

Niina Mämmi, Johanna Röning

**VEREN SIVELYVALMISTEET ANEMIANÄYTTEISTÄ**

Oppimateriaali bioanalyttikko-opiskelijoille

## **VEREN SIVELYVALMISTEET ANEMIANÄYTTEISTÄ**

Oppimateriaali bioanalyttikko-opiskelijoille

Niina Mämmi, Johanna Röning  
Opinnäytetyö  
Syksy 2016  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

---

Tekijät: Niina Mämmi, Johanna Röning

Opinnäytetyön nimi: Sivelyvalmisteet anemianäytteistä, oppimateriaali bioanalyttikko-opiskelijoille

Työn ohjaaja: Outi Mäkitalo, Mika Paldanius

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2016

Sivumäärä: 28 + 6

---

Opinnäytetyöllä tuotettiin uutta oppimateriaalia hematologian opintojaksolle, anemianäytteiden mikroskopointiharjoituksiin. Nykyisin käytössä oleva oppimateriaali oli osittain puutteellista. Sivelyvalmisteet anemianäytteistä olivat vanhoja ja niistä puuttuivat verenkuvanalyysaattoritulosteet, joten oppimateriaalin uudistamiselle oli tarvetta. Tässä opinnäytetyössä oppimateriaali muodostuu anemiaan liittyvistä veren sivelyvalmisteista ja verenkuvanalyysaattorin tulosteista. Työn tilaajana toimi Oulun ammattikorkeakoulun sosiaali- ja terveysalan yksikön bioanalytiikan koulutusohjelma.

Mikroskopointiharjoituksilla ja siihen liittyvällä oppimateriaalilla on tärkeä merkitys bioanalytiikan hematologian opinnoissa ja niissä opiskelijan tulisi pystyä työskentelemään itsenäisesti. Selkeä ja johdonmukainen oppimateriaali antaa opiskelijalle mahdollisuuden itsenäiseen opiskeluun. Käytännön taitoja ei voi oppia pelkästään lukemalla tai katsomalla, tarvitaan myös itse tekemistä.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli valmistaa bioanalyttikko-opiskelijoille uudet sivelyvalmisteet anemianäytteistä, joissa on mukana verenkuvanalyysaattorituloste. Verenkuvanalyysaattorituloste auttaa opiskelijaa hematologian mikroskopointiharjoituksissa tulkitsemaan veren sivelyvalmistetta.

Opinnäytetyö toteutettiin Raahen seudun hyvinvointikuntayhtymän laboratoriossa kesä-, heinä- ja elokuun 2016 aikana. Veren sivelyvalmisteet valmistettiin laboratorioon saapuvista potilasnäytteistä, joissa havaittiin anemiasairauksiin liittyviä verenkuvamuutoksia. Oppimateriaaliksi valikoitui verenkuvamuutosten ja esitetöiden perusteella autoimmunihemolyyttinen anemia, talassemia ja raudanpuuteanemia. Jokaisesta löydetyistä anemianäytteestä tehtiin noin 15 kappaletta sivelyvalmisteita verenkuvanalyysaattoritulosteineen.

Opinnäytetyö rajattiin koskemaan kyseisellä ajanjaksolla löydettyjä autoimmunihemolyyttistä anemiaa, talassemiaa ja raudanpuuteanemiaa. Tällä ajanjaksolla potilasnäytteiden joukosta ei havaittu muita anemiasairauksia. Oppimateriaalia olisi mahdollista jatkossa kerätä myös muiden anemiasairauksien osalta, kuten megaloplastinen anemia ja aplastinen anemia.

---

Asiasanat: Anemia, sivelyvalmiste, autoimmunihemolyyttinen anemia, raudanpuuteanemia, talassemia, mikroskopointi, oppimateriaali

## ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences  
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

---

Authors: Niina Mämmi, Johanna Röning

Title of thesis: Blood Smears from Anemic Samples, Learning Material for the Students of Biomedical Laboratory Science

Supervisors: Outi Mäkitalo, Mika Paldanius

Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2016      Number of pages: 28 + 6

---

This thesis produced new learning material for the practical studies of haematology. The current materials were outdated and partially incomplete. The thesis was ordered by the degree Programme in Biomedical Laboratory Science of Oulu University of Applied Sciences.

Visual microscoping plays an important role in the studies of biomedical laboratory science. The students should have the opportunity to study independently with explicit and logical guide materials. They learn practical skills by not only reading but also doing.

The purpose of this thesis was to prepare new blood smears for microscoping from different kinds of anemic samples. Fifteen blood smear samples were prepared from each different anemic disorder. Each sample includes the automated blood cell count report from the analyzer which helps the students to interpret their findings when microscoping the blood smear samples.

The thesis was produced in co-operation with the laboratory of Joint Municipal Authority of Wellbeing in Raahe District during June, July and August of 2016. The learning material was prepared from patient samples which were noted with anemic changes. The anemias found were autoimmune hemolytic anemia, thalassemia and iron deficiency anemia. If there had been patient samples with other anemic disorders they could have been used as well, for example megaloblastic or aplastic anemia.

---

Keywords: anemia, blood smear, autoimmune hemolytic anemia, iron deficiency anemia, thalassemia, microscoping, learning material

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	5
2	OPPIMATERIAALI JA OPPIMINEN.....	6
2.1	Oppimateriaalin merkitys hematologian opintojaksolla .....	6
2.2	Laadukas oppimateriaali.....	7
3	VEREN SIVELYVALMISTE JA SEN TARKASTELU .....	9
3.1	Veren sivelyvalmisteen tekeminen .....	9
3.2	May-Grünwald-Giemsa-värjäys .....	10
3.3	Sivelyvalmisteen laatu .....	11
3.4	Solujen mikroskopointi .....	12
4	ANEMIASAIRAUDET JA NIIDEN AIHEUTTAMAT MUUTOKSET VERENKUVASSA.....	15
4.1	Raudanpuuteanemia .....	16
4.2	Hemolyytiset anemiat .....	17
4.2.1	Autoimmuunihemolyytinen anemia eli AIHA .....	18
4.2.2	Talassemia.....	19
5	OPPIMATERIAALIN VALMISTAMINEN .....	21
5.1	Näytteiden keräys.....	21
5.2	Veren sivelyvalmisteiden valmistaminen ja värjäys .....	21
5.3	Oppimateriaalin laatu .....	22
6	POHDINTA .....	23
	LÄHTEET.....	25
	LIITTEET .....	29

# 1 JOHDANTO

Laadukas oppimateriaali takaa opetuksen tason. Oppimateriaali on laadukas, silloin kun se on oppimista tukeva, jäsenelty kokonaisuus. (Suomen tietokirjailijat ry 2016, viitattu 6.9.2016.) Hyvä oppimateriaali on ammattialakohtaista, sopivan haasteellista, selkeää ja monipuolista (Ruokolainen 2010, viitattu 6.9.2016). Erilaisia taitoja opitaan kokemusten kautta itse tekemällä. Oppiminen tapahtuu aluksi havainnointiin perustuen, ottamalla mallia esimerkiksi opettajan toiminnasta, jonka jälkeen itsenäisen toiminnan osuus kasvaa. (Salakari 2007, 15.) Ilman omaa kokemusta opittu teoreettinen tieto jää helposti irralliseksi. Käytännössä osattava taito opitaan parhaiten omien kokemusten kautta (Salakari 2007, 43).

Anemia on avohoitopotilaan tavallisin verisairaus, jonka syyn selvittäminen on tärkeää. Anemia voi syntyä punasolutuotannon alentuessa, punasolujen lisääntyneestä tuhosta tai punasolujen perinnöllisestä häiriöstä. Anemian diagnostiikassa perusverenkuva (B-PVK+T), leukosyyttien erittelylaskenta (B-Diffi) ja retikulosyyttien määrittäminen (B-Retik) ovat tärkeimpiä laboratoriotutkimuksia. Verenkuva-analyysoittorin antamia tietoja voidaan täydentää veren sivelyvalmisteen tarkastelulla. Punasolujen koko ja muoto vaihtelevat anemiatilasta verenkuvassa ja nämä muutokset ovat keskeisessä osassa anemian syyn selvittämisessä. (Mäntymaa 2016, viitattu 11.7.2016.)

Tässä opinnäytetyössä valmistettiin oppimateriaali Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan tutkinto-ohjelman opiskelijoille anemianäytteiden mikroskopointiharjoituksiin. Opinnäytetyön toiminnallisessa osuudessa valmistettiin verinäytteistä sellaisia sivelyvalmisteita, jotka tukivat hematologian opintojakson harjoitustuntien sisältöä. Aikaisemmin harjoitustunneilla käytössä olleista sivelyvalmisteista puuttivat analyysoittorilta saadut verenkuvatulosteet, joista on apua mikroskopoinnissa ja sivelyvalmisteiden tulkinnassa sekä anemioihin liittyvien tutkimusprosessien ymmärtämisessä. Opinnäytetyö toteutettiin yhteistyössä Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman ja Raahen sairaalan laboratorion kanssa. Oppimateriaalin aineisto kerättiin hematologian laboratorioon tulleista potilasnäytteistä, joissa havaittiin anemiasairauksiin liittyviä verenkuvamuutoksia. Tämän opinnäytetyön aihealueiksi valikoituivat kolme eri anemiasairautta, raudanpuuteanemia, autoimmuunihemolyyttinen anemia ja talassemia.

## 2 OPPIMATERIAALI JA OPPIMINEN

Oppiminen on kokemusten kautta tapahtuvaa suhteellisen pysyvää muutosta opiskelijan tietoisuudessa. Oppiminen muuttaa opiskelijassa hänen käsityksiään ympäristön ilmiöistä, toisin sanoen muutos tapahtuu todellisuuden käsitystavassa. Kokemuksen ja yksilöllisen toiminnan merkitys korostuu oppimisen yhteydessä. Teoreettiseen tietoon perustuen opiskelija havainnoi sisäistä ja ulkoista todellisuutta. Tähän pohjautuen opiskelija sisäistää uuden opittavan kokemuksen tai tiedon ja suhteuttaa sen jo olemassa olevaan tietoonsa. (Peltonen 2004, 47.)

Erlaisia taitoja opitaan kokemusten kautta itse tekemällä. Oppiminen tapahtuu aluksi havainnointiin perustuen, ottamalla mallia esimerkiksi opettajan toiminnasta, jonka jälkeen itsenäisen toiminnan osuus kasvaa. (Salakari 2007, 15.) Ilman omaa kokemusta opittu teoreettinen tieto jää helposti irralliseksi. Käytännössä osattava taito opitaan parhaiten omien kokemusten kautta (Salakari 2007, 43). Käytännön työtaitoja ei voi oppia pelkästään lukemalla tai katsomalla, tarvitaan myös itse tekemistä. Ammattitaitoisen henkilön opastamana oppiminen on nopeampaa kuin työtaitojen opettelu itsenäisesti. Tehokkaassa oppimisessa tarvitaan sekä ohjausta että itse tekemistä. (Salakari 2007, 7.)

### 2.1 Oppimateriaalin merkitys hematologian opintojaksolla

Hiidenmaan (2008) kehittämishankeraportista ilmenee, että oppimateriaalia tarvitaan lähes kaikessa opetuksessa ja sen sisältö ja merkitys vaihtelevat eri oppimisen vaiheessa. Selkeä ja johdonmukainen oppimateriaali hematologian opintojaksolla antaa opiskelijalle mahdollisuuden itsenäiseen opiskeluun. Mikroskopointiharjoituksissa opiskelija työskentelee hyvin itsenäisesti, sillä ryhmäkoot ovat suuria, eikä opettajalla ole mahdollisuutta ohjata jokaista opiskelijaa henkilökohtaisesti.

Mikroskopointi on yksi tärkeimmistä hematologian opintojakson osa-alueista. Käytännön harjoitustunneilla opetellaan tunnistamaan veren kuvan normaaleja soluja sekä anemioihin ja leukemioihin liittyviä solumuutoksia. Mikroskopoinnin lähtökohtana on teoriaopintojen lisäksi verenkuvan-analysaattorin antama tuloste. Verenkuvan-analysaattorin antama tuloste luo pohjan sille, mitä mikroskoopissa oletetaan näkyvän. Työelämässä mikroskopoinnin tarkoituksena on

varmistaa analysaattorin antamat hälytykset ja tulosten oikeellisuus. Esimerkiksi analysaattorin antama hälytys trombosyyttikasoista tarkistetaan mikroskoopilla. Lääkäri voi tarvittaessa pyytää verensivelyvalmisteen mikroskopointia esimerkiksi potilaan aiempien poikkeavien verenkuvan tulosten perusteella.

Hematologian opintojakson tavoitteena on mm. anemiasairauksien tunnistaminen, verensivelyvalmisteen valmistaminen sekä sivelyvalmisteen värjäyksen ja laadun arviointi. Opiskelijan tavoitteena hematologian opintojaksolla on laajentaa osaamistaan hematologiaan liittyvissä tutkimusmenetelmissä ja kyetä arvioimaan hematologisten tutkimusten laatua. (Oulun ammattikorkeakoulu 2016, viitattu 10.10.2016.)

## **2.2 Laadukas oppimateriaali**

Oppimateriaalilla tarkoitetaan oppimisen tukemisen välinettä. Laadittaessa oppimateriaalia tulee toimia oppimisen ehdoilla sekä opintojakson, opiskelijoiden, oppiaineen että tilanteen mukaisesti. Oppimateriaalin valmistamiselle ei ole olemassa vain yhtä oikeaa tapaa. Hyvä oppimateriaali on aina sekä opiskelijan että opettajan edun mukaista. Oppimateriaali on yleensä osa laajempaa kokonaisuutta, joten sitä laadittaessa on hyvä pohtia, miten jokin tietty opintojakso kannattaa toteuttaa, millaista materiaalia opintojaksolla tarvitaan ja kenelle oppimateriaali on suunnattu. (Kautto 2013, viitattu 13.9.2016.)

Laadukas oppimateriaali takaa opetuksen tason. Oppimateriaali on laadukas, silloin kun se on oppimista tukeva, jäsennelty kokonaisuus. (Suomen tietokirjailijat ry 2016, viitattu 6.9.2016.) Hyvä oppimateriaali on ammattialakohtaista, sopivan haasteellista, selkeää ja monipuolista (Ruokolainen 2010, viitattu 6.9.2016).

Oppimateriaalin tulisi kestää opetuksessa useita vuosia, mutta sen pitäisi silti olla ajankohdainen. Sen pitäisi tarjota oppimisen haasteita sekä hitaille että nopeille oppijoille. Sen tulisi motivoida mahdollisimman monia oppilaita. Tärkeintä kuitenkin on se, että oppimateriaalin avulla pitäisi oppia. Eniten oppimateriaalien laatimista ohjaavat opettajien vaatimukset. Materiaalien tulee tukea opettajien opetustyötä ja auttaa oppilaita oppimaan. Niinpä oppimateriaalien tulee paitsi noudattaa vallitsevia opetussuunnitelmia myös vastata opettajien tarpeisiin. (Heinonen 2005, viitattu 12.9.2016.)



Hyvä oppimateriaali vaatii jatkuvaa kehitystyötä. Oppimateriaalien kehitystyössä on tärkeää innovatiiviset opettajat ja opetuksen kehittäjät, joilla on käsitys tulevaisuuden opetuksesta ja sen asettamista vaatimuksista oppimateriaaleille. (Heinonen 2005, viitattu 12.9.2016.)

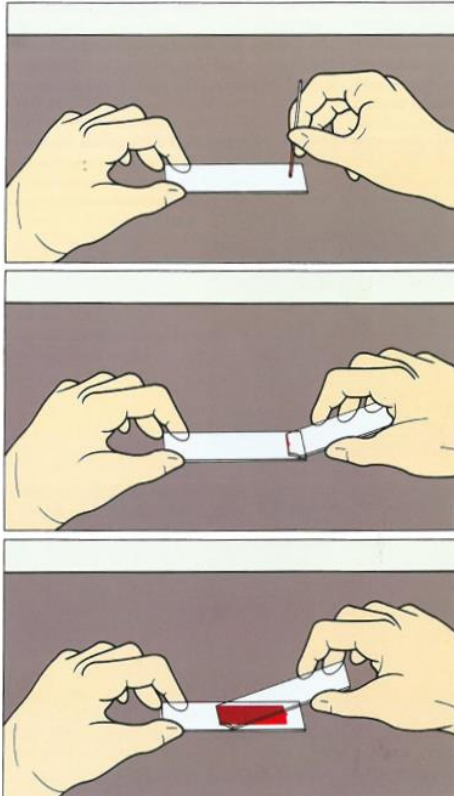
### 3 VEREN SIVELYVALMISTE JA SEN TARKASTELU

Automaattiset verenkuvaa-analysaattorit ovat viime vuosina kehittyneet nopeasti ja tästä syystä veren sivelyvalmisteiden tutkiminen on vähentynyt, mutta se on säilynyt edelleen merkittävänä tutkimuksena kliinisessä laboratoriossa. Lääkäri pyytää yleensä veren sivelyvalmisteen tutkimista kliinisten oireiden perusteella tai mikäli edellisessä täydellisessä verenkuvassa on ollut jotain epänormaalia. Laboratorio puolestaan tutkii veren sivelyvalmisteen, mikäli verenkuvaa-analysaattorin tuloksessa on ns. "liputuksia" eli huomautuksia esimerkiksi epäkypsistä soluista. (The New England Journal of Medicine 2016, viitattu 5.7.2016.)

Hematologian laboratorion kansainvälinen järjestö (International Society for Laboratory Hematology) ISLH on julkaissut määritelmät, joiden mukaan laboratorion tulee tehdä veren sivelyvalmiste automaattisen verenkuvaa-analysaattorin antaman tuloksen perusteella. Jokaisella laboratoriolle tulisi olla ISLH:n suosituksiin perustuva menettelytapa, kuinka toimia analysaattorin antaessa hälytyksiä. (The New England Journal of Medicine 2016, viitattu 5.7.2016.) Liitteessä 5 on esitetty punasoluista ja liitteessä 6 trombosyyteistä aiheutuvat liputukset. Valkosolumuutosten aiheuttamia liputuksia ei tässä yhteydessä käsitellä, koska ne eivät yleensä liity anemiadiagnosiin.

#### 3.1 Veren sivelyvalmisteen tekeminen

Veren sivelyvalmisteen tekemiseen tarvitaan tuoretta EDTA-kokoverta. Sivelyvalmiste tulee tehdä kolmen tunnin kuluessa näytteenotosta, jotta solujen morfologia eli muoto säilyy. Käytettävien työvälineiden tulee olla puhtaita, pölyttömiä ja rasvattomia, jotta sivelystä tulee sopivan ohut, tasainen ja laadukas. Näytettä tulee sekoittaa hyvin, jonka jälkeen näytettä otetaan esimerkiksi lasikapillaarilla 5-10 µl ja asetetaan objektilasille. Sively vedetään pitämällä vetolasia 30 - 45 asteen kulmassa. Veripisaran tulee antaa levitä tasaisesti vetolasin leveydelle ennen vetoa, kuitenkin niin että vetolasin keskelle jää hieman enemmän verta. Näin toimimalla sivelyvalmisteen saadaan pyöreä häntä. Heti vedon jälkeen näyte ilmakuivataan, jotta solujen morfologia säilyy hyvänä. Sivelyvalmisteen tekeminen on esitetty kuviossa 1. (Penttilä 2004, 276.)



KUVIO 1. Sivelyvalmisteen tekeminen (Bain 1989, 6)

### 3.2 May-Grünwald-Giemsa-värjäys

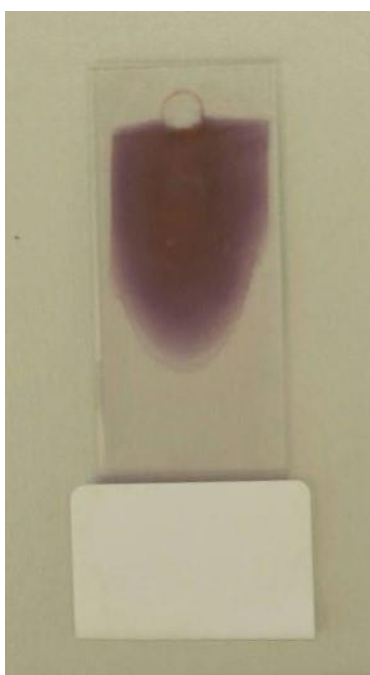
Sivelyvalmisteen kuivuttua näyte kiinnitetään metanolissa ja värjätään May-Grünwald-Giemsa -värjäysmenetelmällä. Värjäyksen avulla voidaan tunnistaa solut sekä niiden rakenteelliset poikkeamat. Esimerkki tällaisesta poikkeamasta voi olla megaloblastiseen anemiaan liittyvän erytroblastin (punasolun tumallinen varhaismuoto) tumakromatiinin löyhtymisen havaitseminen. Laboratorioissa värjäyksen tekemisestä on tarkat työohjeet (liite 1). (Lassila, Porkka, Remes & Savolainen 2015, 99.)

MGG-värjäys perustuu solujen sytokemiallisiin ominaisuuksiin. Solujen pH:sta riippuen ne värjäytyvät eri sävyillä. Värjäyksessä käytettävät reagenssit erottelevat solujen rakenteet niiden happamuuden ja emäksisyyden perusteella. MGG-värjäyksen reagenssit koostuvat eosini Y:stä ja metyleenisinistä sekä atsuuri B:stä. Emäksiset osat kuten punasolujen hemoglobiini värjäytyvät happamalla eosiinilla punaiseksi. Emäksiset metyleenisini ja atsuuri B värjäävät solujen happamat rakenteet siniseksi. Tällaisia siniseksi värjäytyviä solurakenteita ovat tuman nukleiinihapot, inkluusiokappaleet, sekä sytoplasman granulat. (Hemminki & Peltari 2011, viitattu 5.7.2016.)

Arkistointia varten valmisteet on hyvä peittää päällystysaineella ja peitinlasilla värjäyksen jälkeen (Penttilä 2004, 276).

### 3.3 Sivelyvalmisteen laatu

Laadukas veren sivelyvalmiste on noin 2,5 cm pitkä ja se ohenee tasaisesti lasin loppupäätä kohti. Sivelyvalmisteen reunojen tulee olla suorat, ne eivät saa koskettaa objektilasin reunoja tai mennä reunoista yli. Laadukkaassa sivelyvalmisteessa ei tule olla viiruja, aaltoja eikä reikiä. (Eerola & Synenko 2015, viitattu 10.10.2016.) Laadukas veren sivelyvalmiste on esitetty kuviossa 2.

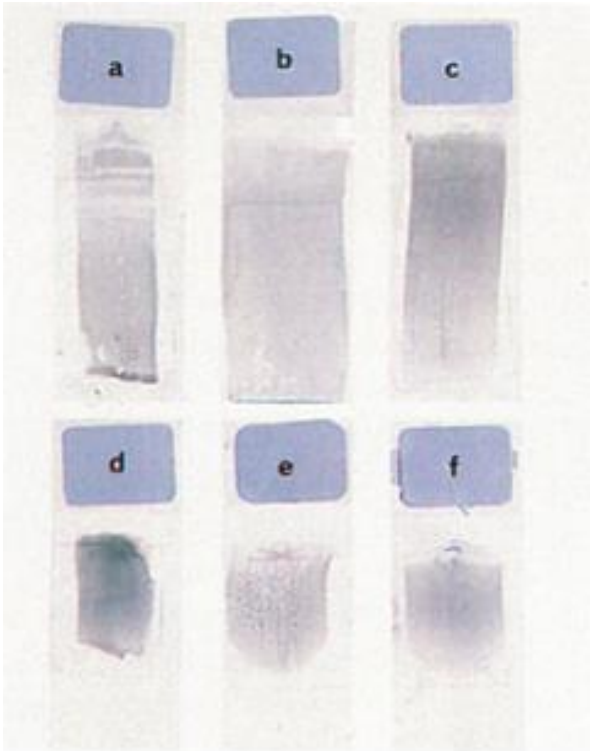


*KUVIO 2. Laadukas veren sivelyvalmiste.*

Tavallisimpia veren sivelyvalmisteen teossa tapahtuvia virheitä ovat epätasainen veto, hyytynyt näyte, viive vedon teossa ja huono vetolasi. Näiden tavallisimpien virheiden vuoksi solut jakautuvat lasille epätasaisesti. Sivelyvalmisteeseen viiruja tai reikiä aiheuttavat likainen aluslasi, huono vetolasi sekä valmisteen värjäminen kosteana. Sivelyvalmiste tulisi myös kuivattaa nopeasti, sillä liian hitaan kuivumisen myötä solut ovat pieniä ja niiden tunnistettavuus kärsii. (Nordlab 2015, viitattu 29.7.2016).

Veren sivelyvalmisteen teossa tyypillisesti esiintyviä virheitä on esitetty kuviossa 3:

- a. epätasainen veto
- b. liian leveä ja liian pitkä, sivuja ja häntää ei voi tulkita asiaankuuluvasti
- c. liian pitkä ja epätasaisesta vetolasista johtuvat viirut
- d. liian paksu ja lyhyt johtuen väärästä kulmasta tai nopeudesta vedon yhteydessä
- e. rasvapisarat häiritsevät verisolujen tulkintaa
- f. tyydyttävä



KUVIO 3. Virheellisesti valmistettuja veren sivelyvalmisteita (Bain 2006, 11)

### 3.4 Solujen mikroskopointi

Anemiadiagnostiikassa käytetään veren sivelyvalmisteen punasolumorfologian arviointia, koska muutokset ovat usein tyypillisiä tietyntyyppisten anemioiden yhteydessä ja ne selvittävät anemian taustaa. Sivelyvalmistetta tarkasteltaessa kiinnitetään huomioita punasolujen värjäytyvyyteen, ryhmytykseen, kokoon, muotoon, solun sisäisiin kappaleisiin sekä varhaismuotoihin. MGG-värjättyllä sivelyvalmisteella punasolut ovat vaalean kellanpunaisia pyöreitä tumattomia soluja. Valmisteen paksummassa päässä punasoluilla on taipumus asettua raharullaksi eli punasolujonoksi. Normaalit punasolut ovat normokromisia ja normosyyttisiä eli normaalin värisiä ja

kokoisia. Solujen varhaisia esiasteita, sisäisiä kappaleita, koon tai muodon vaihtelua ei juuri normaaleissa punasoluissa esiinny. (Penttilä 2004, 277.)

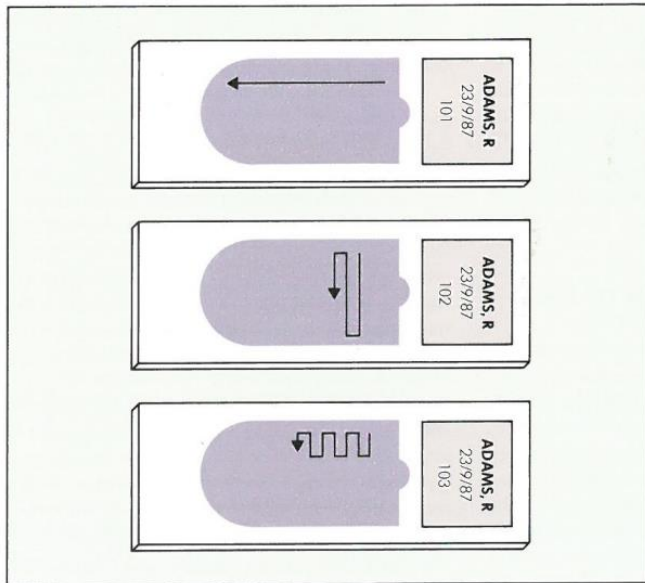
Veren sivelyvalmisteen morfologinen tutkimus on monen asiantuntijan mielestä eniten informaatiota antava hematologinen tutkimus. Sivelynäytteen toistettavuus on tutkimusten mukaan haastavaa, jopa kokeneen hematologin tekemänä ja sen tulkinta vaatii harjaantuneisuutta. Mikroskopointi on aina silmämääräisesti suoritettava tutkimus ja sen vakiointi on haastavaa. B<sub>12</sub> – vitamiinin – ja folaatinpuutos anemioihin liittyvä, neutrofiilien tuman yliliuskoittuminen on myös helposti todettavissa veren sivelyvalmisteesta. Punasolujen sisäiset kappaleet, kuten Howell-Jollyn kappaleet tai basofiilinen pilkutus sekä sferosyytit voidaan todeta ainoastaan sivelyvalmisteesta. (Lassila ym. 2015, 167.) Howell-Jollyn kappaleilla tarkoitetaan punasolun reunassa sytoplasmassa esiintyviä yksittäisiä pieniä pyöreitä sileäreunaisia tuman jäänteitä. Basofiilisella pilkutuksella tarkoitetaan nuoren punasolun sytoplasmassa esiintyviä siniseksi värjäytyviä saostuneita RNA-jäänteitä. Sferosyytit ovat normaaleja punasoluja pienempiä pallomaisia punasoluja, joilta puuttuu keskikalpeus. (Ek 2009, 57.)

Mikroskopoinnin työvaiheet:

1. Tarkista potilaan henkilötiedot ja päivämäärä
2. Tarkastele sivelyvalmisteen laatua makroskooppisesti
3. Köhleröi mikroskooppi ja aloita tarkastelu 10 x objektiivilla käymällä läpi sivelyvalmisteen reunat ja häntä sekä lopuksi koko sivelyvalmiste
4. Tarkastele koko sivelyvalmiste 40 x tai 50 x objektiivilla. Tämä on mikroskopoinnin tärkein vaihe, jossa havaitaan epänormaalit solut. Kiinnitä huomiota punasoluihin, valkosoluihin ja trombosyytteihin
5. Käytä immersioöljyä käytetystä objektiivista riippuen ja mikäli siihen on tarvetta esimerkiksi blastien tunnistamisessa (Bain 2006, 17.)

Veren sivelyvalmisteessa soluilla on taipumus jakautua epätasaisesti. Sivelyvalmisteen häntä sisältää enemmän neutrofiilejä ja vähemmän lymfosyyttejä, kun taas monosyytit jakautuvat tasaisesti koko lasille. Mikäli sivelyvalmiste on liian lyhyt, on solujen epätasainen jakautuminen lasilla suurempaa. Vetolasi jossa on liian karkeat reunat, aiheuttaa myös solujen epätasaista jakautumista lasille. Sivelyvalmisteen erittelylaskennassa voidaan käyttää eri tyyplejä, niin että solujen epätasaista jakautumista voidaan kompensoida. Kuviossa 4 ylimpänä esitetty malli kuvaa kuinka solujen epätasaista jakautumista kompensoidaan lasin pituussuunnassa. Keskellä esitetty

malli huomioi puolestaan solujen jakautumisen leveyssuunnassa. Alimmaisessa esimerkissä otetaan huomioon solujen epätasainen jakautuminen joka suunnassa. Sivelyvalmiste tulee tarkastella mahdollisimman laajalta alalta ja siihen paras menetelmä on esitetty kuviossa 4 alimmaisena. Näin eri solutyypin epätasainen jakautuminen tulee huomioiduksi laskennassa. Huolellisesti valmistetussa sivelyvalmisteessa solujen epätasainen jakautuminen ei ole suurta, eikä vaikuta paljon solulaskennan tarkkuuteen. (Bain 2006, 28.)



KUVIO 4. Veren sivelyvalmisteen eri tarkastelumenetelmät (Bain 1989, 104)

## 4 ANEMIASAIRAUDET JA NIIDEN AIHEUTTAMAT MUUTOKSET VERENKUVASSA

Anemia on erittäin yleinen sairaus ja sen tunnistaminen kuuluu lääkärin perusosaamiseen. Anemiaa diagnosoitaessa on tärkeää ymmärtää sairauden syntymekanismit, jotka voidaan selvittää potilaan historian, laboratoriotutkimusten ja veren sivelyvalmisteen tutkimisen avulla. (Petruzzelli & Schmaier 2003, 25.) Anemian kriteereinä pidetään sitä, kun veren hemoglobiini- tai punasolupitoisuudet ovat pienemmät kuin sukupuolen ja iän mukaiset viitearvot. WHO on määrittellyt anemian hemoglobiinirajoiksi naisilla alle 120 g/l ja miehillä alle 130 g/l. (Lassila ym. 2015, 162.)

Hemoglobiinin tärkein tehtävä elimistössä on hapen kuljetus keuhkoista kudoksiin. Anemiassa veren hemoglobiiniarvot ovat pienentyneet ja tämä johtaa hapen puutteeseen ja sitä kautta eri elinten toimintahäiriöihin. Potilaan ikä sekä anemian kehittymisnopeus vaikuttavat huomattavasti oireiden voimakkuuteen. (Penttilä 2004, 291.)

Anemioiden diagnostiikassa hyvä ja yksinkertainen lähtökohta on niiden morfologinen luokittelu. Tämän perusteella voidaan päätellä anemian todennäköisin syy ja tehdä päätökset jatkotutkimuksille. Anemiat voidaan luokitella joko punasolujen keskitilavuuden tai syntymekanismin perusteella. Punasolujen keskitilavuuden perusteella anemiat voidaan jakaa edelleen kolmeen ryhmään. Mikrosyyttisessä anemiassa punasolujen keskitilavuus MCV on alle 80 fl. Normosyyttisessä anemiassa punasolun keskitilavuus MCV on 80 – 100 fl ja makrosyyttisessä anemiassa punasolujen keskitilavuus MCV kasvaa yli 100 fl. Anemiat voidaan jakaa myös syntymekanismin perusteella kahteen pääryhmään. Punasoluja voi muodostua normaalia vähemmän esimerkiksi raudan puutteen tai B<sub>12</sub>-vitamiinin puutteen takia. Punasoluja voidaan myös menettää normaalia enemmän, joko verenvuodon tai hemolyysin eli punasolujen hajoamisen seurauksena. (Penttilä 2004, 291.)

Punasolujen keskitilavuuden lisäksi verenkuvan muitakin viitearvoja voidaan käyttää anemian määrittelyssä. Verenkuvan viitearvot ovat esitetty taulukossa 1. Potilaan tutkimisessa on eduksi, jos tiedossa ovat aiemmat hemoglobiiniarvot. Tällöin yksilöllinen hemoglobiiniarvon muuttuminen voidaan havaita ja suurempi kuin 20 g/l muutos hemoglobiinissa viittaa vahvasti yksilölliseen



hemoglobiinin alenemiseen, vaikka arvo olisikin vielä viiterajoissa. Anemian etiopatogeneesi eli varsinainen diagnoosi, joka aiheuttaa anemiaa, tulee myös selvittää. (Niemelä & Pulkki 2010, 255.)

*TAULUKKO 1. Perusveren kuvan viitearvot (Nordlab tutkimusohjekirja 2016, Viitattu 20.7.2016)*

	Naiset	Miehet
fB-Leuk	3,4-8,2*10 <sup>9</sup> /l	3,4-8,2*10 <sup>9</sup> /l
B-Eryt	3,90-5,20*10 <sup>12</sup> /l	4.25 - 5.70 x 10 <sup>12</sup> /l
B-Hb	117 - 155 g/l	134 - 167 g/l
B-HKR	0.35 - 0.46	0.39 - 0.50
E-MCV	82 -98 fl	82 -98 fl
E-MCH	27 - 33 pg	27 - 33 pg
E-MCHC	320 - 355 g/l	320 - 355 g/l
E-RDW	alle 15 %	alle 14 %
B-Tromb	150 - 360 x 10 <sup>9</sup> /l	150 - 360 x 10 <sup>9</sup> /l

#### 4.1 Raudanpuuteanemia

Suomen yleisin anemiatyyppi on raudanpuuteanemia. Kyseessä ei ole varsinainen diagnoosi, vaan oire muusta sairaudesta tai häiriöstä. Raudanpuuteanemiaan johtavia syitä voivat olla lisääntynyt raudan menetys verenvuodon seurauksena, lisääntynyt raudan tarve (esim. raskaus, imetys), raudan imeytymishäiriöt (esim. keliakia) tai alentunut raudan saanti erityisruokavaliota noudattavilla. (Niemelä 2010, 257.)

Raudanpuuteanemia on hypokrominen (laajentunut keskikalpeus) mikrosyyttianemia, jossa hemoglobiinipitoisuus on alentunut ja punasolujen määrä vähentynyt. Mikrosyyttianemiassa punasolujen keskitilavuus (MCV) laskee alle viitearvojen ja samanaikaisesti yleensä myös punasolujen keskimääräinen hemoglobiinin määrä (MCH) laskee. Hypokromisessa anemiassa myös punasolujen keskimääräinen hemoglobiinin konsentraatio (MCHC) alenee. (Hänninen & Törrönen 1985, 89.) Trombosytoosi eli verihitaleiden liian suuri määrä voi myös liittyä

raudanpuutteeseen ja mahdollinen verenvuoto voi edelleen nostaa trombosyyttien määrää (Krusius, Rajamäki & Ruutu 2000, 89). Tyypillisiä veren sivelyvalmisteessa nähtäviä punasolumuutoksia ovat poikilosytoosi eli muodonvaihtelu, kynäsolut ja target-solut eli maalitaulusolut (Hahn-Nokela, Kyllönen & Liesvuori 2006, 26).

Rauta on välttämätön punasolujen hemoglobiinin muodostukselle. Raudanpuute johtaa alentuneeseen punasolutuotantoon ja se kehittyy asteittain (Niemelä 2010, 256.). Raudanpuute todetaan ferritiinimäärityksellä (S-Ferrit). Ferritiinin ollessa alle 30 µg/l kyseessä on raudanpuute. Kroonisen sairauden yhteydessä ilmenevä raudanpuute todetaan määrittämällä liukoinen transferrinireseptoripitoisuus (S-TfR). Viitearvon ylittävä TfR-pitoisuus viittaa raudanpuutteeseen. (Nousiainen 2013, viitattu 2.8.2016.) Raudanpuuteanemiaan liittyy myös pieni seerumin rautapitoisuus (S-Fe) (Lassila ym. 2015, 180).

## 4.2 Hemolyttiset anemiat

Hemolyttiset anemiat ovat suomalaisella väestöllä harvinaisia, mutta maailmanlaajuisesti ajatellen ne ovat erittäin yleinen ja merkittävä ongelma, joka tulee huomioida maahanmuuttajien anemioita tutkittaessa (Juvonen & Savolainen 2013, viitattu 29.7.2016).

Hemolyttiset anemiat voidaan jakaa perinnöllisiin ja hankinnaisiin sairauksiin. Perinnöllisessä hemolyttisessä anemiassa hemolyysin syy on yleensä poikkeavuus itse punasoluissa. Perinnölliset hemolyttiset tilat voidaan jakaa kolmeen ryhmään: punasolujen kalvopoikkeavuudet, punasolujen metaboliset poikkeavuudet ja hemoglobiinisairaudet. Hankinnainen hemolyttinen anemia voi johtua mm. lääkkeiden ja kemiallisten aineiden aiheuttamasta hemolyysistä tai väärästä verensiirrosta. (Vilpo 2005, 82.)

Punasolujen keskimääräinen elinikä on 120 vuorokautta. Hemolyysissä punasolujen elinikä lyhenee jopa muutamiin minuutteihin. Hemolyysi voi olla kompensoitua, jolloin punasolujen tuotanto kasvaa ja kompensoi kulutuksen, eikä anemiaa pääse syntymään. Se voi olla myös kompensoimatonta, jolloin anemia kehittyy. (Juvonen & Savolainen 2013, viitattu 29.7.2016.)

Hemolyysi ilmenee retikulosytoosina eli punasolujen epäkypsien muotojen lisääntymisenä veren kuvassa ja joissakin tapauksissa tavataan MCV:n suurenemista. Mikäli retikulosyyttejä (B-

Retik) ei ilmene potilaan verenkuvassa, voidaan hemolyysi yleensä sulkea pois. Hemolyysin varmentamiseksi ja mekanismin selvittämiseksi apuna voidaan käyttää erilaisia hematologisia tutkimuksia. Autoimmuunihemolyyttinen anemia (AIHA) voidaan todeta suoralla antiglobuliinikokeella eli suoralla Coombsin kokeella (E-Coombs). Laktaattihydrogenaasi (P-LD) on erittäin herkkä hemolyysin osoittaja, mutta sitä ei voida pitää kuitenkaan spesifisenä hemolyysin osoituskokeena. (Juvonen & Savolainen 2013, viitattu 29.7.2016.) Laktaattihydrogenaasin arvot voivat suurentua monissa muissakin tiloissa kuten akuutissa sydäninfarktissa tai hepatiitissa (Nordlab Oulu 2016, viitattu 26.9.2016). Haptoglobiini (S-Haptog) pienenee hemolyysissä, mutta voi viitata myös muihin sairauksiin. Bilirubiiniarvon (P-Bil) ja erityisesti konjugoitumattoman bilirubiinin (P-Bil-Kj) pitoisuus suurenee vaikeassa hemolyysissä. Pitkään jatkuneen suonen sisäisen hemolyysin osoittaja on virtsan hemosideriini tutkimus (U-Hemsi-O), joka säilyy positiivisena useita viikkoja hemolyysin päätyttyä. Myös veren solujen morfologinen tarkastelu sekä tarvittaessa luuydintutkimus selvittävät potilaan anemian tilaa. (Juvonen & Savolainen 2013, viitattu 29.7.2016.)

#### **4.2.1 Autoimmuunihemolyyttinen anemia eli AIHA**

Suomalaisilla esiintyvistä hemolyyttisistä anemioista yleisin on autoimmuunihemolyyttinen anemia eli AIHA, jonka yleisyys on 1 tapaus 75 000 henkeä kohti vuodessa (Juvonen & Savolainen 2013, viitattu 29.7.2016). Autoimmuunihemolyyttisessä anemiassa potilaan oma immunologinen järjestelmä tuottaa vasta-aineita omia punasolurakenteita kohtaan, jonka vuoksi punasolut hajoavat. Vasta-aineet voivat olla joko ns. lämminvasta-aineita tai ns. kylmävasta-aineita. Lämminvasta-aineet reagoivat kehon lämpötilassa ja kylmävasta-aineet reagoivat huoneenlämmössä tai mahdollisesti alhaisemmissa lämpötiloissa. (Vilpo 2005, 89.) Lämmin- ja kylmävasta-aineiden aiheuttaman AIHA:n erottaminen toisistaan on tärkeää, sillä niiden hoito ja niihin liittyvät sairaudet eroavat merkittävästi toisistaan (Lassila ym. 2015, 210).

AIHA:n diagnoosi perustuu spesifisiin laboratoriotutkimuksiin ja tyypilliseen oirekuvaan. Punasolujen pintaan kiinnittyneiden vasta-aineiden olemassaolo saadaan selville suoralla Coombsin kokeella (E-Coomb-O). Punasolujen pintaan kiinnittynyt komplementti (C3d) aikaansaa positiivisen tuloksen. Korostunut sininen polykromasia ja punasolujen agglutinaatio nähdään perifeerisen veren sivelyvalmisteessa. (Vilpo 2005, 90.) Punasoluvasta-aineista johtuvalla

agglutinaatiolla tarkoitetaan punasolujen liimautumista toisiinsa kiinni, kasoja muodostaen (Ek 2009, 51).

Lämminvasta-aineiden aiheuttaman AIHA:n laboratoriodiagnostiikassa veren sivelyvalmisteessa voi olla punasolujen koon vaihtelua, nuorista punasoluista johtuvaa makrosytoosia sekä punasolujen keskitilavuuden suurenemista ja sferosyyttejä. Analysaattorin antama suuri punasolun keskitilavuus (E-MCV) saattaa johtua siitä, että solulaskija tunnistaa autoagglutinoituneet solurykelmät virheellisesti yhdeksi soluksi. (Lassila ym. 2007, 205.)

Kylmävasta-aineiden aiheuttamassa AIHA:n laboratoriodiagnostiikassa saadaan positiivinen tulos suorassa antiglobuliinikokeessa erityisesti antikomplementtivasta-aineilla. Veren sivelyvalmisteessa voidaan nähdä sferosyyttejä, agglutinaatioryhmitystä sekä polykromasiaa. Polykromasialla tarkoitetaan nuorien punasolujen värjäytymistä sinertäviksi. Tavallista on myös retikulosyyttipitoisuuden kohtalainen suureneminen sekä kylmällä ilmalla ilmenevä hemoglobiuria (verivirtsaisuus). (Lassila ym. 2007, 208.)

#### **4.2.2 Talassemia**

Maahanmuuttajilla hemoglobiinipoikkeavuudet ovat tavallisia. Talassemioita esiintyy Välimeren ympäristöstä Kaakkois-Aasiaan ulottuvalla vyöhykkeellä runsaasti. (Lehtinen 1998, viitattu 29.7.2016.) Talassemia on maailmanlaajuisesti yleisin peittyvästi periytyvä tautiryhmä eli tautigeeni tulee saada molemmilta vanhemmilta. Maailmassa arvellaan olevan noin 200 miljoona talasemiaa sairastavaa ihmistä. Suomalaisessa kantaväestössä talassemia on kuitenkin edelleen harvinainen sairaus. (Salonen 2015, viitattu 8.9.2016)

Punasoluissa oleva hemoglobiini muodostuu neljästä valkuaisaineketjusta. Hemoglobiinissa on aikuisilla tavallisesti kaksi alfa-globiiniketjua ja kaksi beeta-globiiniketjua. Mutaatio globiinigeenissä aiheuttaa globiiniketjun kokonaan puuttumisen tai globiiniketjun liian vähäisen määrän. Globiiniketjun häiriöt aiheuttavat punasolujen vaurioitumista ja hemoglobiinin rakenteen epävakautta. Alfatalasemia ja beetatalasemia ovat esimerkkejä talassemian muodoista. Talassemian vaikeusastetta voidaan kuvata esimerkiksi nimillä minor (lievä tauti) tai major (vaikein tauti). Lievempää tautimuotoa sairastava potilas voi olla oireeton ja epäily talasemiasta herää

perusverenkuvatutkimuksessa esiin tulevasta anemiasta ja pienistä punasoluista ilman, että kyseessä on raudanpuute. (Salonen 2015, viitattu 8.9.2016).

Mutaatio globiinigeenissä aiheuttaa punasoluissa globiinisynteesin epätasapainon muodostaen hypokromisia ja mikrosyyttisiä punasoluja. Punasoluun kertyy normaalisti tuotettua globiiniketjua ja tämä muodostaa globiinikiteitä ja poikkeavia tetrimeerejä. Punasolujen esiasteet hajoavat globiiniketjuylimäärän seurauksena. Punasolun solukalvo ja muovautuvuus heikkenee verenkierrossa globiinikiteiden vuoksi, joka johtaa anemiaan, hemolyysiin ja punan suurentumiseen. (Lassila ym. 2015, 222.)

Talassemiapotilaan verenkuvassa on havaittavissa vaikea mikrosytoosi (MCV 50-60 fl) ja hypokromasia. Veren sivelyvalmisteessa voidaan nähdä poikilosytoosia, maalitaulusoluja, basofiilista pilkutusta ja erytroblasteja. (Lassila ym. 2015, 223.) Suomessa on käytössä alfa- ja betatalassemian sekä sirppisoluanemian DNA-tutkimus verestä (B -HBA/B-D) (Huslab 2016, viitattu 10.10.2016).

## 5 OPPIMATERIAALIN VALMISTAMINEN

Oppimateriaali valmistettiin yhteistyössä Raahen sairaalan laboratorion kanssa. Veren sivelyvalmistenäytteet kerättiin hematologian laboratorioon tulleista potilasnäytteistä, joissa havaittiin anemiasairauksiin liittyviä verenkuvamuutoksia. Opinnäytetyötä aloitettaessa haasteena oli anemianäytteiden löytyminen ja se, kuinka kyseiset näytteet voidaan havaita kaikkien laboratorioon saapuvien verinäytteiden joukosta. Opinnäytetyön sisältöä ei ollut mahdollista ennalta suunnitella kovinkaan tarkasti, koska oli mahdotonta ennakoida millaisia näytteitä laboratorioon tulisi. Aineiston keräämisen jälkeen opinnäytetyö rajattiin koskemaan kolmea löytämäämme anemiasairautta: autoimmuunihemolyttinen anemia eli AIHA, talassemia sekä raudanpuuteanemia.

### 5.1 Näytteiden keräys

Opinnäytetyö aloitettiin kartoittamalla kullekin anemialle tyypilliset verenkuvamuutokset ja tämän rajauksen avulla näytteiden havaitseminen isosta näytemäärästä helpottui. Huomiota kiinnitettiin verenkuvanaalysaattorin antamaan alhaiseen hemoglobiinipitoisuuteen, joka viittaa vahvasti anemialöydökseen. Verenkuvanaalysaattorin antamat liputukset helpottivat myös osaltaan näytteiden löytymistä. Tällaisia liputuksia olivat esimerkiksi ”iron deficiency”, ”anisocytosis” ja ”thrombocytopenia”. Huomiota kiinnitettiin myös punasolujen keskitilavuuteen MCV, joka auttoi kartoittamaan, onko kyseessä mahdollisesti mikrosyyttinen, makrosyyttinen vai normosyyttinen anemia. Autoimmuunihemolyttiset anemiatapaukset etsittiin esitietojen perusteella ja löydökset varmistettiin suoran Coombsin avulla, kun näytteessä todettiin vasta-aineita. Talassemiaista sivelyvalmisteet otettiin mukaan esitietojen perusteella. Raudanpuuteanemia on yleisin anemiasairaus ja näiden anemiatapausten löytäminen oli helpointa, koska raudanpuuteanemiaan viittaavia näytteitä tuli laboratorioon lähes päivittäin.

### 5.2 Veren sivelyvalmisteiden valmistaminen ja värjäys

Veren sivelyvalmisteet tehtiin näytteistä, jotka täyttivät anemian kriteerit. Näytteet analysoitiin verenkuvanaalysaattorilla tunnistetiedoilla ja ne tehtiin kolmen tunnin kuluessa näytteenotosta. Veren sivelyvalmisteita tehtiin jokaisesta löydetyistä anemianäytteestä noin 15 kappaletta. Tämän

määrän arvioitiin olevan riittävä määrä mikroskopointiharjoituksiin. Veren sivelyvalmisteiden kuivuttua lasit värjättiin MGG-värjäyksellä ja lopuksi niiden päälle liimattiin peitinlasit.

### 5.3 Oppimateriaalin laatu

Oppimateriaalia laatiessa on tärkeää valita luotettavia ja ajankohtaisia lähteitä. Oppimateriaalin valmistamisessa käytettiin mahdollisimman uusia lähteitä, mutta vanhempia lähteitä hyväksyttiin, silloin kun niiden käyttö oli perusteltua. Esimerkiksi kuviossa 1 esitetty sivelyvalmisteen vetotekniikka esitettiin paremmin vanhemmassa kirjapainoksessa. Huomiota tulee kiinnittää kohderyhmään, jolle oppimateriaali on suunnattu. Tämä oppimateriaali on suunnattu bioanalyytikko-opiskelijoille hematologian opintojaksolle. Oppimisen kannalta on tärkeää, että oppimateriaalissa käsiteltävät keskeiset käsitteet avataan opiskelijalle ymmärrettävään muotoon. Oppimateriaali on hyvä rajata selkeäksi kokonaisuudeksi niin, että se sisältää opiskeltavan asian olennaiset tiedot.

Veren sivelyvalmisteiden laatua arvioitaessa huomiota kiinnitettiin sivelyvalmisteiden ulkoisiin laatukriteereihin eli sivelyn muotoon, paksuuteen ja värjäykseen. Valmistetuissa sivelyvalmisteissa esiintyy vaihtelua edellä mainittujen kriteerien osalta. Sivelyvalmisteiden tekeminen on käsityötä joten jokaisella on oma kädenjälkensä. Sivelyvalmisteiden värjäys suoritettiin useammassa erässä, joten värjäystulos vaihteli erästä riippuen.

Autoimmuunihemolyttisen anemian aiheuttamien mikroskoopissa näkyvien solumuutosten olisi toivottu olevan selkeämmät, jolloin sivelyvalmiste olisi tarjonnut opiskelijalle paremmat mahdollisuudet AIHA:n tunnistamisessa. Raudanpuuteanemian ja talassemian aiheuttamat mikroskoopissa näkyvät solumuutokset olivat kyseisille sairauksille tyypillisiä sekä helposti havaittavissa ja tältä osin lopputulokseen voidaan olla tyytyväisiä.

## 6 POHDINTA

Tässä opinnäytetyössä valmistettiin autoimmuunihemolyytisestä anemiasta, talassemiaista ja raudanpuuteanemiasta veren sivelyvalmisteita. Jokaisesta anemianäytteestä valmistettiin 15 kappaletta sivelyvalmisteita verenkuvaa-analysointitulosteineen. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa uutta oppimateriaalia hematologian opintojaksolle. Oppimateriaalin uudistaminen koettiin tarpeelliseksi, koska hematologian opintojakson opetuksessa käytettävä oppimateriaali oli osittain puutteellista. Anemiasivelyvalmisteista puuttivat verenkuvaa-analysointiltaan saadut tulosteet. Tulosteet ovat oleellinen osa mikroskopointiharjoituksia, sillä ne auttavat opiskelijaa tulkitsemaan sivelyvalmistetta. Oppimateriaaliksi valikoitui autoimmuunihemolyyttinen anemia, talassemia ja raudanpuuteanemia, sillä nämä olivat ne anemiasairaudet, joita potilasnäytteiden joukosta löydettiin kesä-, heinä- ja elokuun 2016 aikana. Tietoperusta rajattiin koskemaan kyseisiä anemiasairauksia.

Potilasnäytteiden joukosta autoimmuunihemolyyttiset anemiat ja talassemiat löydettiin helposti esitietojen ja diagnoosien avulla. Raudanpuuteanemiaan viittaavia potilasnäytteitä tuli laboratorioon lähes päivittäin, joten tämän anemiasairauden näytteitä saatiin opinnäytetyöhön helposti. Tavoitteenamme oli löytää myös megaloblastinen anemia. Megaloblastisen anemian löytämiseksi etsittiin näytteitä, joissa oli alhainen B<sub>12</sub>-vitamiini ja korkea MCV ja näistä näytteistä tehtiin sivelyvalmisteet. Mikroskopoinnin avulla etsittiin megaloblastiselle anemialle tyypillisiä solumuutoksia kuten neutrofiilien yliliuskoittuminen. Oppimateriaaliksi sopivaa näytettä ei kuitenkaan löydetty mikroskoipimalla, koska solumuutokset eivät olleet tarpeeksi selkeitä.

Veren sivelyvalmisteen tekeminen vaatii ammattitaitoa ja kokemusta sekä harjaantumista oikean vetotekniikan löytymiseksi. Haasteita sivelyvalmisteiden tekemiselle loi oma harjaantumattomuus, koska meillä ei ollut paljon rutiinia verensivelyvalmisteiden tekoon. Ammattitaitoinen henkilökunta Raahen sairaalan laboratorioissa ohjasi ja antoi vinkkejä laadukkaasti sivelyvalmisteen aikaansaamiseksi. Anemianäytteissä yleisesti esiintyvä matala hemoglobiini tuotti vaikeuksia laadukkaasti sivelyvalmisteen tekemisessä veren ohuuden vuoksi, joka hankaloitti laadukkaiden veren sivelyvalmisteiden tekoa.

Oma ammattitaito kasvoi ammattitaitoisen henkilökunnan opastuksessa, kun neuvoja saatiin työtapojen muuttamisesta parempien sivelyvalmisteiden aikaansaamiseksi. Opinnäytetyö syvensi



omaa ammattitaitoa anemiasairauksien aiheuttamien solumuutosten tunnistamisessa sekä työskentely hematologian laboratoriossa tuli tutuksi.

Opinnäytetyöprosessi eteni suunnitellun aikataulun mukaisesti, niin että kesän 2016 aikana löydetyistä anemianäytteistä saatiin valmistettua sivelyvalmisteet analysaattoritulosteineen. Tietoperusta opinnäytetyöhön valikoituvista anemiasairauksista voitiin tehdä vasta syksyllä 2016, kun varmistui mitä anemiasairauksia potilasnäytteiden joukosta löytyi.

Opinnäytetyön toteutukselle Raahen sairaalan laboratoriossa anottiin keväällä 2016 tutkimuslupa, jonka hyväksymisen jälkeen anemianäytteiden etsiminen voitiin aloittaa. Potilaiden yksityisyyttä kunnioitettiin poistamalla henkilötiedot verenkuvaa-analysointitulosteista. Potilaiden tunnistettavuus haluttiin minimoida myös sukupuolen ja iän mainitsematta jättämisellä. Autoimmunihemolyytiselle anemialle ja talassemialle tiedossa oli lääkärin varmistama diagnoosi, mutta raudanpuuteanemia poimittiin potilasnäytteiden joukosta verenkuvamuutosten perusteella. Raudanpuuteanemialle ei ole tässä tapauksessa lääkäriltä saatua virallista diagnoosia, mutta verenkuvaa-analysointin antama tulos sekä mikroskoopissa näkyvät muutokset viittaavat vahvasti raudanpuuteanemiaan.

Jatkossa oppimateriaalia kannattaa tehdä megaloblastisista anemioista ja aplastisista anemioista. Tekemäämme oppimateriaalin hyödynnettävyyttä bioanalytiikka-opiskelijoilla pitää testata ja päivittää jatkossa sekä sen käytettävyyttä ja laatua on syytä arvioida. Oppimateriaaliin on jatkossa syytä lisätä veren sivelyvalmisteiden kuvallista materiaalia.

## LÄHTEET

Bain, B., J., 1989. Blood cells. A practical guide. London: Gower Medical Publishing.

Bain, B., J., 2006. Blood cells. A practical guide. London: Gover Medical Publishing.

Eerola, M. & Synenko, O. 2015. Opetusvideo veren sivelyvalmisteen tekemisestä. Metropolia Ammattikorkeakoulu. Viitattu 10.10.2016, <https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/90506/muokattu55.pdf?sequence=1>.

Ek, A. 2009. Verisolujen tunnistusaapinen. Kankaanpää: MESSON.

Hahn-Nokela, I., Kyllönen, J. & Liesvuori, J., 2006. Perifeerisen veren sivelyvalmiste ja sen morfologinen tutkiminen. Savonia-ammattikorkeakoulu. Kopiojyvä Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu, Terveysala Kuopio.

Heinonen, J-P., 2005. Opetussuunnitelmat vai oppimateriaalit. Peruskoulun opettajien käsityksiä opetussuunnitelmien ja oppimateriaalien merkityksestä opetuksessa. Viitattu 12.9.2016, <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/20002/opetussu.pdf?sequence=1>.

Hemminki, M. & Peltari, T. 2011. Manuaalisesti ja automaattisesti tehtyjen perifeerisen veren sivelyvalmisteiden vertailu. Tampereen ammattikorkeakoulu. Viitattu 5.7.2016, [http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/35188/Hemminki\\_Maria\\_Peltari\\_Tiina.pdf?sequence=1](http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/35188/Hemminki_Maria_Peltari_Tiina.pdf?sequence=1).

Hiidenmaa, S. 2008. Powerpoint oppimateriaali oppimisen edistämässä. Kehittämishankeraportti. Jyväskylän ammattikorkeakoulu. Viitattu 12.9.2016, [https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/19889/jamk\\_1205825595\\_2.pdf?sequence=1](https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/19889/jamk_1205825595_2.pdf?sequence=1).

Huslab. 2016. Tutkimusohjekirja. Alfa- ja betatalassemia sekä sirppisoluanemia, DNA-tutkimus verestä. Viitattu 10.10.2016, <http://huslab.net/ohjekirja/21434.html>.

- Hänninen, O. & Törrönen, R. 1985. Kliininen laboratoriolääketiede. Porvoo: WSOY.
- Juvonen, E. & Savolainen E-R. 2013. Lääkärin käsikirja. Hemolyyttinen anemia. Terveysportti. Viitattu 29.7.2016, [http://www.terveysportti.fi.ezp.oamk.fi:2048/dtk/ltk/koti?p\\_haku=aiha](http://www.terveysportti.fi.ezp.oamk.fi:2048/dtk/ltk/koti?p_haku=aiha).
- Kautto, J. 2013. Oppimateriaalin kehittäminen toisen asteen koulutukseen. Tampereen ammattikorkeakoulu. Viitattu 13.9.2016, [http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/55867/Kautto\\_Jaana.pdf?sequence=1](http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/55867/Kautto_Jaana.pdf?sequence=1).
- Krusius, T., Rajamäki, A. & Ruutu, T. 2000. Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. 2007. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.
- Lassila, R., Porkka, K., Remes, K. & Savolainen, E-R. 2015. Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Lehtinen, M. 1998. Lääketieteellinen Aikakausikirja Duodecim. Viitattu 29.7.2016, [http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p\\_p\\_id=Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet&viewType=viewArticle&tunnus=duo80265&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_p\\_auth](http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&viewType=viewArticle&tunnus=duo80265&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_auth).
- Mäntymaa, P. 2016. Mitä punasolun morfologia kertoo anemian syistä. Viitattu 11.7.2016, [http://www.labquality.fi/@Bin/2789876/Pertti+M%C3%A4ntymaa\\_Abstrakti\\_Labquality+Days+2015.pdf](http://www.labquality.fi/@Bin/2789876/Pertti+M%C3%A4ntymaa_Abstrakti_Labquality+Days+2015.pdf).
- Niemelä, O. & Pulkki, K. 2010. Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Nordlab Oulu. 2016. Tutkimusohjekirja. Laktaattidehydrogenaasi, plasmasta. Viitattu 26.9.2016, [http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=4526&terms=ld](http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4526&terms=ld).
- Nordlab Oulu 2015. Tutkimusohjekirja. Perusverenkuva ja trombosyytit verestä. Viitattu 2.8.2016, [http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=2474&terms=pvk](http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2474&terms=pvk).

Nordlab 2015. Veren sivelyvalmisteen tekeminen. Viitattu 29.7.2016, [http://www.nordlab.fi/sites/default/files/pdf\\_uploads/verensivelyvalmisteen\\_tekeminen.pdf](http://www.nordlab.fi/sites/default/files/pdf_uploads/verensivelyvalmisteen_tekeminen.pdf).

Nousiainen, T. 2013. Lääkärin käsikirja. Raudanpuuteanemia. Terveysportti. Viitattu 2.8.2016, [http://www.terveysportti.fi.ezp.oamk.fi:2048/dtk/ltk/koti?p\\_haku=aiha](http://www.terveysportti.fi.ezp.oamk.fi:2048/dtk/ltk/koti?p_haku=aiha).

Mämmi, J. 2016. Sivelyvalmisteen värjäysohje. Raahen seudun hyvinvointikuntayhtymä, laboratorio.

Oulun ammattikorkeakoulu. 2016. Opinto-opas. Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma (210 op). Viitattu 10.10.2016, <http://www.oamk.fi/opinto-opas/koulutusohjelmat/?koulutus=bio2016s&lk=s2016>.

Peltonen, H. 2004. Kasvattajana sosiaali- ja terveystalouden ammattiteissa. Tampere: Tammer-Paino Oy.

Penttilä, I. 2004. Kliiniset Laboratoriotutkimukset. Helsinki: Werner Söderström Osakeyhtiö.

Petruzzelli, L. M. & Schmaier, A. H. 2003. Hematology for the Medical Student. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.

Ruokolainen, T. 2010. Hyvän oppimateriaalin jäljillä – opettajaharjoittelijan tutkimusmatka ammattikorkeakoulun kieliohjintojen oppimateriaaleihin. Kielikoulutuspolitiikan verkosto. Viitattu 6.9.2016, <http://www.kieliverkosto.fi/article/hyvan-oppimateriaalin-jaljilla-opettajaharjoittelijan-tutkimusmatka-ammattikorkeakoulun-kieliohjintojen-oppimateriaaleihin/>.

The New England Journal of Medicine 2005. Diagnosis from the Blood Smear. Viitattu 5.7.2016, <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra043442>.

Salakari, H. 2007. Taitojen opetus. Saarijärvi: Saarijärven Offset.

Salonen, J. 2015. Talassemia. Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 6.9.2016, [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk01178](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk01178).

Suomen tietokirjailijat ry 2016. Laadukas oppimateriaali turvaa oppimisen. Viitattu 6.9.2016, <http://www.suomentietokirjailijat.fi/yhdistys/vaikuttaminen/laadukas-oppimateriaali-turvaa-o/>.

Sysmex. 2008. Flagging Interpretation Guide. Viitattu 13.9.2016,  
[http://www.sysmexeducation.com/content/uploaded\\_resources/05%20XE-Series%20Flagging%20Guide%2012-2008%20complete-20110708-114552.pdf](http://www.sysmexeducation.com/content/uploaded_resources/05%20XE-Series%20Flagging%20Guide%2012-2008%20complete-20110708-114552.pdf).

Vilpo, J. 2005. Ilmari Palvan veritaudit. Helsinki: Medivil Oy.

## LIITTEET

Liite 1. Sivelyvalmisteen värjäysohje

Liite 2. Verenkuvaa-analysointituloste: autoimmuunihemolyyttinen anemia

Liite 3. Verenkuvaa-analysointituloste: talassemia

Liite 4. Verenkuvaa-analysointituloste: raudanpuuteanemia

Liite 5. Punasoluihin liittyvät liputukset ja toimenpiteet Sysmex verenkuvaa-analysointilaitteella

Liite 6. Trombosyyteihin liittyvät liputukset ja toimenpiteet Sysmex verenkuvaa-analysointilaitteella

**Käyttöliuosten valmistaminen**

- Valmista puskuroituvesi laimentamalla fosfaattipuskuria tislattulla vedellä 1:20, esimerkiksi 30 ml fosfaattipuskuria 570 ml tislattua vettä.
- Valmista Giemsan käyttöliuos sekoittamalla 84 ml Giemsan liuosta ja 516 ml puskuroitua vettä.
- Valmista May-Grünwaldin –käyttöliuos sekoittamalla 360 ml May-Grünwaldin –liuosta ja 240 ml puskuroitua vettä.

**Värjäyksen suorittaminen**

- Sivelyvalmiste kiinnitetään metanolilla 10 minuuttia.
- Sivelyvalmiste värjätään May-Grünwaldin –käyttöliuoksessa 5 minuuttia ja Giemsan – käyttöliuoksessa 12 minuuttia.
- Sivelyvalmiste huuhdellaan seuraavaksi puskuroidussa vedessä 2 minuuttia, 5 minuuttia ja 2 minuuttia kolmessa eri astiassa.
- Sivelyvalmiste kuivataan lämpökaapissa +40 °C tai huoneenlämmössä.
- Kiinnitä sivelyvalmisteen päälle peitinlasi mikäli sitä on tarvetta säilyttää pidempiä aikoja.

**Värjäyksessä huomioitavaa**

Ohjeesta ei tule poiketa, sillä se voi vaikuttaa värjäystulokseen. Mikäli ohjetta muutetaan, tulee menetelmä validoida. Valmisteen riittävästä huuhtelusta puskuroidulla vedellä on huolehdittava sillä värjäystulos on voimakkaasti pH:sta riippuvainen. (Raahen seudun hyvinvointikuntayhtymän laboratorion työohje, 2016.)

# AUTOIMMUUNIHEMOLYTTINEN ANEMIA

LIITE 2

XN series xn

Sample No.: AIHA  
 Patient ID:  
 Name:  
 Sample Comment:

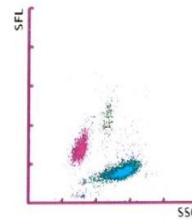
Ward: Rack:

Position: 13/06/2016 09:46:32 WB  
 Doctor:  
 Birth: Sex:  
 Nickname: XN-1000-1-A

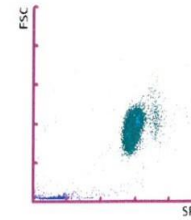
## Positive Count

WBC	7.21	[10 <sup>9</sup> /L]		
RBC	3.75	- [10 <sup>12</sup> /L]		
HGB	128	[g/L]		
HCT	39.7	+ [%]		
MCV	105.9	+ [fL]		
MCH	34.1	+ [pg]		
MCHC	322	[g/L]		
PLT	59	- [10 <sup>9</sup> /L]		
RDW-SD	65.1	+ [fL]		
RDW-CV	16.5	+ [%]		
PDW	13.4	[fL]		
MPV	11.8	[fL]		
P-LCR	38.1	[%]		
PCT	0.07	- [%]		
NRBC	0.01	[10 <sup>9</sup> /L]	0.1	[%]
NEUT	4.88	[10 <sup>9</sup> /L]	67.7	[%]
LYMPH	2.03	[10 <sup>9</sup> /L]	28.2	[%]
MONO	0.26	[10 <sup>9</sup> /L]	3.6	[%]
EO	0.01	[10 <sup>9</sup> /L]	0.1	[%]
BASO	0.03	[10 <sup>9</sup> /L]	0.4	[%]
IG	0.09	[10 <sup>9</sup> /L]	1.2	[%]
RET	2.04	[%]	76.5	[10 <sup>9</sup> /L]
IRF	11.5	[%]		
LFR	88.5	[%]		
MFR	10.6	[%]		
HFR	0.9	[%]		
RET-He	36.5	[pg]		

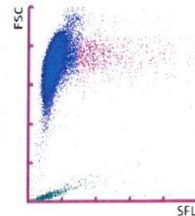
## WDF



## WNR



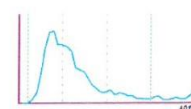
## RET



## RBC



## PLT



WBC IP Message

RBC IP Message

PLT IP Message  
 Thrombocytopenia



**TALASSEMIA**

LIITE 3

XN series xn

Sample No.: **TALASSEMIA**  
 Patient ID:  
 Name:  
 Sample Comment:

Rack: 44  
 Ward:

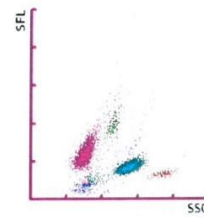
Position: 9 21/06/2016 12:31:58 WB  
 Doctor:  
 Birth: Sex:  
 Nickname: XN-1000-1-A

**Positive**

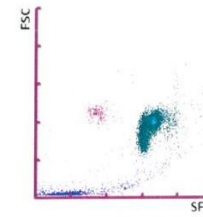
**Morph. Count**

WBC	5.61	[10 <sup>9</sup> /L]		
RBC	3.32 *	[10 <sup>12</sup> /L]		
HGB	67	[g/L]		
HCT	21.2 *	[%]		
MCV	63.9 *	[fL]		
MCH	20.2 *	[pg]		
MCHC	316 *	[g/L]		
PLT &O	248	[10 <sup>9</sup> /L]		
RDW-SD	----	[fL]		
RDW-CV	38.5 *	[%]		
PDW	----	[fL]		
MPV	----	[fL]		
P-LCR	----	[%]		
PCT	----	[%]		
NRBC	0.21	[10 <sup>9</sup> /L]	3.7	[%]
NEUT	2.51	[10 <sup>9</sup> /L]	44.7	[%]
LYMPH	2.68	[10 <sup>9</sup> /L]	47.8	[%]
MONO	0.28	[10 <sup>9</sup> /L]	5.0	[%]
EO	0.12	[10 <sup>9</sup> /L]	2.1	[%]
BASO	0.02	[10 <sup>9</sup> /L]	0.4	[%]
IG	0.05	[10 <sup>9</sup> /L]	0.9	[%]
RET	2.24	[%]	74.4 *	[10 <sup>9</sup> /L]
IRF	26.0 *	[%]		
LFR	74.0 *	[%]		
MFR	15.3 *	[%]		
HFR	10.7 *	[%]		
RET-He	15.0 *	[pg]		

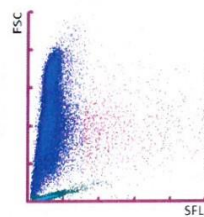
**WDF**



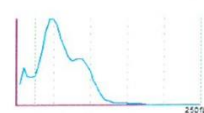
**WNR**



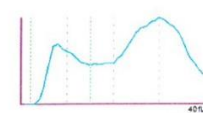
**RET**



**RBC**



**PLT**



WBC IP Message  
 NRBC Present

RBC IP Message  
 RBC Abn Distribution  
 Anisocytosis  
 Anemia  
 Fragments?

PLT IP Message  
 PLT Abn Distribution

**RAUDANPUUTEANEMIA**

LIITE 4

**RAUDANPUUTEANEMIA**

XN series xn

Sample No.: NAINEN 1967  
 Patient ID:  
 Name:  
 Sample Comment:

Ward: Rack: 41

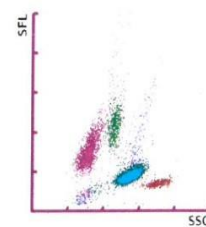
Position: 1 14/06/2016 12:43:07 WB  
 Doctor:  
 Birth: Sex:  
 Nickname: XN-1000-1-A

**Positive**

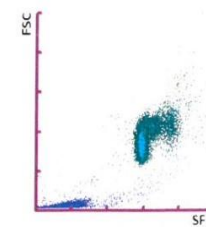
**Morph. Count**

WBC	11.81	+	[10 <sup>9</sup> /L]		
RBC	5.28		[10 <sup>12</sup> /L]		
HGB	98	-	[g/L]		
HCT	37.3	+	[%]		
MCV	70.6	-	[fL]		
MCH	18.6	-	[pg]		
MCHC	263	-	[g/L]		
PLT	583	+	[10 <sup>9</sup> /L]		
RDW-SD	64.8	+	[fL]		
RDW-CV	27.2	+	[%]		
PDW	10.9		[fL]		
MPV	9.5		[fL]		
P-LCR	22.4		[%]		
PCT	0.56	+	[%]		
NRBC	0.01		[10 <sup>9</sup> /L]	0.1	[%]
NEUT	7.84	+	[10 <sup>9</sup> /L]	66.3	[%]
LYMPH	2.51		[10 <sup>9</sup> /L]	21.3	[%]
MONO	0.87	+	[10 <sup>9</sup> /L]	7.4	[%]
EO	0.51	+	[10 <sup>9</sup> /L]	4.3	[%]
BASO	0.08		[10 <sup>9</sup> /L]	0.7	[%]
IG	0.19		[10 <sup>9</sup> /L]	1.6	[%]
RET	2.02		[%]	106.7	[10 <sup>9</sup> /L]
IRF	47.3		[%]		
LFR	52.7		[%]		
MFR	18.4		[%]		
HFR	28.9		[%]		
RET-He	19.0		[pg]		

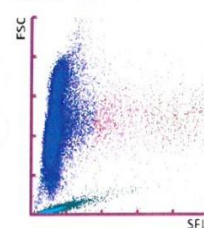
**WDF**



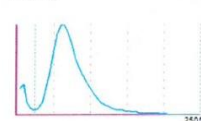
**WNR**



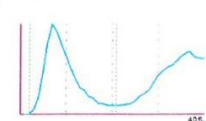
**RET**



**RBC**



**PLT**



WBC IP Message  
 IG Present

RBC IP Message  
 Anisocytosis  
 Iron Deficiency?  
 Fragments?

PLT IP Message

## SYSMEX VERENKUVA-ANALYSAATTORILLA

IP message	Hälytys	Toimenpide
RBC Abn Distrb.	Punasoluparametrit poikkeavia	Voidaan vastata.
Dimorphic population	Kaksoispopulaatio	Voidaan vastata.
RET Abn Scatter.	Epänormaali RET sirontakaavio	Voidaan vastata.
Reticulocytosis	Retikulosytoosi	Voidaan vastata.
Anisocytosis	Koonvaihtelua	Voidaan vastata.
Microcytosis	Pienikokoisia punasoluja	Voidaan vastata.
Macrocytosis	Suuria punasoluja	Voidaan vastata.
Hypochromia	Hypokromisia punasoluja	Voidaan vastata.
Anemia	Hemoglobiini alle 80 g/l	Voidaan vastata, soita tulos pyytävään yksikköön
Erythrocytosis	RBC yli 6,50 x 10E12/l	Voidaan vastata.
RBC Agglutination	Punasolut kasautuvat	Lämmitä näytettä 37°C 15 - 30 min. Jos tämän jälkeen MCHC on alle 375 g/l, voidaan vastata. Muussa tapauksessa tehdään sivelyvalmiste.
Turbidity/HGB Interf.?	MCHC yli 375 g/l. Rasvat häiritsevät?	Lämmitä näytettä kuten edellä. Jos ei auta, laimenna näyte erillisen ohjeen mukaan.
Iron Deficiency?	Raudanpuuteanemia?	Voidaan vastata.
HGB Defect?	Hemoglobiinivajaus?	Voidaan vastata.
Fragments?	Punasolukappaleita?	Tarkista: trombosyyttitulos ajamalla näyte optisella puolella.

**TROMBOSYITTEIHIN LIITTYVÄT LIPUTUKSET JA TOIMENPITEET  
SYSMEX VERENKUVA-ANALYSAATTORILLA**

LIITE 6

IP message	Hälytys	Toimenpide
PLT Abn. Distrib.	Trombosyyttien koonvaihtelua/epätasainen jakauma.	Ajetaan optisella puolella. Jos ei hälytyksiä, voidaan vastata. Tarvittaessa mikroskooppinen tarkastelu.
Trombocytopenia	Trombosyyttivaje tai trombosyytit kasautuvat?	Trombosyytit alle 100. Tarkista tulos optiselta puolelta sekä katso lasilta onko kasoja. Lisää lausuntoon: Ei trombosyyttikasoja/Trombosyyttikasoja, tulos epäluotettava. Analysaattori antaa optisen puolen ajon jälkeen suoraan vastattavan PLT-tuloksen.
Trombocytosis	Trombosytoosi	Voidaan vastata.
PLT Clumbs?	Trombosyyttikasoja?	Tarkista tulos optiselta puolelta sekä katso lasilta onko kasoja. Katso onko muuten viitearvojen sisäpuolella ja linjassa potilaan edellisten vastausten kanssa.

(Sysmex 2008, viitattu 13.9.2016.)