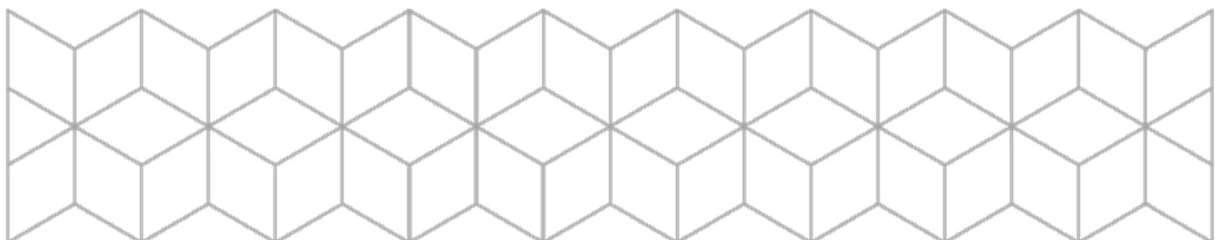


# SENSORVEILEDNING

<b>Emnekode:</b>	IRBIO30018
<b>Emnenavn:</b>	<b>Medisinsk mikrobiologi og cytologi</b>
<b>Eksamensform:</b>	<b>Skriftlig (digital)</b>
<b>Dato:</b>	31. oktober 2019
<b>Faglærer(e):</b>	Beathe Kiland Granerud Catherine Kjølberg Halvorsen
<b>Eventuelt:</b>	



## Læringsutbytter

### *Medisinsk mikrobiologi*

- Beskrive systemet for mikroorganismers taksonomi
- Beskrive hva som kjennetegner de ulike *hovedgruppene av mikroorganismer* mhp oppbygning, morfologi og reproduksjon
- Forklare hvordan *bakterier* er klassifisert mhp oppbygning, morfologi og fysiologi, og hvordan kunnskapen om dette henger sammen med identifikasjon av bakteriene
- Forklare prinsipper for patogenese og virulens, og hvordan dette henger sammen med ulike bakteriers evne til å etablere infeksjoner
- Drøfte hvorfor mikroorganismer noen ganger skaper infeksjoner og noen ganger kan opptre som koloniserings- eller normalflora, og relatere dette til betydningen av funn i ulikt prøvemateriale
- Gjøre rede for noen av de vanligst forekommende humanpatogene mikroorganismene, sykdommer de kan gi, og hvordan de kan identifiseres i laboratoriet
- Beskrive de vanligste prinsippene for virkningsmekanismer for antibiotika
- Forklare enkelte resistensmekanismer samt resistensutvikling hos bakterier
- Drøfte utfordringer forbundet med resistensutvikling, både nasjonalt og globalt
- Drøfte betydningen av preanalytiske faktorer, og gjøre rede for prøvetaking og oppbevaring av et utvalg prøvematerialer
- Forklare bruken av ulike dyrkningsmedier, og vurdere valg av medier i forhold til prøvemateriale og klinikk
- Beskrive bruksområder for autoklaving og desinfeksjon, og hva de to metodene går ut på
- Kjenne til og forstå betydningen av smittevernarbeid og nasjonale overvåkingssystemer
- Forklare hva som ligger i begrepet kvalitetskontroll, og kunne gi eksempler på hvordan dette foregår i et mikrobiologisk laboratorium
- Kunne isolere og identifisere ulike humanpatogene mikrober, utføre resistenstesting og påvise enkelte resistensmekanismer for et utvalg bakterier
- Forklare prinsippet for PCR-teknologi og ulike bruksområder
- Kjenne til ny teknologi og framtidstrender i faget

### *Cytologi*

- Kunne gjenkjenne og beskrive det normale cellebildet i vagina/cervixmateriale.
- Kunne forklare prinsippet for farging med Papanicolaous metode.
- Kunne vurdere cervixutstryk med normale celler relatert til ulik hormonpåvirkning.
- Kunne gjenkjenne mikroorganismer i vagina/cervixmateriale og beskrive hvordan de kan påvirke det normale cellebildet.
- kunne beskrive degenerative og regenerative celleforandringer i vagina/cervixmateriale og hvorfor de oppstår.
- kunne forklare årsakssammenhengen mellom HPV-infeksjon (infeksjon med humant papillomavirus) og utvikling av cancer i cervix.
- kunne beskrive celleendringene i cervix ved premaligne og maligne tilstander.
- kunne rutiner ved og hensikt med ”masseundersøkelsen mot livmorhalskreft”.

## **Litteratur**

### *Medisinsk mikrobiologi*

Rollag et al 4. utg. (2019). Medisinsk mikrobiologi (PS: 3. utgave var redigert av Degré).

Schøyen 9. utg. (2011). Mikroorganismer og sykdom

Steen 2. utg. (2014). Mikrober, helse og sykdom

Tortora 12th ed. (2016). Microbiology. An Introduction

Kompendium i bakteriologi

### *Cytologi*

Kompendium i gynekologisk cytologi

## **Undervisningsplan med kommentarer**

### *Medisinsk mikrobiologi*

Uke 37: Introduksjon til medisinsk mikrobiologi (kun forelesning)

Uke 38: Normalflora og infeksjoner (forelesning)

Uke 38-40: Øvre- og nedre luftveisinfeksjoner, preanalytiske faktorer, sterilteknikk, dyrkningsmedier, ELISA og real-time PCR (laboratorieøvelser, klassen delt i 3).

#### *Mikroorganismer «møtt» på lab:*

*Streptococcus pyogenes*

*Streptococcus agalactiae*

*Streptococcus pneumoniae* (kun fete, de tørre var avgått ved døden i fryseren)

*Streptococcus viridans*

*Haemophilus influenza*

*Moraxella catharrhalis*

*Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus epidermidis*

*Staphylococcus saprophyticus*

*Escherichia coli*

*Klebsiella pneumoniae*

*Proteus mirabilis*

*Pseudomonas aeruginosa*

*Candida albicans*

Rubellavirus

HSV-1

#### *Tester og medier*

Sjokoladeagar, blodagar, McConkeyagar, mannitol-saltagar, candida-kromagar, Müller-Hinton med/uten blod. Katalase, oksidase, indol, Gram-farging, diverse lateks-

agglutineringskits, diagnostiske lapper (bacitracin 0,2 og 10U, optochin, nalidixinsyre). Resistensundersøkelse vha lappediffusjon.

Uke 41: Virusseminar (Seksuelt overførbare virus, vektorbårne virus, virus som gir barnesykdommer, virus som gir encefalitt og meningitt, virus som gir gastroenteritt, virus som gir hepatitt, virus som gir influensa og influensaliknende sykdom, virus som forårsaker forkjølelse og virus som gir nedre luftveisinfeksjon hos små barn.

Uke 41: UVI og genitale infeksjoner (laboratorieøvelser, klassen delt i 2)

Se uke 38-40 for utvalg tester. Mikroorganismer: *E. coli*, *S. saprophyticus* og *P. mirabilis*. I tillegg til dyrkningsmedier og tester nevnt uke 38-40 ble studentene introdusert for novobiocin som diagnostisk lapp, samt mannitol-bevegelighetsrør, urease og Hajna. *Gardnerella vaginalis* hadde dødd i fryseren og ble derfor ikke sett av studentene på skål (kun tatt i teori). Kvantitativ utsæd og vurdering. Resistensundersøkelse med lappediffusjon og screening + verifisering av ESBL (tabletter).

Uke 42: Antibiotikaresistens og biofilm (forelesninger). For antibiotika og antibiotikaresistens er hovedvekt lagt på betalaktamantibiotika. Innleveringsoppgave om ESBL.

Uke 42: Pussprøver og identifikasjon av diverse bakterier. Maldi-TOF (laboratorieøvelser, klassen delt i 2).

Teori om Maldi-TOF gitt per video, samt laboratorieførelsesning. Studenter applisert på target-plate med direkte og utvidet direkte teknikk. Analysert av lærer (film av analyseringen vist studentene i etterkant).

Mikroorganismer: *S. pyogenes*, *S. aureus*, *H. influenzae* i blanding med viridansstreptokokker og *S. pneumoniae*, *E. coli* og *Bacteroides fragilis* (kun observasjon av vekst på skål, ingen etterarbeid) + mikrober fra studentenes hudflora, halsflora og miljøprøver. Alle tester og diagnostiske lapper benyttet tidligere var tilgjengelige. Nytt: metronidazol og resistensundersøkelse med gradientstrips.

Uke 43: Verdenssykdommene (HIV, tuberkulose og malaria), overvåkning og kvalitet. Fremtidstrender i bioingeniørfaget. (Forelesninger)

Uke 43: Spinalvæske og blodkultur (laboratorieøvelser, klassen delt i 2)

Mikroorganismer: *Streptococcus agalactia* og *E. coli*.

Teknikk: Tillaging av grampreparat fra «spinalvæske» og blodkultur, arbeid med sterile væsker i sikkerhetskabinett og utsæd fra blodkulturflasker. Resistensundersøkelse med lappediffusjon og gradientstrips. Repetisjon av screening og verifisering av ESBL, denne gangen inkludert gradientstrips og kromagar.

Teori om blodkulturflasker gitt uke 38, kort repetisjon i labforelesning.

### **Forventning til besvarelser**

Se under for detaljerte forventninger til de ulike spørsmål. Blooms kriterier følges for gradering av kunnskap følges.

## **Karakterbeskrivelser**

### *Generell karakterbeskrivelse*

<b>Symbol</b>	<b>Betegnelse</b>	<b>Generell, ikke fagspesifikk beskrivelse av vurderingskriterier</b>
<b>A</b>	Fremragende	Fremragende prestasjon som klart utmerker seg. Kandidaten viser svært god vurderingsevne og stor grad av selvstendighet.
<b>B</b>	Meget god	Meget god prestasjon. Kandidaten viser meget god vurderingsevne og selvstendighet.
<b>C</b>	God	Jevnt god prestasjon som er tilfredsstillende på de fleste områder. Kandidaten viser god vurderingsevne og selvstendighet på de viktigste områdene.
<b>D</b>	Nokså god	En akseptabel prestasjon med noen vesentlige mangler. Kandidaten viser en viss grad av vurderingsevne og selvstendighet.
<b>E</b>	Tilstrekkelig	Prestasjonen tilfredsstillende minimumskravene, men heller ikke mer. Kandidaten viser liten vurderingsevne og selvstendighet.
<b>F</b>	Ikke bestått	Prestasjon som ikke tilfredsstillende de faglige minimumskravene. Kandidaten viser både manglende vurderingsevne og selvstendighet.

### *Karakternivåer*

Maksimal score på prøven: 102,5 poeng

<b>Karakter</b>	<b>Fra poeng</b>	<b>Fra prosent riktig</b>
A	93	91 %
B	83	81 %
C	73	71 %
D	63	61 %
E	52	51 %
F	0	0 %

## Eksamensoppgave med løsningsforslag

### 1 1a

#### Hva betyr begrepene under?

(0,5 poeng for riktig(e) svar, 0 poeng for ubesvart, -0,5 poeng for feil svar. Minimum poengsum: 0 poeng)

Kapnofil bakterie

#### Velg ett alternativ

- Bakterien trives i 5 % CO<sub>2</sub>.
- Bakterien trives ikke i 5 % CO<sub>2</sub>.

Fakultativ anaerob bakterie

#### Velg ett eller flere alternativer:

- Bakterien kan vokse under aerobe forhold.
- Bakterien kan vokse under anaerobe forhold.
- Bakterien kan KUN vokse under anaerobe forhold.
- Bakterien kan KUN vokse under aerobe forhold.

Obligat anaerob bakterie

#### Velg ett eller flere alternativer

- Bakterien kan KUN vokse under aerobe forhold.
- Bakterien kan vokse under både aerobe og anaerobe forhold.
- Bakterien kan KUN vokse under anaerobe forhold.

Fastidøs bakterie

#### Velg ett eller flere alternativer

- Bakterien er robust og lett å dyrke. Vil bl.a vokse godt på McConkey-agar.
- Bakterien har spesielle vekstbetingelser/er kresen.
- Bakterien er "fast i fisken".
- Bakterien kan være krevende å dyrke.

Mesofil bakterie

#### Velg ett alternativ

- Bakterien trives i temperatur høyere enn vanlig, human kroppstemperatur.
- Bakterien vokser godt i kjøleskapstemperatur.
- Bakterien trives vokser best i vanlig til litt lav kroppstemperatur.

Halotolerant

**Velg ett eller flere alternativer**

- Bakterien gjør deg helt salig (halo = glorie)
- Bakterien liker høye saltkonsentrasjoner.
- Bakterien tåler høye saltkonsentrasjoner.
- Bakterien er betahemolytisk, dvs har en "halo" rundt seg på blodagar.

**Virulens**

**Velg ett alternativ**

- Hele infeksjonsprosessen, fra start til slutt.
- En infeksjon forårsaket av et virus.
- Hvordan virus fester seg til cellens overflate.
- En mikrobes evne til å gi sykdom.

**1b**

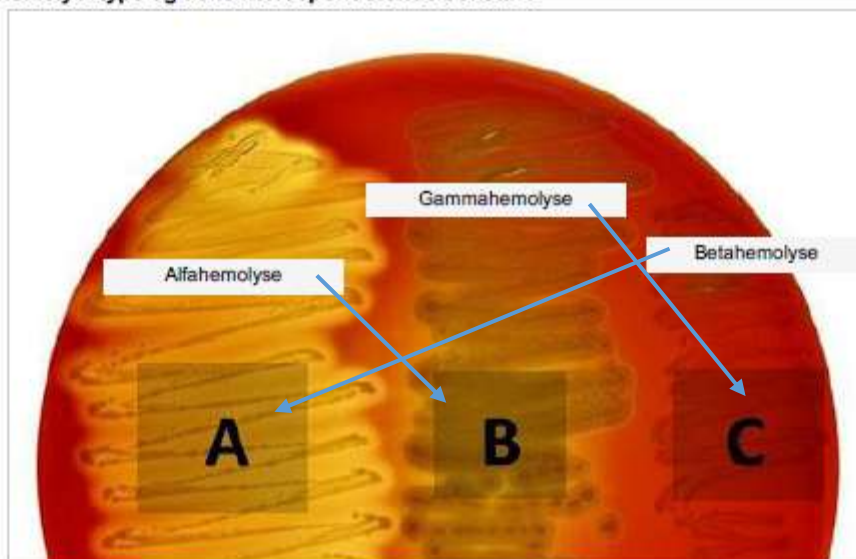
**Bakterier gis navn etter et binominalt system. Hva betyr dette? Gi et eksempel. (2 poeng)**

Binominalt: To navn, ett for slekt (genus) og ett for art (species). Skrives i kursiv. Navn som er gitt en serotype av en art skrives ikke i kursiv. Eksempel: *Escherichia coli*, der *Escherichia* er slekten og *coli* er arten. Forventer fullt navn, ikke forkortelser og for full pott må navn være skrevet riktig.

**1c**

**Hvilke typer hemolyse er A, B og C? (3 poeng)**

**Trykk på hemolysetype og dens korresponderende bokstav.**



Maks poeng: 0

## 2a

### Ta stilling til følgende påstander:

(1 poeng per riktig svar, 0 poeng for galt svar/ikke besvart)

*Staphylococcus epidermidis* regnes som normalflora på hud.

#### Velg ett alternativ

- Sant  
 Usant

Normalflora i hals og nese er helt lik.

#### Velg et alternativ

- Usant  
 Sant

Urinveiene har ingen normalflora.

#### Velg et alternativ

- Usant  
 Sant

Kommentar: Ingen dyrkbar normalflora. Urin forventes å være steril.

## 2b

### Drøft betydningen av normalfloraen i og på kroppen vår (6 poeng).

Drøftes: Normalfloraen er viktig for god helse. Bakteriene som utgjør normalfloraen er forskjellig fra sted til sted på og i kroppen. Sammensetningen varierer fra person til person – menneskenes mikrobiom er ulikt. Normalfloraen bidrar i mange funksjoner: Forsvaret mot patogene mikroorganismer (f.eks pga konkurranse om næringsstoffer), metabolismen av næringsstoffer i tarmen.

For å nå helt til topps i oppgaven: Drøfting også av ny kunnskap om bakterienes betydning for helse og normal «drift». Nyere forskning tyder på at mikrobene interagerer i flere prosesser – kognitive prosesser, psykiske lidelser, produksjon av vitaminer.



## 2c

### Normalflora og infeksjoner i øvre luftveier

(1 poeng per rett svar, -1 poeng per galt svar, 0 poeng for ubesvart, minimum 0 poeng)

Hvilken bakterie vil alltid regnes som normalflora i øvre luftveier?

Velg ett alternativ

- Streptococcus viridans
- Escherichia coli
- Streptococcus pneumonia
- Staphylococcus aureus

Hvilke bakterier er vanlig årsak til sinusitt?

Velg ett eller flere alternativer

- Moraxella catarrhalis
- Haemophilus influenza
- Streptococcus pneumoniae
- Staphylococcus aureus
- Streptococcus viridans
- Escherichia coli

## 2d

**Forklar kort hva som er forskjellen på normalflora og koloniseringsflora (2 poeng)**

Normalfloraen består av mikroorganismer som normalt hører hjemme i ulike lokalisasjoner på og i kroppen, mens koloniseringsflora eksisterer kun forbigående på den aktuelle lokalisasjonen. Koloniseringsflora kan være normalflora ett sted, og ha «tilfeldig» et annet sted den vanligvis ikke befinner seg.

## 2e

**Kan en bakterie være apatogen i noen situasjoner og patogen i andre? Begrunn svaret ditt og gi eksempler (6 poeng).**

Ja, bakterier kan være apatogene i noen situasjoner og patogene i andre. Dersom en bakterie som er normalflora og lever «i harmoni» med mange andre slekter og arter kommer inn i et område der den vanligvis ikke hører hjemme, spesielt sterile områder, kan den bli patogen og skape infeksjon.

Eksempel: *E. coli* fra tarm kommer over i urinveier, som gir UVI, og mulig urosepsis

Eksempel: Hvite stafylokokker (*S. epidermidis*) som ved innsetting av proteser kan danne biofilm på protesen og infeksjoner i omkringliggende vev, i verste fall sepsis

Eksempel: Gul stafylokokk (*S. aureus*) som eksisterer i neseslimhinnen i 20-30% av oss, og sameksisterer på huden med mange andre arter, kan gi sårinfeksjoner hvis den kommer inn i en åpning i huden.

En vanligvis apatogen bakterie kan gi infeksjoner i området den befinner seg i normalt dersom vertens immunforsvar er svekket, f.eks. pga en virusinfeksjon.

Eksempel: *H. influenzae*, som kan befinne seg normalt i luftveiene, og holdes i sjakk av vertens immunforsvar og andre bakterier i luftveiene, kan gi infeksjon i nedre luftveier dersom verten er svekket.

### 3a

**Hvordan skal en urinprøve tas for å få et mest mulig representativt prøvemateriale til mikrobiologisk dyrkning. Begrunn svaret ditt (4 poeng).**

Midtstråleurin – la første stråle gå i toalettet, deretter i prøveglasset, deretter la resten gå i toalettet.

På denne måten får man skylt vekk eventuelle hud- og tarmbakterier som koloniserer området rundt urinrøret, slik at man kan få en prøve uten kontaminasjon, dvs. som representerer det faktiske innholdet i urinblæren.

Gjerne morgenurin slik at bakterien har «rukket» å formere seg.

### 3b

**Hvordan kan man hindre at bakterier i urinprøver ikke formerer seg i tiden mellom prøvetaking og utsæd? (4 poeng)**

Tilsetning av borsyre. Oppbevaring kjølig. Eventuelt sende som urikult.

### 3c

**Velg om følgende bakterier er primærpatogen, sekundærpatogen eller apatogen årsak til en urinveisinfeksjon.**

(1 poeng per riktig svar, 0 poeng per feil svar)

*Staphylococcus aureus* er:  (Sekundærpatogen, Apatogen, Primærpatogen).

*Escherichia coli* er:  (Primærpatogen, Sekundærpatogen, Apatogen)

*Gardnerella vaginalis* er:  (Sekundærpatogen, Primærpatogen, Apatogen)

*Proteus mirabilis* er:  (Apatogen, Primærpatogen, Sekundærpatogen)

*Staphylococcus saprophyticus* er:  (Apatogen, Primærpatogen, Sekundærpatogen)

Alfa-hemolytiske streptokokker er:  (Apatogene, Primærpatogene, Sekundærpatogene)

Maks poeng: 6

### 3d

**Påstand: Til kvantitativ utsæd av bakterier benyttes blå øse (10 uL)**

(1 poeng for rett svar, -1 poeng for galt svar, 0 poeng for ubesvart, minimum 0 poeng)

**Velg et alternativ**

- Sant
- Usant

**Hvilk(e) dyrkningsskål(er) vil du benytte ved primærutsæd av urinprøver?**

(1 poeng for rett svar, -1 poeng for galt svar, 0 poeng for ubesvart, minimum 0 poeng)

**Velg ett eller flere alternativer**

- Blodskål
- MacConkeysål eller laktosesål
- Mannitol-saltsål
- ESBL-kromsål
- Sjokoladesål

**Hva slags atmosfære vil du inkubere bakteriene i?**

(1 poeng for rett svar, -1 poeng for galt svar, 0 poeng for ubesvart, minimum 0 poeng)

**Velg ett alternativ**

- Anaerob
- Aerob (vanlig luft)
- Aerob med 5 % CO<sub>2</sub>
- Mikroaerofil

**Du teller 150 kolonier på blodskålen etter inkubering. Hvor mange CFU/mL tilsvarer dette?**

(1 poeng for rett svar, -1 poeng for galt svar, 0 poeng for ubesvart, minimum 0 poeng)

**Velg ett alternativ**

- $1,5 \times 10^3$  CFU/mL
- $1,5 \times 10^5$  CFU/mL
- $1,5 \times 10^6$  CFU/mL
- $1,5 \times 10^4$  CFU/mL

---

Maks poeng: 5

3e

**Begrunn valg av dyrknings-skål(er) i oppgave 3d og forklar hvilken informasjon du får ut av vekst på skålen(e). Gi forslag til minst én test du kan gjøre for å komme videre i identifikasjon av mikroben og forklar prinsippet til testen (10 poeng).**

Blodagar: Lite selektiv, kan se hemolyse. Telle CFU/mL.

Laktoseskål/MacConkey e.l: Selektiv og differensierende. Kun gram negative stavbakterier skal kunne vokse på denne. Se om bakterien fermenterer laktose eller ei. (+ evt. telle CFU/mL om det er lettere enn på blodskål).

Andre skåler benyttes ikke til primærutsæd. (Kan eventuelt diskuteres om primærutsæd på ESBL-kromagar kan forsvares ut fra kost-nytte.)

Forslag til tester studentene har utført på lab, prinsipp beskrives ikke her:

Trerørsforgjæring for å identifisere gram negative stavbakterier (inkl indol).

Oksidase

Katalase

Ulike tester for å identifisere Staph. aureus (latex-kit, DNase-skål, koagulase)

Streptokokkaggluteringskit

Maldi-TOF

Novobiocin (*S. saprophyticus*)

## 4a

Vurder om følgende påstander er sanne eller usanne:

Effekten til et antibiotikum kan omtales som bakteriocid eller bakteriostatisk. (1 poeng)

Velg ett alternativ:

Usant

Sant

Et antibiotikum vil alltid være enten bakteriocid eller bakteriostatisk, uavhengig av bakterie, infeksjonsfokus og konsentrasjon. (1 poeng)

Velg et alternativ

Usant

Sant

Antibiotikaresistens kan være plasmidoverført. (1 poeng)

Velg et alternativ

Usant

Sant

MRSA er resistent fordi den har økt effluks. (1 poeng)

Velg et alternativ

Usant

Sant

MIC er en forkortelse for Minimum Inhibitory Concentration. (1 poeng)

Velg et alternativ

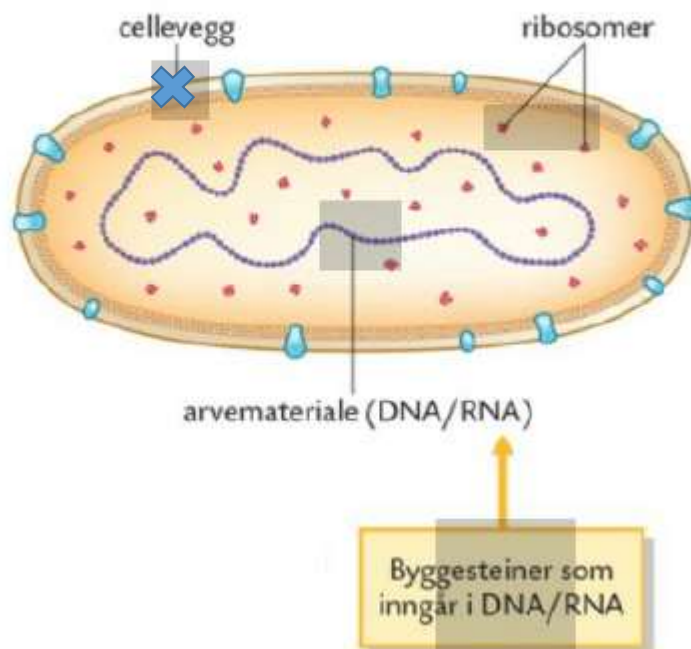
Usant

Sant

## 4b

Plasser korrekt angrepspunkt for betalaktamantibiotika (1 poeng)

Klikk på bildet



## 4c

**Betalaktamantibiotika er den viktigste gruppen antibiotika vi har. Beskriv virkningsmekanismen til denne gruppen og gi to eksempler på hvordan resistens kan oppstå mot denne gruppen (5 poeng).**

Angrepspunktet for betalaktamantibiotika er peptidoglykanlaget i celleveggen. Betalaktamantibiotika fester seg til transpeptidasen/PBP (penicillinbindende proteiner). Kryssbindingene i peptidoglykanlaget kan da ikke produseres, og strukturen i celleveggen blir ustabil. Grunnlaget for vekst blir dermed borte.

Resistensmekanismer:

- Endring/beskyttelse av target. For betalaktamer (penicillinbindende protein, PBP)
- Redusert influks eller økt effluks
- Inaktivering av antibiotika (betalaktamaser)

#### 4d

**Bakterier med ESBL er et økende problem. Forklar hva ESBL er, hvorfor ESBL er et problem og gi minst ett eksempel på hvordan resistensmekanismen kan oppdages** (10 poeng).

Se f.eks her for info: <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/esbl-betalaktamaser-med-utvidet-spe/>

Og her: [https://unn.no/Documents/Kompetansetjenester,%20-sentre%20og%20fagr%C3%A5d/AFA%20-%20arbeidsgruppen%20for%20antibiotikasp%C3%B8rsm%C3%A5l/Metoder/20151126%20Screening%20ESBL%20AFA%20KRES%20\(2\).pdf](https://unn.no/Documents/Kompetansetjenester,%20-sentre%20og%20fagr%C3%A5d/AFA%20-%20arbeidsgruppen%20for%20antibiotikasp%C3%B8rsm%C3%A5l/Metoder/20151126%20Screening%20ESBL%20AFA%20KRES%20(2).pdf)

For full pott må både ESBL-A, ESBL-M og ESBL-karba nevnes, men det forventes ikke kunnskap om de ulike enkeltenzymene. Studenten må også vise forståelse for konsekvensene hvis antibiotikabehandling ikke lenger er tilgjengelig.

Screening for ESBL-A/M: Lappediffusjon eller gradientstrips med 3. generasjonscefalosporiner, eks ceftazidim, ceftaxim, cefepodoxim eller kromagar tilsatt et av disse.

Screening for ESBL-Karba: Lappediffusjon eller gradientstrips med 3. generasjonscefalosporiner og et karbapenem eller kromagar tilsatt et av disse.

Vekst av ESBL-negative isolater på kromagar kan forekomme dersom isolatet har andre resistensmekanismer mot det/de tilsatte antibiotikum/antibiotika enn betalaktamase/karbapenemaseproduksjon.

Dyrkningsbasert verifisering: Aktuelt antibiotikum (et cefalosporin eller karbapenem avhengig av type ESBL som det ønskes screenet for) + betalaktamasehemmer eller karbapenemasehemmer.

DNA-basert: PCR eller sekvensering

#### 4e

**Forklar hvordan et resistensoppsett med lappediffusjon utføres og kan kvalitetskontrolleres** (5 poeng).

Lag en bakteriesuspensjon av renkultur av den aktuelle bakterien til 0,5 McFarland.

Spre med vattpensel i flere (minst 3) retninger på egnet resistensskål, enten Müller Hinton (til lite kravstore bakterier) eller Müller Hinton Fastidious (til kravstore bakterier).

Legg på aktuelle antibiotikalapper.

Inkubér ved 37°C.

Det skal ikke gå mer enn 15 minutter mellom hvert trinn.

Kvalitetskontrolleres vha oppsett med kontrollstammer der avlest MIC-verdi eller sonediameter registreres over tid.

Pluss hvis studenten nevner at dyrkningsatmosfære, inkubasjonstemperatur og McFarland-densitometer også bør kontrolleres.

## 5a

**Forklar kort hvilke tilstander som kan utvikles ved en HPV-infeksjon og hvordan disse påvirker det normale cellebildet i cervix (5 poeng)?**

Lavrisiko HPV: Kondylomer

Høyrisiko HPV: Premaligne celleforandringer og dysplasier

Cellebilde ved HPV: Koilocytter og dyskeratocytter.

LSIL – Low grade squamous intraepithelial lesion: Forandringer i plateepitel. Synlig i superfisielle og intermediære celler. Kriterier: Forstørrede, hyperkromatiske kjerner, bi- og multinucleære celler, perinucleær halo, noe forstørret N/C-ratio.

HSIL – High grade squamous intraepithelial lesion: Ses i parabasale og metaplastiske celler. Kriterier: Stor variasjon i kjernestørrelse, høy N/C-ratio, hyperkromatiske kjerner, ujevn kjernemembran, klumpete kromatinstruktur.

## 5b

**Velg en metode som kan brukes til å påvise virusinfeksjoner. Forklar metodeprinsippet og kort om metodens fordel(er) og ulempe(r). Gi minst ett eksempel på en kontroll som benyttes i oppsettet og hva dens funksjon er (12 poeng).**

Studentene har utført indirekte-ELISA og real-time PCR. Det kan også være at noen har lest om dyrkning i cellekultur.

Indirekte-ELISA: Antigen i brønn. Tilsetter pasientprøve. Antistoff i prøve binder seg (hvis affinitet) til antigen i brønn. Vaskes for å fjerne ubundet antistoff. Tilsetter konjugat (anti-humant antistoff konjugert til et enzym). Vasker for å fjerne ubundet konjugat. Tilsetter substrat til enzymet. Leser av absorbans.

Det forventes ikke kunnskap om hvordan enzymet er konjugert til anti-human-antistoff eller kunnskap om de ulike enzymer og substrater som er på markedet.

Kontroller: Studentene har brukt positiv kontroll (prøve med kjent konsentrasjon av antistoff) og substratblank (konjugat erstattet med vann/buffer/luft). Må kunne svare korrekt på hva disse kontrollerer.



Real-time PCR: Nødvendige reagenser er varmemestabil polymerase, primere, probe, buffer m/MgCl<sub>2</sub>, dNTPs og tempat (DNA) (+ nukleasefritt vann). Tre faser i PCR-oppsettet: Denaturering, hybridisering/annealing og elongering/polymerisering. Fluorescens leses av løpende i hvert hybridiseringstrinn. Får sigmoide kurver hvis positivt resultat. Leser av Ct-verdi, som er semi-kvantitativ (lav Ct = sannsynlig høy virusmengde i prøven, høy Ct = sannsynlig lav virusmengde i prøven). Kontroller benyttet: Positiv kontroll og non-template (negativ/vann)-kontroll. Har også snakket om bruken og nytten av intern positiv kontroll for å avdekke eventuell hemming og dårlig ekstraksjon, samt måling av nukleinsyre konsentrasjon og renhet på denne (OD 260/280).