

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

2022

Ronkanen Ida ja Suominen Rosa

**VALKOSOLUJEN  
MORFOLOGINEN SÄILYVYYS  
EDTA-NÄYTTEESSÄ**

Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bioanalytikkokoulutus

Syksy 2022 | 57 sivua

Ida Ronkanen ja Rosa Suominen

## Valkosolujen morfologinen säilyvyys EDTA-näytteessä

Perifeerisen veren valkosolut tunnistetaan niiden morfologisten ominaisuuksien perusteella. Solujen morfologian on todettu alkavan muuttua jo puolen tunnin kuluttua näytteenotosta. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia valkosolujen morfologista säilyvyyttä säilytysajan edetessä. Tavoitteena oli selvittää, onko veren sivelyvalmiste mahdollista tehdä pidemmällä säilytysaikavälillä ilman, että valkosolujen morfologia merkittävästi kärsii.

Opinnäytetyön aihe saatiin TYKS Laboratorion, Kliinisen kemian vastualueen hematologian laboratoriosta. Tutkimusaineisto koostui huoneenlämpöisistä ja jääkaappilämpöisistä näytteistä. Saaduista tuloksista seurattiin hajoneiden solujen sekä eri soluryhmien solumääriä.

Saaduista tuloksista havaittiin hajoamisen olevan vaihtelevaa eri aikapisteissä sekä säilytyslämpötiloissa. Tuloksista todettiin, että eniten soluja hajosi neljän ja kahdeksan tunnin välillä huoneenlämmössä ja vähiten jääkaappisäilytyksessä. Kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä hajosi enemmän soluja jääkaappilämpötilassa kuin huoneenlämmössä. Sama toistui kymmenen tunnin jälkeen. Näin olleen näytteen säilyttäminen jääkaappilämpötilassa on näytteelle eduksi neljän ja kahdeksan tunnin välillä näytteenotosta, mutta sen jälkeen näytteessä hajoaneet solut lisääntyvät. Neutrofiilien määrät vähenivät ja lymfosyyttien määrät pääasiassa lisääntyivät.

Asiasanat:

Hematologia, sivelyvalmiste, valkosolujen erittelylaskenta, valkosolut

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biomedical Laboratory Science

Autumn 2022 | 57 pages

Ida Ronkanen ja Rosa Suominen

## Morphological endurance of white blood cells in EDTA sample

Different white blood cells are identified based on their morphological characteristics. Research studies indicate that morphology of the cells starts to change already in half an hour after sampling. The purpose of this thesis was to investigate the morphological endurance of white blood cells during different preservation times. The goal was to find out if it is possible to make a blood smear after a longer preservation period without significantly affecting the morphology of white blood cells.

The subject of the thesis was given by the clinical hematology laboratory of clinical chemistry's department in TYKS. The research material consisted of room temperature and refrigerator temperature samples. The amounts of broken "smudge" cells and other white blood cells were monitored from the results.

Based on the obtained results, it was found out that the decomposition varied in different time points and storage temperatures. From the results, it can be stated that the most cells decomposed between four and eight hours at room temperature and the least during refrigerator storage. Between eight and ten hours, more cells were degraded at refrigerator temperature than at room temperature. The same happened between ten- and twelve-hour preservation. Consequently, keeping the sample at refrigerator temperature is beneficial for the sample between four and eight hours after sampling, but after eight hours the smudge cells in the sample increase. The number of neutrophils decreased, and the number of lymphocytes were mainly increasing.

Keywords:

Blood smear, hematology, white blood cells, white blood cell count

# Sisältö

<b>1 Johdanto</b>	<b>7</b>
<b>2 Hematopoieesi</b>	<b>9</b>
<b>3 Valkosolut</b>	<b>12</b>
3.1 Lymfosyytit	12
3.2 Monosyytit	14
3.3 Neutrofiilit	15
3.4 Eosinofiilit	16
3.5 Basofiilit	17
<b>4 Verisolujen tarkastelu</b>	<b>18</b>
4.1 Valkosolujen erittelylaskenta	18
4.2 Sivelyvalmiste ja mikroskopointi	19
4.3 EDTA-näytteen laatuun vaikuttavat preanalyttiset tekijät	21
4.4 Näytteen säilytyksestä johtuvat solumorfologiset muutokset	21
<b>5 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite</b>	<b>24</b>
<b>6 Opinnäytetyön käytännön toteutus</b>	<b>25</b>
<b>7 Tulokset</b>	<b>27</b>
7.1 Muutokset hajonneiden solujen määrissä verrattuna lähtöarvoon	27
7.2 Muutokset hajonneiden solujen määrissä ajojen välillä	31
7.3 Muutokset eri soluryhmissä	35
7.3.1 Lymfosyytit	35
7.3.2 Monosyytit	37
7.3.3 Neutrofiilit	39
7.3.4 Eosinofiilit	41
7.3.5 Basofiilit	43
<b>8 Johtopäätökset</b>	<b>45</b>
8.1 Hajonneet solut	45

8.2 Soluryhmät	47
<b>9 Pohdinta</b>	<b>49</b>
<b>10 Lähteet</b>	<b>52</b>

## **Liitteet**

Liite 1. Näyteajojen tulokset

## **Kuviot**

Kuvio 1. Hajonneiden solujen muutos neljän ja kahdeksan tunnin välillä	27
Kuvio 2. Hajonneiden solujen muutos neljän ja kymmenen tunnin välillä	28
Kuvio 3. Hajonneiden solujen muutos neljän ja kahdentoista tunnin välillä	29
Kuvio 4. Hajonneiden solujen muutokset huoneenlämmössä verrattuna neljän tunnin arvoon	30
Kuvio 5. Hajonneiden solujen muutokset jääkaappilämpötilassa verrattuna neljän tunnin arvoon	31
Kuvio 6. Hajonneiden solujen muutos kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä	32
Kuvio 7. Hajonneiden solujen muutos kymmenen ja kahdentoista tunnin välillä	33
Kuvio 8. Hajonneiden solujen muutokset huoneenlämmössä aikaväleittäin	34
Kuvio 9. Hajonneiden solujen muutokset jääkaappilämpötilassa aikaväleittäin	34
Kuvio 10. Lymfosyyttien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella	35
Kuvio 11. Lymfosyyttien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä	36
Kuvio 12. Monosyyttien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella	37
Kuvio 13. Monosyyttien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä	38
Kuvio 14. Neutrofiilien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella	39

Kuvio 15. Neutrofiilien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä	40
Kuvio 16. Eosinofiilien muutos keskiarvon perusteella	41
Kuvio 17. Eosinofiilien muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä	42
Kuvio 18. Basofiilien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella	43
Kuvio 19. Basofiilien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä	44

# 1 Johdanto

Potilaan verisolujen tutkimiseksi on olemassa monia erilaisia tutkimuksia. Näistä yleisimmät B-PVK eli perusverenkuva sekä B-Diffi eli valkosolujen erittelylaskenta kuvaavat kattavasti punasolujen, valkosolujen sekä trombosyyttien määriä ja osuuksia veressä. (Savolainen 2015; Duodecim 2021.)

Tietyissä tilanteissa on tarpeellista tutkia potilaan verisolujen morfologiaa tarkemmin. Vaikka verenkuva-analysaattorin tulosraportista pystytään päättämään paljon, puuttuvat siitä morfologiaa yksilöivät tiedot. Sivelyvalmiste on EDTA-antikoaguloidusta veritipasta sivelty lasi, jota tarkastellaan mikroskoopilla kiinnittäen huomiota verisoluihin sekä niiden morfologisiin muutoksiin. Sivelyvalmiste on keskeisessä roolissa hematologian tutkimuksissa ja sitä käytetään ennen kaikkea veritautien diagnostiikkaan. (Pelliniemi 1998; Savolainen 2015.)

TYKS Laboratorioiden (2022) ohjeistus sivelyvalmisteen tekemiseen ohjaa lasin teon kahdeksan tunnin sisälle näytteenotosta. Näytteiden parametreissa tapahtuu muutoksia sitä enemmän, mitä kauemmin näytteenoton ja näytteen analysoinnin välillä kuluu aikaa (Vives-Corrans ym. 2014). Liian pitkä säilytysaika tai väärä säilytyslämpötila johtaa solujen turpoamiseen, solujen hajoamiseen ja veren valkosolujen sekä verihiutaleiden määrän vähenemiseen. Näiden muutosten myötä sivelyvalmisteet ovat suositeltu tehtäväksi mahdollisimman tuoreesta näytteestä. (Savolainen & Tienhaara 2015.)

Näytteitä saapuu TYKS Laboratorion, Kliinisen kemian vastualueen hematologian laboratorioon oman alueen lisäksi lähikunnista. Näytteet tarvitsevat usein tarkempaa selvittelyä perusanalytiikan lisäksi ja sivelylasien mikroskopointi on kokonaan keskitetty kantasairaalan alueelle. Analysaattorin tekemät valkosolujen erittelylaskennat voidaan vastata lähikunnissa, jos ne eivät ohjaudu mikroskopoitavaksi.

Mikäli verinäyte ei ehdi kahdeksan tunnin sisällä analysoitavaksi tekopaikkaan, siitä tehdään aina sivelyvalmiste ja se lähetetään näytteen mukana. Tällä toimintatavalla liian pitkä säilytysaika ei vaikuta näytteen morfologiaan negatiivisesti.

Tämän opinnäytetyön tarkoitus oli tutkia valkosolujen morfologista säilyvyyttä säilytysajan edetessä. Tämän opinnäytetyön tavoite oli selvittää, onko veren sivelyvalmiste mahdollista tehdä EDTA-näytteestä pidemmällä näytteen säilytysaikavälillä ilman, että valkosolujen morfologia merkittävästi kärsii. Pidempi säilyvyys mahdollistaisi näytteenoton ja lasinteon välisen ajan venyttämisen ja lasinteon näytteen vastaanottavassa tekopaikassa.



## 2 Hematopoieesi

Hematopoieesi, eli verisolujen syntyminen on monimutkainen säädelty tapahtumasarja, joka säätelee kaikkien verisolujen tuotantoa. Hematopoieesi etenee monikykyisistä kantasoluista suuntautuneisiin kantasoluihin, jotka etenevät kypsyviin ja jakautuviin soluihin. Tuotoksena saadaan kaikki kypsät verisolut, jotka palvelevat eri tehtävissä. Näitä ovat punasolut, trombosyytit sekä valkosolut: neutrofiilit, eosinofiilit, basofiilit, lymfosyytit sekä monosyytit. Koska verisolujen synty on tarkoin säädeltyä, muutokset ja häiriöt erilaistumisessa, jakautumisessa tai kypsymisessä voivat aiheuttaa erilaisia veritauteja. Tämä voi näkyä verisoluryhmän solujen määrän kasvussa tai vähenemisessä. (Ek 2009; Matinlauri & Vilpo 2014.)

Luuydin on ihanteellisin paikka verisolutuotannolle, sillä sen mikroympäristön tarjoamien stroomasolujen ja niiden tuottamien soluväliaineiden sekä verisuonien ansiosta verisolut kykenevät kehittymään ja erilaistumaan (Siitonen & Koistinen 2015a). Lapsella verisoluja muodostuu kaikkien luiden ytimissä, josta muodostuminen siirtyy aikuisuutta lähentyessä litteisiin luihin, kuten kylkiluihin, rintalastaan, lantioon tai reisi- ja olkaluiden proksimaalipäihin. Luuytimessä tapahtuvaa verisolutuotantoa kutsutaan medullaariseksi hematopoieesiksi, ja luuytimen ulkopuolella tapahtuvaa verisolutuotantoa ekstramedullaariseksi hematopoieesiksi. Ekstramedullaarinen tuotanto on aina poikkeava tilanne luuytimen ollessa verisolujen pääsääntöinen tuottaja. (Ek 2009; Siitonen & Koistinen 2015; Mustajoki 2019.)

Verisolujen kehitys jaotellaan monikykyisiin ja suuntautuneisiin kantasoluihin, ja kypsyminen taasen kypsyviin ja kypsiin verisoluihin. Verisolut muodostuvat erilaistumattomasta kantasolusta. Tämä kantasolu erilaistuu luuytimen monikykyiseksi totipotentiksi kantasoluksi, joka kykenee proliferaation eli lisääntymisen ja differentaation eli erilaistumisen kautta tuottamaan kaikenlaisia verisoluja.

Totipotentit kantasolut muodostavat itseään muistuttavia, pitkäaikaista hematopoieesia noudattavia, sekä lyhytaikaista hematopoieesia noudattavia kantasoluja. (Ek 2009; Siitonen & Koistinen 2015a.)

Kantasolujen erilaistumislinjan valinta perustuu geeninluentaan vaikuttaviin transkriptiogeeneihin, sekä luuytimen mikroympäristön vaikuttamiin erilaistumis- ja kasvusignaaleihin (Siitonen & Koistinen 2015a). Transkriptiogeeneit eli sytokiinit ovat hematopoieettisia kasvutekijöitä, jotka säätelevät solujen erilaistumista, kasvua ja toimintaa. Sytokiinit mahdollistavat geeniekspression, jolloin geenien aktivoituessa pystytään tuottamaan tarvittavia verisoluja oikealla hetkellä. (Silvennoinen & Hurme 2003; Siitonen & Koistinen 2015a.) Erilaistumislinjat muovaavat soluja tietynlaisesti, jolloin on mahdollista tutkia niiden morfologiaa, eli muotoon ja rakenteeseen liittyviä piirteitä (Niemelä & Pulkki 2014).

Monikykyiset kantasolut, jotka noudattavat lyhytaikaista hematopoieesia, muodostavat lymfaattisia sekä myeloisia kantasoluja (Ek 2009). Myeloinen kantasolu kykenee tuottamaan granulosityttejä, erytrosoyettejä, monosyyttejä sekä megakaryosyyttejä. Ensimmäinen mahdollinen tunnistettava verisolu myelosyytilinjan varhaismuodoista on myeloblasti. Myeloblastista eteenpäin kypsymisjärjestys on; promyelosyytti, myelosyytti, metamyelosyytti, sauvatumainen neutrofiili, eosinofiili tai basofiili ja kypsä liuskatumainen neutrofiili, eosinofiili tai basofiili. Lymfaattinen kantasolu tuottaa lymfosyyttejä. Lymfosyytit jaetaan T-, B-lymfosyytteihin sekä luonnollisiin tappajasoluihin eli NK-soluihin. Varhaisin havaittava solu on lymfoblasti, jonka jälkeisestä prolymfosyytistä kehittyy kypsä verenkiertoon etenevä lymfosyytti. (Siitonen & Koistinen 2015.) Siinä missä myeloisen linjan soluja voidaan kypsymisvaiheen aikana jo tunnistaa, on mikroskoopilla mahdotonta erottaa T- ja B-lymfosyytit toisistaan. Lymfosyyttien tyypitykseen tarvitaan immunofenotyypitystä. (Pelliniemi 1998; Bain 2015).

Kypsät verisolut mobilisoituvat eli siirtyvät luuytimestä verenkiertoon. Lisäksi pieni osa kantasoluista mobilisoituu jatkuvasti verenkiertoon. Kantasolut kykenevät kuitenkin hakeutumaan takaisin luuytimeen, jota kutsutaan homing-ilmiseksi.

Näin ollen veren kantasolut hakeutuvat automaattisesti niille sopivaan mikroympäristöön, jossa ne voivat erilaistua ja kehittyä. (Siitonen & Koistinen 2015a.)

## 3 Valkosolut

Valkosolut eli leukosyytit ovat veren soluja, joiden pääasiallinen tehtävä on vastata immuunipuolustuksesta. Elimistö säätelee leukosyyttien tuotantoa sen tarpeiden mukaan, mutta leukosyyttejä on jonkun verran veressä myös ilman tulehdustilaa. Veren runsas valkosolupitoisuus on tyypillistä bakteeritulehduksissa ja vakavissa veritaudeissa. Niiden määrää nostavat lisäksi erinäiset tekijät kuten fyysinen rasitus, raskaus tai stressi. Valkosolujen niukkuus veressä voi aiheutua leukosyyttien suuresta kulutuksesta tai leukosyyttien tuotantohäiriöstä luuytimessä. (Duodecim 2021.) Valkosoluihin kuuluvat lymfosyytit, monosyytit, neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit (Siitonen & Koistinen 2015a; Eskelinen 2016).

### 3.1 Lymfosyytit

Lymfosyytti on valkosolu, jonka tehtävänä on auttaa puolustuksessa infektioita vastaan. Spesifiin immuunipuolustukseen kykenevät lymfosyytit voidaan jakaa B-lymfosyytteihin, T-lymfosyytteihin ja NK- eli luonnollisiin tappajasoluihin, jotka syntyvät erilaistuneesta lymfaattisesta kantasolusta. Verenkierrossa kiertävistä leukosyyteistä noin 20–45 % kuuluvat lymfosyytteihin, joista suurin osa ovat T-lymfosyyttejä. (Siitonen & Koistinen 2015a; TYKS Laboratoriot 2021.)

B-lymfosyytit kiertävät verenkierron kautta lymfaattiseen järjestelmään, jossa ne aktivoituvat kyetäkseen vasta-ainetuotantoon. Kypsät B-lymfosyytit eli plasmasolut huolehtivat humoraalisesta puolustuksesta ja ovat lyhytikäisiä, mikäli eivät ole kontaktissa T-solujen kanssa. Imusolmukkeessa tapahtuvan kontaktin avulla ne saavat kestävämmän immuunivasteen. T-solut ovat soluvälitteistä immuniteettia ylläpitäviä soluja, jotka tunnistavat elimistön omat antigeenit ja erottavat ne vieraista antigeeneistä. (Siitonen & Koistinen 2015a.)

Lymfosyyttien ulkonäkö vaihtelee. Tyypilliset pienehköt lymfosyytit (7–10 $\mu$ ) ovat pyöreähköjä, ja niiden tuma on suhteellisen iso sytoplasman tilavuuteen verrattuna, jopa 90 %.

Tuman kromatiini on pakkautunut tiiviisti ja värjäytynyt tummanvioletiksi ja on rakenteeltaan hieman juovainen. Sytoplasman sävy vaihtelee tummasta vaaleampaan siniseen, eikä siinä ole juurikaan havaittavissa granulaarisuutta. (Ek 2009; Bain 2015.)

Isommassa lymfosyytissä (8–14 $\mu\text{m}$ ) tuman kromatiinirakenne on hieman väljempi kuin pienemmässä lymfosyytissä ja värjäytyvyys on vaaleampi. Se on useammin myös hieman tasaisempaa mitä pienellä lymfosyytillä. Isommasta lymfosyytistä on mahdollista havaita nukleolit. Sytoplasmaa on enemmän suhteessa pienempään lymfosyytiin, ja se värjäytyy vaaleansiniseksi. Joissakin isoissa lymfosyyteissä voidaan havaita epätasaisesti jakautuvaa sinipunertavaa azurofiilistä granulaa, jolloin kyseessä on LGL-solu eli Large Granular Lymphocyte. (Ek 2009; Bain 2015.)

Joskus lymfosyytin sytoplasma on reunoilta tumman sinertävää, jolloin kyse on reaktiivisesta tai atyyppisestä lymfosyytistä. Kyseiset lymfosyytit ovat kooltaan normaalia isompia. Sytoplasman osuus on suurentunut ja se saattaa lähteä kuroutumaan. (Ek 2009; Bain 2015.)

Plasmasolut, eli kypsät B-solut, ovat sekä tuman että sytoplasman suhteen tummia ja pyöreän tai soikean muotoisia. Niiden koko vaihtelee keskikokoisesta isoon (12–18 $\mu\text{m}$ ) ja kromatiinirakenne on hyvin tiivis ja kokkareinen. Sytoplasma on usein basofiilinen. (Ek 2009; Bain 2015.)

Normaalista poikkeavimpia lymfosyyttimuotoja ovat lymfoblasti, prolymfosyytti sekä karvasolu. Lymfoblastit ja prolymfosyytti ovat lymfosyyttien nuoruusmuotoja. Lymfoblastin tuma on suuri, jolloin sytoplasman määrä vaihtelee vähäisestä olemattomaan. Tuman kromatiini on sileää ja purppuransinistä. Prolymfosyytti on lymfoblastia pienempi ja tuma on tiivis. Karvasolua havaitaan karvasoluleukemiassa, ja solun koko on suuri (15–20 $\mu\text{m}$ ). Tuman kromatiinirakenne on hienojakoinen ja sytoplasma ei värjäydy juurikaan. Sytoplasman ulkoreunaa voi havainnollistaa karvamaisen repaleiseksi. (Ek 2009; Bain 2015.)

### 3.2 Monosyytit

Monosyytit saavat alkunsa samaisesta kantasolusta, josta myös neutrofiiliset granulosyytit polveutuvat (Ek 2009). Aikuisella normaali monosyyttien määrä on yhdestä yhteentoista prosenttia (TYKS Laboratoriot 2021). Ne toimivat erilaistuessaan kuolleiden solujäänteiden hävittäjinä, ovat osana fagosytoosia ja esittelevät antigeenejä. Monosyytit erilaistuvat makrofageiksi mobilisoituessaan luuytimestä verenkiertoon ja sieltä kudoksiin. Veressä monosyytit kiertävät noin kolme vuorokautta, kudoksissa makrofagit voivat elää kuukausiakin. (Solunetti 2006; Ek 2009; Siitonen & Koistinen 2015a.)

Patogeenien antigeenit ja solujen HLA-molekyylit muovaantuvat makrofagien toimesta siten, että T-lymfosyytti kykenee tunnistamaan ne samasta kompleksista. HLA-molekyylit eli imusolujen tunnistamat antigeeniset peptidit ottavat osaa imusolujen kypsymis-, erilaistumis- ja aktivaatiosykliin. T-lymfosyyttien kanssa yhteistyössä toimivat makrofagit osallistuvat näin ollen soluvälitteiseen immuunipuolustukseen. Dendriittisolu, joka voi erilaistua sekä lymfaattisesta että myelooisesta kantasolusta, esittelee antigeeneja T-lymfosyyteille. Joidenkin spesifien kasvutekijöiden toimesta myös monosyytit voivat toisinaan erilaistua dendriittisoluiksi, jotka aktivoituvat vasta patogeenien läsnäollessa. Toisin kuin makrofagi, dendriittisolu kuljettaa muovaamansa antigeenin suoraan imusolmukkeeseen. Se kykenee aktivoimaan imusolmukkeessa T-lymfosyyttien primaarivasteen. (Siitonen & Koistinen 2015a.)

Monosyytti on morfologialtaan samankaltainen kuin iso lymfosyytti. Sen tuman ulkomuoto vaihtelee tyypillisesti pyöreähkön, ovaalimaisen ja munuaismaisien muodon välillä. Tuma voi joissakin monosyyteissä olla liuskoittunut ja sijoittunut sytoplasmassa enemmän toispuoleisesti. Kromatiinirakenteen väleissä näkyy useimmiten vaaleita juovia. Sytoplasman sävy vaihtelee henkilöiden välillä, mutta verrattaessa lymfosyytin sytoplasmaan sen sävy on usein harmahtavampi tai utuisempi. Tyypillisesti monosyyttisolussa sytoplasmaa on runsaasti. Sytoplasmassa voi olla azurofiilistä granulaa, kylläkin hienojakoista ja huomattavasti vähemmän mitä muissa granulosyyttisarjan soluissa.

Makrofagit ovat vaihtelevasti joko hieman tai huomattavasti isompia kuin monosyytit, sekä tuma on usein liuskoittunut. Sytoplasman seasta saattaa havaita muiden solujen jäänteitä. Sytoplasmassa on usein havaittavissa vakuoleja. (Ek 2009; Bain 2015; Siitonen & Koistinen 2015a.)

Verenkierrosta voi löytyä poikkeavampia nuoruusmuotoja, promonosyyttejä sekä monoblasteja. Promonosyytti on kokonaisuudessaan sekä tumakooltaan normaaliakin monosyyttiä isompi (solun halkaisija 18–30µm). Tuman kromatiini on löyhää ja nukleolit voivat olla näkyvillä. Sytoplasman osuus on promonosyytissäkin suuri ja sen sävy on basofiilinen, vaikka yleensä hieman vaaleampi kuin normaalilla monosyytillä. Myös vakuoleja sekä paikkakohtaista azurofiilistä granulaa voidaan havaita promonosyyteissä. Monoblasti muistuttaa lähes poikkeuksetta myeloblastia. Kromatiinirakenne on löyhähköä ja aavistuksen kokkareista, sekä nukleoleja voi olla havaittavissa yhdestä viiteen. Sytoplasmaa monoblastissa ei ole juurikaan eikä granulaa ole nähtävissä. (Ek 2009.)

### 3.3 Neutrofiilit

Neutrofiilit kuuluvat granylosyytteihin. Granylosyytit syntyvät niille spesifistä CFU-G-progenitorisolusta. Siitä se kehittyy myeloblastiksi, jonka tuma on suuri ja sen sytoplasmassa ei ole vielä havaittavissa granulaa.

Neutrofiilisessa promyelosyytissa solun koko kasvaa ja sen sytoplasmassa on punertavaa primaarigranulaa. Seuraavan vaiheen myelosyytissa tuman koko pienenee ja sytoplasmassa on sekundaarigranulaa. Solu kehittyy sauva- tai liuskatumaiseksi neutrofiiliksi. Kypsän neutrofiilin tuma on lohkoutunut. Epäkypsän neutrofiilin tuma ei ole vielä lohkoutunut yhtä paljon, vaan on muodoltaan makkaramainen. (Siitonen & Koistinen 2015a.)

TYKS Laboratoriot ohjekirjan (2021) mukaan veren valkosoluista neutrofiileja on 41–80 prosenttia. Neutrofiilien tehtävänä on luoda akuutti tulehdusvaste esimerkiksi saadun kudonvaurion seurauksena, tuhoten bakteereita ja vaurioitunutta kudosta.

Tällaisessa reaktiossa neutrofiilien määrä kasvaa hetkellisesti niiden vapautuessa luuytimestä verenkiertoon. (Solunetti 2006; Siitonen & Koistinen 2015a.)

Kypsän neutrofiilin eli liuskatumaisen neutrofiilin halkaisija on noin 12–15µm. Sytoplasma on usein vaaleahko ja sisältää todella hienojakoista punertavaa granulaa. Sen tuma on tyypillisesti liuskoittunut yhdestä viiteen ulokkeeseen, jotka kiinnittyvät toisiinsa filamentein. Tuma saattaa laskostua kohdittain päällekkäin, joka voi antaa vaikutelman tiiviimmästä tai paksummasta tumarakenteesta. Säilytysajan pidentyessä voi olla havaittavissa hypersegmentoitumista eli tuman runsasta liuskoittumista moniin filamentoituneisiin ulokkeisiin tai jopa erillisiin kappaleisiin. (Ek 2009; Bain 2015.) Tuman kromatiinirakenne on karkeahkoa ja se jakautuu epätasaisesti. Se on väriltään tummanviolettia ja sen seassa voi olla värjäytymättömiä vaaleita alueita. (Ek 2009.)

Kypsiltä vaikuttavia neutrofiileja, joiden tumat ei ole selkeästi segmentoituneet vaan jäävät ikään kuin pitkänmallisiksi makkaroiiksi, kutsutaan sauvatumaisiksi neutrofiileiksi. Sauvatumaisen neutrofiilin tuman kuroumakohta on noin 2/3 tumalohkon paksuudesta. Ohuempi kurouma viittaa liuskatumaiseen neutrofiiliin. Myös eosinofiileilla ja basofiileilla esiintyy samanlaisia sauvatumaisia muotoja. Suurimmat erot sauvatumaisen sekä liuskatumaisen välillä ovat siis tuman muodon sekä hienojakoisemman kromatiinin välillä. Sauvatumaisella eosinofiilillä kromatiinirakenne on tyypillisesti punertavaa ja basofiilille tyypillisesti basofiilistä. Lisääntynyt sauvatumaisten määrä veressä viittaa usein lievään vasemmalle siirtymiseen. (Ek 2009; Bain 2015.)

### 3.4 Eosinofiilit

Eosinofiilit kuuluvat granulositytteihin. Niiden pääasiallinen tehtävä on toimia allergisissa ja tulehduksellisissa reaktioissa sekä loistauteja vastaan. Ne kiertävät verenkierrossa ainoastaan muutaman tunnin, mutta kudoksissa säilyvät pidempään. (Solunetti 2006; Siitonen & Koistinen 2015a.)



TYKS Laboratoriot ohjekirjan (2021) mukaan normaali eosinofiilien määrä on aikuisilla yhdestä viiteen prosenttia. Eosinofiili on kooltaan samankaltainen kuin neutrofiili, joskus hieman isompi (12–17 $\mu$ m). Eosinofiilille tyypillistä on sytoplasman vaalea sinipunertava väri sekä sytoplasman karkeat punertavat granulat. Näitä punaisia granuloita voidaan havaita myös nuoruusmuodoissa. Eosinofiileillä tuma segmentoituu yleensä kahteen tai kolmeen ulokkeeseen, jotka ovat kiinni toisissaan filamentein. Kromatiini on karkeaa ja värjäytyy tummanvioletiksi. (Ek 2009; Bain 2015; Siitonen & Koistinen 2015a.)

### 3.5 Basofiilit

Granulosyytteihin kuuluvat basofiilit aktivoituvat muun muassa plasmasolujen tuottamista vasta-aineista ja tuottavat vaso-aktiivisia eli verisuoniin vaikuttavia aineita. Ne toimivat allergisissa reaktioissa ja patogeenien aiheuttamissa infektioiden osallistuen fagosytoosiin. Basofiilit vapauttavat etenkin histamiinia sekä hepariinia. Histamiinin tehtävänä on laajentaa verisuonia, jotta eri solut pääsevät vaikuttamaan tarvittaville alueille. Heparini estää verta hyytymästä liian nopeasti. Normaalissa tilassa basofiilejä kiertää veressä nolasta yhteen prosenttia. (Solunetti 2006; Ek 2009; TYKS Laboratoriot 2021.)

Basofiili on lähes samankokoinen kuin neutrofiili (10–14 $\mu$ m). Basofiilin tunnistaa sen tummansinertävistä ja erikokoisista granuloista. Tuma on väriltään tummanvioleetti. Kromatiinirakenne on tiivistä. Sytoplasma on vaaleaa ja sinipunertavaa, joka jää tuman lailla peittoon basofiilisten granuloiden vuoksi. (Solunetti 2006; Ek 2009; Bain 2015.)

## 4 Verisolujen tarkastelu

Perusverenkuva (B-PVK) on yksi yleisin potilaalle tehtävä tutkimus. Se antaa kuvan potilaan terveydentilasta kertomalla punasolujen, valkosolujen ja verihiutaleiden määrän sekä erilaisia punasolujen ominaisuuksia. Perusveren kuvan käyttöaiheena voi olla esimerkiksi anemian diagnosointi. Perusveren kuvaa varten potilaalta otetaan laskimoverinäyte EDTA-antikoagulanttia sisältävään putkeen. (Savolainen 2015.)

Automaattinen verenkuvaa-analysointilaitteisto antaa hälytyksen, kun se havaitsee poikkeavuuden näytteessä. Hälytys voi olla seurausta todellisesta löydöksestä tai johtua näytteen poikkeavasta laadusta. Näytteessä voi olla patologisia soluja, viitearvoista poikkeavia solumääriä tai solujen poikkeavaan morfologiaan liittyviä löydöksiä. Tietyt hälytykset johtavat sivelyn tekoon, joista soluja tarkastellaan mikroskooppisesti. Mikroskopiointi voidaan suorittaa automaattimikroskoopilla tai manuaalisesti. (Savolainen 2015.) Perusveren kuvan lisäksi voidaan selvittää tarkemmin eri solujen jakautuvuutta tai ominaisuuksia muilla tutkimuksilla.

### 4.1 Valkosolujen erittelylaskenta

Perusveren kuvaa täydentävässä valkosolujen erittelylaskennassa (B-Diffi) selvitetään eri valkosolujen määrät sekä prosentuaaliset osuudet. Erityislaskennan tuloksessa eritellään lymfosyyttien, monosyyttien, neutrofiilien, eosinofiilien, basofiilien sekä sauvatumaisten solujen esiintyvyys. Epätavallisista löydöksistä syntyy hälytys, mutta nuoruusmuotojen luokkaa ei saada selville. (Bain 2015b; Duodecim 2016b & 2021d.) Valkosolut toimivat immuunipuolustuksessa erilaisia taudinaiheuttajia vastaan. Valkosoluarvot kohoavat monesta syystä ja lievästi koholla olevat arvot ovat yleisiä. Ne voivat toisaalta antaa osviittaa muiden tutkimuksien ohella esimerkiksi anemiasta, tulehduksellisista sairauksista, erilaisista syövästä, infektioista, allergioista tai autoimmuunisairauksista. (National Library of Medicine 2020; Duodecim 2021d.)

Valkosolujen erittelylaskentaa tehdään nykyisin yleisemmin automatisoidulla verenkuvaa-analysaattorilla kokoverestä, usein perusverenkuvan yhteydessä (Bain 2015b). Virtaussytometriaa hyödyntävä analysaattori kykenee laskemaan isojakin solumääriä samalla keskittyen yksittäisten solujen tarkastelemiseen. Soluista siroavasta valosta saadaan tietoa solujen rakenteesta ja koosta, jota analysaattori hyödyntää biokemiallisten ominaisuuksien avulla lajitellessaan solut omiin ryhmiinsä. (Bain 2015b; Lehtimäki 2020.)

#### 4.2 Sivelyvalmiste ja mikroskopointi

Sivelyvalmiste on EDTA-antikoaguloidusta veritipasta sivelty ja May-Grünwald-Giemsa-värjätty valmiste, jota tarkastellaan mikroskoopilla kiinnittäen huomiota soluihin ja niiden morfologisiin muutoksiin. Sivelyvalmiste on keskeisessä roolissa hematologian tutkimuksissa ja se on tärkeä menetelmä erilaisten veritautien diagnostiikassa. (Pelliniemi 1998; Bain 2015c.) Florea ym. (2012) kävivät läpi artikkelissaan sivelyvalmisteen hyötyihin, tarkoitukseen ja suorittamiseen liittyviä seikkoja todeten, että sivelyvalmisteiden tekeminen sekä tutkiminen on paikallaan verisoluarvojen ollessa poikkeavat. Sivelyiden avulla päästään käsiksi solujen morfologiaan ja sitä tarkastelemalla varmistutaan, etteivät epäilyttävät löydökset jää huomaamatta. Kaikki analysaattorin hälytyksen saaneet näytteet, joista suositellaan tehtäväksi lasi, tulee tarkastaa.

Opinnäytetyön sivelyvalmisteiden tekemiseen hyödynnettiin linjaston automaattista lasintekijää sekä värjäysautomaattia. Värjäysautomaatti hyödyntää May-Grünwald-Giemsa-värjäystä. MGG-värjäys mahdollistaa solujen erottamisen lasilta sekä niiden yksityiskohtaisten morfologisten muutoksien havaitsemisen. Värjäyskone sivelee ensin näytteen veritipan lasille ja kuivuttuaan kastaa lasin eri liuoksissa värjäyksen suorittamiseksi.

Käytettävä May-Grünwald-liuos sisältää happaman eosiinien sekä emäksisen metyleeninsinisen, joilla tumarakenteet värjäytyvät siniseksi ja sytoplasma punertavaksi. Atsuuriväriä sisältävää Giemsa hyödynnetään vastavärjäykseen, jolla korostetaan sekä tuman väriä, että solurakenteita.

Värjäysjälki tulisi aina tarkastaa niin, että sivelyvalmisteen veto on tasainen. Liian vähäinen tai suuri näytemäärä lasilla voi vääristää tulosta. (Savolainen & Tienhaara 2015; Reagena.)

Linjaston värjäyskone sekä automaattimikroskooppi nopeuttavat huomattavasti näytteen prosessointia. Klinbua ym. (2013) artikkelissaan käyvät läpi vakioitavia tekijöitä, joilla voitaisiin parantaa sivelyvalmisteiden työprosessia vähentämällä työkuormaa vaikuttamatta potilashoidon laatuun. Automatisoidulla laitteella värjäyksestä tulee toistettava.

Automatisoidun verenkuvaa-analysaattorin heikkoutena on, ettei se tunnista mahdollisia valkosolujen nuoruusmuotoja tai yksityiskohtaisempia poikkeavuuksia. Tämän vuoksi erittelylaskennan tueksi tehtävä manuaalinen tarkastelu on tärkeää, jotta solut tulee tarkastettua myös ihmissilmällä. (Bain 2015c; Savolainen & Tienhaara 2015.) Fyysinen sivelyvalmiste tarkastellaan ensin kokonaisvaltaisesti, jolloin saadaan yleiskatsaus löytyvistä soluista. Seuraavaksi valitaan lasilta sopiva laskentapaikka. Mikroskopoitavaksi alueeksi suositellaan aluetta, joka ei ole liian paksu tai ohut ja jossa solut ovat jakautuneet tasaisesti. Lasille tiputetaan tippa immersioöljyä ja vaihdetaan öljylle soveltuva tarkasteluobjektiivi. (Bain 2015c; Savolainen & Tienhaara 2015.)

Manuaalisen mikroskopoinnin huono puoli on sen työläys. Pienet lasketut solumäärät sekä vakioinnin vaikeus tekevät siitä toisinaan ongelmallisen ja huonosti toistettavan. (Savolainen & Tienhaara 2015.) Lasien tarkastelussa voidaan hyödyntää myös automaattista mikroskooppia. Automaattimikroskoopit hahmottavat erilaisia soluja omien keinotekkoisten tietokantojensa avulla, joita on mahdollista valjastaa lisää itselisiä tiedoilla. Mistä tahansa solusta voidaan analysoida satoja piirteitä, esimerkiksi muotoja, värejä, granuloita, joiden avulla tunnistus ja luokittelu tapahtuu. Automaattimikroskooppi kuvaa lasilta tietyn määrän soluja, jolloin kuvia on mahdollista tarkastella tietokoneelta käsin. Automaattimikroskooppi lajittelee solut alustavasti eri luokkiin. (Bain 2015c; Savolainen & Tienhaara 2015.)

#### 4.3 EDTA-näytteen laatuun vaikuttavat preanalyttiset tekijät

EDTA eli etyleenidiamiinitetraetikkahappo on yksi laboratoriotutkimuksissa hyödynnettävistä antikoagulanteista. Antikoagulantin tarkoitus verinäytteessä on pitää veri nestemäisessä muodossa ja estää näytteen hyytyminen. EDTA-putket ovat yleisesti käytössä hematologian tutkimuksissa, sillä sen sisältämällä antikoagulantilla on verisolujen morfologiaan vähäisin vaikutus. (Banfi, Salvagno & Lippi 2007.) EDTA tulee sekoittaa näytteeseen huolellisesti. Näytteen huonosta sekoittamisesta johtuvat mahdolliset mikrohytyymät voivat vaikuttaa mitattavien parametrien tuloksiin. (Savolainen 2015.)

Näyte on oltava tutkimusta varten edustava. Antikoagulanttia sisältävän näytteen oikea täyttömäärä on tärkeä huomioida, jotta näytteen ja antikoagulantin suhde olisi optimaalinen. Näytteet on otettava oikeassa näytteenottojärjestyksessä, jonka tarkoituksena on estää eri putkien lisäaineiden sekoittuminen tai siirtyminen seuraavaan putkeen. (VSSH 2021). Näytteenotossa on huomioitava näytteen hemolyysin estäminen. Hemolyysisessä näytteessä osa soluista ovat hajonneita, jolloin niitä ei voida enää tunnistaa niiden morfologian perusteella. Hemolyysiä aiheuttaa esimerkiksi liian pitkään kiinni ollut kiristys käsivarressa ja pidentynyt tai hankala näytteenotto. (LABQUALITY 2022.)

#### 4.4 Näytteen säilytyksestä johtuvat solumorfologiset muutokset

Morfologialla tarkoitetaan muoto-oppia. Solumorfologiaa tarkastellessa kiinnitetään huomiota solun muotoon ja rakenteellisiin eroavaisuuksiin. Solujen morfologiaa tarkastelemalla voidaan solut jakaa eri hematopoieettisiin linjoihin. (Duodecim 2016.)

Solujen morfologian on todettu alkavan muuttua jo puolen tunnin kuluttua näytteenotosta. Soluja voi alkaa hajoamaan näytettä säilyttäessä pitkään tai väärin. Hajonneet solut saattavat vääristää solujen suhteita veressä tai olla tyypillinen indikaattori esimerkiksi kroonisessa lymfaattisessa leukemiassa (Vives-Corrons ym. 2014; Bain 2015c).

Hajonneelle solulle tyypillistä on sytoplasman hajoaminen ja leviämien ulos muodosta, sekä mahdollinen granulan ja tuman rikkoutuminen. Täysin hajonnut solu ilmenee lasilla usein "tahrana". (Ek 2009; LabCE 2016.)

Perusverenkuva (B-PVK), veren valkosolujen erittelylaskentaa (B-Diffi) sekä sivelyvalmisteen tekoa varten TYKS Laboratoriot tutkimusohjekirjassa määritetään edustavan näytteen säilymisajaksi kahdeksan tuntia huoneenlämmössä ja 48 tuntia jääkaapissa (TYKS Laboratoriot 2021). Näytteiden parametreissa tapahtuu muutoksia sitä enemmän, mitä kauemmin näytteenoton ja näytteen analysoinnin välillä kuluu aikaa (Vives-Corrans ym. 2014). Liian pitkä säilytysaika tai väärä säilytyslämpötila johtaa solujen turpoamiseen, solun hajoamiseen ja veren valkosolujen sekä verihiutaleiden määrän vähenemiseen. Myös huoneenlämmössä pitkään pidetyn näytteen solujen osmoottinen resistenssi laskee. Muutokset soluissa lisäävät siten verenkuvaa-analysaattorien tekemiä vääriä hälytyksiä, joten sivelyvalmisteet ovat suositeltu tehtäväksi mahdollisimman tuoreesta näytteestä. Kehittyneet analysaattoritekniikat ovat kuitenkin mahdollistaneet huoneenlämmössäkin säilytettyjen näytteiden pidemmät analyysivälit, vaikkakin vain osalle analyyseistä. (Savolainen & Tienhaara 2015.) Näytemäärien kasvaessa ja tutkimuksia keskitettäessä suurimpiin laboratorioihin, näytteiden kuljetus- ja varastointiaika ennen analysointia kasvaa. Luotettavat tulokset ovat perusta potilaan saamalle oikealle hoidolle, joten näytteille on määritettävä tarkasti säilytysajat. (Vives-Corrans ym. 2014.)

Joillakin on veressään kylmäagglutiniineja, jotka aiheuttavat punasolujen kasaantumiseen kylmäsäilytyksessä (Mustjoki ym. 2015; Adiguzel ym. 2017). Taipumusta kutsutaan kylmä-AIHA:ksi eli autoimmuunihemolyyttiseksi anemiaksi. Sairaus aiheuttaa vasta-ainetuotannon joidenkin punasolujen kalvon antigeeneja vastaan, jolloin kyseisten antigeenien verhoamat punasolut hajoavat. (Bain 2015d; Mustjoki ym. 2015; Adiguzel ym. 2017; Salonen 2019.) Jääkaappisäilytyksessä näytteen kylmäagglutiniinit aktivoituvat, jolloin ne yhdessä komplementin kanssa sitoutuvat punasolun pinnalle.

Tämä aiheuttaa komplementin aktivaation ja täten punasolujen agglutinaation, eli yhteen liimautumisen. Näytteen lämpötilan nostaminen voi auttaa punasoluja irtautumaan toisistaan, mutta komplementti pysyy punasolun pinnalla lämmityksestä huolimatta. Agglutinaatio vaikuttaa näytteen punasoluarvoihin kohottavasti. Valkosoluarvot pysyvät yleisesti samana, mutta yhteen liimautuneet punasolut voivat jättää valkosolut puristuksiin, jolloin valkosolun muoto saattaa muuttua. (Bain 2015d; Adiguzel ym. 2017.)

Gene ym. (2002) ovat tutkineet perusverenkuvassa ja valkosolujen erittelylaskennan muutoksia, jotka tapahtuvat ajan kuluessa verinäytettä säilyttäessä huoneenlämmössä. Kyseisessä tutkimuksessa tutkimusmateriaalina käytettiin 40:tä huoneenlämpöisiä EDTA-putkiin otettuja verinäytteitä, joita ajettiin kerran vuorokaudessa noin viikon ajan. Tuloksissa huomattiin, että neutrofiilien, lymfosyyttien, monosyyttien ja eosinofiilien prosentuaalisten määrien muuttuvan. Basofiileistä ei saatu merkittäviä tuloksia. Lopputuloksena todettiin, että verinäytteet, jotka ovat olleet huoneenlämmössä yli yhden päivän ja enintään kolmen päivän ajan voivat olla hyväksyttäviä tuloksiltaan perusverenkuvaan, mutta ei valkosolujen erittelylaskentaan.

Ozarda ja Unalli (2021) tutkivat samojen parametrien säilyvyyttä kolmessa eri lämpötilassa säilytetyistä näytteistä. Tutkimuksia tehtiin kahdeksassa eri aikapisteessä. Tutkimuksissa punasolut, verihiutaleet, sekä hemoglobiinin määrä havaittiin stabiileiksi kahden vuorokauden aikana säilyttäessä 4°C, 10°C ja 23°C asteessa. Tutkimusten suurin muutos havaittiin valkosoluihin liittyvissä parametreissa. Eosinofiilien ja neutrofiilien määrät laskivat, kun taas lymfosyytti- ja basofiilimäärät lisääntyivät 12 tunnin säilytyksen jälkeen 23 °C:ssa. Tulokset pysyivät hieman stabiilimpana 4 °C:ssa säilyttäessä, mutta silti valkosoluissa tapahtui suuria muutoksia säilyttäessä 12 tunnin ajan.

## 5 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite

Opinnäytetyön aihe on valkosolujen morfologinen säilyvyys EDTA-näytteessä säilytysajan edetessä. Tämän opinnäytetyön tarkoitus oli tutkia valkosolujen morfologista säilyvyyttä säilytysajan edetessä.

Tämän opinnäytetyön tavoite oli selvittää, onko veren sivelyvalmiste mahdollista tehdä EDTA-näytteestä pidemmällä näytteen säilytysaikavälillä ilman, että valkosolujen morfologia merkittävästi kärsii. Pidempi säilyvyys mahdollistaisi näytteenoton ja lasinteon välisen ajan venyttämisen ja lasinteon näytteen vastaanottavassa tekopaikassa.



## 6 Opinnäytetyön käytännön toteutus

Opinnäytetyön aihe saatiin TYKS Laboratorion, Kliinisen kemian vastuualueen hematologian laboratorion kautta. Bioanalytikkokoulutuksella on TurkuCRC:n myöntämä lupa toimia VSSH:n alueella ja tämä opinnäytetyö tehtiin myönnetyn hankkeen osana (TurkuCRC T163/2017). Tutkimussuunnitelma hyväksyttiin alkuvuodesta 2022. Käytännön toteutus alkoi keväällä 2022. Opinnäytetyön tulokset saatiin valmiiksi syyskuussa 2022. Lopullinen raportti valmistui marraskuussa 2022.

Opinnäytetyö toteutettiin toiminnallisena. Toiminnallisen opinnäytetyön tunnuspiirre on lopputuotoksena syntyvä käytännönläheinen oman alan tuntemusta tukeva esitys, jolla voidaan mahdollisuuksien mukaan kehittää toimintatapoja (Vilka & Airaksinen 2003; Salonen 2013). Tarkoituksena oli selvittää valkosolujen morfologista säilyvyyttä säilytysajan edetessä. Opinnäytetyön tulokset esitellään kvantitatiivisesti. Tulokset kerättiin Excel-tilukkoa apuna käyttäen kokonaisuuksiksi, joista muodostettiin tulokset muutoksista kaavioita apuna käyttäen.

Näytteet opinnäytetyön toteutusta varten kerättiin arkistoiduista EDTA-näytteistä, joista oli jo tehty kaikki potilaalle pyydetyt tutkimukset. Näytteet haettiin arkistosta, niistä poistettiin potilastiedot laboratorion tietosuojakäytäntöjen mukaisesti ja ne merkittiin juoksevilla numeroilla. Näytteisiin tulostettiin yksilöivä viivakooditarra, joka ohjasi näytteen oikeille laitteille Automaatio- ja päivystyslaboratorion hematologian linjastolla. Viivakoodin ja tunnuksen myötä näytteiden tulokset jäivät automaattimikroskoopin tietokantaan, josta niitä pystyi myöhemmin tarkastelemaan tietokoneelta käsin.

Aineisto koostui 40:stä (n=40) EDTA-näytteestä, joita ajettiin neljänä eri päivänä. Näytteistä puolet (n=20) ajettiin huoneenlämpöisinä ja puolet (n=20) jääkaappilämpötilassa säilytettyinä. Linjastolla näytteet ohjautuivat automaattisesti ensin verokuva-analysaattorille, sen jälkeen lasintekoautomatille ja lopuksi automaattimikroskoopille.

Yhden näytteen viimeisestä ajosta ei teknisistä syistä saatu lainkaan lasia, joten näytteellä on ainoastaan kolme lasia. Näin ollen sivelylaseja valmistui n=159. Näytteiden ajoajankohdat olivat neljän, kahdeksan, kymmenen ja kahdentoista tunnin kuluttua näytteenotosta. Tutkimuksen solumäärien lähtötilanne alkoi neljännestä säilytystunnista. Lasit ja muut tarvittavat välineet saatiin opinnäytetyön toimeksiantajalta.

Automaattimikroskooppi ottaa noin 200:sta sivelyvalmisteen solusta kuvia ja tekee niistä lajittelun neutrofiileihin, basofiileihin, eosinofiileihin, monosyytteihin, lymfosyytteihin, nuoruusmuotoihin sekä hajonneisiin soluihin. Osa kuvista ohjautuu lisäksi tunnistamattomiin soluihin, artefaktihin, trombosyytteihin tai erythroblasteihin. Kaikista ryhmistä tarkastettiin kuvat yksitellen ja tarvittaessa lajiteltiin oikeisiin ryhmiin. Tässä työssä keskityttiin ainoastaan automaattisen mikroskoopin ottamiin kuviin ja tuloksiin.

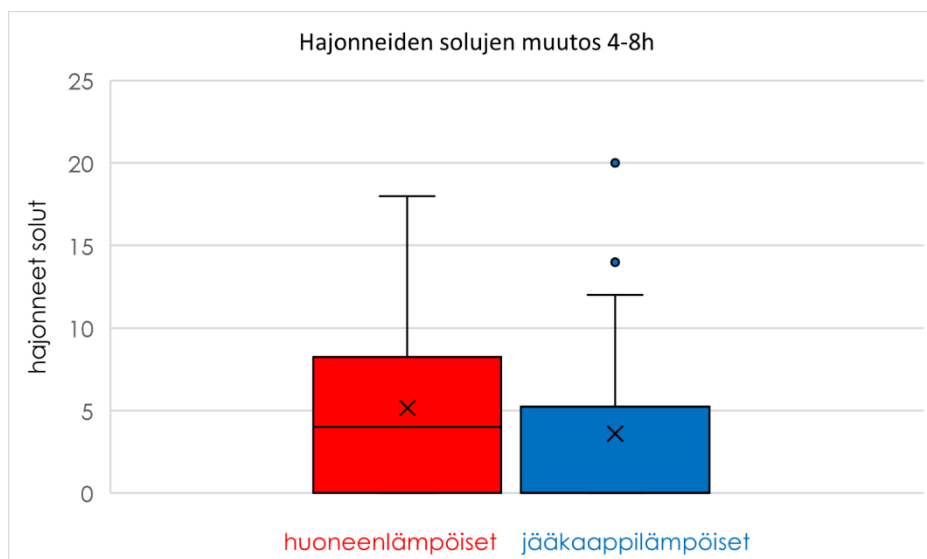
Tulokset, eli automaattimikroskoopin lajittelemat solut käytiin yksitellen läpi. Haastavien solujen kohdalla neuvoa kysyttiin hematologian laboratorion työntekijöiltä, jotka myös tarkastivat lopulliset jaottelut. Jokaisesta soluryhmästä ilmoitettiin kuvattujen solujen kappalemäärä sekä niiden prosenttiosuus. Tuloksien tarkastelu rajattiin solujen kappalemääriin, sillä hajonneet solut eivät kuuluneet muiden solujen kokonaismäärään, eikä niistä näin ollen ollut prosenttiosuuksia. Tulokset kerättiin Excel-taulukkoon. Niistä seurattiin hajonneiden solujen sekä eri soluryhmien solumääriä, jotta havaittaisiin solujen mahdollinen hajoaminen säilytysajan edetessä, sekä missä soluryhmissä hajoamista tapahtuisi.

## 7 Tulokset

Tuloksissa käsitellään kaavioiden avulla hajonneiden solujen ja eri soluryhmien solujen numeraalisten määrien muutoksia Excel-taulukon kerättyjen arvojen pohjalta. Excel-taulukon arvot muodostuivat automaattimikroskoopin ottamista solujen kuvista, joita oli noin 200 lasia kohden. Näytteiden valkosolujen mahdolliset varhaismuodot jätettiin tuloksissa huomiotta niiden vähäisyyden vuoksi. Tuloksia tarkasteltiin aikapisteiden ja lähtöarvon välillä, ajojen aikavälien perusteella sekä soluryhmien näkökulmasta. Muutos laskettiin vähentämällä verrattavasta tuloksesta alkuperäinen tulos.

### 7.1 Muutokset hajonneiden solujen määrissä verrattuna lähtöarvoon

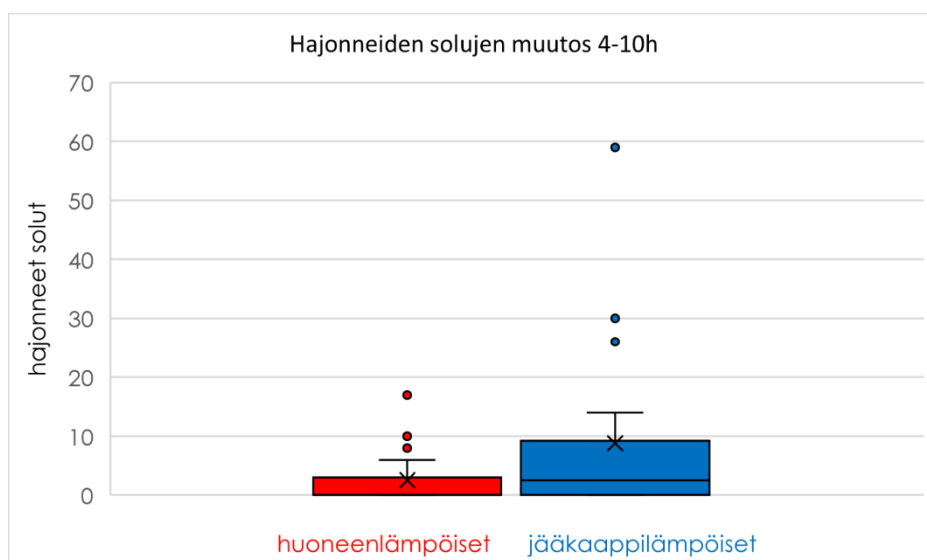
Ensimmäisenä tuloksista tarkasteltiin hajonneiden solujen määrien muutoksia kunkin aikapisteen ja lähtöarvon välillä. Jos tulokseksi saatiin negatiivinen muutosarvo hajonneista soluista, merkattiin se 0-arvona, sillä silloin hajonneiden solujen määrä ei ole kasvanut. Tulosten havainnollistamiseen käytettiin laatikkojaka-kuvioita.



Kuvio 1. Hajonneiden solujen muutos neljän ja kahdeksan tunnin välillä

Neljän ja kahdeksan tunnin välisiä hajonneiden solujen määrän muutoksia verrattiin huoneenlämpöisten ja jääkaappilämpöisten näytteiden välillä (Kuvio 1). Huoneenlämpöisten näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 18 solua, mediaani 4 solua ja keskiarvo 5,2 solua. Kvartiiliväli oli 8,3 solua. Jääkaapissa säilytettyjen näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 20 solua, mediaani 0 solua ja keskiarvo 3,6 solua. Kvartiiliväli oli 5,3 solua. Kahden näytteen solujen muutos oli poikkeava (14 ja 20 solua). Jos nämä poikkeavat arvot jätettäisiin huomiotta, olisi maksimaallinen muutos ollut 12 solua.

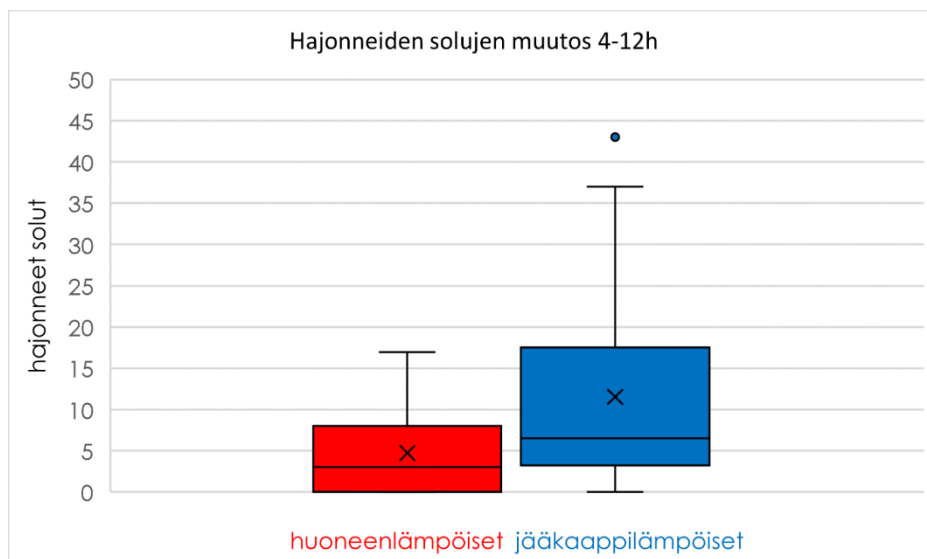
Tuloksissa huomattiin, että huoneenlämpöisillä näytteillä hajonneiden solujen määrä kasvoi enemmän verrattuna jääkaappilämpöisiin näytteisiin. Huoneenlämmössä säilyttäessä hajosi eniten hajoamista omaavilla näytteillä kuusi solua enemmän kuin jääkaappilämpöisillä näytteillä. Molemmissa lämpötiloissa huomattiin hajonneiden solujen määrän kasvun vaihtelua, huoneenlämpöisillä näytteillä kvartiiliväli oli hieman suurempi. Jääkaappisäilytetyissä tyypillisin muutos oli 0 hajonnutta solua, kun taas huoneenlämmössä tyypillisin muutos oli neljä hajonnutta solua lisää kahdeksan tunnin kohdalla.



Kuvio 2. Hajonneiden solujen muutos neljän ja kymmenen tunnin välillä

Neljän ja kymmenen tunnin välisiä hajonneiden solujen määrän muutoksia verrattiin huoneenlämpöisten ja jääkaappilämpöisten näytteiden välillä (Kuvio 2). Huoneenlämpöisten näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 17 solua, mediaani 0 solua ja keskiarvo 2,5 solua. Kvartiiliväli oli 3 solua. Kolmen näytteen solujen muutos oli poikkeava (8, 10 ja 17 solua). Jos nämä poikkeavat arvot jätettäisiin huomiotta, olisi maksimaallinen muutos 6 solua. Jääkaapissa säilytettyjen näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 59 solua, mediaani 2,5 solua ja keskiarvo 8,8 solua. Kvartiiliväli oli 9,3 solua. Kolmen näytteen muutokset olivat poikkeavia (26, 30 ja 59 solua). Jos nämä poikkeavat arvot jätettäisiin huomiotta, olisi maksimaallinen muutos 14 solua.

Tuloksissa huomattiin, että neljän ja kymmenen tunnin välillä jääkaappilämpöisillä näytteillä hajonneiden solujen määrä lisääntyi enemmän huoneenlämpöisiin näytteisiin verrattuna. Neljän ja kahdeksan tunnin välillä tulos oli ollut päinvastainen. Jääkaappisäilytyksessä yksittäisen näytteen hajonneiden solujen määrä oli kasvanut 59 solua. Jääkaappilämpötilassa havaittiin hajonneiden solujen määrän vaihteluvälin olevan kolme kertaa enemmän kuin huoneenlämpöisillä.

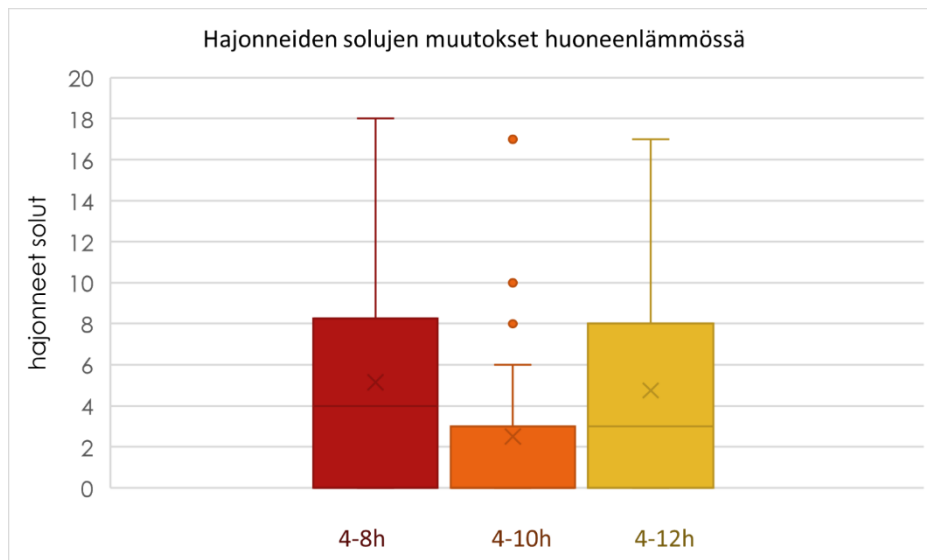


Kuvio 3. Hajonneiden solujen muutos neljän ja kahdentoista tunnin välillä

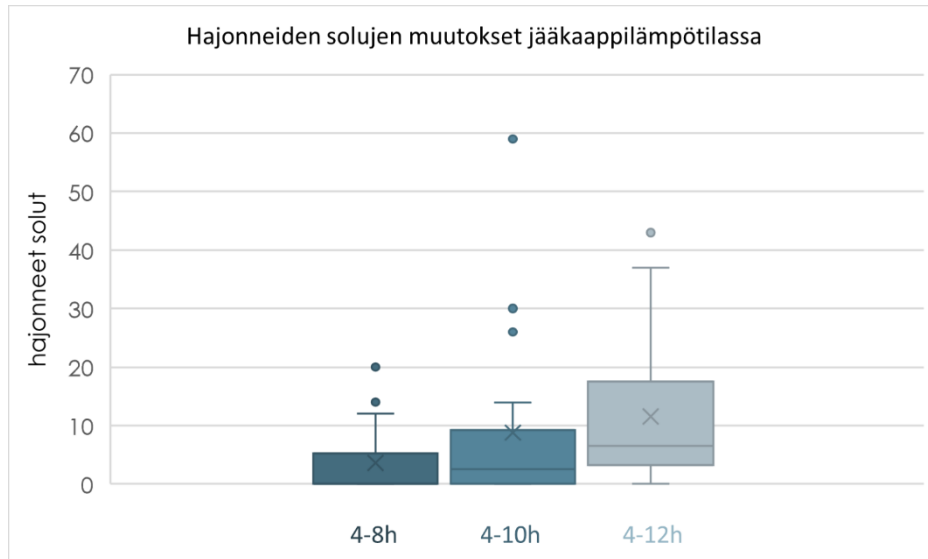
Neljän ja kahdentoista tunnin välisiä hajonneiden solujen määrän muutoksia verrattiin huoneenlämpöisten ja jääkaappilämpöisten näytteiden välillä (Kuvio 3). Huoneenlämpöisten näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 17 solua, mediaani 3 solua ja keskiarvo 4,8 solua. Kvartiiliväli oli 8 solua. Jääkaapissa säilytettyjen näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 43 solua, mediaani 6,5 solua ja keskiarvo 11,6 solua. Kvartiiliväli oli 14,3 solua. Yhden näytteen solumuutos oli poikkeava (43 solua). Jos tämä poikkeava arvo jätettäisiin huomiotta, olisi maksimaalinen muutos ollut 37 solua.

Tuloksissa huomattiin, että jääkaappilämpöisissä näytteissä hajonneiden solujen määrä lisääntyi enemmän verrattuna huoneenlämpöisiin näytteisiin. Jääkaapissa säilyttäessä hajosi näytteissä, joissa hajoaminen oli suurinta, 20 solua enemmän kuin huoneenlämpösäilytyksessä. Jääkaappilämpötiloissa oli kuitenkin huomattavissa suurempi hajonneiden solujen vaihteluväli. Jääkaappisäilytetyissä mediaani oli kaksinkertainen verrattuna huoneenlämpösäilytettyihin näytteisiin.

Lopuksi saadut muutokset koottiin vielä yhteen lämpötilojen mukaan (Kuviot 4 ja 5).



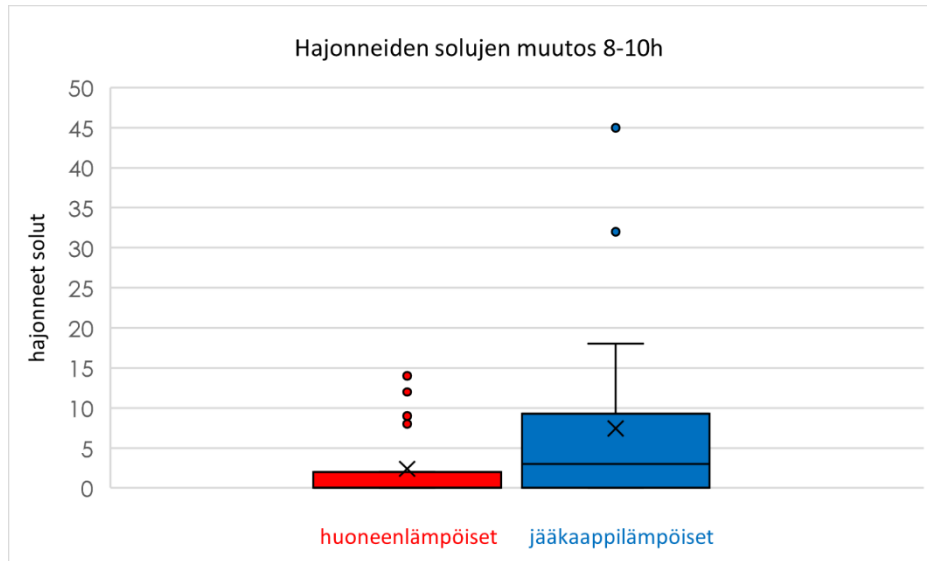
Kuvio 4. Hajonneiden solujen muutokset huoneenlämmössä verrattuna neljän tunnin arvoon



Kuvio 5. Hajonneiden solujen muutokset jääkaappilämpötilassa verrattuna neljännen tunnin arvoon

## 7.2 Muutokset hajonneiden solujen määrissä ajojen välillä

Seuraavaksi hajonneiden solujen muutoksia tarkasteltiin eri aikavälien perusteella. Tarkoituksena oli selvittää, tapahtuuko huomattavaa muutosta jossakin tietyssä aikavälissä. Tulosten esittämiseen käytettiin laatikko-jana-kuvioita ja mahdolliset negatiiviset arvot muutettiin 0-arvoiksi. Ensimmäisen neljän ja kahdeksan tunnin välinen muutos on esitelty kohdassa 6.1.



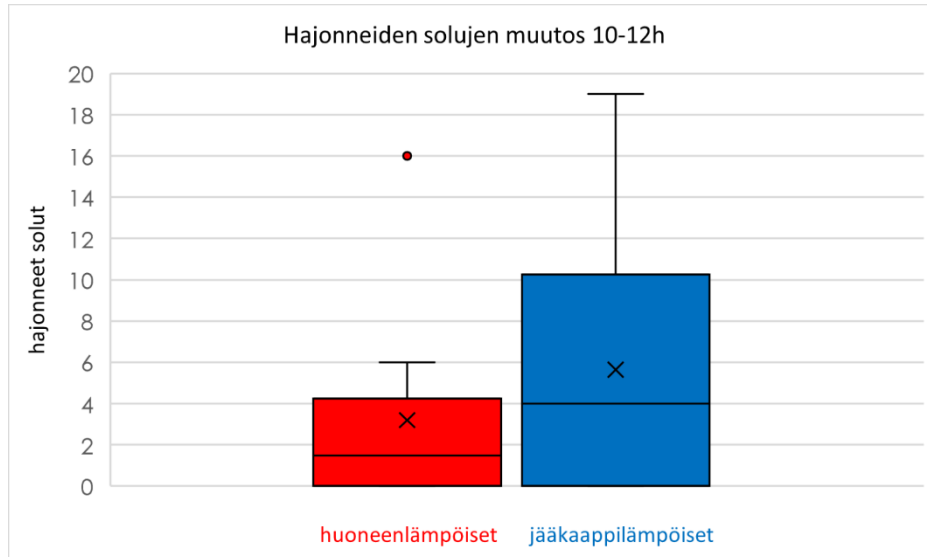
Kuvio 6. Hajonneiden solujen muutos kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä

Seuraavaksi verrattiin kahdeksan ja kymmenen tunnin välisiä hajonneiden solujen muutoksia huoneenlämpöisten ja jääkaappilämpöisten näytteiden välillä (Kuvio 6). Huoneenlämpöisten näytteiden muutokset olivat seuraavat: minimumuutos 0 solua, maksimumuutos 14 solua, mediaani 0 solua ja keskiarvo 2,4 solua. Kvartiiliväli oli 2 solua. Neljän näytteen muutokset olivat poikkeavat muista tuloksista (8, 9, 12 ja 14 solua). Jos poikkeavat solut jätettäisiin huomioimatta, maksimumuutos olisi 2 solua. Jääkaappilämpöisillä näytteillä muutokset olivat seuraavat: minimumuutos 0 solua, maksimumuutos 45 solua, mediaani 3 solua ja keskiarvo 7,5 solua. Kvartiiliväli oli 9,3 solua. Kahden näytteen muutokset olivat poikkeavat muista tuloksista (32 ja 45 solua). Jos poikkeavat solut jätettäisiin huomioimatta, maksimumuutos olisi 18 solua.

Tuloksissa huomattiin, että jääkaappilämpöisten näytteiden hajonneiden solujen määrien muutokset olivat suurempia kuin huoneenlämpöisillä näytteillä. Kvartiiliväli oli jääkaappilämpöisillä näytteillä 4,7 kertaa suurempi kuin huoneenlämpöisillä näytteillä. Mediaanit olivat molempien lämpötilojen näytteissä matalat. Myös maksimumuutos ilman poikkeavia tuloksia on huomattavasti korkeampi jääkaappisäilytyksessä.



Huoneenlämpöisillä näytteillä oli kaksi poikkeavaa arvoa enemmän, mutta nämä, mukaan lukien jääkaappilämpöisten näytteiden poikkeavat arvot, olivat vain yksittäisiä korkeampia tuloksia muiden joukossa.

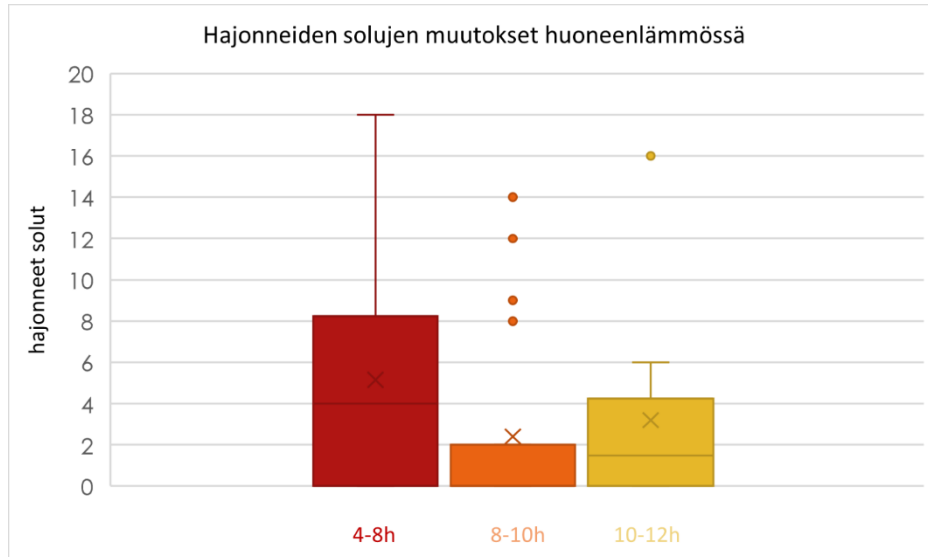


Kuvio 7. Hajonneiden solujen muutos kymmenen ja kahdentoista tunnin välillä

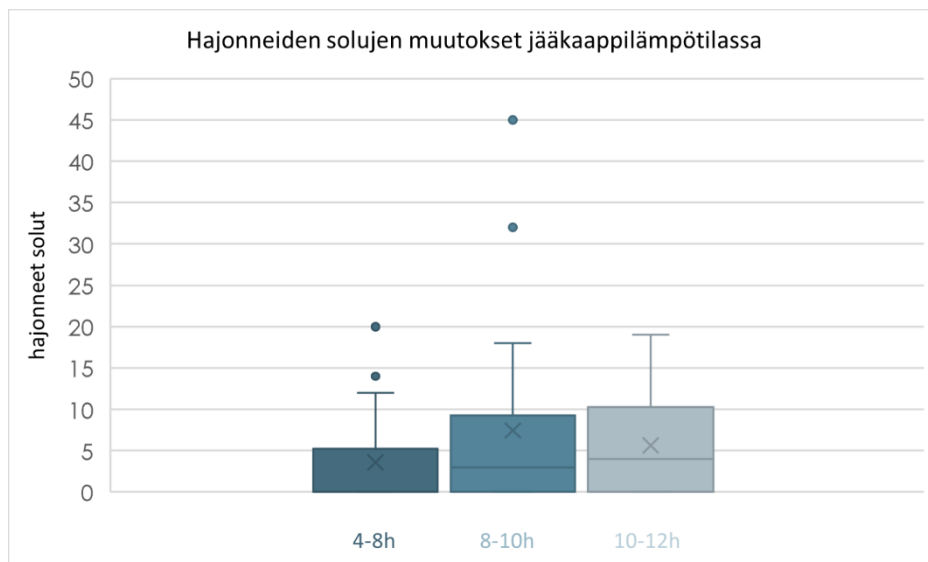
Viimeiseksi verrattiin vielä kymmenen ja kahdentoista tunnin ajovälin hajonneiden solujen muutoksia huoneenlämpöisillä ja jääkaappilämpöisillä näytteillä (Kuvio 7). Huoneenlämpöisissä näytteissä oli seuraavat muutokset: minimimuutos oli 0 solua, maksimimuutos 16 solua, mediaani 1,5 solua ja keskiarvo 3,2 solua. Kvartiiliväli oli 4,3 solua. Yhden näytteen muutos oli poikkeava muista tuloksista (16 solua). Jos poikkeava tulos jätettäisiin huomioimatta, maksimimuutos olisi 6 solua. Jääkaappilämpöisillä näytteillä oli seuraavia muutoksia: minimimuutos 0 solua, maksimimuutos 19 solua, mediaani 4 solua ja keskiarvo 5,7 solua. Kvartiiliväli oli 10,3 solua. Poikkeavia tuloksia muiden näytteiden tuloksiin verrattuna ei ollut.

Myös kymmenen ja kahdentoista tunnin ajovälin välillä jääkaappilämpöisten näytteiden hajonneiden solujen määrät kasvoivat enemmän kuin huoneenlämpöisten näytteiden. Kvartiiliväli oli jääkaappilämpöisillä 2,4 kertaa suurempi kuin huoneenlämpöisillä. Huoneenlämpöisten näytteiden joukossa ollut poikkeava arvo oli yksittäinen, eikä näin ollen merkittävä.

Mediaanit olivat kummassakin pienet, mutta solujen hajoamismäärissä oli selkeästi suurempi vaihteluväli verrattuna aikaisempaan. Lopuksi saadut muutokset koottiin vielä yhteen lämpötilojen perusteella (Kuviot 8 ja 9).



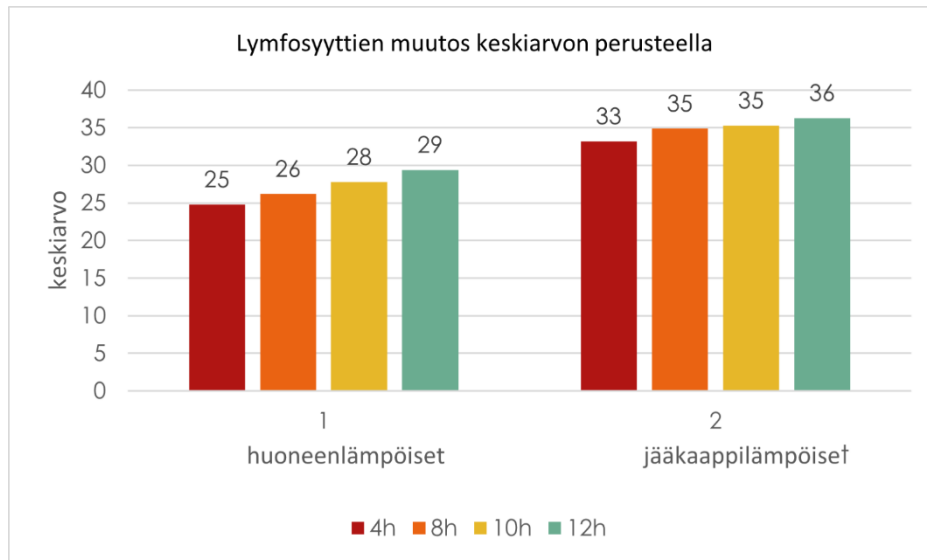
Kuvio 8. Hajonneiden solujen muutokset huoneenlämmössä aikaväleittäin



Kuvio 9. Hajonneiden solujen muutokset jääkaappilämpötilassa aikaväleittäin

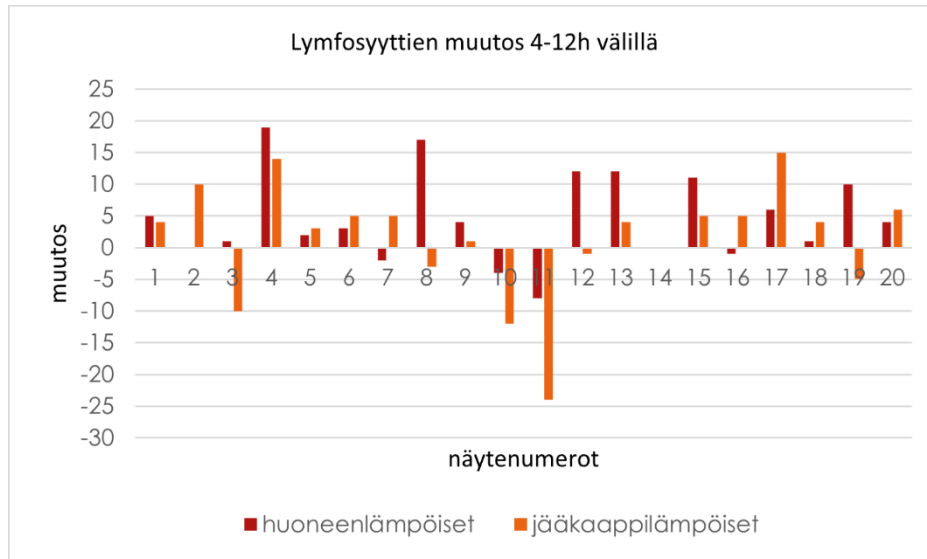
## 7.3 Muutokset eri soluryhmissä

### 7.3.1 Lymfosyytit



Kuvio 10. Lymfosyyttien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella

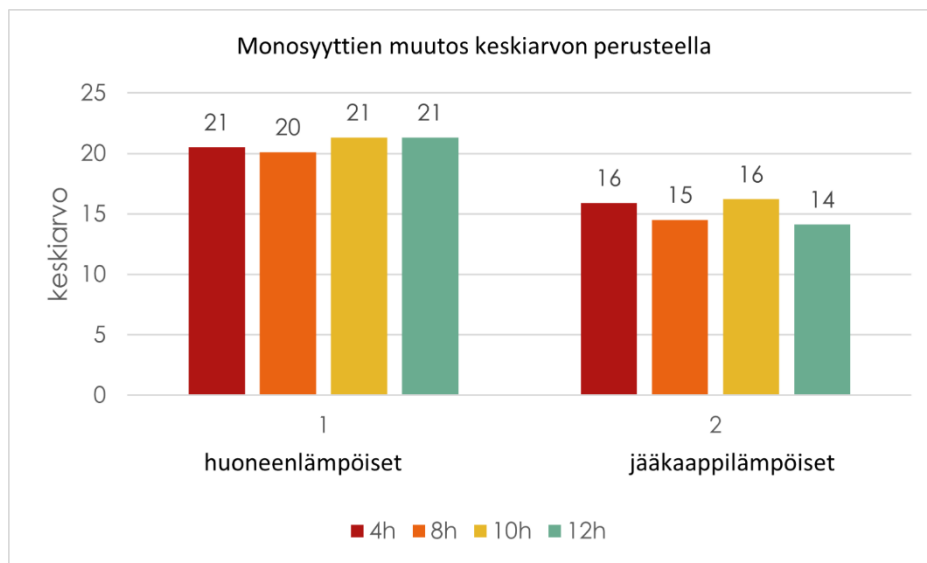
Tuloksista vertailtiin ensin lymfosyyttien muutosta ajan kuluessa keskiarvojen perusteella (Kuvio 10). Keskiarvot muodostettiin lymfosyyttien lukumääristä kunkin tarkkailtavan tunnin kohdalla. Huoneenlämpöisten näytteiden lymfosyyttien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 25, kahdeksan tunnin kohdalla 26, kymmenen tunnin kohdalla 28 ja kahdentoista tunnin kohdalla 29. Näiden keskiarvojen perusteella voidaan havaita, että lymfosyyttien määrä näytteissä lisääntyy ajan edetessä. Sama tapahtui jääkaappilämpöisten näytteiden lymfosyyteille – neljän tunnin kohdalla keskiarvo oli 33, kahdeksan tunnin kohdalla 35, kymmenen tunnin kohdalla 35 ja kahdentoista tunnin kohdalla 36. Huoneenlämpöisten näytteiden lymfosyyttien keskiarvot olivat pienempiä kuin jääkaappilämpöisillä. Toisaalta jääkaappilämpöisten näytteiden keskiarvojen vaihteluväli on vähän pienempi kuin huoneenlämpöisillä. Molemmat lämpötilat olivat kuitenkin noususuhdanteeltaan samanlaisia.



Kuvio 11. Lymfosyyttien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä

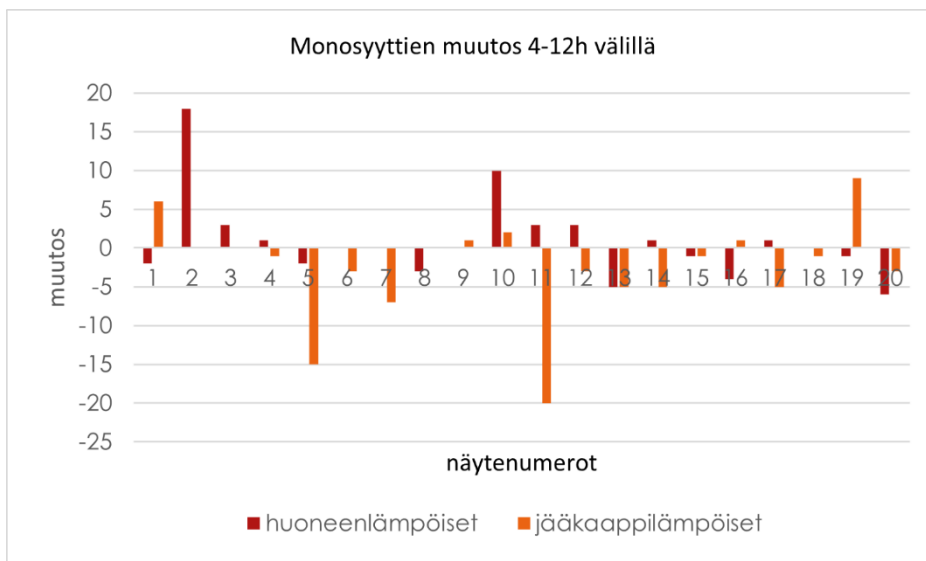
Lymfosyyttien tuloksia tarkasteltiin vielä näytteiden näkökulmasta (Kuvio 11). Valtaosalla näytteistä, sekä molemmissa säilytyslämpötiloissa tai vain toisessa, lymfosyyttien määrä lisääntyi. Hajoamista havaittiin vähemmän, mutta molemmissa lämpötiloissa. Hajoamismuutokset olivat selkeästi yksittäisiä tapauksia.

### 7.3.2 Monosyytit



Kuvio 12. Monosyyttien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella

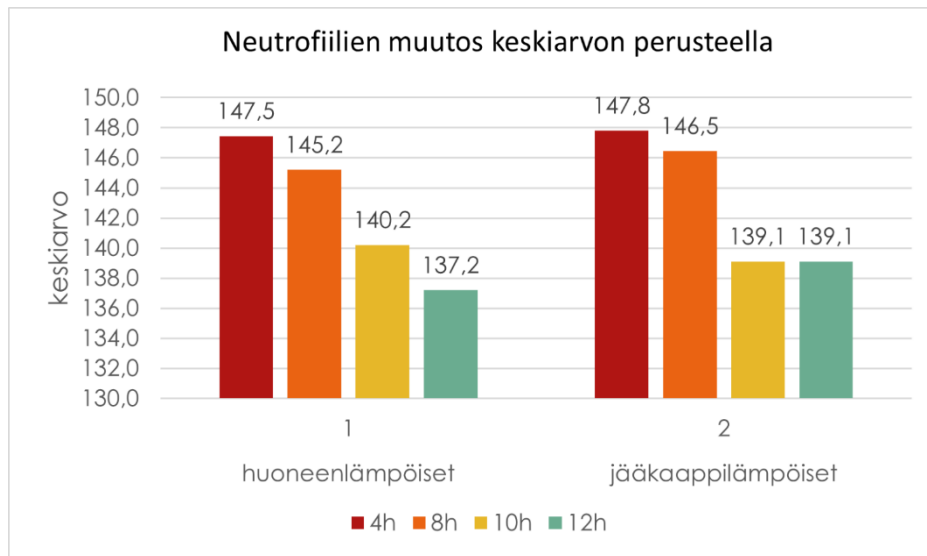
Kuviossa 12 on esitetty monosyyttien muutos keskiarvoina ajan kuluessa. Keskiarvot muodostettiin kunkin aikapisteen kohdalla. Huoneenlämpöisten näytteiden monosyyttien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 21, kahdeksan tunnin kohdalla 20, kymmenen tunnin kohdalla 21 ja kahdentoista tunnin kohdalla 21. Jääkaappilämpöisillä näytteillä monosyyttien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 16, kahdeksan tunnin kohdalla 15, kymmenen tunnin kohdalla 16 ja kahdentoista tunnin kohdalla 14. Keskiarvojen perusteella voidaan havaita, että monosyyttien lukumäärät kunkin tunnin kohdalla pysyivät suhteellisen samana, eikä lämpötilalla ollut suurta vaikutusta. Monosyyttien määrät lisääntyivät sekä vähenivät.



Kuvio 13. Monosyyttien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä

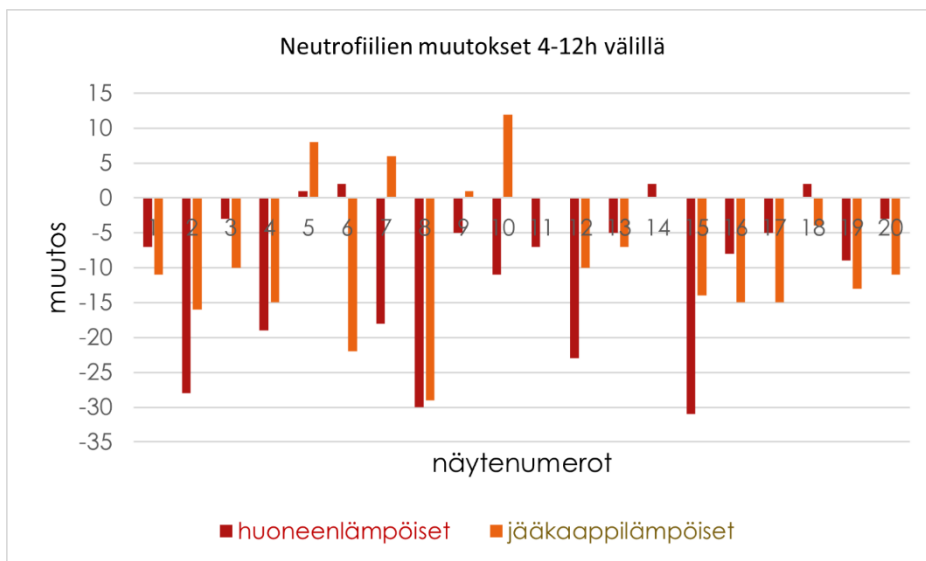
Monosyyttien muutoksia tarkasteltiin lopuksi näytteiden näkökulmasta ensimmäisen ja viimeisen ajon välillä (Kuvio 13). Huoneenlämpöisissä näytteissä monosyyttien määrät lisääntyivät, vähenivät tai pysyivät muuttumattomina. Lisääntyvien muutosten joukossa oli pari korkeampaa yksittäistä tulosta. Jääkaappilämpötilassa säilytetyissä näytteissä monosyyttien hajoamista tapahtui enemmän.

### 7.3.3 Neutrofiilit



Kuvio 14. Neutrofiilien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella

Tuloksista vertailtiin ensin neutrofiilien määrän muutosta ajan kuluessa keskiarvojen perusteella (Kuvio 14). Keskiarvot muodostettiin kunkin tarkkailtavan tunnin neutrofiilien numeerisista arvoista. Huoneenlämpöisten näytteiden neutrofiilien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 147,5, kahdeksan tunnin kohdalla 145,2, kymmenen tunnin kohdalla 140,2 ja kahdentoista tunnin kohdalla 137,2. Jääkaappilämpöisissä näytteissä neljän tunnin kohdalla keskiarvo oli 147,8, kahdeksan tunnin kohdalla 146,5, kymmenen tunnin kohdalla 139,1 ja kahdentoista tunnin kohdalla 139,1. Näiden keskiarvojen perusteella voidaan todeta, että neutrofiilien määrä näytteissä vähenee ajan kuluessa. Vähentyminen lisääntyy selkeästi 10–12 tunnin kohdalla. Keskiarvoja vertailtaessa oli neutrofiilien määrä vähentynyt ensin enemmän huoneenlämpöisissä näytteissä neljän ja kahdeksan tunnin välillä, mutta sitten neljän ja kymmenen tunnin aikana hajoaminen lisääntyi jääkaappilämpöisissä näytteissä. Lopulta neljän ja kahdentoista tunnin kohdalla huoneenlämpöisissä näytteissä oli hajonnut hieman enemmän neutrofiileja. Tulos on molemmissa säilytyslämpötiloissa se, että neutrofiilien määrä vähenee näytteitä säilyttäessä 10–12 tunnin ajan näytteenotosta.

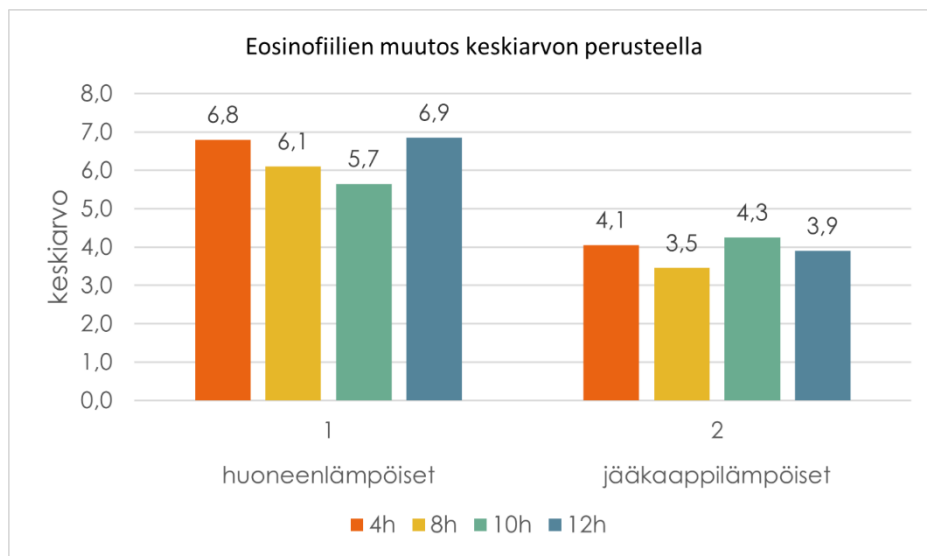


Kuvio 15. Neutrofiilien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä

Tuloksia tarkkailtiin vielä näytteiden näkökulmasta neljän ja kahdentoista tunnin aikaväliltä (Kuvio 15). Lähes kaikissa näytteissä neutrofiilien määrät vähenivät säilytyslämpötilasta riippumatta. Huoneenlämpöisissä näytteissä neutrofiilien määrä väheni maksimissaan 31 solua ja jääkaappilämpöisissä maksimissaan 29 solua.

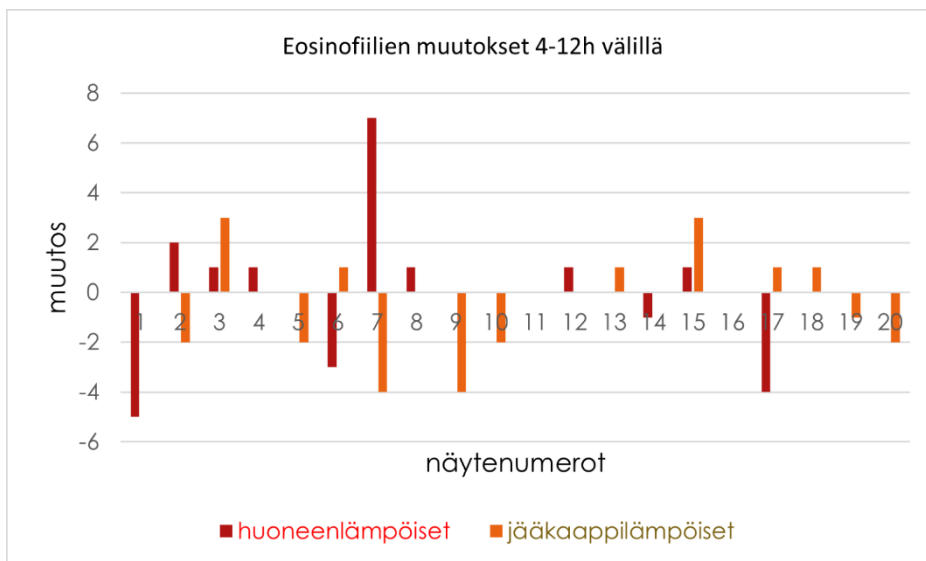


### 7.3.4 Eosinofiilit



Kuvio 16. Eosinofiilien muutos keskiarvon perusteella

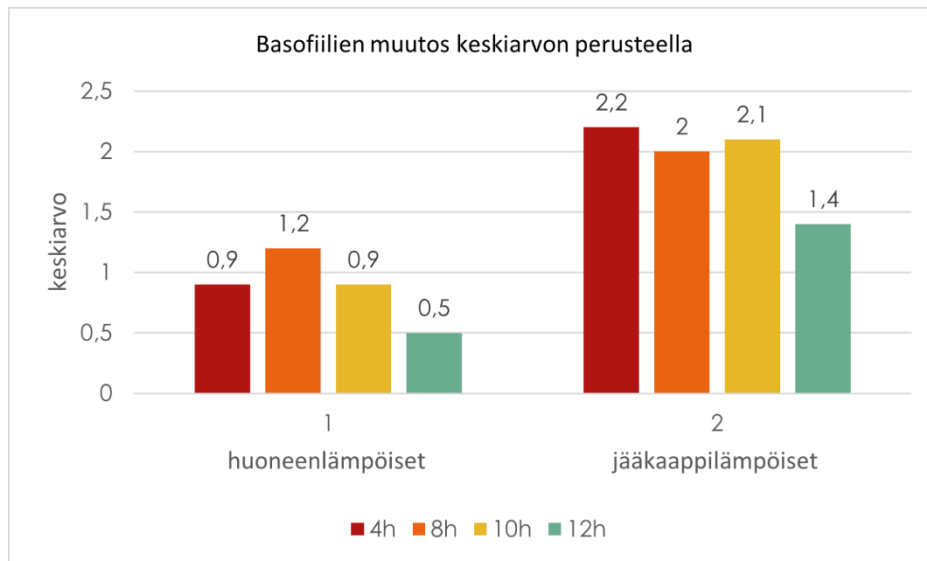
Tuloksista vertailtiin ensin solujen määrän muutosta ajan kuluessa eosinofiilien määrän keskiarvon perusteella (Kuvio 16). Keskiarvot muodostettiin kunkin tarkkailtavan tunnin numeerisista arvoista. Huoneenlämpöisten näytteiden eosinofiilien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 6,8, kahdeksan tunnin kohdalla 6,1, kymmenen tunnin kohdalla 5,7 ja kahdentoista tunnin kohdalla 6,9. Jääkaappilämpöisissä näytteissä neljän tunnin kohdalla keskiarvo oli 4,1, kahdeksan tunnin kohdalla 3,5, kymmenen tunnin kohdalla 4,3 ja kahdentoista tunnin kohdalla 3,9. Keskiarvojen muutosten perusteella voidaan todeta, että eosinofiilien määrä näytteissä ei merkittävästi muutu kummassakaan säilytyslämpötilassa.



Kuvio 17. Eosinofiilien muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä

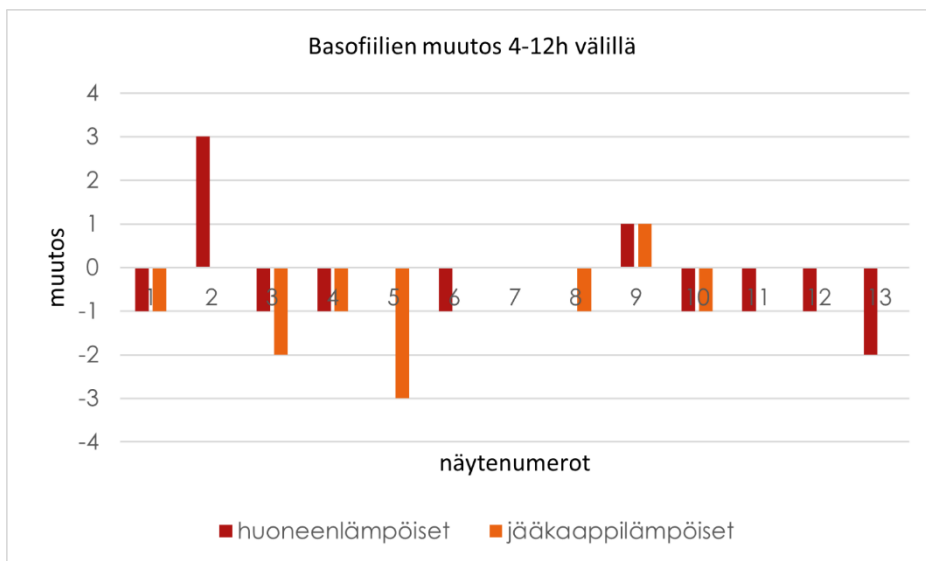
Tuloksia tarkkailtiin vielä näytteiden näkökulmasta neljän ja kahdentoista tunnin aikaväliltä (Kuvio 17). Eosinofiilien määrät lisääntyivät sekä vähenivät molemmissa säilytyslämpötiloissa. Huoneenlämpöisissä näytteissä eosinofiilejä väheni eniten viisi solua ja jääkaappilämpöisissä neljä solua. Eosinofiilien määrissä ei huomattu suuria eroja huoneenlämpö- ja jääkaappisäilytyksen välillä.

### 7.3.5 Basofiilit



Kuvio 18. Basofiilien muutos aikapisteen keskiarvon perusteella

Kuviossa 18 on esitetty basofiilien muutos keskiarvoina ajan kuluessa. Keskiarvot muodostettiin basofiileista kunkin aikapisteen kohdalla. Näytteet, joissa basofiileja ei esiintynyt lainkaan, ei huomioitu. Basofiileja sisältäviä huoneenlämpöisiä näytteitä oli 13 ja jääkaappilämpöisiä 10. Huoneenlämpöisten näytteiden basofiilien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 0,9, kahdeksan tunnin kohdalla 1,2, kymmenen tunnin kohdalla 0,9 ja kahdentoista tunnin kohdalla 0,5. Jääkaappilämpöisillä näytteillä basofiilien keskiarvo oli neljän tunnin kohdalla 2,2, kahdeksan tunnin kohdalla 2, kymmenen tunnin kohdalla 2,1 ja kahdentoista tunnin kohdalla 1,4. Keskiarvojen perusteella voidaan havaita, että basofiileissa ei tapahtunut kummassakaan lämpötilassa suuria muutoksia. Basofiilien osuus tutkimusotannan näytteissä oli vähäistä.



Kuvio 19. Basofiilien näytekohtaiset muutokset neljän ja kahdentoista tunnin välillä

Basofiilien muutoksia tarkasteltiin lopuksi näytteiden näkökulmasta ensimmäisen ja viimeisen ajon välillä (Kuvio 19). Tuloksissa tarkasteltiin basofiilejä sisältävät näytteet. Muutosta tapahtui molemmissa lämpötiloissa enemmän vähenevästi, parissa näytteessä määrä lisääntyi. Basofiilejä sisältävien näytteiden määrä sekä basofiilien osuus näytteissä oli niin pieni, ettei selkää muutosta voida näiden tulosten pohjalta todeta.

## 8 Johtopäätökset

Solun hajotessa sen tunnistaminen vaikeutuu ja morfologisten ominaisuuksien heiketessä solun kategorisointi on kyseenalaista. Tästä syystä hajonneita soluja ei oteta huomioon valkosolujen erittelylaskennan solumäärässä. Tyypillinen piirre hajonneelle solulle on rikkoutunut sytoplasma näkyvällä tumalla. (Ek 2009.) Opinnäytetyössä havaittiin hajonneiden solujen kohdalla myös tuman liuskoittumista ja solujen piirteiden epätarkkuutta. Ajan kuluessa soluista tuli yleisesti ikään kuin rumempia, mutta olivat silti tunnistettavissa lukuun ottamatta hajonneita soluja. Opinnäytetyössä pyrittiin lajittelemaan hajonneet solut kiinnittäen huomiota sytoplasman ja tuman eheyteen sekä solun yleisilmeeseen. Muutamassa näytteessä havaittiin jo lähtövaiheessa runsas hajonneiden solujen määrä, joka voi johtua esimerkiksi potilaan tautitilasta. Valkosolujen erittelylaskennassa suuret hajonneiden solujen määrät tulisi ottaa huomioon (Ek 2009).

Aluksi tuloksia pohdittiin esitettäväksi muutosprosenttien avulla. Tästä tavasta kuitenkin luovuttiin tuloksien epätarkkuuksien vuoksi. Muutosprosentteista tehtävissä keskiarvoissa korostui liikaa yksittäisten näytteiden suuret muutokset, jotka vaikuttivat kokonaisuuteen vääristävästi. Näin ollen päädyttiin käyttämään pelkkää numeerista muutosta, joka saatiin vähentämällä verrattavasta tuloksesta alkuperäinen arvo. Tulokset esitettiin solujen muutoksina, joka selkeytti tulosten tulkintaa huomattavasti. Valkosolujen nuoruusmuotojen tarkkailusta päätettiin luopua, sillä niiden määrät olivat vähäiset ja esiintymistä oli vain satunnaisissa näytteissä.

### 8.1 Hajonneet solut

Saatujen tulosten pohjalta havaittiin, että hajoaminen oli vaihtelevaa eri aikapisteissä sekä lämpötiloissa. Jokaisessa ajossa oli mukana muutama poikkeava tulos, jotka aiheutuivat luultavimmin potilaskohtaisesta yksilöllisestä vaihtelusta.

Näytteissä, joissa oli jo lähtötilanteessa suuri määrä hajonneita soluja, ei havaittu merkittävää lisääntymistä hajoamisessa verrattuna niihin näytteisiin, joissa oli aluksi pieni määrä hajonneita soluja.

Ensimmäisessä neljän ja kahdeksan tunnin välisessä vertailussa huomattiin jääkaappilämpötilan olevan eduksi näytteiden valkosolujen säilymisen kannalta. Huoneenlämmössä hajoamista tapahtui enemmän lukuun ottamatta paria jääkaappilämpöistä näytettä. Keskimäärin huoneenlämmössä hajosi 5,2 solua ja jääkaapissa 3,6 solua. Yleisin muutos hajonneiden solujen määrässä oli kuitenkin jääkaappilämpöisillä vähenevä tai ei lainkaan, huoneenlämpöisillä neljä hajonnutta solua.

Kahdeksan tunnin jälkeen tuloksissa havaittiin käänös säilytyslämpötilan suhteen. Hajonneiden solujen määrä oli suurempi säilytysajan edetessä kahdeksasta kymmeneen tuntiin jääkaapissa säilytetyissä näytteissä. Huoneenlämpöisten näytteiden hajonneiden solujen muutos oli vähenevä neljän ja kahdeksan tunnin välisiin muutoksiin verrattuna. Huoneenlämpöisten näytteiden muutoksen keskiarvo oli neljän ja kymmenen tunnin välillä 2,5 solua ja kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä 2,4 solua. Yleisin muutos huoneenlämpöisillä näytteillä oli vähenevä tai ei lainkaan. Jääkaappilämpöisillä keskiarvot olivat suuremmat – neljän ja kymmenen tunnin välillä 8,8 solua ja kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä 7,5 solua. Yleisin muutos oli 2,5–3 hajonnutta solua lisää.

Myös kymmenen tunnin säilytyksen jälkeen jääkaappilämpöisten näytteiden hajonneiden solujen määrät lisääntyivät enemmän kuin huoneenlämpöisillä näytteillä. Huoneenlämpöisten näytteiden solujen hajoaminen silti yleistyi, muttei merkittävästi. Ajan suhteen muutokset olivat kuitenkin pysyneet samoissa mitoissa, joten merkittävää hajonneiden solujen lisääntymistä ei tapahtunut kymmenen ja kahdentoista tunnin välillä verrattuna kahdeksan ja kymmenen tunnin välisiin muutoksiin.

Kokonaisuudessaan tuloksista voidaan todeta, että eniten soluja hajosi huoneenlämmössä neljän ja kahdeksan tunnin välillä ja vähiten jääkaappisäilytyksessä. Tämän jälkeen kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä huoneenlämpöisten näytteiden solujen hajoaminen väheni, mutta jääkaappilämmössä hajonneet solut lisääntyivät keskimäärin yli kahdeksalla.

Jääkaappilämmössä hajosi enemmän soluja myös kymmenen tunnin jälkeen ja huoneenlämpöisissä näytteissä hajonneiden solujen määrä lisääntyi hieman. Määrällisesti kymmenen tunnin jälkeen hajonneiden solujen määrä nousi lähes saman verran, mitä kahdeksan tunnin jälkeen. Näin olleen näytteen säilyttäminen jääkaappilämpötilassa on näytteelle eduksi neljän ja kahdeksan tunnin välillä näytteenotosta, mutta sen jälkeen näytteessä hajonneet solut lisääntyvät.

Oxardan ja Unallin vuoden 2021 tutkimuksessa jääkaappilämpöisillä näytteillä hajoaminen pysyi stabiilimpana, kun taas opinnäytetyössä jääkaappilämpöisten näytteiden hajonneet solut lisääntyivät enemmän suhteessa huoneenlämpöisiin näytteisiin ajan edetessä. Joka tapauksessa sekä tutkimuksessa, että opinnäytetyössä solujen hajoaminen oli ajan saatossa suhteellisen tasaista.

## 8.2 Soluryhmät

B-Diffin tuloksen kannalta solujen hajoaminen näkyy leukosyyttien kokonaismäärässä sekä eri soluryhmien osuuksissa. TYKS Laboratorioiden ohjekirjan (2021) mukaan valkosolujen kokonaismäärä aikuisella on viiterajojen mukaan 3,4–8,2 E9/l. Automaattimikroskooppi ottaa noin 200 solukuvaa, jolloin noin kymmenen solun hajoaminen ei todennäköisesti tästä määrästä olisi merkittävää perusterveellä potilaalla. Matalat leukosyyttiarvot sen sijaan saattavat vähentyä entisestään säilytysajan pidentyessä. Tämä hidastaa mikroskopijan työtä, jolloin laskenta täytyy vähäisen solumäärän vuoksi suorittaa useammalta lasilta 200 laskettavan solun saamiseksi. Myös tuloksen luotettavuus on kyseenalaista. Leukosytoosissa solujen vähäinen hajoaminen todennäköisesti ei olisi merkittävää. Toisaalta työssä ei tutkittu lainkaan nuoruusmuotoja, joten niiden käyttäytyminen ajan edetessä jäi tuntemattomaksi.

Tuloksista havaittiin samankaltaisia yhtäläisyyksiä vuoden 2021 tehtyyn Oxarda ja Unallin tutkimukseen - sekä opinnäytetyön, että tutkimuksen tuloksissa havaittiin lymfosyyttien lisääntynyt määrä sekä neutrofiilien määrän väheneminen ajan edetessä.

Opinnäytetyön tuloksissa havaittiin neutrofiilimäärien vähenemistä, lukuun ottamatta yksittäisten näytteiden lisääntyneitä neutrofiilimääriä. Etenkin kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä havaittiin suurempi notkahdus neutrofiilimäärien vähenemisessä molemmissa lämpötiloissa. Jääkaappilämpöisissä näytteissä tämä kasvava hajonneiden solujen määrän muutos oli aavistuksen suurempi. Tuloksista voidaan päätellä, että eri soluryhmistä neutrofiilit hajosivat herkimmin ajan kuluessa.

Opinnäytetyön tuloksissa havaittiin lymfosyyttimäärien kasvua, lukuun ottamatta muutamia tapauksia, joissa tapahtui lymfosyyttien hajoamista. Lymfosyyttimäärien lisääntyminen oli tasaista molemmissa lämpötiloissa. Tuloksista voidaan päätellä, että lymfosyyttejä hajosi vähiten verrattuna muihin soluryhmiin ajan edetessä.

Huoneenlämpöisillä näytteillä hajonneiden monosyyttien määrä lisääntyi, vähentyi ja pysyi muuttumattomina, kun taas jääkaappilämpöisillä näytteillä havaittiin enemmän monosyyttien hajoamista. Eosinofiileissä muutoksia tapahtui tasaisesti molempiin suuntiin molemmissa lämpötiloissa. Parissa näytteessä eosinofiilien osuus muista valkosoluista oli huomattavasti suurempi kuin normaalisti. Näissä näytteissä on luultavasti tapahtunut hajoamista, mutta suuren eosinofiilien määrän vuoksi hajoamissuhde on voinut tasaantua.

Basofiilien määrä oli kokonaisuudessaan pieni opinnäytetyön näytteissä. Saaduista tuloksista voisi todeta suuntaa antavasti lisääntymistä ja vähentymistä molemmissa lämpötiloissa. Kymmenen ja kahdentoista tunnin kohdalla hajoamista näyttäisi tapahtuvan hieman enemmän verrattuna muihin aikapisteisiin molemmissa lämpötiloissa.



## 9 Pohdinta

Laajuudeltaan työ oli suuri. Aiheena työ kiinnosti muun muassa sen monipuolisten työvaiheiden vuoksi. Solujen tarkastelu tietokoneohjelman kautta oli uutta ja oli mukavaa saada solutietämystä lisää sitä kautta mikroskopoinnin tueksi. Toisinaan työtä ja tietoa tuntui olevan turhan runsaasti. Pelkästään 40:stä näytteestä neljässä aikapisteessä tuli yhteensä 159 lasia, jotka käytiin korjauksineen yksitellen läpi. Tämä oli työläs ja pitkäkestoinen vaihe, joten opinnäytetyön ryhmän kokoa olisi hyvin voinut laajentaa kolmeen tekijään. Lopulta suuresta työ- ja tietomäärästä huolimatta saatiin kokoon suhteellisen ehyt kokonaisuus.

Opinnäytetyön tarkoitus oli tutkia valkosolujen morfologista säilyvyyttä säilytysajan edetessä. Morfologian tarkastelu onnistui hyvin eri aikapisteissä ja automaattimikroskoopi kuvasi lasien solut. Aluksi huolta herätti tulosten vaihtelevuus. Tulokset hyppivät saman näytteen kohdalla hajonneiden sekä ehjien solujen osalta nostaen ja laskien arvoja. Näin ollen muutoksen suunta ei ollut missään kohtaa täysin yhdessä linjassa. Tämä on ymmärrettävää, sillä mikroskoopi valitsee solut satunnaisesti ja siveltävä veritippa on aina eri, vaikka se on samasta näytteestä. Näytteen veritippojen pitäisi olla keskenään lähes homogeeniset, mutta solut voivat jakautua hieman eri tavalla näytteessä hyvästä sekoittamisesta huolimatta. Tulosten vertaaminen keskenään jättää siis hieman aukkoja. Tarkasteltavien solujen määrän kasvattaminen lisäisi luotettavuutta, mutta toisaalta lisää huomattavasti työmäärää.

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää, olisiko veren sivelyvalmiste mahdollista tehdä EDTA-näytteestä pidemmällä näytteen säilytysaikavälillä ilman, että valkosolujen morfologia merkittävästi kärsii. Tuloksissa todettiin hajonneiden solujen lisääntyvän huoneenlämpöisillä näytteillä enemmän neljän ja kahdeksan tunnin välillä kuin jääkaappilämpöisillä, mutta kahdeksan ja kymmenen tunnin välillä jääkaapissa olleiden näytteiden hajonneiden solujen määrä kasvoi enemmän kuin huoneenlämpöisillä.

Kymmenestä tunnista eteenpäin hajoaminen pysyi kutakuinkin samankaltaisena kuin aiemmin. TYKS Laboratorioiden tutkimusohjekirjassa (2021) määritetään edustavan näytteen säilymisajaksi kahdeksan tuntia huoneenlämmössä ja 48 tuntia jääkaapissa. Opinnäytetyön tulosten perusteella kauempaa lähetettävät näytteet tulisi lähettää kylmäkuljetuksena, mikäli näytteen analysointi tapahtuu neljän ja kahdeksan tunnin sisällä näytteenotosta. Tämän aikavälin jälkeen kylmäsäilytys voi jopa heikentää tulosta. Turha seisottaminen huoneenlämmössä heikentää valkosolujen säilyvyyttä neljän ja kahdeksan tunnin välillä. Huoneenlämpöisten näytteiden kahdeksan tunnin säilytysraja voi siis mahdollisesti pidentää pakollisessa tilanteessa kymmeneen tuntiin. Jääkaappilämpöisillä näytteillä morfologinen säilyvyys voisi olla parempi, mikäli kylmäsäilytys on yhtäjaksoinen ja näyte siirrettäisiin jääkaappiin mahdollisimman pian näytteenotosta.

Opinnäytetyössä käsiteltiin potilasnäytteitä. Eettisen neuvottelukunnan (TENK 2019) ihmiseen kohdistuvan tutkimuksen ohjeen mukaan henkilötiedoilla tarkoitetaan kaikkia tunnistettavissa olevaan henkilöön liittyvä tietoja. Näin ollen potilasnäytteistä poistettiin henkilötiedot asianmukaisesti potilaiden yksityisyysturvan suojaamiseksi. Potilastiedoilla ei tässä työssä ollut merkitystä, sillä tuloksissa tarkasteltiin ainoastaan näytteiden laadun välisiä ajasta ja säilytyslämpötilasta johtuvia muutoksia. Potilasnäytteet olivat arkistoituja näytteitä, joten niistä oli jo vastattu kaikki potilaasta pyydetyt tutkimukset. Näin ollen tutkimuksen tekeminen ei haitannut potilaan hoitoon liittyvien tutkimuksien analysointia.

Opinnäytetyön luotettavuutta lisää näytteiden tekovaiheiden toistettavuus. Kaikki näytteet ajettiin Automaatio- ja päivystyslaboratorion hematologian linjastolla, joka toisti samat työvaiheet jokaisen näytteen kohdalla. Esimerkkinä luotettavuudesta oli lasinteko ja niiden värjäys, sillä lasit olivat kädenjäljeltään samanlaiset automatisoidun lasintekijän ansiosta. Näin minimoitiin lasien laadun vaihtelevuus. Myös kuvat olivat automaattimikroskoopin ottamia, jolloin kuvien otanta oli puhtaasti koneen valikoima. Linjastolla toteutetaan päivittäistä kontrollointia, joka lisää tulosten luotettavuutta.

Jääkaapissa säilytettävien näytteiden kohdalla heräsi kysymys, vaikuttaako huoneenlämmössä seisottaminen näytteiden laatuun. Näytteet kulkevat linjastolla ensin verenkuvaa-analysaattorille ja sitten lasintekoon. Näyteräkki vapautuu lasintekoautomaatista vasta, kun kaikista näytteistä on saatu tipat lasille. Näytteet olivat huoneenlämmössä siis noin 45 minuuttia sisältäen huoneenlämpöön saattamisen sekä linjaston eri vaiheet, ennen kuin ne siirrettiin taas takaisin jääkaappiin. Väärät tai vaihtelevat säilytyslämpötilat vaikuttavat solujen turpoamiseen ja hajoamiseen sekä solun osmoottiseen resistenssiin (Savolainen & Tienhaara 2015). Tämä tulisi huomioida tuloksia tarkasteltaessa, joissa todettiin jääkaappilämpötilan aiheuttavan enemmän solujen hajoamista ajan edetessä.

Joissakin näytteissä esiintyi kylmäagglutiniineja. Tämä havaittiin, kun näytteet nostettiin jääkaapista huoneenlämpöön. Näytteiden siirtäminen huoneenlämpöön vähensi punasolujen sakkautumista. Kylmäagglutiniineja ei osattu ottaa huomioon ennen tutkimuksen aloittamista, joten erillistä toimintatapaa niiden kohdalla ei ollut. Tämä saattoi vaikuttaa kyseisten näytteiden laatuun ja aiheuttaa muutoksia parametreissa.

Näytteissä oli kattavasti erilaisia valkosoluja, lukuun ottamatta nuoruusmuotoja sekä basofiilejä. Nuoruusmuodot jätettiin pois niiden vähäisen esiintyvyyden vuoksi, sillä niiden kokoaminen yhteen ei olisi tarjonnut tarpeeksi luotettavia tuloksia. Näiden pohjalta kuvaajien ja keskiarvojen laskeminen olisi näyttäytynyt virheellisenä, jossa yksittäisen näytteen ominaisuudet vaikuttaisivat tulokseen merkittävästi. Basofiileistä saatiin joitakin tuloksia. Näytteistä jouduttiin kuitenkin karsimaan lähes puolet koko otannasta basofiilien puuttumisen vuoksi. Tulokset eivät olleet basofiileissä määrällisesti riittäviä, jotta niiden pohjalta pystyisi antamaan luotettavia tuloksia.

Tämän opinnäytetyön jatkotutkimuksen voisi kohdistaa esimerkiksi basofiilien tai valkosolujen nuoruusmuotojen määrien muutosten tutkimiseen ajan edetessä. Säilytysaikaa voisi pidentää vuorokauteen, jolloin nähtäisiin, tapahtuuko hajoamisessa selkeämpää lisääntymistä. Suuremmat näyteotannat olisivat tilastollisen hyväksyttävyyden nimessä paikallaan, vaikkakin lisäävät työmäärää.

## 10 Lähteet

Adiguzel, M.; Bolayirli, I.; Konukoglu, D.; Ozgenc, A. & Yasar, N. 2017. Unexpected laboratory results in cold agglutinin disease. INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICAL BIOCHEMISTRY. Viitattu 16.2.2022. Saatavilla; [https://www.journalagent.com/ijmb/pdfs/IJMB\\_1\\_1\\_40\\_43.pdf](https://www.journalagent.com/ijmb/pdfs/IJMB_1_1_40_43.pdf)

Bain, B. 2015a. Blood Cells – A Practical Guide. Morphology of Blood Cells. Fifth edition. 87-186. Saatavilla; [http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20\(2015\)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D\(1\).pdf](http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20(2015)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D(1).pdf)

Bain, B. 2015b. Blood Cells – A Practical Guide. Performing a Blood Count. Fifth edition. 23-25. Saatavilla; [http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20\(2015\)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D\(1\).pdf](http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20(2015)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D(1).pdf)

Bain, B. 2015c. Blood Cells – A Practical Guide. Blood sampling and blood film preparation and examination. 1-16. Saatavilla; [http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20\(2015\)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D\(1\).pdf](http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20(2015)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D(1).pdf)

Bain, B. 2015d. Blood Cells – A Practical Guide. Disorders of red cells and platelets. 330-336. Saatavilla; [http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20\(2015\)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D\(1\).pdf](http://kmu.ac.ir/Images/UserFiles/1085/file/Blood%20Cells%20-%20A%20Practical%20Guide%2C%205E%20(2015)%20%5BPDF%5D%5BUnitedVRG%5D(1).pdf)

Banfi G, Salvagno GL, Lippi G. 2007. The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. Clin Chem Lab Med. Viitattu 20.10.2021. Saatavilla: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17484616/>

Duodecim. 2016a. Morfologinen. Lääketieteen sanasto. Viitattu 20.10.2021. Saatavilla: <https://www.terveyskirjasto.fi/ltt02170>

Duodecim. 2016b. Valkosolujen erittelylaskenta. Lääketieteen sanasto. Viitattu 19.10.2021. <https://www.terveyskirjasto.fi/ltt03656>

Duodecim. 2021c. B-perusverenkuva ja trombosyytit (B-PVKT). Laboratoriotutkimusten tulkinta. Terveyskirjasto Duodecim. Viitattu 5.11.2021. Saatavilla: <https://www.terveyskirjasto.fi/snk03030>

Duodecim. 2021d. Leukosyytit (B-Leuk). Laboratoriotutkimusten tulkinta. Terveyskirjasto Duodecim. Viitattu 5.11.2021. Saatavilla: <https://www.terveyskirjasto.fi/snk03034/leukosyytit-b-leuk?q=diffi>

Ek, A. 2009. Verisolujen tunnistusaapinen. Toinen painos. Messon. Kankaanpää. 2009.

Eskelinen, S. 2016. Leukosyytit (B-Leuk). Terveyskirjasto Duodecim. Viitattu 19.10.2021. Saatavilla: [https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03034](https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03034)

Florea, A.; Gong, J.; Gulati, G. & Song, J. 2021. Purpose and Criteria for Blood Smear Scan, Blood Smear Examination, and Blood Smear Review. NCBI. Viitattu 25.10.2021. Saatavilla; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3535191/>

Gene L. Gulati - Lawrence J. Hyland - William Kocher - Rolland Schwarting 2002. Changes in Automated Complete Blood Cell Count and Differential Leukocyte Count Results Induced by Storage of Blood at Room Temperature. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 126 (3). 336-342. Viitattu 21.10.2021. Saatavilla: <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/126/3/336/453366/Changes-in-Automated-Complete-Blood-Cell-Count-and>

Klinbua, C.; Niamjoy, P.; Pratumvinit, B.; Reesukumal, K. & Wongkrajang, P. 2013. Validation and Optimization of Criteria for Manual Smear Review Following Automated Blood Cell Analysis in a Large University Hospital. Arch Pathol Lab Med. 137 (3): 408–414.

Saatavilla; <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/137/3/408/193418/Validation-and-Optimization-of-Criteria-for-Manual>

LabCE. 2016. Smudge cells. Ote kurssista. Viitattu 20.10.2021. Saatavilla: [https://www.labce.com/spg48905\\_smudge\\_cells.aspx](https://www.labce.com/spg48905_smudge_cells.aspx)

LABQUALITY. 2022. Ammattilaisille, Laskimonäytteenotto. Viitattu 17.8.2022. Saatavilla: [https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas\\_vieritutkimus/vieritestisuositus\\_\\_trashed/naytteenotto/laskimo\\_naytteenotto/](https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas_vieritutkimus/vieritestisuositus__trashed/naytteenotto/laskimo_naytteenotto/)

Lassila, R. & Porkka, K. 2015. Veritaudit. Kustannus Oy Duodecim. 4. painos. Helsinki. 2015.

Lehtimäki, S. 2020. Virtausytometria kliinisessä hematologian laboratoriossa. Kliinlab. 6.2020. 37 vuosikerta, s. 179. Saatavilla; [https://www.skky.fi/sites/skky.fi/files/media/Kliinlab\\_6\\_2020\\_screen.pdf](https://www.skky.fi/sites/skky.fi/files/media/Kliinlab_6_2020_screen.pdf)

Matinlauri, I. & Vilpo, J. 2010. Hematopoieesi ja sen tutkiminen. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede: Kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 247–254.

Mustajoki, P. 2019. Lääkärikirja Duodecim. Perna ja sen sairaudet. Viitattu 11.8.2022. Saatavilla; <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00834>

Mustajoki, S.; Pettersson, T.; Sinisalo, M. & Vakkila, J. 2015. Autoimmuunisytopeniat. Teoksessa Porkka, K.; Lassila, R.; Remes, K. & Savolainen, E. (toim.) 2015. Veritaudit. 4., uudistettu painos. Helsinki: Duodecim, 48-49.

National Library of Medicine. 2020. Blood Differential. Viitattu 16.2.2022. Saatavilla; <https://medlineplus.gov/lab-tests/blood-differential/>

Niemelä, O. & Pulkki, K. 2014. Laboratoriolääketiede - Kliininen kemia ja hematologia. Kandidaattikustannus Oy. 3.-4. painos. Helsinki. 2014.

Ozarda, Y. & Unalli, O.S. Stability of hematological analytes during 48 hours storage at three temperatures using Cell-Dyn hematology analyzer. Viitattu 5.11.2021. Saatavilla; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8199497/>

Pelliniemi, T. 1998. Veren sivelyvalmiste. Duodecim. 114: 1177–84. Viitattu 25.10.2021. Saatavilla; <https://www.kaypahoito.fi/xmedia/duo/duo80261.pdf>

Reagena. Hematologian värjäysliuokset ja reagenssit. Reagenan tuotesivusto. Viitattu 12.2.2022. Saatavilla; <https://reagena.com/fi/tuotteet/diagnostiikka/varjaysliuokset/hematologia/#reagenssit>

Salonen, J. 2019. Punasolujen kiihtynyt hajoaminen (hemolyyttinen anemia). Lääkärikirja Duodecim. Viitattu 17.8.2022. Saatavilla; <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00923>

Savolainen, E. & Tienhaara, A. 2015. Verinäytteet ja morfologiset tutkimukset. Teoksessa Ruutu, T; Rajamäki, A; Lassila, R & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 4., painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim

Siitonen, T. & Koistinen, P. 2015a. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa Porkka, K.; Lassila, R.; Remes, K. & Savolainen, E. (toim.) 2015. Veritaudit. 4., uudistettu painos. Helsinki: Duodecim.

Silvennoinen, O. & Hurme, M. 2003. Uutta sytokiineista. Lääketieteellinen aikakausikirja1 Duodecim. Saatavilla; <https://www.duodecimlehti.fi/duo93535>

TENK 2019. Ihmistieteiden eettisen ennakkoarvoinnin ohje. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohje. Helsinki. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan julkaisu 3/2019. Viitattu 25.10.2021. Saatavilla: [https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/Ihmistieteiden\\_eettisen\\_ennakkoarvioinnin\\_ohje\\_2019.pdf](https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/Ihmistieteiden_eettisen_ennakkoarvioinnin_ohje_2019.pdf)

TYKS Laboratoriot. 2021. Veren valkosolujen erittelylaskenta, B-Diffi. Tutkimusohjekirja. Viitattu 17.10.2022. Saatavilla: <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=2225>

TYKS Laboratoriot. 2022. B-Morfo. Tutkimusohjekirja. Viitattu 7.11.2022. Saatavilla; <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=2643>

Vilkkä H.; Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Vives-Corrans, J., Briggs, C., Simon-Lopez, R., Albareda, S., de la Salle, B., Flegar-Meatii, Z., Marzac, C. 2014. Effect of EDTA-anticoagulated whole blood storage on cell morphology examination. A need for standardization. *International journal of laboratory hematology*, 36(2), sivut 222-226. Saatavilla: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12170>

VSSHHP. 2021. Hoito-ohjeet.fi. Vakuumiputkikartta. Viitattu 17.01.2022. Saatavilla: <https://hoito-ohjeet.fi/OhjepankkiVSSHHP/Vakuumiputkikartta.pdf>

## Näyteajojen tulokset

Huoneenlämpö	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	Jääkaappi	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)
Näyte 1	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 1	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	42,4% (86)	31,0% (63)	20,7% (42)	4,9% (10)	1% (2)	14	4h	76,1% (156)	-	12,2% (25)	8,8% (17)	-	23
8h	42,5% (85)	23,5% (47)	30,5% (61)	3,5% (7)	-	20	8h	68,8% (143)	-	13% (27)	13% (27)	-	15
10h	41,5% (83)	26% (52)	23,5% (47)	7% (14)	1% (2)	22	10h	66% (134)	-	15,3% (31)	8,9% (18)	-	12
12h	40,9% (79)	30,1% (58)	24,4% (47)	4,1% (8)	0,5% (1)	23	12h	71,1% (145)	-	14,2% (29)	11,3% (23)	-	22
Näyte 2	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 2	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	85,6% (173)	-	6,9% (14)	7,4% (15)	-	37	4h	63,2% (129)	2% (4)	28,9% (59)	5,4% (11)	0,5% (1)	18
8h	80,2% (158)	0,5% (1)	9,6% (19)	9,1% (18)	0,5% (1)	42	8h	57,6% (117)	1,5% (3)	33% (67)	7,9% (16)	-	26
10h	77,3% (153)	0,5% (1)	7,6% (15)	12,1% (24)	2,4% (5)	40	10h	56,5% (109)	0,5% (1)	31,2% (64)	7,8% (15)	2,1% (4)	44
12h	73,6% (145)	1% (2)	7,1% (14)	16,8% (33)	1,5% (3)	40	12h	57,9% (113)	1% (2)	35,4% (69)	5,6% (11)	-	41
Näyte 3	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 3	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	94,1% (192)	-	2% (4)	3,9% (8)	-	-	4h	65,2% (131)	5% (10)	18,4% (37)	9,5% (19)	-	35
8h	94,2% (194)	0,5% (1)	1,5% (3)	2,9% (6)	-	-	8h	69,1% (134)	6,2% (12)	16,5% (32)	5,2% (10)	-	49
10h	91,8% (190)	-	3,4% (7)	4,8% (10)	-	-	10h	64,4% (123)	5,8% (11)	15,2% (29)	14,1% (27)	-	94
12h	91,7% (189)	0,5% (1)	2,4% (5)	5,3% (11)	-	-	12h	66,1% (121)	7,1% (13)	14,8% (27)	10,4% (19)	-	78
Näyte 4	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 4	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	60% (120)	-	28% (56)	11,5% (23)	0,5% (1)	25	4h	80,1% (161)	-	9% (18)	9% (18)	-	17
8h	53,4% (107)	-	36% (72)	10% (20)	0,5% (1)	31	8h	80,1% (161)	0,5% (1)	11,4% (23)	6% (12)	-	37
10h	55,8% (111)	0,5% (1)	32,7% (65)	10,6% (21)	0,5% (1)	24	10h	77,6% (152)	-	11,7% (23)	8,7% (17)	-	27
12h	50% (101)	0,5% (1)	37,1% (75)	11,9% (24)	-	26	12h	73% (146)	-	16% (32)	8,5% (17)	-	34
Näyte 5	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 5	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	89,1% (180)	-	5,0% (10)	5,0% (10)	0,5% (1)	34	4h	62% (127)	2,9% (6)	14,1% (29)	19,5% (40)	1% (2)	33
8h	89,8% (185)	-	5,3% (11)	3,4% (7)	1,0% (2)	24	8h	60,9% (123)	3,5% (7)	19,8% (40)	13,9% (28)	1,5% (3)	38
10h	87,9% (174)	-	8,1% (16)	3,0% (6)	-	32	10h	63,9% (133)	3,4% (7)	16,8% (35)	15,4% (32)	0,5% (1)	33
12h	88,7% (181)	-	5,9% (12)	3,9% (8)	-	27	12h	67,8% (135)	2% (4)	16,1% (32)	12,6% (25)	1% (2)	46
Näyte 6	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 6	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	85,3% (174)	3,4% (7)	5,9% (12)	5,4% (11)	-	23	4h	57,7% (112)	6,7% (13)	25,3% (49)	8,2% (16)	2,1% (4)	33
8h	86,9% (179)	0,5% (1)	8,7% (18)	3,9% (8)	-	25	8h	54% (102)	5,8% (11)	31,7% (60)	5,8% (11)	2,6% (5)	45
10h	84,9% (169)	0,5% (1)	5,5% (11)	8% (16)	0,5% (1)	23	10h	49,7% (90)	9,9% (18)	31,5% (57)	6,6% (12)	2,2% (4)	47
12h	85% (176)	1,9% (4)	7,2% (15)	5,3% (11)	-	20	12h	54,4% (99)	7,7% (14)	29,7% (54)	7,1% (13)	1,1% (2)	49
Näyte 7	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 7	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	89,8% (185)	4,4% (9)	2,4% (5)	2,4% (5)	0,5% (1)	22	4h	71% (147)	1,9% (4)	15% (31)	12,1% (25)	-	20
8h	87,9% (182)	5,8% (12)	1,5% (3)	4,4% (9)	0,5% (1)	12	8h	76,7% (158)	1,5% (3)	11,7% (24)	10,2% (21)	-	12
10h	84,1% (169)	6% (12)	2% (4)	6,5% (13)	-	24	10h	78,2% (161)	0,5% (1)	14,1% (29)	7,3% (15)	-	9
12h	86,5% (167)	8,3% (16)	1,6% (3)	2,6% (5)	-	26	12h	73,9% (153)	-	17,4% (36)	8,7% (18)	-	9
Näyte 8	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 8	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	50% (102)	17,2% (35)	23,6% (48)	8,9% (18)	-	23	4h	91,4% (191)	-	6,2% (13)	2,4% (5)	-	29
8h	43,4% (86)	15,7% (31)	30,8% (61)	9,6% (19)	0,5% (1)	31	8h	91,3% (189)	-	6,8% (14)	1,4% (3)	-	27
10h	45% (86)	14,1% (27)	30,9% (59)	9,4% (18)	0,5% (1)	40	10h	86,7% (156)	-	8,3% (15)	5% (9)	-	59
12h	38,3% (72)	19,1% (36)	34,6% (65)	8% (15)	-	40	12h	91,5% (162)	-	5,6% (10)	2,8% (5)	-	66
Näyte 9	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 9	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	73,3% (151)	0,5% (1)	13,6% (28)	12,6% (26)	-	21	4h	68,6% (142)	2,4% (5)	24,2% (50)	3,9% (8)	1% (2)	16
8h	76,8% (156)	0,5% (1)	9,4% (19)	12,3% (25)	1% (2)	33	8h	75,4% (156)	1,4% (3)	19,3% (40)	3,9% (8)	-	14
10h	73,3% (151)	0,5% (1)	15% (31)	10,7% (22)	0,5% (1)	22	10h	67,8% (141)	2,4% (5)	24,5% (51)	4,3% (9)	1% (2)	24
12h	71,2% (146)	0,5% (1)	15,6% (32)	12,7% (26)	-	27	12h	69,8% (143)	0,5% (1)	24,9% (51)	4,4% (9)	0,5% (1)	35
Näyte 10	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 10	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	53,1% (111)	-	20,6% (43)	26,3% (55)	-	14	4h	68,9% (142)	5,8% (12)	19,9% (41)	5,3% (11)	-	28
8h	55,8% (115)	0,5% (1)	10,7% (22)	32% (66)	1% (2)	24	8h	69,8% (143)	2,4% (5)	21% (43)	6,8% (14)	-	24
10h	43,9% (90)	-	19% (39)	36,6% (75)	0,5% (1)	14	10h	69,8% (141)	5% (10)	16,8% (34)	8,4% (17)	-	30
12h	48,8% (100)	-	19% (39)	31,7% (65)	0,5% (1)	17	12h	74,8% (154)	4,9% (10)	14,1% (29)	6,3% (13)	-	34



Huoneenlämpö	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	Jääkaappi	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)	% (kpl)
Näyte 11	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 11	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	87% (181)	-	7,7% (16)	5,3% (11)	-	11	4h	71,5% (148)	-	11,6% (24)	9,7% (20)	-	26
8h	82,9% (170)	0,5% (1)	5,9% (12)	10,7% (22)	-	20	8h	75% (153)	-	9,3% (19)	8,8% (18)	-	26
10h	83,3% (169)	-	8,4% (17)	8,4% (17)	-	17	10h	70,5% (146)	0,5% (1)	9,7% (20)	11,1% (23)	-	24
12h	88,8% (174)	-	4,1% (8)	7,1% (14)	-	23	12h	x	x	x	x	x	x
Näyte 12	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 12	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	72,9% (148)	0,5% (1)	23,6% (48)	3% (6)	-	19	4h	91,7% (188)	0,5% (1)	1,5% (3)	5,4% (11)	-	13
8h	70,2% (144)	0,5% (1)	23,4% (48)	4,4% (9)	-	25	8h	94,5% (190)	1% (2)	0,5% (1)	3% (6)	-	14
10h	70,9% (144)	-	23,2% (47)	4,4% (9)	-	11	10h	87,1% (176)	-	1% (2)	10,9% (22)	-	13
12h	63,1% (125)	1% (2)	30,3% (60)	4,5% (9)	-	27	12h	94,2% (178)	0,5% (1)	1,1% (2)	4,2% (8)	-	32
Näyte 13	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 13	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	71,1% (143)	6% (12)	8,5% (17)	13,4% (27)	0,5% (1)	25	4h	23,4% (47)	3% (6)	55,2% (111)	15,9% (32)	2,5% (5)	79
8h	67,5% (135)	9% (18)	11% (22)	11% (22)	1% (2)	28	8h	26,3% (54)	2,4% (5)	56,6% (116)	12,2% (25)	2,4% (5)	63
10h	75,4% (147)	4,1% (8)	10,3% (20)	9,2% (18)	-	23	10h	22% (40)	1,6% (3)	61,5% (112)	12,6% (23)	2,2% (4)	68
12h	68,7% (138)	6% (12)	14,4% (29)	10,9% (22)	-	29	12h	20,9% (40)	3,7% (7)	60,2% (115)	14,1% (27)	1,0% (2)	80
Näyte 14	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 14	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	76,8% (159)	0,5% (1)	1% (2)	15,9% (33)	1,4% (3)	40	4h	84,4% (173)	0,5% (1)	8,8% (18)	6,3% (13)	-	25
8h	81,3% (169)	1% (2)	-	12% (25)	1% (2)	29	8h	87% (181)	-	8,7% (18)	4,3% (9)	-	16
10h	76,7% (155)	-	-	16,8% (34)	-	43	10h	87,7% (179)	-	8,8% (18)	3,4% (7)	-	28
12h	78,2% (161)	-	1% (2)	16,5% (34)	1% (2)	24	12h	86,5% (173)	0,5% (1)	9% (18)	4% (8)	-	29
Näyte 15	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 15	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	79,7% (157)	-	2,5% (5)	11,2% (22)	0,5% (1)	35	4h	74,9% (152)	-	15,3% (31)	5,9% (12)	-	44
8h	75,0% (144)	0,5% (1)	8,3% (16)	8,9% (17)	-	33	8h	72,7% (149)	2,4% (5)	16,1% (33)	3,4% (7)	-	50
10h	75,8% (144)	0,5% (1)	6,3% (12)	8,9% (17)	-	33	10h	69,4% (143)	2,4% (5)	14,1% (29)	4,9% (10)	-	42
12h	69,2% (126)	0,5% (1)	8,8% (16)	11,5% (21)	-	49	12h	68,3% (138)	1,5% (3)	17,8% (36)	5,4% (11)	-	43
Näyte 16	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 16	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	75,6% (158)	-	2,4% (5)	14,8% (31)	-	21	4h	89,1% (179)	-	9,5% (19)	0,5% (1)	0,5% (1)	21
8h	76,1% (150)	-	2% (4)	14,2% (28)	-	37	8h	90,6% (183)	-	7,9% (16)	1,5% (3)	-	21
10h	69% (129)	-	2,1% (4)	19,8% (37)	-	31	10h	89,5% (179)	0,5% (1)	8,5% (17)	1,5% (3)	-	27
12h	76,1% (150)	-	2% (4)	13,7% (27)	-	29	12h	85,9% (164)	-	12,6% (24)	1% (2)	0,5% (1)	26
Näyte 17	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 17	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	16,8% (31)	3,2% (6)	49,7% (92)	29,7% (55)	-	88	4h	77,4% (161)	-	13,9% (29)	8,2% (17)	0,5% (1)	19
8h	17,3% (32)	1,6% (3)	54,6% (101)	25,9% (48)	-	86	8h	71,2% (148)	-	22,1% (46)	6,3% (13)	0,5% (1)	17
10h	20% (38)	3,7% (7)	52,6% (100)	23,7% (45)	-	88	10h	70,3% (147)	0,5% (1)	22,5% (47)	6,2% (13)	0,5% (1)	10
12h	14,1% (26)	1,1% (2)	53,3% (98)	30,4% (56)	-	91	12h	71,6% (146)	0,5% (1)	21,6% (44)	5,9% (12)	0,5% (1)	23
Näyte 18	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 18	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	85,3% (174)	-	8,8% (18)	4,9% (10)	-	27	4h	88,5% (184)	0,5% (1)	4,8% (10)	5,3% (11)	0,5% (1)	26
8h	93,2% (191)	-	3,9% (8)	2,9% (6)	-	24	8h	85,1% (177)	-	8,7% (18)	5,8% (12)	-	26
10h	86,3% (176)	-	9,3% (19)	3,9% (8)	-	25	10h	86,1% (174)	2,5% (5)	6,4% (13)	4,5% (9)	-	35
12h	85,4% (176)	-	9,2% (19)	4,9% (10)	-	22	12h	87,4% (180)	1% (2)	6,8% (14)	4,9% (10)	-	39
Näyte 19	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 19	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	84,5% (174)	-	7,3% (15)	7,3% (15)	1,0% (2)	31	4h	73,8% (152)	3,4% (7)	16,0% (33)	4,9% (10)	1,9% (4)	19
8h	84,1% (175)	-	3,8% (8)	11,1% (23)	1,0% (2)	21	8h	72,1% (150)	2,4% (5)	15,4% (32)	9,1% (19)	1,0% (2)	24
10h	82,1% (170)	-	10,1% (21)	7,7% (16)	-	18	10h	68,6% (142)	2,9% (6)	17,9% (37)	10,1% (21)	0,5% (1)	28
12h	80,9% (165)	-	12,3% (25)	6,9% (14)	-	17	12h	70,6% (139)	3% (6)	14,2% (28)	9,6% (19)	2,5% (5)	26
Näyte 20	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet	Näyte 20	neut	eos	lymfo	mono	baso	hajonneet
4h	76,5% (150)	0,5% (1)	7,7% (15)	9,2% (18)	-	42	4h	64,7% (134)	5,3% (11)	16,4% (34)	10,1% (21)	0,5% (1)	26
8h	73,5% (147)	0,5% (1)	7,5% (15)	8% (16)	-	60	8h	59,6% (118)	3,5% (7)	14,6% (29)	13,6% (27)	2% (4)	27
10h	77,2% (156)	1,0% (2)	10,4% (21)	3% (6)	-	41	10h	57,1% (116)	4,9% (10)	20,7% (42)	10,8% (22)	2% (4)	21
12h	74,2% (147)	0,5% (1)	9,6% (19)	6,1% (12)	-	45	12h	62,4% (123)	4,6% (9)	20,3% (40)	9,1% (18)	-	30