uw analiste merkt tijdens de bespreking van de resultaten op dat gezien de verhoogde HbA<sub>2</sub> een  $\beta$ -thalassemie waarschijnlijk is.

- c) Geef uw commentaar hierop.  
 d) Verklaar de verschillen in Hb, erytrocyten, MCV en ZPP tussen beide zussen.

Bij een patiënt met een geïsoleerde heterozygote HbS-mutatie is de hoeveelheid HbS lager dan de hoeveelheid HbA<sub>0</sub>.

- e) Kunt u dit verklaren? Verklaar tevens waarom het HbS bij zus B zoveel lager is dan bij zus A.

### Antwoorden vraag 5

- a) Een microcytaire anemie met een dergelijk HbA<sub>2</sub> percentage en ery-telling is vrijwel bewijzend voor een heterozygote  $\beta$ -thalassemie.  
 b) Bij de geboorte bestaat een groot deel van het hemoglobine nog uit foetaal hemoglobine HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ). Na ongeveer 6 maanden volgt de complete switch naar HbA<sub>0</sub> ( $\alpha_2\beta_2$ ) waardoor de  $\beta$ -thalassemie zich manifesteert als een microcytaire anemie.  
 c) De verhoogde HbA<sub>2</sub> is afkomstig van het HbS<sub>1c</sub>, dat in veel methoden migreert op de plaats van HbA<sub>2</sub>. Dit is aangegeven op het bijgevoegde HPLC-patroon.  $\beta$ -thalassemie is onmogelijk omdat dan de HbS veel hoger zou moeten zijn (HbS-ziekte) en geen (bij  $\beta_0$ -thalassemie) of zeer weinig (bij  $\beta^+$ -thalassemie) HbA<sub>0</sub> gemaakt wordt. Bij de zeer zeldzame  $\beta^+$ -thalassemiemutatie en HbS op hetzelfde gen zou de HbS veel lager moeten zijn.  
 d) Zus A heeft heterozygote HbS, zus B heterozygote HbS met  $\alpha$ -thalassemie. Thalassemie geeft microcytaire anemie, HbS normaal niet. Door het thalassemisch beeld is het aantal erytrocyten relatief hoog bij een laag MCV. Ook hierbij past een mild ijzergebrek (licht verhoogde ZPP).  
 e) Een heterozygote HbS zit normaal tussen de 30-40%. De niet-aangedane  $\beta$ -ketens hebben een hogere affiniteit voor  $\alpha$ - dan de  $\beta$ -S-ketens. Deze hogere affiniteit van normale  $\beta$ - voor  $\alpha$ -ketens is ook de reden dat een heterozygote HbS nooit 50% zal zijn en meestal tussen de 30% en 40% zal liggen.  
 Zus B had naast haar heterozygote HbS ook een homozygote  $-\alpha^{3.7}$ -deletie. Bij deze deletie komt ongeveer 50% van de  $\alpha$ -ketens tot expressie. Bij een gecombineerde  $\alpha$ -thalassemie zal door het relatieve gebrek aan  $\alpha$ -ketens dit preferentieel combineren met de 'gezonde'  $\beta$ -ketens nog versterken, waardoor de HbS lager wordt.

### Vraag 6

Geef bij deze 'juist/onjuist'-vragen een zeer korte toelichting.

- a) Bij een oudere D-negatieve patiënt bekend met een anti-c dient u in geval van een ongekruist bloed aanvraag Rh(D)-negatief bloed te selecteren. Juist/onjuist?  
 b) Bij het toedienen van een Rh(D)-positief trombocytenconcentraat (bij gebrek aan Rh(D)-negatief) aan een Rh(D)-negatieve jonge vrouw kunt u volstaan met het gelijktijdig toedienen van anti-D-immuunglobuline. Juist/onjuist?  
 c) Bij een patiënt die zojuist is gestopt met Ascal-gebruik dient men altijd 10 dagen te wachten om veilig aan invasieve ingreep te beginnen. Juist/onjuist?  
 d) Een patiënt (man) heeft 2 weken geleden voor het eerst 3 eenheden erytrocyten gehad. Hij werd toen al verdacht van een AIHA en behandeling met

prednison werd gestart. Toen konden alle klinisch relevante antistoffen worden uitgesloten in de IAGT met toevoeging van BSA. De DAGT was 2+ (IgG). Echter, de prednison blijkt niet aan te slaan en de patiënt presenteert zich op de SEH met een Hb van 3,9. De screening wordt direct ingezet in de albuminetechniek, echter alle cellen reageren positief (2+ of 3+), de analist heeft ook nog een uitgebreid panel ingezet en ziet 2+ en 3+ en een paar 1+ reacties. De DAGT is 3+ ( IgG ). In deze situatie een eluaat inzetten levert geen enkele aanvullende informatie. Juist/onjuist?

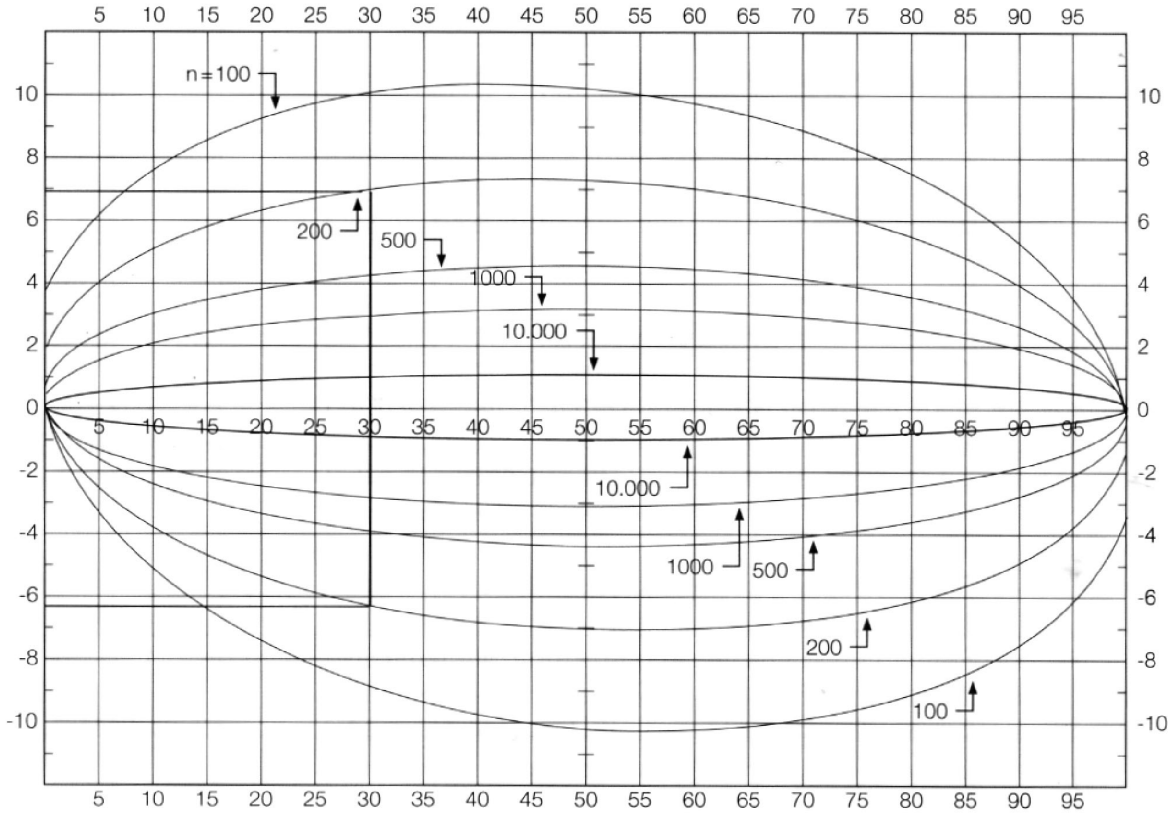
- e) De kans op hemolytische ziekte van de pasgeborene door anti-M is minimaal. Juist/onjuist?
- f) Gebruik van orale antistolling heeft alleen invloed op de PT en niet op de APTT. Juist/onjuist?
- g) Indien u een laag trombocytenaantal vindt bij een gezonde 4 uur oude atermene neonat moet u direct onderzoek naar neonatale allo-immuuntrombocytopenie (NAITP) inzetten. Juist/onjuist?
- h) Bij het zoeken naar de oorzaak van een verlengde APTT (remmer of factordeficiëntie) wordt bij laboratoriumonderzoek in mengproeven het volgende gevonden:
- |                      |          |
|----------------------|----------|
| APTT normaal plasma  | = 30,7 s |
| APTT patiëntenplasma | = 84,2 s |
| APTT mengproef 1:1   | = 45,1 s |
- Conclusie: Er is sprake van een factordeficiëntie. Juist/onjuist?
- i) Bij een therapie met NovoSeven bij een massale bloeding wordt een sterk verkorte APTT gevonden. Juist/onjuist?
- j) In het geval van een patiënt met een lupus anticoagulans kan er sprake zijn van antistoffen tegen het fosfolipidenbindende eiwit  $\beta_2$ -microglobuline. Juist/onjuist?

#### Antwoorden vraag 6

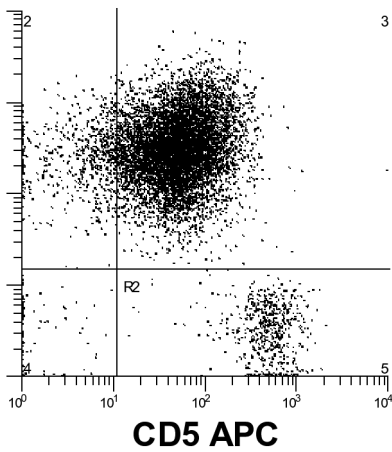
- a) Onjuist. D-neg-, c-neg-bloed is uiterst zeldzaam. Rh(D)-negatief bloed zal vrijwel zeker c-positief zijn en mogelijk een hemolytische reactie veroorzaken. Patiënt zal meer gebaat zijn bij het toedienen van Rh(D)-positief bloed met het risico een anti-D te ontwikkelen.
- b) Juist. De kleine hoeveelheid aanwezige erythrocyten zullen hierdoor geneutraliseerd worden en geen immuunrespons opwekken.
- c) Onjuist. Afhankelijk van de ingreep kan een waarde voor het vereiste aantal functionele trombocyten worden gekozen. Het te verwachten aantal functionele trombocyten na Ascal-gebruik kan men grofweg berekenen ((trombocytenaantal x aantal dagen na stoppen)/10). Met deze berekening kan de tijd benaderd worden die minimaal gewacht moet worden. Daaruit zal blijken dat 10 dagen wachten te lang is.

- d) Onjuist. Elueren is nu zeker zinvol, deze patiënt reageert niet op prednison en heeft bloed gehad de afgelopen twee weken. Onder de specifieke autoantistoffen kan ook een nieuw gevormde alloantistof zitten. Deze kan soms in het eluaat beter aangetoond worden dan in het serum. Indien snelle transfusie gewenst is kan hier alvast rekening mee worden gehouden voordat de tijdrovende procedure van het absorberen is afgerond.
- e) Juist, De anti-M is meestal een natuurlijk voorkomende IgM-antistof die de bloed-placentabarrière niet kan passeren. Uit onderzoek tijdens OPZI is gebleken dat de anti-M bij de onderzochte zwangere geen switch naar IgG doormaakte tijdens de zwangerschap.
- f) Onjuist. Coumarines zijn vitamine-K-antagonisten en de biologische activiteit van de vitamine-K-afhankelijke stollingsfactoren (II, VII, IX en X) zullen worden beïnvloed. Dit heeft het grootste effect op de PT (II, VII, X) met name door de FVII-daling maar ook op de APTT (II, X, IX). Bij te hoog gedoseerde orale antistolling zal de APTT ook behoorlijk verlengd zijn.
- g) Onjuist. Eerst moet de bevinding worden bevestigd door middel van een microscopische beoordeling van een uitstrijkje of een nieuw monster. Bij neonaten kunnen door de wijze van bloed afnemen, het hoge Hb en het relatief kleine afnamevolume gemakkelijk trombocytenaggregaten ontstaan. Deze kunnen worden gemist door de celler. Daarnaast is de kliniek van de neonat van belang (zijn er blauwe plekken of (na)bloedingen?)
- h) Onjuist. Bij een factordeficiëntie normaliseert de APTT in de mengproef vrijwel volledig, in het geval van een remmer normaliseert de APTT in de mengproef niet volledig, of normaliseert wel vrijwel volledig, maar bij incubatie gedurende 2 uur bij 37 °C blijkt de APTT weer toe te nemen. In dit geval is de APTT in de mengproef niet genormaliseerd, en is er sprake van een remmer. Bovendien is de mengproef niet goed uitgevoerd: geen incubatie gedurende 2 uur bij 37 °C.
- i) Onjuist. NovoSeven is een geactiveerd recombinant stollingsfactor VIIa en activeert factor X, dat, met factor V als cofactor, protrombine in trombine omzet. Vervolgens zet trombine fibrinogeen om in fibrine. NovoSeven heeft dus invloed op de PT en niet op de APTT. NovoSeven wordt incidenteel gebruikt in situaties waarin er ongecontroleerd per- of postoperatief bloedverlies is of massaal traumatisch bloedverlies, dat onvoldoende reageert op conventionele maatregelen.
- j) Onjuist. In het geval van een patiënt met een lupus anticoagulans kan er sprake zijn van antistoffen tegen het fosfolipidenbindend eiwit  $\beta_2$ -glycoproteïne I.

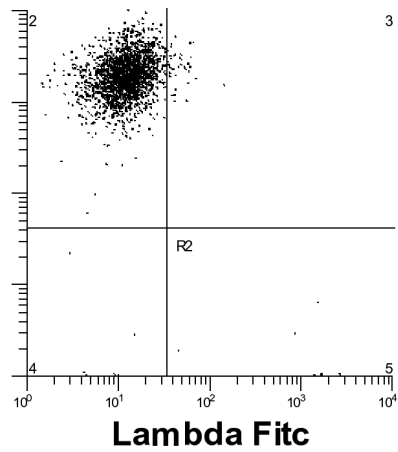
**Bijlage vraag 1b**



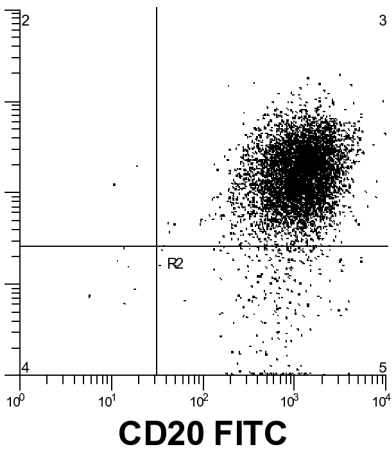
**Bijlagen vraag 1d**



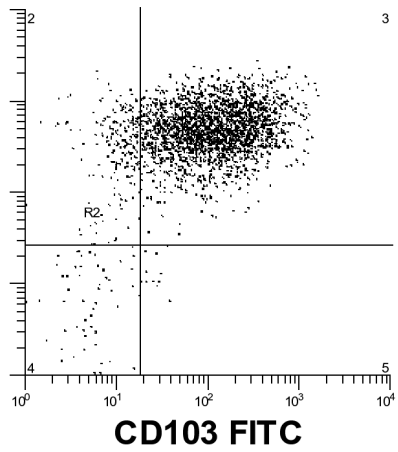
**D**



**C**

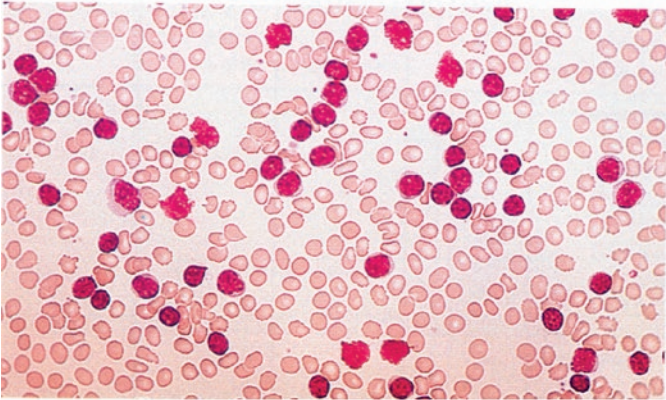


**C**

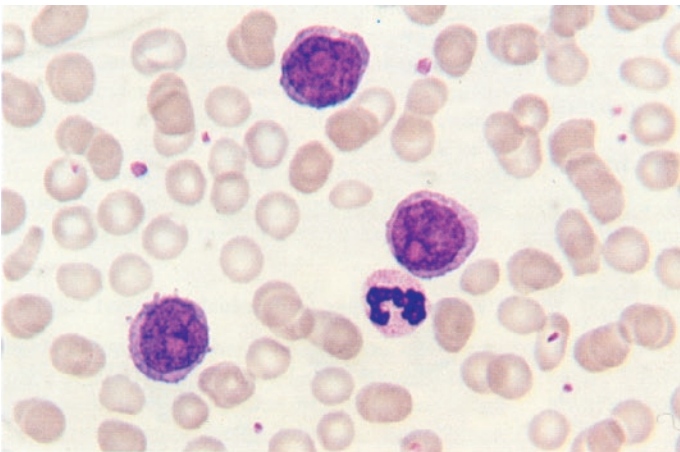
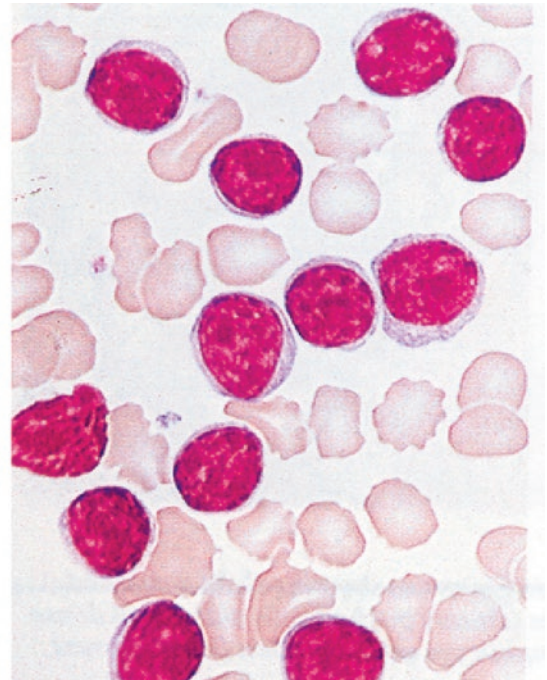


**A**

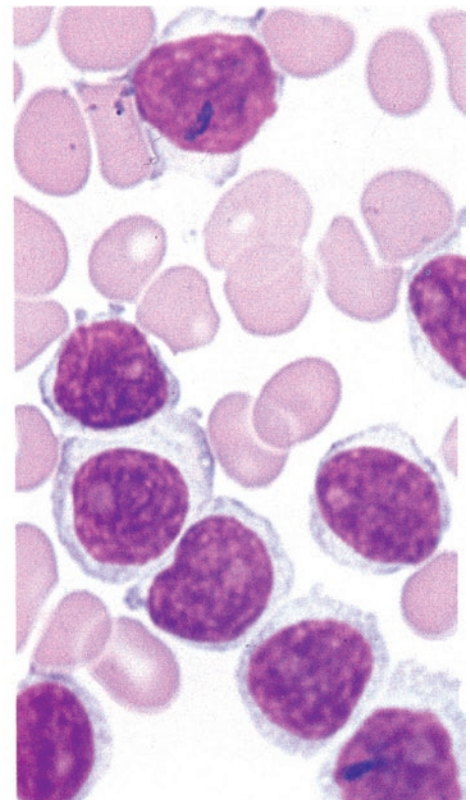
Bijlagen vraag 1d



Morfologiebeeld 1



Morfologiebeeld 2

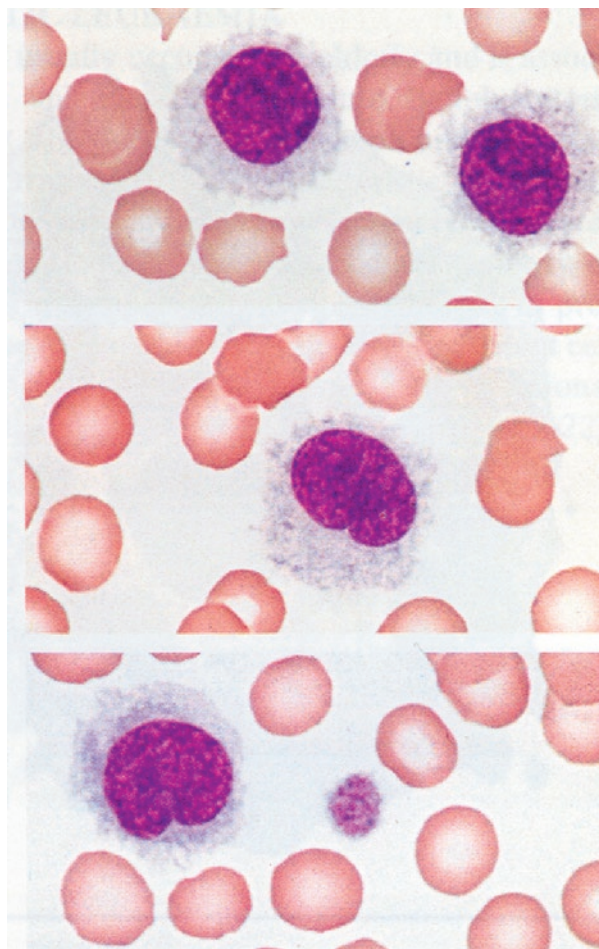




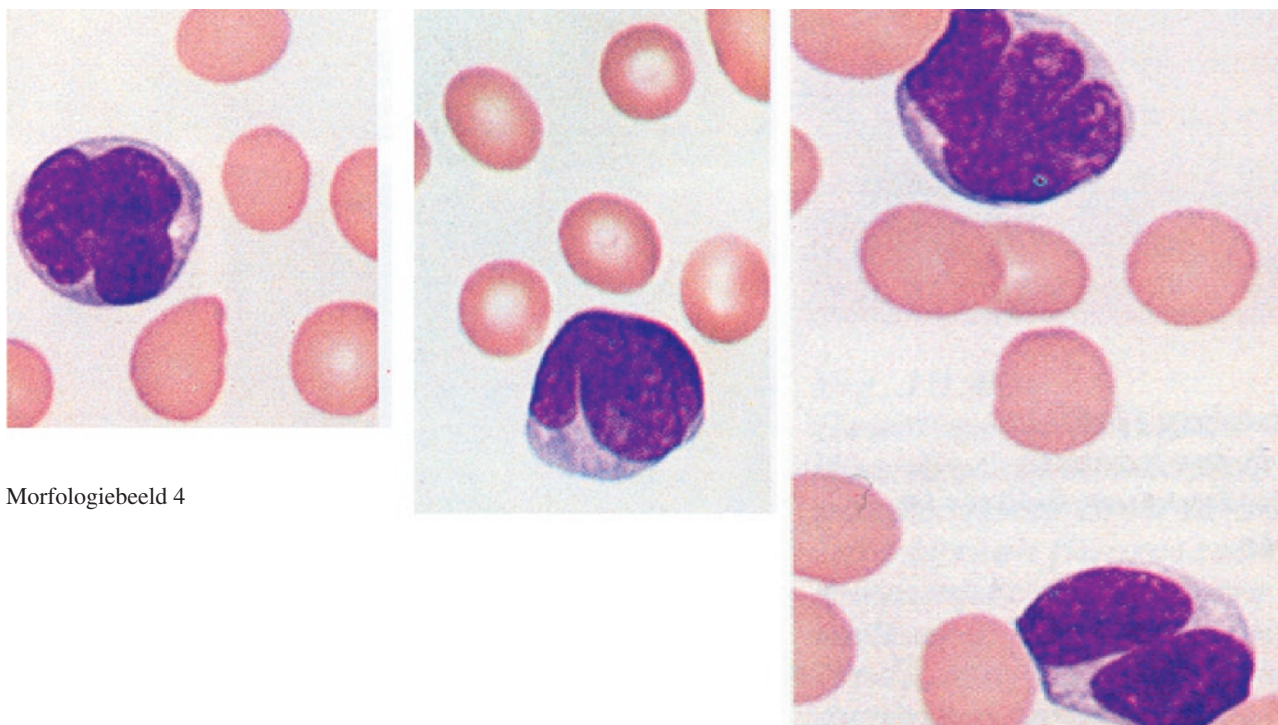
## Bijlagen vraag 1d

### Referentiewaarden hematologie

Hb	m	8,5 – 11	mmol/l
	v	7,5 – 10	mmol/l
	neonaat	10 – 14	mmol/l
MCV		80 – 100	fl
Erythrocyten	neonaat	100 – 120	fl
	m	4,5 – 5,5	$\times 10^{12} / l$
	v	4,0 – 5,0	$\times 10^{12} / l$
MCH		1,7 – 2,1	fmol
MCHC		19 – 22	mmol/l
Reticulocyten		5 – 75	$\times 10^9 / l$
Leukocyten		4 – 10	$\times 10^9 / l$
Trombocyten		150 – 350	$\times 10^9 / l$
ZPP		< 50	$\mu\text{mol/mol heem}$
LD		< 450	U / l
<b>Differentiatie</b>			
Neutrofielen		1,5 – 7,5	$\times 10^9 / l$
Lymfocyten		1 – 3,5	$\times 10^9 / l$
Monocyten		< 1	$\times 10^9 / l$
Eosinofielen		< 0,5	$\times 10^9 / l$
Basofielen		< 0,2	$\times 10^9 / l$
Staafkernigen		< 0,6	$\times 10^9 / l$
<b>Hb-typering</b>			
HbA <sub>0</sub>		87	%
HbF		< 1,5	%
HbA <sub>2</sub>		2,4 – 3,3	%
<b>Stolling</b>			
PT		10,0 – 12,2	sec
APTT		23,3 – 30	sec
Antitrombine		80 – 140	%
Factor V		75 – 120	%
Factor VII		75 – 120	%
Factor VIII		60 – 150	%
Factor IX		60 – 150	%
Factor X		75 – 120	%
D-dimeer		< 0,5	mg / l (beslisgrens)



Morfologiebeeld 3



Morfologiebeeld 4

**Bijlagen vraag 4**

Screeningspanel																											
Celpanelantigenen																							Datum: 20 september 2007		Resultaat		
Celpanelnr.																							Liss/				
	D	C	E	c	e	C <sup>w</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Coombs			
1	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+		3+		
2	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+		-		
3	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+		+		

Celpanelantigenen																									Datum: 20 september 2007		Resultaat	
Celpanelnr.																							Liss/	Enzym				
	D	C	E	c	e	C <sup>w</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Coombs				
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+		3+	3+		
2	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+		3+	4+		
3	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+		+/-	-		
4	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+		2+	3+		
5	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+		-	-		
6	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+		+	+		
7	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+		-	-		
8	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+		-	-		
9	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+		+	-		
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+		-	-		
11	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+		+	-		
Autocontrole																											-	

Celpanelantigenen																									Datum: 3 november 2007		Resultaat	
Celpanelnr.																							Liss/	Enzym				
	D	C	E	c	e	C <sup>w</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Coombs				
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+		3+	4+		
2	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+		3+	4+		
3	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+		2+	3+		
4	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+		2+	3+		
5	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+		+	-		
6	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+		+	+		
7	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+		-	-		
8	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+		2+	3+		
9	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+		-	-		
10	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+		+	-		
11	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+		+/-	-		
Autocontrole																											2+	