



**VIRTSAN ERYTROSYYTTIEN JA LEUKOSYYTTIEN VERTAILU SUHTEESSA NÄYTTEEN VÄ-  
KEVYYTEEN SYSMEX UF-1000i-  
ANALYSAATTORILLA JA KAMMIOLASKEN-  
NALLA**

Leena Kivekäs

Hanna Ojala

Opinnäytetyö  
Lokakuu 2011  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
Tampereen ammattikorkeakoulu

TAMPEREEN AMMATTIKORKEAKOULU

Tampere University of Applied Sciences

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
K08MBIOAN

KIVEKÄS, LEENA & OJALA, HANNA:

Virtsan erytrosyyttien ja leukosyyttien vertailu suhteessa näytteen väkevyyteen Sysmex UF-1000i-analysaattorilla ja kammiolaskennalla

Opinnäytetyö 63 s., liitteet 5 s.  
Lokakuu 2011

---

Virtsan perustutkimukset ovat yleisimpiä sairaala- ja avohoidossa pyydettyjä tutkimuksia. Automaatio on nopeuttanut tutkimustulosten saamista ja helpottanut analysoimista vähentämällä virtsanäytteiden mikroskopoinnin tarvetta. Virtsanäytteiden väkevyys vaikuttaa tulosten tulkintaan, sillä näytteen laimeus heikentää sen edustavuutta. Virtsanäytteen huomattavan korkea tai matala väkevyys saattaa myös muuttaa tutkittavien partikkelien ulkonäköä. Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla Sysmex UF-1000i-analysaattorin ja kammiolaskennan antamia erytrosyyttien ja leukosyyttien tuloksia ja huomioida vertailussa virtsanäytteen väkevyys. Kammiolaskennan yhteydessä oli tarkoitus kiinnittää huomiota virtsanäytteen väkevyydestä johtuviin muutoksiin solujen ulkonäössä. Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa tietoa, joka edistää virtsa-analytiikan laatua ja mahdollisesti nopeuttaa tulosten saamista sekä selvittää väkevyyden vaikutusta solujen tunnistettavuuteen virtsanäytteessä. Opinnäytetyön tehtäväksi muodostui selvittää, miten näytteen väkevyys vaikuttaa laskettavien solujen määrään ja ulkonäköön sekä miten virtaussytometriaan perustuva automaattinen solulaskin Sysmex UF-1000i pystyy tunnistamaan soluja, joiden ulkonäkö on muuttunut. Opinnäytetyön aihe saatiin alun perin laboratoriohoitaja Irja Mularilta ja ylilääkäri Timo Kourilta. Kokeellinen osuus toteutettiin yhteistyössä Kanta-Hämeen keskussairaalan (KHKS) kliinisen laboratorion kanssa.

Opinnäytetyö oli kvantitatiivinen kokeellinen työ, jossa oli myös vertailevan tutkimuksen piirteitä. Tutkimusaineisto koostui 103 KHKS:n potilasnäytteestä, joista oli pyydetty virtsan partikkelien peruslaskenta (U-solut). Näytteiden erytrosyytit ja leukosyytit laskettiin Sysmex UF-1000i-analysaattorilla ja kammiolaskennalla. Kammiolaskennassa kiinnitettiin huomiota solujen ulkonäköön. Tulokset analysoitiin Microsoft® Office Excel-ohjelmalla.

Tulosten perusteella Sysmex UF-1000i-analysaattorin ja kammiolaskennan tulokset korreloivat hyvin toisiaan, mutta yksittäisissä tuloksissa oli suuria eroavaisuuksia. Tutkimusaineistosta tehtyjen johtopäätösten perusteella virtsan väkevyydellä ei ollut vaikutusta erytrosyyttien ja leukosyyttien määriin tai ulkonäköön. Jatkotutkimuksen aiheena voisi olla kokeellisen osuuden toistaminen käyttämällä väkevyydeltään vaihtelevampia ja värjättyjä virtsanäytteitä.

---

Asiasanat: Virtsa, ominaisjohtokyky, virtsan solut, Sysmex UF-1000i, kammiolaskenta

## ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Tampere University of Applied Sciences  
Degree Programme in Biomedical Laboratory Technology

KIVEKÄS, LEENA & OJALA, HANNA:  
Comparison of Erythrocytes and Leukocytes from the Perspective of Conductivity in Urine with Sysmex UF-1000i-Analyzer and Quantitative Microscopy  
Bachelor's thesis 63 pages, appendices 5 pages.  
October 2011

---

The objective of this study was to gather information that improves the quality of urine analysis and possibly fastens the process of receiving the results. Another objective was to find out how urine conductivity affects the identification of urine cells. The purpose of this thesis was to compare erythrocyte and leukocyte results in urine with automated Sysmex UF-1000i-analyzer and quantitative microscopy, from the perspective of urine conductivity. It was examined whether there were changes in the appearance of cells due to concentration of urine. The main research questions were the following: How does the conductivity of urine affect the number and appearance of the erythrocytes and leucocytes in urine samples? Is automated cell counter Sysmex UF-1000i able to identify cells the appearance of which has changed?

The study was quantitative in nature. It based on data collection from urine samples that were sent to the laboratory for clinical reasons. The sample of the study consisted of 103 urine samples. Statistical analyses were performed using Microsoft<sup>®</sup> Office Excel-program. The results show that the Sysmex UF-1000i-analyzer correlates quite well with quantitative microscopy. The findings suggest that the conductivity of the samples does not affect the appearance of the erythrocytes and leucocytes in urine.

---

Keywords: Urine, conductivity, urine cells, Sysmex UF-1000i, quantitative microscopy

## SISÄLLYS

1 JOHDANTO .....	5
2 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT .....	7
3 VIRTSAAN VÄKEVYYS JA SEN MÄÄRITTÄMINEN .....	8
3.1 Virtsanäytteen väkevyyden merkitys .....	8
3.2 Virtsan sähkönjohtokyky .....	9
3.3 Virtsan suhteellinen tiheys .....	11
3.4 Virtsan osmolaliteetti .....	12
4 VIRTSAANERITYS .....	14
4.1 Munuaiset ja virtsatiet .....	14
4.2 Virtsanmuodostus .....	16
4.3 Virtsan väkevyyden säätely .....	19
5 VIRTSAAN PARTIKKELIT .....	21
5.1 Erytrosyytit .....	21
5.2 Leukosyytit .....	23
5.3 Epiteliaaliset solut .....	24
5.4 Lieriöt .....	25
5.5 Mikrobit .....	26
5.6 Kiteet ja sakka .....	27
6 VIRTSAAN PARTIKKELIEN LASKEMINEN VIRTAUSSYTOTOMETRIALLA .....	28
6.1 Virtaussytometri periaate .....	28
6.2 Sysmex UF-1000i .....	29
7 VIRTSAAN PARTIKKELIEN MIKROSKOPIA .....	34
7.1 Kammiolaskenta .....	34
7.2 Virtsan solujen kammiolaskenta .....	35
8 AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET .....	37
8.1 Sysmex UF-100-analysaattorin ja mikroskopian vertailu .....	37
8.2 Sysmex UF-1000i-analysaattorin ja kvantitatiivisen mikroskopian vertailu .....	38
9 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT .....	40
10 TUTKIMUSAINIESTO JA TUTKIMUKSEN SUORITUS .....	43
11 TUTKIMUSTULOKSET .....	46
12 JOHTOPÄÄTÖKSET .....	49
13 POHDINTA .....	51
LÄHTEET .....	55
LIITTEET .....	59

## 1 JOHDANTO

Virtsatutkimuksia käytetään rutiiniluonteisesti munuaisten ja virtsateiden sairauksien toteamiseen ja seurantaan (Mayo ym. 2008, 262). Virtsatutkimuksia voidaan käyttää apuna munuaissairauksien perusselvittelyssä, sillä munuaisperäisten partikkelien esiintyminen virtsassa viittaa munuaissairauteen. Alemmissa virtsateissa on tavallisimpina vaivoina virtsatieinfektiot, kivet ja uroteelin kasvaimet. Virtsatutkimuksen avulla voidaan löytää myös yleissairauksia, kuten verenvuototaipumus, diabetes tai muu aineenvaihdunnan häiriö. (Kouri 2010, 121, 127.)

Virtsan tutkimukset ovat yleisimpiä tutkimuksia niin sairaaloiden kuin avohoidonkin potilaille. Automaatio tuo tehokkuutta ja samalla herkkyyttä suurien virtsanäytemäärien analysoimiseen verrattuna perinteisiin mikroskoopilla tehtäviin tutkimuksiin. (Manoni, ym. 2010, 1107.) Virtsa-analytiikassa on tärkeää käyttää menetelmiä, joilla saadaan tuotettua toistettavia, laadukkaita ja luotettavia tuloksia. Jotta potilaan saama hoito voitaisiin aloittaa ilman turhaa viivettä, on virtsanäytteistä pyydettyjen tutkimusten vastauksien valmistuttava mahdollisimman nopeasti.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa tietoa, joka edistää virtsa-analytiikan laatua ja mahdollisesti nopeuttaa tulosten saamista sekä selvittää väkevyyden vaikutusta solujen tunnistettavuuteen virtsanäytteessä. Opinnäytetyön tarkoituksena on vertailla Sysmex UF-1000i-analysaattorin ja kammiolaskennan antamia erytrosyyttien ja leukosyyttien tuloksia ja huomioida vertailussa virtsanäytteen väkevyys. Kammiolaskennan yhteydessä on tarkoitus kiinnittää huomiota virtsanäytteen väkevyydestä johtuviin muutoksiin solujen ulkonäössä. Saamme tiedon virtsan väkevyydestä Sysmex UF-1000i:n mittaaman ominaisjohtokyvyn avulla. Kammiolaskentaa referenssimenetelmänä käyttäen voidaan todentaa automaattisen solulaskimen saamien tulosten luotettavuutta ja sitä kautta vähentää mikroskopian tarvetta. Opinnäytetyön aihe on tärkeä, sillä työelämässä on tarve nopeuttaa kasvavien virtsanäytemäärien analysoimista, sekä vähentää laboratoriohoitajien ja bioanalytikoiden työn kuormittavuutta vähentämällä virtsan partikkelien mikroskopoimista.

Opinnäytetyö tehdään yhteistyössä Kanta-Hämeen keskussairaalan (KHKS) klinisen kemian laboratorion kanssa. Saimme opinnäytetyön aiheen alun perin laboratoriohoitaja Irja Mularilta ja ylilääkäri Timo Kourilta. Opinnäytetyö on työelämälähtöinen, sillä KHKS:n klinisen laboratorion kemisti Sari Husgafvel kiinnostui aiheesta. Hän halusi selvityksen siitä, kuinka luotettavasti Sysmex UF-1000i tunnistaa virtsan soluja, joiden ulkonäkö on muuttunut näytteen laimeuden tai väkevyyden takia. Tämä opinnäytetyö on suunnattu laboratoriohoitajille, bioanalytikoille sekä bioanalytikko-opiskelijoille, jotka työssään tai opinnoissaan ovat tekemisissä virtsa-analytiikan kanssa.

Teoreettisessa osuudessa tullaan selvittämään kirjallisuuden ja artikkelien avulla virtsan muodostumista ja sen sisältämiä partikkeleja. Käsittelemme myös virtsan väkevyyteen vaikuttavia asioita, sekä virtsan partikkelilaskennassa käytettyjä tutkimusmenetelmiä: virtaussytometriaa ja kammiolaskentaa. Opinnäytetyössämme ei tulla käsittelemään mahdollisten potilasperäisten preanalyttisten tekijöiden, kuten ruokavalion tai liikunnan vaikutusta näytteen väkevyyteen.

Rajaamme opinnäytetyömme aiheen erytrosyytteihin ja leukosyytteihin, sillä näissä soluissa virtsanäytteen väkevyyden vaikutus solujen ulkonäköön on selkeimmin arvioitavissa mikroskooppisesti. Lisäksi erytrosyyttien löytyminen ja niiden tunnistaminen on tärkeimpiä yksittäisiä löydöksiä virtsanäytteitä analysoitaessa. Teoriaosuudessa käsittelemme myös muut virtsan partikkelit, sillä Sysmex UF-1000i-analysaattori antaa tuloksen myös niistä.

Virtsanäytteen väkevyyden korreloi siinä esiintyvien partikkelien määrään. Useimmiten laimeissa virtsanäytteissä on vähemmän partikkeleja kuin väkevissä. Toisaalta virtsanäytteen huomattavan korkea tai matala väkevyyden saattaa muuttaa tutkittavien partikkelien ulkonäköä. Virtsan väkevyyttä voidaan mitata muun muassa osmolaliteetin ja ominaisjohtokyvyn avulla. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1848.)

## 2 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa tietoa, joka edistää virtsa-analytiikan laatua ja mahdollisesti nopeuttaa tulosten saamista sekä selvittää väkevyyden vaikutusta solujen tunnistettavuuteen virtsanäytteessä. Opinnäytetyön tarkoituksena on vertailla Sysmex UF-1000i-analysaattorin ja kammiolaskennan antamia erytrosyyttien ja leukosyyttien tuloksia ja huomioida vertailussa virtsanäytteen väkevyys. Kammiolaskennan yhteydessä on tarkoitus kiinnittää huomiota virtsanäytteen väkevyydestä johtuviin muutoksiin solujen ulkonäössä. Opinnäytetyön tehtävänä on selvittää:

1. Miten näytteen väkevyys vaikuttaa laskettavien solujen määrään?
2. Miten näytteen väkevyys vaikuttaa laskettavien solujen ulkonäköön?
3. Miten automaattinen solulaskin UF-1000i pystyy tunnistamaan soluja, joiden ulkonäkö on muuttunut?

Asetamme opinnäytetyöprojektillemme lisäksi omia tavoitteita. Tavoitteena on kehittää omaa ammatillista osaamista virtsanäytteiden analytiikassa ja erityisesti virtsanäytteiden mikroskopoinnissa. Haluamme lisätä myös tietämystämme virtsateiden anatomiasta ja fysiologiasta.

### 3 VIRTSAN VÄKEVYYS JA SEN MÄÄRITTÄMINEN

Virtsanäytteen laimeus heikentää sen edustavuutta. Tutkimuksen herkkyyden varmistamiseksi virtsanäytteen tulisi olla mahdollisimman väkevä. (Kouri 2008, 43). Virtsan väkevyys voidaan määrittää ominaisjohtokyvyn, suhteellisen tiheyden, osmolaliteetin tai kreatiniinin pitoisuuden avulla (Kouri 1999, 8). Delanghe ym. (2000) ovat todenneet, että virtsan ominaisjohtokyvyn, suhteellisen tiheyden ja osmolaliteetin välillä on hyvä yhdenmukaisuus. Useimpien virtsatutkimusten vastaus on pitoisuustulos, joka tulee voida suhteuttaa näytteen väkevyyteen diureesin vaikutuksen korjaamiseksi (Kouri 1999, 8). Liuoksen elektrolyyttipitoisuus eli liuoksen johtokyky kuvaa liuosten väkevyyttä. Virtsanäytteiden kohdalla voidaan väkevyyttä käyttää hyväksi arvioitaessa löydöksen, esimerkiksi erytrosyyttien esiintyvyyden merkittävyyttä. (Malminiemi 2008, 45.)

#### 3.1 Virtsanäytteen väkevyyden merkitys

Partikkelipitoisuudet virtsassa on suhteutettava aina veden eritykseen; väkevässä aamu- virtsassa pitoisuudet ovat suurempia kuin satunnaisessa ajoittamattomassa päivystysnäytteessä (Kouri & Pohjavaara 2002, 1848). Hyvin laimeiden virtsanäytteiden tulosten tarkkuus heikkenee, sillä myös näytteessä olevien aineiden ja solujen pitoisuus laimenee (Mustajoki & Kaukua 2008).

Virtsatutkimusten kliininen arvo riippuu paljon preanalyttisistä tekijöistä. Potilaita on ohjattava virtsanäytteen antamiseen sekä suullisesti että kirjallisesti. (Kouri 2010, 132.) Koska virtsatutkimusten suurimmat virheet tapahtuvat potilaan esivalmistelussa, näytteenotossa tai näytteen kuljettamisessa, on näytteiden laatu tärkeää yhtenäistää ja myös dokumentoida eri vaiheita riittävästi. Viitevälejä voidaan soveltaa vain vakioituihin näytteisiin. Preanalyttinen mittausepävarmuus vakioiduillakin näytteillä voi olla 2-5 – kertainen suurimman ja pienimmän todetun pitoisuuden välillä. (Kouri ym. 1999, 22.) Mittausepävarmuus on mittaustulokseen liittyvä parametri, joka kuvaa mittaussuureen arvojen oletettua vaihtelua. Mittausepävarmuuteen lasketaan mukaan mittaajan, mittaussolosuhteiden ja – menetelmien sekä laitteen aiheuttamat epävarmuudet. (Hemming



2010.) Aamu- tai aamupäivänäytteet ovat väkeviä johtuen vähäisestä diureesista, mikäli potilas voi paastota näytteen antamiseen saakka. Fyysiseen rasitukseen tai ruumiinasentoon liittyvä proteinuria on vähäisintä aamun ensimmäisessä näytteessä. (Kouri ym. 1999, 8.)

Ajoittamattomassa virtsanäytteessä olevien ainesosien pitoisuustulos ei erottele terveitä ja sairaita kovin hyvin, koska veden erityys voi vaihdella jopa 50-kertaisesti (10–500 ml/tunti). Ratkaisuina on käytetty veden erityksen vähentämistä käyttämällä tutkimuksiin aamupaastonäytettä tai pitoisuuksien suhteuttamista näytteen väkevyyttä ilmaisevaan suureeseen. (Kouri ym. 1999, 14.)

Virtsanäyte täytyy toimittaa laboratorioon mahdollisimman nopeasti näytteen saamisen jälkeen. Näyte tulisi joko tutkia huoneenlämmössä puolen tunnin kuluessa tai jäädyttää välittömästi +4 °C:n lämpötilaan. Jäähdytetty näyte tulee toimittaa laboratorioon kahden tunnin kuluessa ja tutkia neljän tunnin kuluessa näytteenotosta. (Kouri ym. 1999, 10.) Mikäli näyte ei ole tuore, voidaan siinä nähdä värittömiä varjopunasoluja, joista hemoglobiini on liuennut pois. Hypertonisessa virtsassa syntyy krenatoituneita erytrosyyttejä, jotka ovat pienempiä ja rypistyneempiä kuin normaalit erytrosyytit. Krenatoituneissa erytrosyyteissä on usein nähtävissä hemoglobiinin pigmentaatiota. (Pietilä 1990, 3.) On myös otettava huomioon se, että erytrosyytit turpoavat hypotonisessa virtsassa ja voivat hajota (Lindell 2000, 819).

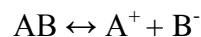
### 3.2 Virtsan sähkönjohtokyky

Virtsa on vesiliuos, joka sisältää elektrolyyttejä. Tärkeimpiä virtsan elektrolyyttejä joilla on vaikutusta virtsan väkevyyteen ja sen sähkönjohtokykyyn ovat natrium (Na), kalium (K) ja kloridi (Cl). (Brunzel 2004, 80, 84.) Sähköä johtavat aineet voidaan jakaa kahteen pääryhmään: metallijohteisiin ja elektrolyyttijohteisiin eli elektrolyytteihin. Elektrolyyttijohteita ovat tiettyihin kemiallisten yhdisteiden ryhmiin, suoloihin, happoihin ja emäksiin kuuluvat aineet liuoksina, etenkin vesiliuoksina. Elektrolyyttien sähkönjohtokyky perustuu ionien siirtymiseen sähkökentässä. Nimitys elektrolyytti johtuu siitä, että sähkön kulkiessa niiden läpi tapahtuu aineen hajaantuminen eli elektrolyysi. (Laidler, Meiser, & Sanctuary 2003, 263–266.)

Elektrolyytit dissosioituvat vesiliuoksessa ioneiksi ja mahdollistavat liuoksen ominaisjohtokyvyn, konduktanssin, kasvun. Molekyylit, jotka eivät muodosta veteen liueteensa ioneja eivät muuta liuoksen ominaisjohtokykyä. Liuoksen konduktanssi on riippuvainen liuoksen tilavuudesta sekä sen sisältämien elektrolyyttien kyvystä johtaa sähköä. (Laidler ym. 2003, 268–272.) Ominaisjohtokyky on uusi suure virtsatutkimusten yhteydessä. Virtsan elektrolyyttipitoisuuden ja ominaisjohtokyvyn välistä riippuvuutta voidaan käyttää virtsan väkevyyden arviointiin. (Kouri 2010, 129.)

Koska sähkön kulku liuoksissa tapahtuu ionien välityksellä, riippuu liuoksen johtokyky siinä tilavuusyksikköä kohti olevien ionien lukumäärästä eli konsentraatiosta. Liuoksen johtokyky riippuu myös elektrolyytin luonteesta. Jotkut aineet, kuten suoloista NaCl ja hapoista suolahappo ovat vesiliuoksessa lähes täysin ionimuodossa ja näitä nimitetään vahvoiksi elektrolyyteiksi. Heikot elektrolyytit, kuten etikkahappo ja ammoniakki, ovat ionimuodossa vesiliuoksessa vain osittain. (Laidler ym. 2003, 268–272.)

Arrheniuksen teorian mukaan nesteessä vallitsee tasapaino dissosioitumattomien molekyylien AB ja dissosioituneiden ionien  $A^+$  ja  $B^-$  välillä. Matalammissa pitoisuuksissa tasapaino siirtyy oikealle ja vahvemmissa pitoisuuksissa vasemmalle. (Laidler ym. 2003, 268–272.)



Molaarinen konduktiviteetti kuvaa liuoksen konduktiviteettia suhteutettuna elektrolyytin konsentraatioon liuoksessa. Suhde ei ole lineaarinen: molaarinen konduktiviteetti vähenee konsentraation kasvaessa. Heikoilla elektrolyyteillä molaarinen konduktiviteetti vähenee huomattavasti konsentraation kasvaessa, sillä niiden dissosiaatioaste vähenee. Vahvojen elektrolyyttien dissosiaatioaste ei ole yhtä riippuvainen konsentraatiosta, joten konsentraation nostaminen ei vähennä niiden molaarista konduktiviteettiä samoissa määrin. (Laidler ym. 2003, 268–272.)

Laimeassa liuoksessa ionit eivät häiritse toistensa liikettä, joten ne kuljettavat sähköä toisistaan riippumatta. Laimeassa liuoksessa, jossa ionit eivät ole toistensa vaikutuksen alaisia, ionien johtokyvyn on oltava suoraan verrannolliset niiden nopeuksiin. Happojen, emästen ja suolojen vesiliuoksissa molekyylit ovat aina, enemmän tai vähemmän ja-

kaantuneina positiivisesti ja negatiivisesti varautuneiksi ioneiksi, tätä kutsutaan elektrolyyttien dissosiaatioksi. Vain sellaiset liuokset, jotka sisältävät ioneja johtavat sähköä. Suolat ovat hyviä sähkönjohteita liuoksissa. Klassisen Arrheniuksen dissosiaatioteorian mukaan hapot ovat aineita, jotka tuottavat vetyioneja ja emäkset aineita, jotka tuottavat hydroksidi-ioneja vesiliuokseen. (Laidler ym. 2003, 268–272.)

### 3.3 Virtsan suhteellinen tiheys

Virtsan ominaispainoin eli sen suhteellinen tiheys riippuu virtsassa liuenneina olevien aineiden pitoisuuksista ja kuvaa munuaisten virtsan väkevöimiskykyä. Suhteelliseen tiheyteen vaikuttavat muun muassa elektrolyytit, proteiinit ja glukoosi. Virtsan suhteellista tiheyttä mitataan veden tiheyttä vastaan, joka on  $1,000 \text{ g/cm}^3$ . Virtsan suhteellisen tiheyden mittauksen avulla voidaan tarvittaessa varmistaa virtsanäytteen laatu. (Kouri 2010, 129.)

Lopullisen virtsan suhteellinen tiheys vaihtelee fysiologisesti vesitasapainosta riippuen välillä 1,001–1,035. Jos ajoittamattoman näytteen ominaispainoin on suurempi tai yhtä suuri kuin 1,023, munuaisten konsentroitokykyä voidaan pitää normaalina. Suhteellinen tiheys määritetään yleensä refraktometrisesti eli taitekertoimeen perustuen tai virtsatestiliuskan avulla. Virtsatestiliuskan avulla määritetyn suhteellisen tiheyden tulos on vain suuntaa-antava. (Siemens 2009; Kouri 2010, 129.)

Refraktrometrin mittauseriaate perustuu liuosten valontaittokykyyn, joka on ominaispainon tapaan suoraan verrannollinen liuenneiden aineiden pitoisuuden tiettyjen rajojen sisällä. Tutkimukseen riittää 0,5 ml virtsaa, mikä tiputetaan refraktrometriin. Ominaispainoin voidaan suoraan lukea laitteen asteikosta. Tällä menetelmällä ei voida kuitenkaan lukea ominaispainoinja, jotka ovat suurempia kuin 1,030. Refraktrometrinen mittaus on altis muillekin valoa taittaville aineille kuin elektrolyyteille, esimerkiksi proteiinit tai glukoosi voivat häiritä määrittystä antaen virheellisen suurin tiheystuloksia. (Hanson 2006.)

Kliinisissä laboratorioissa käytetään ominaispainoin määrittämiseen virtsasta yleisesti virtsaliuskakoeita. Multistix-virtsaliuskakoe on testityynyjen pinnalla tapahtuvaan vä-

rinmuutokseen ja sen automaattiseen optiseen tulkintaan perustuva kemiallinen seulonta (Hanson 2006). Ominaispainon määrittäminen perustuu testiliuskakokeella virtsan ionikon-  
sentraation mittaamiseen. Siemens virtsaluskakokeella voidaan virtsan ominaispainon  
määrittää välillä 1,000–1,030. Voimakkaasti puskuroidut alkaaliset virtsanäytteet voivat  
aiheuttaa alhaisia tuloksia, kun taas kohtalaiset proteiinipitoisuudet (1,0–7,5 g/l) voivat  
aiheuttaa kohonneita tuloksia. (Siemens 2009.)

### 3.4 Virtsan osmolaliteetti

Eräät liuosten ominaisuudet riippuvat pääsääntöisesti vain liuenneen aineen molekyyli-  
en luvusta tilavuusyksikköä kohti, ei niinkään niiden laadusta. Tällaisia ominaisuuksia  
voidaan nimittää osmoottisiksi ominaisuuksiksi, ja niiden kautta voidaan havainnollistaa  
osmoottista painetta. (Kokko & Tannen 1990, 140.) Osmoottista painetta mitataan os-  
molaalisuutena (Uotila 2010, 96). Osmolaliteetilla tarkoitetaan osmoottista väkevyyttä,  
joka ilmoitetaan liuenneiden partikkeleiden määränä vesikiloa kohti. Virtsan osmolali-  
teetti ilmoitetaan milliosmoleina vesikiloa kohti. (Nienstedt ym. 2004, 354.) Virtsan  
fysiologisesta vesitasapainosta riippuva osmolaliteetti on likimain 200–1200 mosm/kg  
H<sub>2</sub>O. Isotoninen virtsan osmolaliteetti vastaa plasmaa eli on noin 300 mosm/kg H<sub>2</sub>O.  
Maksimaalisesti konsentroidun virtsan osmolaliteetti on noin 1400 mosm/kg H<sub>2</sub>O. Suh-  
teellisen tiheyden ja osmolaliteetin välinen suhde riippuu elektrolyyttien päivittäisestä  
saannista. (Kouri 2010, 129.) Jos munuaiset eivät pysty laimentamaan tai väkevöimään  
virtsa, osmolaliteetti on sama kuin plasmalla eli 280–300 mosm/kg H<sub>2</sub>O (Hiltunen ym.  
2010, 410).

Kahden eri väkevän liuoksen ollessa kosketuksissa keskenään niiden välinen konsent-  
raatio pyrkii tasoittumaan, mikä tapahtuu osaksi niin, että väkevämmästä liuoksesta dif-  
fundoituu liuennutta ainetta laimeampaan. (Kokko & Tannen 1990,140.) Pitoisuuksien  
tultua yhtä suuriksi kalvon molemmilla puolilla, ei siirtymistä kalvon läpi enää tapahdu  
(Heino & Vuento 2004, 42). Diffuusiolla tarkoitetaan pitoisuuserojen tasoittumista liu-  
oksissa, jolloin väkevämmästä pitoisuudesta siirtyy liuennutta ainetta laimeampaan pi-  
toisuuteen. Jos liuosten väliin asetetaan puoliläpäisevä väliseinä, kuten esimerkiksi  
solukalvo, vain liuottimen siirtyminen puolelta toiselle on mahdollista. Liuottimen tun-  
keutumista puoliläpäisevän kalvon läpi kutsutaan osmoosiksi. Solujen osmoottinen pai-

ne voi nousta huomattavan korkeaksi. Osmoottinen paine on sitä suurempi, mitä suurempi on liuoksen konsentraatio. Sitä vastoin se on riippumaton liuottimesta. (Kokko & Tannen 1990,140–145.) Hypertonisen nesteen osmoottinen paine on suurempi ja hypotonisen pienempi kudostenesteeseen verrattuna (Nienstedt ym. 2004, 233). Hypotonisessa nesteessä solut alkavat paisua osmoottisen paineen johdosta ja niiden solukalvo repeytyy rikki. Vastaavasti hypertonisessa nesteessä solut rypistyvät kokoon. (Tapana 2010, 76.)

Virtsan osmolaliteetin määrittämistä pidetään parempana menetelmänä munuaisten väkevöimiskyvyn arvioimisessa kuin suhteellista tiheyttä, koska veden eritystä säädelään munuaisissa elimistön muiden nesteiden osmolaliteetin perusteella. Virtsan osmoottisesti aktiivisista aineista määrällisesti tärkeimmät ovat urea, kloridi, natrium, kalium, kreatiniini, fosfaatti, sulfaatti, uraatti, aminohapot sekä muut orgaaniset hapot. Näistä vesitasapainoa säädelään erityisesti natriumin ja kloridin avulla. (Brunzel 2004, 84–85.) Glukoosi on myös osmoottisesti aktiivista ja se voi lisätä virtsan osmolaliteettia, mikäli potilaalla on glukosuriaa. Proteinuria ei juuri vaikuta osmolaliteettiin albumiinin ja globuliinin suuren molekyylikoon takia. (Kokko & Tannen 1990, 3-28.)

Osmolaliteetin määrittämiseen käytetään fysiokemiallisia menetelmiä, kuten jäätymispisteen alenemaa tai kiehumispisteen kohoamaa (Kouri 2010, 129). Nämä riippuvat nesteiden partikkelien lukumäärästä samalla tavoin kuin osmolaliteetti (Uotila 2010, 96). Määritykset ovat luotettavia, mutta hankalasti automatisoitavia (Kouri 2010, 129).

## 4 VIRTSAKERITYS

Virtsaneritys eli diureesi on elimistön tärkein tapa vapautua kiinteistä kuona-aineista (Nienstedt ym. 2004, 347). Aikuiselta erittyy virtsaa tavallisesti 1,0–2,5 litraa vuorokaudessa. Virtsan määrään vaikuttaa koko, ikä, nautittu ruoka ja juoma sekä hikoilu ja vuorokauden aika. Eritys on voimakkainta iltapäivällä ja vähäisintä aamuyöllä. Virtsassa on yleensä noin 95 prosenttia vettä, johon muut aineet ovat lienneet. Liuenneista aineista yli puolet on virtsa-ainetta eli ureaa. (Hiltunen ym. 2010, 411–412.) Muita virtsaan liuenneita aineita ovat kloridi, natrium ja kalium, fosfaatti, sulfaatti, kreatiniini ja virtsahappo (Brunzel 2004, 58). Virtsa muodostuu munuaisissa, joiden tärkein tehtävä on huolehtia elimistön kuonanerityksestä (Leppäluoto ym. 2007, 268). Munuaiset säätelevät virtsan tilavuutta, suolapitoisuutta sekä happamuutta ja vaikuttavat siten elimistön, neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasapainoon. (Nienstedt ym. 2004, 347). Munuaiset erittävät myös hormoneja, kuten reniiniä ja erytropoietiinia. Reniinin avulla munuaiset osallistuvat verenpaineen säätelyyn. Erytropoietiini puolestaan säätelee punasolujen tuotantoa luuytimessä. Munuaisilla on lisäksi keskeinen rooli elimistön kalsium- ja fosfaattiaineenvaihdunnassa, sillä D-vitamiinin esiaste muuttuu munuaisissa aktiiviseksi D-vitamiiniksi. D-vitamiini lisää kalsiumin ja fosfaatin imeytymistä suolistosta. (Vauhkonen & Holmström 2005, 424.)

### 4.1 Munuaiset ja virtsatiet

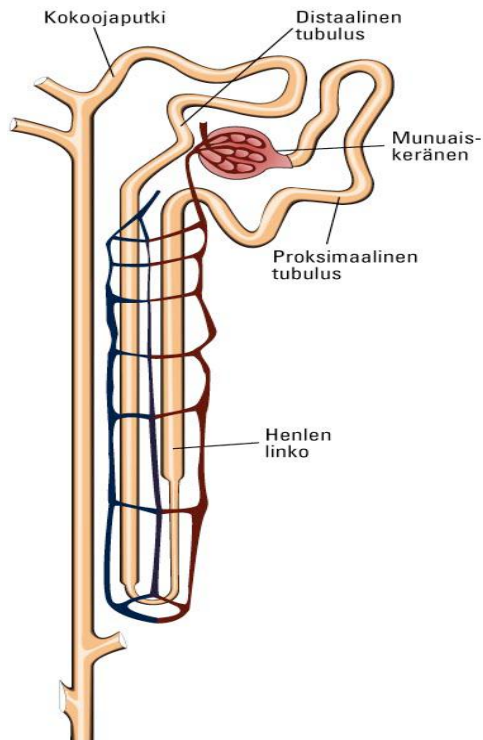
Munuaisessa on kaksi kerrosta, kuorikerros eli *cortex* ja erillisiksi munuaispyramideiksi jakautunut ydinkerros eli *medulla*. (Nienstedt ym. 2004, 347). Munuaisten toiminnan perusyksikkö on nefroni, joita on kummassakin munuaisessa noin miljoona (Brunzel 2004, 55; Nienstedt ym. 2004, 348; Hiltunen ym. 2010, 406). Nefronit kehittyvät ennen syntymää eikä sen jälkeen muodostu enää uusia (Jalanko 1998, 65).

Nefronin alussa on kuorikerroksessa sijaitseva munuaiskeränen, jonka sisällä on keräsen kotelossa hiussuonikeränen eli glomerulus (Nienstedt ym. 2004, 349; Hiltunen ym. 2010, 406–407). Glomeruluksen suodattavina osina toimivat endoteelisolut, tyvikalvo ja podosyytit. Tyvikalvo on proteiiniverkoston muodostama negatiivisesti varautunut ra-

kenne glomeruluksen muodostavien kapillaarien seinämässä ja sen sisäpuolta verhoavat endoteelisolut. Niissä on reikiä, joiden kautta plasma on suoraan yhteydessä tyvikalvoon. Kapillaarien ulkopinnalla on epiteelisoluja, joita kutsutaan podosyyteiksi. Podosyytit haarautuvat tyvikalvon pinnalla primaariulokkeiksi ja edelleen jalkalisäkkeiksi, joiden väliin jää aukkoja. Aukkoja peittää ohut kalvo eli ”slit diaphragm”. Endoteeli- ja epiteelisolujen aukkojen takia veri- ja virtsatilan erottavat toisistaan vain tyvikalvo ja ”slit diaphragm”. (Jalanko 1998, 65–66.)

Munuaisten erityinen verisuonijärjestelmä mahdollistaa niiden optimaalisen toiminnan (Brunzel 2004, 56). Glomerulus sijaitsee kahden valtimon välissä, minkä vuoksi siinä on korkea verenpaine. Munuaisvaltimosta haarautunut tuojasuoni tuo veren glomeruluksen, josta se poistuu viejäsuonta pitkin. Viejäsuoni jakautuu tubuluksia ympäröiviksi kapillaareiksi, jotka yhtyvät laskimoiksi. (Nienstedt ym. 2004, 350.) Primaarivirtsan suodattuminen perustuu paine-eroon veri- ja virtsatilan välillä. Sydämen pumppauksen aiheuttama hydrostaattinen paine on glomeruluksen kapillaareissa 60 mmHg ja virtsatilan puolella 20 mmHg. Kapillaareissa oleva 30 mmHg:n suuruinen kolloidiosmoottinen paine vähentää paine-eroa, jolloin suodattumista edistävä paine-ero jää 10 mmHg:n suuriseksi. (Jalanko 1998, 67–68.)

Nefronin toinen osa on keräsen kotelosta alkava ohut ja pitkä munuaistiehyt eli tubulus. Tubuluksessa on kolme osaa, glomeruluksen läheisyydessä kiemurteleva proksimaalinen kiemuratiehyt, munuaisydintä kohti suuntautuva U-kirjaimen muotoinen Henlen linko ja glomeruluksen vierestä alkava distaalinen kiemuratiehyt. Useiden nefronien tubulukset laskevat yhteiseen kokoojaputkeen (kuvio 1, s. 16). (Nienstedt ym. 2004, 348-350; Hiltunen ym. 2010, 406–407.) Kokoojaputket kokoavat virtsan munuaispikareihin (Leppäluoto ym. 2007, 270). Proksimaalista kiemuratiehyettä ja Henlen lingon alkuosaa kutsutaan proksimaaliseksi tubulukseksi. Henlen lingon loppuosan ja distaalisen kiemuratiehyn yhteinen nimi on distaalinen tubulus. (Nienstedt ym. 2004, 348-350; Hiltunen ym. 2010, 406–407.) Eri tubulusten osien epiteeli vaihtelee niiden toiminnan mukaan (Brunzel 2004, 62).



KUVIO 1. Nefroni ja kokoojaputki (Jalanko 1998, 65).

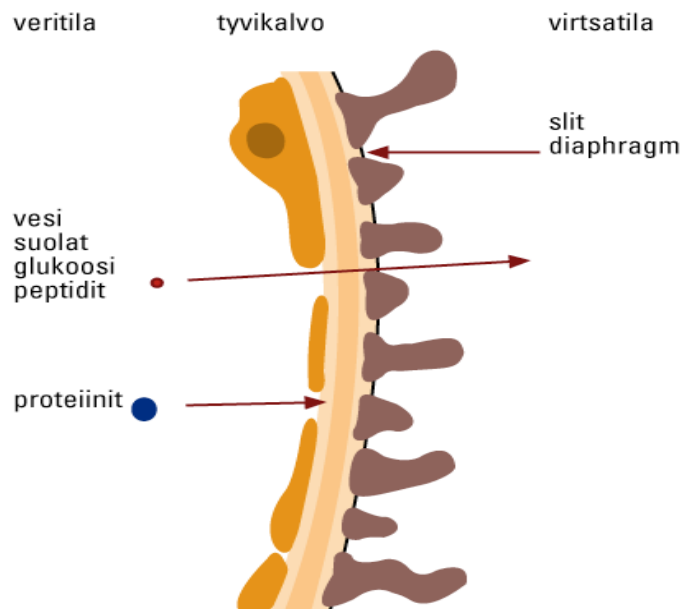
Virtsateihin kuuluvat molempien munuaisten munuaisaltaat ja niistä lähtevät virtsanjohtimet sekä virtsarakko ja siitä lähtevä virtsaputki. Kaikissa virtsateiden osissa on välimuotoista epiteeliä, jonka paksuus vaihtelee seinämän venytystilan mukaan. (Hiltunen ym. 2010, 413.) Virtsa siirtyy munuaisista munuaispikarien ja munuaisaltaan kautta virtsanjohtimiin, joita pitkin se varastoituu virtsarakkoon. Kun virtsarakko tyhjenee, virtsa poistuu elimistöstä virtsaputken kautta. (Leppäluoto ym. 2007, 268.)

#### 4.2 Virtsanmuodostus

Virtsanmuodostus voidaan jakaa kolmeen päävaiheeseen: glomerulussuodatukseen, tubulaariseen reabsorptioon ja tubulaariseen sekreetioon (Brunzel 2004, 58; Leppäluoto ym. 2007, 272). Alkuvirtsaa eli glomerulussuodosta syntyy noin 160 litraa vuorokaudessa (Nienstedt ym. 2004, 350; Hiltunen ym. 2010, 407). Glomerulussuodotus syntyy glomeruluksissa, joissa munuaisvaltimosta tuleva veri suodattuu korkean verenpaineen takia niiden kapillaarien seinämän läpi keräsen koteloon (Nienstedt ym. 2004, 350; Hiltunen ym. 2010, 407). Kapillaarien seinämä läpäisee tehokkaasti vettä ja pieniä mole-



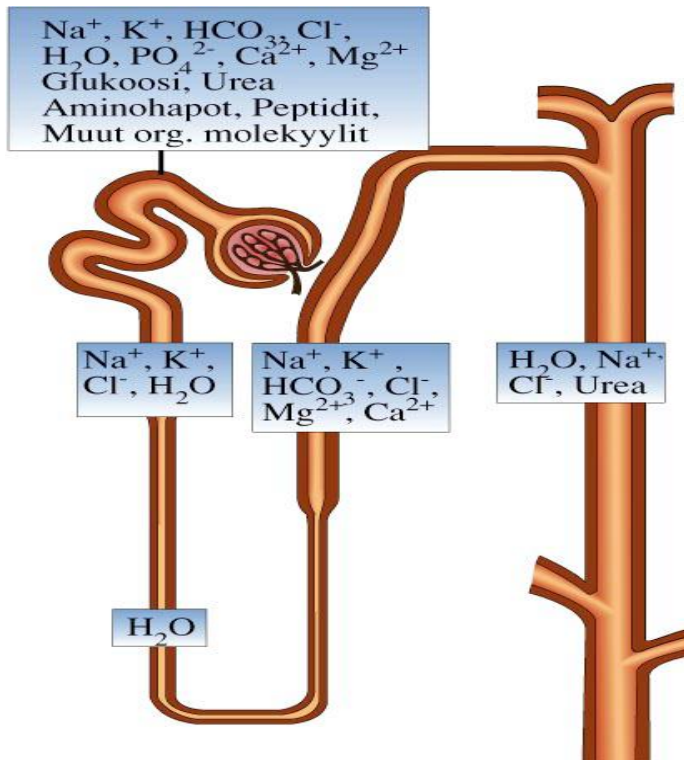
kyylejä, mutta veren solut ja proteiinit pysyvät suonen sisällä. Normaalisti albumiini ja muut proteiinit eivät läpäise tyvikalvoa (kuvio 2). Molekyylien läpäisevyyteen vaikuttaa koon ja muodon lisäksi niiden varaus. Plasman proteiinit ovat valtaosin negatiivisesti varautuneita, jolloin negatiivisesti varautunut tyvikalvo hylkii niitä. (Jalanko 1998, 67; Brunzel 2004, 61–62.) Glomerulussuodoksessa on kapillaariseinämän läpäiseviä pienimolekyyllisiä aineita melkein samassa suhteessa kuin plasmassa. Valtaosa glomerulussuodoksesta imeytyy takaisin tubuluksissa ja kokoojaputkissa ja lopulliseksi virtsamääräksi jää noin yksi prosentti. (Brunzel 2004, 58; Nienstedt ym. 2004, 350; Hiltunen ym. 2010, 407–408.)



KUVIO 2. Glomeruluksen kapillaarin seinämä (Jalanko 1998, 67)

Glomerulussuodos siirtyy keräsen kotelosta tubulukseen paine-eron ajamana (Leppäluoto ym. 2007, 277). Tubuluksia ympäröivät kapillaarit ovat glomerulusten viejäsuonten haaroja ja niihin imeytyy takaisin eli reabsorboituu suurin osa glomerulussuodoksen aineista (Nienstedt 2004, 351). Glomerulussuodoksen aineet kuten glukoosi, bikarboonaatti ja kapillaarinseinämän läpäissyt albumiini reabsorboidaan tubuluksissa normaalisti täysin. Terveen ihmisen virtsassa ei siksi ole merkittäviä määriä näitä aineita. (Brunzel 2004, 58.) Tubulaarinen reabsorptio on suurinta proksimaalisessa tubuluksessa, jossa tapahtuu yli puolet kaikesta reabsorptiosta. (Leppäluoto ym. 2007, 278.) Valtaosa vedestä ja suoloista sekä orgaanisista molekyyleistä reabsorboituu proksimaalisen tubu-

luksen alkuosassa (Jalanko & Holmberg 1998, 154). Orgaanisia aineita ovat esimerkiksi glukoosi, aminohapot ja laktaatti (Leppäluoto ym. 2007, 378). Proksimaalisen tubuluksen loppuosassa tapahtuu runsasta natriumin ja kloridin reabsorptiota. Henlen lingon nousevassa osassa reabsorboituu natriumin, kloridin ja kaliumin ohella magnesiumia, kalsiumia ja bikarbonaattia (kuvio 3). (Jalanko & Holmberg 1998, 154.)0



KUVIO 3. Tärkeimpien molekyylien pääasialliset reabsorptiokohdat tubuluksessa ja kokoojaputkessa (Jalanko & Holmberg 1998, 154)

Reabsorptio perustuu virtsatilan ja tubuluksen seinämän välisiin sähkökemiallisiin ja osmoottisiin eroihin (Jalanko & Holmberg 1998, 153–154). Reabsorptio voi olla aktiivista eli energiaa vaativaa tai passiivista, jolloin aine kulkee konsentraatiogradientin mukaisesti suuremmasta pitoisuudesta pienempään (Turgeon 2007, 353). Munuaistubuluksen toiminta perustuu pitkälti natriumpumppeihin, joita on sekä epiteelisolujen apikaalisessa että basolateraalissa kalvossa (Jalanko & Holmberg 1998, 154). Apikaalisella pinnalla tarkoitetaan solun ontelonpuoleista pintaa. Solun basolateraalinen puoli on vasten muita soluja tai solujen alla olevaa tyvikalvoa ja sidekudosta. (Alberts ym. 2010, 700.) Toiminnan käyttövoimana voidaan pitää basolateraalisen kalvon Na-K-ATPaasia,

joka kuljettaa epiteelisoluista ulos natriumioneja ja kaliumioneja sisään suhteessa 3:2 (Jalanko & Holmberg 1998, 154). Na-K-ATPaasi on kaikissa soluissa esiintyvä kuljetusproteiini, joka saa energiansa ATP:sta (Leppäluoto ym. 2007, 36). Na-K-ATPaasi kuljettaa natriumia solusta ulos vasten sähköistä gradienttia ja vaatii siten runsaasti energiaa. Tubulussolujen apikaalisessa kalvossa on natriumionien kuljettajaproteiineja, jotka siirtävät natriumin ohella monia muita molekyyliä, kuten fosfaattia, glukoosia ja aminohappoja virtsatilasta epiteelisoluihin. Solukalvoissa on myös vaihtajaproteiineja. Näistä tärkeimpiä on proksimaalisen tubuluksen Na-H-vaihtaja, joka erittää vetyioneja virtsaan natriumin sisään kuljetuksen yhteydessä. Tubuluksessa ei ole omia kuljettajaproteiineja vesimolekyyliä varten, vaan vesi kulkeutuu passiivisesti solukalvojen läpi natriumin ja sen mukanaan kuljettamien molekyylien siirtymisen aiheuttaman osmoottisen voiman ohjaamana. Natriumin ohella tärkeä molekyyli veden takaisinotossa on urea, joka imeytyy virtsatilasta passiivisesti oman konsentraatiogradienttinsa mukaisesti. (Jalanko & Holmberg 1998, 154–156.)

Tubuluksen solut pystyvät myös aktiiviseen eritykseen eli sekreetioon. Esimerkiksi eräät hormoniaineenvaihdunnan lopputuotteet, penisilliinit ja virtsateiden kuvaukseen käytetyt varjoaineet poistuvat tubulussolujen erittämänä. (Hiltunen ym. 2010, 409; Nienstedt ym. 2004, 352.) Eritystoiminta on määrältään pientä elimistön aineenvaihdunnan kannalta, mutta asialla on merkitystä joidenkin vieraiden yhdisteiden poistamisessa (Jalanko & Holmberg 1998, 154).

#### 4.3 Virtsan väkevyyden säätely

Virtsan väkevyyys eli osmolaliteetti ilmoitetaan milliosmoleina vesikiloa kohti. Virtsan väkevyydellä tarkoitetaan elimistön kykyä erittää tai säästää vettä, sillä munuaiset säätelevät virtsan osmolaliteettia muuttamalla vesimäärää, johon virtsan sisältö on liennut. (Brunzel 2004, 81; Nienstedt ym. 2004, 353–354.) Virtsaan eritettävän veden määrää säädellään tarkasti, sillä elimistön nesteiden osmolaliteetti pyritään pitämään aina vakiona. Säätelyjärjestelmän sensorit eli osmoreseptorit sijaitsevat hypothalamuksessa, jossa ne aistivat osmoottista väkevyyttä. (Leppäluoto ym. 2007, 284.) Virtsan väkevyyttä säätelevät munuaisissa Henlen linko ja kokoojaputket. Munuaisten kyky väkevöidä virtsaa perustuu munuaisytimen väkevyyteen. Munuaisten keskiosassa on solunulkoisessa

tilassa suuri väkevyys, joka vähenee asteittain kohti munuaisen kuorikerrosta. (Hiltunen ym. 2010, 409.) Glomeruluksesta lähtevästä viejäsuonesta haarautuneet kapillaarit muodostavat Henlen lingon viereen tätä muistuttavia silmukoita eli niin sanottuja *vasa recta*-suonia. Nämä suonet auttavat pitämään yllä ytimen ja kuoren välistä suolagradienttia ylläpitämällä ytimen suurta osmolaliteettia. Tubuluksen sisältö on proksimaaliosassa tubuluksessa isotonista, Henlen lingossa hypertonista ja distaalisen tubuluksen alussa hypotonista. Koska verenkierto pyrkii tasoittamaan kaikkia elimistön väkevyseroja, tarvitaan munuaisytimen väkevyyden ylläpitämiseen aktiivista työtä. Työn tekevät Henlen lingon nousevan paksuseinäisen osan seinämäsolut, jotka pumppaavat tubuluksesta ulos natrium- ja kloridi-ioneja. (Nienstedt ym. 2004, 233, 353–355.)

Virtsan lopullinen määrä ja osmolaalisuus määräytyvät elimistön tarpeiden mukaisesti. Hienosäätöä ohjaavat muun muassa aldosteroni ja antidiureettinen hormoni (ADH). Lisämunuaisten tuottama aldosteroni lisää natriumin ja veden reabsorptiota distaalisen tubuluksen loppuosassa ja kokoojaputkessa tehostamalla Na-K-ATPaasin ja natriumkanavien toimintaa. Aivolisäke erittää ADH:a plasman osmolaalisuuden muutosten mukaan. ADH tekee distaalisen tubuluksen ja kokoojaputken apikaalisen solukalvon vettä läpäiseväksi ja lisää näin veden takaisinottoa. Tästä seuraa virtsamäärän väheneminen ja virtsan väkevoityminen. (Jalanko & Holmberg 1998, 154, 156–158.) Jos verenkierrossa on vähän ADH:a, virtsa säilyy laimeana loppuun asti (Nienstedt ym. 2004, 355). Lisäkilpirauhasten erittämä parathormoni osallistuu myös elimistön suolatasapainon säätelyyn. Parathormoni vähentää kalsiumionien ja lisää fosfaattien erittymistä virtsaan. (Leppäluoto ym. 2007, 286.)

## 5 VIRTSAN PARTIKKELIT

Virtsatieinfektio on yleisin virtsateiden sairauksista. Infektioon liittyy tavallisesti valkosoluja, ja spesifisiä mikrobeja. Munuaistaseiseen virtsatieinfektioon voivat viitata mikrobi- ja granulosyyttilieriöt. Virtsan mikroskopialöydökset voidaan jakaa nefrologiselta kannalta nefroottiseen, nefriittiseen sekä tubulusvaurio- ja virtsatieinfektiolöydökseen. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1852–1854.) Nefroosilla tarkoitetaan munuaisen rappeutumissairauksia, nefriiteillä tulehduksellisia munuaissairauksia (Lääketieteen termit 2006). Munuaisperäiset virtsalöydökset ovat tavallisia. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1852–1854).

### 5.1 Erytrosyytit

Virtsan sisältämät erytrosyytit eli punasolut ovat peräisin joko munuaiskeräsistä tai virtsatiehyistä. Terveiden henkilöiden keskisuihkusta saaduissa aamuvirtsanäytteissä viitealueen 95 %:n yläraja on noin  $10 \times 10^6$  erytrosyyttia litrassa laskettuna kammiossa, mikä vastaa sentrifugoidussa sakassa noin yhtä erytrosyyttiä näkökentässä. Tutkimuksen U-solut erytrosyyttien viiteraja vaihtelee hieman laboratoriokohtaisesti, esimerkiksi Huslab'in asettama viitearvo erytrosyyteille on  $<20 \times 10^6$ . Tavanomaisia erytrosyyttejä sanotaan isomorfisiksi. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1848; Huslab 2011.) Erytrosyytit ovat tavallisesti saman kokoisia, noin 7  $\mu\text{m}$ :a halkaisijaltaan ja tyypillisen kaksoiskoveran kiekkomaisia (Pietilä 1990, 3).

Verivirtsaisuutta eli hematuriaa voi esiintyä lähes kaikissa munuaisten ja virtsateiden sairauksissa (Kouri 2008, 43). Joskus hematuria voi myös olla seurausta toimenpiteestä, esimerkiksi katetroinnista. Verivirtsaisuus voi liittyä lisäksi vuototaipumukseen, antikoagulaatioon tai lääkehoitoon sekä kuukautisiin. (Kouri ym. 1999, 11.) Hematuria voi olla mikroskooppista tai paljaalla silmällä todettavaa eli makroskooppista. Jo alle puoli millilitraa verta 500 ml:ssa virtsaa tekee verivirtsaisuuden paljaalla silmällä nähtäväksi. (Lindell 2000, 818–819.)

Hematuriaa esiintyy 5-10 %:lla potilaista. Sen syy tulee aina selvittää, koska veri virtsassa voi liittyä kasvaimen, virtsakiveen tai tulehdussairauteen. Varsinkin lapsipotilailta saattaa löytyä alkava munuaissairaus, jonka ensimmäisenä oireena on ainoana löydöksenä esiintyvä hematuria. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1848.) Vähäinen hematuria voi olla fysiologista, esimerkiksi raskaasta liikunnasta johtuvaa. Tutkimuksen arviointiin vaikuttaa näytteen edustavuus. (Kouri 2008, 43.)

Kolme yleisintä, virtsa-analytiikan näkökulmasta merkityksellisintä kasvaintyyppiä ovat eturauhas-, virtsarakko- ja munuaiskarsinoma. Jos hematurian syy jää tutkimuksista huolimatta selvittämättä, tutkimukset olisi hyvä uusida puolen vuoden kuluttua. Jos tulos edelleen on negatiivinen, kannattaa tutkimukset uusida vielä kerran puolen vuoden kuluttua edellisistä, sillä piilevä karsinoma tulee esille vuoden aikana. (Lindell 2000, 820, 824.) Osalla potilaista voi olla hyvänlaatuisen suvuittain esiintyvä, oireeton hematuria, joka on munuaisperäinen. Sen toteaminen säästää raskailta urologisilta tutkimuksilta. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1848.)

Erytrosyyttien muotoa tutkitaan faasikontrastimikroskoopilla tarkemmin, kun halutaan selvittää, onko verenvuoto peräisin munuaisista vai alemmista virtsateistä. Normaalinmuotoiset pyöreät erytrosyytit ovat yleensä peräisin alemmista virtsateistä. Kun poikkeavan muotoisia eli dysmorfisia erytrosyyttejä on yli 80 %, kyseessä on todennäköisesti munuaistasolla oleva vuoto. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1848.) Dysmorfisten erytrosyyttien kliininen merkitys liittyy munuaissairauksien toteamiseen taudin alkuvaiheessa (Kouri 2008, 43). Virtsan erytrosyyttien dysmorfialla tarkoitetaan virtsaan joutuneiden erytrosyyttien koon ja muodon poikkeavuutta tavanomaiseen kokoon tai pyöreään muotoon verrattuna. Fragmentoituneissa ja vääntyneissä dysmorfisissa erytrosyyteissä esiintyy runsaasti koon vaihtelua, sekä niistä puuttuu erytrosyytin normaali hemoglobiinisisältö ja kaksoiskovera muoto. (Pietilä 1990, 3; Kouri ym. 1999, 11; Kouri 2008, 43.)

Dysmorfisten erytrosyyttien alaryhmä, akantosyytit tunnistetaan solukalvopullistumista. Akantosyyttien viittä prosenttia suurempi osuus viittaa munuaissairauteen. Erytrosyyttien dysmorfiatutkimus voidaan pyytää vain niissä Suomen yliopistosairaaloissa, joiden laboratoriossa on tuorenäytteen analysoimiseen pystyvä asiantuntija, esimerkiksi tutkimuksen suorittamiseen perehtynyt lääkäri tai laboratoriohoitaja. (Kouri ym. 1999, 11; Kouri & Pohjavaara 2002, 1848.) Virtsan erytrosyyttien dysmorfiatutkimukseen tarvi-

taan näytteeksi tuore, päivän toinen virtsanäyte, joka ei ole ollut rakossa kuin kaksi tuntia. Näyte on tutkittava mahdollisimman nopeasti, viimeistään kahden tunnin kuluttua sen saamisesta tutkimusviiveestä aiheutuneiden muutosten poissulkemiseksi. Sentrifugoimaton näyte lasketaan kammiossa ilman värjäystä faasioptiikkaa käyttäen. Automaattilaskennalla saadaan esille vain erytrosyyttien koon vaihtelu, ei muodon poikkeavuuksia. Prosessin varmistamiseksi dysmorfiatutkimus kannattaa ohjeistaa ajanvaraus tutkimukseksi, jolloin voidaan varmistaa analyysin tekijän paikalla olo. Näytteen jäähdytys voi aiheuttaa sakanmuodostusta, joka häiritsee morfologista erittelyä. (Kouri 2008, 43.)

## 5.2 Leukosyytit

Leukosyyttien eli valkosolujen esiintyminen virtsassa eli pyuria viittaa tavallisimmin virtsateiden tai munuaisten tulehdukseen. Alempien virtsateiden kasvaimet ja kivet voivat aiheuttaa myös pyuriaa. Neutrofiileja saattaa joutua virtsaan myös rakon lähielinten tulehduksissa, kuten sisäsynnytin- ja umpilisäkkeen tulehduksissa. Vaginasta peräisin olevat, ei-uropatogeeniset bakteerit ovat näytteenoton virhelähde. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1850.) Pyuriaa ei tulehdustenkaan yhteydessä aina tavata, esimerkiksi tapauksissa joissa potilaalla on neutropenia (Kouri ym. 1999, 11).

Virtsassa esiintyy leukosyyteistä tavallisimmin neutrofiilisiä granulosityttejä. Tavallisten uropatogeenien aiheuttamassa virtsatieinfektiossa todetaan yleensä granulosityttejä ja usein myöhäisemmässä tulehduksen vaiheessa makrofageja. Makrofageja voi esiintyä myös eturauhasleikkauksen jälkeen. Lymfosyyttejä esiintyy kroonisemmissä tulehduksissa, mutta niillä ei tavallisesti ole erillistä kliinistä merkitystä. Plasmasolujen erilliselle tunnistamiselle ei ole indikaatioita. Eosinofiilejä voidaan tutkia vain erillisvärjäyksillä, joten ne eivät kuulu peruslaboratorion tutkimusvalikoimaan. (Kouri ym. 1999, 11; Kouri & Pohjavaara 2002, 1850.)

Terveiden miesten keskisuihkunäytteissä pitoisuudet ovat enintään  $10 \times 10^6$  leukosyyttiä litrassa, mikä vastaa sentrifugoidussa sakassa noin yhtä leukosyyttiä näkökentässä. Naisten ja tyttöjen näytteissä on anatomisten erojen vuoksi enemmän leukosyyttejä; virtsan sakassa viitealueen yläraja on noin 2 (-5) leukosyyttiä näkökentässä. (Kouri &

Pohjavaara 2002, 1850.) Leukosyytit ovat pyöreitä soluja, makrofagit voivat olla myös soikeita. Granulosyyttien halkaisija on 12–15 µm, lymfosyyttien 10–20 µm ja makrofagien 15–30 µm. (Kouri ym. 1999, 40.)

### 5.3 Epiteliaaliset solut

Virtsan epiteelisoluja voidaan käyttää virtsateiden vaurion tasodiagnostiikassa eli tauti voidaan paikantaa anatomisesti. Virtsasta löytyviä epiteelejä ovat levyepiteeli, välimuotoinen epiteeli ja tubulusepiteeli. Pieniin epiteelisoluihin lasketaan tubulusepiteelisolut ja välimuotoisen epiteelin solut. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1850.) Suolen epiteelisoluja on virtsassa tavallisimmin rakkosyöpäkirurgian jälkeen. Keinorakosta peräisin olevat epiteelisolut ovat ohutsuoliperäisiä. (Kouri ym. 1999, 12.)

Levyepiteelisoluilla ei ole yleensä diagnostista merkitystä, toisin kuin muiden epiteelisolujen löytymisellä. Levyepiteelisolut ovat peräisin emättimestä, virtsarakosta, virtsanjohtimista tai munuaisaltaista. Levyepiteelisolut ovat suuria soluja ja niiden läpimitta on 30–50µm. (Kouri ym. 1999, 12, 40.) Usein runsas levyepiteelisolujen esiintyminen virtsanäytteessä johtuu epäonnistuneesta näytteenotosta, jolloin solut ovat joutuneet näytteeseen ulkoisista sukupuolielimistä tai virtsaputkesta. Raskaana olevilla naisilla levyepiteelisoluja voi irrota virtsaputkesta normaalia enemmän virtsaan hormonivaikutuksesta. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1851.) Miehillä runsas levyepiteelin määrä virtsassa johtuu estrogeenihoidosta, jota annetaan eturauhassyöpään (Pietilä 1990, 11).

Välimuotoisen epiteelin eli uroepiteelin solut ovat peräisin alueelta, joka ulottuu munuaisaltaalta virtsarakkoon naisilla ja miehillä aina virtsaputken proksimaaliseen osaan, tyveen saakka. Uroepiteelin syvempien kerroksien vaurioita havaitaan virtsatiekivien, rakkosyövän ja virtsateihin kohdistuneiden toimenpiteiden, kuten katetrointien yhteydessä. Pinnallisia uroepiteelin soluja löydetään usein alempien virtsatieinfektioiden yhteydessä, jolloin näissä soluissa saattaa ilmetä degeneraatiota tai tulehduksen aiheuttamaa atypiaa. Välimuotoisen epiteelin soluilla ei ole kliinistä merkitystä, mikäli tauti pystytään paikallistamaan esimerkiksi virtsarakkoon tai virtsanjohtimiin. Tilanteissa, joissa potilaalla epäillään rakkosyöpää, toimitetaan mahdollisen infektion hoidon jäl-



keen aamun toinen näyte patologille virtsan tuumorisolututkimusta varten. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1850.)

Välimuotoiset epiteelisolut ovat halkaisijaltaan 20–30  $\mu\text{m}$ , mutta ne voivat olla jopa 50  $\mu\text{m}$  kokoisia. Syvempien kerrosten solut ovat pienempiä kuin pinnalliset solut. Tuma sijaitsee keskellä sytoplasmaa ja on suuri ja pyöreähkö. Tumajyvänen on havaittavissa usein. Sytoplasma on hienorakeista ja vaaleaa. (Kouri ym. 1999, 40.)

Tubulusepiteelisolut ovat peräisin munuaisista, ja niiden löytyminen virtsasta viittaa yleensä munuaissairauteen. Kyseessä voi olla akuutti interstitiaalinen nefriitti (tubulusten ja sidekudoksen väliaineen tulehdus) tai tubulusnekroosi. Tubulussoluja munuaisista voi irrottaa sydäninfarkti, verenkiertoshokki, nefrotoksinen särkylääke-, antibiootti-, tai solusalpaajahoito, kuivuminen tai vatsakalvontulehduksen aiheuttama munuaisvaurio. Glomerulonefriiteissä esiintyvä proteiinivuoto johtaa sekundaariseen tubulusvaurioon. Lisäksi tubulussoluja voi esiintyä munuaissiirännäisen hylkimisreaktiossa. Tubulussolulöydös on moninaisen etiologiansa vuoksi epäspesifinen ja vaati jatkotutkimuksia. Tubulussolujen erottaminen välimuotoisista epiteelisoluista vaatii ammattitaidon jatkuvaa ylläpitoa. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1850, 1852.) Tubulusepiteelisolut ovat läpimitaltaan 10–60  $\mu\text{m}$ , ja niiden muoto vaihtelee pyöreästä kulmikkaaseen. Tubulusepiteelisolun tumassa ei ole tumajyväsiä. (Kouri ym. 1999, 40.)

#### 5.4 Lieriöt

Lieriöt syntyvät munuaisten distaalisissa tubuluksissa ja kokoojaputkissa veden takaisinoton väkeväidessä virtsaa, mikäli primaarivirtsan erittyneiden aineiden pitoisuudet ylittävät saostumiskynnyksen. Lieriön koko ja muoto vastaavat distaalisen tubuluksen tai kokoojaputken kokoa tai muotoa. Sen perustana on tavallisesti tasa-aineinen, läpikuultava uromukoidi (Tamm-Horsfallin proteiini). Ehjä lieriö erottuu taustastaan yleensä tarkkarajaisesti ainakin faasikontrastioptiikkaa käyttäen ja on siten erotettavissa limasta. (Kouri ym. 1999, 12, 41; Kouri & Pohjavaara 2002, 1851.)

Yksittäisiä soluttomia, lähinnä uromukoidia sisältäviä hyaliinilieriöitä voidaan havaita terveilläkin potilailla, esimerkiksi väkevässä aamuvirtsassa, raskaan urheilusuorituksen

jälkeen tai elimistön kuivuessa. Lieriöiden esiintyminen virtsassa viittaa kuitenkin usein munuaissairauteen. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1851.)

Solulieriöt ovat soluttomia lieriöitä selvästi merkityksellisempiä. Solulieriöksi nimitetään lieriötä, jonka pinta-alasta vähintään 1/3 on solujen peitossa. (Kouri ym. 1999, 41.) Lieriön saostuessa munuaistubuluksessa sen sisälle jää niitä partikkeleita, joita on kulloinkin paikalla. Esimerkiksi proteinuriassa plasman proteiinit saostuvat lieriön sisään jyväs- tai vahalieriöiksi, plasman lipidit puolestaan rasvalieriöiksi. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1851.)

Epiteliaalisia soluja sisältävä lieriö on määritelmän mukaisesti tubulussolulieriö. Epiteelisolun tuma ei ole liuskoittunut kuten granulosyytillä ja siinä on erotettavissa runsaasti sytoplasmaa, mikä erottaa sen niukka sytoplasmaisesta lymfosyytistä. Jos lieriöstä erotuu granulosyyttejä tai lymfosyyttejä, puhutaan granulosyytti- tai lymfosyyttilieriöstä, jotka viittaavat munuaistason tulehdukseen. Valkosolut säilyvät lieriössä huonosti. (Kouri ym. 1999, 41.) Lieriön laatu voi antaa vihjeen patogeneettisestä taustasta; punasolulieriö viittaa glomerulusvaurioon, tubulussolulieriö mihin tahansa tubulusvaurioon ja bakteeri- tai hiivalieriö pyelonefriittiin (Kouri & Pohjavaara 2002, 1851).

## 5.5 Mikrobit

Bakteerit ovat tavallinen löydös virtsanäytteessä. Suurina määrinä ja yhdessä leukosyyttien kanssa ne antavat viitteen mahdollisesta infektiosta. Tavallisessa valomikroskopiasa bakteeripitoisuuden tulee olla yli  $10^5$ /ml eli noin 10–20 bakteeria näkökentässä, jotta bakteerilaskenta antaa positiivisen tuloksen. Virtsatieinfektion diagnostinen tutkimus on käytännössä virtsan bakteeriviljely, jolla taudinaiheuttaja pystytään samalla tyypittämään. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1851.)

Myös hiiva, tavallisesti *Candida Albicans* on aikuisilla yleinen löydös virtsanäytteessä. Hiiva on useimmiten peräisin emättimen eritteistä. Hiiva voi kasvaa virtsateissa erityisesti potilailla, joilla on diabetes, virtsateiden rakenteellinen poikkeavuus, pitkä antibioottikuuri tai heikentynyt immuunivaste. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1851.)

## 5.6 Kiteet ja sakka

Virtsan sisältämät epäorgaaniset ainekset saostuvat siinä helposti pH-muutoksen, infektion tai lämpötilan laskun seurauksena. Uraatti-, oksalaatti-, tai fosfaattikiteiden rutiinimaisella tunnistamisella ei ole kliinistä merkitystä, sillä näytteet jäädytetään +4 °C:een säilyvyyden parantamiseksi. (Kouri ym. 1999, 40; Kouri & Pohjavaara 2002, 1852.) Monissa virtsanäytteissä tapahtuu kiteytymistä erityisesti silloin, jos potilaan ravinnossa on ollut runsaasti oksalaatteja ja uraattia. Lapsen punertava virtsa saattaa johtua uraattisakasta, eikä taustalla tällöin välttämättä ole mitään sairautta. (Kouri ym. 1999, 12.)

Suomessa tärkein harvinainen kide on kystinurian yhteydessä esiintyvä kuusikulmainen kystiinikide. Kidelöydöksellä saattaa olla kliinistä merkitystä, mikäli kiteitä esiintyy suurina määrinä. Tietyt lääkeaineet voivat myös aiheuttaa kidemuodostusta virtsaan. (Kouri & Pohjavaara 2002, 1852.)

## 6 VIRTSAN PARTIKKELIEN LASKEMINEN VIRTAUSSYTOTOMETRIALLA

Virtaussytometrialla voidaan tunnistaa soluja ja laskea niiden lukumääriä (Craig 2004, 420). Virtaussytometrialla on monia sovelluskohteita perustutkimuksessa, diagnostiikassa ja biolääketieteessä (Leppiniemi). Virtsan solujen laskemiseen tarkoitettut virtaussytometrit ovat parantaneet virtsan partikkelien laskennan tarkkuutta ja täsmällisyyttä verrattuna visuaaliseen mikroskopiaan. Virtaussytometrioiden käyttö on myös vähentänyt solujen mikroskopoinnista aiheutunutta työmäärää. (Delange ym. 2000, 1.)

### 6.1 Virtaussytometrioiden periaate

Virtaussytometrillä mitataan soluun tai muuhun partikkeliin kohdistetun valon sirontaa ja soluihin kiinnittyneen merkkiaineen fluoresenssia (Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 87). Solut analysoidaan sekä fluoresenssin että valosironnan perusteella. Siten laitteella voidaan tunnistaa solupopulaatioita toisistaan solun koon, rakenteen tai solureseptorien perusteella. Solut tai partikkelit värjätään sopivalla fluoresoivalla väri- eli merkkiaineella; fluorokromilla. Fluorokromi voi olla esimerkiksi vasta-aine tai väri, joka värjää spesifisen kohdan solusta. Fluoresoivat värit sitoutuvat haluttuun solurakenteeseen tai reagoivat spesifisesti sen kanssa. Solurakenne voi olla esimerkiksi peroksidiasientsyymi tai solun sisältämä DNA. (Turgeon 2007, 140.) Fluorokromit ovat molekyylejä, jotka virittyvät korkeampaan energiatilaan eli eksitoituvat tietyllä valon aallonpituudella. Eksitaation jälkeen viritystilä purkautuu ja molekyylit alkavat emittoida valoa. Emittoituvan valon aallonpituus on erilainen eri fluorokromeilla. Haluttu aallonpituus ohjataan detektorille suodattimien ja peilien avulla. Emittoituva valo detektoidaan valomonistinputkien avulla. (Leppiniemi; Craig 2004, 421–422.)

Solususpensio kohdistetaan paineistetun vaipanesteen avulla virtaamaan yhden tai useamman lasersäteiden läpi (Savolainen ym. 2010, 87). Paineistettu vaipaneste pakottaa solut kulkemaan yksi kerrallaan lasersäteeseen (Turgeon 2007, 140). Kun solu osuu lasersäteeseen, tapahtuu valonsirontaa, joka detektoidaan valomonistinputkien avulla (Craig 2004, 421). Solun siroamaa valoa mitataan kahdesta eri suunnasta, edestä (FSC, forward scatter) ja sivusta (SSC, side scatter). Eteenpäin sironneen valon määrä riippuu

partikkelin koosta, sen sisäisestä rakenteesta sekä värjäytyvän materiaalin määrästä. Korkeampi eteenpäin sironneen valon määrä kertoo suuremmasta partikkelin halkaisijasta. Jos partikkelin sisäinen rakenne on tiheä, siitä siroaa vain vähän valoa eteenpäin. Myös voimakkaasti värjäytyvillä partikkeleilla on pienempi eteenpäin sironneen valon signaali kuin heikosti värjäytyvillä samankokoisilla partikkeleilla. (Kuusela 2009.) Sivulle sironneen valon määrä riippuu solunsisäisen rakenteen monimuotoisuudesta. Sivusironna on verrannollinen solujen granulaarisuuteen, tuman monimuotoisuuteen sekä tuman ja sytoplasman suhteeseen. (Leppiniemi; Craig 2004, 421; Kuusela 2009; Savolainen ym. 2010, 87.)

Laser on yleisin virtaussytometriin valonlähde hyvien ominaisuuksiensa takia (Turgeon 2007, 140). Virtaussytometreissa käytetään useimmiten argon-laseria, jonka aallonpituus 488 nm. Argon-laseria voidaan käyttää kolmen eri fluorokromin virittämiseen, mutta neljännen fluorokromin käyttö vaatii toisen valonlähteen. Toisena laserina voidaan käyttää esimerkiksi helium- tai neonlaseria, joiden aallonpituus on 633 nm. (Craig 2004, 422.)

## 6.2 Sysmex UF-1000i

Sysmexin UF-1000i on automaattinen virtsan solujen analysaattori, jonka toiminta perustuu virtaussytometriaan (Sysmex Corporation 2008, 10-3). Laite pystyy tunnistamaan ja laskemaan punasolut, leukosyytit, levyepiteelisolut, pienet pyöreät solut, hyaliniiniliiriöt, patologiset lieriöt, bakteerit, hiivat, siittiöt sekä kiteet. Pienet pyöreät solut voivat olla välimuotoisia epiteelisoluja tai tubulusepiteelisoluja, joita laite ei erota toisistaan. (Manoni ym. 2009, 104.) Lieriö luokitellaan patologiseksi, jos se sisältää soluja tai soluainesta (Sysmex Corporation 2008, 10-14).

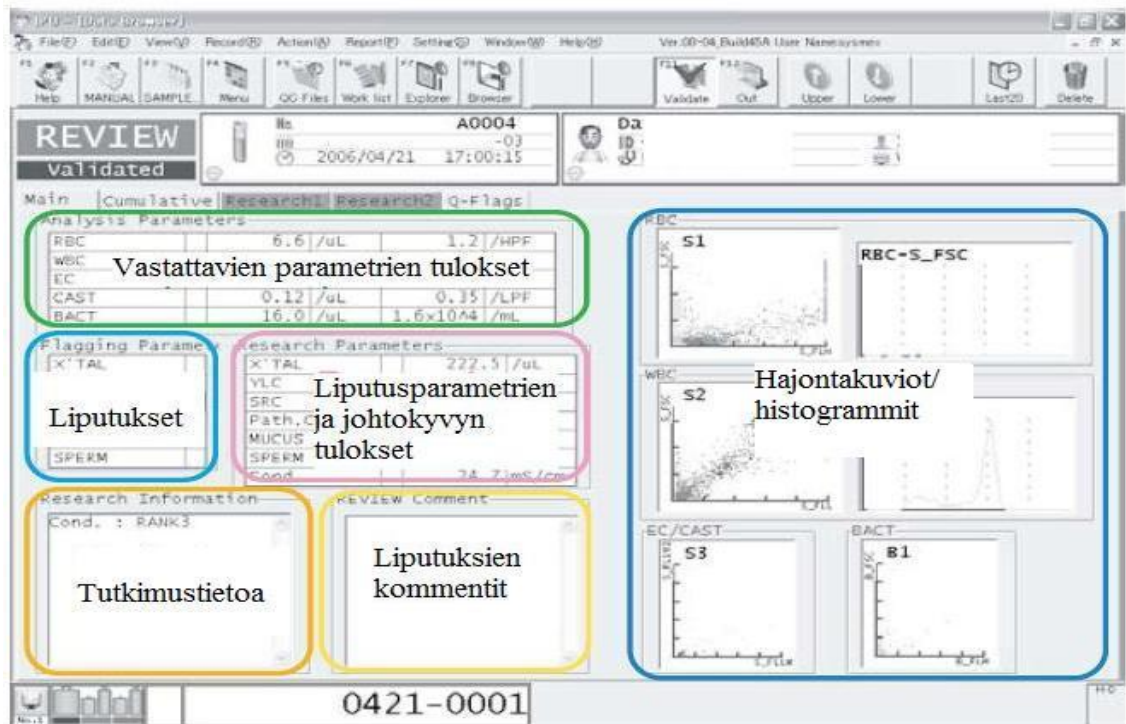
Laitteessa on kaksi reaktiokammiota ja yksi detektori. Laite analysoi erikseen sedimenttireaktion ja bakteerireaktion. (Kuusela 2009.) Näytteen aspirointitilavuus on 800 µl, josta 150 µl käytetään sedimenttireaktioon ja 62,5 µl bakteerireaktioon. Näyte jaetaan kahteen kanavaan näytteenjakoventtiilin avulla. Reaktioihin lisätään tämän jälkeen laimenninta ja väriä. (Sysmex Corporation 2008, 10-4.) Näyte värjätään kahdella erilaisella fluoresoivalla polymeitinivärillä. Ensimmäinen väri värjää bakteerikanavan bakteerit

ja toinen sedimenttikanavan leukosyytit, hiivan ja muut virtsan solut. (Manoni ym. 2009, 104.) Bakterireaktiokanavan laimentimella on tietty pH-arvo, joka estää muiden kuin bakteerien epäspesifisen värjäytymisen ja bakterikanavalla värjäytyvät vain bakteerit (Sysmex Corporation 2007, 8). Sedimenttikanavan polymeitiniväri värjää nukleiinihapot tumassa sekä sytoplasmassa ja solun kalvorakenteissa. Väriin eksitaatioaallonpituus on 635 nm ja emissioaallonpituus 660 nm. Sedimenttikanavan reaktio lämmitetään 10 sekunnin ajaksi 35 °C:een, jolloin laimennin poistaa virtsanäytteistä kiinteät suolat. (Kuusela 2009.) Laimennuksen ja värjäyksen jälkeen laite mittaa sedimenttikanavalta virtsanäytteen johtokyvyn (Sysmex Corporation 2008, 10-4). Tämän jälkeen solut johdetaan soluvirtaan hydrodynaamisen fokusoinnin avulla. Hydrodynaamisen fokusoinnin avulla jokainen partikkeli ohittaa lasersäteen yksitellen. (Manoni ym. 2009, 104.) Hydrodynaamiseen fokusointiin käytetään UF II SHEAT-liuosta, joka muodostaa niin kutsutun suojavirran. Hitaasti etenevä näytevirta injisoidaan nopeammin liikkuvaan suojavirtaan. Pintajännitys ja nesteen laminaarivirtaus pakottavat näytteen kulkemaan suojavirran keskellä. (Kuusela 2009.)

Laitteessa on punainen puolijohdelaser, jonka aallonpituus on 635 nm. Laser kohdistetaan soluvirtaan kondensaattorin eli kokoojalinssin avulla. (Sysmex Corporation 2008, 10-6.) Jokaisen yksittäisen partikkelin siroama valo muutetaan sähköiseksi signaaliksi valodiodilla (Manoni ym. 2009, 104). Solujen emittoima fluoresoiva valo detektoidaan valomonistinputken avulla. Sähköiset signaalit mitataan ja käsitellään tietojenkäsittelyyksikössä, jossa sironneen valon ja fluoresenssin antama tieto yhdistetään (liite 1). (Sysmex Corporation 2008, 10-6.) UF-1000i-analytiikassa sivusironnalla on pienempi merkitys kuin eteenpäin sironneella valolla ja fluoresenssilla. Sivusironnalla käytetään hyväksi punasolujen ja kiteiden erottelussa sekä leukosyyttien ja levyepiteelien erottelussa. (Kuusela 2009.)

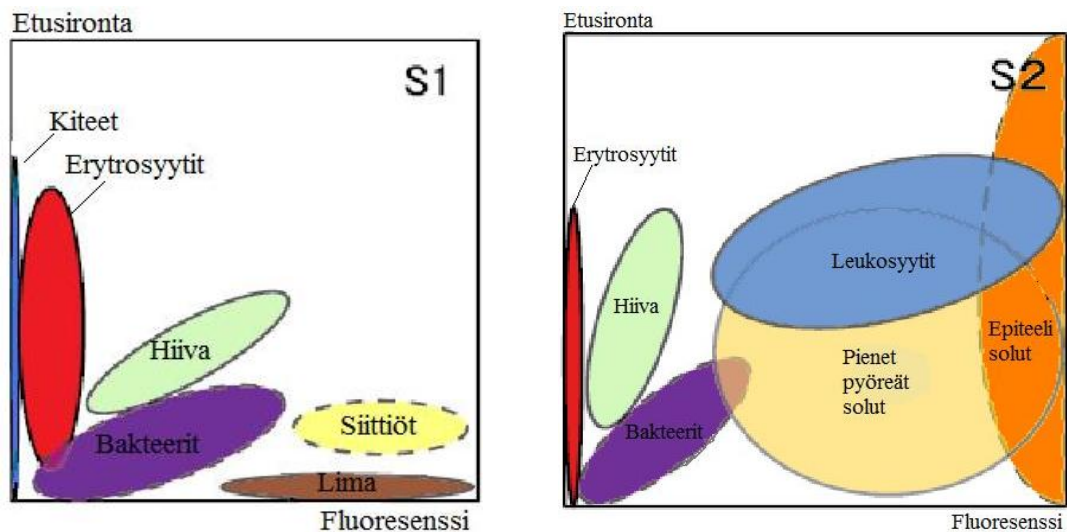
Numeeriset tulokset näkyvät tietokoneen tulosnäytössä, jossa näkyvät vastattavien tulosten lisäksi liputukset sekä liputusparametrien ja johtokyvyn numeeriset tulokset. Lisäksi tulosnäytössä on kohta tutkimustiedolle. Partikkelien tulokset ilmoitetaan muodossa: partikkelia/ $\mu$ l. Johtokyvyn yksikkö on mS/cm. Tulosnäytössä näkyvät myös erytrosyytti-, leukosyytti-, epiteeli/lieriö- ja bakterikanavan sirontakuviot sekä erytrosyyttien ja leukosyyttien histogrammit (kuvio 4). Tutkimustietoa on esimerkiksi UTI?-liputus (urine track infection). Laite voi antaa virtsatieinfektioepäilyliputuksen leukosyytti- ja

bakteeritulosten pohjalta. Jos laite ei luota tulokseen, se antaa ”low reability”-liputuksen. Myös viitealueen (+) ja mikroskopointirajan ylitykset (⊕) näkyvät tulospöytätyössä. (Kuusela 2009.) Laitteen antama liputuksen alaraja virtsan ominaisjohtokyvyille on alle 3 mS/cm ja yläraja yli 39 mS/cm. Näytteet, jotka eivät väkevyytensä puolesta mene analysaattorilla automaattisesti läpi ilman liputusta, on tutkittava mikroskoopilla (Niskanen 2011). Laimeiden näytteiden mikroskopointi on suotavaa, sillä vähäinen suolapitoisuus voi vaikuttaa solujen morfologiaan eikä niiden luokittelu ole luotettavaa. Erittäin väkevät eli suolapitoisuudeltaan korkeat näytteet tulee aina mikroskopoida. (Kuusela 2009.) Laitteen herkkyys on erytrosyyteille ja leukosyyteille 1,0 / $\mu$ l ja mittaus-tarkkuus +/- 10 % (Niskanen 2011).



KUVIO 4. Sysmex UF-1000i-analysaattorin tulospöytätyttö (mukaillen Sysmex Corporation 2007, 17)

Tulokset esitetään kuvaajalla eli sirontakuviolla. Alue, jolla tietyt solut esiintyvät, on määritelty (Kuusela 2009). Jokaisella parametrilla on sirontakuvioissa oma värinsä (Sysmex Corporation 2007, 9). Solut voidaan tunnistaa yhdistämällä kahden tai useamman sirontakuvion informaatio. Tulosnäytössä näkyvät sedimenttikanaavien S1, S2 ja S3 sirontakuviot sekä bakteerikanavan B1 sirontakuvio. Sirontakuvioiden S1 ja S2 fluoresenssisignaalien vahvistus eli amplifikointi on erilainen. S1-kanavalla on paljon vahvistettu signaali ja S2-kanavalla vähän vahvistettu signaali. Partikkelien koko kasvaa alhaalta ylöspäin mentäessä. Fluoresenssi kasvaa vasemmalta oikealle mentäessä. (Kuusela 2009.) Erytrosyytit esiintyvät sirontakuviossa matalan fluoresenssin alueella, sillä niiden fluoresenssi on heikkoa. Erytrosyyteillä ei ole tumaa, joten vain niiden solukalvo värjäytyy. Leukosyyteistä värjäytyy solukalvon lisäksi tuma, joten ne esiintyvät sirontakuviossa korkeamman fluoresenssin alueella (kuvio 5). (Sysmex Corporation 2008, 10–14.)

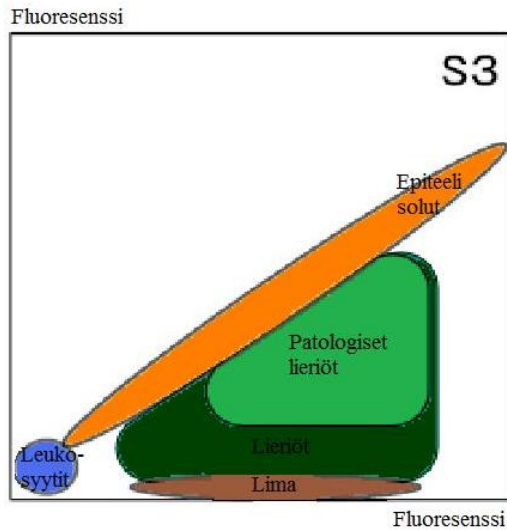


KUVIO 5. Partikkelien tunnistus sedimenttikanaavilla S1 ja S2 (mukaillen Sysmex Corporation 2007, 9)

Sirontakuviossa S3 fluoresenssipulssin leveyttä tarkastellaan kahdella eri vahvistustasolla. Partikkelien sisältämien värjäytyvien inklusioiden pituus kasvaa alhaalta ylöspäin mentäessä. Partikkelien pituus puolestaan kasvaa vasemmalta mentäessä oikealle. Sirontakuviossa näkyvät epiteelisolut ovat suurempia kuin leukosyytit ja niillä on voimakkaampi fluoresenssi. Lieriöiden sisältämät solut tai partikkelit värjäytyvät fluore-

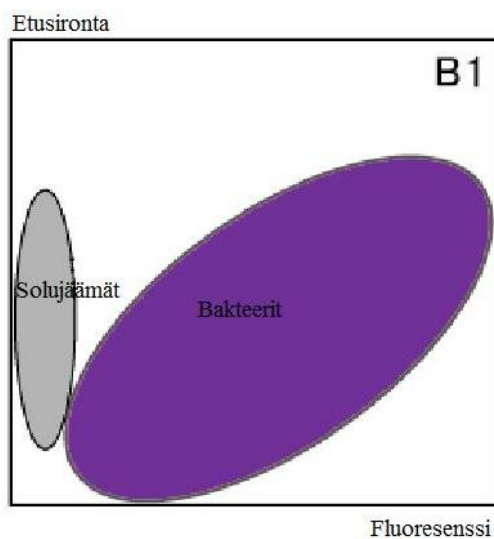


soivalla värillä ja patologiset lieriöt fluoresoivat enemmän kuin soluainesta sisältämättömät lieriöt (kuvio 6). (Sysmex Corporation 2008, 10-14.)



KUVIO 6. Partikkelien tunnistus S3-kanavalla (mukaillen Sysmex Corporation 2007, 9)

Bakteerikanavalla B1 partikkelien koko kasvaa mentäessä alhaalta ylöspäin. Partikkelien värjäytyvyys kasvaa mentäessä vasemmalta oikealla (kuvio 7). (Kuusela 2009.) Analysointorin antamia bakteerituloksia on verrattu viljelytuloksiin ja menetelmien välillä on ollut hyvä korrelaatio (Sysmex Corporation 2007, 8).



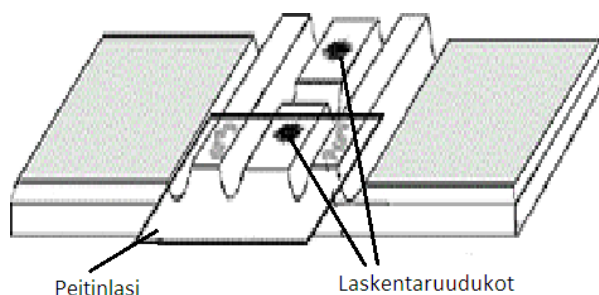
KUVIO 7 Partikkelien tunnistus B1-kanavalla (mukaillen Sysmex Corporation 2007, 9)

## 7 VIRTSAN PARTIKKELIEN MIKROSKOPIA

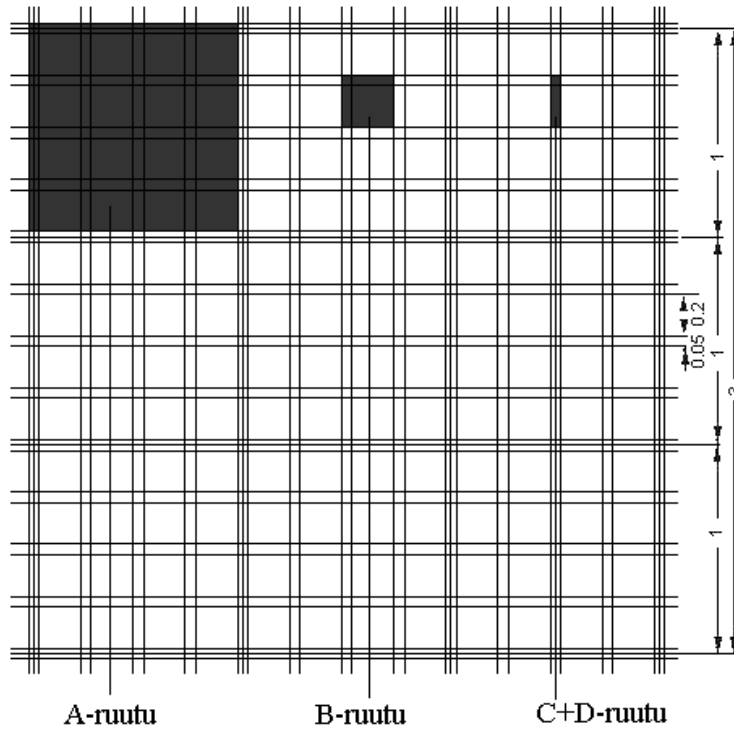
Virtsan mikroskopiaan suositellaan vaaleakentän ja faasikontrastimikroskopian yhdistelmää. Erytrosyytien dysmorfian arvioinnissa se on pakollinen. (Kouri ym. 1999, 37.) Faasikontrastimikroskopia on paras menetelmä virtsan solujen mikroskopointiin, sillä tavallisella vaaleakenttämikroskoopilla on vaikea nähdä hyaliinilieriöt ja vähän hemoglobiinia sisältävät erytrosyytit. Myös leukosyyttejä ja tubulussoluja voi olla vaikea erottaa toisistaan. Lisäksi bakteerit voivat jäädä näkemättä ilman faasikontrastimikroskopiaa. (Delanghe ym. 2000, 3.) Faasikontrastimikroskopia perustuu näytteen eri osien aiheuttamiin muutoksiin valon taitekertoimessa (Brunzel 2004, 12).

### 7.1 Kammiolaskenta

Kammiolaskennalla tarkoitetaan solujen laskemista tarkoitusta varten valmistetussa laskentakammiossa mikroskoopin avulla (kuvio 8) (Savolainen, 2010, 71). Kammiolaskentaan on käytettävissä useita kammiotyyppejä. Kaikille laskukammioille on tyypillistä tarkka nestekerroksen paksuus, joka on tavallisesti joko 0,05 millimetriä (mm) tai 0,1 mm. Bürkerin laskukammion syvyys on 0,1 mm. Tarkka tilavuus määräytyy kammion pohjaan merkityn pinta-alaruudun avulla (kuvio 9, s. 35). Kammio täytetään peitinlasin reunasta ja solujen annetaan laskeutua kammion pohjalle. (Vilpo 2003, 65.) Solut lasketaan tietyltä alueelta, joka vastaa määrättyä tilavuutta (Savolainen, 2010, 71). Tämän perusteella lasketaan solupitoisuus alkuperäisessä näytteessä (kuvio 10, s. 35) (Vilpo 2003, 65).



KUVIO 8. Bürkerin laskukammio (mukaiillen Labor Optik)



KUVIO 9. Bürkerin laskukammion pinta-alaruudukko (mukaillen Labor Optik)

$$\frac{\text{Solujen lukumäärä} \times \text{laimennuskerroin}}{\text{Laskettu alue (mm}^2\text{)} \times \text{kammion syvyys (mm)}} = \text{soluja}/\mu\text{l}$$

KUVIO 10. Solujen laskukaavio (mukaillen Labor Optik)

## 7.2 Virtsan solujen kammiolaskenta

Virtsan solujen kammiolaskentaa suositellaan vain menetelmävertailuihin (Kouri ym. 1999, 17). Natiivien virtsanäytteiden laskeminen kammiossa on paras referenssimenetelmä virtsan solujen laskemiseen. Kammiolaskenta voidaan suorittaa esimerkiksi Fuchs-Rosenthalin tai Bürkerin kammiossa käyttämällä faasikontrastimikroskooppia. Tarkkuutta voidaan lisätä värjäämällä virtsanäyte esimerkiksi Sternheimerin supravitaalivärjäyksellä. (Delange ym. 2000, 4.) Referenssimenetelmät ovat määrittymenetelmiä, joilla tutkittavalle analytyille saadaan mahdollisimman oikea tulos. Määrittymenetelmän on oltava spesifinen tutkittavalle aineelle. Referenssimenetelmät sisältävät usein työvaiheita, jotka eivät sovellu rutiininomaisesti tehtävään analytiikkaan. Referenssime-

netelmien käyttö on rajoittunut tutkimuskäyttöön sekä rutiinimenetelmien toimivuuden tarkistuksiin ja vakiointeihin. (Åkerman & Jokela 2010, 50.)

Kammiolaskennan tulos on kvantitatiivisesti luotettavampi kuin sedimentin mikroskopiatus, koska silloin ei käytetä sentrifugaatiota ja lasketaan suurempi näytetilavuus (Kouri ym. 1999, 17). Näytteen sentrifugoiminen vähentää erytrosyyttien ja leukosyyttien määrää 20–80 %. Tämän takia virtsan sedimentin mikroskopointia ei voi käyttää kvantitatiivisena virtsan solujen laskemisen referenssimenetelmänä. (European Confederation of Laboratory Medicine 2000, 23.) Visuaalisen kammiolaskennan haittapuolia ovat pienestä näytemäärästä johtuva alhainen tarkkuus sekä menetelmän työläys (Delange ym. 2000, 8). Menetelmän rutiinikäyttöä hankaloittaa lisäksi suuri preanalyttinen vaihtelu, morfologisen erittelyn vaikeutuminen sekä vaikeus tunnistaa munuaistasoisia muutoksia (Kouri ym. 1999, 17). Virtsan solujen mikroskopointi vaatii erityistä perehtymistä asiaan (Manoni ym. 2010, 1107).

## 8 AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET

Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmassa on tehty vuonna 2008 opinnäytetyönä laite- ja menetelmävertailu, jossa on tutkittu virtsan partikkeleita Sysmex UF-100-analysaattorilla ja mikroskopoimalla sedimenttiä. Samalla on selvitetty, kuinka tarpeellista on mikroskopoida näytteet, joille laite antaa liputuksen. (Hiltunen & Makkonen 2008, 6.) Manoni ym. (2010) ovat vertailleet tekemässään tutkimuksessa Sysmex 1000i:tä ja kvantitatiivista mikroskopiaa. Tutkimuksen tarkoituksena on ollut selvittää virtsan solujen määrien yhteneväisyyttä Sysmex 1000i:n ja kvantitatiivisen mikroskopian välillä (Manoni 2010, 1107).

### 8.1 Sysmex UF-100-analysaattorin ja mikroskopian vertailu

Opinnäytetyössä tutkittiin automaattisella solulaskimella ja mikroskopoimalla 52 virtsanäytettä. Näytteistä suoritettiin mikroskopoimalla virtsan partikkelien peruslaskenta, jossa lasketaan ja ilmoitetaan erytrosyytit, leukosyytit, levyepiteelisolut, pienet epiteelisolut, lieriöt, bakteerit, hiivasolut, trichomonas, sakkaisuus, artefaktat ja pyydettyäsiittiöitä. Partikkelit laskettiin peitinlasimenetelmällä sentrifugoiduista ja supravitaalivärjätyistä näytteistä valo- ja faasikontrastimikroskoopeilla. (Hiltunen & Makkonen 2008, 24.)

Opinnäytetyön tulosten mukaan Sysmex UF-100-analysaattorin ja mikroskopoimalla laskettujen erytrosyyttien, leukosyyttien, bakteerien ja hiivasolujen määrien välillä on vahva positiivinen järjestyskorrelaatio ( $r_s = 0,703$ ,  $r_s = 0,923$ ,  $r_s = 0,580$  ja  $r_s = 0,599$ ). (Hiltunen & Makkonen 2008, 27–32.) Spearmanin järjestyskorrelaatio soveltuu tilanteisiin, joissa muuttujat muodostuvat järjestyluvuista sen sijaan, että niissä olisi kysymys määrällisestä mittaamisesta. Järjestyskorrelaatio tarjoaa nopean tavan todeta, onko kahden muuttujan välillä tilastollisesti merkittävä riippuvuus. (Tilastokeskus.) Myös Sysmex UF-100-analysaattorin ja mikroskopoimalla laskettujen levyepiteelisolujen ja lieriöiden määrien välillä on positiivinen järjestyskorrelaatio ( $r_s = 0,473$  ja  $r_s = 0,461$ ). Sen sijaan analysaattorin ja mikroskopoimalla laskettujen pienten epiteelisolujen määrät ovat toisistaan riippumattomia. (Hiltunen & Makkonen 2008, 27–32.)

Opinnäytetyön johtopäätöksen mukaan analyysointitunnistaja tunnistaa hyvin erytrosyyttejä, leukosyyttejä, levyepiteelisoluja ja bakteereja. Opinnäytetyön tulosten perusteella ei voi tehdä luotettavia johtopäätöksiä lieriöiden, pienten epiteelisolujen ja hiivasolujen osalta, sillä niitä löytyi vain muutamista näytteistä. Työssä tehtiin myös johtopäätös, jonka mukaan analyysointitunnistajan antamat liputukset tulisi tarkistaa mikroskoipoimalla. (Hiltunen & Makkonen 2008, 36.)

## 8.2 Sysmex UF-1000i-analyysointitunnistajan ja kvantitatiivisen mikroskopian vertailu

Manoni ym. tutkivat 214 virtsanäytettä käyttämällä automaattista solulaskijaa sekä Fuchs-Rosenthal kammiota. Kammiolaskenta tehtiin sentrifugoimattomista näytteistä käyttämällä faasikontrastimikroskooppia. Laskenta suoritettiin kahdesti eri henkilöiden toimesta. Tutkimuksessa saatiin tyydyttävä Pearsonin korrelaatiokerroin automaattisen solulaskimen ja kvantitatiivisen mikroskopian välillä. Erytrosyyttien korrelaatiokerroin oli 0,98, leukosyyttien 1,00, epiteelisolujen 0,96 ja lieriöiden 0,69. (Manoni ym. 2010, 1107.)

Tutkimuksesta tehty johtopäätös kertoo, että Sysmex UF-1000i on riittävän tarkka ja parantaa työnkulkua rutiinityöskentelyssä. Tutkimuksen mukaan UF-1000i ja referenssimenetelmä antavat yhdenmukaiset tulokset erytrosyyttien, leukosyyttien ja epiteelisolujen kohdalla. Tutkimuksessa kävi ilmi, että laite yliarvioi lieriöiden määrää. Laitteen liputtamat lieriöt täytyy mikroskopoida, jotta voidaan erottaa hyaliinilieriöt patologisista lieriöistä. (Manoni ym. 2010, 1107–1108.)

Tutkimuksen mukaan erytrosyyttien tunnistaminen ja määrittäminen ovat vaikeaa silloin, kun niitä on vähän tai näytteessä on dysmorfisia erytrosyyttejä tai varjosoluja. Joissakin tapauksissa väärät korkeat erytrosyyttimäärät johtuvat siitä, että laite sekoittaa ne hiivaan. Varoitusjärjestelmä auttaa erottamaan erytrosyytit ja kiteet toisistaan. UF-1000i tunnistaa virtsassa olevat valkosolut riittävän hyvin. Laite tunnistaa myös vaurioituneet leukosyytit, sillä solujen DNA leimataan fluorokromeilla. Solujen analysointi on mahdollista, jos niistä on jäänyt jäljelle DNA:ta. Laitteen antamien epiteelisolujen ja kvantitatiivisen mikroskopian välillä oli hyvä korrelaatio. UF-1000i ei kuitenkaan tunnista lieriöistä soluainesta yhtä hyvin kuin manuaalimikroskopia. Laitteen antamat vää-

rät positiiviset tulokset voivat joskus johtua näytteessä olevasta limasta. Väärät positiiviset tulokset voivat puolestaan johtua siitä, että lieriöt ovat hajonneet. (Manoni ym. 2010, 1107–1110.)

## 9 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Tämä opinnäytetyö on kvantitatiivinen kokeellinen tutkimus. Kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus kuvaa tutkittavaa ilmiötä numeerisen tiedon pohjalta ja se edellyttää riittävän suurta ja edustavaa otosta (Heikkilä 2008, 16). Opinnäytetyössä on myös vertailevan tutkimuksen piirteitä. Vertailevalla tutkimuksella tarkoitetaan tutkimusstrategiaa, jossa hahmotetaan valittujen tapauksien välisiä yhtäläisyyksiä ja eroja (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 44). Opinnäytetyössä vertaillaan kahdella eri menetelmällä saatuja virtsan erytrosyytti- ja leukosyyttituloksia.

Kvantitatiivista tutkimusta voidaan nimittää myös tilastolliseksi tutkimukseksi. Asioita kuvataan numeeristen suureiden avulla ja tuloksia voidaan havainnollistaa taulukoin tai kuvioin. Usein selvitetään myös eri asioiden välisiä riippuvuuksia tai tutkittavassa ilmiössä tapahtuneita muutoksia. Aineistosta saatuja tuloksia pyritään yleistämään tutkittuja havaintoyksiköitä laajempaan joukkoon tilastollisen päättelyn keinoin. Kvantitatiivisen tutkimuksen avulla saadaan yleensä kartoitettua olemassa oleva tilanne, mutta ei pystytä riittävästi selvittämään asioiden syitä. (Heikkilä 2008, 16.) Käsittelemme saamamme tulokset tilastollisesti Microsoft<sup>®</sup> Office Excel-ohjelman avulla ja havainnollistamme niitä kuvioiden avulla.

Otoskoon valintaan vaikuttavat aikataulu, tulosten tarkkuus ja kustannukset ja näiden välillä on usein tehtävä kompromissi. Jos otoskoko on pieni, ovat tulokset sattumanvaraisia. Otokseen perustuva tutkimus ei kuitenkaan koskaan anna täysin täsmällistä tulosta, vaan arvion. (Heikkilä 2008, 41–42.) Opinnäytetyön kokeellisen osuuden tekemiseen on varattu aikaa yksi viikko, jonka aikana toivomme saavamme kokoon 100 virtsanäytettä. Tämän otoskoon pitäisi olla riittävän suuri, jotta sen perusteella voidaan tehdä yleistyksiä tutkittavasta ilmiöstä. Pyrimme saamaan otokseen mukaan väkevyydeltään vaihtelevia näytteitä, jotta voisimme arvioida väkevyyden vaikutusta virtsan solujen määrään ja ulkonäköön. Otoksen valinnassa joudumme todennäköisesti jättämään kokeellisen osuuden ulkopuolelle näytteitä, jotka eivät sovellu tutkimukseen, joten otoksemme on valikoiva. Mahdollisia syitä virtsanäytteiden hylkäämiselle voivat olla liian korkeat tai matalat solumäärät tai väkevyydeltään epäsoyvät virtsanäytteet.



Hyvän tutkimuksen perusvaatimuksia ovat validiteetti, reliabiliteetti, objektiivisuus, tehokkuus ja taloudellisuus, avoimuus, sekä hyödyllisyys ja käyttökelpoisuus. Validiteetti eli pätevyys on varmistettava etukäteen huolellisella suunnittelulla ja tarkoin harjitulla tiedonkeruulla. Jos mitattavia käsitteitä ja muuttujia ei ole tarkoin määritelty, eivät mittaustuloksetkaan voi olla valideja. Reliabiliteetilla tarkoitetaan tulosten tarkkuutta. Tutkimuksen tulokset eivät saa olla sattumanvaraisia, tulosten on oltava myös toistettavia. (Heikkilä, 2008, 29–32.) Teemme tulosten kirjausta varten lomakkeen, johon merkitsemme saamamme tulokset ja huomiot solujen ulkonäöstä. Tarkoituksenamme on kuvata kokeellinen osuus tarkasti, jotta se olisi toistettavissa jonkun muun toimesta. Heikkilän (2008, 29–32) mukaan tutkijan on oltava koko tutkimuksen ajan tarkka ja kriittinen. Virheitä voi sattua tietojen kerättäessä, syötettäessä, käsiteltäessä ja tuloksia tulkittaessa. Tutkimuksen tulokset eivät saa riippua tutkijasta, tutkimuksen on oltava objektiivinen. (Heikkilä, 2008, 29–32.) Pyrimme opinnäytetyössämme objektiivisuuteen ja välttämään virheitä kaikissa työvaiheissa.

Tutkimus on taloudellinen, kun sen hyöty ja kustannukset ovat oikeassa suhteessa. Tutkimuksen luonteen tulee olla avoin, käytetyt menetelmät ja epätarkkuusriskit tuodaan julki, sekä niiden vaikutus tulosten yleistettävyyteen pyritään selvittämään. Tutkimuksen aiheen suuntautuessa tärkeiksi koetuille ongelma-alueille on helpompi saada aikaan hyödyllinen ja useita koskeva tutkimus. Hyvän tutkimuksen tunnuspiirre on myös tietosuojan huomioon ottaminen tutkimusta tehdessä sekä aineistoa käsiteltäessä. Sopiva aikataulu on myös tärkeä. Tutkimuksen tietojen pitää olla käytössä silloin, kun niitä tarvitaan. (Heikkilä, 2008, 29–32.) Aineistomme tulee koostumaan potilasnäytteistä ja aiomme pitää huolen tietosuojan säilymisestä tutkimuksen eri vaiheissa. Opinnäytetyösuunnitelma sisältää aikataulun, jonka mukaan työn pitäisi edetä.

Hajontalukujen tarkoituksena on kuvailla, kuinka hajallaan muuttujasta tehdyt mittaukset ovat. Niiden avulla ilmaistaan, kuinka paljon mittaustulokset vaihtelevat. Mitä pienempi hajonta on, sitä lähempänä mittaukset ovat toisiaan tai keskimääräistä arvoa. Ennen korrelaatiokertoimen laskemista voidaan hajontakuvion avulla havainnollistaa riippuvuutta ja tutkimista mahdollisesti häiritseviä poikkeavia havaintoja (Heikkilä, 2008, 85, 204.) Tulokset on tarkoitus esittää hajontakuvioden avulla, joihin sisällytetään myös regressiosuora.

Muuttujien välisiä riippuvuuksia selvitetessä tutkitaan yhteyksiä useimmiten aina kahden muuttujan välillä eli pareittain. Muuttujien välisen riippuvuuden tarkastelu on hyvä aloittaa hajontakaavion avulla. Tavallisin käytettävä mitta kahden muuttujan väliselle riippuvuudelle on Pearsonin korrelaatiokerroin. Korrelaatiokerroin mittaa lineaarisen riippuvuuden voimakkuutta muuttujille. Se on normeerattu niin, että se vaihtelee  $-1:n$  ja  $+1:n$  välillä ja kertoimen arvo 0 ilmoittaa, ettei lineaarista riippuvuutta ole. Kerroin kuvaa, kuinka hyvin muuttujien arvopareja kuvaavat pisteet sijoittuvat samalle suoralle. (Heikkilä, 2008, 90–91; Holopainen & Pulkkinen, 1996, 156–158.)

Jos kerroin on lähellä arvoa  $+1$ , muuttujien välillä on voimakas positiivinen korrelaatio: toisen muuttujan kasvaessa toinenkin kasvaa. Jos kerroin on lähellä arvoa  $-1$ , muuttujien välillä on voimakas negatiivinen korrelaatio: toisen muuttujan kasvaessa toisen muuttujan arvo pienenee. Selittävä muuttuja on x-akselilla, selitettävä muuttuja y-akselilla. (Heikkilä, 2008, 92.)

Korrelaatiokertoimen puutteena on, että se mittaa ainoastaan lineaarista riippuvuutta. Tästä syystä on tärkeää muistaa, ettei suurikaan korrelaatiokertoimen itseisarvo takaa muuttujien välillä vallitsevaa syy-seuraussuhdetta. Toisaalta edes korrelaatiokertoimen arvo nolla tai lähellä nollaa oleva arvo ei tarkoita sitä, että muuttujien välillä ei olisi mitään yhteyttä. Yhteys ei vain ole lineaarista. Muunlaista yhteyttä voi kyllä esiintyä. Hajontakuviota osoittautuu tässäkin tapauksessa tärkeäksi. Hajontakuviosta nähdään mahdollisen yhteyden voimakkuus, muoto ja suunta. (Holopainen & Pulkkinen, 1996, 152, 163.) Jos kahden muuttujan välillä todetaan selvää lineaarista riippuvuutta ja toisen muuttujan (y) käyttäytymistä voidaan selittää toisen muuttujan (x) avulla, voidaan riippuvuutta kuvata ns. regressiosuoran avulla. Korrelaatiokertoimen neliö  $R^2$  kuvaa muuttujien välistä selitysstettä. Selitysstete eli selityskerroin ilmoittaa, kuinka suuren osan selittävä muuttuja (x) selittää selitettävän muuttujan (y) vaihteluista tai toisinpäin. Selitysstete saadaan korottamalla korrelaatiokerroin toiseen potenssiin. Se ilmoitetaan usein prosentteina. (Heikkilä, 2008, 98, 204.)

## 10 TUTKIMUSAINEISTO JA TUTKIMUKSEN SUORITUS

Saimme opinnäytetyön aiheen opinnäytetyön suunnitteluseminaarissa 2.9.2010. Kiinnostuimme aiheesta, sillä halusimme tehdä kokeellisen opinnäytetyön. Halusimme oppia myös enemmän virtsan mikroskopiasta ja virtsa-analytiikkaan liittyvistä asioista. Opinnäytetyön aihe saatiin alun perin laboratoriohoitaja Irja Mularilta ja ylilääkäri Timo Kourilta. Kanta-Hämeen keskussairaalan (KHKS) laboratorion kemisti Sari Husgafvel kiinnostui aiheesta, sillä hän halusi selvittää, kuinka luotettavasti Sysmex UF-1000i tunnistaa virtsan soluja, joiden muoto on muuttunut näytteen laimeuden tai väkevyyden takia. Pidimme palaverin opinnäytetyön sisällöstä Sari Husgafvelin ja laboratoriohoitaja Kirsti Inkilän kanssa Hämeenlinnassa 18.10.2010. Aloimme työstää opinnäytetyösuunnitelmaa syystalvella 2010. Opinnäytetyösuunnitelman valmistuttua helmikuussa haimme luvan opinnäytetyön tekemiselle. Luvan myönsi 16.2.2011 KHKS:n sairaanhoidollisten palveluiden tulosalueen ylihoitaja Asta Lehtiö. Työn kokeellinen osuus toteutettiin neljänä päivänä 11.- 14.4.2011 KHKS tiloissa. Tutkimusnäytteinä käytettiin KHKS:n potilasnäytteitä.

Aloimme etsiä lähdekirjallisuutta opinnäytetyöhömme aiheen saatuaamme syksyllä 2010. Tavoitteena oli saada teoriaosuutta kirjoitettua ennen kokeellisen osuuden suorittamista, saadaksemme kokonaiskuvan tutkimusaiheestamme. Perehdyimme kammiolaskentaan etukäteen, sillä meillä ei ollut kokemusta virtsan solujen laskemisesta kammiossa. Harjoittelimme kammiolaskentaa koululla tammikuussa 2011 värjäämättömillä virtsan soluilla. Käytimme näytteenä puhtaasti laskettua keskivirtsaa (PLV), johon lisäsimme sormenpäästä ihopistonäytteenä saatua verta. Näin saimme runsassoluisen harjoitusnäytteen, joka sisälsi sekä erytrosyyttejä että leukosyyttejä. Näitä soluja oli helppo tarkastella mikroskoopissa, sillä ne olivat tuoreita ja hyvin säilyneitä.

Tutkimamme näytteet olivat potilasnäytteitä, joista oli pyydetty partikkelien peruslaskenta (U-solut). Näytteet olivat kertanäytteitä, jotka saapuivat analysoitaviksi pääasiassa säilöntäainetta (boraatti-formiaatti-mannitoli) sisältävissä BD vacutainer®-putkissa. Kaikki näytteet olivat PLV-näytteitä. Näytteiden tutkimisessa ei ollut suurta viivettä laboratorioon saapumisen ja analysoinnin välillä. Kaikki näytteet analysoitiin viimeistään tunnin kuluessa laboratorioon saapumisesta. Näytteiden rakko aika ja/tai mahdolli-

nen näytteen säilytysaika ennen laboratorioon saapumista ei ollut käytettävissämme. Eritelaboratoriossa työvuorossa ollut laboratoriohoitaja analysoi näytteet Sysmex UF-1000i-analysaattorilla ja me saimme tulokset käyttöömmme.

Analysaattorille suoritettiin ennen potilasnäytteiden analysointia tarvittavat päivittäiset sisäisen laadunohjauksen kontrollinäytteet. Kontrolleina Sysmex UF-1000i-analysaattorilla käytetään UF II CONTROL-liuoksia, jotka sisältävät stabiloituja lateksipartikkeleita. Kontrolliliuoksia säilytetään jääkaapissa ja niiden analysoiminen tehdään huoneenlämmössä. Kahdella eri kontrolliliuoksella tarkistetaan analysaattorin tulos taso korkeilla ja matalilla pitoisuuksilla. UF II CONTROL-L mittaa matalan tason ja UF II CONTROL-H korkean tason. Kontrollitulokset tallentuvat QC (quality control) – tiedostoon.

Tarkastelimme solulaskimen antamia tuloksia ja valikoimme näytteiden joukosta sellaiset näytteet, joissa oli erytrosyyttejä ja/tai leukosyyttejä. Tutkimusaineiston valinnassa pyrittiin myös otokseen, joka sisältäisi sekä laimeita että väkeviä virtsanäytteitä. Saimme tiedon näytteen väkevyydestä analysaattorin antaman ominaisjohtokyvyn avulla. Kokeellisen osuuden ulkopuolelle oli tarkoitus jättää näytteet, joiden solumäärä oli kokonaisuudessaan joko hyvin matala (<5 solua) tai huomattavan korkea (>1000 solua). Hyvin suurien solumäärien laskeminen kammiossa on vaikeaa, eikä saatu tulos ole tällöin luotettava. Myös pienien solumäärien kohdalla tuloksen tarkkuus heikentyy verrattaessa tuloksia automaattisen solulaskimen antamiin tuloksiin samasta näytteestä. Automaattinen solulaskin pystyy tunnistamaan myös hajonneet solut, joiden osuus solujen kokonaismäärästä jää kammiossa laskettuna pois. Jouduimme kuitenkin ottamaan otokseen mukaan myös näytteitä, joiden solumäärä oli haluttua matalampi tai korkeampi johtuen näytteiden vähäisestä määrästä kokeellisen osuuden suorittamiseen varatun viikon aikana. Potilasnäytteet olivat myös hyvin tasalaatuisia väkevyyden suhteen, joten haluttua hajontaa ei saatu toivotussa määrin.

Kammiolaskenta suoritettiin välittömästi automaattisen solulaskennan jälkeen sentrifugoimattomista ja värjäämättömistä näytteistä. Näyteputket numeroitiin juoksevilla numeroinnilla. Analysaattorin antamat tulosteet numeroitiin yhteneviksi näyteputkien kanssa, minkä jälkeen potilastiedot poistettiin tulosteista. Uudet näyttenumerot korvasivat laboratorion käyttämän potilasnumeron, jolloin näytteet käsiteltiin ilman potilastietoja. Suoritimme

kammiolaskennan itse. Kumpikin opinnäytetyön tekijä laski noin puolet otoksen sisältämistä näytteistä. Sovelsimme virtsan solujen kammiolaskentaan eritelaboratorion punktionesteiden laskemiseen tehtyjä ohjeita, sillä virtsan solujen kammiolaskentaan ei ole KHKS:n laboratoriossa erillistä työohjetta. Otimme UF-1000i-analysaattorin analysoimista näytteistä kammiolaskentaa varten näytettä pasteur-pipetillä uuteen säilöntäaineettomaan koeputkeen.

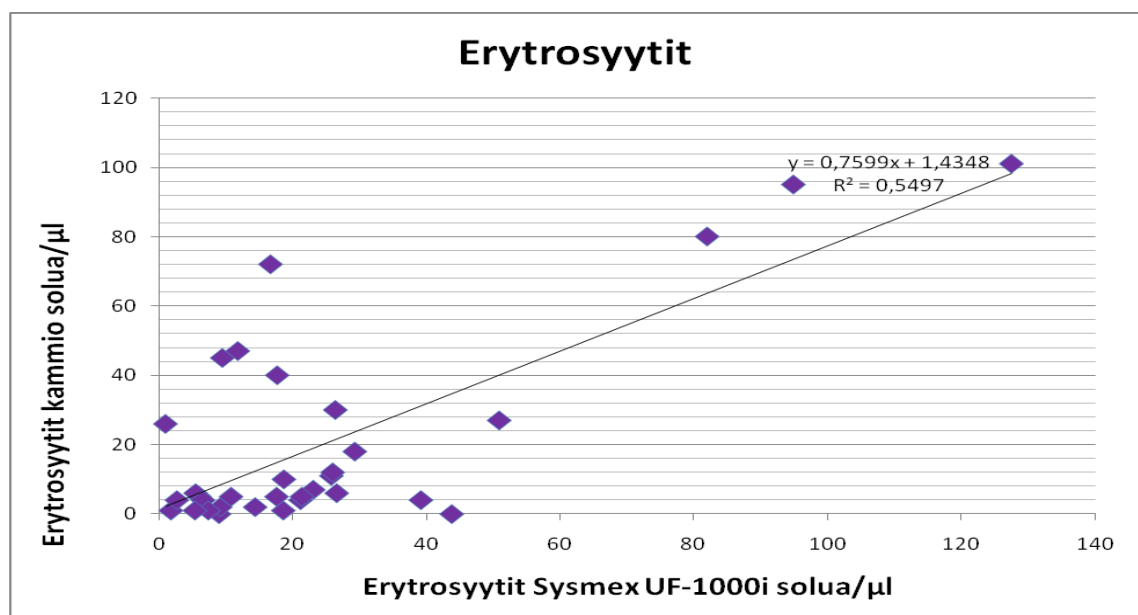
Potilasnäytteet säilytettiin alkuperäisissä näyteputkissaan virtsan sedimentin tutkimista varten, mistä syystä emme voineet ottaa omaan käyttöömme alkuperäisiä putkia. Kokeellista osuuttamme varten saatu näytetilavuus vaihteli näytteittäin riippuen näytteen alkuperäisestä tilavuudesta. Virtsan sedimenttitutkimus on jätetty tämän opinnäytetyön ulkopuolelle. Näytteet sekoitettiin huolellisesti ennen uuteen puhtaaseen muoviseen koeputkeen siirtämistä, sekä ennen kuin ne siirrettiin kammioon laskettavaksi. Näytteet sekoitettiin manuaalisesti kääntelemällä näyteputkia. Ennen kammiolaskentaa virtsanäytteet olivat lisäaineettomissa koeputkissa korkeintaan tunnin. Virtsanäytteet siirrettiin kammioon natrium hepariinia sisältävillä Heinz Herenz medizinalbedarf GMBH -merkkisillä 75 µl:n lasikapillaareilla, jonka jälkeen näytteen sisältämien solujen annettiin laskeutua kammion pohjalle kosteassa suljetussa lasisessa petrimaljassa kahden minuutin ajan eritelaboratorion ohjeiden mukaisesti. Laskenta suoritettiin Leica DM2000 faasikontrastimikroskoopilla 40-kertaisella suurennoksella. Solut laskettiin Bürkerin kammiossa 10 A-ruudusta tilavuuden ollessa 1 µl. Suoritimme laskennan yhden kerran jokaiselle näytteelle. Valitsimme kammiolaskentaan Bürkerin kammion, jonka tilavuus riittää hyvin erytrosyyttien ja leukosyyttien laskemiseen. Bürkerin kammiossa ei olisi voinut luotettavasti laskea suurempia partikkeleja, esimerkiksi lieriöitä, sillä ne eivät kunnolla mahdu Bürkerin kammioon.

Laskimme kammiossa näytteiden sisältämät erytrosyytit ja leukosyytit, jonka jälkeen merkitsimme saadut tulokset tekemäämme havaintotaulukkoon (liite 2). Merkitsimme havaintotaulukkoon myös huomioita solujen ulkonäöstä. Kiinnitimme huomiota erityisesti solujen kokoon ja muotoon. Kirjasimme ylös myös muita mahdollisesti näytteen analysointiin vaikuttavia asioita, kuten virtsanäytteen sisältämät mikrobit. Vertasimme myöhemmin saamiamme kammiolaskennan tuloksia Sysmex UF-1000i-analysaattorin tuloksiin. Tutkimusaineisto koostui lopulta 103:sta KHKS:ssa analysoidusta virtsanäytteen tuloksesta.

## 11 TUTKIMUSTULOKSET

Sysmex UF-1000i -analysointilaitteella ja kammiolaskennalla saatuja tuloksia ( $n = 103$ ) käsiteltiin Microsoft® Office Excel-ohjelmalla. Muuttujien välisen riippuvuuden tarkastelu aloitettiin luomalla hajontakaavio ja laskemalla Pearsonin korrelaatiokerroin. Hajontakuviota on merkitty kammioiden (y-akselilla) ja Sysmex UF-1000i:n (x-akselilla) antamat tulokset havaintopisteinä. Havaintoparien vastaavuutta toisiinsa nähden havainnointiin regressiosuoran avulla.

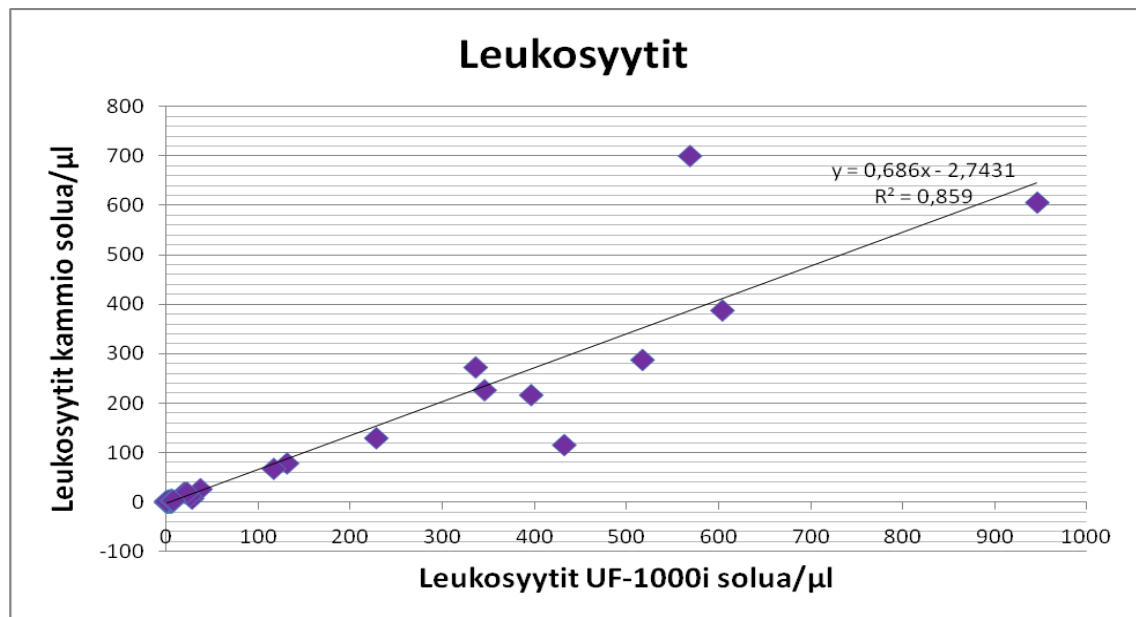
Alkuperäisestä erytrosyyttien hajontakaaviosta erottuivat selkeästi kaksi otoksesta poikkeavaa tulosta (liite 2, näytteet 41 ja 86). Nämä yksittäiset poikkeavat tulokset vääristävät regressiosuoraa. Myös kaikista havaintoarvoista laskettu korrelaatiokerroin ( $r = 0,68$ ) jää näiden kahden havaintoparin vuoksi hieman todellista matalammaksi. Näistä syistä päätimme muodostaa uuden hajontakaavion, josta jätimme pois nämä kaksi havaintoparia. Tästä hajontakaaviosta (kuvio 11) on nähtävissä, että havaintoparien välillä on yhteys, mikä on osoitettavissa korrelaatiokertoimen ( $r = 0,74$ ) avulla. Korrelaatiokertoimen neliön  $R^2$  avulla voidaan kuvata menetelmien selitystasoa. Tässä tapauksessa selittävän muuttujan, kammiolaskennan tulokset selittävät 55 % muuttujan eli Sysmex UF-1000i-analysointilaitteen vaihteluista.



KUVIO 11. Erytrosyyttien hajontakaavio ja regressiosuora

Myös leukosyyttien tuloksista on nähtävissä selkeästi poikkeava havaintopari (liite 2, näyte 86). Tämä yksittäinen poikkeava tulos vääristää regressiosuoraa. Myös havaintoarvoista laskettu korrelaatiokerroin ( $r = 0,67$ ) jää tämän havaintoparin mukana ollessa huomattavasti todellista matalammaksi. Näistä syistä päätimme muodostaa uuden hajontakaavion, johon emme ole ottaneet mukaan tätä poikkeavaa tulosta.

Hajontakaaviosta (kuvio 12) on nähtävissä, että menetelmien selitysaste on 0,86. Tämä tarkoittaa sitä, että selittävän muuttujan, kammiolaskennan tulokset selittävät 86 % muuttujan eli Sysmex UF-1000i-analysaattorin vaihteluista. Leukosyyttien kohdalla kammiolaskennan ja Sysmex UF-1000i-analysaattorin välinen selitysaste on korkea. Riippuvuuden voidaan todeta olevan lineaarista ja poikkeavan havaintoparin pois jättämisen jälkeen laskettu korrelaatiokerroin ( $r = 0,93$ ) osoittaa korrelaation olevan voimakasta. Koordinaatistoon on piirretty lineaarisuutta osoittamaan regressiosuora.



KUVIO 12. Leukosyyttien hajontakaavio ja regressiosuora

Kokonaisuudessaan analysaattorilla ja kammiolaskennalla saadut solumäärät vaihtelevat paljon ja yksittäisten näytteiden kohdalla erot ovat suuria. Erytrosyytteillä suurin ero näiden kahden menetelmän välillä oli 564 solua/μl. Analysaattorilla saatu tulos oli kyseillä virtsanäytteellä 1222 erytrosyyttiä/μl ja kammiolaskennalla saatu tulos 658 erytrosyyttiä/μl. Viidestä virtsanäytteestä saatiin sama erytrosyyttitulos sekä analysaattorilla

että kammiossa. Leukosyyttien kohdalla suurin ero analysaattorin ja kammiolaskennan välillä oli 2622 solua/ $\mu$ l. Analysaattori laski, että tässä virtsanäytteessä oli 3072 leukosyyttiä, kun kammiossa saatu tulos oli 450 leukosyyttiä/ $\mu$ l. Kymmenestä virtsanäytteestä saatiin sama leukosyyttitulos sekä analysaattorilla että kammiossa.

Otoksessa (n = 103) oli 40 näytettä, joiden solujen ulkonäössä oli mikroskooppisesti havaittavia rakenteellisia muutoksia. Taulukosta 1 nähdään, että rakenteelliset muutokset eivät ole yhteydessä näytteen ominaisjohtokykyyn.

TAULUKKO 1 Erytrosyyttien (E) ja leukosyyttien (L) ulkonäön muutokset suhteessa ominaisjohtokykyyn

Huomio erytrosyyttien ja leukosyyttien ulkonäössä	Huomion esiintyvyys/103 näytettä	Ominaisjohtokyky mS/cm
E krenatoituneita	7	11,5-18,8
E turvonneita	1	29,1
E/L ulkonäkö vaihtelee	7	6,3-29,1
E haamusoluja	5	12,6-21,9
E/L hajonneita	20	4,5-28,0



## 12 JOHTOPÄÄTÖKSET

Korrelaatiokertoimien perusteella Sysmex UF-1000i-analysaattorilla ja kammiolaskennalla saadut tulokset ovat keskenään yhteneviä sekä erytrosyyttien että leukosyyttien osalta. Leukosyyttien osalta kammiolaskennan ja Sysmex UF-1000i-analysaattorin vastaavuus on hyvä korrelaatiokertoimen ollessa 0,93. Erytrosyyttien kohdalla korrelaatiokerroin jää hieman matalammaksi ollen 0,74. Yksittäisten näytteiden kohdalla menetelmien välillä on kuitenkin suuriakin eroja eikä tuloksista voi tehdä luotettavia johtopäätöksiä.

Saamiemme tulosten perusteella ei voitu todeta, että näytteen väkevyydellä olisi vaikutusta virtsan solujen määrään tai ulkonäköön. Tekemiemme huomioiden perusteella solujen ulkonäkö vaihteli johtokyvystä riippumatta. Kysymykseen, miten automaattinen solulaskin UF-1000i pystyy tunnistamaan soluja, joiden ulkonäkö on muuttunut, on saamiemme tulosten perusteella vaikea antaa yksiselitteistä vastausta. Sysmex UF-1000i-analysaattori tunnistaa herkemmin hajonneet solut, joissa on vielä DNA:ta ja antaa tästä syystä suurempia solujen kokonaismääriä verrattuna kammiolaskentaan. Solujen muodon muuttumisesta saa kuitenkin edelleen tarkemman kuvan mikroskoopilla.

Verrattaessa aikaisempiin tutkimuksiin, saamamme tulokset ovat melko yhteneväisiä niiden kanssa. Makkonen ja Hiltunen ovat tehneet opinnäytetyössään johtopäätöksen, jonka mukaan Sysmex UF-100 analysaattori tunnistaa hyvin erytrosyyttejä, leukosyyttejä, levyepiteelisoluja ja bakteereja. He käyttivät analysaattorin vertailumenetelmänä virtsan sedimentin mikroskopointia. (Hiltunen & Makkonen 2008, 27–32). Manoni ym. (2010, 1107) ovat vertailleet Sysmex UF-1000i-analysaattoria ja kvantitatiivista mikroskopioita. He tulivat siihen tulokseen, että Sysmex UF-1000i on riittävän tarkka virtsan solujen analysaattori ja parantaa työnkulkua rutiinityöskentelyssä. Tutkimuksen mukaan UF-1000i ja referenssimenetelmä antavat yhdenmukaiset tulokset erytrosyyttien, leukosyyttien ja epiteelisolujen kohdalla. (Manoni ym. 2010, 1107.)

Tulosten analysointi tehtiin kahdessa osassa. Otimme aluksi tilastolliseen analysointiin kaikki tulokset. Huomasimme kuitenkin, että erytrosyyttien ja leukosyyttien tuloksista muutama havaintopari poikkesi selvästi muista tuloksista. Näiden havaintoparien pois

jättäminen parantaa tulosten lineaarisuutta, korrelaatiokerrointa ja selitysastetta. Konsultimme tilastotieteen opettajaamme Jouko Suihkosta tulosten analysoimisessa ja myös hän koki perustelluksi jättää hyvin poikkeavat tulokset analysoinnin ulkopuolelle.

Vakioidun aamunäytteen osmolaliteetin viitearvo on yli 600 mOsm/kg, joka vastaa suurin piirtein johtokykyä 16 mS/cm. Otoksessa oli viiterajan alittavia laimeita näytteitä 50. Tarpeeksi väkeviä näytteitä oli 53. Otokseen ei valitettavasti saatu yhtäkään analysaattorin hälytysrajaa ylittävää virtsanäytettä. Sysmex UF-1000i-analysaattorin liputuksen alaraja ominaisjohtokyvyille on 3 mS/cm ja yläraja 39 mS/cm.

Laimeiden näytteiden ongelmana oli niiden sisältämä pieni solumäärä. Erytrosyyttien viitearvo on KHKS:n laboratoriossa alle  $17 \times 10^6$  kpl/ $\mu$ l ja tämän rajan ylitti automaattisen solulaskijan tulosten perusteella 46 näytettä ja kammiolaskennan perusteella 27 näytettä. Leukosyyttien viitearvo KHKS:n laboratoriossa on alle  $10 \times 10^6$  kpl/ $\mu$ l. Tämän rajan ylitti automaattisen solulaskijan tulosten perusteella 43 näytettä ja kammiolaskennan perusteella 38 näytettä. Kammiolaskennan avulla saatiin selvästi pienempiä tuloksia kuin automaattisella solulaskijalla. Tulosten kannalta oli ikävää, että joidenkin näytteiden kohdalla eri menetelmien antamat tulokset olivat kovasti toisistaan poikkeavia.

### 13 POHDINTA

Opinnäytetyön tehtävänä oli selvittää, miten näytteen väkevyys vaikuttaa laskettavien solujen määrään ja ulkonäköön sekä miten automaattinen solulaskin UF-1000i pystyy tunnistamaan soluja, joiden ulkonäkö on muuttunut. Opinnäytetyö oli luonteeltaan kokeellinen ja vertaileva tutkimus, minkä vuoksi oli tärkeää selvittää myös vertailussa käytettävien menetelmien määrittämis- ja toimintaperiaatteet.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla Sysmex UF-1000i-analysoitsijan ja kammiolaskennan antamia erytrosyyttien ja leukosyyttien tuloksia. Kammiolaskennan yhteydessä oli tarkoitus kiinnittää huomiota virtsanäytteen väkevyydestä johtuviin muutoksiin solujen ulkonäössä. Käsitelimme tuloksia tilastollisin menetelmin sekä havainnollistimme niitä kuvioiden ja taulukoiden avulla. Opinnäytetyö toteutettiin vertailemalla virtsanäytteiden erytrosyyttien ja leukosyyttien määriä automaattisella solulaskimella Sysmex UF-1000i ja kammiolaskennalla Bürkerin kammiossa. Kiinnitimme kammiolaskennan yhteydessä myös huomiota solujen rakenteellisiin ominaisuuksiin ja mahdollisesti näytteen väkevyydestä johtuviin muutoksiin solujen ulkonäössä. Saadut tulokset kertovat, että solulaskimella Sysmex UF-1000i ja kammiolaskennalla saadut erytrosyytti- ja leukosyyttitulokset ovat melko yhdenmukaisia. Tuloksista ei voi kuitenkaan tehdä luotettavia johtopäätöksiä, sillä menetelmien välillä oli yksittäisten näytteiden kohdalla suuria eroja.

Yleisesti ottaen automaattinen solulaskija on herkempi pystyen laskemaan suuremman solumäärän. Automaattinen solulaskija nopeuttaa selvästi tulosten valmistumista ja vähentää laboratoriohoitajien ja bioanalyttikkojen työmäärää. Manonin ym. (2010) tulivat siihen tulokseen, että Sysmex UF-1000i on riittävän tarkka ja parantaa työnkulkua rutiinityöskentelyssä. Automaattisen solulaskimen saamaan solujen kokonaismäärään tulevat mukaan myös näytteen sisältämät hajooneet solut, joista on jäljellä DNA:ta. Hajooneita soluja ei pysty tunnistamaan luotettavasti mikroskoopissa, jolloin kammiolaskennalla saatu solujen kokonaismäärä jää pienemmäksi verrattuna solulaskimen saamiin määriin.

Saamamme tulokset ovat melko yhdenmukaisia verrattuna kahteen aiempaan tutkimukseen, joihin tutustuimme ennen oman kokeellisen osuuden suorittamista. Näissä tutkimuksissa on myös verrattu virtsanäytteitä automaattisella solulaskimella ja mikroskoopimalla saatuja tuloksia. Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmassa tehdyssä opinnäytetyössä on automaattisen solulaskimen tuloksia verrattu virtsan sakan mikroskopoinnissa saatuihin tuloksiin. Halusimme tutustua tähän opinnäytetyöhön, vaikka omassa opinnäytetyössämme onkin referenssimenetelmänä automaattiselle solulaskennalle käytetty kammiolaskentaa. Tuntui luontevalta ottaa toiseksi vertailukohteeksi omalle työlle virtsa-analytiikkaan liittyvä vertaileva opinnäytetyö tieteellisen tutkimuksen lisäksi.

Otoksen vaihteluväli oli johtokyvyn osalta haluttua suppeampi, minkä vuoksi väkevyyden vaikutusta soluihin oli vaikea osoittaa. Tutkimus jäi näin ollen väkevyyden osalta tuloksiltaan haluttua vaatimattommaksi. Ennen korrelaatiokertoimen laskemista voidaan aineistosta karsia pois mahdollisesti häiritseviä poikkeavia havaintoja. Poistimme erytrosyyttien tuloksista kaksi havaintoparia ja leukosyyttien tuloksista yhden havaintoparin. Poistetut tulokset vääristivät regressiosuoraa ja laskivat korrelaatiokertoimia. Tulosten analysointi osoittautui yllättävän haastavaksi ja vaikeaksi.

Opinnäytetyön luotettavuutta eli reliabiliteettia lisäsi suhteellisen suuri otoskoko, joka oli 103 virtsanäytettä. Analysilaitteiston toiminta todettiin kontroleiden avulla moitteettomaksi koko tutkimuksen ajan, mikä myös lisäsi työn reliabiliteettia. Näytteiden analysoiminen kammiossa toteutettiin juoksevilla numeroinnilla merkityistä putkista. Vasta erytrosyyttien ja leukosyyttien määrien laskemisen jälkeen haimme putken numeroa vastaavan analysaattorin tulosteen. Tällä menettelyllä pyrimme siihen, ettei analysaattorin antama tulos johdattelisi liikaa kammiolaskennan tuloksia. Luotettavuutta olisi parantanut rinnakkaisnäytteiden käyttäminen siten, että sama näyte olisi laskettu kahteen kertaan kahden eri henkilön toimesta. Ihanteellisinta luotettavuuden kannalta olisi ollut, mikäli saman itse analysoimamme näytteen olisi laskenut kammiossa kokenut laboratoriohoitaja. Erytrosyyttien ja leukosyyttien tunnistamista tutkituista virtsanäytteistä olisi voinut helpottaa näytteiden supravitaalivärjäys ennen kammiolaskennan suorittamista. Kirjallisuuden mukaan visuaalinen mikroskopia suoritetaan sentrifugoimattomista näytteistä ilman värjäystä faasioptiikka käyttäen. Työn kokeellisen osuuden suorittamisen jälkeen löysimme lähteen, jonka mukaan värjättyjen näytteiden käyttö olisi ollut mahdollista. Näytteet sekoitettiin manuaalisesti kääntelemällä ennen analysointia ja esivalmistelussa noudatettiin laboratorion ohjeita.

Opinnäytetyön luotettavuutta eli reliabiliteettia kuitenkin vähentää aineiston yksipuolisuus väkevyyden suhteen sekä niukat solumäärät. Kokeellisen osuuden toteuttamiseen käytävissä oleva aika oli rajallinen. Edustavamman otoksen kerääminen olisi ollut mahdollista, jos olisimme varanneet kokeelliselle osuudelle pidemmän ajan. Kokeen luotettavuuteen vaikutti kuitenkin eniten virtsan solujen kammiolaskennan haastavuus sekä tekijöiden kokemattomuus. Solujen tunnistaminen on vaikeaa etenkin värjäämättömistä natiivinäytteistä. Varsinkin värjäämättömien leukosyyttien ja epiteliaalisten solujen erottaminen toisistaan on hankalaa. Myös hajonneiden solujen alkuperää on vaikeampi tunnistaa natiivinäytteistä. Mikroskopointia häiritsi lisäksi joissain tapauksissa näytteen tausta, kuten lima, solukappaleet sekä runsas mikrobisto. Emme ottaneet mukaan näytteitä, joissa oli huomattavan korkea solumäärä.

Konsultoimme laboratoriohoitaja Irja Mularia (2011) opinnäytetyössä saamistamme tuloksista. Hänen kokemuksensa perusteella neljä päivää on lyhyt aika väkevyyden suhteen tarpeeksi vaihtelevan otoksen saamiseen. Irja Mulari toi esille myös työn reliabiliteettiin liittyviä seikkoja: meidän olisi ollut syytä sopia yhteiset solujen tunnistuskriteerit, sekä käyttää värjättyjä näytteitä. (Mulari 2011.)

Jatkotutkimukseksi ehdottaisimme saman kokeellisen osuuden toistamista käyttämällä värjättyjä virtsanäytteitä solujen tunnistettavuuden helpottamiseksi. Kokeelliseen osuuteen tulisi saada väkevyydeltään vaihtelevampia virtsanäytteitä kuin tässä kokeessa, jotta väkevyyden vaikutusta solumääriin ja solujen ulkonäköön voitaisiin arvioida paremmin. Olisi myös hyvä, jos mikroskopoinnin suorittaisi kokeneempi laboratoriohoitaja, joka on perehtynyt virtsan solujen kammiolaskentaan.

Ominä tavoitteinamme opinnäytetyössä oli kehittää omaa ammatillista osaamista virtsanäytteiden analytiikassa ja erityisesti virtsanäytteiden mikroskopoinnissa. Halusimme myös lisätä tietämystämme virtsateiden anatomiasta ja fysiologiasta. Saavutimme omat tavoitteemme hyvin ja tietämyksemme lisääntyi myös muilla opinnäytetyöhön liittyvillä osa-alueilla.

Olemme käyttäneet työtä tehdessämme mahdollisuuksien mukaan tuoreita ja monipuolisia lähteitä. Olemme käyttäneet myös oppikirjoja, koska virtsaneritystä olisi ollut vaikeaa ymmärtää ilman niitä. Vanhemmistakin lähteistä haettu tieto on edelleen ajantasaista.

Osa lähteistä on englanninkielisiä. Olemme huomioineet työtä tehdessämme eettiset näkökohdat potilasaineistoa käsiteltäessä, sekä ottamalla huomioon tietosuojan. Olemme myös varmistaneet kuvia lainatessamme tekijänoikeudet materiaalin tekijöiltä. Sysmex Corporationin toiveesta olemme luvanneet antaa opinnäytetyömme myös heidän käyttöönsä.

Opinnäytetyöprosessi on ollut pitkä ja sisältänyt niin haasteita kuin oivalluksen hetkiäkin. Yhteistyö KHKS:n kliinisen kemian laboratorion kanssa sujui hyvin ja saimme heiltä apua kokeellisen osuuden suorittamisessa. Erityiskiitokset kemisti Sari Husgafvelille sekä laboratoriohoitaja Hilkka Niskaselle saamastamme ohjauksesta ja avusta. Opinnäytetyön aiheesta, sekä asiantuntija-avusta haluamme kiittää ylilääkäri Timo Kouria ja laboratoriohoitaja Irja Mularia.

## LÄHTEET

- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 2010. *Essential cell biology*. Third edition. New York: Garland Science.
- Brunzel, N. 2004. *Fundamentals of urine and body fluid analysis*. Second edition. Pennsylvania: Saunders.
- Craig, F. 2004. *Flow Cytometry*. Teoksessa McKenzie, S. (toim.) *Clinical Laboratory Hematology*. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 419-435.
- Delanghe, J., Kouri, T., Huber, A., Hannemann-Pohl, K., Guder, W., Lun, A., Sinha, P. Stamminger, G. & Beier, L. 2000. The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice. *Clinica Chimica acta* 301, 1-18.
- European Confederation of Laboratory Medicin (ECLM). 2000. *European urinalysis guidelines*. Kouri, T., Fogazzi, G., Gant, V., Hallander, H., Hofman, W. & Guder WG. (toim.) *Scan J Clin Lab Invest* 2000; 60 Suppl 132:1-96.
- Hanson, J. 2006. *Refractometry theory*. Päivitetty 11.1.2006. Luettu 13.9.2011. <http://www2.ups.edu/faculty/hanson/labtechniques/refractometry/intro.htm>.
- Heikkilä, T. 2008. *Tilastollinen tutkimus*. 7. uudistettu painos. Helsinki: Oy Edita Ab.
- Heino, J. & Vuento, M. 2004. *Solubiologia*. 2. uudistettu painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.
- Hemming, B. 2010. *Mittausepävarmuus*. MIKES (Mittatekniikan keskus). Päivitetty 6.5.2010. Luettu 13.9.2011. <http://www.mikes.fi>.
- Hiltunen, E., Holmberg, P., Jyväsjärvi, E., Kaikkonen, M., Lindblom-Ylänne, S., Nienstedt, W. & Wähälä, K. (toim.) 2010. *Galenos. Johdanto lääketieteen opintoihin*. 1.-4.painos. Helsinki: WSOYpro Oy.
- Hiltunen, J. & Makkonen, M. 2008. *Laite- ja menetelmävertailu: Virtsan partikkelien tutkiminen Sysmex UF-100-analysaattorilla ja mikroskoipoimalla*. Joensuu: Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 1996. *Tilastolliset menetelmät*. Porvoo: Weilin+Göös.
- Huslab. *Ohjekirja. U-solut*. Päivitetty 9.5.2011. Luettu 26.9.2011. <http://huslab.fi/ohjekirja>
- Jalanko, H. 1998. *Munuaisten toiminta I: Glomerulus*. *Duodecim* 114 (1), 65–70.
- Jalanko, H. & Holmberg, C. 1998. *Munuaisten toiminta II: Tubulus ja kokoojaputki*. *Duodecim* 114 (2), 153–161.
- Kankkunen, P. & Vehviläinen-Julkunen, K. 2009. *Tutkimus hoitotieteessä*. Helsinki: WSOY.

- Kokko, J. & Tannen, R. 1990. Fluids and electrolytes. USA: W.B.Saunders Company.
- Kouri, T. 2008. Virtsan punasolujen dysmorfia. *Moodi* 1 (2008), 43–44. Helsinki: Labquality.
- Kouri, T. 2010. Munuaiset ja virtsa. Teoksessa Niemelä, O & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 121–134.
- Kouri, T., Anttinen, J., Icen, A., Ikäheimo, R., Irjala, K., Kontiainen, S., Koskimies, O., Lipponen, P., Penttilä, I., Siitonen A., & Siukola, A. (toim.) 1999. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. *Moodin erillisjulkaisu* 7 (1999). Helsinki: Labquality.
- Kouri, T. & Pohjavaara, S. 2002. Virtsan mikroskopialöydösten kliininen merkitys. *Duodecim* 2002; 118:1845-55.
- Kuusela, M. 2009. Esitys UF-1000i vastuukäyttäjäkoulutuksesta. Roche.
- Labor Optik. Information about counting chamber (hemacytometer). Luettu 14.5.2011. <http://www.lo-laboroptik.de/englisch/info/info.html>.
- Laidler, K., Meiser, J. & Sanctuary, B. 2003. Physical Chemistry. Boston New York: Houghton Mifflin Company.
- Leppiniemi, J. Tampereen yliopisto. Solu- ja kudosteknologiakeskus. Luettu 17.8.2011. <http://www.laborantti.net/virtaussytometria.htm>.
- Leppäluoto, J., Kettunen, R., Rintamäki, H., Vakkuri O., Vierimaa, H & Lätti, S. 2007. Anatomia ja fysiologia. Rakenteesta toimintaan. Helsinki: WSOY.
- Lindell, O. 2000. Verta virtsassa. *Duodecim* 2000; 116: 818-25.
- Lääketieteen termit. 2006. *Duodecim*. 4. painos. Jyväskylä: Gummerus kirjapaino Oy.
- Malmiemi, O. 2008. Virtsan mikroskopointi vs. partikkelilaskimet. *Moodi* 1 (2008), 44–45. Helsinki: Labquality.
- Manoni, F., Fornasiero, L., Ercolin, M., Tinello, A., Ferrian, M., Hoffer, P., Valverde, S & Gessoni, G. 2009. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 65, 103-107.
- Manoni, F., Tinello, A., Fornasiero, L., Hoffer, P., Tempurin, V., Valverde, S. & Gessoni, G. 2010. Urine particle evaluation: a comparison between the UF-1000i and quantitative microscopy. *Clin Chem Lab Med* 2010 48(8), 1107-1111.
- Mayo, S., Acevedo, D., Quiñones-Torrelo, C., Canós, I. & Sancho M. 2008. Clinical laboratory automated urinalysis: comparison among automated microscopy, flow cytometry, two test strips analyzers, and manual microscopic examination of the urine sediments. *Journal of Clinical laboratory analysis* 22, 262–270.

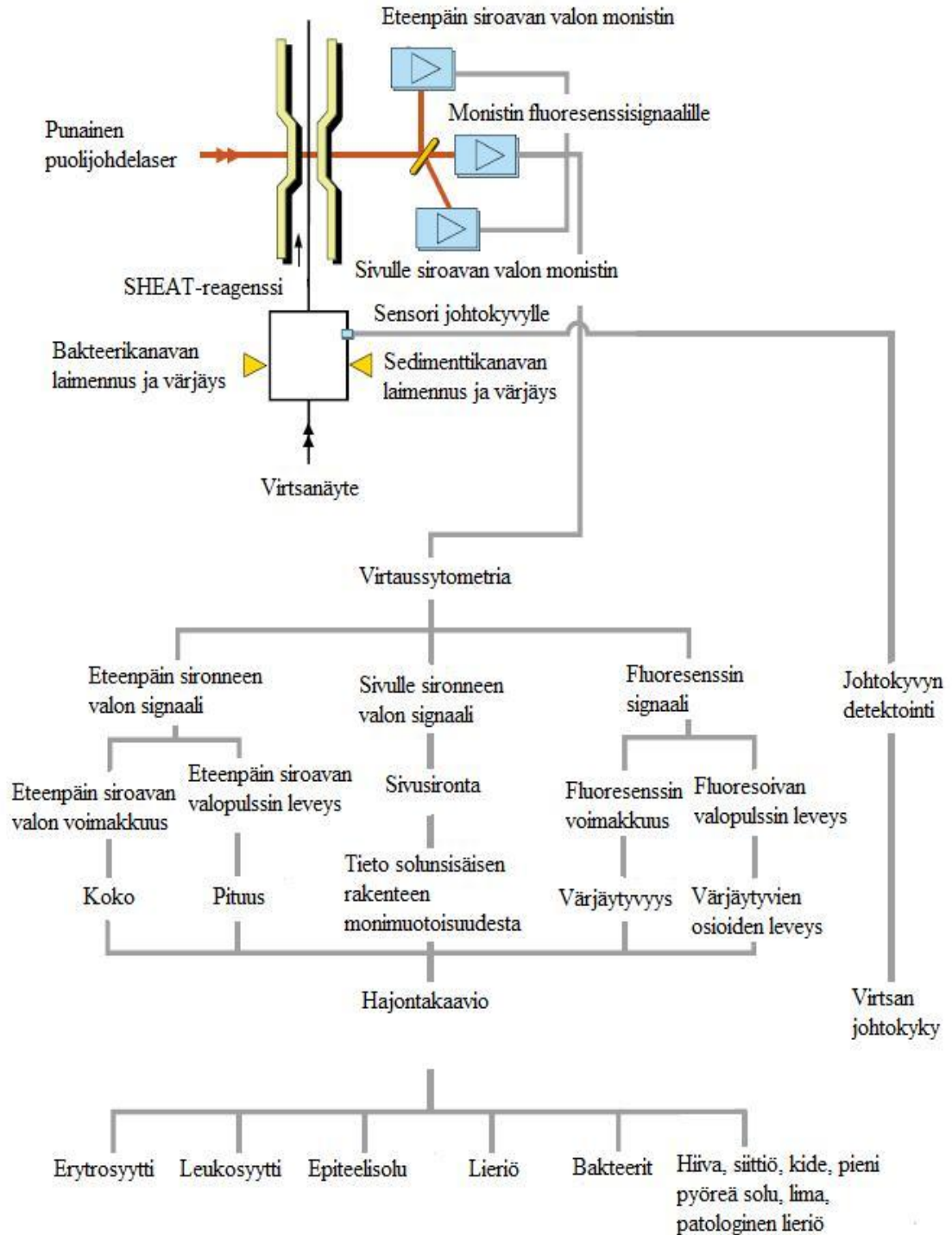


- Mulari, I. 2011. Laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto. Saatu 29.9.2011 sähköpostilla.
- Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008. Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Luettu 9.10.2010. [www.terveyskirjasto.fi](http://www.terveyskirjasto.fi).
- Nienstedt, W., Hänninen, O., Arstila, A. & Björkqvist, S-E. 2004. Ihmisen fysiologia ja anatomia. 15. uudistettu painos. Helsinki: WSOY.
- Niskanen, H. Laboratoriohoitaja. KHKS kliinisen kemian laboratorio. Henkilökohtainen tiedonanto. Saatu 13.9.2011 sähköpostilla.
- Pietilä, K. 1990. Virtsan sakan morfologinen tutkimus. Julkaisussa Laaduntarkkailu Oy:n PLV-työryhmä. (toim.) PLV-Tutkimukset. Helsinki: Kirjapaino PunaMusta, 3–13.
- Savolainen, E-R. 2010. Solulaskenta. Teoksessa Niemelä, O & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 70–73.
- Savolainen, E-R., Pelliniemi, T-T. & Koski, T. 2010. Hematologian analysaattorit. Teoksessa Niemelä, O & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 86–92.
- Siemens. 2009. Virtsatestiliuskojen käyttöohje. Siemens Healthcare Diagnostics.
- Sysmex Corporation. 2007. Clinical Case Study. Clinical interpretation of patient examination results. Japan: Sysmex Corporation.
- Sysmex Corporation. 2008. Sysmex UF-1000i Instructions for use. Japan: Sysmex Corporation.
- Tapana, P. 2010 Elävä solu. Tallinna: Raamatutrükikoda.
- Tilastokeskus. Järjestyskorrelaatio. Luettu 13.9.2011. <http://www.stat.fi/index.html>.
- Turgeon, M.L. 2007. Linne' & Ringsrud's clinical laboratory science. The basic and routine techniques. Fifth edition. Missouri: Mosby.
- Uotila, L. 2010. Neste-, elektrolyytti- ja happotasapaino. Teoksessa Niemelä, O & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 93–120.
- Vauhkonen, I. & Holmström, P. 2005. Sisätaudit. Helsinki: WSOY.
- Vilpo, J. 2003. Solulaskenta. Teoksessa Vilpo, J & Niemelä, O. (toim.) Laboratoriolääketiede - kiininen kemia ja hematologia. 2. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 64–67.

Åkerman, K. & Jokela, H. 2010. Mittaaminen ja mittalaitteet. Teoksessa Niemelä, O & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 49–50.

## SYSMEX UF-1000i-ANALYSAATTORIN MITTAUSPERIAATE

(mukaillen sysmex corporation 2007, 4)



## LIITE 2: 1 (4)

VIRTSANÄYTTEIDEN OMINAISJOHTOKYVYT, ERYTROSYYTTIEN JA LEUKOSYYTTIEN KOKONAISMÄÄRÄT SYSMEX UF-1000i-ANALYSAATTORILLA JA KAMMIOSSA SEKÄ ULKONÄÖSTÄ TEHDYT HUOMIOT

Näyte- numero	Ominaisjohtokyky mS/cm	Erytrosyytit kammio solua/ $\mu$ l	Erytrosyytit UF-1000i solua/ $\mu$ l	Leukosyytit kammio solua/ $\mu$ l	Leukosyytit UF-1000i solua/ $\mu$ l	Koodi/t
1	18,8	127,5	101	131,4	79	1, 6
2	17	29,3	18	6,5	0	1, 6
3	13,1	9,5	45	336,2	273	3
4	4,5	1,8	1	0,5	0	6
5	15,3	94,9	95	345,8	227	1
6	26,6	11	9	11,4	14	
7	12,5	6,3	8	27,2	12	
8	6,3	6,1	5	117,1	68	3
9	18,1	23,1	7	5,9	6	6
10	12	5,7	1	26,8	10	
11	13,9	25,8	11	2,7	0	3
12	7,1	26,4	30	432,4	116	6
13	28	26,6	6	28,4	8	6
14	23,7	0,9	1	1,1	0	
15	19,4	6,3	6	2,5	0	
16	18	39,2	4	1,8	0	6
17	19,9	7,1	1	1,5	1	
18	12,6	0,3	1	3,9	1	
19	11,5	17,7	40	396,5	217	1
20	20	5,7	4	8,7	4	
21	11,6	5,5	6	3,1	4	1
22	16	7,6	1	0,2	1	
23	17	31,7	29	2,2	3	
24	12,2	16,7	72	945,9	606	1

(jatkuu)

## LIITE 2: 2 (4)

25	18,8	34,6	3	27,5	12	
26	24	1026,6	977	7,3	6	
27	21,8	30,9	30	27,3	29	
28	14,9	51,7	10	3223,3	1020	
29	29,1	50,9	27	37,4	27	2,3
30	22,5	38,6	16	29,4	11	
31	9,5	18,7	10	568,9	700	6
32	16	15,1	0	3,5	2	
33	13	18,6	1	3	0	1,6
34	18,3	26	12	0,7	0	3
35	18,8	15,2	8	5,7	10	
36	10,7	5,3	2	3,1	1	
37	15,4	12,9	2	0,9	1	
38	15,3	10,2	1	16,1	9	
39	7,1	6,9	0	0,9	0	
40	20,5	78	40	2242,6	2590	
41	20,6	397,2	80	228,3	130	6
42	13,9	8,1	14	61	19	
43	22,4	22,7	12	192,9	62	
44	18,5	6,6	4	25,7	13	6
45	16,2	46,8	22	347,3	143	
46	9,5	20	3	15,8	15	
47	13,5	120,7	130	3211,5	2530	
48	14,6	3,8	5	413	600	
49	16,6	5,4	6	5,7	3	
50	15,4	14,4	2	4,9	0	6
51	20	11	9	2,6	283	
52	11	13,2	7	295,8	68	
53	8	9,1	0	10,6	3	
54	18,6	45,6	18	3,7	0	
55	16,0	3,7	1	7,5	2	

(jatkuu)

## LIITE 2: 3 (4)

56	23,2	4,5	1	1,4	1	
57	12,6	1	26	20	20	4, 6
58	11,5	193,1	2	29,3	8	
59	10,1	5	3	2,1	6	
60	10,2	3,5	2	4,3	6	
61	4,9	1,7	0	2,9	1	
62	23,5	28	1	8,3	2	
63	11,8	500,3	64	1387,6	875	
64	11,8	1222,2	658	1056,3	600	
65	19,6	21,2	4	3,1	1	3, 4
66	19,5	27,4	0	2,6	1	
67	7,5	19,9	0	16	16	
68	18,4	64,5	310	414,6	1380	
69	11,8	142,1	288	8793,3	6912	
70	26,3	9,9	0	2,7	6	
71	16,9	8,1	3	2,9	2	
72	17,9	4,7	5	4,7	3	
73	7,1	10,2	2	0,2	1	
74	15,2	11,8	47	517,3	288	3, 4
75	21,3	5,1	0	1,3	0	
76	9,5	5,4	2	0,6	0	
77	23,4	43,8	0	2,3	0	6
78	18,3	6,5	3	4,2	2	
79	12,3	10,3	4	24,7	13	
80	20	35,3	46	204,6	118	
81	19,9	11,4	2	0,9	1	
82	10,7	9	0	1	0	6
83	19,9	18,7	0	4,9	2	
84	12,2	70,6	45	9,4	9	
85	9	1,5	3	9,1	0	
86	14,1	220,9	170	3071,6	450	5

(jatkuu)

## LIITE 2: 4 (4)

87	11,5	36,2	18	585	219	
88	17	21,4	5	0,5	3	6
89	11,5	82	80	604,1	388	5
90	25,8	7,3	3	6,9	7	
91	12,7	18,9	1	1,9	1	
92	24,5	10,7	11	4,1	4	
93	16,7	6,6	2	8,4	3	
94	13,1	57,7	0	1,9	0	
95	21,9	2,7	4	4,7	3	4
96	18	8,2	6	7,8	2	
97	13,2	9,2	2	3	4	6
98	12,6	7,4	1	0,7	2	6
99	25	3,7	6	2,1	3	
100	19,6	5,4	1	22,8	20	6
101	12,1	10,8	5	6,2	4	6
102	20,1	2,8	4	3,1	3	
103	20	17,6	5	8,2	4	4

Koodi	Selite
1	Erytrosyytit krenatoituneita
2	Erytrosyytit turvonneita
3	Solujen ulkonäkö vaihtelee
4	Erytrosyytit haamusoluja
5	Leukosyyttejä kasoissa
6	Solut hajonneita