

Sushma Sharma

Opetusvideot verensiirtotutkimuksiin

Veriryhmä ja vasta-aineseulonta

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikko (AMK)

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyön suunnitelma

5.12.2016

Tekijä(t) Otsikko	Sushma Sharma Opetusvideot verensiirtotutkimuksiin
Sivumäärä Aika	35 sivua + 6 liitettä 5.12.2016
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaaja(t)	Lehtori Heidi Malava
<p>Verensiirtotutkimukset ja niiden oikeaoppinen toteutus on erittäin tärkeää verensiirron onnistumisen kannalta. Väärän toteutuksen ja tulkinnan seurauksena voidaan päätyä antamaan potilaalle sopimatonta verta. Sopimattoman veren antaminen voi johtaa potilas hengenvaaralliseen tilaan, minkä takia verensiirtotutkimukset ovat erittäin tärkeitä tutkimuksia.</p> <p>Tärkeimmät verensiirtotutkimukset ovat veriryhmän määrittäminen, vasta-aineseulonta ja sopivuuskoe. Ennen mahdollista verensiirtoa potilaalle tilataan sopivuuskoe, joka sisältää nämä tutkimukset osatutkimuksina. Veriryhmän määrittämisessä määritetään ABO- ja RhD-veriryhmät. Vasta-aineseulonnassa etsitään potilaan näytteestä kliinisesti merkityksellisiä vasta-aineita, jotka voivat haitata verensiirtoa. Sopivuuskokeessa katsotaan sopivatko siirrettäväksi aiottu punasolut potilaalle veriryhmäserologisesti.</p> <p>Nämä tutkimukset ovat myös osa Metropolia Ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman immunohematologian kurssia. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda selkeät opetusvideot veriryhmän määrittämiseen koeputki- ja pylväsagglutinaatiomenetelmällä, lisäksi vasta-aineseulontaan pylväsagglutinaatiomenetelmällä. Opinnäytetyön tilaajana oli Metropolia Ammattikorkeakoulu ja opetusvideot ovat tarkoitettu osaksi bioanalytiikan koulutusohjelman immunohematologian kurssia. Videoiden tulisi antaa selkeä ja oikeaoppinen kuva näiden tutkimuksien suorittamiseen sekä oppilaiden, että opettajien käyttöön.</p> <p>Opinnäytetyön tuotoksena on kolme opetusvideota, jotka ovat: veriryhmän määrittäminen koeputkimenetelmällä, veriryhmän määrittäminen geelikorttimenetelmällä ja vasta-aineseulonta geelikorttimenetelmällä. Opetusvideot menevät Metropolia Ammattikorkeakoulun pilvipalveluun, josta opettajat voivat ottaa ne käyttöönsä.</p>	
Avainsanat	Verensiirtotutkimukset, vasta-aineseulonta, sopivuuskoe, immunohematologia, opetusvideo

Author(s) Title	Sushma Sharma Educational videos for blood transfusion studies
Number of Pages Date	35 pages + 6 appendices 5 December 2016
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructor(s)	Heidi Malava, Lecturer
<p>Blood transfusion studies plays an important part of the success of the blood transfusion. As a result of an incorrect interpretation and implementation can end up providing the patient unsuitable blood products. Unsuitable blood can lead the patient into life-threatening state, which is why blood transfusion tests are very important.</p> <p>The most important clinical blood transfusion tests are blood group typing, antibody screening and coombs tests. Before a possible blood transfusion to a patient is ordered Coombs test, which includes these tests. In blood group determination ABO- and RhD-blood groups are typed. Antibody screenings are done to find clinically relevant antibodies in patient that may harm blood transfusion. The Coombs test is done to see if red cells are suitable for the patient.</p> <p>These tests are also important part in immunohematology course, which is a part of biomedical laboratory science training programme in Metropolia University of Applied Sciences. The purpose of this thesis was to produce educational video to conduct these tests for Metropolia university of applied sciences. Subscriber of this thesis was Metropolia University of Applied Sciences and these educational videos are meant to be part of immunohematology course. Videos should provide a clear and correct picture to carry out these tests, for students and the teachers also.</p> <p>Products of this thesis are three educational videos, which are: Blood group typing by test tube method, blood typing by gel card method and antibody screen by gel card method. These videos will go to cloud service of Metropolia University of Applied Sciences, from where teachers may take into use.</p>	
Keywords	Blood transfusion, antibody test, coombs test, immunohematology, educational video

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Immunoematologian opinnot	2
3	Työn tarkoitus ja tavoite	3
4	Videot opetuksen tukena	4
4.1	Oppimistyylit	4
4.2	Video opetusmenetelmänä	5
4.3	Toiminnallinen opinnäytetyö	7
5	Punasoluantigeenit ja vasta-aineet	8
5.1	Punasoluantigeenit	8
5.2	Vasta-aineet	8
6	Kliinisesti merkitykselliset veriryhmät	11
6.1	ABO-veriryhmäjärjestelmä	12
6.2	Rhesus-veriryhmäjärjestelmä	13
6.3	Muut kliinisesti merkitykselliset veriryhmät	14
7	Verensiirtotutkimukset ja niiden tutkimusmenetelmät	14
7.1	ABORhD-veriryhmän määrittäminen	16
7.1.1	ABORhD-veriryhmän määrittäminen koeputkimusmenetelmällä	17
7.1.2	ABORhD-veriryhmän määrittäminen korttimenetelmällä	18
7.2	Vasta-aine seulonta	19
7.2.1	Vasta-aineseulonta koeputkimusmenetelmällä	20
7.2.2	Vasta-aineseulonta LISS/Coombs-geelikortilla	20
7.2.3	Vasta-aineiden tunnistus	22
7.3	Sopivuuskoe	22
7.4	Type and Screen	23
7.5	Reaktiovahvuuksien tulkinta	24
8	Verivalmisteet ja niiden käyttöindikaatiot	26
9	Opinnäytetyön prosessi	27
9.1	Aikataulu ja kuvaussuunnitelma	28

9.2	Opetusvideoiden toteutus	28
9.3	Työn julkistaminen	30
10	Opinnäytetyön tuotokset	30
11	Pohdinta	30
11.1	Eettisyys ja luotettavuus	31
11.2	Työn jatkoehdotuksia	32
	Lähteet	33
	Liitteet	
	Liite 1. Immunoematologian laboraatioiden työhöjeet	

1 Johdanto

Verellä on hyvin tärkeä tehtävä elimistön toiminnan kannalta, minkä takia muutokset veressä voivat olla hyvin vaarallisia. Kun elimistö itse ei pysty turvaamaan veren ja niiden komponenttien määrää, niitä joudutaan antamaan keinotekoisesti hengen turvaamiseksi. Verivalmisteet, joita erotellaan verestä ovat punasoluvalmisteet, verihiutalevalmisteet ja jääplasma (Veripalvelu 2015). Vuosittain noin 50 000 potilasta tarvitsee verivalmisteita (Veripalvelu 2016). Näitä verivalmisteita ei voida antaa ilman tutkimuksia, joten potilaan veriominaisuudet on ensin tutkittava, jolloin sopivan verivalmisteen antaminen on mahdollista.

Immunoematologia on hematologian aiheosa, joka tutkii veren antigeeni- ja vasta-aine reaktioita. Verensiirtoa tarvitseville tai mahdollisesti tarvitseville potilaille tehdään immunoematologisia tutkimuksia sopivien verivalmisteiden löytämiseksi. Potilailta tutkitaan ABO- ja RhD-veriryhmä, ja punasoluvasta-aineiden olemassaolo, jotka voivat aiheuttaa haitallisia reaktioita potilaan plasman ja luovuttujen punasolujen välillä. (ISBT 2016.) Kun potilaalle tilataan sopivuuskoe siihen sisältyvät osatutkimuksina ABO- ja RhD-veriryhmän tarkistus, punasoluvasta-aineiden seulonta ja itse sopivuuskoe. Sopivuuskokeessa eli ristikokeessa tarkistetaan sopivatko siirrettäväksi aiotut punasolut potilaalle veriryhmäserologisesti ja onko potilaalla punasoluvasta-aineita niitä kohtaan. Kun vasta-aineiden seulonta tai sopivuuskoe on positiivinen, vasta-aineet myös tunnistetaan. (Huslab 2016.) Positiivisuudella tarkoitetaan sitä, että tutkimuksen suorittamisen jälkeen punasolut ovat hemolysoituneet (hajonneet) tai agglutinoituneet (yhteenliimautuneet/ sakkautuneet).

Metropolia Ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmaan kuuluu immunoematologian kurssi. Verikeskukset ja veripalvelu ovat bioanalyttikon mahdollisista työpai-koista, minkä takia valmistuneen bioanalyttikon pitää tietää immunoematologiset periaatteet. Kurssiin sisältyy immunoematologisen tietoperustan lisäksi laboraatiota. Laboraatiossa tehdään näitä verensiirtotutkimuksia sekä koeputki-, että pylväsagglutinaatio- menetelmällä.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda opetusvideot veriryhmän määrytyksestä ja vasta-aineseulonasta koeputkimenetelmällä ja geelikorttimenetelmällä. Verensiirtotutkimuksien suorittamiseen on olemassa muitakin tutkimusmenetelmiä, mutta nämä ovat yleisimmät ja kurssin laboraatioissakin käytettävät menetelmät.

2 Immunoematologian opinnot

Immunoematologian kurssi on osana bioanalytiikan koulutusohjelmaa. Metropolia Ammattikorkeakoulussa kurssi on nimeltään immunoematologian tutkimukset. Kurssissa käydään läpi keskeiset immunoematologian peruskäsitteet, verikeskustoiminnan kokonaisuus, ABO-, Rh-veriryhmäjärjestelmät, muut kliinisesti merkitykselliset veriryhmäjärjestelmät, veriryhmävasta-aineet, verikeskuksen laatujärjestelmä, verivalmisteet, verensiirtojen turvallisuus, haittavaikutukset, veriryhmä- ja sopivuuskoenäytteiden ottaminen ja tavallisimpien verensiirtotutkimuksien tekeminen koeputki- ja pylvasagglutinaatiomenetelmillä. (Metropolia opinto-opas 2013.) Samanlaista sisältöä ja tavoitteita on myös muiden ammattikorkeakoulujen immunoematologian opinnoissa, esimerkiksi Tampereen ammattikorkeakoulussa ja Savonia-ammattikorkeakoulussa (Tamk 2016; Savonia 2016).

Opintojakson osaamistavoitteisiin kuuluu, että opiskelija osaa selittää verensiirtotoiminnan merkityksen osana potilaan hoitoa, perustelee preanalyttisten tekijöiden merkityksen, osaa suorittaa tavallisimmat immunoematologiset määrytykset ja perustelee niiden merkityksen potilaan hoidossa. Osaamistavoitteisiin kuuluvat myös verikeskustoiminnan kuvaaminen ja laadunohjaukset soveltaminen. (Metropolia opinto-opas 2013.)

Laboraatiot ovat tärkeä osa immunoematologian kurssia, jossa suoritetaan tavallisimmat verensiirtotutkimukset koeputki- ja pylvasagglutinaatiomenetelmillä. Nämä tutkimukset pitää osata tehdä itsenäisesti molemmilla menetelmillä ohjeen avulla. Tutkimusten tulosten perusteella pitää osata tehdä johtopäätöksiä veren sopivuudesta, esimerkiksi mikä on potilaan veriryhmä, onko hänellä kliinisesti merkittäviä vasta-aineita ja voidaananko punasoluja antaa kyseiselle potilaalle.

3 Työn tarkoitus ja tavoite

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda selkeät opetusvideot veriryhmän määrittämiseen ja vasta-aineseulonnan suorittamiseen koeputki ja pylväsagglutinaatiomenetelmällä. Opetusvideoiden tarkoituksena on tukea immuno hematologian opiskelua ja erityisesti kurssin laboraatioita. Selkeä opetusvideo antaa yleisen käsityksen siitä, mitä tutkimuksia käytetään verensiirtotutkimuksissa ja miten ne suoritetaan käytännössä. Kun videoista on nähty tutkimuksien suoritus, se auttaa opiskelijoita suorittamaan näitä tutkimuksia, kun hän itse suorittaa niitä. Tutkimusten visuaalinen näkeminen auttaa oppimaan hyvin ja se yhtenäistää opiskelijoiden suoritustapoja enemmän.

Nämä tutkimukset ovat pikkutarkkaa työtä ja näissä on paljon yksityiskohtia, joita ohjeissa ei lue erikseen, mutta niitä tulee huomioida suoritusvaiheessa. Tällaisia yksityiskohtaisia asioita ovat esimerkiksi, mihin kohtaan tarkalleen kannattaa pipetoida, tai kuinka paljon reagensseja kannattaa sekoittaa. Itse sain tietää punasolureagenssien sekoituksen tärkeydestä vasta harjoittelupaikalla, koska muuten soluja tulee eri määrä tutkimuksiin. Tällaiset asiat ovat paremmin hahmotettavissa videoiden avulla. Veriryhmien määrittämisestä ja vasta-aineseulonnasta on tarjolla englanninkielisiä videoita esimerkiksi Youtube:ssa, mutta suomenkielistä opetusvideota ei ole.

Kohderyhmänä ovat Metropolia Ammattikorkeakoulun bioanalytiikan ja tarkemmin immuno hematologian opiskelijat. Tavoitteena on, että opiskelijat hyötyisivät tästä materiaalista ja siitä olisi apua opiskeluun ja kurssin aiheen sisäistämiseen. Opiskelijat voivat käyttää tätä materiaalia ennen laboraatioiden alkua, jotta he saisivat käsityksen siitä, mitä heidän pitäisi tehdä laboraatioissa. Se toimisi myös laboraation esittelynä. Materiaalia voidaan hyödyntää myös kertaamiseen, esimerkiksi ennen työkoetta tai harjoittelua. Tavoitteena on myös se, että materiaali olisi opettajillekin hyödyllinen opettamiseen ja, että sitä käytettäisiin.

Omat tavoitteeni ovat, että opin tekemään hyvät opetusvideot, jotka sisältävät kaikki oleelliset asiat tiivistettynä. Opetusvideot antavat mallia katsojille, joten ne on tehtävä mahdollisimman selkeiksi ja oikeaoppisiksi. Pinnallista kokemusta videoiden kuvaamisesta ja editoinnista on, mutta monia asioita en osaa tehdä esimerkiksi lisätä äänitystä tai musiikkia. Tavoitteenani on myös hyvän kirjallisen osion tuottaminen ja kaiken kaikkiaan hyvän opinnäytetyön luominen. Myös hyvään tieteelliseen kirjoitustapaan on kiinnitettävä huomiota.

4 Videot opetuksen tukena

4.1 Oppimistyyli

Ihmisillä on erilaisia oppimistyyliä. Oppimistyyli tarkoittaa tapaa, jonka avulla otetaan vastaan ja prosessoidaan uutta tietoa. Oppimistyyli voidaan jakaa eri tavoin, mutta yleisesti käytetty jako on aisteihin perustuva oppimistyylijaottelu. Tässä jaottelussa oppimistyyli voidaan jakaa visuaaliseen, auditiiviseen ja taktilliseen oppimistyyliin. Tämä jaottelu perustuu siihen, että ihmiset hankkivat tietoja ja ne muistetaan aistien kautta. Se mitä aistikanavaa käyttäessään oppii paremmin, on yksilöllistä. (Jyväskylän yliopiston kieli-keskus.)

Auditiivinen oppija oppii parhaiten kuuntelemalla asioita. Näille ihmisille esimerkiksi luennon kuunteleminen on hyvä tapa oppia. Ääneen lukeminen ja ääneen ajattelu saattavat myös tukea oppimista, joten pienryhmäkeskustelut tukevat myös oppimista. Visuaalinen oppija oppii paremmin lukemalla kuin kuuntelemalla. Asioiden mielessä kuvittelu, kuvien, taulukoiden ja kuvaajien käyttö auttaa oppimaan. Muistiinpanojen tekeminenkin voi auttaa oppimisessa. Taktillisessa ja kinesteettisessä oppimistyyliissä oppija tarvitsee käyttää käsien tai oman vartalon aktiivisuutta oppimisen tehostamiseen. Taktillinen oppija oppii parhaiten käytännön harjoituksilla, dramatisoinneilla ja tavoilla, jolla hän pysyy jotenkin liikkumaan opiskelutilanteessa. Avuksi voivat olla esimerkiksi muistiinpanojen tekeminen ja kuvioiden piirtäminen. (Sotefo.)

Auditiivinen oppija	Visuaalinen oppija	Taktiili / kinesteettinen oppija
<ul style="list-style-type: none"> • Kuunteleminen • Keskusteleminen • Ääneen lukeminen • Luennot 	<ul style="list-style-type: none"> • Lukeminen • Kuvat • Taulukot • Kuvaajat • Muistiinpanot 	<ul style="list-style-type: none"> • Tekeminen • Kirjoittaminen • Piirtäminen • Harjoitukset • Dramatisoinnit • Liikkuminen oppimisen aikana

Kuvio 1. Aisteihin perustuva oppimistyylijaottelu

Oppimistyytlejä voidaan jakaa eri tavoin. Analyyttinen ja globaali oppiminen on esimerkki toisenlaisesta jaottelusta, jossa kiinnitetään huomiota tapaan, jolla oppija tekee havaintoja. Analyyttinen oppija erottaa yksityiskohdat helposti analysoimalla taustatietoja ja etsimällä asioiden välillä loogisia yhteyksiä. He pitävät abstraktista ja tosiasiatietoa sisältävästä materiaalista ja heille ihanteellinen paikka oppia on esimerkiksi luokkahuone. (Jyväskylän yliopiston kielikeskus.)

Globaalilla oppijalla on taipumus nähdä asiat kokonaisuuksina, jolloin hän on enemmän riippuvaisempi sosiaalisesta ympäristöstä. Oppimisen kannalta sosiaaliset suhteet ja yhteistyö ovat tärkeitä, ja he tarvitsevat enemmän ohjausta esimerkiksi analyysitehtävissä. Globaalit oppijat pitävät siitä, että asiat liittyvät omiin kokemuksiin ja mielenkiinnon kohteisiin. (Jyväskylän yliopiston kielikeskus.)

Analyyttinen oppija	Globaali oppija
<ul style="list-style-type: none"> • Taustatietojen analysoiminen • Loogisten yhteyksien etsiminen • Abstraktit ja fakta materiaalit • Rutinit ja systemaattiset strategiat 	<ul style="list-style-type: none"> • Kokonaisuuksien näkeminen • Riippuvaivainen sosiaalisesta ympäristöstä • Yhteistyö • Tarvitsee ohjausta analyysitehtävissä • Selkästi jäsenneilty materiaali • Kokemukset • Mielenkiinnot

Kuvio 2. Havaintojen tekemiseen perustuva oppimisjaottelu

4.2 Video opetusmenetelmänä

Nykyään verkosta on tullut aikakautemme oppimisympäristö. Verkko-opetus on mahdollistanut aikaan ja paikkaan sitoutumatonta opiskelua. Se ei ole myöskään kertaluontoista eli siihen saa aina palata takaisin, ja toistaa niin monta kertaa kuin itse haluaa. Verkko-opetus voidaan toteuttaa lähiopetukseen yhdistettynä tai pelkästään verkossa tapahtuvana opiskeluna. (Kauppi - Nokelainen - Sääntti 2013: 5-6.)

Opetuksen digitalisoitumisen myötä myös opetusvideoiden käyttö on lisääntynyt. Opetusvideoita voidaan käyttää myös lähiopetuksen tueksi. Opetuksessa videoita voidaan käyttää integroidusti niin, että siinä oppii hyvin oleelliset asiat. Opetusvideoiden käytössä huomioitavaksi jää, ettei oppija jää passiiviseksi, vaan häntä on aktivoitava esimerkiksi oppimistehtävien tai kysymyksien avulla. Ilman aktivointia video saattaa jäädä omaksi kokonaisuudekseen ilman yhdistymistä muihin mediaelementteihin tai ilman vuorovaikutusta. (Silander 2003: 76.) Videoita käytetään yhä enemmän opetuksen välineenä ja tarjolla on myös opetusvideoita julkaisevia verkkosivustojakin. Opetus.tv yksi tällaisista suomalaisista opetusvideoita julkaisevista verkkosivuista.

Videoiden avulla voidaan havainnollistaa proseduraalista eli taidollista tietoa, jossa voidaan esittää esimerkiksi jonkin työvaiheen suorittamista. Videon avulla voidaan myös esittää tapahtumia tai ilmiöitä, joita muuten olisi vaikeaa tai jopa mahdotonta havainnollistaa. Näin opetukseen voidaan tuoda hyvin realistinen ja oikean elämäpohjainen näkökulma opetukseen. (Silander 2003: 76.) Opiskelijoiden mielenkiinnon ylläpitämiseksi, videoista voidaan tarkoituksella jättää pois tiettyjä asioita, ja tehdä lyhyitä videoesityksiä. Raskaita tietopaketteja ei kannata esittää kerralla, eikä pitkiä videoita haluta katsoa. Näin aktivoidaan opiskelijan omaa tiedonkäsittelykykyä. (Suominen - Nurmela 2011: 189-190.)

Opetusvideota voidaan pitää audiovisuaalisena opetusmenetelmänä. Video on itsessään visuaalinen ja kun siihen lisätään puhetta, siitä tulee audiovisuaalinen. Visuaalinen oppija oppii videota näkemällä, kun taas audiitiivinen oppija kuuntelee asiat eli opiskelija voi poimia tarvitsemansa tiedot itselle ominaisella tavalla. Taktillista oppijaakin se auttaa, kun näkee itse suorituksen, jolloin hän itse voi suorittaa tehtävän. Opetus on monipuolista, kun tietoa saadaan eri aistikanavien välityksellä ja se tehoaa kerralla erilaisiin oppijoihin. Sanonta sanoo, että yksi kuva kertoo enemmän kuin tuhat sanaa. Opetusvideon avulla voidaan opettaa asioita opiskelijoille mielekkäällä ja helpolla tavalla.

Ljubojevicin, Vasvovicin, Stantovicin ja Vascovicin (2014) tekemä tutkimus osoittaa, että videoiden käyttö luennoissa auttaa ymmärtämään olennaiset asiat ja parantaa opiskelun motivaatiota. Näin opiskelijat voivat ymmärtää ja muistaa paremmin luentojen pääasiat, joka parantaa lopullista oppimistulosta. Myös videoiden tuottaminen auttaa oppimaan. Videontuottamiseen perustuvat tutkimukset puhuvat niiden hyödyllisyydestä. Niiden hyödyksi on havaittu motivaation lisääntyminen, opiskelusta nauttiminen, oppiaineeseen sitoutuminen jne. (Hakkarainen - Kumpulainen 2011: 16.)

Näissä opetusvideoissa ollaan pyritty huomioimaan erilaisia oppijoita. Videot koostuvat videoleikkeistä, joissa taustalla on jatkuvasti lyhyitä selostuksia. Selostuksien avulla on pyritty selittämään videon tapahtumia. Lisäksi paikoitellen on lyhyitä tekstiä, jotka toistavat tai täydentävät selostuksia. Videot on pyritty pitämään lyhyinä, jotta opiskelijoiden mielenkiinto ei herpaannu. Myöskään selostuksissa ihan kaikkea ei ole selitettynä, jotta liian raskasta tietopakettia ei tulisi kerralla, ja ehtisi kuitenkin seuraamaan tutkimuksen suorittamista. Tarkoituksena on kuitenkin opetuksen tukeminen eikä sen korvaaminen. Näin opiskelija voi käyttää opetusvideoita kurssin tueksi ja toimia itse aktiivisena tiedonkäsittelijänä.

4.3 Toiminnallinen opinnäytetyö

Kun opinnäytetyö tehdään toiminnallisena tai tuotteellisena kokonaisuutena, siinä opitaan työelämäläheistä kehittämisosaamista ja syvennetään ammatillista osaamista. Toiminnallinen opinnäytetyö tuo vaihtoehdon ammattikorkeakoulun tutkimuksellisen opinnäytetyön rinnalle. Prosessimaisessa kehittämistyössä työ tehdään soveltaen useita eri menetelmiä ja sen tuloksena on toiminta tai tuote. Alasta riippuen tuotteena voi olla esimerkiksi ammatilliseen käyttöön suunnattu ohje tai opas. Se voidaan toteuttaa kirjana, oppaana, internet-sivuna, näyttelynä jne. (Lumme - Vuorijärvi 2014; Vilka - Airaksinen 2003: 9.)

Toiminnallinen opinnäytetyö on kaksiosainen kokonaisuus, joka sisältää toiminnallisen osuuden eli produktin ja opinnäytetyöraportin. Opinnäytteen tuotoksen tulisi pohjautua ammattiteorialle ja sen tulisi myös sisältää teoreettinen viitekehysosuus. (Lumme – Leinonen – Leino – Falenius – Sundqvist 2006.) Raportissa tulee selvittää työprosessin kulku: mitä, miksi ja miten asiat on tehty, ja millaisiin johtopäätöksiin on päädytty. Lisäksi raportin tulee sisältää oma arvio työn prosessista, tuotoksesta ja oppimisesta niin, että opinnäytetyön onnistuminen on raportin lukijalle pääteltävissä. (Vilka – Airaksinen 2003: 65.)

Tämä toiminnallinen opinnäytetyö sisältää teoreettisen viitekehysosuuden immunohepatologiaan ja verensiirtotoimintaan liittyvistä tiedoista, käsitteistä ja menetelmistä. Raportissa on myös kuvattu opinnäytetyön prosessi, oma arvio jne. Toiminnallisena tuotoksena ovat opetusvideot verensiirtotutkimuksien suorittamiseen Metropolia Ammattikorkeakoulun käyttöön.

5 Punasoluantigeenit ja vasta-aineet

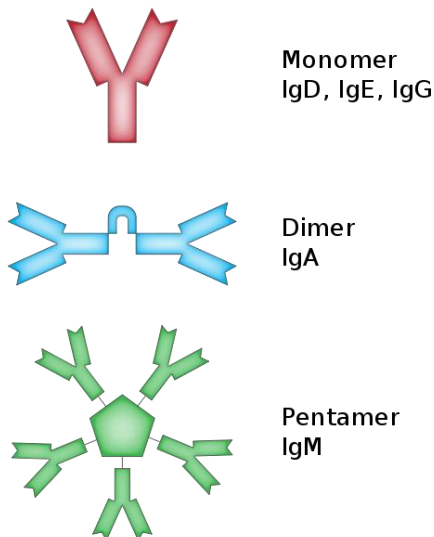
Veriryhmäserologiassa ja niiden tutkimuksissa keskeisiä käsitteitä ovat punasolun antigeenit ja vasta-aineet. Keskeinen tietoperusta veriryhmäserologiassa on se, että jos potilaalla on tiettyä vasta-ainetta, sen antigeeniä sisältävää valmistetta ei saa antaa potilaalle. Jos vasta-aineet kohtaavat antigeenit, sen seurauksena siirretyt punasolut voivat hemolysoitua eli hajota ja aiheuttaa haitallisia verensiirtoreaktioita. Punasolujen hajoaminen voi ilmentyä heti tai viivästyneesti, ja verensiirtoreaktiot voivat pahimmillaan johtaa kuolemaan asti (Koski 1995: 172.) Tämän takia vasta-aineita pyritään löytämään ennen verensiirtoa.

5.1 Punasoluantigeenit

Punasoluantigeenit ovat punasolujen pintarakenteita. Antigeenit ovat niitä rakententeita, jotka antavat erilaisia veriryhmäominaisuuksia verelle. Ne voivat olla glykolipidejä, glykoproteiineja tai proteiineja ja niillä voi olla erilaisia tehtäviä solussa, kuten kuljetusproteiinina toimiminen. Punasolujen antigeenirakenteiden lukumäärä vaihtelee suuresti sen mukaan, mistä antigeenistä on kyse. Antigeenien määrä ei kuitenkaan ole verrannollinen reaktiivoimakkuuteen, joten vähemmän antigeenejä sisältävä punasolu voi aiheuttaa suuremman immunologisen reaktion. Esimerkiksi Kell-järjestelmässä 5000 K-antigeeniä sisältävä punasolu ja Rh-järjestelmässä 20 000-30 000 D-antigeeniä sisältävän punasolun immunologinen reaktio saattaa olla yhtä voimakas. Tämän takia veriryhmiä tarkastellaan enemmän niiden aiheuttaman immuunireaktion perusteella. (Kuntaliitto 2006: 12.)

5.2 Vasta-aineet

Vieraiden punasolujen veriryhmäominaisuuksia eli antigeenejä kohtaan voi muodostua vasta-aineita. Niitä on joko luonnollisesti tai niitä muodostetaan verialtistuksen tai raskauden myötä. Veren vasta-aineet voidaan luokitella niiden rakenne- tai muodostumisoimainuuksien perusteella. Veren vasta-aineita eli immunoglobuliineja on olemassa kolme, ja ne jaetaan IgG-, IgM- ja IgA-immunoglobuliiniluokkiin (kuvio 3). Vasta-aineluokkia on olemassa yhteensä viisi, mutta kaksi muuta eivät liity vereen, vaan ne liittyvät esimerkiksi allergisiin reaktioihin.



Kuvio 3. Veren vasta-aineiden immunoglobuliiniluokat ovat IgM, IgG ja IgA. Kaksi muuta vasta-ainetta, IgD ja IgE eivät liity vereen. (Kuva: Brändli 2006.)

IgM-vasta-aineet ovat hyvin suurikokoisia. Ne pystyvät agglutinoimaan vieraita punasoluja hyvin voimakkaasti. ABO-veriryhmän vasta-aineet anti-A ja anti-B kuuluvat usein IgM luokkaan, mutta ne voivat kuulua myös IgG-luokkaan. ABO-veriryhmien vasta-aineet pois lukien, suurin osa IgM-vasta-aineista eivät aiheuta verensiirtoreaktioita eli ne ovat kliinisesti merkityksettömiä. (Kuntaliitto 2006: 45).

IgG-luokan vasta-aineita pidetään yleensä merkityksellisimpänä kuin IgM-luokan vasta-aineita. IgG-vasta-aineet pystyvät myös läpäisemään istukan pienen koonsa avulla, mikä tekee siitä erityisen vaarallisen sikiölle. Anti-RhD on yksi IgG-luokkaan kuuluvista vasta-aineista ja se aiheuttaa raskaudenaikaisia immunisaatioita. Yksinään IgG-vasta-aine ei pysty tuottamaan silmin näkyvää agglutinaatiota, vaan siihen tarvitaan apukeinoja. Apuna voidaan käyttää esimerkiksi antiglobuliinireagenssia tai entsyymikäsittelyä. (Kuntaliitto 2006: 45, 75.)

IgA-vasta-aineita esiintyy IgA-puutoksien yhteydessä. Kun potilaan IgA-pitoisuus on hyvin alhainen, voidaan epäillä vasta-aineiden olemassaoloa. Anti-IgA-vasta-aineet suurina pitoisuuksina voivat aiheuttaa verensiirtojen ja immunoglobuliinihoitojen yhteydessä anafylaktisen reaktion. (Huslab 2016).

Veriryhmävasta-aineet jaetaan usein muodostumisominaisuuksien perusteella seuraavasti:

- Luonnolliset vasta-aineet
- Allovasta-aineet
- Autovasta-aineet

Vasta-aineita kutsutaan luonnollisiksi, kun niiden muodostuminen on tapahtunut varhaislapsuudessa ruuansulatuskanavan kautta tapahtuneesta bakteerien altistuksesta, joilla on veriryhmäantigeenien tapaisia pintarakenteita. Nämä vasta-aineet muodostuvat ilman varsinaista verenaltistusta. Luonnollisia vasta-aineita ovat ABO-järjestelmän vasta-aineiden lisäksi esimerkiksi Lewis-veriryhmän vasta-aineet (Kuntaliitto 2006: 14, 25).

ABO-järjestelmän luonnollisia vasta-aineita kutsutaan vielä tarkemmin isoagglutiineiksi. Isoagglutiiniinit alkavat muodostua puolen vuoden iästä lähtien niitä antigeenejä kohtaan, joita hänellä itsellään ei ole. (Kuntaliitto 2006: 14-15.) Esimerkiksi jos vauvalla on punasoluissaan A-antigeenejä eli hän on A-veriryhmäinen, hän alkaa muodostaa bakteeriantistuksien myötä anti-B:tä eli vasta-aineita B-veriryhmän punasoluille. Vastasyntyneellä ei ole vielä muodostunut isoagglutiineja, minkä takia veriryhmän määrittäminen voidaan tehdä vain punasoluantigeenien perusteella (Huslab 2016).

Allovasta-aineet eroavat luonnollisista vasta-aineista siten, että niitä ei ole luonnollisesti elimistössä. Allovasta-aineet muodostuvat immunisaation kautta eli altistuessaan vieraille antigeenille verensiirron tai raskauden yhteydessä. (Kuntaliitto 2006: 14.) Esimerkiksi kun RhD-negatiivinen henkilö saa RhD-positiivista verta, hän voi immunisoida eli tuottaa vasta-aineita sitä kohtaan. Kun vasta-aineet ovat jo muodostuneet, seuraava epäsuorasti altistuminen voi johtaa hemolyysiin. Eli jos potilaalla näkyy RhD-vasta-aineita, voidaan olettaa, että hän on RhD-antigeenin suhteen negatiivinen ja hän on altistunut RhD-positiiviselle verelle. Poikkeuksen muodostavat autoimmuunisairauksia sairastavat henkilöt. Punasoluvasta-aineiden muodostaminen vaihtelee yksilöllisesti, sillä jotkut ihmiset muodostavat helposti vasta-aineita, kun taas osa ei immunisoidu toistuvienkaan verensiirtojen jälkeen (Koski 1995: 171).



Kuvio 4. Allovasta-aineiden (RhD) muodostuminen.

Autovasta-aineita syntyy, kun ihminen alkaa tuottaa vasta-aineita omia punasoluantigeenejä vastaan. Autoimmuunihemolyttisessä anemiassa (AIHA) omia punasoluantigeenejä vastaan tuotetut vasta-aineet aiheuttavat punasolujen hajoamisen (Salonen 2015).

6 Kliinisesti merkitykselliset veriryhmät

Veriryhmät ovat veren punasolujen ominaisuuksiin ja plasman vasta-aineisiin perustuvia verityyppien ryhmittelyjä (Veripalvelu 2015). Veriryhmäjärjestelmiä tunnetaan 36, jotka sisältävät yli 300 veriryhmäantigeeniä (ISBT 2015). Näistä tärkein ja kliinisesti merkityksellisin veriryhmäjärjestelmä on ABO-järjestelmä. Toiseksi kliinisesti merkityksellisin veriryhmä on Rh eli reesusveriryhmäjärjestelmä. Rh-veriryhmästä RhD on erittäin immuni-soiva, minkä takia se usein määritetään ABO-veriryhmän ohella. Kun puhutaan veriryhmän määrittämisestä, siihen kuuluu yleensä ABO-veriryhmän lisäksi RhD-määrittäminen.

Kliinisesti merkityksellisiksi vasta-aineiksi luokitellaan niitä vasta-aineita, jotka voivat aiheuttaa vakavia reaktioita verensiirron yhteydessä. Kliinisesti merkityksellisiä vasta-aineita ovat Rh-, MNS, Kell-, Duffy-, Kidd-, DO-veriryhmiin kuuluvat vasta-aineet (Punainen Risti Veripalvelu 2016).

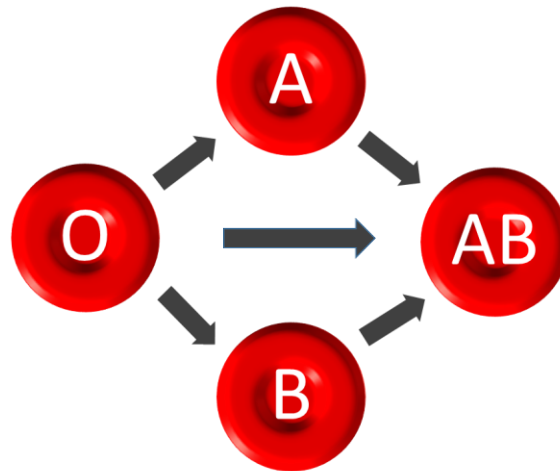
Taulukko 1. Taulukko merkityksellisistä vasta-aineista/veriryhmistä. Veriryhmäjärjestelmän sisällä voi olla yksi tai useampia kliinisesti merkityksellisiä vasta-aineita.

Veriryhmä	Vasta-aineet
Rh	Anti-D, anti-C, anti-Cw, anti-Cx, anti-E, anti-c, anti-e, anti-f
MNS	Anti-S, anti-s
Kell	Anti-K, anti-k
Duffy	Anti-Fya, anti-Fyb
Kidd	Anti-Jka, anti-Jkb
Domb	Anti-Doa, anti-Dob

6.1 ABO-veriryhmäjärjestelmä

ABO-veriryhmäjärjestelmä on kaikista tunnetuin ja merkityksellisin veren luokitusjärjestelmä. ABO-veriryhmäjärjestelmässä veriryhmät jaetaan neljään eri päätyyppiin, joita ovat A, B, AB ja O. ABO-veriryhmäjärjestelmän vasta-aineet ovat anti-A ja anti-B. (Sis-tonen 1995: 102.)

Punasolujen verensiirrossa käytetään sopivuusääntöä ja säännön vastainen siirto aiheuttaa hemolyyttisen vastareaktion (kuvio 5). O on yleisluovuttaja ja AB on yleisvastaanottaja. O-veriryhmään kuuluva henkilö voi vastaan ottaa pelkästään O-verta, mutta AB-veriryhmään kuuluva henkilö voi ottaa vastaan kaikkiin veriryhmiin kuuluvia verivalmisteita. A-veriryhmän omaava henkilö voi vastaanottaa verta A:lta ja O:lta, mutta veren saaminen B:lta johtaa hemolyyttiseen reaktioon. Vastaavasti B-veriryhmään kuuluva henkilö voi vastaanottaa O-verta ja B-verta, mutta ei kuitenkaan A-verta tai AB-verta. Punasoluja siirrettäessä ABO-veriryhmän lisäksi kiinnitetään huomiota RhD-veriryhmään. (Kuntaliitto 2006: 34.)



Kuvio 5. Punasolujen verensiirron sopivuussääntö. O-veri on yleisluovuttaja eli O-verta voidaan antaa kaikille veriryhmille, mutta itse se voi vastaanottaa vain O-verta. AB-veriryhmäinen henkilö on yleisvastaanottaja eli hän voi vastaanottaa kaikkien veriryhmien verta.

Ihminen muodostaa vasta-aineita niitä antigeenejä vastaan, joita hänellä itsellään ei ole. A-veriryhmää omaavalla henkilöllä on vasta-aineita B-veriryhmää vastaan eli hänellä on plasmassa anti-B:tä. ABO-vasta-aineet ovat luonnollisia eli niitä muodostuu varhaislapsuudessa. Tämän takia jo ensimmäinen väärä verensiirto voi olla potilaalle kohtalokas.

Plasman siirtosääntö on päinvastainen. Plasman siirrossa AB on yleisluovuttaja ja O on yleisvastaanottaja. Trombosyyttien siirrossa käytetään punasolujen siirtokaaviota (Verivalmisteiden käytön opas 2016: 29, 39).

6.2 Rhesus-veriryhmäjärjestelmä

Rhesus-veriryhmäjärjestelmä (Rh) on kaikista monimuotoisin veriryhmäjärjestelmistä. Antigeenejä tunnetaan yli 50, mutta kliinisesti merkitykselliset Rh-antigeenit ovat D, C, Cw, Cx, E, c, e, f. Tärkeimmät näistä ja yleisimmin määritettävät antigeenit ovat D, C, c, E ja e. (Punainen Risti Veripalvelu 2016; Sulin 2016.)

Rh-veriryhmäjärjestelmästä erityisesti RhD on immunogeenisin punasoluantigeeni, minkä takia se selvitetään aina ABO-veriryhmän kanssa. Yhden RhD-positiivisen veriyksikön jälkeen, jopa 80 % RhD-negatiivisista ihmisistä immunisoituu (Koski 1995: 169). Anti-D ei ole luonnollinen kuten ABO-järjestelmän vasta-aineet vaan se on allovas-

aine, joten ihmisellä ei ole luonnostaan RhD-vasta-aineita. Niitä voidaan saada verensiirron tai raskauden jälkeen, minkä takia on erityisen tärkeää antaa oikeanlainen veri potilaalle, jotta potilasta ei immunisoida turhaan. (Kuntaliitto 2006: 19.)

Kun potilas on jo tuottanut vasta-aineita, seuraava vääränlainen verensiirto johtaa hemolyysiin. Esimerkiksi jos RhD-negatiiviselle potilaalle annetaan ensimmäistä kertaa RhD-positiivista verta, hän saattaa immunisoitua eli tuottaa vasta-aineita. Näin ensimmäinen väärä verensiirto ei ole kohtalokas, vaan toinen, sillä nyt hänellä on vasta-aineita. Rh-tekijää huomioidaan erityisesti tytöillä ja fertiili-ikäisillä naisilla, jotta raskauden aikana vauvalle ei tulisi hemolyyttistä tautia (Kuntaliitto 2006: 19).

6.3 Muut kliinisesti merkitykselliset veriryhmät

Kell-veriryhmäjärjestelmästä kliinisesti merkityksellisiä vasta-aineita ovat anti-k ja anti-K. Näistä anti-K on erittäin immunisoiva vasta-aine, sillä se aiheuttaa verensiirtoreaktioita ja vastasyntyneelle hemolyyttistä tautia. Tytöille ja fertiili-ikäisillä naisilla suositellaan annettavaksi K-negatiivisia punasoluja, turhan immunisaation välttämiseksi. (Kuntaliitto 2006: 22-23.)

MNS-veriryhmäjärjestelmästä anti-S ja anti-s ovat merkityksellisiä, sillä ne voivat aiheuttaa verensiirtoreaktioita ja vastasyntyneelle hemolyyttisen taudin. Anti-M ja anti-N ovat kliinisesti merkityksettömiä vasta-aineita, paitsi joissakin tapauksissa anti-M on aiheuttanut raskaudenaikaisia anti-M-immunisaatioita. (Kuntaliitto 2006: 19-20.)

7 Verensiirtotutkimukset ja niiden tutkimusmenetelmät

Seuraavassa kappaleessa käsitellään tärkeimpien verensiirtotutkimuksien käyttötarkoituksia ja tutkimusmenetelmiä. Tutkimusmenetelminä on käytetty koeputki- ja pylväsaglutinaatiomenetelmät, sillä näillä menetelmillä suoritetaan tutkimukset immunohematalogian laboraatioissakin. Kappaleessa käsitellään tarkemmin niiden tutkimuksien suoritusohjetta, joista opetusvideot on tehty.

Verensiirtoserologiset tutkimukset perustuvat vasta-aineen ja punasoluantigeenien väliin reaktioihin ja niiden tulkitsemiseen. Vasta-aineet agglutinoivat eli sakkauttavat punasolut tai aiheuttavat hemolyysin, jos vasta-aine on komplementtia sitova (Pirkola - Savolainen 1995: 114.) Agglutinoituminen tai hemolyysi osoittavat veren sopimattomuuden.

Verensiirtotutkimuksia tehdään, jotta potilaalle ei aiheuteta verensiirtoreaktioita. Sopimattoman veren antaminen johtaa hemolyysiin eli punasolujen hajoamiseen, ja pahimmillaan potilas voi menettää henkensä. Reaktion ja oireiden voimakkuus riippuu siirretyn verivalmisteen määrästä ja potilaan vasta-ainepitoisuudesta. Haittavaikutukset voivat olla erilaisia lievistä kuumeesta kuolemaan asti. Haittavaikutukset ilmenevät usein siirron aikana tai 24 tunnin sisällä. Erittäin harvinaisesti haittavaikutukset voivat ilmestyä viikkojen tai vuosienkin kuluttua. (Verivalmisteiden käytön opas 2016: 54-55.) Verensiirtotutkimuksia tehdään ennen suunniteltua verensiirtoa verta tarvitsevalle potilaalle.

Yleisimpiä verensiirtotutkimuksia ovat ABORhD- määrittäminen, vasta-aineseulonta ja sopivuuskoe. Jos vasta-aineseulonta on positiivinen, tehdään vielä vasta-aineiden tunnistus. Muita verensiirtoon liittyviä tutkimuksia ovat suora antiglobuliinikoe ja veriryhmäantigeenien fenotyypitys. (Kuntaliitto 2006: 50-55.)

Verensiirtotutkimuksien tutkimusnimikkeet ja lyhenteet ovat:

- Veriryhmämäärittäminen (E-ABORh)
- Veriryhmävasta-aineiden seulonta (P-VRAb-O)
- Veriryhmävasta-aineiden tunnistus (B-VRAb-Tu1)
- Sopivuuskoe (B-Xkoe)
- Suora antiglobuliinikoe (E-Coomb-O)

Veren ominaisuuksien tutkimiseen käytetään lähinnä kahta menetelmää; koeputkimenetelmää ja pylväsagglutinaatiomenetelmää. Näistä pylväsagglutinaatiomenetelmä on yleisessä käytössä. Harvemmassa käytössä ovat myös kuoppalevy menetelmät, joissa on pidempi inkubointiaika, koska levyjä ei sentrifugoida. Koeputkimenetelmää käytetään nykyään harvoin ja osa laboratorioista ei tee niitä ollenkaan. Vasta-aineiden seulonnassa ja sopivuuskokeissa koeputkimenetelmiä käytetään ongelmatilanteiden selvittelyssä. (Kuntaliitto 2006: 47-48.)

IgM-vasta-aineet ovat hyvin suuria ja vahvoja, minkä takia ne pystyvät agglutoimaan punasoluja ilman muita apureagensseja. Tällaisia IgM-vasta-aineisiin perustuvia reaktioita

ovat esimerkiksi ABO- ja RhD-veriryhmämääritys. (Kuntaliitto 2006: 45.) IgG-vasta-aineet eivät pysty agglutinoimaan ilman apureagensseja. Yleisin tapa IgG-vasta-aineiden osoittamiseksi on antiglobuliinireagenssin eli Coombsin seerumin käyttö. Antiglobuliinireagenssi (AHG) tarttuu punasoluihin tarttuneisiin vasta-aineisiin, muodostaen siltoja solujen välille. Nykyään käytetään paljon polyspesifistä reagenssia, joka on anti-IgG:n ja antikomplementin seos. Agglutinaation toteamiseksi apuna voidaan käyttää myös entsyymikäsittelyä, esimerkiksi papaiini- tai bromeliinikäsittelyä, jolloin antigeeni ja vasta-aineet pääsevät lähemmäksi toisiaan. (Pirkola - Savolainen 1995: 114-115.)

Verinäytteet suositellaan otettavaksi EDTA-antikoagulanttia sisältävään putkeen, mutta siihen voidaan käyttää myös seeruminäytettä. Lisäksi veriryhmän määrittämiseen voidaan käyttää muihin antikoagulantteihin otettu näyte, kun muuta ei ole saatavilla. Vastasyntyneiden ja pienten lasten kohdalla voidaan ottaa ihopistosnäyte antikoaguloituun kapillaariputkeen tai EDTA-mikroputkeen. Kun näytteitä säilytetään jääkaapissa, ne ovat tutkimuskelpoisia 5 vuorokautta. (Kuntaliitto 2006: 44.)

7.1 ABORhD-veriryhmän määrittäminen

ABO- ja RhD-veriryhmä määritetään aina yhdessä, ja ne määritetään ennen verivalmisteen siirtoa. ABO-veriryhmässä on luonnostaan isoagglutiineja, joten tätä veriryhmää voidaan tarkastella sekä antigeenien, että isoagglutiinien puolelta. Kun veriryhmä on tarkistettu sekä punasolujen, että vasta-aineiden puolelta, voidaan sitä kutsua täydelliseksi veriryhmämääritykseksi. Täydellinen veriryhmämääritys tehdään varsinaisesti yleensä vain kerran, koska ABO- ja RhD-ominaisuudet säilyvät läpi elämän. Poikkeuksena ovat kantasolusiirron saaneet potilaat ja alle 6 kuukauden ikäisinä määritetty veriryhmän määrittäminen. Kantasolusiirtoa saaneilla potilailla, veri muuttuu luovuttajan veriryhmän mukaisesti, jos luovuttajalla on ollut eri veriryhmä kuin potilaalla. Alle 6 kuukauden ikäisenä tunnistus perustuu pelkästään punasoluihin, koska silloin vasta-aineet eivät ole vielä kehittyneet, joten veriryhmä pitää määrittää täydellisesti. (Huslab 2016; Bio-Rad Laboratories 2016.) Jos potilas on A-veriryhmään kuuluva, hänellä on oltava vasta-aineita B-antigeenille. Jos punasolujen puolella agglutinaatiota ei tapahdu, sen on tapahduttava vasta-aineiden puolella, jolloin tulokset tukevat toisiaan.

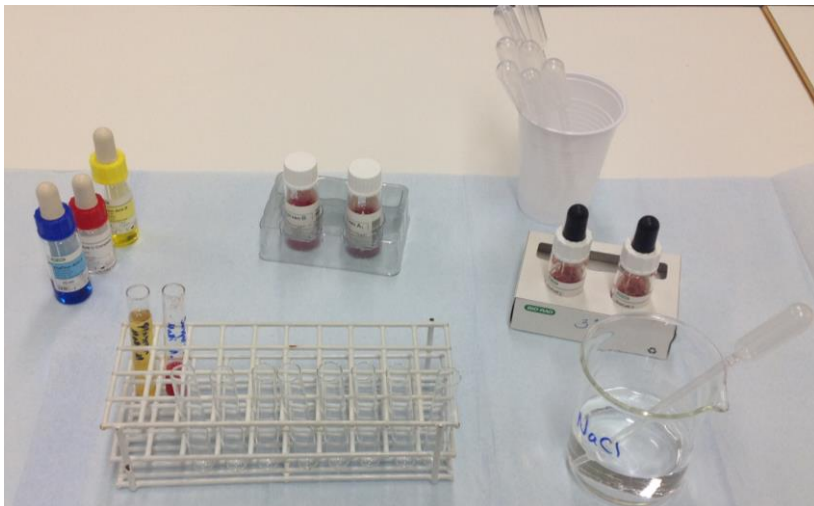
Rh-veriryhmässä ei ole luonnollisia vasta-aineita, minkä takia veriryhmää voidaan tarkastella vain punasoluantigeenien puolelta, ellei immunisaatiota ole tapahtunut. Immunisaation jälkeen Rh-vasta-aineiden muodostus pitäisi näkyä vasta-aine seulonnassa.

Sopivuuskokeessa, johon kuuluu osatutkimuksena veriryhmän tarkistus, riittää yleensä veriryhmän tarkistus punasolujen puolelta, jos täydellinen veriryhmä on kertaalleen määritetty. Näin voidaan vielä välttyä potilaan, näytteen tai laboratorion määrittämiseen liittyvistä virheistä. (Kuntaliitto 2006: 50.)

7.1.1 ABORhD-veriryhmän määrittäminen koeputkimenetelmällä

Veriryhmän määrittämiseen koeputkimenetelmällä, tulee ensiksi valmistaa 3% punasolususpensio. EDTA-putkeen otettu verinäyte sentrifugoidaan ja siitä erotetaan plasma erilliseen koeputkeeseen. Sen jälkeen siirretään 2-3 tippaa punasoluja toiseen koeputkeeseen ja putki täytetään 0,9% natriumkloridilla puolilleen. Sitten näyte sentrifugoidaan, ja sen jälkeen supernatantti eli liuos kaadetaan pois ja lisätään uudestaan natriumkloridia niin, että suspensio on testisolujen kanssa silmämääräisesti saman vahvuinen. (Niittymäki 2015.)

Kun punasolususpensio on valmistettu, voidaan siirtyä itse tutkimukseen. Veriryhmän määrittämistä varten tarvitaan 8 koeputkeita, joihin kirjoitetaan tutkittavan nimi ja reagenssien merkinnät. Tarvittavia reagensseja ovat; anti-A, anti-B, anti-D, A₁-solut, B-solut, D-positiivinen kontrolli, D-negatiivinen kontrolli ja NaCl-kontrolli. Lisäksi tarvitaan Immufuge-sentrifuguu koeputkien sentrifugointia varten. (Niittymäki 2015.)



Kuvio 6. Veriryhmän koeputkimääritykseen tarvittavat reagenssit ja välineet.

Koeputkiin lisätään 1 tippa sitä reagenssia, mitä koeputkeen on kirjoitettu. Antiseerumi-putkiin ja NaCl-putkeen laitetaan saman verran valmistettua punasolususpensiota. A₁- ja B-soluputkiin laitetaan 1 tippa tutkittavan potilaan plasmaa. D-positiiviseen ja D-negatiiviseen putkeen laitetaan niille ominaiset kontrollisolut ja anti-D. Putkia sekoitetaan vielä kevyesti käsin ja ne sentrifugoidaan Immufuge-sentrifuugilla. Sen jälkeen tulokset ovat luettavissa. (Niittymäki 2015.) NaCl kontrollin on oltava negatiivinen, jotta ABO-tuloksiin voidaan luottaa. RhD-kontrollienkin on oltava oletuksen mukaisia, eli RhD-positiivisen kontrollin on oltava positiivinen ja RhD-negatiivisen kontrollin oltava negatiivinen, jotta RhD-tulokseen voidaan luottaa. (Niittymäki 2015.)

7.1.2 ABORhD-veriryhmän määrittäminen korttimenetelmällä

Veriryhmän määrittämiseen geelikortilla tarvitaan ensinnäkin tutkimuskortti. Yleisimmin käytetty ja opetusvideossa käytetty kortti on Bio-Rad:n ABO/D+ reverse grouping kortti. Täydellisen ABO-veriryhmämäärittämisen täytyy perustua sekä punasolujen antigeenien määrittämiseen, että isoagglutiinien osoittamiseen, ja tällä ID-kortilla saadaan osoitettua molemmat. Tässä menetelmässä ABO-määritetään sekä suoralla, että käänteisellä menetelmällä (Bio-Rad 2013a).

Kolmessa ensimmäisessä kaivossa on antiseerumeja eli vasta-aineita; anti-A, anti-B ja anti-D:tä. Ne ovat punasolujen antigeenien osoittamista varten. Jos potilaan näytteessä on esimerkiksi A-antigeeniä, kyvetin vasta-aineet sitoutuvat niihin aiheuttaen agglutinaation. Agglutinaatio näkyy niin, että potilaan punasolut ovat geelin päällä tai yläosassa. Negatiiviset punasolut vajoavat geelin pohjalle. Neljäs cti-kaivo on negatiivinen kontrolli, jonka tuloksen tulee olla aina negatiivinen. Kaksi viimeistä mikrokyvettä ovat käänteisveriryhmän eli isoagglutiinien määrittämistä varten. Se sisältää pelkästään geeliä, johon pipetoidaan A₁-solut ja B-solut, ja sen jälkeen potilaan plasmaa. (Bio-Rad 2013a.)



Kuvio 7. Kuvassa Bio-Rad:n ABO/D+reverse grouping kortti. Ensimmäinen kuva käyttämättömästä geelikortista ja toinen kuva määritetystä verinäytteestä.

Reagensseja ja välineitä joita tarvitaan ovat ID-kortti, A₁-solut, B-solut ja Diluent 2 (ID-2). Lisäksi tarvitaan ID-sentrifuugi, lasikoeputkia, putkiteline, pipettejä ja ID-korttiteline. Näytteeksi tarvitaan potilaan verta, joka on mieluiten otettu EDTA-putkeen, ja josta sentrifugoinnin jälkeen erotetaan plasma toiseen koeputkeen. Punasolususpensio valmistetaan ID-2- liuokseen, niin että saadaan 5 % punasolususpensio. Antiseerumia sisältäviin mikrokyvetteihin ja negatiiviseen kontrolliin pipetoidaan punasolususpensiota. Kahteen viimeiseen kyvetiin pipetoidaan ensin A₁- ja B-soluja, minkä jälkeen pipetoidaan potilaan plasmaa. Reaktioon annetaan inkuboitua 10 minuuttia huoneenlämmössä, jonka jälkeen kortti sentrifugoidaan ID-sentrifuugilla. Tämän jälkeen kortti on valmis luettavaksi. (Niittymäki 2015.)

7.2 Vasta-aine seulonta

Punasoluvasta-aineiden seulonta on tutkimus, jossa tutkitaan, onko potilaalle muodostunut verensiirron onnistumista vaarantavia punasoluvasta-aineita. Tutkimuksessa potilaan plasma inkuboidaan tunnettujen seulontasolujen kanssa. Seulontasolut ovat valittu niin, että tärkeimmät ja merkitykselliset vasta-aineet saadaan esille. Seulontasoluja voidaan valita eri määrä, mutta yleisesti käytetään kolmea seulontasolua. Jos potilaan plasmaa on näitä vasta-aineita ne reagoivat seulontasolujen kanssa aiheuttaen agglutinaation. (Kuntaliitto 2006: 52-53.) Immunoematologian kurssissa käytetään kahta seulontasolua, joten opetusvideoissakin olen käyttänyt kahta seulontasolua.

Vasta-aineseulonnassa etsittävät vasta-aineet kuuluvat usein IgG-luokkaan. IgG-vasta-aineet ovat pieniä, joten aglutinaation havaitsemiseksi tarvitaan joko antihumaaniglobuliinireagenssia (AHG) tai entsyymikäsittelyä. Vasta-aineseulonnassa ja sopivuuskokeessa käytetään yleensä polyspesifistä antihumaaniglobuliinireagenssin ja anti-komplementin (anti-C3d) seosta. Antiglobuliinireagenssi (anti-IgG) tarttuu vasta-aineisiin, jotka ovat tarttuneet punasolun antigeeneihin, ja muodostaen sillan solujen välille. (Kuntaliitto 2006: 45.)

7.2.1 Vasta-aineseulonta koeputkimenetelmällä

Punasoluvasta-aineiden seulonnan suorittamiseen koeputkimenetelmällä, tarvitaan sen verran koeputkia, miten paljon seulontasoluja on käytössä. Jos käytössä on kaksi seulontasolua, tarvitaan kaksi koeputkia. Molemmat koeputket merkitään potilaan nimellä ja niihin laitetaan seulontasolujen merkinnät. Putkiin lisätään tippa seulontasolua ja niiden päälle lisätään saman verran potilaan plasmaa. Kevyen sekoituksen jälkeen koeputkia inkuboidaan 20-45 minuuttia 37 °C:ssa. Sen jälkeen koeputket sentrifugoidaan 15 sekuntia LOW-toiminnolla ja tulokset luetaan kertaalleen käännettäessä. (Niittymäki 2015.)

Sen jälkeen koeputket pestään neljä kertaa 0,9% Natriumkloridi:lla 45 sekuntia HIGH-toiminnolla. Koeputkiin lisätään 1-2 tippaa antiglobuliinia (Coombs) ja ne sentrifugoidaan 15 sekuntia LOW-toiminnolla. Sen jälkeen tulokset luetaan. Negatiivisten tulosten luotettavuuden varmistamiseksi negatiivisiin koeputkiin lisätään tippa Coombs-kontrollisoluja ja ne sentrifugoidaan uudestaan 15 sekuntia LOW-toiminnolla. Tämän jälkeen, jos negatiivisetkin tulokset muuttuvat positiivisiksi, voidaan tuloksiin luottaa. Tämä vaihe varmistaa sen, että antiglobuliinireagenssi toimii. (Niittymäki 2015.)

7.2.2 Vasta-aineseulonta LISS/Coombs-geelikortilla

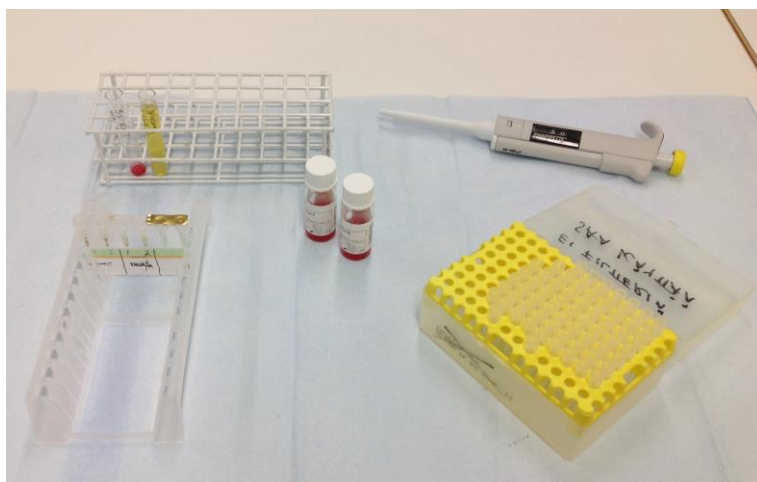
LISS/Coobs-kortit (kuvio 8) sisältävät polyspesifistä AHG:ta eli polyspesifisiä anti-humaaniglobuliinireagensseja, jota käytetään allovasta-aineiden seulonnassa, sopivuuskokeissa ja suorassa antiglobuliinikokeessa. AHG:n tehtävänä on löytää punasolujen pintaan sitoutunutta IgG:tä Tarkemmin kortti sisältää anti-IgG:tä ja monoklonaalista anti-C3D:tä. (Bio-Rad 2013b.) Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että jos potilaan plasmassa on merkityksellisiä vasta-aineita, ne sitoutuvat seulontasoluihin ja AHG sitoutuu näihin

vasta-aineisiin. AHG:n päälle sitoutuu vielä antikomplementti anti-C3d, jolloin punasolujen välille muodostuu siltoja, aiheuttaen agglutinaation (Kuntaliitto 2006: 45.) Näin seulontasolut eivät pääse pohjalle asti muodostamaan solunappia.



Kuvio 8. LISS/Coombs kortti, joka sisältää anti-IgG:tä ja C3d:tä.

Reagenssit ja välineet joita tarvitaan ovat LISS/Coobs-kortti ja seulontasolut (kuvio 9). Tarvittavien mikrokyvettien määrä riippuu seulontasolujen määrästä. Jos käytössä on kaksi seulontasolua, niin tarvitaan kaksi mikrokyvettä, eli muiden mikrokyvettien päälle saa jäädä alumiinifolio, jolloin niitä voi käyttää myöhemmin. (Niittymäki 2015.)



Kuvio 9. Vasta-aineseulonnan suorittamiseen tarvittavat välineet ja reagenssit

Tutkimus suoritetaan niin, että poistetaan tarvittavien mikrokyvettien päältä alumiinifolio. Niitä kortteja ei tulisi käyttää, joissa on kuivumisen merkkejä, ilmakuplia tai vahingoittunut geeli. Korttiin kirjoitetaan aina potilaan tiedot. Kyvetteihin pipetoidaan ensin seulontaso-

lut ja sen jälkeen potilaan plasmaa. Kortit inkuboidaan 15 minuuttia 37 °C:ssa ID-inkubaattorissa ja sen jälkeen sentrifugoidaan ID-sentrifuugilla 10 minuuttia. (Bio-Rad 2013b; Niittymäki 2015.)

Tuloksen ollessa negatiivinen solut vajoavat kyvetin pohjaan. Positiivisen tuloksen yhteydessä, pitäisi tehdä jatkotutkimuksia vasta-aineen tunnistamista varten.

7.2.3 Vasta-aineiden tunnistus

Positiivisen seulontatuloksen yhteydessä, vasta-aineet täytyy tunnistaa. Vasta-aineiden tunnistuksessa käytetään solupaneeleja, jossa on yleensä 11 punasolususpensiota. Saatuja tuloksia verrataan solupaneelin antigeenikarttaan, jonka avulla voidaan päätellä, mikä vasta-aine on kyseessä. Myös positiivinen tulos sopivuuskokeessa tai ylimääräinen reaktio ABO-määrityksessä ovat syitä vasta-aineiden tunnistukseen. (Kuntaliitto 2006: 55.)

Vasta-aineiden osoittaminen ei aina ole yksiselitteistä. Ensimmäisen immunisaation jälkeen vasta-aineita voidaan osoittaa aikaisintaan viikon kuluttua. Usein vasta-aineet näkyvät viikkojen tai kuukausien jälkeen. Jos vieraan antigeenin määrä on erittäin vähäinen, voi olla, että niitä ei löydetä ollenkaan. Yksi kolmasosa merkityksellisistä vasta-aineista ei ole enää osoitettavissa vuoden jälkeen verensiirrosta, mutta osa vasta-aineista voivat jäädä elimistöön vuosikymmeniksin. (Koski 1995: 170.)

Kun vasta-aine epäily on löytynyt, se varmistetaan vielä antigeenin fenotyyppityksellä. Siinä varmistetaan, että potilas on kyseisen antigeenin suhteen negatiivinen, minkä takia hänellä on vasta-aineita sitä kohtaan. Esimerkiksi jos potilaan näytteessä on löytynyt anti-K, se pitää varmistaa fenotyyppityksellä, että potilas on K-antigeenin suhteen negatiivinen. Näin tulokset tukevat toisiaan. Epäselvissä tapauksissa näytteen voi lähettää Veripalveluun (Kuntaliitto 2006: 55).

7.3 Sopivuuskoe

Sopivuuskoe on tutkimus, jossa tutkitaan siirrettäväksi aiottujen punasolujen sopivuus potilaalle. Tarkemmin siinä tutkitaan, onko potilaan plasmassa punasoluvasta-aineita siirrettäviksi aiottuja punasoluja kohtaan. Sopivuuskoe tehdään aina ennen suunniteltua

verensiirtoa, paitsi esimerkiksi hätäverensiirroissa. (Huslab 2016.) Sopivuuskokeella pyritään vielä saamaan kiinni ABO-epäsopivuudet ja vasta-aineista johtuvat epäsopivuudet. Jos vasta-aineista on jo saatu negatiivinen tulos, niin usein sopivuuskokeen tuloskin on negatiivinen. (Pirkola - Savolainen 1995: 121.) Jos vasta-aineseulonnassa seulontasoluissa ei ole edustettuina kaikkia antigeenejä, viimeistään sopivuuskokeessa ne voidaan vielä saada kiinni.

Tutkimuksessa potilaan plasma ja veriyksikön punasolut inkuboidaan keskenään. Jos potilaan plasmassa on vasta-aineita punasoluvalmisteen antigeenejä vastaan, ne tarttuvat punasoluihin kiinni, jotka osoitetaan AHG:n avulla. Jos positiivisia reaktioita ei tule, voidaan todeta, että veriyksikkö on sopiva potilaalle. (Kuntaliitto 2006: 54,58.) Tutkimus antaa pienimuotoisen kuvan siitä, miten siirrettäväksi aiotut punasolut käyttäytyvät potilaan elimistössä.

Sopivuuskoe sisältää osatutkimuksina seuraavat tutkimukset:

- Veriryhmän tarkistus/ määrittäminen
- Punasoluvasta-aineiden seulonta
- Sopivuuskoe

Sopivuuskokeen tulos on voimassa viisi vuorokautta näytteen antamisesta lähtien, joten näytteen voi antaa aikaisintaan viisi vuorokautta aiemmin. Jos sopivuuskoe tai vasta-aineseulonta on positiivinen, tehdään automaattisesti vasta-aineiden tunnistus. (Huslab 2016.) Jos veriryhmä on kertaalleen määritetty, silloin riittää veriryhmän tarkistus eli veriryhmät tarkistetaan vain antigeenin puolelta. Tunnistusvirheiden välttämiseksi näytteenotossa on erikoiskäytänteet, jos veriryhmä ja sopivuuskoe on pyydetty yhtä aikaa.

7.4 Type and Screen

Type and screen eli suomeksi veriryhmä ja seulonta-käytäntö on uudempimuotoinen menetelytapa sopivuuskokeen tilalle. Verikeskuksissa ATK-järjestelmien käyttöön ottaminen ja laboratorioautomaatiikka on vähentänyt inhimillisten virheiden määrää, minkä takia sopivuuskokeen merkityksen tärkeys on vähentynyt. Sähköisen tietojärjestelmän ollessa, järjestelmä voi itse tarkistaa verivalmisteen sopivuuden potilaalle, jolloin ei tarvita serologista sopivuuskoea. (Koski 2005; Verivalmisteen käytön opas 2016: 11.)

Veriryhmä ja seulonta käytännössä ensiksi määritetään veriryhmä ja sen jälkeen seulotaan vasta-aineita. Seulontatuloksen ollessa negatiivinen ei enää tehtäisi sopivuuskoea. Näin verta ei tarvitsisi varata potilaalle etukäteen ja veri voitaisiin toimittaa nopeasti. Kun veripusseja ei varata mahdollista verensiirtoa varten, punasolujen vanhenemiskin vähenee. (Koski 2005.)

Veriryhmä ja seulontaa ei suositella potilaille, joilla on jo tiedossa olevia vasta-aineita, sillä heidän oletetaan tuottavan uusia vasta-aineita helposti. Sopivuuskokeen merkitys harvinaisiin veriryhmäantigeenien löytämiseen on myös edelleen tärkeää. (Koski 2005). Myös maksan- tai luuytimen siirron saaneille potilaille suositellaan perinteistä sopivuuskoea (Verivalmisteiden käytön opas 2016: 11).

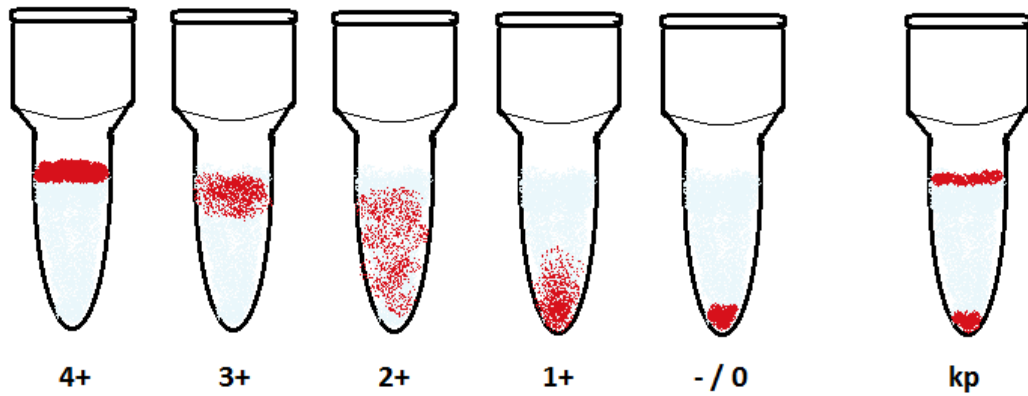
Tällä hetkellä tämä käytäntö on jo käytössä joissakin verikeskuksissa Suomessa, kuten Turussa ja Tampereessa, mutta sen käytön oletetaan leviävän muuallekin Suomeen tulevaisuudessa. Käytäntö on jo käytössä useissa maissa kuten USA, Hollanti, Iso-Britannia ja Australiassa (Koski 2005).

7.5 Reaktiovahvuuksien tulkinta

Tutkimuksen suorittamisen jälkeen seuraava vaihe on reaktioiden tulkitseminen. Onko reaktio positiivinen vai negatiivinen? Kuinka vahva reaktio on? Mitä reaktiossa on tapahtunut? Sopivuuskokeessa on erittäin pieni reaktio, voiko verta antaa? Nämä ovat kysymyksiä, joita pitää osata tehdessä verensiirtotutkimuksia, ja näiden tuloksien perusteella tehdään johtopäätöksiä potilaan veriominaisuuksista.

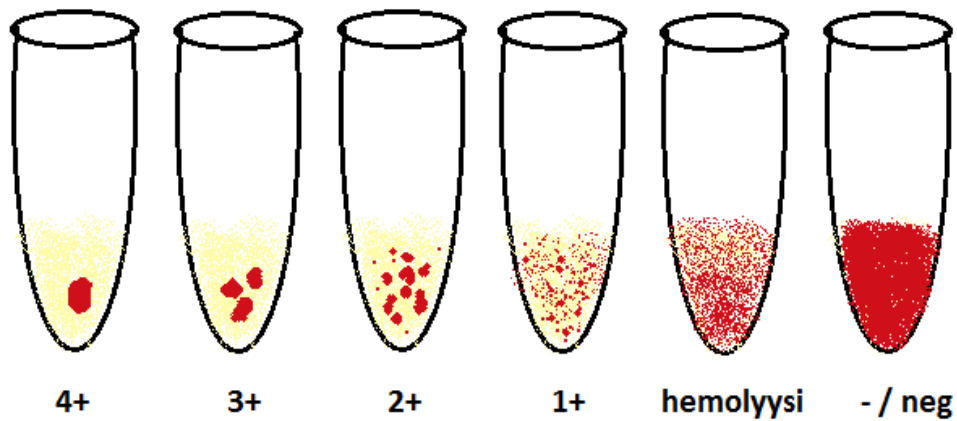
Pylväsagglutinaatio- eli korttimenetelmissä reaktioiden lukeminen saattaa olla helpompaa kuin koeputkimenetelmien reaktioiden lukeminen. Kortti kannattaa laittaa valoa vasten, jotta näkee selvästi. Reaktiovahvuudet luokitellaan negatiivisesta 4+ asti.

Reaktiot luokitellaan positiivisiksi, kun ne ovat välillä 1-4+. Vahvuudeltaan suurin reaktio on 4+, jolloin kaikki punasolut tasaisesti ovat geelikerroksen pinnalla. 3+ reaktiossa punasolut ovat hieman levinneet, mutta kuitenkin niin, että ne ovat geelipylvään yläosassa. 2+ reaktiossa punasolut ovat levinneet koko geelipylvään eri korkeuksille. 1+ reaktiossa punasolut ovat painottuneet geelipylvään alaosaan, mutta selvää solunappia ei ole muodostunut. Negatiivisessa reaktiossa solut muodostavat kiinteän solunapin pohjalle. Kaksoispopulaatiossa punasolut ovat sekä geelipylvään pinnalla, että pohjalla.



Kuvio 10. Reaktiovahvuudet geelikortissa. Reaktion vahvuudet jaetaan 0-4+ asti. Lisäksi on myös kaksoispopulaatio.

Koeputkimenetelmässä reaktiovahvuudet tulkitaan seuraavasti. 4+ reaktiossa solut ovat muodostaneet yhden selkeän solunapin, niin että ympäröivä tausta on kirkasta. 3+ reaktiossa agglutinoituneet solut ovat hajonneet eri osiin, esimerkiksi 2-3 eri osaan. 2+ reaktiossa solut ovat vielä pienemmissä osissa. 1+ reaktiossa agglutinoituneet solut ovat hajonneet hyvin pieniin osiin, ja tausta alkaa olla punertavaa. Negatiivisessa reaktiossa suspensio on tasaista eivätkä solut muodosta klimppejä.



Kuvio 11. Reaktiovahvuuksien tulkinta koeputkimenetelmällä.

8 Verivalmisteet ja niiden käyttöindikaatiot

Verivalmisteita saadaan verenluovutuksen kautta. Suomessa verivalmistehuollosta huolehtii keskitetysti Suomen Punaisen Ristin Veripalvelu. SPR Veripalvelu hoitaa verenluovuttajien rekrytoinnit, verenluovutuksien järjestämisen, veren keräyksen, luovutetun veren testauksen, verivalmisteiden tuotannon, verivalmisteiden varastoinnin ja vielä veren jakelun sairaaloihin. SPR Veripalvelun mukaan joka päivä tarvitaan noin 1000 luovuttajaa ja luovutetulla verellä autetaan vuosittain noin 50 000 potilasta. (Veripalvelu 2015.)

Punasoluja siirretään ylläpitääkseen punasolumassaa veren hapenkuljetuskyvyn turvaamiseksi (Leppikangas - Järvelä 2014). Punasoluja tarvitaan erilaisissa leikkauksissa, elinsiirroissa ja onnettomuuden uhrien hoidossa. Myös joissakin sairauksissa, kuten syövän tai munuaisen vajaatoiminnan seurauksena saattaa kehittyä vaikea anemia, jonka hoitoon tarvitaan punasoluja. Pitkäaikaisen anemian seurauksena, potilaalle voidaan antaa säännöllisesti punasolusiirtoja. (Veripalvelu 2016.) Yleensä potilaat saavat anemian oireita, kun hemoglobiinipitoisuus laskee alle 70 g/l, mutta esimerkiksi sydän- ja keuhkosairauksissa anemian oireet voivat tulla esille suuremmillakin hemoglobiinipitoisuuksilla. Yhdellä punasoluvalmisteyksiköllä saadaan nostettua hemoglobiinipitoisuutta noin 10 g/l. (Verivalmisteiden käytön opas 2016: 9.)

Verihiutaleita tarvitaan verenvuodon estämiseen ja hoitoon. Suurin osa trombosyyttivalmisteista annetaan solunsalpaajahoidon saaville potilaille, joilla on puutteellisen trombosyyttituotannon takia trombosytopenia (Leppikangas, Järvelä 2014). Niitä voidaan antaa myös leikkauspotilaille ja massiivisen verenvuodon yhteydessä. (Veripalvelu 2016.)

Plasman tehtävänä on säädellä neste-, lämpötasapainoa, kuljettaa ravintoaineita ja poistaa kuona-aineita. Plasma sisältää immunoglobuliineja eli vasta-aineita, veren hyytymistekijöitä ja muita valkuaisaineita. Plasmaa voidaan antaa paljon verta menettäneelle tai vaikeaa maksasairautta sairastaville potilaille. Sen lisäksi plasmaa voidaan antaa hyytymistekijäpuutoksiin, vastasyntyneiden verenvaihtoihin ja syövän hoitoon. (Veripalvelu 2016.)

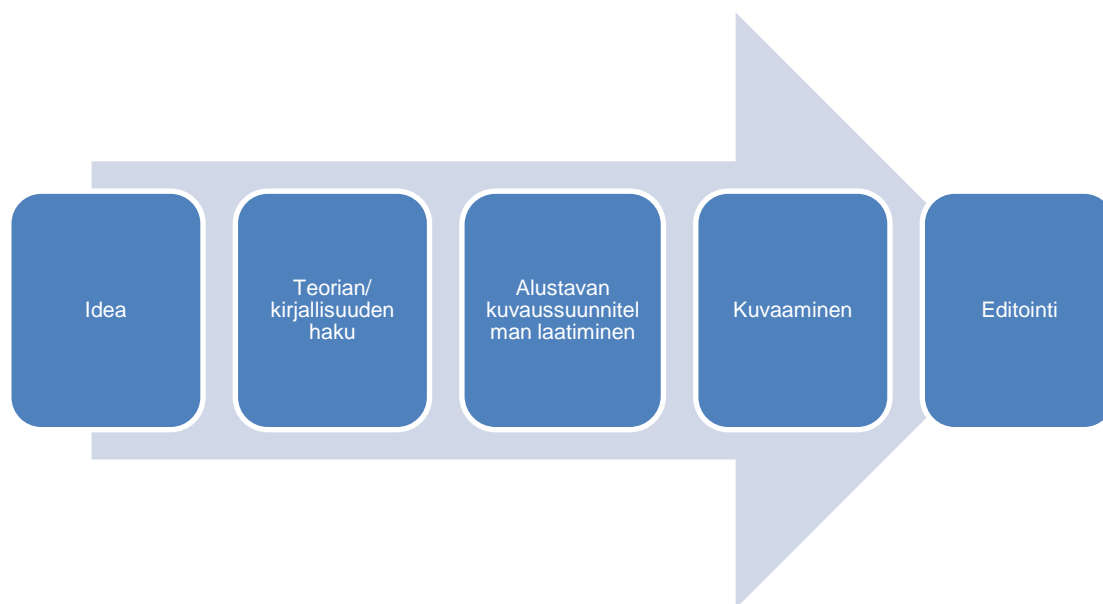
Plasmaa voidaan antaa tuoreena eli jääplasmaa tai siitä voidaan erottaa tarpeellisia ainesosia esimerkiksi hyytymistekijät ja albumiinit erikseen lääkkeiksi. Jääplasmaa käytetään potilaille, jotka kärsivät monen hyytymistekijöiden puutteesta. Nykyisin käytössä

oleva jääplasmavalmiste on nimeltään OctoplasLG, joka on Octapharman valmistamaa, mutta veripalvelu välittää sitä. (Veripalvelu 2016; Verivalmisteiden käytön opas 2016: 39.)

9 Opinnäytetyön prosessi

Opinnäytetyöprosessi alkoi helmikuussa. Olin itse ehdottanut joitakin aiheita ja ohjaajani Heidi Malava piti opetusvideota verensiirtotutkimuksiin hyvänä ideana. Se oli myös ehdottamista aiheistani kiinnostavin minulle. Ohjaajani halusi vielä, että kysyisin mielipidettä immunohematologian kurssia pitävältä opettajalta Kirsi-Marja Kartastenpää-Wihlman:lta. Häneltä sain palautteen, että opetusvideo veriryhmä-, vasta-aineseulonta ja so-pivuustutkimuksiin olisi tervetullutta materiaalia kurssille. Aiheseminaarissa esitin tämän aiheen lyhyesti, että olen ajatellut tämänlaista aihetta ja opiskelukavereidenkin mielestä aihe oli hyvä. Olin ajatellut myös kuvallista opetusmateriaalia, mutta muiden mielipide oli enemmän opetusvideon kannalla. Lopulta päätin heti aiheenjäsennyseseminaarin jälkeen opetusvideon opinnäytetyöaiheeksi eli kyseessä oli toiminnallinen opinnäytetyö.

Aiheen varmistumisen jälkeen aloin etsiä ja kirjoittaa tietopohjaa tulevalle opinnäytetyölle. Prosessi lähti käyntiin ideasta ja se sai jatkoa kirjallisuuden hausta, kuvaamisesta ja editoinnista. Lisäksi kaikkiin vaiheiden aikana työstettiin opinnäytetyöraporttia (kuvio 12). Sopimus allekirjoitettiin Metropolia Ammattikorkeakoulun kanssa 10.10.2016.



Kuvio 12. Opinnäytetyön prosessi. Prosessin kaikkiin vaiheisiin sisältyy raportin työstäminen.

Prosessin aikana tapasin ja pyysin raporttiin liittyen useasti arviointia ohjaajani Heidi Malavalta. Tein opinnäytetyötä yksin, joten vaarana oli aiheen yli meneminen, jota olin useastikin tehnyt.

9.1 Aikataulu ja kuvaussuunnitelma

Taulukko 2. Opinnäytetyöprosessi

Aiheen jäsenitys	helmikuu 2016	1.3.2016
Suunnitelmaseminaari	maalis-huhtikuu 2016	5.4.2016
Opinnäytetyön toteutus	huhti-marraskuu 2016	-
Opinnäytetyöseminaari	marraskuu 2016	15.11.2016

Suunnitelmana oli, että videot kuvattaisiin syksyllä. Alustavasti video suunniteltiin kuvattavan Metropolia Ammattikorkeakoulun Vanhan Viertotien hematologian luokassa, jossa immunoematologian laboraatiot pidetäänkin. Dialogit oli tarkoituksena nauhoittaa ja liittää myöhemmin videoon erikseen, jotta ei tulisi liikaa taustahälinää. Silloin ei pystyisi keskittymäänkään tutkimuksen suorittamiseen. Suunnitelmana oli, että jos äänityksen lisääminen ei onnistu videoihin, niin lisättäisiin pelkkä teksti, joka ohjeistaa tutkimuksien tekemiseen. Videon kuvaamista varten vaihtoehtoina olivat älypuhelimet, koulun kamera tai Ipad, kuitenkin niin että videot olisivat riittävän tarkkoja. Ohjeina käytettiin lehtori Kirsi-Marja Kartastenpää-Wihlman:lta saatuja materiaaleja, jotka oli laatinut lehtori Irma Niitymäki (liite 1).

9.2 Opetusvideoiden toteutus

Kuvausta varten halusin ensin harjoitella itsekseeni ja muistuttaa mieleen kaikki tutkimusvaiheet. Tämä tapahtui 13.10. Silloin ilmeni seuraavia ongelmia koeputkimenetelmän suhteen; reagenssit olivat eräänntyneet, anti-D:tä oli erittäin vähän, ja D-positiivisia ja D-negatiivisia soluja ei löytynyt. Uudet reagenssit olivat tulossa liian myöhään, joten piti ryhtyä itse luovaksi reagenssien suhteen. Korttimenetelmien kuvaus suoritettiin seuraavana päivänä eli 14.10. Videoiden kuvaamiseen käytettiin koulun Ipad:ia. Geelikorttien ja koeputkien nimeämisessä käytettiin mielikuvitusnimeä Matti M.

Toinen kuvaus suoritettiin perjantaina 28.10.2016. Silloin kuvattiin kaikki tutkimukset eli geelikortti-menetelmätkin kuvattiin uusiksi ja kuvattiin ensimmäistä kertaa koeputkimenetelmät. Edellisessä kuvauksessa videoissa oli kohtia, joissa kamera liikkuu paljon, minkä takia geelikorttimenetelmätkin kuvattiin uudestaan. Videoissa suoritan tutkimukset itse.

Tutkimukset suoritettiin koulun työohjeiden mukaan (liite 1), paitsi EDTA-verinäytteen sentrifugointinopeutena oli 3000 rpm. Ohjeen mukainen 800 G, joka on noin 1800 rpm, oli liian vähän, sillä silloin punasolut ja plasma eivät erottuneet kunnolla.

Veriryhmän määrittämisessä koeputkimenetelmällä tehtiin joitakin ratkaisuja, jotta ongelmat eivät näkyisi videolla. Anti-D:tä oli niin vähän, että purkin oma pipetti ei yltänyt ottamaan reagenssia, vaan se piti ottaa pasteur-pipetillä. Halusin kuitenkin, että videossa anti-D otetaan purkin omalla pipetillä, joten otin tyhjän anti-D purkin ja lisäsin siihen NaCl:a. Videossa pipetoin oikeasti anti-D-purkista natriumkloridia. Sen kohtauksen kuvauksen jälkeen otin toisen puhtaan koeputken ja lisäsin siihen pasteur-pipetillä oikeasti anti-D:tä, joka ei näy videossa. Näin saatiin kuvattua mahdollisimman sujuvasti otos, jossa ei näy anti-D-reagenssin vähyys.

Editoinnit suoritettiin viikoilla 44-45. Videot editoitiin Microsoft:n Windowsin elokuvatyökalun avulla. Äänityksen lisäämisessä oli haastetta, sillä se oli uutta minulle. Kesti vähän aikaa, kunnes edes tiesin, että miten äänitys lisätään. Sen jälkeen hyvän äänityksen luomisessakin oli haastetta. Editoinnit ja äänityksen suoritin ihan kotona kannettavalla tietokoneella. Minulla ei ollut erillistä mikrofonia käytössä, joka olisi suodattanut taustahälinät pois, joten piti aina varmistaa, että tila oli rauhallinen. Äänileikkeissä hiiren klikkaukset kuuluivat selvästi ja välillä kun kannettavan tietokoneen prosessi piti ääntä, sekin kuului. Tämän takia jouduin jokaisen äänileikkeen kohdalla poistaa alku- ja loppuosio, jotta hiiren klikkaukset eivät kuuluisi, kun klikkasin äänitys-nappulaa. Kaikissa videoissa on käytetty samaa taustamusiikkia, joka on www.bensound.com sivustolta, joka julkaisee tekijäoikeusvapaata musiikkia.

Viikon 45 lopulla ja viikon 45 alussa sain palautetta ja parannusehdotuksia ohjaajilta. Sen jälkeen joitakin kohtia muokattiin ja äänityksiä lisättiin. Lopullisissa videoissa on pääosin 28.10 kuvaamat videot, paitsi veriryhmän määrittämisessä korttimenetelmällä-videon alkuosassa on käytetty ensimmäisessä kuvauksessa kuvattu video, sillä toisessa videossa

oli joitakin epäkohtia, joita piti muuttaa. Ongelmakohdat olivat esimerkiksi puhtaiden ja käytettyjen pipettien sama astia.

9.3 Työn julkistaminen

Työ esiteltiin opinnäytetyöseminaarissa 15.11.2016 ja siellä esitettiin yksi opetusvideosta. Tämän lisäksi työ julkistettiin immunohematologian kurssin laboraatiossa bioanalytiikko-opiskelijoille 30.11.2016. Siellä kerrottiin lyhyesti opinnäytetyöstä ja esitettiin veriryhmän määrittäminen koeputkimenetelmällä-opetusvideo.

10 Opinnäytetyön tuotokset

Opinnäytetyön tuotteiksi tulivat seuraavat opetusvideot: ABORh-veriryhmämäärittäminen koeputkimenetelmällä, veriryhmän määrittäminen geelikorttimenetelmällä ja lisäksi vasta-aine-seulonta geelikorttimenetelmällä. Opetusvideoita tuli yhteensä kolme ja ne kaikki on tehty erillisiksi videoiksi. Työ tulee Metropolia Ammattikorkeakoulun pilvipalveluun, josta opettajat voivat vapaasti käyttää niitä.

11 Pohdinta

Opinnäytetyön suorittamisessa oli aikataulullisia haasteita. Harjoitteluja oli koko ajan toistensa jälkeen, joten esimerkiksi kuvauksen suunnitelmaa en ehtinyt tarkemmin työstää kirjallisesti, vaan se oli hyvin pelkistetty. Suorituksen suunnitelmaa olin mielessään miettinyt, ja tiesin suunnilleen, että minkälaisen opetusvideon halusin tuottaa. Lopulta kun harjoittelut oli suoritettu, silloin aikaa oli liian vähän kunnollisen kirjallisen suunnitelman laatimiseen. Tarkan suunnitelman puutteen takia, lopulta minulla oli käytössä vanhoja reagensseja ja uusia reagensseja ei ehditty tilaamaan ajoissa, sillä niiden saapumisessa kesti useita viikkoja. Vaikka reagensseista käyttöpäivä oli erääntynyt, ne toimivat ihan hyvin ja oikeita tuloksia saatiin. Ainoana haittana oli se, että testisolot olivat rusehtavan näköisiä, mikä saattaa näkyä videoissakin. Muuten videoissa ei ole ongelmakohdat havaittavissa, vaan ne on pyritty piilottamaan katsojilta mahdollisimman hyvin.

Haasteina olivat myös näkökulman ja "punaisen langan" säilyttäminen raportissa. Useasti menin yli aiheen ja kirjoitin työn kannalta epäoleellisia asioita, vaikka ne liittyisivätkin aiheeseen. Tästä sain huomautusta ja ehdotuksia ohjaajaltani. Opetusvideoiden tuottamisessa kuitenkin tätä ongelmaa ei ollut.

Aiheenrajaus vaiheessa en myöskään käsittänyt kuinka laaja tämä projekti oli. Alun perin opinnäytetyöhön kuului veriryhmän määrittäminen, vasta-aineseulonta ja sopivuuskoe sekä koeputki-, että pylväsagglutinaatiomenetelmillä, eli videoita olisi pitänyt olla yhteensä kuusi kappaletta. Lopulta sopivuuskoe jäi kokonaan pois, koska sopivuuskoe ei tehty koulussa koeputkimenetelmällä, niin se olisi ollut turhaa työtä. Myös sopivuuskoe korttimenetelmällä jäi pois, koska siihen olisi tarvittu veriyksikön sopivuusletku. Ilman letkua tutkimus olisi muistuttanut vasta-aineseulontaa. Vasta-aineseulonta koeputkimenetelmällä oli kyllä tavoitteena tehdä loppuun asti, mutta aika tuli lopulta vastaan. Sen kuvaukset oli suoritettu, mutta editointia ei ehditty enää tehdä. Muissa videoissa oli joitakin ongelmakohtia, joita piti muuttaa, niin se vei loput ajasta.

Kaiken kaikkiaan olen tyytyväinen opetusvideoihin. Tavoitteet ovat suurin piirtein täyttyneet. Tosin videoita ei tullut yhtä paljon, kuin alun perin oli ajatuksena, mutta prosessin edetessä huomasin, että olin ottanut liian suuren palan itselleen. Jos olisin väkisin yrittänyt tehdä kaikkia videot, silloin laatu olisi kärsinyt, joten olen tyytyväinen tekemääni ratkaisuun. Ne videot, jotka ovat saatu tuotokseen ovat tavoitteeni mukaisia. Jälkiviisaana voisin sanoa, että aiheenrajausta olisi pitänyt miettiä tarkemmin. Myös reagenssien saatavuudesta, olisi pitänyt huolehtia tarkemmin.

11.1 Eettisyys ja luotettavuus

Työssä on pyritty noudattamaan hyvää tieteellistä käytäntöä. Viitteet ja lähteet on laitettu tekstien perään ja lopuksi lähdeluetteloon Metropolian laajan kirjallisen työn ohjeen mukaisesti. Opinnäytetyössä on pyritty käyttämään tietolähteinä vain luotettavia kirja- ja nettilähteitä. Myös lähteiden tuoreuteen on kiinnitetty huomiota, mutta vanhempiakin tietolähteitä on käytetty. Vanhempia tietolähteitä on kuitenkin tarkasteltu kriittisesti, tarkistaen niiden paikkansapitävyyttä edelleen. Vanhojen tietolähteiden käyttämisestä voidaan puolustaa myös sillä, että tietoperusta on pysynyt samanlaisena. Tekijäoikeuksia on myös kunnioitettu, valmistamalla kuvat ja taulukot itse, ellei kuvissa ole viitettä.

Työssäni en ole ollut tekemisissä potilastietojen kanssa, enkä ole joutunut varjelemaan kenenkään yksityisyyttä. Näytteet ovat joko omaa näytettä tai niitä on otettu ja käytetty suostumuksella. Näytteet ja tutkimusvälineet on nimetty mielikuvitusnimellä Matti M ja suoritan itse tutkimuksia videoissa. Ajan rajallisuuden vuoksi, opetusvideoita ei päästy testaamaan kohderyhmälle, eli immunoematologian opiskelijoille, mutta opetusvideoita ovat arvioineet ohjaajani Heidi Malava ja Kirsi-Marja Kartastenpää-Wihlman. He huomasivat joitakin pieniä ongelmakohtia ja heillä oli myös joitakin muokausehdotuksia, jonka jälkeen olen korjannut ne kohdat ja muokannut äänitystä heidän ehdotuksien mukaan.

11.2 Työn jatkoehdotuksia

Tätä oppinäytetyötä voi kehittää ja jatkaa tekemällä opetusvideoita vasta-aineseulonnan suorittamiseen koeputkimenetelmällä ja sopivuuskokeen suorittamiseen. Sopivuuskokeen suorittamisessa kannattaa olla se veriyksikön letku, jotta voidaan näyttää mahdollisimman todenmukainen suoritus, vaikka laboraatioissa niitä ei olisi käytössä. Silloin sen vaiheen havainnollistaminen on vieläkin tärkeämpää.

Muita kehitysideoita, joita voisin antaa ovat, että nyt Bio-Rad:n tutkimusohjeet ja koulun tutkimusohjeet eivät täsmää. Erona on esimerkiksi eri pipetointimäärät. Esimerkiksi vasta-aineseulonnessa Bio-Rad:n ohje sanoo pipetoida puolet vähemmän potilaan plasmaa kuin koulun ohje. En tiedä ovatko nyt koulussa käytettävät ohjeet vanhoja Bio-Rad:n ohjeita, vai onko niitä vaan muokattu. Laboraatioissa kuitenkin käytetään Bio-Rad:n materiaaleja, joten uskon, että työt olisi parempi tehdä heidän työohjeilla eli työohjeita kannattaa päivittää. Opetusvideot ovat kuitenkin tehty koulun työohjetta seuraamalla, joten jos työohjeita päivitetään, niin myös opetusvideoiden pipetointimäärät eivät enää täsmää. Periaatteet kuitenkin pysyvät samoina.

Lähteet

Bio-Rad Laboratories 2016. DiaClon ABO/D + Reverse Grouping. Verkkodokumentti. <http://www.bio-rad.com/en-fi/product/diaclon-abo-d-reverse-grouping?pcp_loc=catprod>. Luettu 18.10.2016.

Bio-Rad 2013a. Diaclon ABO/D + Reverse Grouping. ABO/Rh kokoveriryhmämääritykseen isoagglutiniinien kanssa. Pakkausseloste.

Bio-Rad 2013b. LISS/Coombs. Suoraan ja epäsuoraan antiglobuliinikokeeseen. Pakkausseloste.

Brändli, Martin 2006. Some antibodies form complexes that bind to multiple antigen molecules. Kuva. Verkkodokumentin kuva. <<https://fi.wikipedia.org/wiki/Vastaine#/media/File:Mono-und-Polymere.svg>>. Luettu 26.10.2016.

Eskelinen, Seija 2016. Trombosyytit (B-Tromb). Terveyskirjasto. Duodecim. Verkkodokumentti. <http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03035>. Luettu 4.11.2016.

Hakkarainen, Päivi - Kumpulainen, Kari 2011. Liikkuvan kuvan tuottaminen. Liikkuva kuva, muuttuva opetus ja oppiminen.

Huslab 2016. Helsingin ja uudenmaan sairaanhoitopiiri. Sopivuuskoe, verestä. B-Xkoe. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/2935.html>>. Luettu 24.10.2016.

Huslab 2016. Immunoglobuliini A-puutostutkimus, seerumista. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/20450.html>>. Luettu 26.10.2016.

Huslab 2016. Sopivuuskoe, verestä. B-Xkoe. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/2935.html>>. Luettu 31.3.2016.

Huslab 2016. Veriryhmä, ABO ja Rh, punasoluista. E-ABOrh. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/2951.html>>. Luettu 24.3.2016.

ISBT 2016. Immunohaematology. Verkkodokumentti. <<http://www.isbtweb.org/working-parties/immunohaematology/>>. Luettu 25.10.2016.

ISBT 2015. Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology. Verkkodokumentti. <http://www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/Working_parties/WP_on_Red_Cell_Immunogenetics_and/Updates/Table_of_blood_group_antigens_within_systems_v5_151222.pdf>. Luettu 26.10.2016.

Jyväskylän yliopiston kielikeskus. Jyväskylän yliopisto. Verkkodokumentti. <<https://kielikompassi.jyu.fi/opioppimaan/oppimistyylit.htm>>. Luettu 17.3.2016.

Koski, Tomi 2005. Tarvitaanko vielä veren sopivuuskoetta?. Finnanest. 33-35. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <http://www.finnanest.fi/files/a_koski.pdf>.

Kuntaliitto 2006. Hellsten, Soile (toim.). 3 painos. Verensiirto-opas. Kerava: Savion Kirjapaino Oy.

Leppikangas, Heli - Järvelä, Kati 2014. Verenvuodon hoito. Anestesiologian ja teho-
hoito. Duodecim. <[http://www.oppiportti.fi/dtk/oppi/koti?p_selaus=13121&p_artik-
keli=ajt00157](http://www.oppiportti.fi/dtk/oppi/koti?p_selaus=13121&p_artik-
keli=ajt00157)>. Luettu 12.11.2016.

Ljubojevic, Milos – Vascovic, Vojkan – Stankovic, Srecko – Vascovic, Jelena 2014. Us-
ing Supplementary Video in Multimedia Instruction as a Teaching Tool to Increase
Efficiency of Learning and Quality of Experience. 15/3.

Lumme, Riitta - Vuorijärvi, Aino 2014. Opinnäytetyön kriittiset kohdat. Opinnäytetyö toi-
minnallisena tai tuotteellisena kokonaisuutena. Terveysten ja hoitamisen opinnäytetyö.
Metropolia.

Lumme, Riitta – Leinonen, Rauni – Leino, Mia – Falenius, Mia – Sundqvist, Leena
2006. Monimuotoinen/toiminnallinen opinnäytetyö. Virtuaali ammattikorkeakoulu. Verk-
kodokumentti. <[http://www2.amk.fi/digma.fi/www.amk.fi/opintojak-
sot/030906/1113558655385/1154602577913/1154670359399/1154756862024.html](http://www2.amk.fi/digma.fi/www.amk.fi/opintojak-
sot/030906/1113558655385/1154602577913/1154670359399/1154756862024.html)>.
Luettu 2.4.2016.

Metropolia opinto-opas 2013. Metropolia ammattikorkeakoulu. Verkkodokumentti.
<<http://opinto-opas-ops.metropolia.fi/index.php/fi/16183/fi/118/SB13S1/year/2013>>. Lu-
ettu 20.5.2016.

Niittymäki, Irma 2015. Työohjeet immunoematologia. Työohje. Metropolia Ammattikor-
keakoulu. Myös liitteenä (liite 1.).

Pirkola, Anna - Savolainen, Eeva-Riitta 1995. Verensiirtoa edeltävät laboratoriotutki-
mukset ja verivalmisteiden valinta. Verensiirrot. Leikola, Juhani - Myllylä, Gunnar
(toim.). 1 painos. Kustannus Oy Duodecim. Vammala: Vammalan Kirjapaino Oy.

Punainen Risti Veripalvelu 2016. Veriryhmäserologiset potilastutkimukset (VER).
Vasta-ainetunnistuksen antigeenikartta.

Salonen, Jonna 2015. Punasolujen kiihtynyt hajoaminen (hemolyyttinen anemia). Ter-
veyskirjasto. Duodecim. Verkkodokumentti. <[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskir-
jasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00923](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskir-
jasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00923)>. Luettu 26.10.2016.

Savonia 2016. Opintojaksotaulukko. Opetussuunnitelmat. Verkkodokumentti.
<[http://portal.savonia.fi/amk/fi/opiskelijalle/opetussuunnitel-
mat?yks=KS&krtid=792&tab=6&krtid2=79295](http://portal.savonia.fi/amk/fi/opiskelijalle/opetussuunnitel-
mat?yks=KS&krtid=792&tab=6&krtid2=79295)>. Luettu 7.11.2016.

Silander 2003. Verkko-opetuksen työkalupakki. Oppimisaihiosta oppimisprosessiin.
Helsinki: Oy Finn Lectura Ab.

Sistonen, Pertti 1995. Veriryhmät. Verensiirrot. Leikola, Juhani - Gunnar, Myllylä
(toim.). 1. painos. Kustannus Oy Duodecim. Vammala: Vammalan Kirjapaino Oy.

Sotefo. Aktiva. Hyria koulutus Oy. VirtuaaliAMK. Aisteihin perustuvat oppimistyyli-
t. Verkkodokumentti. <[http://webfronter.com/verkkonen/tyopaikkaohjaaja/ff_files/Ohjaa-
minen/Dokumentit/Oppimistyyli](http://webfronter.com/verkkonen/tyopaikkaohjaaja/ff_files/Ohjaa-
minen/Dokumentit/Oppimistyyli)>. Luettu 31.3.2016.

Sulin, Kati 2016. Veripalvelu. Veriryhmät ja vasta-aineet. Raskaudenaikaiset immuni-
saatiot 2016. Verkkodokumentti. <[https://www.veripalvelu.fi/Koulutusmateriaalit/Veri-
ryhm%C3%A4t%20ja%20vasta-aineet_Kati%20Sulin.pdf](https://www.veripalvelu.fi/Koulutusmateriaalit/Veri-
ryhm%C3%A4t%20ja%20vasta-aineet_Kati%20Sulin.pdf)>. Luettu 17.5.2016.

Suominen, Riitta - Nurmela, Satu 2011. Verkko-opettaja. Helsinki: WSOYpro Oy.

Tamk 2016. Bioanalytikkokoulutus. Opetustussuunnitelmat. Opinto-opas. Verkkodokumentti. <<http://opinto-opas-ops.tamk.fi/index.php/fi/167/fi/49590/16BA/year/2016>>. Luettu 7.11.2016.

Veripalvelu 2016. Mahdollisuuksia elämän pelastamiseen. Suomen Punainen Risti. Verkkodokumentti. <<https://www.veripalvelu.fi/veripalvelu>>. Luettu 12.10.2016.

Veripalvelu 2016. Mitä luovutetusta verestä valmistetaan. Suomen Punainen Risti. Verkkodokumentti. <<https://www.veripalvelu.fi/verenluovutus/veren-matka/valmistetaan>>. Luettu 12.10.2016.

Veripalvelu 2016. Sinua tarvitaan. Suomen Punainen Risti. Verkkodokumentti. <<https://www.veripalvelu.fi/verenluovutus/sinua-tarvitaan>>. Luettu 12.10.2016.

Veripalvelu 2015. Tietoa verestä. Suomen Punainen Risti. Verkkodokumentti. <<https://www.veripalvelu.fi/verenluovutus/veren-matka/tietoa-veresta>>. Luettu 15.3.2016.

Veripalvelu 2016. Verta tarvitaan joka päivä. Suomen Punainen Risti. Verkkodokumentti. <<https://www.veripalvelu.fi/verenluovutus/sinua-tarvitaan/kenelle-verta>>. Luettu 22.10.2016.

Verivalmisteiden käytön opas 2016. Punainen risti veripalvelu. Sainio, Susanna - Sareneva, Hannele (toim.). Libris Oy.

Vilka, Hanna - Airaksinen, Tiina 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Tammi.

Liite 1: Immunoematologian laboraatioiden työohjeet

Metropolia ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma /in 2015

TYÖOHJEET IMMUNOHEMATOLOGIA

I PUNASOLUSUSPENSION TEKEMINEN

Näyte: K2 EDTA- tai K3 EDTA-putki.

Jäähdytä näytettä huoneenlämpötilassa 15-20 minuuttia.

Sentrifugoi näyte 10 minuuttia, 800G.

Erota plasma erilliseen koeputkeen.

Siirrä 2-3 tippaa punasoluja toiseen koeputkeen.

Täytä em. putki 0,9 % NaCl:lla n. puolilleen.

Sentrifugoi Immufugella 45 sek HIGH.

Kaada supernatantti pois kääntämällä putki ylösalaisin.

Lisää 0,9 % NaCl n. 1-2 ml, jotta saadaan n. 3 % liuos (vertaa väriä valmiiden testisolujen väriin).

II ABO- ja RHD-määritys koeputkessa

Välineet: työskentelyalusta, koeputkiteline, lasikoeputkia, Pasteurpipettejä

Reagenssit: antiseerumit: anti-A ja Anti-B, anti-D , 0,9% NaCl

Testisolut: A1, B, D-posit. ja D-negat kontrollisolut

Laitteet: Immufuge-sentrifugi

Suoritus:

1. Sentrifugoi näyte, erottele plasma ja tee punasolususpensio edellisen ohjeen mukaisesti.
2. Merkitse 8 koeputkea / määritys tutkittavan henkilön nimellä ja reagenssien nimillä.
3. ABO-määritys: anti-A, anti-B, A1-solut, B-solut.
4. RhD-määritys: anti-D, NaCl-kontrolli, D-positiivinen kontrolli, D-negatiivinen kontrolli.
5. Tiputa 1 tippa anti-A ja anti-B-reagensseja nimettyihin putkiin.
6. Tiputa 1 tippa A1- ja B-soluja nimettyihin putkiin.
7. Lisää antiseerumiputkiin 1 tippa tutkittavaa punasolususpensioita.
8. Lisää A1- ja B-soluputkiin 1 tippa tutkittavaa plasmaa.
9. Tiputa anti-D-putkeen 1 tippa anti-D:tä ja 1 tippa punasolususpensiota, NaCl-kontrolliin 1 tippa NaCl ja 1 tippa tutkittavaa punasolususpensiota, D-positiiviseen kontrolliin 1 tippa anti-D:tä ja 1 tippa D-positiivista kontrollisolua ja D-negatiivisen 1 tippa anti-D:tä ja 1 tippa D-negatiivista kontrollisolua.

10. Sekoita putkia ja sentrifugoi Immufuge 30 sek LOW.
11. Lue tulokset ohjeen mukaan ja luokittele ne negat.- 4+ .
12. Kirjaa tulokset lomakkeelle ja tulkitse niiden merkitys (kaksi eri henkilöä).

III VASTA-AINESEULONTA KOEPUTKIMENTELMÄLLÄ

Seulontasolut: Diacell I ja Diacell II 3%

Antiglobuliinireagenssi: COOMBS

Kontrollisolut: Coombs Control IG

EDTA-plasmaa

1. Merkitse kahteen koeputkeen tutkittavn henkilön nimi ja lisäksi toiseen putkeen I-solut ja toiseen II-solut.
2. Lisää toiseen koeputkeen 1 tippa I-seulontasoluja ja toisen I tippa II-seulontasoluja.
3. Tiputa molempiin putkiin I tippa tutkittavaa plasmaa.
4. Sekoita putkia kevyesti ja siirrä ne +37 C asteen lämpötilaan 20- 45 minuutiksi.
5. Sentrifugoi koeputket 15 sek LOW ja lue tulokset putkia käännellen (ks lukuohje). Merkitse tulos lomakkeelle.
6. Pese koeputket 0,9 % NaCl:lla **neljä kertaa, 45 sek HIGH.**
7. Lisää koeputkiin 1-2 tippaa antiglobuliinia (Coombs) ja sentrifugoi 15 sek LOW.
8. Lue tulokset ohjeen avulla ja merkitse ne taulukkoon.
9. Lisää negatiivisiin koeputkiin 1 tippa Coombs-kontrollisoluja ja sentrifugoi 15 sek LOW.
10. Lue tulokset, joiden tulee olla positiiviset (agglutinaatio).
11. Tulkitse tulos ja merkitse tulkinta taulukkoon.

IV A-B-D-CTL/ A1-B-VERIRYHMÄMÄÄRITYS ID-MENETELMÄLLÄ

Välineet: lasikoeputkia, putkiteline, finnpipettejä

Reagenssit: ABD-reverse geelikortit, testisolut Diacell 0,8 % A1- ja B-solu, Diluent 2

Laitteet: ID-sentrifuugi

Suoritus:

1. Erottele plasma nimettyyn koeputkeen ja valmista punasoluista 5 % suspensio Diluent 2 seuraavasti:
2. Lisää 25 ul punasoluja ja 500 ul Diluent 2 ja sekoita kevyesti.
3. Nimeä ID-kortti tutkittavan henkilön nimellä.
4. Poista alumiinifolio varovasti ja pipetoi 50 ul ID-Diacell A1-soluja ja B-soluja omiin kyvetteihin.
5. Pipetoi 50 ul valmistamaasi punasolususpensiota kyvetteihin 1-
6. Pipetoi 50 ul tutkittavan henkilön plasmaa kyvetteihin 5-6.
7. Inkuboi huoneenlämpötilassa 10 minuuttia.
8. Sentrifugoi ID-sentrifuugilla 10 min.
9. Lue tulokset ja merkitse ne lomakkeelle lukuohjeen mukaan (Liite 3 ja 4).

V VASTA-AINESEULONTA ID-MENETELMÄLLÄ

Välineet: työalusta, lasikoeputkia ,finnpipettejä.

Reagenssit: ID- DIACELL I ja II seulontasolut 0,8 % ,
LISS/COOMBS geelikortit

Laitteet: ID-inkubaattori

Näyte. EDTA-plasmaa.

Suoritus:

1. Nimeä geelikortti tutkittavan henkilön tiedoilla ja nimeä yksi kyvetti I-solu ja toinen kyvetti II-solu.
2. Avaa tarvittavat kyvetit eli poista alumiinifolio.
3. Pipetoi 50 ul I-sola ja 50 ul II-solua kyvettiin.
4. Pipetoi solujen päälle 25 ul henkilön plasmaa.
5. Inkuboi kortit +37C asteessa 15 minuuttia.
6. Sentrifugoi kortit ID-entrifugilla 10 minuuttia.
7. Lue reaktiot ja kirjaa ne ohjeen mukaan lomakkeelle.
8. Tulkitse tulos ja merkitse se lomakkeelle.