

Kati Happo & Nelli Tikkanen

**PUNASOLUJEN MORFOLOGISET MUUTOKSET HEMOLYTTISESSÄ JA RAU-
DANPUUTEANEMIASA**

Opetusmateriaali bioanalyttikko-opiskelijoille

PUNASOLUJEN MORFOLOGISET MUUTOKSET HEMOLYTTISESSÄ JA RAU- DANPUUTEANEMIASSA

Opetusmateriaali bioanalyttikko-opiskelijoille

Kati Happo & Nelli Tikkanen
Opinnäytetyö
Kevät 2022
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Oulun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Tekijät: Kati Happo & Nelli Tikkanen

Opinnäytetyön nimi: Punasolujen morfologiset muutokset hemolyttisessä ja raudanpuuteanemiassa

Työn ohjaajat: Katja Nummilinna & Jaana Holappa-Girginkaya

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Kevät 2022

Sivumäärä: 27+12

Bioanalytiikon tulee ammattilaisena ymmärtää verenkuvaa-analysointien antamia hälytyksiä sekä tunnistaa veren sivelyvalmisteelta mahdolliset punasolujen poikkeamat. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on luoda laadukkaita veren sivelyvalmisteita oheismateriaaleineen Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijoiden käyttöön.

Tämä opinnäytetyö toimii oppimateriaalina hematologian ja verensiirtotoiminnan opintojaksolla. Oppimateriaalin avulla opiskelijat pystyvät tunnistamaan punasolujen morfologisia muutoksia mikroskooppisesti ja ymmärtävät, mitä verenkuvaa-analysointien antamat hälytykset tarkoittavat. Opiskelijat saavat käyttöönsä veren sivelyvalmisteet ja niitä vastaavat verenkuvatulosteet sekä tekemämme näytekortit, joissa on tietoa näytteiden muutoksista. Aiemmat veren sivelyvalmisteet olivat vanhoja ja niiden laatu oli huonontunut vuosien saatossa.

Opinnäytetyö toteutettiin toiminnallisella menetelmällä. Näytteiden laadun varmistamiseksi teimme määrällistä menetelmää hyödyntäen Webropol kyselyn bioanalytiikan opiskelijoille, jossa he pääsivät arvioimaan näytteiden laatua mikroskooppisesti sekä makroskooppisesti. Laseja valmistettiin 99 kappaletta, jotta mahdollisimman moni opiskelija voi mikroskopoida näytteitä samanaikaisesti.

Opinnäytetyöhön osallistui toimeksiantajana Oulun ammattikorkeakoulu ja sen lisäksi yhteistyökumppanina toimi NordLab Oulun päivystyslaboratorio, josta saimme opinnäytetyössämme käytetyt verinäytteet. Opinnäytetyö materiaaleista ei ole mahdollista tunnistaa diagnooseja tai identiteettiä.

Anemiat ovat suomalaisten yleisimpiä sairauksia. Duodecimin terveystietokirjaston mukaan raudanpuuteanemiaa sairastaa noin 400 000 suomalaista, joka on anemioista yleisin. (Salonen. 2020.) Rajasimme aiheen näytteiden saatavuuden mukaan raudanpuuteanemiaan sekä hemolyttiseen anemiaan. Näytteiden saatavuusongelmien vuoksi käymme läpi kolme aneemista näytettä, sekä kaksi ns. normaalia veren sivelyvalmistetta sekä -tulostetta.

Avainsanat: Hematologia, anemia, punasolu, morfologia, veren sivelyvalmiste

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical laboratory science

Authors: Kati Happonen & Nelli Tikkanen

Title of thesis: Red blood cells morphological changes in hemolytic and iron deficiency anaemia

Supervisors: Katja Nummilinna & Jaana Holappa-Girginkaya

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2022

Number of pages: 27+12

As a professional, a medical laboratory scientist should understand the alarms given by hemato-poietic analyzers and identify any red cell abnormalities in the blood smear.

In our thesis, we produced teaching material for medical laboratory scientist students for the course of Hematology and Blood Transfusion at the Oulu University of Applied Sciences. Students will have access to blood smears and corresponding blood print prints, as well the sample cards we made with information about changes of the samples. Previous blood smears were old and their quality had deteriorated over the years.

The thesis was carried out using a functional method. Ensuring the quality of the samples, we conducted a Webropol survey of medical laboratory scientist students using a quantitative method, where they were able to evaluate the quality of the samples microscopically as well as macroscop-ically. A total of 99 sample glasses were prepared so that as many students as possible could microscopy the samples simultaneously.

Anemia is very common disease with Finns. According to the Duodecim Health Library, iron defi-ciency anemia affects about 400,000 Finns, which is the most common form of anemia. (Salonen 2020.)

We had limited the subject to a most common anemia, but due to sample availability problems, we did go through three anemic samples, as well as two so-called normal blood smears and prints.

Oulu Region University of Applied Sciences participated in the thesis and, in addition, NordLab Oulu Emergency Laboratory acted as a partner, from which we obtained the blood samples used in our thesis. It is not possible to identify diagnoses or identity from thesis materials.

Keywords: Haematology, anaemia, red blood cell, morphology, blood brush preparation

SISÄLLYS

SISÄLLYS.....	5
1 JOHDANTO.....	6
2 PUNASOLUJEN TUOTANTO.....	7
3 ANEMIA.....	9
3.1 Raudanpuuteanemia.....	11
3.2 Hemolyyttinen anemia.....	11
4 HEMATOLOGISET TUTKIMUKSET.....	14
4.1 Verenkuvaa-analysointilaitteet.....	14
4.2 Punasoluparametrit.....	15
4.3 Verenkuvaa-analysointilaitteen hälytykset.....	15
4.4 Morfologiset tutkimukset.....	16
5 TARKOITUS JA TAVOITTEET.....	18
6 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS.....	20
7 WEBROPOL-TULOKSET.....	21
8 POHDINTA.....	22
LÄHTEET.....	24
LIITTEET.....	28

1 JOHDANTO

Hematologian ja verensiirtotoiminnan opintojakso kuuluu bioanalytiikan tutkinto- ohjelman opetus- suunnitelmaan. Opintoja suoritetaan yhteensä yhdeksän opintopistettä, josta neljä opintopistettä on teoriaopintoja ja viisi opintopistettä käytännön harjoittelua. (Oulun ammattikorkeakoulu 2021.)

Hematologian ja verensiirtotoiminnan opintojakson tavoitteena on, että opiskelija laajentaa tietä- mystään eri hematologisista tutkimusmenetelmistä ja osaa raportoida perustietoja eri veritaudeista. Sisältöön kuuluu muun muassa anemioiden tunnistaminen ja tutkiminen. Opiskelijan tulee osata tehdä ja värjätä veren sivelyvalmisteita ja arvioida niiden laatua makros- sekä mikroskooppisesti.

Punasolumorfologiaa hyödynnetään anemioiden tutkimisessa. Anemia on tila, jossa hemoglobiini ja punasolupitoisuudet ovat matalammat kuin iän ja sukupuolen mukaiset viitearvot. Lisäksi ane- miat voidaan luokitella niiden syntyvän mukaan. Erilaisia syntytapoja on esimerkiksi punasolu- jen tuotannon väheneminen tai vuodon takia lisääntynyt punasolujen menetys. (Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015.)

Työmme tavoitteena on luoda laadukas oppimateriaali veren punasoluista ja anemioista. Lisäksi käsittelemme työssämme verenkuvan analysointia hälytyksiä ja sitä, miltä hälytykset näyttävät sivelyvalmistetta tarkastellessa. Opinnäytetyömme toimeksiantajana toimi Oulun amat- tikorkeakoulu. Verinäytteet saimme NordLab Oulun päivystyslaboratoriosta.

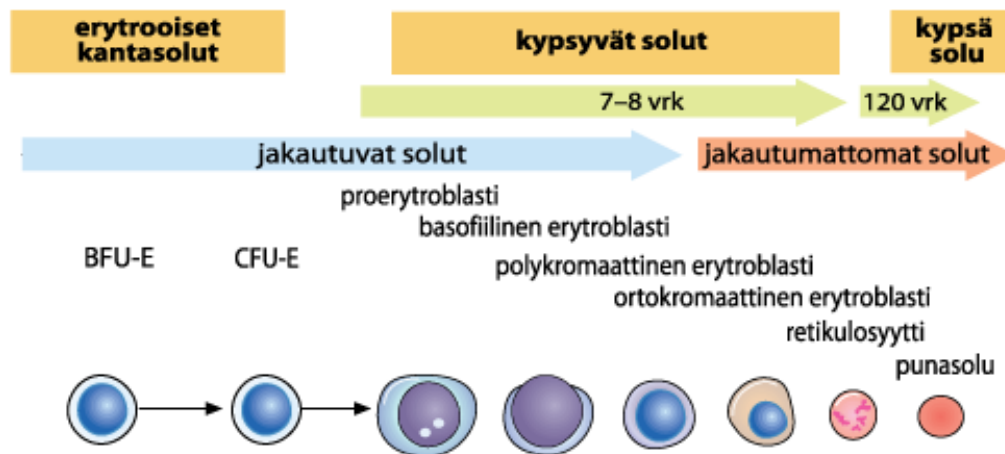
2 PUNASOLUJEN TUOTANTO

Punasolut ovat tumattomia, läpimitaltaan 7–8 µm ja muodoltaan kaksoiskoveria kiekkoja. Kaksoiskoveran muodon ansiosta punasolut voivat kulkea pienimmissäkin verisuonissa. Punasolujen tehtävänä on kuljettaa happea keuhkosta kudoksiin. Keuhkoissa happi sitoutuu hemoglobiiniin, josta se vapautuu kudoksissa solujen käyttöön. Kudoksesta palatessaan punasolut tuovat keuhkoihin hiilidioksidia, joka poistuu keuhkoista uloshengityksen mukana. Terveellä ihmisellä syntyy päivittäin noin 200 miljardia punasolua. Punasolujen elinikä verenkierrossa on noin neljä kuukautta. Punasolut syntyvät luuytimessä, josta ne vapautuvat verenkiertoon. (Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015, 23, Veripalvelun verkkosivut 2022)

Verisolut syntyvät pääsääntöisesti luuytimessä. Siellä ne syntyvät solunjakautumisen, erilaistumisen sekä kypsymisen seurauksena. Tätä prosessia kutsutaan hematopoieesiksi. Hematopoieesissa kantasolut jakautuvat lymfaattiseen sekä myelooiseen solulinjaan. (Määttänen 2016.)

Punasolut syntyvät hematopoieesissa, linjaspesifisestä erytroiittisestä kantasolusta. Kantasolun kypsyminen punasoluksi käsittää kuusi eri vaihetta, jotka on esitetty kuviossa 1. Proerytroblasti on varhaisin mikroskooppisesti tunnistettava erytrosyyttinen solu. Jos punasolussa voi mikroskooppisesti nähdä tuman, on punasolu silloin vielä epäkypsä. Erytroisien sarjan soluista kypsällä punasolulla sekä retikulosyytillä ei ole tumaa. (Määttänen 2016; Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015, 23; Siitonen & Koistinen 2015; Raymaakers 2020.)

Punasolujen uudelleen tuotantoa säätelee EPO, eli erytropoietiini, joka on munuaisten tuottama glykoproteiinihormooni. Veren alhainen happo-osapaine stimuloi erytropoietiinia, jolloin punasolujen muodostuminen kiihtyy. Erytropoietiini on yksittäisistä kasvutekijöistä tärkein punasolujen tuotannon kannalta. (Singh 2018; Hyyryläinen & Vuolteenaho 2020.)



Kuvio 1 Punasolujen tuotantolinja (Duodecim 2015).

Hemoglobiini on rautapitoinen proteiini ja sen pääasiallinen tehtävä on kuljettaa happea keuhkoista muualle elimistöön. Hemoglobiinin toissijainen tehtävä on toimia osana veren puskurijärjestelmää yhdessä bikarbonaattien, fosfaattipuskurin ja plasmaproteiinien kanssa. Puskurijärjestelmä suojaa herkkiä soluja elimistön pH vaihteluilta. (Laamanen 2015; Miller-Keane 2003; Veripalvelu 2022.)

Rauta on elimistölle välttämätön rakennusaine. Tärkein tehtävä sillä on olla rakennusaineena hemoglobiinille. Sitä tarvitaan hemoglobiinin lisäksi lihasten ja elimistön toimintaa säätelevissä entsyymeissä. Liiallisina pitoisuuksina rauta on haitallista elimistölle. (Veripalvelu 2022.)

3 ANEMIA

Anemia on tila, jossa hemoglobiini ja punasolupitoisuudet ovat matalammat kuin iän ja sukupuolen mukaiset viitearvot. Anemia ei ole itsenäinen sairaus, vaan se on oire tai tila, joka voi johtua monesta eri tekijästä. Näin ollen tutkimuksissa tulee selvittää anemian taustalla oleva syy, koska sen hoito riippuu aiheuttajasta. (Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015; Salonen 2017.)

Ensisijaisesti anemian selvittely aloitetaan määrittämällä perusverenkuva. Perusveren kuvan viitearvot ovat määriteltä iän ja sukupuolen mukaan. Aikuisten viitearvot perustuvat suomalaisen aineistoon. Normaali hemoglobiini alaraja naisella on 117 g/l ja miehellä 134 g/l. (Salonen 2020.)

Verenkuvan lisäksi anemian selvittelyssä yleisiä tutkimuksia ovat esimerkiksi ferritiini, transferritinisaturaatio ja transferritiinireseptorit, B12- vitamiini sekä seerumin folaattiarvo. Mikäli potilaalla ei ole mitään kroonista anemiaa tai anemian etiologiaa selittävää tekijää, on luuydintutkimus tarpeellinen. (Laine & Sinisalo 2020.)

Anemiat voidaan jakaa kolmeen eri luokkaan niiden syntyvän mukaan. Syntytapoja ovat punasolujen tuotantoa vähentävät kehittymismekanismit, tehottoman muodostuksen ja kypsymishäiriöiden aiheuttamat kehitysmekanismit sekä vuodon tai hemolyyysin aiheuttama solujen ennenaikaista tuhoutumista lisäävät kehitysmekanismit. Toinen tapa luokitella anemioita on laittaa ne keskitilavuutensa mukaiseen järjestykseen mikrosyyttinen anemia (MCV > 80 fl), makrosyyttinen anemia (MCV < 100 fl) tai normosyyttinen anemia (MCV 80–100 fl). Taulukkoon 1 on koottu eri anemiatyyppejä ja niiden luokittelu morfologisten ominaisuuksien mukaan. (Hahn-Nokela Kyllönen & Liesivuori 2006, 39.)

Taulukko 1. Anemioiden morfologinen luokittelu. (Linko-Parvinen 2021.)

Mikrosyyttinen anemia	Raudanpuuteanemia
	Tulehdusanemia
	Hemoglobiinipoikkeavuudet: talassemiat ja hemoglobiinivariantit (erityisesti talassemiat myös hypokromisia)
	Synnynnäinen sferosytoosi
	Sideroblastianemia
Makrosyyttinen anemia	Makrosytoosi johtuu retikulosyyttien määrän lisääntymisestä (polykromaattinen makrosytoosi). <ul style="list-style-type: none"> • Akuutti vuotoanemia • Hemolyttiset anemiat
	Megaloblastinen anemia <ul style="list-style-type: none"> • B₁₂-vitamiinin puute • Folaatin puute • Myelodysplastinen oireyhtymä
	Muusta syystä johtuva makrosytoosi <ul style="list-style-type: none"> • Maksasairaus • Runsas alkoholin käyttö
Normosyyttinen anemia	Tulehdusanemia
	Vuotoanemia
	Hemolyttiset anemiat (etenkin lievät muodot, joissa ei ole kompensatorista retikulosytoosia)
	Luuydininfilaatiosta johtuvat anemiat

Tekemissämme sivelyvalmisteissa on havaittavissa raudanpuuteanemiaan ja hemolyttiseen anemiaan viittaavia muutoksia, joten jatkossa käsittelemme näitä kahta anemiaa, niiden syntyä ja tutkimuksia tarkemmin.

3.1 Raudanpuuteanemia

Raudanpuute on yleisin anemian syy. Punasolut tarvitsevat hemoglobiinin muodostamiseen rautaa ja suurin osa elimistön raudasta kuluukin punasolujen valmistamiseen. Yleisin syy raudanpuutteeseen on verenvuotoon liittyvä raudan menetys. Yleisimmin raudanpuute syntyy, kun ihminen menettää pitkällä aikavälillä välillä runsaasti verta. Esimerkiksi hedelmällisessä iässä olevan naisen runsaat kuukautiset voivat johtaa raudanpuuteanemiaan. Muita syitä ovat esimerkiksi verenvuoto suolistossa tai mahalaukussa. Myös keliakia tai muut imeytymishäiriöt voivat aiheuttaa raudanpuuteanemiaa. (Auerbach & Adamson 2015; Salonen 2019; Bridges & Pearson 2008, 100.)

Elimistössä voi olla raudanpuutetta jo ennen anemian kehittymistä. Raudanpuute todetaan ferritiinimäärityksellä. Seerumin ferritiinipitoisuus kuvaa elimistön raudan saantia ja rautavarastojen määrää. Tavoitetaso seerumin ferritiinille on yli 30-50 µg/l, mutta aneemisilla potilailla arvot ovat yleensä <15 µg/l. (Lopez, Cacoub, Macdougall, Peyrin-Biroulet 2016; Laine & Sinisalo 2020.)

Luuydintutkimusta ei yleensä tarvita tyypillisessä raudanpuuteanemian selvittelyssä, mikäli tilaan ei liity muita verenkuvapoikkeavuuksia. Raudanpuutteeseen liittyy yleensä lievää trombosytoosia, mutta se ei ole yleensä aihe luuydintutkimukselle. (Laine & Sinisalo 2020.)

3.2 Hemolyyttinen anemia

Hemolyttisessä anemiassa punasolujen hajoaminen on kiihtynyttä. Luuydin ei ehdi tuottamaan tarpeeksi uusia punasoluja hajoanneiden tilalle ja tämä johtaa anemiaan. Hemolyttiset anemiat voidaan jakaa perinnöllisiin sekä hankinnaisiin hemolyttisiin anemioihin. Perinnölliset hemolyttiset anemiat voivat johtua punasolujen solukalvon poikkeavuuksista (esim. sferosytoosi), entsyymi-puutoksista (glukoosi-6-fosfaattidehydrogenaasin puutoksen aiheuttama hemolyttinen anemia) tai hemoglobiinin poikkeavuuksista (esim. talassemia). Hemolyysi voi myös aiheutua esimerkiksi lääkkeistä, sydämen tekoläpästä tai tulehduksesta. (Juvonen & Sareneva 2018; Salonen 2019; Linko-Parvinen 2021.)

Perinnöllisessä hemolyyttisessä anemiassa hemolyysi on suonensisäinen ja taustalla vika on punasolussa itsessään. Periytyviä hemolyyttisiä anemioita on pääsääntöisesti trooppisella ja subtrooppisella vyöhykkeellä asuvilla ihmisillä, mutta ne ovat Suomessa harvinaisia. Maahanmuuton seurauksena hemolyttiset anemiat ovat Suomessa lisääntyneet. (Savolainen, Kakko, Jahnukainen & Juvonen 2015.)

Hankinnaiset hemolyttiset anemiat johtuvat pääsääntöisesti punasolujen ulkopuolisista tekijöistä. Näitä syitä voivat olla immuunohemolyttinen anemia, joka voidaan jakaa autoimmuuni- ja alloimmuunimekanismilla syntyneisiin anemioihin. Autoimmuunissa anemiassa oma keho alkaa tuottaa vasta-aineita omia antigeenejä kohtaan ja alloimmuunisessa anemiassa vasta-aineet tulevat ulkopuolelta, esimerkiksi verensiirron yhteydessä. Suomessa yleisin hemolyttinen anemia on autoimmuunohemolyttinen anemia eli AIHA, jossa punasolujen osia vastaan syntyneet vasta-aineet hajottavat punasoluja. Yleisin hajoamiskohde on punasolujen pintarakenteet, kuten Rh-järjestelmän polypeptidit, mutta joskus vasta-aine voi olla hyvinkin spesifinen ja kiinnittyä vain tiettyyn veriryhmäantigeeniin. (Juvonen & Sareneva 2018; Salonen 2019; Linko-Parvinen 2021.)

Pilkkoutumishemolyysiä pidetään hankinnaisena anemiana. Siinä punasolut vaurioituvat verisuonien sisällä ja syntyy punasolufragmentteja. Punasolujen pilkkoutuminen johtuu mekaanisesta punasoluja hajottavasta tekijästä, kuten tekoläpästä tai verisuoniproteesista. Tämä aiheuttaa verenkuvan analysointia hälytykset fragmenteista sekä punasolujen suuresta koon vaihtelusta. (Savolainen, Kakko, Jahnukainen & Juvonen 2015; Linko-Parvinen 2021.)

Hemolyttisen anemian tutkimuksiin kuuluu veri- ja virtsanäytteet. Verinäytteestä voi tälle anemialle ominaisena huomata suurentuneen retikulosyyttien osuuden. Veren laktaattidehydrogenaasientsyymiarvo voi olla anemian vuoksi koholla. Muita tärkeitä tutkimuksia hemolyttisen anemian osoituksessa ovat seerumin haptoglobiini, jonka määrä pienenee hemolyysissä, suora antiglobuliin testi, joka osoittaa positiivista tai plasman hemoglobiini, joka lisääntyy. Tässä anemiassa hemoglobiini voi nopeasti laskea ja virtsan väri voi muuttua tummemmaksi. Siksi on tärkeää tutkia myös virtsaa esimerkiksi kemiallisella seulonnalla tai hemosideriini tutkimuksella. Hoidon kannalta on tärkeää, että anemian alkulähde saadaan tietoon. Anemia saadaan hoidettua, kun sen taustalla oleva syy saadaan selville ja sitä hoidetaan. Hemolyttistä anemiaa liitettyä johonkin muuhun sairauteen ei voi ennaltaehkäistä. (Oksanen 2014; Savolainen 2014; Savolainen, Kakko, Janhukainen & Juvonen 2015; Salonen 2019)

Hemolyyttisen anemian hoitoon käytetään pääsääntöisesti kortisonihoitoa. Mikäli kortisoni ei toimi, voidaan harkita pernan poistoa, verensiirtoa, solunsalpaajia tai immuunireaktioita vaimentavia lääkkeitä, esimerkiksi rituksimabia. (Salonen 2019.)

4 HEMATOLOGISET TUTKIMUKSET

Hematologia on tieteenala, joka tutkii ja hoitaa veren sairauksia. Hematologian laboratorion tärkeimpiä tutkimuksia ovat verisolujen erittelylaskenta, hematologiset morfologian tutkimukset verestä, punktionesteistä ja luuytimestä, virtaussytometriset tutkimukset, veriryhmäserologiset tutkimukset sekä hemostaasitutkimukset. (Suomen bioanalytikkoliitto, viitattu 7.3.2022.)

4.1 Verenkuva-analysaattori

Verenkuva-analysaattori tutkii verestä punasolut, valkosolut sekä trombosyytit. Yleinen tutkimuspyyntö B-PVK+T, joka sisältää nämä kaikki osa-alueet. Jos halutaan tutkia vain osaa verestä, voidaan tutkimusta pilkkoa pienempiin osiin. (Bridges & Pearson 2008, 7; Wahed & Dasgupta 2015; Tunturi 2021.)

Verenkuva-analysaattorilla eli solulaskijalla tarkoitetaan analysaattoria, jolla verenkuvatutkimukset nykyisin toteutetaan. Analysaattoreita on kehitetty sairaaloiden sekä terveyskeskuksien käyttöön. Analysaattorit soveltavat tasavirta impendanssimittausta punasolujen ja trombosyyttien laskentaan, fotometriaa hemoglobiinin mittaukseen ja virtaussytometriaa valkosolulaskentaan. (Ekblad 2013; Briggs, Culp, Davis, D'onofrio, Zini & Machin 2014. 296; Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015. 87–88; Seo. J. Y. Lee. S. T. & Kim S. H. 2015; Linko-Parviainen 2019)

Veren sivelyvalmisteemme on analysoitu Sysmex XN-verenkuva-analysaattorilla, siksi tarkastelemme tämän analysaattorin periaatetta, parametreja sekä hälytyksiä. Tarkastelemme tarkemmin punasolupuolen hälytyksiä ja parametreja, koska olemme rajanneet aiheemme punasoluforfologiaan. Sysmex XN-verenkuva-analysaattorilla punasolujen tutkimukset tapahtuvat RBC-kanavalla. Tässä periaatteena on tasavirtaimpedanssimittaus, joka tekee solujen laskennan sekä hydrodynaaminen fokuointi, joka minimoi solujen takaisin virtausta sekä mittausvirheitä. (Ekblad 2013.)

4.2 Punasoluparametrit

Verenkuva-analysaattorit tuottavat luotettavaa tietoa punasolujen määrästä ja ominaisuuksista. Näitä analysaattorin antamia arvoja kutsutaan parametreiksi. Tätä tietoa voidaan hyödyntää esimerkiksi anemioiden diagnostiikassa ja luokittelussa. Ne ovat tavallista mikroskooppia tarkempia luokittelemaan esimerkiksi punasolujen koon vaihtelevuutta. Taulukossa 1 on eritelty Sysmex XN-verenkuva-analysaattorilla määritettävät punasoluparametrit. (Briggs, Culp, Davis, D'onofrio, Zini & Machin 2014. 288–289.)

Taulukko 1. Sysmex XN-verenkuva-analysaattorin punasoluparametrit. (Sysmex corporation 2014. 1–4.)

RBC	Erytrosyyttien kokonaismäärä litrassa kokoverta
HGB	Hemoglobiinikonsentraatio litrassa kokoverta
HCT	Hematokriitti, erytrosyyttien tilavuusosuus näytteessä
MCV	Erytrosyyttien keskitilavuus
MHC	Erytrosyyttien keskihemoglobiini
MCHC	Erytrosyyttien keskihemoglobiinikonsentraatio
RDW-SD	Erytrosyyttihistogrammin leveyden aritmeettinen jakautuminen mitattuna 20 % tasolta histogrammista, kun huippua pidetään 100 %:n tasona. Tulos ilmoitetaan femtolitroina fl.
RDW-CV	Erytrosyyttihistogrammin leveyden jakauma, variaatiokerroin

4.3 Verenkuva-analysaattorin hälytykset

Verenkuva-analysaattori antaa hälytyksen epäillessään analyysivirhettä, havaitessaan normaalista poikkeavia verisoluja tai kun mittaustulos on määrällisesti normaalista poikkeava. Nämä hälytykset ovat käytössä laboratorion sisäisesti, eikä niistä tule potilaalle tietoa. Hälytykset ovat apuna, jotta saadaan mahdollisimman luotettava lopputulos. Taulukossa 2. tarkastelemme punasoluhälytyksiä, sillä näihin hälytyksiin olemme veren sivelyvalmisteissa keskittyneet. (Ekblad 2013; Briggs, Culp, Davis, D'onofrio, Zini & Machin 2014. 288.)

Taulukko 2. Sysmex XN-verenkuvanaalysoitsijan punasolupuolen hälytykset. (Sysmex corporation 2014. 11–20, 15–17, 15–18.)

RBC Abn Distrib.	Erytrosyyttihistogrammin jakauma tavallisesta poikkeava
Dimorphic Population	Erytrosyyttikaksoispopulaatio
Anisocytosis	Erytrosyyttien koon vaihtelua
Microcytosis	Pienikokoisia erytrosyyttejä
Makrocytosis	Suuria erytrosyyttejä
Hypochromia	Hypokromisia, kalpeita erytrosyyttejä
Anemia	Hb alle käyttäjän määrittämän rajan
Erythrocytosis	Erytrozytoosi (RBC > 9,99 x10E12/l)
RBC Agglutination?	Mahdollisesti yhteen liittyneitä erytrosyyttejä
Turbidity/ HGB Interf.?	Mahdollisesti rasvat häiritsevät Hgb-määrittystä
Iron Deficiency?	Potilaalla mahdollisesti raudanpuuteanemia
HGB Defect?	Potilaalla mahdollisesti hemoglobiinivajaus
Fragments?	Näytteessä mahdollisesti erytrosyyttikappaleita

4.4 Morfologiset tutkimukset

Morfologialla tarkoitetaan solujen muoto-oppia. Morfologiaa tutkimalla voidaan solut luokitella eri kypsyyssasteisiin. Verisolujen morfologisia muutoksia pystytään tarkastelemaan ainoastaan veren sivelyvalmisteen avulla. (Lustig & Virtanen 2014.)

Mikroskooppisessa tarkastelussa kiinnitetään huomiota punasolujen poikkeavuuksiin. Näitä ovat kokojakauman eli anisozytoosin ja muodon eli poikilozytoosin arviointi, punasolujen kromisuuden eli värjäytyvyyden sekä punasoluinkluusioiden eli solun sisäisten kappaleiden arviointi. Lisäksi tarkastelussa kiinnitetään huomiota punasolujen ryhmittymiseen. Ryhmittymisessä voidaan havaita agglutinaatiota tai rauhallamuodostumista. Veren sivelyvalmistetta tarkastellessa tulee ottaa huomioon epä kypsät punasolut. (Siitonen & Koistinen 2015; Hyyryläinen & Vuolteenaho 2020.)

Yksittäisiä punasoluja tarkastellaan valmisteen sopivan paksuisesta kohdasta keski- ja häntäosan välistä. Tässä kohdassa punasolut ovat lähellä toisiaan ja niiden keskikalpeus erottuu. Normaalit punasolut näkyvät mikroskoopissa pyöreinä ja tasakokoisina. Niiden keskellä on pyöreä kalpea

alue. Mikroskopointi on edelleen oleellista diagnostiikan kannalta. Sen avulla voidaan havaita tai poissulkea muutoksia, joita vain ihmissilmä voi todeta. Sivelyvalmisteen teko ja värjäys ohjeet ovat kerrottu liitteessä 6. (Pelliniemi 1998; Lustig & Virtanen 2014; Briggs, Culp, Davis, D'onofrio, Zini & Machin 2014. 289; Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015)

Kun veren sivelyvalmiste tehdään, siitä tutkitaan verisolujen määrasuhteita sekä morfologiaa. Tutkimuksia, joihin verensivelyvalmisteet liittyvät ovat esimerkiksi B-Diffi, jossa tehdään valkosolujen erittelylaskenta, B-Neut, jossa määritetään veren neutrofiilimäärä sekä Bm-MGGFe eli luuydinnäytteen ja perifeerisen veren tutkimus, jolla saadaan tietoa verisolujen kypsymisestä sekä B-Plas-O, jolla tutkitaan malariaplasmodeja veren sivelyvalmisteesta. Malariaplasmodit ovat punasolujen sisällä nähtäviä useimmiten rengasmaisia parasitteja. (Järvi-Holopainen, Rotgers, Siitonen & Joutsu-Korhonen 2021, 96; NordLab 2020.)

Lisäksi hematologi voi tutkia B-Morfo, -tutkimuspyynnön, jonka yleisimmät indikaatiot ovat epäilyt fragmentaatiohemolyysistä, perinnöllisestä punasolupoikkeavuudesta (esim. sferosytoosista, elliposytoosista), trombosytopeniasta, blastemiasta tai vereen purkautuneesta lymfoomasta tilanteessa, jolloin luuydinnäytettä ei saada. B-Morfo tutkimusta ei nykyisin usein tehdä, koska siitä ei saada tarpeeksi kliinistä lisäarvoa. On halvempia, nopeampia ja luotettavampia tutkimuksia, joilla saadaan parempi kliininen hyöty. Esimerkiksi anemioiden tutkimisessa tavataan usein morfologisia poikkeuksia, mutta niiden tutkimiseen tarvitaan spesifisempiä tutkimuksia kuin B-Morfo. (Järvi-Holopainen, Rotgers, Siitonen & Joutsu-Korhonen 2021, 95.)

5 TARKOITUS JA TAVOITTEET

Opinnäytetyön tarkoituksena on lisätä ymmärrystä siitä, mitä verenkuv-analysaattorin antamat hälytykset tarkoittavat punasolujen osalta. Tarkoituksena on tuottaa oppimateriaalia, jonka avulla opiskelijat pystyvät tunnistamaan punasolujen morfologisia muutoksia mikroskooppisesti ja ymmärtävät, mitä verenkuv-analysaattorin antamat hälytykset tarkoittavat. Vaikka analysaattorit ovat korvanneet useita työtehtäviä, kuuluu mikroskopointi bioanalyytikon työhön, jonka takia sitä on tärkeää harjoitella opiskeluaikana. Bioanalyytikon tulee tunnistaa poikkeavuudet veren sivelyvalmisteista mikroskoopilla. Mikroskopoinnin lisäksi bioanalyytikon on tärkeää ymmärtää verenkuv-analysaattorin hälytyksiä sekä tulosten merkitystä.

Opinnäytetyön tavoitteena on tehdä laadukkaita veren sivelyvalmisteita oheismateriaaleineen Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijoiden käyttöön. Oppimateriaali on käytettävissä hematologian- ja verensiirtotoiminnan opintojaksolla. Materiaali on tarpeellista, koska sivelyvalmisteet alkavat osittain olemaan vanhoja, eikä niitä vastaavia verenkuv-analysaattorin tulosteita ole välttämättä saatavilla. Aikomuksenamme on tarkastella jokainen veren sivelyvalmiste sarja ja tunnistaa verenkuv-analysaattorin antama hälytys lasilta.

Opinnäytetyö tukee hyvin omaa osaamista ja kasvamistamme bioanalytiikan ammattilaisiksi. Opinnäytetyöprosessin aikana opimme ymmärtämään laboratoriotutkimusprosessin hallintaa. Opimme työskentelyä hematologian laboratoriossa, ja saamme käytännön tietoa alan ammattilaisilta.

Tavoitteenamme on oppia lähdekriittisyyttä ja laajentaa tiedonhankintataitoja sekä käyttää kotimaisen kirjallisuuden lisäksi ulkomaisia lähteitä ja tutkimuksia. Tarkoituksemme on, että opinnäytetyössämme näkyy laaja asiantuntijuus ja tämä opinnäytetyö on hyvä tukipilari hematologian ja verensiirtotoiminnan opintojaksolle. Tavoittemme on, että opiskelijoiden oppimista voidaan meidän työllämme tukea, jotta harjoitteluihin ja työelämään siirtyminen ovat helpompaa.

Sysmex XN-verenkuv-analysaattorin manuaalin (2014) mukaan analysaattorille on asetettu herkkä hälytysrajat, joihin ne reagoivat. Hälytykset voivat koskea esimerkiksi punasolujen kokoa tai kypsyä. Bioanalyytikon tulee ymmärtää analysaattorin antamien hälytysten merkitys sekä pystyä varmistamaan lasilta mikroskoopilla analysaattorin havaitsema poikkeama. Vaikka analysaattorit analysoivat tarkasti veren sivelyvalmisteita, eivät ne kuitenkaan korvaa poikkeavan näytteen

visuaalista tarkastelua mikroskooppisesti. Mikroskopointi vaatii harjoittelua, jotta silmä harjaantuu löytämään poikkeavuudet.

6 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

Opinnäytetyön tuotoksena teimme sivelyvalmisteet viidestä erilaisesta verenkuvanäytteestä. Näytteistä kolmessa oli havaittavissa punasolumorfologisia muutoksia ja kahdessa näytteessä oli normaali punasolumorfologia. Näistä näytteistä teimme sivelyvalmistelasit, jotka tulevat opetuskäyttöön. Saamamme EDTA-veri oli peräisin NordLab Oulun päivystyslaboratoriosta. Siellä on käytössä Sysmex XN-verenkuva-analysaattori, jolla EDTA-veri on analysoitu.

Jokaisesta eri verenkuvasta teimme noin 15 kappaletta sivelyvalmisteita, jotta mahdollisimman moni bioanalyttikko-opiskelija voi tarkastella samaa verenkuvaa yhtäaikaisesti oppitunneilla. Jokaiselle näytteelle on verenkuva-analysaattorin verenkuvatuloste, josta analysaattorin antamia arvoja voi tarkastella. Verenkuvatulosteet ja näytekortit ovat raportin liitteinä 1–5. Veren sivelyvalmisteet teimme käsin käyttäen objektilaseja, sekä muovisia että lasisia vetolaseja.

Sivelyvalmisteet värjättiin May-Grünwald-Giemsa värjäysmenetelmällä valmistajan ohjeen mukaisesti. Menetelmää käytetään erityisesti solujen morfologian arviointiin. Värjäyksessä lisäsimme puskuroituun veteen kaupallista värjäysliuosta. Puskuroitu vesi on tehty laimennetusta fosfaattipuskurista sekä laboratoriovedestä. Värien kuivuttua sivelyvalmisteet päällystettiin peitinlaseilla, jotka liimattiin Pertex liimalla. (Oy Reagen Ltd 2018.)

Sivelyvalmisteiden oheismateriaaliksi laadimme sivelyvalmisteita vastaavat näytekortit, jotka tulevat opiskelijoille mikroskopoinnin tueksi. Näytekortista käy esille millaisesta morfologisesta muutoksesta ja anemiasta on kyse, mihin arvoihin kyseinen anemia on vaikuttanut, verenkuva-analysaattorin antamat hälytykset sekä kuva keskeisestä muutoksesta. Kuvan keskeisiä muutoksia havainnollistimme nuolilla. Pyrimme pitämään näytekortit mahdollisimman selvinä ja ammattikielisinä, se helpottaa oikeiden termien muistamista. Näytekorttien tiedot pyrimme rajaamaan punasolupuolen muutoksia koskevaksi.

Opinnäytetyömme koekäytettiin tammikuussa 2022 BIO20SM-ryhmän hematologian ja verensiirtotoiminnan opintojaksolla. Opiskelijoiden oli tarkoitus mikroskopoida laseja ja löytää mahdolliset morfologiset muutokset punasoluissa ja oppia niiden avulla tunnistamaan yleisimpiä verenkuva-analysaattorin laukaisemia punasoluhälytyksiä. Mikroskopoinnin jälkeen opiskelijat antoivat palautteen laatimamme Webropol-kyselylomakkeen avulla.

7 WEBROPOL-TULOKSET

Kyselymme vastasi 21 opiskelijaa. Kyselyssä oli 8 monivalintakysymystä ja 1 avoin tekstikettäkysymys. Kaikki kysymykset olivat pakollisia. Kokemuksemme mukaan Webropol- kyselylomake on helppokäyttöinen. Jaoimme kyselystä nettilinkin, joka tavoittaa opiskelijat vaivattomasti. Pyrimme laatimaan kysymykset niin, ettei niihin vastaaminen veisi liikaa aikaa ja palaute olisi helposti annettavaa.

Kysymyksemme koskivat sitä, kuinka helpoksi opiskelijat kokivat mikroskoopinnin, kysymyksissä pyydettiin arvioimaan näytelasien makroskooppista ja mikroskooppista laatua. Näitä laatukriteereitä on käyty läpi liitteet –osiossa, jossa käymme tarkemmin läpi veren sivelyvalmisteen tekoa. Opiskelijoilta pyydettiin arvioimaan näytekortteja ja sitä vastaavatko veren sivelyvalmisteet ja näytekortit toisiaan ja auttavatko lasit oheismateriaaleineen ymmärtämään punasolujen morfologisia muutoksia. Lopuksi pyydettiin antamaan arvosana kokonaisuudelle asteikolla 0–10. Lisäksi viimeisenä oli vapaamuotoinen vastauslaatikko.

Vastauksista kävi ilmi, että 95,2 % vastaajista oli mikroskopoinut aiemmin. 54 % koki mikroskoopinnin olevan melko helppoa, 25 % kertoi mikroskoopinnin olevan helppoa ja 14 % kertoi sen olevan melko vaikeaa.

Seuraavissa kysymyksissä kartoitettiin näytelasien makroskooppista ja mikroskooppista laatua. Suurin osa vastaajista oli sitä mieltä, että sivelyvalmisteet olivat sopivan mittaisia ja sopivan paksumaisia. 23 % havaitsi laseilla epätasaisuutta, aaltoja tai reikiä. Mikroskooppista laatua tarkastellessa 95,2 % oli sitä mieltä, että punasolut, valkosolut ja trombosyytit ovat tunnistettavissa näytelasilta. Vastaajat olivat sitä mieltä, että punasolut olivat lasilla optimaalisella alueella ja erillään toisistaan sekä hyvin värjäytyneitä. 16 % kertoi, että laseilla oli löydettävissä ulkopuolisia artefakteja. 95,2 % vastaajista koki oppimateriaalin auttavan ymmärtämään punasolujen morfologisia muutoksia, ja kokonaisuudelle annettiin keskiarvon perusteella arvosana 8.

8 POHDINTA

Tarkoituksemme oli tehdä laadukkaita veren sivelyvalmisteita Oulun ammattikorkeakoulun bio-analyttikko-opiskelijoiden käyttöön hematologian- ja verensiirtotoiminnan opintojaksolle. Valmisteita saimme viidestä eri verinäytteestä ja tutkimme niiden punasolupuolen morfologisia muutoksia. Sopivien ja suunnittelemiemme näytteiden saanti oli hankalaa, joten emme saaneet käyttöömmme niin monipuolisia näytteitä, kuin olimme alun perin suunnitelleet. Kaksi näytteistä olivat samankaltaisia keskenään. Verenkuva-analysaattori antoi näytteistä punasoluhälytyksen, mutta niiden punasolumorfologiassa ei ollut poikkeavuuksia. Kaikki hälytykset siis eivät aina vaikuta punasolumorfologiaan.

Tuloksia tarkasteltaessa huomasimme, että arviointiryhmä oli keskittynyt turhan paljon valkosolusekä trombosyyttipuoleen. Arvioinnissa he antoivat palautetta trombosyyttien määrän puuttumista näytekorteista sekä lymfosyyttien poikkeavuuksista. Palautteen perusteella tehtävänanto olisi voinut olla selkeämpi ja tarkkarajaisempi. Toisaalta palautteen perusteella laseja on mahdollista käyttää muidenkin solulinjojen muutosten tarkasteluun. Sivelyvalmisteiden laatua ajatellen niitä voi käyttää valkosolumorfologian arviointiin, koska verenkuva-analysaattoreiden tulosteiden mukaan sillä puolella on poikkeamia. Myös trombosyyttien määrässä on suuria vaihteluita, joita voi laseilta tarkastella.

Opinnäytetyömme vaikuttaa positiivisesti hematologian ja verensiirtotoiminnan opintojakson suorittamiseen. Tuotoksemme edistää ja helpottaa opintojen suorittamista, koska opiskelijoiden käytössä on nyt uusia ja tuoreita laseja sekä niitä vastaavat verenkuva-analysaattorin tulosteet. Laseja voi hyödyntää itsenäiseen opiskeluun. Opiskelija voi omatoimisesti vertailla omia tutkimustuloksiaan veren sivelyvalmistetta vastaavaan verenkuva-analysaattorin tulosteeseen ja näytekorttiin.

Vaikka tuotoksemme sisälsi näytteitä, joista mikroskooppisesti ei ollut havaittavissa morfologisia muutoksia, se ei haittaa, koska opiskelijan tulee tietää ns. normaali veren sivelyvalmiste näyttää. Kuten todettu, laseja voi käyttää muuhun kuin punasolupuolen muutosten mikroskoipoimiseen.

Opinnäytetyöprosessimme on edennyt aikataulussa ja sen suorittaminen on onnistunut suunnittelemiemme mukaan. Prosessin aikana opimme tunnistamaan normaalit punasolut morfologisesti poikkeavista punasoluista. Opinnäytetyö syvensi tietämystämme eri anemiataudeista.

Opinnäytetyössä on kunnioitettu potilaiden anonymiteettiä. Verinäytteet ovat peräisin hematologian radalta emmekä tiedä potilaiden lähtötilanteita, henkilöllisyyksiä tai diagnooseja. Veren sivelyvalmisteet, verenkuvaa-analysaattorin tulosteet ja näytekortit ovat identifioitu yhteen numeroilla.

Opinnäytetyön aihe oli hyvä ja mielenkiintoinen. Opinnäytetyön tuotoksena teimme oppimateriaalia hemolyyttisestä ja raudanpuuteanemiasta, mutta jatkossa oppimateriaalia voisi tehdä muista anemiatyypeistä. Oppitunneilla käydään läpi teoriassa useita eri verisairauksia, samalla opiskelijoilla herää kiinnostus ja halu nähdä poikkeavuudet mikroskooppisesti veren sivelyvalmisteelta. Opintojen kannalta olisi hyvä, että opiskelijat pääsisivät mikroskopoimaan laadukkaita veren sivelyvalmisteita mahdollisimman monipuolisesti ja että he pääsisivät tarkastelemaan verenkuvaa-analysaattorin antamia tulosteita.

LÄHTEET

Auerbach, Michael and Adamson, John W. 2016. How we diagnose and treat iron deficiency anemia. American Journal of Hematology, Vol. 91, No. 1.

Arasalo, Jussi & Luoma, Joonas. 2010. Sysmex XS-1000i verensoluautomaatin perehdytys- ja laiteohje bioanalytiikan opiskelijoille. Tampereen ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Opinnäytetyö. Hakupäivä 19.2.2022. https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/23132/Arasalo_Jussi_Luoma_Joonas.pdf?sequence=1

Bridges, Kenneth & Person, Howard A. 2008. Anemias and other red cell disorders. McGraw-Hill Medical

Briggs C, Culp, N, Davis B, D'onofrio G, Zini G & Machin SJ. 2014. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting (toim. L. Palmer.) International Journal of Laboratory Hematology 37: 288.

Ekblad, Katarina. 2013. Sysmex XS-1000i-verenkuva-analysaattorin lyhyt käyttöohje bioanalyttikko-opiskelijoille. Savonia ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Opinnäytetyö. Hakupäivä 14.3.2022. https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/56619/Ekblad_Katarina.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Hyyryläinen, Anna & Vuolteenaho, Olli. 2020. S-EPO. Nordlab tutkimusohjekirja. Hakupäivä 4.4.2022. http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=1339&terms=-epo

Järvi-Holopainen, Rotgers, Siitonen & Joutsu-Korhonen 2021. Veren sivelyvalmisteen tutkimisen indikaatiot ja vaikuttavuus. Kliinlab 21 (3). 95–96. Hakupäivä 12.3.2022. https://www.skky.fi/sites/skky.fi/files/media/Kliinlab_3_2021_screen_0.pdf

Laamanen, Jane 2015. Kehittämistutkimus: Puskuriliuoskäsitteen oppimisen tukeminen kokeellisuuden avulla. Helsingin yliopisto. Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta. Pro gradu –tutkielma. Hakupäivä 22.3.2022. <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/158013/ProGraduLaamanen.pdf?sequence=2>

Lopez, A., Cacoub, P., Macdougall, I. C., & Peyrin-Biroulet, L. 2016. Iron deficiency anaemia. *The Lancet*, 387 (10021), 907–916.

Linko-Parviainen, Anna 2019, Kokemuksia solulaskijan tulospöytäkirjojen tulkinnasta. Tykslab. Hakupäivä 22.3.2022.

https://www.labqualitydays.fi/wp-content/uploads/sites/2/2019/01/LQD19_Abstrakti_Linko-Parviainen_Anna.pdf

Linko-Parvinen, Anna. 2021. Anemia. Teoksessa *Patologia* (toim. Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki & Reijo Sironen). Oppiportti Duodecim. Hakupäivä 7.3.2022.

<https://www.oppiportti.fi/op/pat00239/do>. Vaatii käyttöoikeuden.

Linko-Parvinen, Anna. 2021. Synnynnäiset hemolyyttiset anemiat. Teoksessa *Patologia* (toim. Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki & Reijo Sironen). Oppiportti Duodecim.

<https://www.oppiportti.fi/op/pat00245/do>. Vaatii käyttöoikeuden.

Lustig, Sonja & Virtanen, Anna. 2014. Valko- ja punasolumorfologian tunnistuskriteerit –ohjeisto Fimlab laboratoriot oy:lle. Tampereen ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Opinnäytetyö. Hakupäivä 12.3.2022. https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/81679/Lustig_Sonja_Virtanen_Anna.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Miller-Keane. 2003. *Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing and Allied Health*. Hakupäivä 24.1.2022. <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/Hemoglobine>

Määttänen, Viivi. 2016. Visuaalinen oppimateriaali veritautien solumorfologiasta. Turun ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Opinnäytetyö. Hakupäivä 4.4.2022.

https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/109962/Maattanen_Viivi.pdf?sequence=1

Oksanen, Emmi. 2014. Elimistö sopeutuu anemiaan. *Tehy-lehti*. 24.11.2015. Hakupäivä 16.3.2022. <https://www.tehylehti.fi/fi/terveys/elimisto-sopeutuu-anemiaan>

Oulun ammattikorkeakoulu. 2022. Opinto-opas. Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma (210 op). Viitattu 12.1.2022, <https://www.oamk.fi/opinto-opas/opintojen-sisalto/opetussuunnitelmat?koulutus=bio2022sm&lk=s2022>

Oy Reagen Ltd. 2018. May-Grünwald-Giemsä- värjäysliuokset, käyttöohjeet. Hakupäivä 19.2.2022. <https://tuoteluettelo.mediq.fi/liitteet/d389462/>

Pelliniemi, Tarja-Terttu. 1998. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim. Veren sivelyvalmiste. Hakupäivä 12.1.2022. <https://www.duodecimlehti.fi/duo80261>

Porkka, Kimmo, Lassila, Riitta, Remes, Kari & Savolainen Eeva-Riitta. 2015. Veritaudit. 4. Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Porkka, Kimmo., Lassila, Riitta., Remes, Kari. & Savolainen, Eeva-Riitta. 2015. Johdanto anemiatiloihin tutkimiseen. Teoksessa Veritaudit (toim. Tapio Nousiainen). Hakupäivä 24.1.2022. www.oppiportti.fi/op/ver00900/do. Vaatii käyttöoikeuden.

Punainen risti. 2022. Veripalvelu. Hakupäivä 12.3.2022. <https://www.veripalvelu.fi/verenluovutus/veren-matka/tietoa-veresta>

Puolakanaho, Tarja, Savolainen, Eeva-Riitta & Rehu, Mari. 2021. S-Ferriitti. Nordlab tutkimusohjekirja. Hakupäivä 12.3.2022
http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=1395&terms=ferritiini

Raymaakers, Karen. 2020. A Look at Hematopoiesis. Hakupäivä 21.4.2022. <https://www.verywell-health.com/what-is-hematopoiesis-2252117>

Salonen, Jonna. 2019. Lääkärikirja Duodecim. Punasolujen kiihtynyt hajoaminen (hemolyyttinen anemia). Hakupäivä 7.3.2022. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00923>

Salonen, Jonna. 2019. Lääkärikirja Duodecim. Raudanpuuteanemia. Hakupäivä 24.1.2022. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00867/raudanpuuteanemia>

Savolainen Eeva-Riitta, Kakko Sakari, Jahnukainen Kirsi & Juvonen Eeva. 2015. Periytyvät punasolupoiikkeavuudet. Teoksessa Veritaudit (toim. Tapio Nousiainen). Hakupäivä 22.3.2022. <https://www.oppiportti.fi/op/ver01303/do>

Savolainen Eeva-Riitta, Kakko Sakari, Jahnukainen Kirsi & Juvonen Eeva. 2015. Hemolyysin laboriodiagnostiikka. Teoksessa Veritaudit. Hakupäivä 9.4.2022. <https://www.oppiportti.fi/op/ver01301/do>

Savolainen, Eeva-Riitta, Ylipahkala, Hannele, Myllynen, Päivi & Hannuksela, Minna. Nordlab Pohjois-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. 2020. Veren sivelyvalmisteen työohje. Hakupäivä 24.1.2022. https://www.nordlab.fi/sites/default/files/pdf_uploads/verensivelyvalmisteen_tekeminen.pdf

Seo, J. Y., Lee, S. T., & Kim, S. H. (2015). Performance evaluation of the new hematology analyzer S ysmex XN-series. *International journal of laboratory hematology*, 37(2), 155–164.

Siitonen, Timo & Koistinen, Pirjo. 2015. Hematopoieesin säätely. Teoksessa Veritaudit (toim. Tapio Nousiainen). Hakupäivä 4.4.2022. https://www.oppiportti.fi/op/ver00103/do?p_haku=erythropoieesi#q=erythropoieesi

Singh, Ajay. 2015. Erythropoiesis. Teoksessa Textbook of Nephro-Endocrinology. Hakupäivä 21.4.2022. <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/erythropoiesis>

Suomen bioanalytikkoliitto. Kliininen hematologia. Hakupäivä 7.3.2022. <https://www.bioanalytikkoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalytikko/bioanalytikon-koulutus/erikoisalat/kliininen-hematologia/>

Sysmex Corporation. 2014. XN series (XN-1000) Instructions for Use. Kobe, Sysmex corporation.

Tunturi, Satu. 2021. Duodecim terveyskirjasto. Perusverenkuva ja trombosyytit (B-PVK). Hakupäivä 19.2.2022. <https://www.terveyskirjasto.fi/snk03030>

Veripalvelu. Mitä verenluovuttajan on hyvä tietää hemoglobiinista ja raudasta. Hakupäivä 4.4.2022. <https://www.veripalvelu.fi/verenluovutus/luovuta-verta/veren-hemoglobiinipitoisuus-ja-rautalis%C3%A4#hemoglobiini>

Wahed, Amer & Dasgupta Amitava. 2015. Hematology and Coagulation. Hakupäivä 21.4.2022. <https://www.sciencedirect.com/topics/nursing-and-health-professions/hematology-analyzer>

LIITTEET

Liite 1. Analysaattorin tuloste ja näytekortti

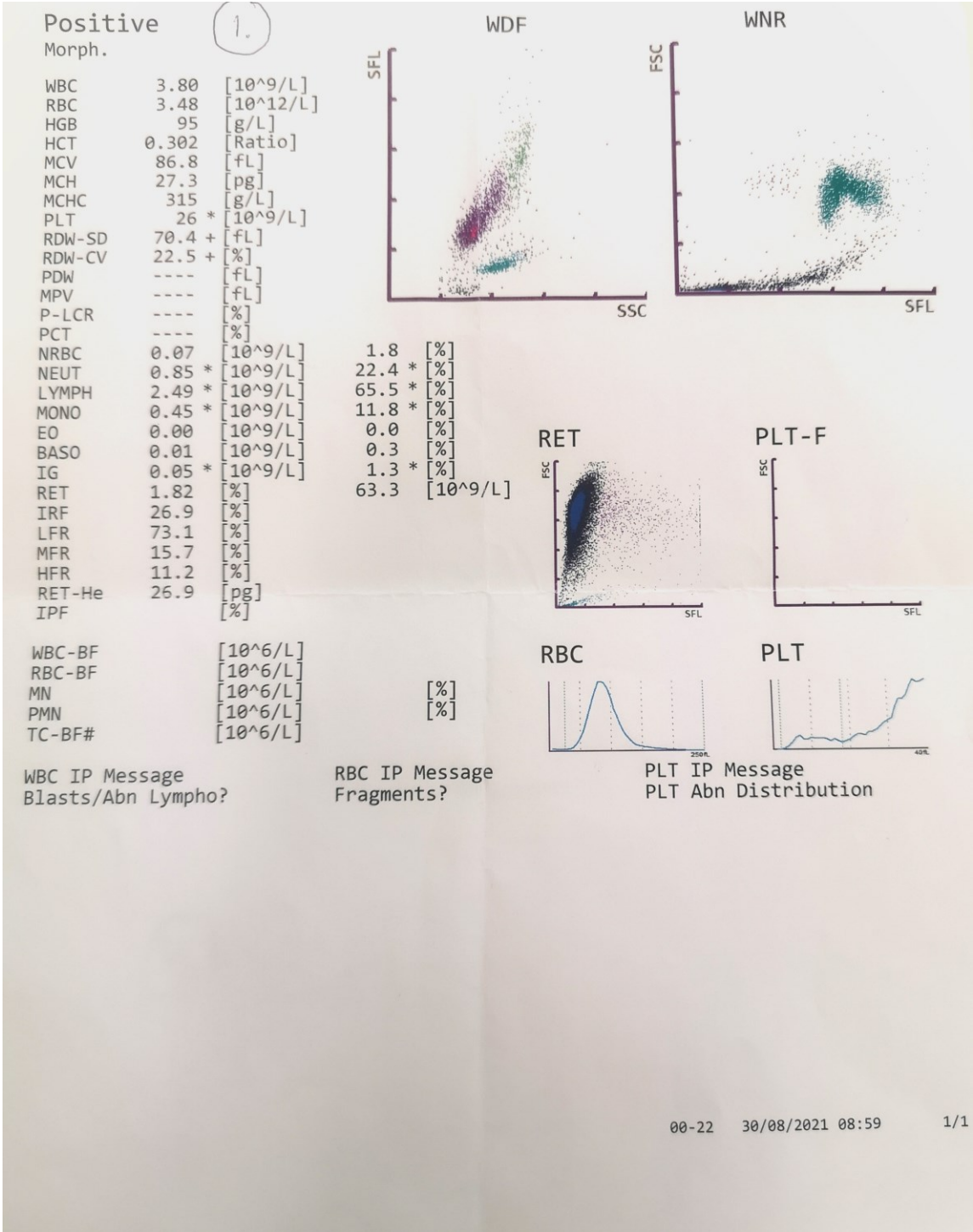
Liite 2. Analysaattorin tuloste ja näytekortti

Liite 3. Analysaattorin tuloste ja näytekortti

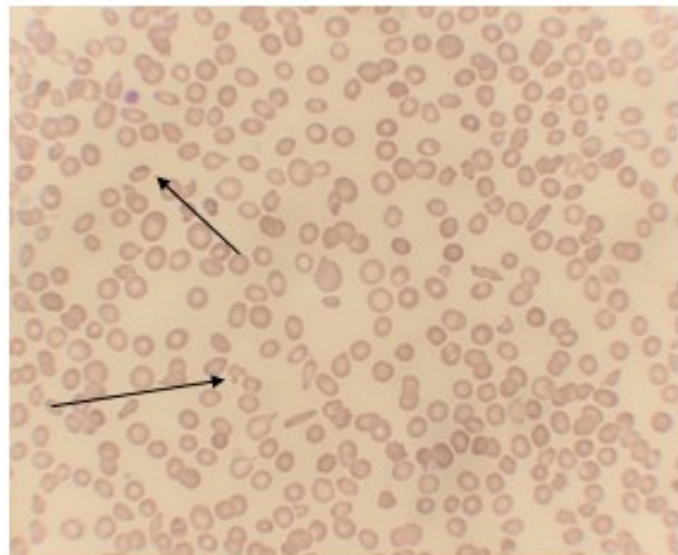
Liite 4. Analysaattorin tuloste ja näytekortti

Liite 5. Analysaattorin tuloste ja näytekortti

Liite 6. Sivelyvalmisteen teko-ohje ja värjäys



Näyte 1

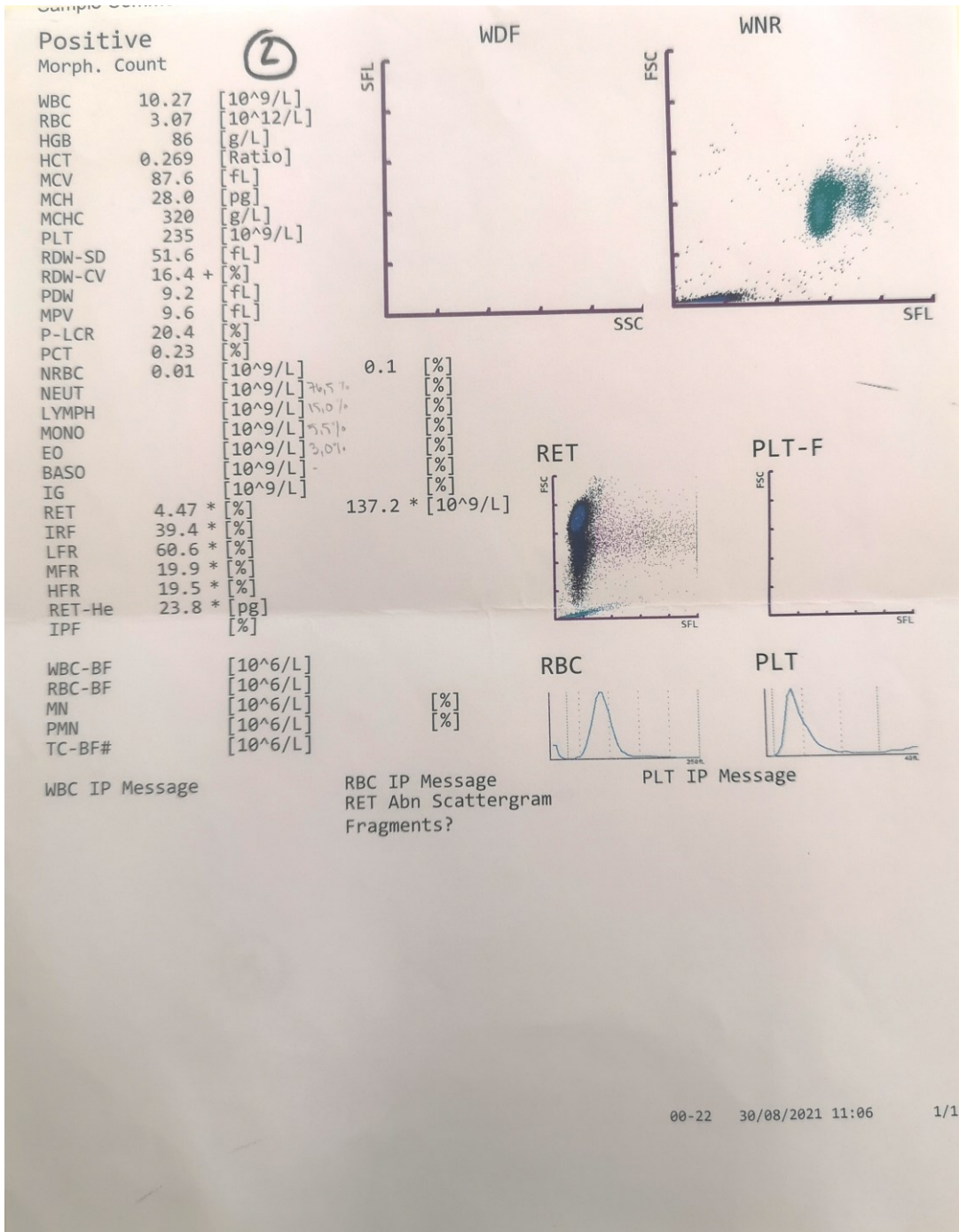


Näytteessä normosyyttisiä punasoluja, MCV 86,8 fl (80–100 fl).

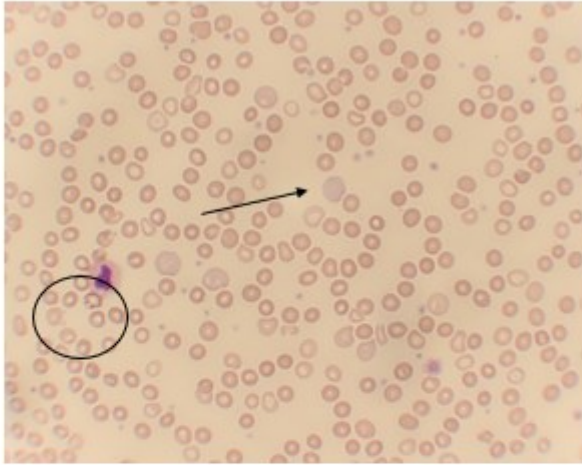
Näytteessä on havaittavissa poikilosytoosia ja fragmentteja.

Valkosolut: 3.80 (10^9 /L)

Valkosolut	Absoluuttinen arvo	Prosenttiosuus	Erittelylaskennan tulos
Neutrofiilit	0,92 (10^9 /L)	24 %	48/200 solua
Lymfosyytit	2,55 (10^9 /L)	67 %	134/200 solua
Monosyytit	0,34 (10^9 /L)	9 %	18/200 solua
Eosinofiilit	0 (10^9 /L)	0 %	0/200 solua
Basofiilit	0 (10^9 /L)	0 %	0/200 solua



Näyte 2



Kuva 1 Nuoli osoittaa retikulosyyttiä, hypokromiset punasolut ympäröitynä.

Normosyyttinen hemolyyttinen anemia. MCV 87,6 fl (80–100 fl).

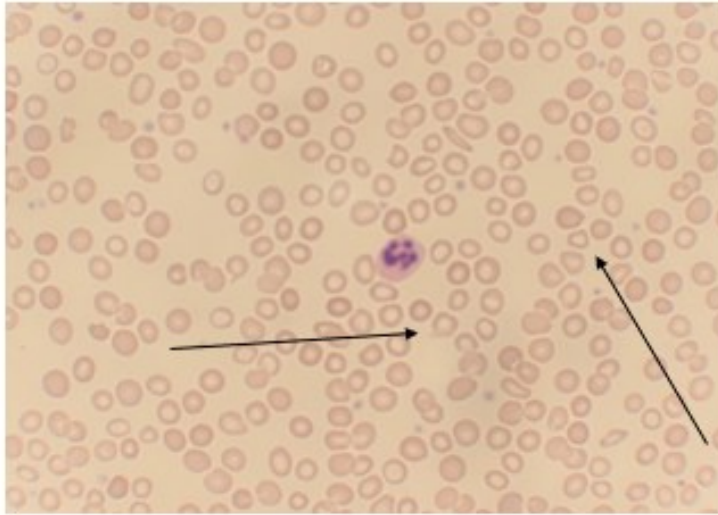
Hypokromisia punasoluja.

Retikulosyyttikoholla 4.47 % (0,7–2,3 %).

Valkosolut: 10,27 (10^9 /L)

Valkosolut	Absoluuttinen arvo	Prosenttiosuus	Erittelylaskennan tulos
Neutrofiilit	8,06 (10^9 /L)	78,5 %	157/200 solua
Lymfosyytit	1,79 (10^9 /L)	17,5 %	35/200solua
Monosyytit	0,15 (10^9 /L)	1,5 %	3/200 solua
Eosinofiilit	0,25 (10^9 /L)	2,5 %	5/200 solua
Basofiilit	0 (10^9 /L)	0 %	0/200 solua

Näyte 3



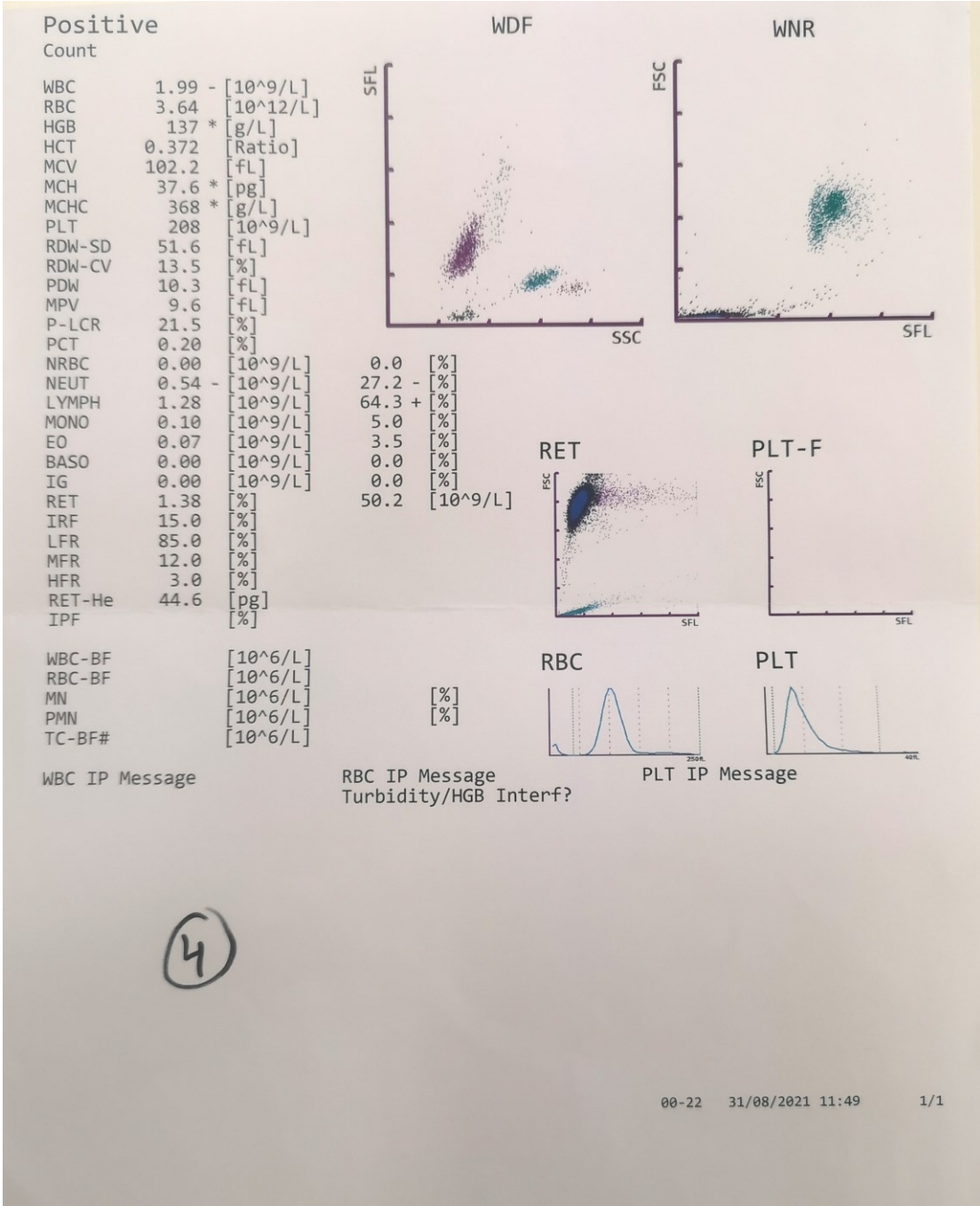
Mikrosyyttiset punasolut, MCV 71,4 fl. (80–100 fl).

Punasolut hypokromisia, MCHC 292 g/L (320–355 g/L).

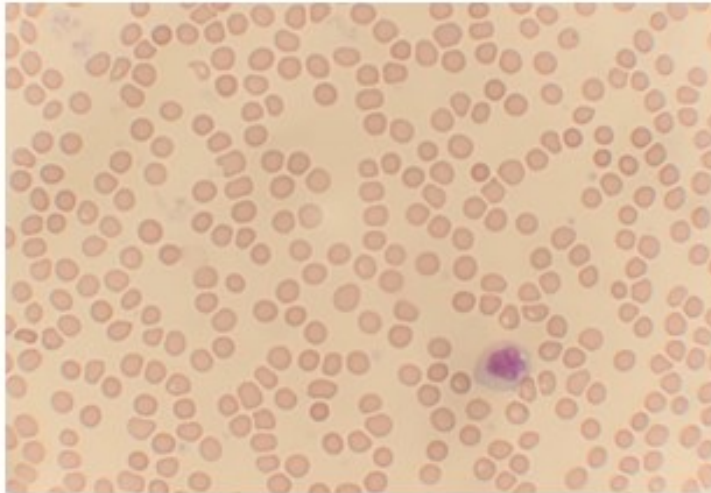
Hemoglobiini matala, 91 g/L.

Valkosolut: 3,58 (10^9 /L)

Valkosolut	Absoluuttinen arvo	Prosenttiosuus	Erittelylaskennan tulos
Neutrofiilit	2,29 (10^9 /L)	64 %	128/200 solua
Lymfosyytit	0,96 (10^9 /L)	27 %	54/200 solua
Monosyytit	0,25 (10^9 /L)	7 %	14/200 solua
Eosinofiilit	0,07 (10^9 /L)	2,0 %	4/200 solua
Basofiilit	0 (10^9 /L)	0 %	0/200 solua



Näyte 4

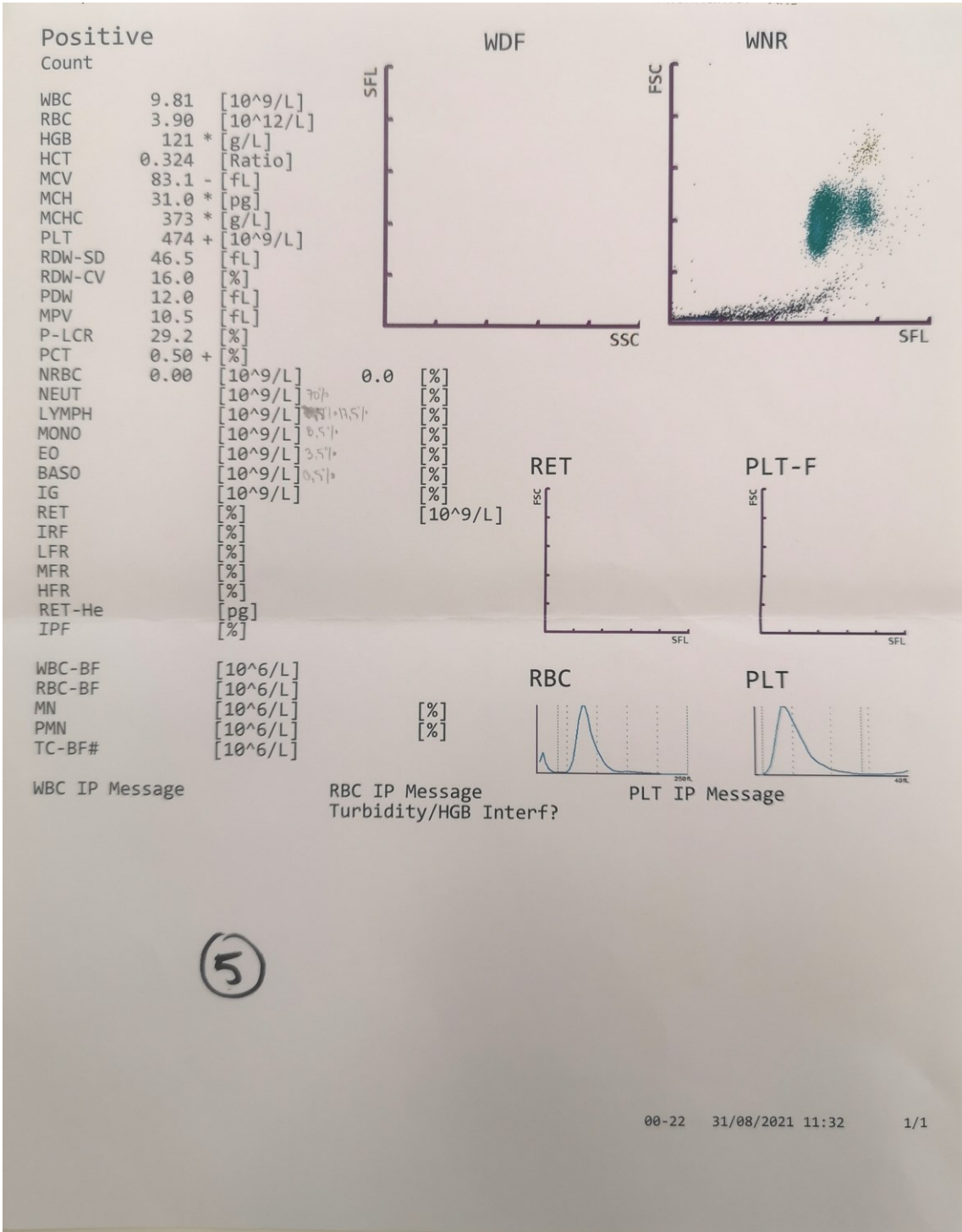


Makrosyyttinen näyte, MCV 102,2 fl (80–100 fl). Verenkuvaa-analysaattorin hälytys *Turbidity hgb interf.* Mahdollisesti rasvat häiritsevät analysointia.

Normaali punasolumorfologia.

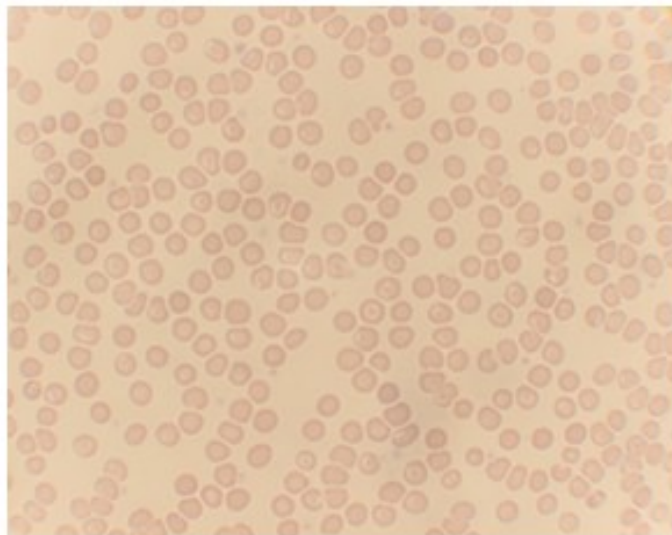
Valkosolut: 1,99 (10^9 /L)

Valkosolut	Absoluuttinen arvo	Prosenttiosuus	Erittelylaskennan tulos
Neutrofiilit	0,49 (10^9 /L)	25 %	50/200 solua
Lymfosyytit	1,14 (10^9 /L)	71 %	142/200 solua
Monosyytit	0,03 (10^9 /L)	2 %	4/200 solua
Eosinofiilit	0,03 (10^9 /L)	2 %	4/200 solua
Basofiilit	0 (10^9 /L)	0 %	0/200 solua



5

Näyte 5



Normosyyttinen hemolyttinen anemia. MCV 83,1 fl (80–100 fl).
Verenkuva-analysaattorin hälytys *Turbidity hgb interf.*

Normaali punasolumorfologia.

Valkosolut: 9,81 (10^9 /L)

Valkosolut	Absoluuttinen arvo	Prosenttiosuus	Erittelylaskennan tulos
Neutrofiilit	6,96 (10^9 /L)	71 %	142/200 solua
Lymfosyytit	1,66 (10^9 /L)	17 %	34/200 solua
Monosyytit	0,58 (10^9 /L)	6 %	12/200 solua
Eosinofiilit	0,39 (10^9 /L)	4 %	8/200 solua
Basofiilit	0,19 (10^9 /L)	2 %	4/200 solua

Sivelyvalmisteen teko ja värjäys ohjeet

Veren sivelyvalmisteen työohje:

Sivelyvalmisteen tekoon käytettävien lasien tulee olla puhtaita ja pölyttömiä. Sormilla ei saa koskea alueeseen, jolle sivelyvalmiste tehdään. Vetolasina voidaan käyttää muovisia tai lasisia vetolaseja.

1. Kääntelee EDTA-veri huolellisesti putkessa. Tiputa kapillaarilla tai pipetillä pisara verta lasin hiospään (jonne henkilötiedot tulevat).
2. Veripisara tulee vetää lasille välittömästi, ettei suuret solut ala sijoittumaan lasille epätasaisesti.
3. Pitele lasia toisella kädellä tiukasti pöytää vasten. Aseta vetokädessä pitelemäsi vetolasi 30° asteen kulmassa veripisaran eteen. Vedä vetolasia lähemmäs veripisaraa siten, että veri pääsee leviämään tasaisesti vetolasin mukaisesti.
4. Tee napakka työntö sivelyvalmistelasin päähän saakka. Loppua kohden työntö saa kevenyä, jotta sivelyvalmisteeseen saadaan "häntäosa".
5. Sivelyvalmisteen olisi hyvä olla 2,5–3,5 cm pitkä ja siinä ei saa olla reikiä, viiruja tai aaltoja.
6. Laadukkaassa näytteessä "häntäosassa" voi nähdä spektrin värejä. Tässä päässä solut ovat hyvin erillään toisistaan.
7. Ilmakuivaa tai käytä puhallinta lasin kuivaamiseen välittömästi vedon jälkeen. Vain kylmää ilmaa saa käyttää kuivaamiseen!
8. Merkitse sivelyvalmisteeseen potilaan nimi, henkilötunnus, hoitoyksikkö, päivämäärä, näyttötunnus sekä tutkimuksen nimi (B-Diffi, B-Morfo, B-Neut tai Perif) (Nordlab 2020.)

May-Grünwald-Giemsan (MGG) värjäysohje:

May-Grünwald-Giemsan (MGG) värjäystä käytetään veren, luuytimen ja sytologisten näytteiden värjäämiseen, jotta näytteitä voidaan tutkia morfologisesti.

May-Grünwaldin värjäyksessä vaikuttavina väreinä ovat emäksinen metyleenisininen sekä hapan eosini. Metyylisininen värjää solujen happamat osiot sinisiksi ja eosini värjää solujen emäksiset osiot punaisiksi. Giemsan atsuuriväri syventää värin intensiteettiä ja tehostaa solurakenteiden kontrastia. Näin ollen valkosolujen tumat värjäytyvät sinisiksi ja/tai violeteiksi riippuen valkosolusta, sytoplasma vaalean siniseksi sekä punasolut värjäytyvät punaisiksi tai oransseiksi. (Oy Reagena 2018.)

Ensimmäisenä valmistetaan käyttöliuokset värjäystä varten.

1. Puskuroituun veteen tarvitaan fosfaattipuskuria, jota laimennetaan tislattulla vedellä 1:20. Esimerkiksi 30 ml fosfaattipuskuria ja 570 ml tislattua vettä.
2. Giemsa: Sekoita Giemsa-liuosta 84 ml ja puskuroitua vettä 516 ml.
3. May-Grünwald: Sekoita May-Grünwald-liuosta 360 ml ja puskuroitua vettä 240 ml.

(Oy Reagena 2018.)

Värjäys:

1. Sivelyvalmiste tulee kiinnittää metanolilla 10 minuutin ajan. Luuytimen näytteen kiinnitysaika on 20 minuuttia.
2. Kiinnityksen jälkeen värjää sivelyvalmiste May-Grünwald-liuoksessa 5 minuutin ajan ja sen jälkeen Giemsa-liuoksessa 12 minuutin ajan.
3. Sivelyvalmiste tulee huuhdella puskuroidulla vedellä 2 minuutin ajan, sen jälkeen 5 minuutin ajan ja vielä 2 minuutin ajan. Jokaiselle huuhtelulle on omat astiansa.
4. Sivelyvalmisteen on hyvä antaa hetken kuivua pystyasennossa, jotta ylimääräinen vesi valuu pois. Sen jälkeen sivelyvalmisteen voi antaa kuivua huoneenlämmössä tai lämpökaapissa (tämä nopeuttaa kuivumista).
5. Suojaa lasi peitinlasilla.

(Oy Reagena 2018.)