



Eksperimentelt kit de Luxe med "kunstigt blod" med Rhesusfaktor og simulerede blodlegemer.

Lang holdbarhed uden opbevaring på køl!

Indhold:

4 kunstige blodprøver	kunstigt serum Anti-A
kunstigt serum Anti-B	kunstigt serum Anti-Rh
blandestave	48 testplader

Almene betragtninger

Sammensætningen af blodet - Blod består for 55% dels vedkommende af vædske, blodplasma, og af 45% blodceller.

Blod kan beskrives som et væv, hvis celler ikke har nogen fast forbindelse med hinanden, men er opslæmmet i en væske.

1 mm³ blod indeholder omkring 5 millioner **røde blodlegemer**. Med et mikroskop, ses de som kerneløse cirkulære skiver, hvor begge sider er bulet. Diameteren er ca 7,5 tusindedel mm (7,5 µm). I kanten er de knap 2,5 µm, i midten ca. 1,5 µm. Ved længere tids ophold i højtliggende områder, stiger antallet. Den blegrøde farve skyldes hæmoglobin, et pigment, der transporterer ilt rundt i kroppen.

Antallet af **hvide blodlegemer** er væsentlig mindre end de røde. I 1 mm³ blod er der omkring 6000-8000. Men antallet kan variere meget.

Hvide blodlegemer er omkring dobbelt så store som de røde. De har ingen bestemt fast form. De har en kerne, men indeholder ikke farvestoffer. Der findes forskellige typer af hvide blodlegemer med specifikke egenskaber og funktioner. En af dens vigtigste opgaver er at forsvare mod patogener.

En tredje gruppe af cellulære blodkomponenter er **blodpladerne**. Det er de såkaldte knoglemarvs-kæmpeceller. De er meget små (0,5-2,5 µm), uden kerner og har en helt anden form. Deres antal er angivet med cirka 300.000 per mm³.

Blodtyper

Efter svære blodtab, f.eks. efter ulykker eller operation, kan blodtransfusioner redde liv. I sådanne tilfælde spiller såvel donorens som patientens blodtype en afgørende rolle.

De første rapporter, der foreligger ang. blodtransfusioner, stammer fra 2. halvdel af det 17. århundrede. Der blev lavet forsøg med at overføre dyreblood til mennesker. Et billede fra 1665 viser en person, som fik fåreblod. Patienten overlevede sandsynligvis kun fordi fåreblodet løb i små transfusionsrør, og derfor kom kun en meget begrænset mængde fremmed blod ind i hans kredsløb. I den efterfølgende periode, udførtes ofte sådanne dyr-menneske-blodtransfusioner, selvom det ofte var med negative resultater. Med tiden blev det almindeligt anerkendt, at transfusioner blev foretaget med blod fra mennesker. Faktisk steg succesraten væsentligt i forhold til tidligere, og mange patienter er blevet reddet. I halvdelen af transfusionerne, stødte der stadig alvorlige komplikationer til og patienten døde. Undersøgelser viste, at de røde

blodlegemer var klumpet i årerne, og især de kapillære kar var tilstoppet. Det er derfor spørgsmålet om, hvorfor på den ene side, at mange blodtransfusioner forløb gnidningsløst, mens der i andre tilfælde synes at opstå livstruende tilklumpninger af røde blodlegemer. Dr. Karl Landsteiner fra Wien opdagede i 1901 blodtyperne og løste derved gåden. Til hans eksperimenter brugte han blodprøver fra 5 ansatte og fra sig selv. Som det første skridt, adskilte han blodet i 2 fraktioner: serum og blodceller.

Bemærk: Hvis man lader frisk blod blive i en beholder, koagulerer det efter et par minutter. Dette skyldes fibrinogen, fibrin. De danner sammen med blodlegemer, den såkaldte blodprop. Det adskiller sig fra en klar, svagt gullig væske, blod serum. På denne måde er det let at få serum. Blodceller separeres kun vanskeligt, eftersom de er effektivt holdes sammen af tråde af fibrin. Dette kan undgås med en anden metode:

Omrøres den friske prøve med en ru træpind, vil fibrintrådene hænge fast på træpinden. Derefter skal prøven henstå. Blodlegemerne er aflejret og er nu serum. Blodlegemer og serum kan nu nemt analyseres separat.

Ifølge det følgende skema, lod Dr. Landsteiner de røde blodlegemer og serum fra forskellige forsøgspersoner gensidigt interagere. Han blandede en dråbe serum med en prøve af røde blodlegemer på en glasplade.

Serum fra	Blodlegemer fra					
	Dr. Störk	Dr. Pietschnig	Dr. Sturli	Dr. Erdheim	Zaritsch	Dr. Landsteiner
Dr. Störk						
Dr. Pietschnig						
Dr. Sturli						
Dr. Erdheim						
Zaritsch						
Dr. Landsteiner						

Landsteiner konkluderede, at der findes 3 forskellige blodtyper, som han beskrev som A, B og 0. Et år senere blev blodtype AB opdaget.

Årsagen til sammenklumpninger blev fundet på overfladen af røde blodlegemer, 2 sammenklumpningsstoffer (antigener), som blev betegnet A og B. Afhængigt af blodtypen, har de røde blodlegemer i en af de to antigener (blodtype A eller B), begge (blodtype AB) eller ingen blodtype (0). Sammenklumpningen udløses af to forskellige antistoffer, som er opløst i blodplasma eller blodserum. Anti-A forårsager sammenklumpningen af blodlegemer, der bærer et antigen: anti-B, med antigenet B. Som følge deraf kan de røde celler af blodtypen 0 ikke sammenklumpe. Endvidere kan det konkluderes, at f.eks. serum i blodtype A, kan der ikke forekomme Anti-A. Desuden skal serummet i blodtypen AB være uden Anti-A og Anti-B. Disse interaktioner er vist i det følgende skema.

Fordeling af antigener og antistoffer i de forskellige blodtyper:

Blodtype	Antigen (Røde blodlegemer)	Antistof (Plasma eller Serum)
A	A	Anti-B
B	B	Anti A
AB	A og B	---
0	---	Anti-A Anti-B

Rhesus faktor

I 1940 opdagede man endnu en "faktor", der skal overholdes i blodtransfusioner, den såkaldte "Rhesus faktor". Dette udtryk refererer til de rhesusaber, der anvendtes som forsøgsdyr.

Sprøjtes røde blodlegemer fra en rhesusabe i blodbanerne på en kanin eller et marsvin, dannes der i dyrets blodplasma et antistof, der er rettet mod Rhesusfaktoren.

Rhesusfaktoren er ligeledes et stof, der er opbevaret i overfladen af de røde blodlegemer.

Serummet fra blod fra kaniner eller marsvin, får de de røde blodlegemer i rhesusaber til at sammenklumpe. Eksperimentet viste, at et sådant serum i mange tilfælde kan sammenklumpe menneskets blodceller. Dette er tilfældet i cirka 86% af befolkningen i det centrale Europa. Denne befolkningsandel er ligeledes også Rhesus positiv. I de resterende 14% er de røde blodlegemer fri for Rhesus faktor. Disse mennesker er derfor rhesus negativ (Rh).

Problemerne opstår, når en Rh-negativ patient får overført Rh-positivt blod. Efter den første overførsel, der som regel forløber uden komplikationer, danner den Rh-negative modtager antistoffer, som ved en yderligere overførsel af Rhesus positivt blod, kan forårsage alvorlige skader, måske endda døden.

Ved graviditet skal man være opmærksom på rhesusfaktoren. Selv i livmoderen, kan et barn være påvirket af Rh inkompatibiliteten.

Et barn af en Rh-negativ mor kan have arvet Rh faktor Rh-positiv fra faderen. Er dette tilfældet, er der en mulighed for, at moderens krop danner et tilsvarende antistof. Normalt påvirker dette ikke graviditeten. Og i de efterfølgende graviditeter er disse antistoffer allerede tilstede. Via blodet i fostret ødelægges de røde blodlegemer. Symptomer på svær gulsot er resultatet. I ca 5% af tilfældene forekommer hæmolytiske sygdomme hos nyfødte med livstruende tilstande. En tidlig igangsat fødslen med efterfølgende udveksling af blodet praktiseres som et modtræk. Forebyggende foranstaltninger er mulige. Den Rh-negative mor kan efter fødslen af det første Rh-positivt barn vaccineres med antistoffer mod Rh faktor og dermed reducere risikoen betydeligt.

Arvelighed

Blodtyper nedarves i nøje overensstemmelse med lovene i klassisk genetik. Derved kan ofte forholdsvis enkelt fastslås slægtskab. For eksempel kan viden om blodtypen på mor og barn drage konklusioner om faderens blodtype.

De 4 blodtyper A, B, AB og 0 er 3 basis for generne I^A , I^B og i . Dette er et eksempel på flere forskellige allelimer. D.v.s. at de 3 gener er afledt ved mutation af et enkelt gen. I diploid cellekerner er der kun "plads" til 2 af disse gener. Allelerne repræsenterede derfor gensidigt hinanden.

De to gener I^A og I^B sikrer tilsammen "lige styrke". Begge dominerer i (recessivt gen). Der er følgende mulige kombinationer:

Blodtype (fænotype)	Genotype	Hyppeghed i Mellemeuropa
A	$I^A I^A$	43,0%
A	$I^A i$	
B	$I^B I^B$	9,7%
B	$I^B i$	
AB	$I^A I^B$	3,7%
0	$i i$	43,6%

Rh faktor skyldes et dominerende gen (D). Rh-positive mennesker har i deres genom rhesus homozygot (DD) eller heterozygot (Dd). Rh-negative mennesker har gentypen dd. Arvelighedsfølgen sker altså helt efter reglerne. Hvis f.eks. moderen er Rh-negativ og barnet er Rh-positiv, skal faderen have genkombination DD eller Dd.

Ekspirerter med dette sæt

Indledende bemærkning: Dette kit bruger hverken naturligt blod eller naturligt blodserum, men efterligninger. Men du kan med dette kit udføre forskellige "virkelighedstro" blod testmetoder uden at tage sundhedsmæssige risici. De anvendte kemikalier er stort set ufarlige, men du bør alligevel udvise normal omhu, som ved anden omgang med opløsninger til kemiske eksperimenter.

Blodtyper og fastsættelse af Rhesus faktorer

Opgave: Fastsættelse af blodtype og rhesus faktorer af en ukendt "blodprøve"

Materialer: Testplader med fordybninger.

Ukendt blodprøve. Der kan vælges mellem:

1. Hr. Schmidt
2. Fru Müller
3. Hr. Weiß
4. Fru Braun

Kunstigt Serum Anti-A
kunstigt Serum Anti-B

Kunstigt Serum Anti-Rh
sticks til blanding

Fremgangsmåde:

- Vælg en blodprøve og ryst den kortvarigt (vippen frem og tilbage, gentagne gange er tilstrækkeligt).
- Sæt en testplade på en lys (hvid) baggrund.
- Kom en dråbe blod i hver af fordybningerne i testpladen.
- Tilsæt en dråbe fra de forskellige "testflasker" ifølge etiketten på testpladen (A, B, Rh). Tilføj for eksempel en dråbe anti-A til "bloddråbe" i fordybningen A, o.s.v. Bland "testvæsken" med "bloddråben" i fordybningen. For ikke at forurene "reagensen" bør al kontakt mellem "serumflasken" og bloddråben undgås.

Note:

Ønskes en stærkere virkning, kan antallet af bloddråber øges. Dette reducerer naturligvis antallet af mulige tests med kittet.

- Placer testpladen på en plan overflade. Ryst pladen forsigtigt frem og tilbage for at opnå god blanding af "serum" og "blod". Den samme effekt opnås, hvis du vipper pladen forsigtigt flere gange. Du kan også lave blandingen med de medfølgende plastikpinde. Det er vigtigt at ingen stoffer bliver overført til andre prøver.
- Lad testpladen hvile i 2-3 minutter, hvorefter den rystes igen.
- Efter ca 5 minutter kan du starte analysen:

En "marmelade-lignende" fortykkelse af testmaterialet simulerer en sammenklumpning. Har "bloddråben" ikke ændret sig, er der ingen sammenklumpning. Forskellene kan tydeligt ses, når pladen hæves lidt og betragtes mod en lys baggrund.

Note:

Reaktionen mellem A og anti-A såvel som Rh og anti-Rh løber meget hurtigt. *Derimod kan reaktionen med felt B tage flere minutter. Afbryd derfor ikke forsøget for tidligt.*

- Fortsæt på samme måde med de andre "blodprøver".

Resultat:

	Testserum		Testserum	Testserum	Blodgruppe	Anti-A	Anti-B	Anti-Rh
	Anti A	Anti B	Anti-Rh	+ Rh-Faktor				
Herr Schmidt	Klumper		Klumper ikke	Klumper	A, Rh +			
Frau Müller	Klumper ikke		Klumper	Klumper ikke	B, Rh -			
Herr Weiß	Klumper		Klumper	Klumper	AB, Rh +			
Frau Braun	Klumper ikke		Klumper ikke	Klumper ikke	0, Rh -			

Undersøgelse af simulerede blodceller

Blodlegemerne

Det kunstige blod indeholder også mikroskopiske partikler, der simulerer blodlegemer:

- Røde blodlegemer er angivet med rød-farvede perler, som driver i stort antal i væsken. Størrelsen af disse partikler er svarer ca. til de naturlige forhold.
- Hvide blodlegemer: er uregelmæssigt formede partikler, som er omkring dobbelt så store som de røde blodlegemer. Af natur er de hvide blodlegemer imidlertid farveløse. For at gøre dem lettere at se, er de blev farvet blå.

Naturligvis når efterligningen ikke kvaliteten af de naturlige blodlegemer. Den mikroskopiske undersøgelse formidler imidlertid indtryk, der kan hjælpe til at forstå sammensætningen af blodet. Desuden er det muligt let at bestemme antallet og størrelsen af blodceller, i det mindste skønsmæssigt.

Bemærk: Den tredje komponent af de cellulære blodkomponenter, blodplader, er ikke repræsenteret i det "kunstige blod".

Bestemmelse af antallet af blodlegemer

Udstyr:

- Mikroskop med objektiver 10 x og 40 x
- Objektglas
- Filterpapir (eller trækpapir)

Den beskrevne fremgangsmåde giver mulighed for, på en enkel måde, skønsmæssigt at bestemme antallet af blodlegemer i en kubikmillimeter blod.

Fremgangsmåde:

- Dråbeflasken med blodprøve rystes kortvarigt for at sikre en ensartet fordeling af "blodcellerne".
- Placer en lille dråbe "blod" på et mikroskopobjektglas, og læg et dækglass over, uden at der opstår luftblærer.
- Sug med et filterpapir evt. overskydende væske rundt om dækglassets kant.
- Prøven anbringes på mikroskopets objektplade og tjek ved middel forstørrelse (objektiv 10 x) fordelingen af de røde blodlegemer.
- Med henblik på yderligere undersøgelser, vælges nu et punkt af prøven, som har en meget ensartet fordeling af røde blodlegemer. Gå til nu større forstørrelse (objektiv 40 x).
- Tæl antallet af røde blodlegemer, som kan ses i mikroskopets synsfelt.
- Gentag tællingen andre steder i prøven og beregn gennemsnittet. Gentag samme procedure på de andre blodprøver.

Det gennemsnitlige antal røde blodlegemer i synsfeltet skal nu multipliceres med opløsningsfaktoren. Ved dette sæts blodprøver udgør denne, baseret på de røde blodlegemer, 1:150000. Du har således nu antallet af røde blodlegemer i 1 kubikmillimeter blod.

Note: Selv i medicinsk praksis er blodprøver fortyndet for at bestemme antallet af blodlegemer.

- Gentag samme procedure til bestemmelse af de hvide blodlegemer. Blodprøverne i sættet er fortyndet til en opløsningsfaktor på 1:5000.

Eksempel:	celler i 1. prøve	celler i 2. prøve	celler i 3. prøve	gennemsnit
Røde blodlegemer	25	40	35	33
Hvide blodlegemer	1	3	2	2

Røde blodlegemer: $33 \times 150.000 = 5.000.000$ per mm^3
Hvide blodlegemer: $2 \times 5.000 = 10.000$ per mm^3

Selvfølgelig afhænger pålideligheden af resultaterne, af antallet af optællinger.

Note:

Opløsningsfaktoren for de røde og hvide blodlegemer af afstemt til den beskrevne målemetode. Selvfølgelig kan du foretage optællingerne ved hjælp af et tællekammer. I dette tilfælde men du kan blive nødt til at korrigere opløsningsfaktoren.

Størrelsen af de røde blodlegemer (bestemmelse af diameteren)

Selvfølgelig kan du eksakt bestemme de røde blodlegemer i det kunstige blod ved hjælp af okular- og objektmikrometer opmålinger. Da disse enheder ikke forventes at være tilgængelige overalt, præsenteres her en målemetode som på enkelt vis fører til realistiske resultater.

Udstyr:

- Mikroskop
- Mikroskopglas
- Dækglas
- Målestok (millimeterskala)

Fremgangsmåde:

Forbered en mikroskopisk præparat, hvor en lille dråbe "blod" placeres på et objektglas og der lægges et dækglas over.

Betragt præparatet i mikroskopet ved en kraftig forstørrelse (f.eks. 400 x) og smal blende. Forsøg at holde begge øjne åbne. Se med det ene øje (som regel med det venstre) i mikroskopet og ret nu det andet øje på en målestok, som holdes i højde med objektbordet.

Prøv nu med målestokken at bestemme diameteren af de røde blodlegemer. Til dette skal målestok og enkelte blodlegemer være synlige. De der kun har lidt erfaring med mikroskopering, vil måske have begynderproblemer med dette. Med lidt tålmodighed bør denne opgave dog relativt hurtigt kunne løses. Når nu den registrerede diameter (i mm) divideres med mikroskopforstørrelsen, så får man rimelige realistiske resultater.

Eksempel:

Diameteren af en rød blodcelle: 2,5 mm (2500 μm)

Mikroskop forstørrelse: 400 x

$$\text{Faktisk diameter: } \frac{2500 \mu\text{m}}{400} = 6,25 \mu\text{m}$$

Bemærk: diameter af et "ægte" rødt blodlegeme er cirka 7,5 μm .

Bemærk venligst, at reaktionen mellem B og Anti-B tager flere minutter.

Afbryd derfor ikke dine forsøg for tidligt.