



Karoliina Holopainen ja Heli Hulkkonen

# Antigeeniprofiilikorttien evaluointi

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

19.11.2021

Tekijä	Karoliina Holopainen ja Heli Hulkkonen
Otsikko	Antigeeniprofiilikorttien evaluointi
Sivumäärä	25 sivua
Aika	19.11.2021
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Ohjaajat	Inna Sareneva, laboratorioasiantuntija Heli Karhi, laboratoriohoitaja Noona Lepistö, laboratoriohoitaja Heidi Malava, lehtori (Metropolia AMK)
<p>Potilailla, jotka ovat verensiirtoriippuvaisia, on suurempi riski immunisoitua jatkuvien verensiirtojen seurauksena. Siirtämällä mahdollisimman hyvin potilaan omaa fenotyyppiä vastaavia punasoluja voidaan välttää uusien vasta-aineiden syntymistä, ylimääräisiä tutkimuksia sekä hemolyyttistä verensiirtoreaktiota.</p> <p>Opinnäytetyössä tutkittiin Bio-Radin antigeeniprofiilikorttien 2 ja 3 soveltuvuutta Bio-Radin IH-500-analysaattorille. Tutkimuksen tarkoituksena oli testata, voidaanko analysointi suoritaa analysaattorilla nyt rutiinikäytössä olevan manuaalisen analysoinnin sijasta. Tavoitteena oli selvittää, voidaanko antigeeniprofiilikortteja käyttää analysaattorilla luotettavasti.</p> <p>Käytännön toteutus suoritettiin SPR Veripalvelun tiloissa. Tutkimukseen valittiin yhteensä 18 näytettä, jotka analysoitiin IH500-analysaattorilla molemmilla antigeeniprofiilikorteilla. Lisäksi näistä näytteistä analysoitiin 5 näytettä Bio-Radin manuaalisella menetelmällä ja 4 näytettä Veripalvelussa käytössä olevalla manuaalisella menetelmällä. Näin saatiin näytteille vertailutuloksia. Tuloksia verrattiin samoista henkilöistä tehtyihin aiempiin fenotyyppituloksiin.</p> <p>Tutkimuksen tulokset osoittivat, että antigeeniprofiilikortti 2:ssa k-, Kpa- ja Kpb-antigenejä ei voida luotettavasti tyypittää testattavalla menetelmällä. Samalla geelikortilla saatiin luotettavat tulokset antigeenien Jka ja Jkb kohdalla. Antigeeniprofiilikortti 3:ssa N-antigeenin kohdalla tulokset olivat epäluotettavia niissä esiintyvän kaksoispopulaation vuoksi. S- s-, Fya-, Fyb-antigeenien kohdalla tulokset olivat luotettavia.</p> <p>Antigeeniprofiilikortti 2:ta ei todennäköisesti tulla ottamaan käyttöön k-, Kpa- ja Kpb-antigeenien kohdalla ilmenevien ongelmien vuoksi. Antigeeniprofiilikortti 3:a voitaisiin mahdollisesti hyödyntää laajassa fenotyyppityksessä.</p>	
Avainsanat	antigeeni, antigeeniprofiilikortti, fenotyyppitys

Author	Karoliina Holopainen and Heli Hulkkonen
Title	Evaluation of antigen profile cards
Number of Pages	25 pages
Date	19.11.2021
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Inna Sareneva, Clinical expert Heli Karhi, Biomedical Laboratory Scientist Noona Lepistö, Biomedical Laboratory Scientist Heidi Malava, Senior Lecturer (Metropolia UAS)
<p>Patients who are transfusion-dependent have a higher risk of immunization as a result from constant blood transfusions. By transfusing red blood cells corresponding to the patient's own phenotype as best as possible, the emergence of new antibodies, additional tests and a hemolytic transfusion reaction can be avoided.</p> <p>The thesis examined the suitability of Bio-Rad antigen profile cards 2 and 3 for Bio-Rad's IH-500 analyzer. The purpose of the study was to test whether analysis could be performed using an IH-500 analyzer instead of manual analysis. The goal was to determine whether antigen profile cards could be reliably used with an analyzer.</p> <p>Practical implementation was carried out in the premises of Finnish Red Cross, Blood Service. A total of 18 samples were selected for the study, which were analyzed using the IH-500 analyzer on both antigen profile cards. In addition, 5 samples were analyzed by using the Bio-Rad manual method and 4 samples using the manual method used in routine in the Blood Service. These samples were used as comparison results. After the analysis, results were compared to the previous phenotype results.</p> <p>Our study concludes that with the antigen profile card 2 it was not possible to type k-, Kpa- or Kpb-antigens reliably. With that antigen profile card, however, results for Jka- and Jkb-antigens were reliable. The antigen profile card 3 was not able to type N-antigen reliably due to the dual population present in them. Results for S-, s- Fya- and Fyb-antigens were reliable.</p> <p>Due to its issues with the k-, Kpa- and Kpb-antigens, it is unlikely that the antigen profile card 2 will be a good tool in practical use. The antigen profile card 3 could show potential in extended phenotyping.</p>	
Keywords	antigen, antigen profile card, phenotyping

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Veriryhmät	2
2.1	Punasoluantigeenit	3
2.2	Punasoluvasta-aineet	4
3	Verensiirtotutkimukset	5
3.1	Pylväsagglutinaatiomenetelmä	6
3.2	Reaktiovoimakkuuksien tulkinta	7
3.3	Suora ja epäsuora antiglobuliinimenetelmä	8
3.4	Suora agglutinaatiomenetelmä	9
4	Punasolujen fenotyypitys	10
5	Tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	11
6	Menetelmälliset lähtökohdat	11
6.1	Aineisto	12
6.2	Aineiston analyysi	13
6.2.1	Analysointi IH-500-analysaattorilla	14
6.2.2	Analysointi manuaalisesti testattavalla menetelmällä	15
6.2.3	Analysointi käytössä olevilla menetelmillä	15
7	Opinnäytetyön tulokset	16
7.1	Manuaalisesti analysoidut testattavan menetelmän tulokset	17
7.2	Käytössä olevan menetelmän tulokset	18
8	Tulosten tarkastelu	18
9	Pohdinta	21
9.1	Tulosten luotettavuus	22
9.2	Eettisyys	23
9.3	Ammatillinen kasvu	23
	Lähteet	24

## Käsiteluettelo

Allovasta-aine	vasta-aine, joka kehittyy elimistön kohdatessa vieraan antigeenin
Autovasta-aine	vasta-aine henkilön omien punasolujen pinnalla olevaa antigeeniä vastaan
Fenotyyppitys	verensiirtoserologinen tutkimus, jossa tutkitaan, millaisia antigeenejä on punasolun pinnalla
Fenotyyppi	ilmiasu, millaisia antigeenejä on punasolun pinnalla
Isoagglutiniini	luonnollinen vasta-aine, joka muodostuu sitä ABO-veriryhmätekijää kohtaan, joka henkilöltä itseltään puuttuu
Kylmävasta-aine	yleensä IgM -luokan vasta-aine, joka reagoi parhaiten huoneenlämmössä tai kylmemmässä. Usein kliinisesti merkityksetön
Lämminvasta-aine	yleensä IgG -luokan vasta-aine, joka reagoi parhaiten +37°C asteessa. Usein kliinisesti merkityksellinen
Punasoluantigeeni	punasolun pinnalla oleva rakenne, jota vastaan elimistö voi tuottaa vasta-aineita. Veriryhmätekijä

# 1 Johdanto

Punasolujen fenotyypitys tarkoittaa punasolujen pinnalla olevien antigeenien tyyppitystä. Fenotyypityksellä määritetään potilaan ja luovuttajan punasolujen samankaltaisuus ja sitä käytetään myös vasta-ainetunnistuksen varmentamiseen. (Savolainen ym 2018.) Potilailla, jotka verensiirtoriippuvaisia, on suurempi riski immunisoitua jatkuvien verensiirtojen seurauksena. Siirtämällä potilaalle mahdollisimman hyvin hänen omaa fenotyyppiään vastaavia punasoluja, vältetään immunisaatiota, hemolyyttistä verensiirtoreaktiota ja ylimääräisiä verensiirtotutkimuksia. (Delaney ym. 2020.)

Opinnäytetyössä testattiin kahta eri Bio-Radin antigeeniprofiilikorttia Bio-Radin IH-500 -analysaattorille SPR Veripalvelussa. Kortteja voitaisiin käyttää sellaisten antigeenien fenotyypityksiin, jotka tällä hetkellä tyypidetään manuaalisesti. Työn tavoitteena oli selvittää, voidaanko Bio-Radin antigeeniprofiilikortteja käyttää luotettavasti IH-500-analysaattorilla SPR Veripalvelussa ja näin vähentää manuaalista työskentelyä.

Opinnäytetyö toteutettiin yhteistyössä SPR Veripalvelun kanssa. SPR Veripalvelu on voittoa tavoittelematon organisaatio, joka huolehtii koko Suomen verivalmistehuollostasta. Veripalvelun veriryhmätutkimusten laboratorio toimii kansallisena referenssilaboratoriona ja siellä tehdään sairaaloiden, terveystieteiden ja yksityisten laboratorioiden lähettämistä näytteistä verensiirtotutkimuksia ennen mahdollista verensiirtoa. (SPR Veripalvelu.)

Opinnäytetyö koostui käytännön toteutuksesta ja kirjallisesta raportista. Käytännön toteutus suoritettiin SPR Veripalvelun tiloissa. Opinnäytetyön tulokset julkaistiin Veripalvelussa 11.8.2021 sekä esiteltiin koulun opinnäytetyöseminaarissa 11.11.2021.

## 2 Veriryhmät

Veriryhmät ovat monimuotoisia antigeenirakenteita punasolun pinnalla. Veriryhmät on järjestetty veriryhmäjärjestelmiksi ja ne sisältävät yhden tai useamman punasoluantigeenin. Henkilön perimä määrittää mitä antigeenejä punasolun pinnalla on, ja siten myös veriryhmän. Veriryhmäjärjestelmät eroavat geneettisesti toisistaan ja saman järjestelmän antigeenejä koodaavat geenit sijaitsevat samassa lokuksessa. (Daniels 2002: 1–4.)

The International Society of Blood Transfusionin (ISBT) mukaan tällä hetkellä tunnetaan 43 eri veriryhmäjärjestelmää ja 345 eri punasoluantigeeniä (kesäkuu 2021). Verensiirron kannalta tärkeimmät punasoluantigeenit ovat ABO-veriryhmäjärjestelmän antigeenit sekä Rh-veriryhmäjärjestelmän D-antigeeni. Nämä tulee aina ottaa huomioon verensiirron yhteydessä. (Juvonen & Koistinen 2007: 683.)

ABO-veriryhmäjärjestelmässä on neljä erilaista veriryhmää, A, B, AB ja O. Veriryhmäjärjestelmässä on kaksi vahvaa antigeeniä; A ja B, ja veriryhmä määräytyy sen mukaan, onko punasolujen solukalvossa jompaakumpaa, molempia tai ei kumpaakaan antigeeniä. Ihmisen elimistö alkaa 6 kuukauden ikäisenä tuottamaan vasta-aineita niitä ABO-veriryhmätekiäjiä kohtaan, jotka henkilöltä puuttuvat. Näitä vasta-aineita kutsutaan luonnollisiksi vasta-aineiksi ja niitä esiintyy plasmassa ilman aikaisempaa altistusta antigeeneille. (Haug & Sand & Sjaastad & Toverud 2009: 322.)

Rh-veriryhmäjärjestelmässä on useita eri antigeenejä ja se on veriryhmäjärjestelmistä monimuotoisin. Veriryhmäjärjestelmään kuuluu lukuisia antigeenejä, mutta tärkeimmät niistä ovat antigeenit D, C, c, E ja e. D-antigeeni on näistä immunogeenisin ja se otetaan huomioon aina verensiirtojen yhteydessä. (Dean 2005:49.) D-antigeeni, eli Rh-tekijä, määräytyy RHD-geenin mukaan. Jos henkilöllä on kyseinen geeni, on hän silloin Rh D-positiivinen ja jos henkilöllä ei ole kyseistä geeniä, on hän silloin Rh D-negatiivinen. (Daniels 2002: 195.) D-antigeeniä vastaan ei ole luonnollisia vasta-aineita, mutta niitä voi muodostua, jos Rh D-negatiivinen henkilö altistuu Rh D-positiiviselle verelle raskauden tai verensiirron seurauksena. (Haug ym. 2009:323.) Rh-fenotyypityksessä tyypitetään D-antigeenin lisäksi C-, c-, E- ja e-antigeenit. Se tehdään kaikista verenluovuttajista sekä potilaista, jotka ovat kehittäneet jonkin Rh-vasta-aineen, jotta immunisaatiolta muita Rh-antigeenejä kohtaan vältyttäisiin. (Savolainen ym. 2018.)

Kell-veriryhmäjärjestelmä on kolmanneksi tärkein veriryhmäjärjestelmä ABO- ja Rh-veriryhmäjärjestelmien jälkeen. Kell-veriryhmäjärjestelmään kuuluu useita immunogeenisiä antigeenejä, mutta tärkeimpänä K-antigeeni. Anti-K - vasta-aine aiheuttaa sekä verensiirtoreaktioita että vastasyntyneen hemolyyttistä tautia. (Dean 2005:57.)

Kidd-veriryhmäjärjestelmän antigeenit ovat Jka, Jkb ja Jk-3. Jk-3 on mutaatio, jossa kaikki Jk-antigeenit puuttuvat. Se on huomattavasti yleisempi Suomessa, kuin muualla Euroopassa. Kidd-veriryhmäjärjestelmän vasta-aineet ovat kliinisesti merkityksellisiä. (Savolainen ym. 2018.)

MNS-veriryhmäjärjestelmän tärkeimmät antigeenit ovat M, N, S ja s. Anti-S ja anti-s - vasta-aineet ovat kliinisesti merkityksellisiä, koska ne voivat aiheuttaa verensiirtoreaktion. Anti- S -vasta-aine on yleisempi, kuin anti-s, mutta molemmat voivat aiheuttaa hemolyyttisen verensiirtoreaktion. (Dean 2005:81.) Anti-M ja anti-N-vasta-aineet reagoivat yleensä paremmin huoneenlämmössä tai viileässä ja ovat kliinisesti merkityksettömiä (Savolainen ym. 2018).

Duffy-veriryhmäjärjestelmän kuuluu yhteensä kuusi antigeeniä, joista tärkeimmät ovat Fya ja Fyb. Duffy-veriryhmäjärjestelmän antigeenit muodostavat kemokiinireseptoreja, jotka toimivat reseptoreina myös malarialoiselle. Duffy – järjestelmän vasta-aineet ovat kliinisesti merkityksellisiä. (Dean 2005:63.)

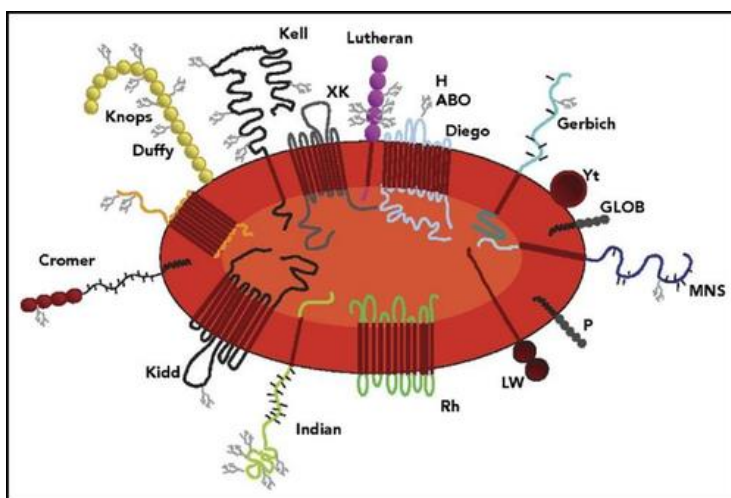
## 2.1 Punasoluantigeenit

Antigeeniksi voidaan kutsua mitä tahansa molekyyliä, jota kohtaan elimistö tuottaa vasta-aineita, eli tuottaa immuunivasteen (Dutta 2021). Punasoluantigeenit ovat punasolun pinnan rakenteita, sokereita tai proteiineja. Esimerkiksi ABO-veriryhmäjärjestelmän antigeenit ovat sokereita ja Rh-veriryhmäjärjestelmän antigeenit ovat proteiineja. (Dean 2005:11.) Punasoluantigeenit pystytään määrittämään spesifisten vasta-aineiden avulla (Savolainen ym. 2018).

Punasoluantigeeneillä on erilaisia tehtäviä; ne voivat toimia kuljettajaproteiineina, entsyymeinä, adheesiomolekyyleinä, komplementin säätelijöinä tai sytokiinireseptoreina (Anstee 2010). Esimerkiksi Rh -veriryhmäjärjestelmän antigeenit ovat osa solun tukirakennetta ja vaikuttavat solun muotoon. Lisäksi ne avustavat hiilidioksidin kuljetuksessa



solukalvolla. (Smart & Armstrong 2020.) Rh -järjestelmän antigeenit läpäisevät punasolun solukalvon useaan kertaan muodostaen solukalvolle kuljetuskanavan. Kell -järjestelmän antigeenit läpäisevät punasolun solukalvon kerran ja toimivat punasolun pinnan entsyyminä. MNS-järjestelmän antigeenit läpäisevät punasolun solukalvon kertaalleen ja aiheuttavat punasolun negatiivisen varauksen (Kuva 1). Näin punasolut eivät tartu toisiinsa tai verisuonten seinämiin. (Savolainen ym. 2018.)



Kuva 1. Punasolun pinnan erilaisia antigeenejä (Smart & Armstrong 2020).

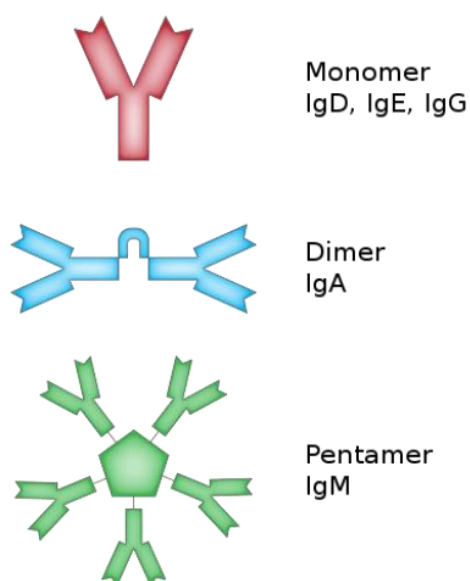
## 2.2 Punasoluvasta-aineet

Punasoluvasta-aineet ovat punasoluantigeenejä kohtaan muodostuvia vasta-aineita. Ne voivat muodostua luonnollisesti tai immuunijärjestelmän kohdatessa vieraan antigeenin. Allovasta-aineita muodostuu elimistön kohdatessa vieraan antigeenin verensiirron tai raskauden yhteydessä. (Alves ym. 2012.) Autovasta-aineet puolestaan kehittyvät henkilön omia punasoluantigeenejä kohtaan (Michalak ym. 2020).

Punasoluvasta-aineet jaetaan kliinisesti merkityksellisiin ja merkityksettömiin. Kliinisesti merkityksellinen vasta-aine voi aiheuttaa verensiirtoreaktion tai sikiön hemolyyttisen taudin. (Ghandi ym. 2018.) Kaikki kliinisesti merkitykselliset punasoluvasta-aineet, jotka potilaalla on todettu, tulee ottaa huomioon verensiirron yhteydessä (SPR Veripalvelu. Ve-

rivalmisteiden käytön opas 2016: 16). Kliinisesti merkityksettömät vasta-aineet eivät aiheuta verensiirtoreaktiota, mutta ne voivat häiritä verensiirtotutkimuksia (Ilmakunnas 2019).

Vasta-aineilla on aina sama perusrakenne, eli ne muodostuvat kahdesta raskaasta ja kahdesta kevyestä peptidiketjusta, jotka liittyvät toisiinsa rikkisilloilla. Vasta-aineet eli immunoglobuliinit jaetaan viiteen eri ryhmään, IgA, IgD, IgE, IgG ja IgM. (Haug & Sand & Sjaastad & Toverud 2009: 328–329.) Punasoluvasta-aineet ovat yleensä IgG- ja IgM-luokan vasta-aineita, joskus myös IgA-luokan (Kuva 2) (Daniels & Bromilow 2014: 3).



Kuva 2. Vasta-aineiden eri luokat (Brändli, Martin 2010).

ABO-veriryhmäjärjestelmän luonnolliset vasta-aineet anti-A ja anti-B ovat isoagglutiiniineja, jotka syntyvät jo varhaislapsuudessa ruuansulatuskanavan kautta kohdattujen bakteerien pintarakenteita vastaan (Savolainen ym. 2018).

### 3 Verensiirtotutkimukset

Ennen verensiirtoa tehdään veriryhmämääritys, punasoluvasta-aineiden seulonta ja tarvittaessa punasoluvasta-aineiden tunnistus sekä sopivuuskoe. Sopivuusnäytteestä tehdään veriryhmätarkistus ennen jokaista verensiirtoa, jolla varmistetaan, että aiemmin määritetty veriryhmä pitää paikkansa eikä sen määrittämisessä ole tapahtunut identifiointi- tai määrittämisvirhettä. (Savolainen ym. 2018.)

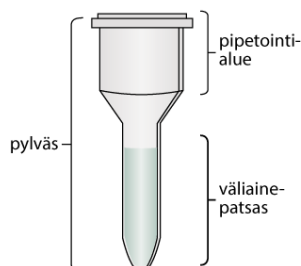
Punasoluvasta-aineiden seulonnassa tutkitaan, onko potilaan plasmassa veriryhmä-vasta-aineita käyttämällä seulontasoluja, joiden antigeenit tunnetaan. Jos seulonta on positiivinen, tehdään näytteestä punasoluvasta-aineiden tunnistus käyttämällä antigeeniensä suhteen tunnettuja reagenssipunasoluja sisältävää paneelia. (Savolainen ym. 2018.)

Suurimmassa osassa Suomen verikeskuksia on käytössä nykyisin Veriryhmä ja seulonta käytäntö (nk. Type & Screen -käytäntö), jolla punasoluvastoinnituksen sopivuus potilaalle varmistetaan elektronisesti tietojärjestelmän avulla. Sen avulla vältetään inhimilliset virheet ja punasolut saadaan toimitettua nopeasti hoitoyksikköön. Punasoluja ei myöskään tarvitse varata kyseistä potilasta varten vaan koko verikeskuksen verivarasto on käytettävissä. Niiden potilaiden kohdalla, joilla on todettu punasoluvasta-aineita tai on muita vasta-aineita elektroniselle sopivuuskokeelle, on tehtävä sopivuuskoe manuaalisesti. (Savolainen ym. 2018.)

### 3.1 Pylväsagglutinaatiomenetelmä

Suomessa verensiirtotutkimuksiin käytetään pylväsagglutinaatiomenetelmää. Samassa tutkimuksessa käytetään yleensä aina saman valmistajan reagensseja ja laitteita. (Savolainen ym. 2018.)

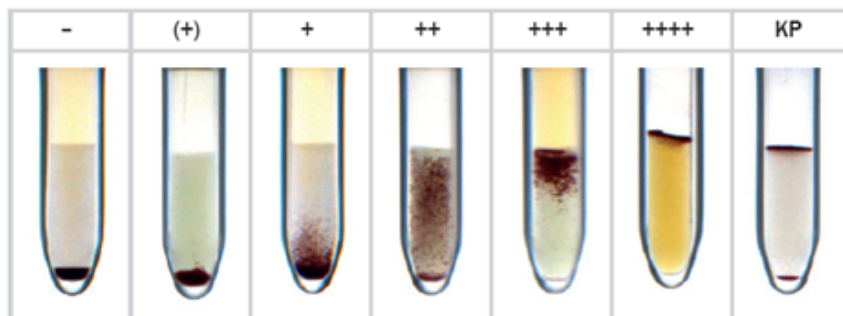
Pylväsagglutinaatiomenetelmässä analysoinnissa käytetään pylväitä. Pylvään yläosassa on pipetointialue ja alaosassa väliainepatsas (Kuva 3). Pylvään yläosassa tapahtuu mahdollinen punasolujen ja vasta-aineiden inkubointi. Väliainepatsas voi sisältää antiglobuliinireagenssia tai spesifistä vasta-ainetta. On olemassa myös geelikortteja, joiden väliainepatsaissa ei ole lisätty vasta-ainetta. Sentrifugoinnissa vapaat punasolut pääsevät kulkemaan väliainepatsaan läpi kaivon pohjalle. Agglutinoituneet punasolut eivät kokonsa vuoksi pääse kulkeutumaan kaivon pohjalle asti ja jäävät pylväässä sitä ylemmäksi, mitä voimakkaampi reaktio on. (Savolainen ym. 2018.)



Kuva 3. Pylvään rakenne (Savolainen ym. 2018).

### 3.2 Reaktiovoimakkuuksien tulkinta

Pylväsagglutinaatiomenetelmissä reaktiovoimakkuuteen vaikuttaa punasoluantigeenin määrä, vasta-aineen pitoisuus sekä sitoutumisvoima. Valmistaja määrittää ennalta sentrifugoinnin ajan sekä nopeuden ja myös inkubointiolosuhteet. Nämä vaikuttavat reaktiovoimakkuuksien toistotarkkuuteen. Reaktiovoimakkuudet luetaan vaaleaa taustaa vasten paljain silmin tai analysaattorin toimesta. Tulosten tulkinnassa voidaan käyttää alla olevaa luokitusta ja tarkempia kriteerejä (Kuva 4), mutta valmistaja määrittelee aina tarkemmat ohjeet. (Savolainen ym. 2018.) Negatiivisen ja positiivisen tuloksen välissä voidaan käyttää merkintöjä -r, joka tarkoittaa, että tulos ei ole täysin negatiivinen, solunapin pinta ei ole tasainen ja yksittäisiä soluja voi esiintyä geelissä tai (+), joka on heikosti positiivinen reaktio. (SPR Veripalvelu. Työohje. 2019.)

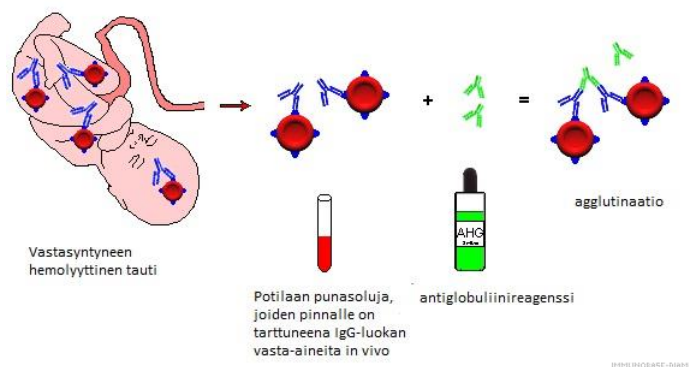


-	Kaikki solut tasaisesti kaivon pohjalla
(+)	Kaivon pohjalla oleva solunappi ei ole tasainen, yksittäisiä agglutinaatteja saattaa nousta
+	Agglutinaatit puolivälin alapuolella, pylvään pohjalla solunappi
++	Agglutinaatit koko pylvään alueella, pylvään pohjalla saattaa olla solunappi
+++	Agglutinaatit puolivälin yläpuolella, pylvään pohjalla ei soluja
++++	Kaikki solut pylvään yläosassa
KP	Kaksoispopulaatio, osa soluista antaa selvän agglutinaation, osa ei agglutinoidu

Kuva 4. Reaktiovoimakkuudet ja niiden tulkinta (Savolainen ym. 2018). Muokattu 13.10.2021.

### 3.3 Suora ja epäsuora antiglobuliinimenetelmä

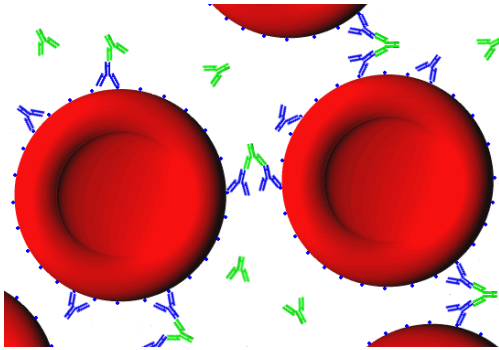
Suoralla antiglobuliinimenetelmällä tutkitaan, onko tutkittavien punasolujen pinnalle tarttuneena IgG -luokan vasta-aineita in vivo eli elimistössä. Y:n mallinen IgG -luokan vasta-aine tarttuu vain yhteen punasoluun ja lisäämällä näytteeseen antiglobuliinireagenssia eli antihumaaniglobuliinia (anti-IgG), antiglobuliini tarttuu vasta-aineisiin muodostaen näkyvän agglutinaation. Jos näytteen punasoluissa ei ole tarttuneena tutkittavaa vasta-ainetta, agglutinaatiota ei muodostu. (Savolainen ym. 2018.) Suora antiglobuliinikoe eli direct antiglobulin test (DAT) voi olla positiivinen esimerkiksi vastasyntyneen hemolyytisessä taudissa (Kuva 5) tai autoimmuunihemolyytisessä anemiassa eli AIHA:ssa. (Daniels & Bromilow 2014: 14–15.) Vastasyntyneen hemolyyttinen tauti aiheutuu yleensä, kun sikiö on Rh D -positiivinen ja äiti Rh D -negatiivinen. Tällöin äidin immuunivaste voi alkaa tuottamaan IgG -luokan anti-D-vasta-aineita, jotka pääsevät kulkemaan istukan läpi sikiön verenkiertoon aiheuttaen sikiön punasolujen hemolysoitumisen. Myös muun muassa muut Rh -järjestelmän antigeenit sekä ABO-veriryhmän eroavaisuudet voivat aiheuttaa äidin immuunivasteen aktivoitumisen. (Dean 2005: 1–2.) AIHA:ssa elimistö muodostaa autovasta-aineita henkilön omia punasoluantigeeneja kohtaan aiheuttaen punasolujen ennenaikaista hajoamista (Michalak ym. 2020).



Kuva 5. Suora antiglobuliinittesti (DAT) (Bio-Rad). Muokattu 16.10.2021.

Epäsuorassa antiglobuliinimenetelmässä käytetään agglutinaation aikaansaamiseksi toisena vasta-aineena antiglobuliinireagenssia (anti-IgG). Se sitoutuu inkubaation aikana punasoluantigeeneihin tarttuneisiin IgG -luokan vasta-aineisiin. Epäsuoraa antiglobuliinimenetelmää käytetään vasta-aineiden seulonnassa, tunnistuksessa ja sopivuuskoeksessa. Epäsuorassa antiglobuliinimenetelmässä voidaan käyttää esimerkiksi potilaan

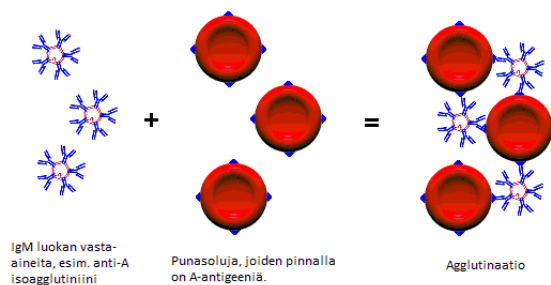
plasmaa, antigeenien suhteen tunnettuja punasoluja sekä antiglobuliinireagenssia. (Theis & Hashmi 2021.) Näytteen plasmassa olevat vasta-aineet (sinisellä merkitty) (Kuva 6) tarttuvat seulontapunasolujen antigeeneihin. Näytteeseen lisätään antiglobuliinireagenssia (vihreällä merkitty), joka tarttuu tutkittavaan vasta-aineeseen muodostaen agglutinaation. (Verensiirto-opas 2018.) Epäsuoraa antiglobuliinitestistä eli indirect anti-globulin test (IAT) voidaan käyttää myös punasoluantigeenien fenotyyppityksessä käyttämällä tunnettuja vasta-aineita (Daniels & Bromilow 2014: 14–15.)



Kuva 6. Epäsuora antiglobuliin testi (IAT) (Bio-Rad).

### 3.4 Suora agglutinaatiomenetelmä

Suorassa agglutinaatiomenetelmässä käytetään IgM -luokan vasta-aineita, jotka pystyvät tarttumaan useaan punasoluun samanaikaisesti muodostaen agglutinaation (Kuva 7). Erillistä antiglobuliinireagenssia ei siis tarvita. Menetelmää käytetään punasoluantigeenien fenotyyppityksessä, veriryhmämäärityksessä ja vasta-aineiden tunnistuksessa. (Savolainen ym. 2018.)



Kuva 7. Suora agglutinaatiomenetelmä (Bio-Rad). Muokattu 16.10.2021.

## 4 Punasolujen fenotyypitys

Punasolujen fenotyypityksellä tarkoitetaan punasolujen pinnalla olevien antigeenien määritystä. Uuden vasta-aineen tunnistamisen yhteydessä fenotyypitystä käytetään tuloksen varmentamiseen tyypittämällä se antigeeni potilaan punasoluissa, johon todettu vasta-aine kohdistuu. Jos potilaan plasmassa on tietty allovasta-aine, hänen punasolujensa pinnalta puuttuu sitä vastaava antigeeni. Autovasta-aineet puolestaan kohdistuvat potilaan omien punasolujen antigeenejä kohtaan. (Savolainen ym. 2018.)

Fenotyypitys voidaan tehdä esimerkiksi pylväsagglutinaatiomenetelmällä ja siinä voidaan käyttää joko suoraan agglutinaatiota tai epäsuoraa antiglobuliinimenetelmää. Fenotyypityksen yhteydessä tulee tehdä myös suora antiglobuliinikoe. Mikäli suora antiglobuliinikoe on positiivinen, fenotyypityksen tuloksiin ei voida luottaa. Vaihtoehtoisesti fenotyypityskorteissa voidaan käyttää kontrollipylvästä, jolla poissuljetaan autoagglutinaatio. (Savolainen ym. 2018.)

ABO- ja Rh D- antigeenit otetaan aina huomioon verensiirrossa, mutta muiden veriryhmien antigeenejä fenotyypitetään yleensä vain silloin kun potilaalla on todettu immuniisaatio, eli hänelle on kehittynyt vasta-aineita vieraita antigeenejä kohtaan. Potilailla, jotka ovat verensiirtoriippuvaisia, on suurempi riski immunisoidua, verenluovuttajan ja potilaan omien punasoluantigeenien eroavaisuuksista johtuen. Immunisaation riski kasvaa, jos verenluovuttaja ja -saaja ovat eri etnistä taustaa. (Kulkarni & Maru 2020.)

Lämminvasta-aineet ovat yleensä IgG -luokan vasta-aineita, jotka voivat reagoida potilaan omien punasolujen kanssa. Nämä vasta-aineet voivat olla kliinisesti merkityksellisiä ja aiheuttaa muun muassa autoimmuunihemolyyttistä anemiaa (AIHA). AIHA:ssa muodostuu autovasta-aineita, jotka voivat häiritä muiden kliinisesti merkityksellisten vasta-aineiden tunnistamista. Näiden vasta-aineiden tunnistaminen vaatii erilaisia työläitä ja aikaa vieviä tutkimuksia, jotka lisäävät kustannuksia ja verensiirron viivästymistä. Siirtämällä mahdollisimman hyvin potilaan omien punasolujen fenotyyppiä vastaavia punasoluja, voidaan välttää uusien vasta-aineiden syntymistä, ylimääräisiä ja aikaa vieviä tutkimuksia sekä hemolyyttistä verensiirtoreaktiota. (Delaney ym. 2020.)

Laaja fenotyypitys tehdään silloin, kun potilas saa jatkuvia verensiirtoja ja siihen kuuluu Rh- fenotyypityksen lisäksi Fya-, Fyb-, Jka-, Jkb-, S-, ja s -antigeenien tyypitykset. Poti-

laalle voidaan tehdä myös genotyyppitys, jos äskettäiset verensiirrot häiritsevät serologista määrittystä. Jos potilaalle siirretyt punasolut ovat eri fenotyyppiä kuin potilaan omat punasolut, siirretyt punasolut näkyvät fenotyyppityksessä kaksoispopulaationa, jolloin potilaan omien punasolujen antigeenejä ei voida luotettavasti määrittää. Potilaan genotyyppitys tehdään PCR- pohjaisilla menetelmillä potilaan näytteestä eristetystä DNA:sta, joten äskettäiset punasolusiirrot eivät häiritse tutkimusta. Genotyyppitys tehdään myös, jos potilaan etninen tausta ennustaa sellaisia veriryhmävariantteja, joita ei serologisilla menetelmillä saada tutkittua. (SPR Veripalvelu 2020. Tutkimusohjekirja.)

## **5 Tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset**

Opinnäytetyön tarkoituksena oli testata kahden Bio-Radin antigeeniprofiilikortin soveltuvuutta IH-500-analysaattorille. Tällä hetkellä tutkimukset suoritetaan manuaalisesti. Tavoitteena oli selvittää, pystytäänkö antigeeniprofiilikortteja käyttämään analysaattorilla luotettavasti. Tutkimuksella pyrittiin vastaamaan seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

1. Voidaanko Bio-Radin antigeeniprofiilikortteja käyttää luotettavasti IH-500-analysaattorilla?
2. Voidaanko analysointi suorittaa jatkossa IH-500:lla manuaalisen analysoinnin sijaan?

## **6 Menetelmälliset lähtökohdat**

Opinnäytetyön toteutus alkoi perehtymällä SPR Veripalvelun potilaslaboratorioon, IH-500-analysaattoriin sekä käytettäviin menetelmiin. Tutkimuksen käytännön osuus suoritettiin maaliskuussa 2021. Tulokset kirjattiin Excel-taulukoihin ja reaktioista otettiin myös kuvamateriaalia. Analysaattorin tulosten lisäksi analysoitiin samoja näytteitä manuaalisesti sekä testattavilla korteilla että SPR Veripalvelussa käytössä olevilla menetelmillä. Tuloksia verrattiin samoista henkilöistä tehtyihin aiempiin fenotyyppituloksiin.



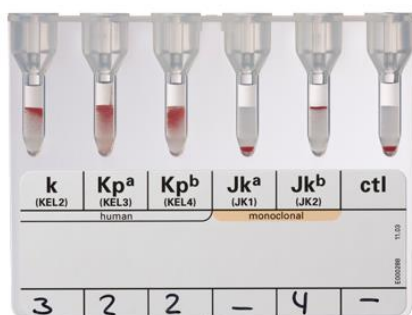
## 6.1 Aineisto

Vaikka testattavia antigeeniprofiilikortteja käytettäisiin potilasnäytteiden analysointiin, työhön valittiin pelkästään luovuttajanäytteitä, jotka olivat korkeintaan viikon vanhoja. Verenluovuttajilla ei ole taustalla verensiirtoja eikä muita verensiirtotutkimuksia häiritseviä tekijöitä, joten esimerkiksi kaksoispopulaatio tuloksissa voidaan todeta johtuvan muusta kuin verensiirrosta. Luovuttajanäytteet olivat myös tyyhitetty kahdella eri luovutuskerralla määritettävien antigeenien suhteen SPR Veripalvelussa, joka lisäsi tulosten luotettavuutta.

Näytteitä valittiin tutkimukseen yhteensä 18, jotka analysoitiin IH-500-analysaattorilla. Näistä viisi näytettä analysoitiin myös manuaalisesti. Neljä näytettä analysoitiin myös käytössä olevilla menetelmillä Veripalvelun työntekijöiden toimesta, jotta pystyttiin vertailemaan reaktivoimakkuuksia etenkin epäselvien tulosten osalta. Työn edetessä pyrittiin valitsemaan N-antigeenin suhteen positiivisia ja Kpa-antigeenin suhteen negatiivisia näytteitä, koska tällaisten näytteiden kohdalla huomattiin olevan eniten epäselviä tuloksia testattavilla antigeeniprofiilikorteilla.

### 5.1.1 Käytettävät antigeeniprofiilikortit

Työssä testattiin kahta erilaista Bio-Radin antigeeniprofiilikorttia. Antigeeniprofiilikortti 2:ssa (Kuva 8) on edustettuna antigeenit k, Kpa, Kpb, Jka ja Jkb. Antigeenit tyyhitetään suoralla agglutinaatiomenetelmällä ja antigeenejä vastaavat vasta-aineet ovat valmiina kortin mikropylväissä. Kortteja saatiin työhön yhteensä 24 kappaletta.



Kuva 8. Antigeeniprofiilikortti 2 (Bio-Rad).

Antigeeniprofiilikortti 3:ssa (Kuva 9) on edustettuina antigeenit M, N, S, s, Fya ja Fyb. Antigeeniprofiilikortissa on käytössä erilliset antiseerumit. M ja N tyypitetään suoralla agglutinaatiomenetelmällä ja näiden antigeenien tyypityksiin käytettävissä mikropylväissä ei ole antiglobuliinireagenssia. S-, s-, Fya- ja Fyb-antigeenit tyypitetään epäsuoralla antiglobuliinimenetelmällä ja antigeenien tyypityksiin käytettävissä mikropylväissä on valmiina antiglobuliinireagenssia. Kortteja saatiin työhön yhteensä 24 kappaletta.

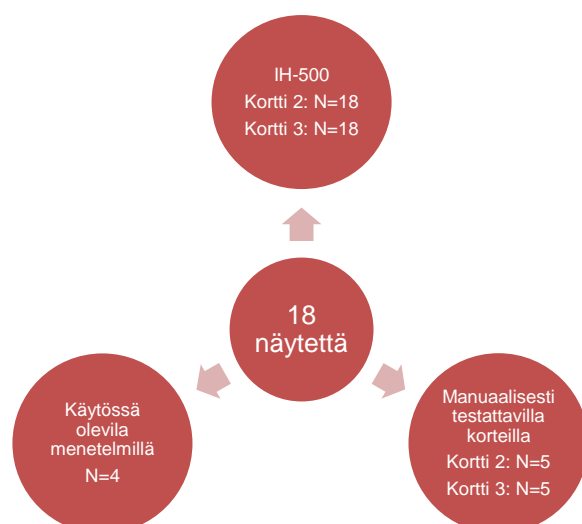


Kuva 9. Antigeeniprofiilikortti 3 (Bio-Rad).

## 6.2 Aineiston analyysi

Opinnäytetyöhön valikoidut näytteet numeroitiin juoksevilla näytenumeroilla 1–18. Näin näytteitä pystyttiin käsittelemään anonymisti tutkimuksen aikana. Kaikki 18 näytettä analysoitiin IH-500-analysaattorilla, molemmilla testattavilla korteilla. Näistä näytteistä viisi analysoitiin myös manuaalisesti testattavalla menetelmällä ja neljä SPR Veripalvelussa käytössä olevalla menetelmällä (Kuvio 1). Tulokset kirjattiin Excel-taulukkoon ja reaktioista otettiin kuvia. Saatujen tulosten avulla pystyttiin vertailla menetelmiä keskenään ja arvioimaan luotettavuutta.

Kuvio 1. Tutkimusasetelma.



### 6.2.1 Analysointi IH-500-analysaattorilla

IH-500-analysaattori on veriryhmäserologinen analysaattori (Kuva 10), jonka menetelmäperiaatteena on pylväsagglutinaatio geelikorteilla. Analysaattori suorittaa kaikki työvaiheet täysin automaattisesti. Analysaattori valmistaa solususpension, pipetoi tarvittavat materiaalit geelikortille, inkuboi ja sentrifugoi geelikortit sekä lopuksi tulkitsee reaktiivomakkuudet. (SPR Veripalvelu 2020. Laiteohje.)



Kuva 10. Bio-Rad IH-500 -analysaattori.

Kaikki 18 näytettä analysoitiin IH-500-analysaattorilla molemmilla antigeeniprofiilikorteilla. Aluksi analysaattorille tehtiin jokaiselle näytteelle oma tutkimuspyyntö, jotta analysaattori käyttää oikeaa tutkimusmenetelmää analysoinnin suorittamiseen. Analysaat-

tori suoritti automaattisesti kaikki tutkimuksen vaiheet ja lopuksi tulostimme reaktiovoimakkuudet kuvina ja tulokset merkittiin Excel-taulukkoon. Analysoinnin aikana huomattiin jo ongelmia tiettyjen antigeenien kohdalla, koska analysaattorilta saadut tulokset olivat epäselviä ja ne piti tulkita sekä hyväksyä manuaalisesti.

### 6.2.2 Analysointi manuaalisesti testattavalla menetelmällä

Näytteistä valittiin viisi analysoitaviksi manuaalisesti testattavalla menetelmällä kummallakin antigeeniprofiilikortilla. Analysoinnissa käytettiin Bio-Radin menetelmäohjeita, joiden mukaan myös analysaattori suoritti testattavien korttien analysoinnin.

Antigeeniprofiilikortti 2:n menetelmäohjeen mukaan valmistettiin ensin punasolususpensio, käyttäen ID-diluentti 1:tä. Punasolususpensiota pipetoitiin 10 $\mu$ l kortin jokaiseen kaivoon, jonka jälkeen kortti sentrifugoitiin heti 10 minuutin ajan. Tämän jälkeen reaktiot tulkittiin kortilta.

Antigeeniprofiilikortti 3:n menetelmäohjeen mukaan valmistettiin ensin punasolususpensio, käyttäen ID-diluentti 2:ta. Punasolususpensiota pipetoitiin 50 $\mu$ l kortin jokaiseen kaivoon, jonka jälkeen pipetoitiin 50 $\mu$ l spesifistä antiseerumia kortin jokaiseen kaivoon. Kortin annettiin inkuboitua huoneenlämmössä 15 minuutin ajan ja sen jälkeen sentrifugoitiin 10 minuutin ajan. Tämän jälkeen reaktiot olivat luettavissa kortilta.

### 6.2.3 Analysointi käytössä olevilla menetelmillä

Näytteistä neljä analysoitiin käytössä olevilla menetelmillä SPR Veripalvelun työntekijöiden toimesta, joten työssä ei perehdytty tarkemmin niihin. Näin kuitenkin saatiin vertailutuloksia testattavien korttien tuloksiin, joiden avulla pystyttiin arvioimaan testattavien korttien luotettavuutta ja reaktiovoimakkuuksia. Käytössä olevilla menetelmillä jokainen antigeeni tyypitetään omalla kortillaan ja menetelmäohjeet poikkesivat testattavien korttien menetelmäohjeista. Käytössä olevilla menetelmillä muun muassa M- ja N-antigeenit tyypitetään pipetoimalla 10  $\mu$ l punasolususpensiota kylmälle kortille ja kortti sentrifugoidaan heti. S-, s-, Fya- ja Fyb antigeenit puolestaan inkuboidaan lämpöhauteessa ennen sentrifugointia, kun testattavalla kortilla M-, N-, S-, s-, Fya- ja Fyb -antigeenit tyypitetään kaikki samalla menetelmällä.

## 7 Opinnäytetyön tulokset

Analysaattorilta saadut tulokset testattavalla menetelmällä olivat yhteneväisiä SPR Veripalvelussa aiemmin saatujen tulosten kanssa, mutta tiettyjen antigeenien kohdalla tulokset olivat epäselviä.

Kell -veriryhmäjärjestelmään kuuluvien antigeenien k-, Kpa- ja Kpb–tyypityksissä negatiiviset tulokset olivat epäselviä ja analysaattori antoi niille tulokseksi (?). Nämä tulkittiin -r -reaktioksi, eli tulokset olivat negatiivisia mutta solunapin pinta oli epätasainen (Taulukko 1). Kaksi Kpa –negatiivista näytettä tulkittiin negatiivisiksi, mutta solunappi oli vino.

Taulukko 1. Reaktivoimakkuudet antigeeniprofiilikortti 2.

Näyte	k	Kpa	Kpb	Jka	Jkb
1	+++	-r	+++	+++	-
2	+++	-r	+++	+++	-
3	+++	-r	+++	+++	+++
4	+++	+++	-r	+++	+++
5	+++	-r	+++	-	++++
6	+++	-r	+++	-	++++
7	+++	-r	+++	-	++++
8	+++	-r	+++	+++	+++
9	+++	-r	+++	++++	+++
10	+++	-	+++	++++	-
11	+++	-r	+++	++++	-
12	+++	-	+++	++++	-
13	+++	+++	+++	+++	-
14	+++	-r	+++	+++	+++
15	+++	-r	+++	+++	+++
16	-r	-r	+++	+++	+++
17	+++	-r	+++	-	+++
18	+++	-r	+++	+++	+++

N-antigeenin suhteen positiivisten näytteiden kohdalla esiintyi usein kaksoispopulaatiota (Taulukko 2), jonka myös laite tulkitsi kaksoispopulaatioksi. Myös M-antigeenin suhteen positiivisten näytteiden kohdalla esiintyi soluja kaivon pohjalla, mutta analysaattori pystyi tulkitsemaan reaktion.

Taulukko 2. Reaktivoimakkuudet antigeeniprofiilikortti 3.

Näyte	M	N	S	s	Fya	Fyb
1	+++	kp	+++	-	-	+++
2	+++	-	++	+++	++	++
3	-	+++	-	+++	+++	+++
4	+++	-	+++	+++	-	+++
5	+++	-	-	+++	-	++
6	+++	kp	+++	+++	++	-
7	-	kp	+++	-	+++	-
8	-	+++	++	++	-	++
9	+++	kp	+++	++	++	-
10	+++	+++	+++	-	-	+++
11	+++	-	-	++	++	-
12	+++	kp	-	+++	++	++
13	+++	kp	-	+++	+++	-
14	+++	-	++	+++	-	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++	-
16	+++	-	++	++	++	-
17	-	kp	-	+++	++	-
18	+++	-	+++	+++	+++	+++

### 7.1 Manuaalisesti analysoidut testattavan menetelmän tulokset

Kpa- ja k-antigeenien suhteen negatiivisilla näytteillä 1, 12 ja 16 saatiin tuloksiksi -r. Yhdellä Kpa- negatiivisella näytteellä tulokseksi saatiin (+)w eli heikko positiivinen reaktio (Taulukko 3). N-antigeenin suhteen positiivisilla näytteillä 1, 7, 10 ja 12 (Taulukko 4) saatiin tulokseksi kaksoispopulaatio.

Taulukko 3. Reaktivoimakkuudet antigeeniprofiilikortti 2.

Näyte	k	Kpa	Kpb	Jka	Jkb
1	+++	-r	+++	++++	-
7	+++	(+)w	+++	-	++++
10	+++	-	+++	++++	-
12	+++	-r	+++	++++	-
16	-r	-r	+++	++++	++++

Taulukko 4. Reaktivoimakkuudet antigeeniprofiilikortti 3.

Näyte	M	N	S	s	Fya	Fyb
1	+++ / kp	kp	+++	-	-	++
7	-	+++ / kp	+++	-	+++	-
10	+++ / kp	+++ / kp	+++	-	-	+++
12	+++ / kp	+++ / kp	-	+++	+++	++
16	+++	-	+++	+++	+++	-

## 7.2 Käytössä olevan menetelmän tulokset

Käytössä olevilla menetelmillä Kpa- ja k-antigeenien suhteen negatiiviset näytteet 1, 12 ja 16, olivat selkeämmin negatiivisia kuin testattavalla menetelmällä ja solunappi oli tasainen. Yhdessä Kpa -antigeenin suhteen negatiivisessa näytteessä oli heikko positiivinen reaktio (Taulukko 5). M- ja N-antigeenien suhteen positiivisten näytteiden 1, 5, 12 ja 16 tulokset olivat selkeästi positiivisia, toisin kuin testattavalla menetelmällä. Myös näissä oli hieman soluja kaivon pohjalla, mutta ei selkeää kaksoispopulaatiota (Taulukko 6).

Taulukko 5. SPR Veripalvelussa käytössä olevien menetelmien reaktiivoimakkuuksia.

Näyte	k	Kpa	Kpb	Jka	Jkb
1	+++	-	++	++++	-
5	+++	(+)w	++	-	++++
12	+++	-	++	++++	-
16	-	-	++	++++	++++

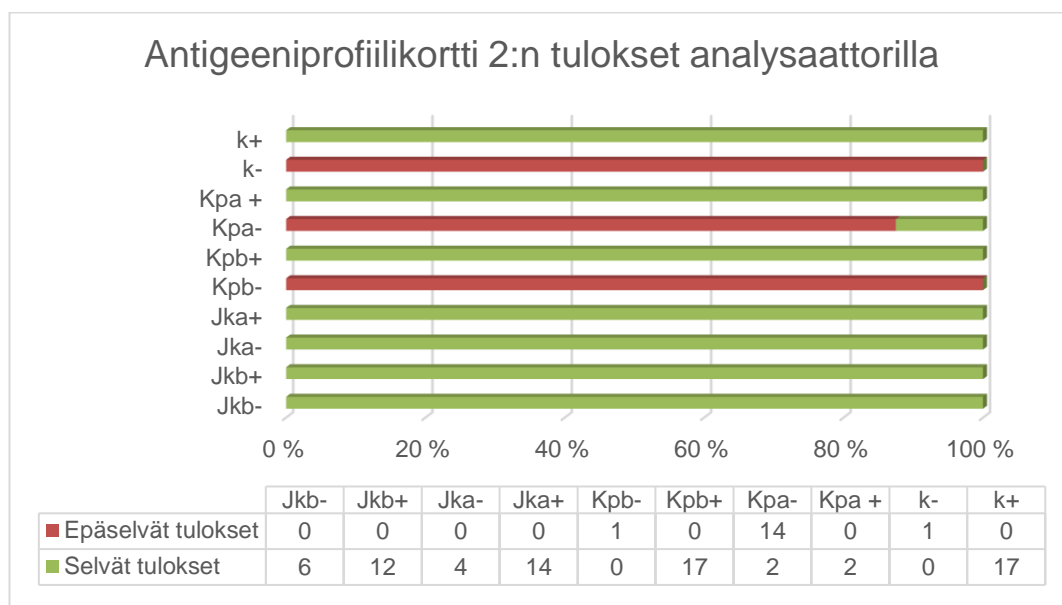
Taulukko 6. SPR Veripalvelussa käytössä olevien menetelmien reaktiivoimakkuuksia.

Näyte	M	N	S	s	Fya	Fyb
1	++++	+++	++	-	-	++
5	++++	-	-r	++	-	++
12	++++	+++	-	++	++	++
16	++++	-	++	++	++	-

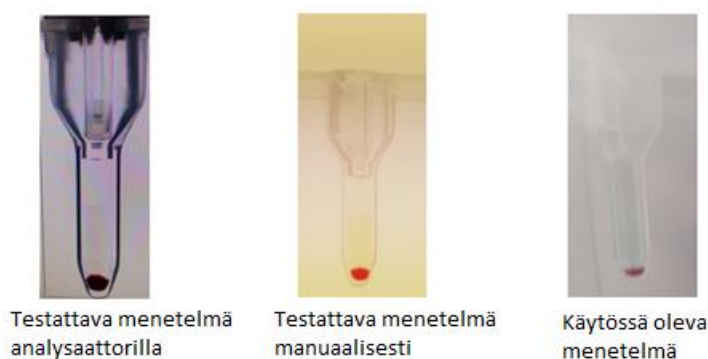
## 8 Tulosten tarkastelu

Antigeeniprofiilikortti 2 :ssa Kpa-, Kpb- ja k-antigeenien suhteen negatiivisilla näytteillä tulokset olivat epäselviä (Kuvio 2). Antigeenien Kpb ja k suhteen negatiivisia henkilöitä on suomalaisessa väestössä suhteellisen vähän, mutta tutkimukseen saatiin mukaan yhdet näiden suhteen negatiiviset näytteet, joiden tulokset olivat myös epäselviä. Jka- ja Jkb -antigeenien kohdalla tulokset olivat selviä sekä kyseisten antigeenien suhteen positiivisilla että negatiivisilla näytteillä.

Kuvio 2. Antigeeniprofiilikortti 2:n tulokset analysaattorilla.



Testattavalla menetelmällä k-, Kpa- ja Kpb -antigeenien suhteen negatiivisten näytteiden kohdalla kaivon pohjalla oleva solunappi ei ollut tasainen vaan kupera, jonka vuoksi analysaattori tulkitsi reaktion epäselväksi. Tulos tulkittiin manuaalisesti reaktiivoimakkuudeltaan -r. (Kuva 11)



Kuva 11. Kpa-antigeenin reaktiivoimakkuuksia.

Antigeeniprofiilikortti 3:ssa N-antigeenin suhteen positiivisilla näytteillä kaivon pohjalla oli soluja, joten tulos tulkittiin kaksoispopulaatioksi. Käytössä olevalla menetelmällä kaivon pohjalla ei ollut havaittavissa soluja, joten tulos tulkittiin positiiviseksi (Kuva 12).





Testattava menetelmä  
analysaattorilla

Testattava menetelmä  
manuaalisesti

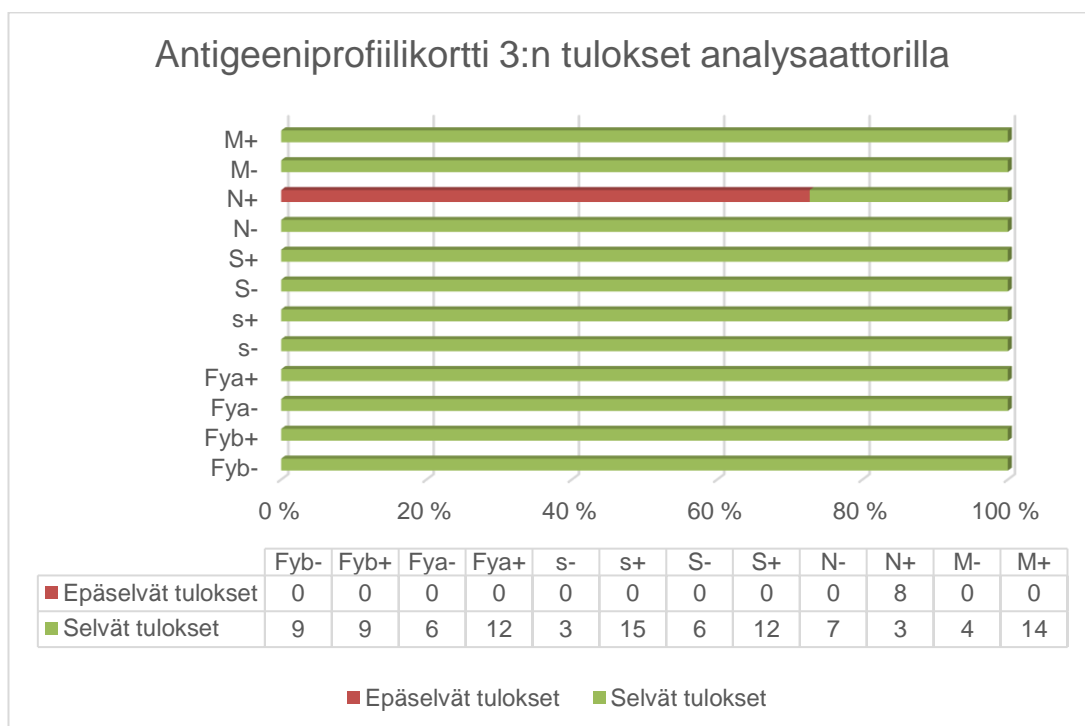
Käytössä oleva  
menetelmä

Kuva 12. N-antigeenin reaktiivomakkuuksia.

Koska tutkimuksessa käytettävät näytteet olivat luovuttajanäytteitä, pystyttiin päättämään, että kaksoispopulaatio ei ole siirretyistä punasoluista johtuvaa. Potilasnäytteiden kohdalla tulee kuitenkin ottaa aina huomioon, että potilas on voinut saada äskettäin verensiirtoja, jolloin siirretyt punasolut voivat olla N-antigeenin suhteen negatiivisia, vaikka potilaan punasolut ovat positiivisia tai päinvastoin. Tällöin ei voida olla varmoja mikä on potilaan oma punasolujen fenotyyppi kyseisen antigeenin suhteen. M-antigeenin suhteen positiivisilla näytteillä oli myös hieman soluja mikropylvään kaivon pohjalla, mutta tulos oli tulkittavissa positiiviseksi ja myös analysaattori tulkitsi tulokset positiivisiksi.

S-, s-, Fya- ja Fyb-antigeenien kohdalla tulokset olivat selviä sekä kyseisten antigeenien suhteen positiivisilla että negatiivisilla näytteillä (Kuvio 3).

Kuvio 3. Antigeeniprofiilikortti 3:n tulokset analysaattorilla.



## 9 Pohdinta

Työn tavoitteena oli selvittää, voitaisiinko Bio-Radin antigeeniprofiilikortteja käyttää luotettavasti IH-500-analysaattorilla SPR Veripalvelussa ja näin vähentää manuaalista työskentelyä. Tämän oppinäytetyön perusteella voidaan todeta, että antigeeniprofiilikortti 2 ei ole käyttökelpoinen SPR Veripalvelun käyttöön, koska k-, Kpa- ja Kpb-antigeenien suhteen negatiivisilla näytteillä saatiin epäselviä tuloksia. Antigeeniprofiilikortti 3 voisi olla käyttökelpoinen S-, s-, Fya- ja Fyb-antigeenien tyypityksessä ja täten se vähentäisi manuaalista työskentelyä. Sitä voitaisiin käyttää laajaan fenotyypitykseen, jolloin yhdelle näytteelle tarvittaisiin vähemmän eri geelikortteja ja manuaalinen työ vähentyisi. N-antigeenin osalta sitä voisi käyttää ainoastaan N-allovasta-aineen varmentamiseen, koska negatiiviset tulokset olivat selkeitä.

Jka- ja Jkb -tyypityksiä tehdään huomattavasti enemmän kuin k-, Kpb- ja Kpa-tyypityksiä, joten nykyisten antigeenikorttien käyttö voi olla kustannustehokkaampaa kuin antigeeniprofiilikortti 2:n käyttö. Nykyisin käytössä olevalla menetelmällä saatiin myös selkeämmät tulokset k, Kpb ja Kpa -negatiivisten näytteiden kohdalla.

Työn perusteella ei pystytä määrittelemään minkä vuoksi testattavat antigeeniprofiilikortit eivät antaneet luotettavia tuloksia kaikkien antigeenien tyyppityksissä. Käytössä olevat menetelmät antoivat selkeitä ja luotettavia tuloksia N-, k-, Kpa- ja Kpb-antigeenien tyyppityksissä. N-antigeenin suhteen positiivisten näytteiden kaksoispopulaatio testattavilla korteilla voisi johtua erillisestä antiseerumista, koska käytössä olevassa menetelmässä vasta-aineet ovat valmiina geelissä. Menetelmissä on myös erilaiset inkubointiolosuhteet, jotka voivat osaltaan vaikuttaa lopputulokseen. Anti-M ja anti-N ovat kylmävasta-aineita, kun taas anti-S, anti-s, anti-Fya ja anti-Fyb ovat lämminvasta-aineita, joten samalla antigeeniprofiilikortilla analysointi voi olla liian haasteellista erilaisten optimilämpötilojen vuoksi.

Työssä kävi myös ilmi, että antigeeniprofiilikortteja reagensseineen voitaisiin käyttää analysaattorilla samanaikaisesti muihin tutkimuksiin käytettävien reagenssien kanssa. Tämän ansiosta antigeeniprofiilikorttien käyttö analysaattorilla ei vaatisi reagenssien vaihtamista tutkimusten välissä.

## 9.1 Tulosten luotettavuus

Työhön valitut näytteet olivat verenluovuttajilta ja henkilöiden fenotyyppit tarkasteltavien antigeenien suhteen olivat tyyhitetty aiemmin kahdella eri luovutuskerralla SPR Veripalvelussa. Näin saatuja tuloksia pystyttiin vertaamaan SPR Veripalvelun aiempiin tuloksiin. Näytteet olivat laadukkaita, niitä oli säilytetty oikein ja ne olivat korkeintaan viikon vanhoja. Luotettavuutta lisäsi vertailutulokset, jotka saatiin analysoimalla näytteitä myös manuaalisesti sekä testattavalla että käytössä olevilla menetelmillä. Testattavat antigeeniprofiilikortit ja niiden reagenssit säilytettiin valmistajan suosittelemassa lämpötiloissa. Ennen korttien käyttöä varmistettiin, että niissä ei ole ilmakuplia tai muuta poikkeavaa.

Koska antigeenien k ja Kpb suhteen negatiivisia henkilöitä on väestössä vähän, työhön ei saatu tarpeeksi suurta otantaa, jotta tulokset olisivat niiden osalta luotettavasti toistettavia. Muiden antigeenien kohdalla saatiin hyvä otanta sekä negatiivisten että positiivisten näytteiden osalta.

Tutkimusta ennen perehdyttiin IH-500-analysaattorin käyttöön ja tutkimuksessa käytettäviin menetelmiin, jolloin ne olivat tuttuja, kun opinnäytetyötä lähdettiin toteuttamaan. Työ suoritettiin tarkasti menetelmäohjeiden mukaan ja tulokset dokumentoitiin huolellisesti. Tulokset kaksoistarkistettiin SPR Veripalvelun työntekijöiden toimesta.

## 9.2 Eettisyys

Tässä opinnäytetyössä noudatettiin bioanalyytikon eettisiä periaatteita, joiden mukaan mm. kaikkea biologista näytemateriaalia tulee käsitellä luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia kunnioittaen. Eettisissä periaatteissa mainitaan myös: ”bioanalytikko/laboratoriohoitaja sitoutuu noudattamaan salassapitovelvollisuutta ja laboratoriotutkimuksia varten hankitaan vain niiden suorittamiseen tarpeellinen tieto, ei muuta”. (Suomen bioanalytikkoliitto ry 2017.)

Opinnäytetyölle myönnettiin tutkimuslupa maaliskuussa 2021 ja silloin myös allekirjoitettiin salassapitosopimukset. Työn aikana ei ollut potilaskontaktia ja näytteitä käsiteltiin anonyymisti. Työn alussa näytteet numeroitiin juoksevilla numeroilla, joten henkilötietoja ei ollut esillä missään vaiheessa. Kaikki tulokset ja tutkimusmateriaalit jäivät Veripalvelun tiloihin ja ne hävitettiin siellä ohjeiden mukaisesti.

Bioanalyytikon eettisiin ohjeisiin kuuluu ylläpitää sekä kehittää omaa ammatillista osaamista. Bioanalyytikon tulee omaksua uusia menetelmiä ja toimintatapoja. Bioanalytikko vastaa laboratoriotutkimuksien laadusta ja luotettavuudesta koko laboratorioprosessin ajan. (Suomen bioanalytikkoliitto ry 2017.) Kaikessa toiminnassa läpi opinnäytetyöprosessin noudatettiin tarkkoja menetelmäohjeita ja luotettavuus varmistettiin ohjeiden lisäksi muun muassa kaksoistarkistamisella.

## 9.3 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyön toteutuksen aikana opimme suunnittelemaan tutkimuksen, toteuttamaan sen ja raportoimaan tuloksista. Työ syvensi osaamistamme immuno hematologiasta ja veriryhmätutkimuksista. Lisäksi tiedonhankinnan myötä kriittisen lukemisen taitomme paranivat.

Opinnäytetyön suunnittelu- ja raportointivaiheessa kehityimme tiedonhaussa ja tieteellisen tekstin tuottamisessa. Saimme apua ja ohjausta SPR Veripalvelusta, koulun työpajoista, ohjaavalta opettajalta sekä opinnäytetyöseminaareista. Opinnäytetyön tulokset julkistettiin Veripalvelussa 11.8.2021, kaikille SPR Veripalvelun veriryhmätiimin työntekijöille. Tilaisuudessa saimme kommentteja saamistamme tuloksista ja niiden hyödyntämisestä.

Opinnäytetyön tekemisessä oli erityisen motivoivaa ja mielenkiintoista se, että saamiimme tuloksia pystyttiin hyödyntämään työelämässä. Meillä molemmilla kasvoi kiinnostus immuno hematologiaa ja tutkimuslähtöistä työskentelyä kohtaa

## Lähteet

Alves, Vitor Mendonça & Martins, Paulo Roberto Juliano & Soares, Sheila & Araújo, Gislene & Schmidt, Luciana Cayres & Sanches de Menezes Costa, Sidneia & Langhi, Dante Mário & Moraes-Souza, Helio. 2012. Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study. *Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy*. 34 (3): 206–211.

Anstee, David J. 2010. The functional importance of blood group-active molecules in human red blood cells. <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1423-0410.2010.01388.x>> Viitattu 15.11.2021

Daniels, Geoff. 2002. *Human Blood Groups*. 2. painos. 1–4.

Daniels, Geoff & Bromilow, Imelda 2014. *Essential Guide to Blood Groups*. 3. painos. Wiley Blackwell. 14–15.

Dean, Laura 2005. *Blood Groups and Red Cell Antigens*. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2264/>> Viitattu 20.9.2021.

Delaney, Meghan & Oveland Apelseh, Torunn & Bonet Bub, Carolina & Cohn, Claudia S. & Dunbar, Nancy M. & Mauro Kutner, Jose & Murphy, Michael & Perelman, Iris & Selleng, Kathleen & Staves, Julie & Wendel, Silvano & Ziman, Alyssa. 2020. Red-blood-cell alloimmunization and prophylactic antigen matching for transfusion in patients with warm autoantibodies. *The International Society of Blood Transfusion. Vox Sanguinis* 115: 515–524.

Dutta, Sanchari Sinha 2021. What is an Antigen. *News Medical*. <<https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-an-Antigen.aspx>>. Viitattu 8.10.2021

Ghandi, Manish J & Strong, Michael D. & Whitaker, Barbee I & Petrisli, Evangelia 2018. A Brief Overview of clinical significance of Blood Group Antibodies. *Immunohematology* 34:4–6. American Red Cross. <[https://www.researchgate.net/publication/324172389\\_A\\_brief\\_overview\\_of\\_clinical\\_significance\\_of\\_blood\\_group\\_antibodies](https://www.researchgate.net/publication/324172389_A_brief_overview_of_clinical_significance_of_blood_group_antibodies)>. Viitattu 10.10.2021.

Haug, Egil & Sand Olav & Sjaastad Oysten V. & Toverud Kari C. 2009. *Ihmisen fysiologia*. 1.–4. painos. WSOY Oppimateriaalit Oy. Viitattu 10.9.2021.

ISBT. *Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology*. <<https://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology>> Viitattu 4.10.2021

Ilmakunnas Minna 2019. Apua, potilaallani on veriryhmävasta-aine! <[http://www.finnanest.fi/files/ilmakunnas\\_veriryhmavastaaina.pdf](http://www.finnanest.fi/files/ilmakunnas_veriryhmavastaaina.pdf)> Viitattu 20.9.2021.

Juvonen Eeva & Koistinen Jukka 2007. *Veritautipotilaan verensiirrot*. Julkaisussa: Ruutu Tapani & Rajamäki Allan & Lassila Riitta & Porkka Kimmo (toim.) *Veritaudit 3. uudistettu painos*, Helsinki: Duodecim. Viitattu 18.9.2021.

Kulkarni, Swati & Maru, Harita. Extended phenotyping of blood group antigens: Towards improved transfusion practices. *Global Journal Of Transfusion Medicine* 5(2).120–125. <<https://www.gjtmonline.com/article.asp?issn=2468-8398;year=2020;volume=5;issue=2;spage=120;epage=125;aurlast=Kulkarni>>. Viitattu 16.10.2021

Michalak, Sylwia Sulimiera & Olewick-Gamwlik, Anna & Rupa-Matysek, Joanna & Wolny-Rokicka, Edyta & Nowakowska, Elżbieta & Gil, Lidia. 2020. Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives. *Immunity & Ageing* 17 (38). <<https://immunityageing.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12979-020-00208-7#article-info>>. Viitattu 17.11.2021.

Savolainen, Eeva-Riitta & Eblom-Kullberg, Susanne & Korhonen, Anu & Koski, Tomi & Mahlamäki, Eija & Sainio, Susanna & Salmela, Katja & Sareneva, Inna & Sivula, Mirka & Tienhaara. Verensiirto-opas. 2018. Duodecim. Verkkodokumentti.

Smart, Elizabeth & Armstrong Beryl 2020. Blood Group Systems. ISBT Science Series. <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/voxs.12593>>. Viitattu 3.10.2021.

Suomen bioanalytikkoliitto ry. 2017. Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. <[https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2201.pdf](https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2201.pdf)>. Viitattu 17.10.2021

SPR Veripalvelu. Laiteohje 2020. Veriryhmäserologinen IH-500-automaatti. Viitattu 4.10.2021.

SPR Veripalvelu. Tutkimusohjekirja. 2020. <<https://www.veripalvelu.fi/terveydenhuollon-ammattilaiset/laboratoriopalvelut/tutkimusohjekirja>>. Viitattu 25.10.2021

SPR Veripalvelu. Työohje. 2019. Veriryhmäserologisten tulosten lukeminen ja reaktivoimakkuuksien arviointi. 2019. Viitattu 03.11.2021.

SPR Veripalvelu. Verivalmisteiden käytön opas 2016. 16–17. Viitattu 29.10.2021.

Theis, Samuel R. & Hashmi, Muhammad F. Coombs Test. StatPearls Publishing. 2021. <[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547707/#\\_NBK547707\\_pubdet\\_](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547707/#_NBK547707_pubdet_)>. Viitattu 13.10.2021.