



MITÄ HOHTAVAT SOLUT KERTO VAT MEILLE?

Perehdytysohje Beckman Coulter
NaviosTM -virtaussytometrille

Terhi Ahde
Minna Kuusisto

Opinnäytetyö
Lokakuu 2012
Bioanalytiikan koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma / K09MBIOAN

AHDE TERHI & KUUSISTO MINNA:

Mitä hohtavat solut kertovat meille?

Perehdytysohje Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrille

Opinnäytetyö 126 sivua, josta liitteitä 52 sivua
Lokakuu 2012

Immunofenotyyppitystä käytetään leukemia-, jäännöstauti-, kantasolu- sekä immuunipuutostilatutkimuksissa. Solujen immunofenotyyppitys tapahtuu virtaussytometrin avulla. Immunofenotyyppitys luokitusmenetelmänä on korvannut aiemmin käytetyt sytokemialliset värjäykset ja niiden mikroskopoinnin. Fimlab Laboratoriot Oy:n hematologian laboratoriossa on käytössä tällä hetkellä kaksi Beckman Coulter Navios™ -laitetta. Analysaattorit hankittiin laboratorioon vuonna 2010 syyskuussa ja vuoden 2011 aikana siirryttiin käyttämään Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrejä. Perehdytysohjeen tarve syntyi virtaussytometri-analysaattorien vaihdosta.

Opinnäytetyön menetelmänä käytettiin toiminnallista opinnäytetyötä, joka koostuu raportista sekä tuotoksena valmistuneesta Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin perehdytysohjeesta. Perehdytysohjetta on tarkoitus käyttää Fimlab Laboratoriot Oy:n perehdytysprosessin sekä Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoiden harjoittelujakson tukena. Perehdytysohje nopeuttaa analysaattoriin tutustumista ja sen avulla on mahdollista oppia käyttämään virtaussytometriä nopeammin, luotettavammin ja laadukkaammin.

Raporttiosassa käsitellään aluksi perehdytystä ja työssä oppimista, jota muun muassa hyvä perehdytysmateriaali tukee. Opinnäytetyön keskeinen luku käsittelee virtaussytometriä ja immunofenotyyppitystä menetelmänä sekä Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin rakennetta ja ennen määrittystä tehtävää näytteiden esikäsittelyä, analysointia ja tulosten tarkastelua. Viimeisessä luvussa on esitetty opinnäytetyön tekijöiden kiinnostukseen perustuen virtaussytometrillä diagnosoitavia hematologisia sairauksia, immuunipuutostiloja sekä kantasolusiirtoja hoitomuotona. Opinnäytetyön tuotoksena valmistunut perehdytysohje esitellään omassa luvussaan. Tuotos sisältää teorialuviista vain osan ja sen ulkoasun toteutuksessa on painotettu visuaalisuutta. Perehdytysohje toimitettiin toimeksiantajalle paperiversiona ja päivitettävässä CD-muodossa.

Opinnäytetyön jatkotutkimusaihe voisi olla tämän perehdytysohjeen toimivuuden testaus käytännössä. Sen voisi toteuttaa kokeellisesti kyselytutkimuksena. Jatkotutkimusaiheessa voisi perehtyä enemmän Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrillä näytteiden esikäsittelyyn ja analysointiin eri vasta-ainepaneeleissa ja tuotoksena voisi olla videomateriaali tai diakuvasarja sekä oppimista testaavia tehtäviä.

Asiasanat: virtaussytometri, immunofenotyyppitys, Beckman Coulter Navios™, perehdytysohje, hematologiset sairaudet ja tilat

ABSTRACT

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

AHDE TERHI & KUUSISTO MINNA:

What do shiny Cells tell us?

Instruction Guide for using Beckman Coulter Navios™ Flow Cytometer

Bachelor's thesis 126 pages, appendices 52 pages
October 2012

Immunophenotyping is used when analysing leukemia, minimal residual disease, stem cells and immunodeficiency. Immunophenotyping of cells is performed by using flow cytometer. Immunophenotyping has replaced earlier diagnosis methods, such as cytochemical staining and their microscopy classification.

The objective of this study was to prepare an instruction guide for flow cytometer made by Beckman Coulter Navios™. The material should provide the users with adequate level of understanding of the principle of the analyzing methods. The material will also be very useful when using the analyzer. This study consists of two parts: theoretical section and instruction guide as the product of the study. Functional method was applied when producing the instruction guide. The guide was made for Fimlab Laboratories Ltd and it will be used as a part of orientating process of new employees and students during their clinical practice.

In the theoretical section there is a review on orientating process in general. It presents the main things which have to be recognized when orientating new employees and students as well as the most important in producing an appealing instruction guide. The main part of this study discusses at the advanced level the immunophenotyping and the flow cytometry and provides device-specific information of Beckman Coulter Navios™ flow cytometer. This section also describes how the samples were processed and how the results were interpreted. The focus of the last section, the haematological diseases and conditions, reflects this study's authors' special dedication.

Key words: flow cytometry, immunophenotyping, Beckman Coulter Navios™, introduction material, haematological diseases and conditions

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	5
2 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TEHTÄVÄ JA TAVOITE	7
3 OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄ.....	8
4 PEREHDYTYKSEN JA OPPIMINEN TYÖSSÄ	10
4.1 Perehdytys ja perehdyttämisen lainsäädäntö.....	10
4.2 Oppiminen työssä ja työhön perehtyminen.....	11
4.3 Perehdytysmateriaali	14
4.3.1 Perehdytysmateriaalin kirjoitusasu	14
4.3.2 Perehdytysmateriaalin ulkoiset ominaisuudet.....	15
4.4 Teorian soveltaminen perehdytysohjeeseen.....	18
5 IMMUNOFENOTYYPITYS JA VIRTASSYTOMETRIA MENETELMÄNÄ	20
5.1 Immunofenotyyppitys	20
5.1.1 Monoklonaaliset vasta-aineet ja antigeenit	21
5.1.2 Cluster of Differentiation- eli CD-luokitus.....	23
5.2 Virtassytometria	23
5.2.1 Valonsirona ja partikkelien erottelu.....	24
5.2.2 Fluoresenssin osoitus	25
5.2.3 Värikompensaatio	28
6 BECKMAN COULTER NAVIOS TM	30
6.1 Beckman Coulter Navios TM -virtassytometri	31
6.1.1 Virtassytometrin merkki- ja valot.....	31
6.1.2 Näytteenkiertojärjestelmä	32
6.1.3 Laservalo, optiikka ja detektorit.....	33
6.2 Tietoyksikkö.....	37
6.2.1 Signaalien käsittely	38
6.2.2 Protokollat ja parametrit.....	40
6.3 Paineyksikkö, käyttöliuokset ja huollot	41
7 NÄYTTEIDEN ANALYSOINTI JA TULOSTEN KÄSITTELY	43
7.1 Näytteiden esikäsittely ja määrittäminen	43
7.2 Tulosten analysointi	45
7.3 Laadunvarmistus virtassytometriassa	48
7.4 Työturvallisuus ja ergonomia.....	50
8 HEMATOLOGISTEN TILOJEN DIAGNOSTIIKKA	51
8.1 Hematologiset sairaudet	51
8.2 Jäännöstautidiagnostiikka	57
8.3 Kantasolusiirrot hoitomuotona.....	58
8.4 Immuniipuutostilat	59
9 OPINNÄYTETYÖN ETENEMINEN	61
10 PEREHDYTYSOHJEEN ESITTELY JA KÄYTTÖ	63
11 POHDINTA	65
LÄHTEET	70
LIITTEET	75
Liite 1. Sanasto.....	75
Liite 2. Esimerkki vasta-ainepaneelist.....	77
Liite 3. Perehdytysohje Beckman Coulter Navios TM -virtassytometrille.....	78

1 JOHDANTO

Virtaussytometria on fluoresoivien solujen mittaamiseen perustuva laboratoriotutkimusmenetelmä. Vertauskuvallisesti virtaussytometriassa fluoresoivat solut voidaan myös ajatella hohtavina soluina, johon opinnäytetyön otsikko viittaa. Tämä solujen hohtaminen saadaan aikaan lasersäteen avulla, kun solun pintaan on kiinnittynyt lasersäteestä aktivoituvia partikkeleita. Partikkelit antavat soluista informaatiota, jota lääkäri hyödyntää potilaan tilaa selvittäessään. Immunofenotyypitys on menetelmä, jossa selvitetään soluissa olevien partikkeleiden tyyppiä ja määrasuhteita.

Tutkijat kehittivät vuonna 1975 tekniikan, jolla voidaan tuottaa monoklonaalisia vasta-aineita. Tämä keksintö palkittiin vuonna 1984 Nobelin lääketieteen palkinnolla. Ensimmäiset virtaussytometrit tulivat käyttöön 1980-luvun alussa ja silloin aloitettiin myös kaupallinen monoklonaalisten vasta-aineiden tuotanto. Suomessa yliopistot hankkivat ensimmäiset laitteet tutkimuskäyttöä varten ja valmistivat myös itse vasta-aineita. Tampereen yliopistollisen sairaalan laboratorio hankki ensimmäisenä yliopistosairaalalaboratoriona Suomessa virtaussytometrin syksyllä 1984. Suuri osa akateemista laboratoriohenkilöstöä hämmästeli analysaattorin korkeaa hintaa, sillä laitteen käyttötarkoituksesta ei ollut vielä selvää näyttöä. Varsinainen työskentely aloitettiin vuonna 1985 retikulosyyttimäärityksillä ja syöpäkasvainten DNA-määrityksillä. Samaan aikaan opeteltiin immunofenotyypitystä, jonka kansainvälisenkin tason käyttö oli silloin vielä alkutaipaleella. Immunofenotyypityksen rinnalla tehtiin jonkin aikaa sytokemiallisia värjäyksiä, mutta niiden käyttö on nykyään hyvin vähäistä.

Korkeiden laatuvaatimusten vuoksi laboratoriotyöskentely on tarkkaan säädeltyä. Tästä syystä työntekijöiden työskentelyn tulee olla mahdollisimman samanlaista ja toistettavaa. Yhtenäisen työskentelytavan muodostumista helpotetaan ohjeiden ja hyvän perehdytyksen avulla. Tämä varmistaa luotettavien laboratoriotulosten antamisen hoitoyksiköön ja potilaille. Perehdytysohje on yhtenäisen työskentelyn tärkeä apuväline niin työtä opeteltaessa kuin myöhemmin asioita kerrattaessa tai ongelmatilanteita selvitettäessä. Tästä syntyi muun muassa meidän opinnäytetyölle aihe.

Opinnäytetyömme aiheena on laatia Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin perehdytysohje. Se on tarkoitettu Pirkanmaan sairaanhoitopiirin omistaman Fimlab Laboratoriot Oy:n hematologian laboratorion työntekijöiden ja harjoittelussa olevien opiskelijoiden käyttöön. Aiheen saimme syyskuussa 2011 Fimlab Laboratoriot Oy:ltä ja päädyimme aiheeseen, koska se kiinnosti meitä. Opiskelujen aikana hematologia on osoittautunut molemmille mielenkiintoiseksi alueeksi. Virtaussytometriä on opetuksen yhteydessä käsitelty lyhyesti, minkä vuoksi kiinnostuimme aiheesta. Halusimme laajentaa hematologian osaamisemme myös virtaussytometriän alueelle.

Opinnäytetyön alussa käsitellään perehdyttämistä ja työssä oppimista sekä hyvän perehdytysmateriaalin ominaisuuksia. Haluamme korostaa visuaalisuutta ja esteettisyyttä perehdytysohjeen laadinnassa. Sen ulkoasun suunnitteleminen kiinnostaa, sillä meitä houkuttelee käyttää luovuuttamme sen toteuttamisessa.

Opinnäytetyön tarkoituksena on laatia perehdytysohje tukemaan Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin käytön oppimista ja sen periaatteiden ymmärtämistä. Tämän aihealueen ymmärtämiseksi kokoamme liitteeksi sanaston, jota voi käyttää lukemisen tukena. Aloitamme aiheen käsittelyn immunofenotyyppityksestä ja virtaussytometriasta menetelmänä sekä käsittelemme myös Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin rakennetta. Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin rakenteen kerromme laitteessa olevien osien kuvauksen avulla. Käsittelemme opinnäytetyössämme myös yleisen periaatteen tasolla näytteiden käsittelyä ja analysointia sekä tulosten tarkastelua. Tätä rajausta perustelemme sillä, että emme ole tekemässä työohjetta laboratorioon. Tavoitteenamme on myös selvittää virtaussytometrialla diagnosoitavia hematologisia sairauksia ja muita tiloja. Rajaamme tämän luvun niin, että kerromme vain Fimlab Laboratoriot Oy:llä tehtävistä hematologisista tutkimuksista.

2 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TEHTÄVÄ JA TAVOITE

Fimlab Laboratoriot Oy on vaihtanut FACS CANTO™ II -virtaussytometrit Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometreihin, joita on hematologian laboratoriossa käytössä tällä hetkellä kaksi kappaletta. Virtaussytometrit on hankittu laboratorioon vuonna 2010 syyskuussa ja vuoden 2011 aikana laitetta käytettiin aikaisempien laitteiden rinnalla. Vuoden 2011 lopussa siirryttiin käyttämään vain Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrejä. Laitteilla analysoidaan päivässä noin kymmenen lymfosyyttidiffinäytettä ja niiden lisäksi myös muita hematologisia tutkimuksia, kuten leukemia-, jäännöstauti- sekä kantasolututkimuksia.

Opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa perehdytysohje Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrille. Opinnäytetyön tekijät pääsevät laatimaan perehdytysohjeen selvittämällä opinnäytetyössä seuraavat tehtävät:

1. Millainen on hyvä perehdytysohje?
2. Mikä on Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometri ja miten se toimii?
3. Mitä hematologisia sairauksia ja tiloja diagnosoidaan virtaussytometrialla?

Työn tavoitteena on auttaa laitteeseen perehtyviä Fimlab Laboratoriot Oy:n työntekijöitä ja opiskelijoita Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin käytössä sekä menetelmän ymmärtämisessä. Sen avulla pyritään saamaan yhtenäisemmät työtavat perehtyvien ja kokeneiden työntekijöiden välille. Perehdytysohjeen avulla perehtyvät työntekijät ja opiskelijat oppivat käyttämään laitetta nopeammin, luotettavammin ja laadukkaammin. Tästä hyötyvät hoitoyksikkö ja potilaat, kun he saavat vastaukset nopeammin ja ne ovat entistä luotettavampia.

Opinnäytetyön tekijöiden tavoitteena on tutustua virtaussytometriaan ja sen hematologisiin tutkimusindikaatioihin. Lisäksi tavoitteena on perehtyä Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometriin ja ymmärtää sen toimintaperiaatteet. Opinnäytetyöprosessin aikana opinnäytetyön tekijöiden tavoitteena on kehittyä ammatillisesti ja kehittää aiheeseen liittyvää englanninkielen osaamista.

3 OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄ

Toiminnallinen opinnäytetyö

Monissa tutkinnoissa opinnäytetyö on itsenäinen ja laaja työelämälähtöistä sekä käytännön ongelmaa ratkova opintokokonaisuus. Monesti siitä muodostuu prosessi, joka voi suunnata ammatillista kasvua, urasuunnittelua ja työllistymistä. (Airaksinen & Vilkka 2004, 17; Falenius, Leino, Leinonen, Lumme & Sundqvist 2006.) Toiminnallinen opinnäytetyö koostuu toiminnallisuudesta, teoreettisuudesta, tutkimuksellisuudesta ja raportoinnista (Sosiologi-Filosofiapu Vilkka 2011). Sen tehtävänä on ammatillisessa ympäristössä ohjeistaa, opastaa, järjeistää ja järjestää käytännön toimintaa (Airaksinen & Vilkka 2004, 9; Falenius ym. 2006).

Ammattikorkeakoulutasoisen koulutuksen tavoitteena on valmistaa opiskelija toimimaan alansa asiantuntijatehtävissä sekä antaa valmiudet ammattinsa kehittämiseen ja tutkimustoimintaan. Sen vuoksi opinnäytetyön tulisi olla riittävällä tasolla alan tietojen ja taitojen hallintaa osoittava kokonaisuus, joka on toteutettu tutkimuksellisella asenteella. Työelämälähtöinen ja käytäntöön kytkeytyvä opinnäytetyö tukee tekijänsä ammatillista kasvua. Kun opinnäytetyön toimeksianto on tullut yhteyshenkilön kautta, sen etuna voidaan pitää tekijän mahdollisuutta verrata tietotaitojaan uusimpaan käytäntöön työelämässä. (Airaksinen & Vilkka 2004, 10, 17; Falenius ym. 2006.)

Toiminnallinen opinnäytetyö koostuu kahdesta osasta eli raportista ja tuotoksesta. Raportissa selvitetään miten ja miksi teksti on tuotettu sekä mitä opinnäytetyöntekijät ovat tehneet. Siinä kuvataan myös työn edistyminen, tulokset, johtopäätökset ja arviointi. Opinnäytetyön raporttiosuutta lukeva voi siten olla selvillä koko prosessista ja opinnäytetyön onnistumisesta. Opinnäytetyö kertoo tekijöiden ammatillisesta osaamisesta lukijalle sekä sitä voidaan pitää ammatillisen ja persoonallisen kasvun välineenä. (Airaksinen & Vilkka 2004, 65; Falenius ym. 2006.)

Tuotos eli produkti syntyy toiminnallisen opinnäytetyön raportin perusteella. Se on usein kirjallinen ja kirjoitustyyli poikkeaa raportin kirjoitustyylistä, sillä produktin teksti on suunnattu tarkoin määritellylle kohde- ja käyttäjäryhmälle. (Airaksinen & Vilkka

2004, 65.) Tämä näkyy täsmällisempien ja tarkkojen käsitteiden eli termien käyttämisessä, mikä merkitsee tutkimuksellisen näkökulman yhdistämistä työhön. Termit tulee määritellä työssä tarkasti, sillä ne kuuluvat tiettyyn erikoisalan sanastoon sekä ne ovat käyttöalallaan yleisesti tunnettuja ja käytettyjä. Produkti voidaan toteuttaa kohderyhmän mukaan käyttöön soveltuvimmalla tavalla, kuten kirjana, kansiona, CD-levynä, portfoliona, kotisivuna tai tapahtumana. Oleellista on yhdistää tutkimusviestinnän avulla käytännön toteutus ja sen raportointi. Produkti voi olla ohje, ohjeistus tai opastus. (Airaksinen & Vilkkä 2004, 9, 104; Falenius ym. 2006.)

Kun opinnäytetyö ja sen tuotos on kokonaan valmis, voidaan kohderyhmältä pyytää palautetta tuotoksen kokonaisarviointiin. Käytännössä tämä tapahtuu testauksen avulla, jossa käyttäjäryhmä voi pohtia tuotoksen käytettävyyttä, sen onnistumista, asian ymmärrettävyyttä sekä sitä, onko tuote ammatillisesti merkittävä. (Airaksinen & Vilkkä 2004, 40.)

Menetelmän valinta opinnäytetyöhön

Opinnäytetyömme on työelämälähtöinen ja yhteistyökumppanimme toimii Fimlab Laboratoriot Oy. Menetelmänä käytetään toiminnallista opinnäytetyötä, koska aiheena on perehdytysoppaan tuottaminen. Opinnäytetyömme koostuu kahdesta osasta, joita ovat raportti ja produkti. Meidän työelämälähtöisen produktimme tarkoituksena on opastaa sekä lisätä sujuvuutta käytännön toimintaan.

Opinnäytetyön kautta tulemme perehtymään tarkemmin tiettyyn hematologian osaamisalueeseen, joka on tässä tapauksessa immunofenotyyppityksen käyttö virtaussytometriassa. Työssä tulee näkymään opinnäytetyöntekijöiden ymmärtämis- ja osaamistaso sekä ammatillinen kasvu ja luovuus. Työ kirjoitetaan työelämälähtöisestä näkökulmasta. Raportissa aiomme selvittää mitä teemme, mitä se sisältää ja miten siihen on päädytty. Sen pohjalta teemme produktin eli perehdytysoppaan. Produktin tekstuaalinen osuus ei tule olemaan täysin samanlainen kuin raportissa, koska se on suunnattu erilaiseen käyttöön kuin raportti. Tuotos on tarkoitus testata bioanalyttikko-opiskelijoilla, jotka ovat valinneet virtaussytometrian vaihtoehtoisiin ammattiopintoihin. Tällä tavalla voimme saada palautetta tuotteen käytettävyydestä käytännössä.

4 PEREHDYTYKS JA OPPIMINEN TYÖSSÄ

Perehdytysohjeet mahdollistavat laadukkaan laboratoriotuloksen saannin, kun henkilökunta on perehdytetty osaavaksi. Oikeellisiin ja toistettaviin potilastuloksiin päästään suorittamalla tutkimukset yhtenevien ohjeiden mukaan. Siksi laboratorioon laaditaan perehdytys- ja työohjeita, joita on myös päivitettävä tarpeen mukaan. Jotta työtavat ja analyysit ovat tekijästä riippumatta samanlaisia, tulee toimia näiden ohjeiden mukaisesti. Kun perehdytys on tehty, siitä laaditaan dokumentoitava perehdytyskaavake. (Liimatainen 2010, 57–58.)

4.1 Perehdytys ja perehdyttämisen lainsäädäntö

Perehdyttämällä tarkoitetaan kaikkia tapahtumia, joilla helpotetaan perehdytettävän työn aloitusta. Tässä prosessissa perehdytettävä ohjataan uusiin työtehtäviin, hänelle kerrotaan työyhteisön toimintatavat ja esitellään työyhteisön työntekijät sekä vastaavasti hänet esitellään työntekijöille. (Frisk 2005, 41.) Perehdytyksessä työntekijä opastetaan organisaation toimintatapoihin ja kulttuuriin. Perehdytettävä on aluksi ulkopuolinen organisaatiossa ja työtehtävässään. Perehdyttämisen avulla perehdytettävän mielikuvat johdatetaan käytännön toimintaan työssä. Se yleensä aloitetaan kapea-alaisesti ja perehdyttämisen edetessä osaamisaluetta laajennetaan. Tätä voidaan kuvata käsitteillä yleisperehdytys ja syventävä perehdytys. (Kjelin & Kuusisto 2003, 13–15, 36; Frisk 2005, 42.)

Perehdyttäminen on tärkeä kaksisuuntainen tapahtuma yksilön ja työyhteisön välillä, johon tarvitaan molemmat osapuolet aktiivisesti mukaan. Kokenut työntekijä antaa perehdytystä jokaiseen työtehtävään perehtyjälle (Liimatainen 2010, 57.) Hyvä työyhteisön henki on tärkeä asia työpaikalla, jotta perehdytettävä tuntee itsensä hyväksytyksi ja autetuksi. Perehdyttämisen merkitys näkyy parhaiten tehtävissä sekä tilanteissa, joissa se on välttämätöntä ja työntekijöiden vaihtuvuus on suuri. Perehdytyksen avulla voidaan turvata toiminnan jatkuvuus ja tasaisen laadun tuottaminen. Perehdyttämisen prosessi on kannattavaa, koska silloin työhön perehtyjä voidaan saada sitoutumaan pidemmäksi aikaa organisaatioon. Tästä johtuen ohjaus ei voi jäädä pelkästään perehdytyksen va-

raan, vaan sen täytyy olla jatkuvaa. (Kjelin & Kuusisto 2003, 14–15, 173; Frisk 2005, 41–43; Kupias & Peltola 2009, 20.)

Ammattikorkeakouluopiskelijoiden perehdytyksen tavoitteena on ohjata opiskelija työpaikan keskeisiin tehtäviin opetussuunnitelmansa mukaan. Opiskelijan on tärkeää oppia soveltamaan aiemmin opittuja tietoja ja taitoja työelämän käytäntöihin. (Tampereen ammattikorkeakoulu hallitus 2011, 3.)

Perehdyttämistä ja työn tekemistä säädellään erilaisin lain ja asetuksin. Lakeja, jotka käsittelevät perehdyttämistä ovat työsopimuslaki, työturvallisuuslaki ja laki yhteistoiminnasta yrityksissä. Esimerkiksi työsopimuslaissa työnantaja on velvollinen huolehtimaan työntekijän osaamisesta silloinkin, kun yritys muuttaa tai kehittää toimintaa ja tehtäviä. Työturvallisuuslain mukaan työnantajan on annettava riittävää perehdytystä huomioiden työntekijän osaaminen ja kokemus. Sen mukaan työnantajan on myös kerrottava haitta- ja vaaratekijöistä sekä annettava tarvittaessa lisäperehdytystä. Laki yhteistoiminnasta yrityksissä määrittelee tarkasti periaatteet ja käytännöt, joita noudatetaan työhönotossa. Siinä perehtyjälle annetaan esimerkiksi tarpeelliset tiedot työpaikasta ja yrityksestä. (Työsopimuslaki 2001; Työturvallisuuslaki 2002; Laki yhteistoiminnasta yrityksissä 2007; Kupias & Peltola 2009, 20, 27.)

Työlainsäädäntö on perehtyjän ja työntekijän oikeus ja siihen perustuvat sopimukset suojaavat ja turvaavat heidän oikeuksia työpaikalla. Kilpailukyky, työhyvinvointi ja menestyminen taataan luotettavalla ja lainmukaisella toiminnalla. Laittomasta toiminnasta saattaa aiheutua ongelmia, eikä työntekijä onnistu työssään ja pyrkimyksissään menestyvän yrityksen aikaansaamiseksi. Lainsäädäntöä valvovat johto ja henkilöstöammattilaiset. Sitä valvotaan myös muilta tahoilta, muun muassa työsuojeluviranomaiset valvovat työlainsäädäntöä ja luottamusmiehet sekä työsuojeluvaltuutetut huolehtivat työntekijän oikeuksista lähempänä työntekijää. (Kupias & Peltola 2009, 20, 27.)

4.2 Oppiminen työssä ja työhön perehtyjä

Työssä oppimisella tarkoitetaan työpaikalla annettavaa tietoa uudelle työntekijälle tai opiskelijalle, jonka kokeneemmat työntekijät näkemystensä, kokemuksiansa ja havain-

tojensa pohjalta katsovat tarpeellisiksi (Tikkamäki 2006, 32). Kokemuksellisuus, yhteisöllisyys ja sosiaalinen työympäristö ovat keskeisiä piirteitä työssä oppimiselle (Frisk 2005, 8–9).

Työssä oppiminen tapahtuu monesti huomaamattomasti työelämän ongelmia ratkottaessa ilman tavanomaista luento-opetusta. Opiskelijoiden kohdalla noudatetaan opetussuunnitelmaa ja sen pohjalta opetellaan niitä työtehtäviä, joita työpaikka tarjoaa. (Frisk 2005, 8, 28–29.) Työssä oppiminen on perehtyvän työntekijän tai opiskelijan aktiivista työskentelyä. Oppijan tulee asettaa tavoitteet oppimiselle ja hänellä tulee olla mahdollisuus saada palautetta kehittymisestään, jotta oppiminen ja työhön perehtyminen ovat laadukasta. Asiantuntijaksi ei voi kouluttautua, vaan siihen vaaditaan pidempiaikaista kokemusta ja syventymistä työhön. Perehdyttäminen ja työssä oppiminen ovat kuitenkin hyvä alku asiantuntijaksi kasvamiselle. (Kjelin & Kuusisto 2003, 220.)

Perehdytettävä on yritykseen tullut uusi työntekijä tai työntekijä, joka on vaihtanut uuteen työtehtävään. Henkilöt voivat olla ovat nuoria, kokeneita tai organisaatioon palaneita entisiä työntekijöitä. Tällaiset henkilöt voivat olla sisäisen siirron tekeviä työntekijöitä, pitkään poissaolleita työntekijöitä, kesätyöntekijöitä ja yhteistyökumppaneita. Nämä työntekijät tutustuvat uudenlaisiin toimintatapoihin ja ympäristöön. (Kjelin & Kuusisto 2003, 166; Kupias & Peltola 2009, 65.)

Perehtyjänä voi olla myös opiskelija. Bioanalytiikan koulutusohjelman mukaan opiskelijoilla on koulutuksessa perus- ja ammattipintojen lisäksi erilaisia harjoittelujaksoja. Harjoittelujaksoja ovat ammattitaitoa edistävät harjoittelut sekä vaihtoehtoiset ammatitopinnot. Harjoittelu tapahtuu opetuslaboratorioissa ja kliinisissä laboratorioissa, joiden kanssa ammattikorkeakoulu on solminut sopimukset. Näiltä laboratorioilta vaaditaan harjoittelulle korkeakoulutasoista ohjausta. (Bioanalytiikan koulutusohjelma 2010, 1–2.)

Hyvässä perehdytysprosessissa perehdytettävää ohjataan sopivan tahdin mukaisesti. Huomiota kiinnitetään myös perehtyjän työroolin muodostumiseen. Perehdytettävän ammattitaitoa, rooli ja kokemus vaikuttavat perehdyttämisen laajuuteen. Kokemattomalla työntekijällä on pienemmät valmiudet sisäistää uusi työympäristö kuin kokeneella työntekijällä. Lisäksi heillä on tiedontarve suurempi. Tämä vaatii pidempää perehdyttämistä ja perehdyttäjältä pitkäjänteisyyttä. (Kjelin & Kuusisto 2003, 163.) Pereh-

dytettävän on kuitenkin etukäteen hallittava teoreettiset perustiedot opittavista asioista, joita perehdytyksessä syvennetään ja pohditaan. Tämä helpottaa sisäistämään uuden työtehtävän. (Jokinen, Lähteenmäki & Nokelainen 2009, 270.)

Perehdyttämisessä hyvä ensivaikutelma on tärkeää. Heti työsuhteen alusta lähtien perehtyjä havaitsee hyviä ja huonoja puolia merkittävistä, mutta myös pienimmistä asioista. Nämä vaikuttavat perehtyjän käsitykseen uudesta työympäristöstä. Sekä perehtyjän että muiden työntekijöiden välinpitämätön tai epämiellyttävä kohtelu muistetaan parhaiten. Jotta perehtyjä tuntee itsensä tervetulleeksi, hänen tuloonsa tulee valmistautua ja ohjauksen tulee alkaa heti. Keskeistä on perehdytettävän huomioiminen ja tämän asemaan asettuminen. (Kjelin & Kuusisto 2003, 161–162; Kupias & Peltola 2009, 64.)

Työhön perehtyjä tekee paljon havaintoja ja ottaa helposti mallia käytännön toiminnasta. Mikäli puheet ja käytäntö poikkeavat toisistaan, työhön perehtyjä on epävarma toiminnastaan. Silloin perehtyjä ottaa helposti mallia toimintaansa käytännöstä. Kokeemukset ja havainnointi mahdollistavat oppimisen, sillä oppijan on ymmärrettävä mitä opetuksessa halutaan tuoda esille. Koska perehdytettävällä ei usein ole suuria odotuksia, ne on yleensä helppo täyttää. Hänelle riittää, että tietää roolinsa, tuntee organisaation, työvälineet ja tutustuu työyhteisöön. (Kjelin & Kuusisto 2003, 105, 113, 162.)

Jotta työntekijä voi oppia, harjaantua ja tutustua uuteen työtehtävään, on hänen omalla aktiivisuudellaan suuri merkitys (Frisk 2005, 45). Perehdytettävällä on usein jo tullessaan energia ja motivaatio korkeimmillaan. Silloin motivointi ei muodostu ongelmaksi ja perehdyttämistilanne on perehdytettävän kannalta parhaassa mahdollisessa ajankohdassa. Oppiminen edellyttää uskallusta toimia uusissa tilanteissa. Myös järki ja tunne vaikuttavat yhdessä asioiden sisäistämiseen. Uudella työntekijällä ongelmana voi olla kuitenkin suorituspainetta uuden roolin opettelussa ennen kuin on oppinut sen täysin. Nämä edeltävät asiat yhdessä vaikuttavat perehdytettävän oppimiseen. (Kjelin & Kuusisto 2003, 113, 172.)

4.3 Perehdytysmateriaali

Toiminnallisen oppinäytetyön tavoitteena on, että sen tuotos erottuisi edukseen muista samankaltaisista tuotteista. Sen kriteereiksi voidaan määritellä tuotoksen houkuttelevuus, käytettävyys kohderyhmässä ja uusi muoto. Näiden piirteiden perusteella oppinäytetyön tekijöiden haasteena on saada siitä yksilöllinen ja persoonallinen. (Airaksinen & Vilka 2004, 53.)

Suunnitteluvaiheessa pitää pohtia perehdytysmateriaalin päivitysmahdollisuus ja sen päivittäjä. Yksi keino on tallentaa materiaali CD-levylle tai intranettiin. CD-levyllä perehdytysmateriaali on tietysti työyksikössä ja intranetissä se on koko työyhteisön käytettävissä. (Kjelin & Kuusisto 2003, 206.) Päivitetty materiaali voidaan tulostaa helpoluiseksi perehdytyskansioksi. (Työturvallisuuskeskus 2004, 27.)

Perehdytyksen apuna voidaan käyttää erilaisia materiaaleja, kuten perehtyjän oppaita, henkilöstön käsikirjoja, vuosikertomuksia, esitteitä, videoita, henkilöstölehtiä, intranetiä ja työtehtäväkohtaisia materiaaleja (Frisk 2005, 43). Nämä materiaalit ovat hyviä oppimisen apuvälineitä, sillä niistä voi kerrata tarvittaessa sopivana ajankohtana ja voi edetä omaan tahtiin (Työturvallisuuskeskus 2004, 47). Perehdytysmateriaalin loppuun voi liittää kertaavia ja opitun pohdintaa herätteleviä kysymyksiä, joista perehtyjä ja perehdyttäjä voivat keskustella perehdytyksen ohella (Kupias & Peltola 2009, 162–163).

4.3.1 Perehdytysmateriaalin kirjoitusasu

Perehdytyksen osana voidaan käyttää orientoivaa lukumateriaalia. Sitä voidaan käyttää ennen perehdytystä, sen aikana tai sen jälkeen. Lukumateriaalin tarkoituksena on antaa perehtyjälle tietoa keskeisistä asioista ja saada miettimään omaa osaamistaan. Parhaimmillaan perehtyjä kiinnostuu asiasta enemmän ja tutustuu aiheeseen syvällisemmin. Hyvässä perehdytysohjeessa tietomateriaali kannattaa pitää mahdollisimman vähäisenä, jotta sitä olisi helppo käyttää. Sen pohjalta ohjeessa käsitellyt asiat voi olla helpompi yhdistää omaan työtehtävään. (Kjelin & Kuusisto 2003, 206; Kupias & Peltola 2009, 161–162.)

Hyvän perehdytysohjeen ominaisuuksia ovat sujuvasti etenevä ja selvä teksti, joka on havainnollinen, tiivis ja kirjoitettu kieliopillisesti oikein. Selvällä tekstillä tarkoitetaan yksinkertaisuutta, luettavuutta ja tarkkoja sanavalintoja. Tekstiä voidaan havainnollistaa esimerkeillä, rinnastuksilla, vastakohdilla, kuvilla sekä taulukoilla. Kuvat ja taulukot lisäävät luettavuutta ja ymmärrettävyyttä selittämällä tekstiä. Lukijan uteliaisuus saadaan heräämään sanavalinnoilla ja kysymyksillä. Jotta ohje olisi tiivis, on maltettava karsia ylimääräinen tietoaines ja turhat sanat pois. Kieliasun virheettömyys ja objektiivisuus viestii lukijalle kirjoittajan oikeakielisyyden tuntemista sekä asian luotettavuutta. Tieteellisellä tavalla kirjoitettu teksti tarkastelee ilmiötä eri puolilta esitellen, analysoiden ja perustellen. Jokaisella ammattialalla on lisäksi omaa erikoissanastoa, joka kertoo kyseisen alan käytänteistä ammattikielellä. Nämä piirteet antavat vakuuttavan kuvan hyvälle perehdytysohjeelle. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009, 291.)

Perehdytysmateriaalin laadinnassa tulee huomioida käyttäjäryhmä ja kirjoittaa teksti niin, ettei se ole liian helppoa tai itsestään selvää. Se ei myöskään saa olla kirjoitettu liian vaikeasti ja monimutkaisesti. Oleellisinta on koota perehdytysmateriaaliin vain sellainen tieto, jota perehdytettävä tarvitsee opetellessaan työtä. Perehdytysohjetta laadittaessa tärkeimmät pääkohdat on hyvä poimia niin, että perehtyjä saa kokonaiskuvan sekä pystyy jäsentelemään uusia asioita. Materiaalia laadittaessa tulee hyödyntää kaikkea olemassa olevaa aiheeseen liittyvää materiaalia niin, että se antaa perehtyjän ammattitaitoon jotain uutta. Perehtyjän kokemuksesta riippuen tekstin taso voi vaihdella ja käyttäjäryhmästä riippuen voidaan käyttää erilaisia termejä. (Kjelin & Kuusisto 2003, 206; Kupias & Peltola 2009, 154–155, 161–162; Lammi 2009, 27.)

4.3.2 Perehdytysmateriaalin ulkoiset ominaisuudet

Visualisoinnin tarkoituksena on herättää lukijan mielenkiinto ja helpottaa informaation välittämistä. Hyvin toteutettu perehdytysmateriaali voi tarjota mukavan lukunautinnon perehdytettävälle. Sen tärkeinä tehostajina ja tekijöinä ovat muun muassa kuvat, värit ja kirjaimet. Visuaalisuutta suunniteltaessa pitää huomioida kohderyhmä, sillä erilaiset perehdytettävät tarvitsevat erityyppistä havaintomateriaalia. (Söderlund 2005, 271, 290.)

Värit ja kuvat

Värit ja väriyhdistelmät luovat tunnelmaa sekä antavat materiaalille tietynlaisen kokonaisilmeen. Jotta kokonaisuus ei olisi sekava, värien pitää olla yhtenäisiä keskenään. Värien avulla voidaan herättää lukijassa tunteita ja ne kannattaa päättää harkiten. Värien käyttöä pitää miettiä pohjaväriin ja tekstin kohdalla tarkasti. Niiden yhteensopiisuus vaikuttaa tekstin erottumiseen ja luettavuuteen. Yhtenäistä visuaalista ilmettä voidaan yritysten kohdalla hyödyntää käyttämällä niin sanottuja yritysvärejä eli yritykseen yhdistettäviä värejä. (Söderlund 2005, 280–281, 291.)

Kuvat ovat tietoa näkyvässä muodossa. Niiden tehtävänä on välittää ja selventää tekstiä. Kuvien käyttö tekstin lisänä auttaa perehtyjää ymmärtämään tekstin antamaa informaatiota. Ne voivat toimia myös uuden näkökulman avaajana tai olennaisten asioiden selventäjänä. Kuvien ja tekstin tunnelman tulee sopia yhteen, jotta ne eivät aiheuta lukijalle hämmennystä tai epäselvyyttä tekstin ymmärtämisessä. Esimerkiksi asiallinen kuva sopii hyvin asialliseen tekstiin. Kuvissa tai niiden reunoissa on hyvä toistaa samoja tyynejä ja värejä, sillä nämä yhdistävät kuvia sekä luovat yhtenäisemmän ilmeen. Kuvien sommittelua tulee miettiä tarkoin niin, että kaikki ovat tyyllisesti samalla tavalla aseteltu. Valokuvien etuna on niiden dokumentaarisuus sekä todellisuus. Valokuvassa kohteen hahmottaminen perustuu kohteen todelliseen olemassaoloon. Kuvat voidaan ottaa studiossa tai kohteen todellisessa ympäristössä. Studiossa otetut kuvat sopivat paremmin esitteisiin, kun taas todellisessa ympäristössä otetut kuvat liittyvät tuotteen sen käyttöympäristöön. (Söderlund 2005, 272–275, 277.)

Kuvateksti on linkki kuvan ja tekstin välillä. Sen avulla voidaan kertoa kuvasta myös jotain sellaista, mitä kuva itsessään ei kerro. Kuvan tulkintaan vaikuttaa sen katsoja ja tämän taustat. Ammatilainen näkee kuvasta eri asioita mitä perehtyjä. Kuvatekstin avulla voidaan ohjailla katsojan näkemystä ja kuvassa olevia yksityiskohtia. Hyvä kuvateksti on lyhyt ja ytimekäs. Kuvatekstissä kannattaa välttää sellaisten asioiden kertomista, minkä näkee kuvasta lukemattakin kuvatekstiä. Tällainen itsestäänselvyksien kertominen on lukijan aliarvioimista. Kuvat ja kuvatestit voivat antaa lukijalle houkuttelevan ensivaikutelman, jonka avulla teksti tulee luetuksi. (Söderlund 2005, 277–278.)

Tekstin typografia

Tekstin typografialla eli graafisen ulkoasun suunnittelulla lähtökohtana on visuaalisen ulkomuodon luominen. Sen tavoitteena on saavuttaa lukijalle informaatiota ja taata sen ymmärtäminen. Luettavuuden kannalta on tärkeää sopivan kirjasintyyppin koko ja valinta, riviväli, palstan leveys, tasaus sekä tyhjä tila. (Söderlund 2005, 285–287; Lammi 2009, 82.)

Otsikko toimii huomionherättäjänä sekä kertoo aiheesta lyhyesti ja ytimekkäästi. Selkeässä ohjeessa on hyvä käyttää vain muutamaa erilaista kirjasintyyppiä. Miellyttävän visuaalisen vaikutelman ylläpitämiseksi otsikointi, leipäteksti ja kuvatekstit erotetaan toisistaan. Näihin voidaan valita erilaiset kirjasintyypit ja koot tekstin tyyppin mukaan. (Söderlund 2005, 285–287; Lammi 2009, 83.)

Pääotsikon kirjasinkooksi valitaan tarpeeksi suuri, jotta se saa riittävän huomion. Ala- ja väliotsikoiden kirjasintyyppi tulee valita niin, että ne eivät sekoitu leipätekstiin. Yleensä sopiva kirjasinkoko otsikoille on 14–30 pistettä, mutta se voi vaihdella kirjasintyyppin mukaan. Otsikolle voidaan luoda tehoa lihavoinnilla ja isoilla kirjaimilla. Tehostuksen tarkoituksena on korostaa tiettyjä kohtia, mutta liikaa käytettynä se menettää vaikutuksensa. Muita tekstin korostustapoja on kursivointi ja alleviivaus, mutta alleviivaus ei ole suositeltavaa. (Söderlund 2005, 286–289; Lammi 2009, 83–84.)

Leipäteksti on hyvä kirjoittaa pienillä kirjaimilla, koska se on luettavampaa kuin pelkät isot kirjaimet. Leipätekstin kirjasinpistekooksi valitaan yleensä kirjasintyyppin mukaan 9–12. Kirjasintyyppiä voidaan valita esimerkiksi asiatyylinen, moderni, vanhanaikainen, nuorekas, selkeä tai tyylikäs. Myös feminiinistä, leikkisää ja energistä tyyliä voidaan käyttää, mutta ne eivät ole niin luettavia. Kirjasintyyppi valitaan käyttöympäristön ja tottumusten mukaan. Kuvatekstiin valitaan pienempi kirjasinkoko ja riviväli, jotta se näyttää yhtenäiseltä. (Söderlund 2005, 287–289; Lammi 2009, 83–84.)

Palstan leveys ei saa olla liian leveä tai kapea, sillä se vaikuttaa tekstin luettavuuteen. Kun palstan leveys on 30–60 merkkiä, niin silloin teksti on luettavaa. Se saa olla korkeintaan 75 merkkiä, jolloin se on ihmisen havainnointikyvyn kannalta leveimmillään. Teksti tasataan yleensä joko vasemmalle tai tasapalstaksi. Vasempaan reunaan tasattuna

oikeaan reunaan muodostuu liehu. Tasapalsta tekee tekstistä jämäkän ja laatikkomaisen, mutta siitä saadaan luettavampi tavutuksella ja sanojen jakamisella. Vain erikoistilanteissa käytetään keskitettyä ja oikealle tasattua reunaa eli lähinnä kun haetaan visuaalista näyttävyyttä. (Söderlund 2005, 287, 289.)

Yhtenäisen ja selkeän ulkoasun luomiseksi tekstissä tulee olla myös tyhjää tilaa. Se helpottaa jäsentelyä, mutta sitä tulee välttää tekstin joukossa. Riviväli valitaan yleensä hieman suuremmaksi kuin kirjasinkoko. Esimerkiksi leipätekstissä se on pistekooltaan 12–16. Ilmava vaikutelma saadaan aikaan väljällä rivivälillä. Riviväli ei saa venyä liian suureksi, sillä siitä saattaa tulla ulkoasuun raidallinen vaikutelma. (Söderlund 2005, 288–289.)

4.4 Teorian soveltaminen perehdytysohjeeseen

Laboratorioissa käytetään perehdytysohjeita, jotta työntekijät oppivat nopeammin ja heille muodostuu yhtenäisemmät työtavat. Tämä mahdollistaa tulosten nopeamman ja luotettavamman saannin potilaille ja hoitohenkilökunnalle. Opinnäytetyömme tuotos tulee apuvälineeksi yhteistyökumppanimme perehdytysprosessiin. Se toteutetaan kirjallisessa ja päivitettävässä CD-muodossa. Perehdytysmateriaali suunnataan bioanalytiikan opiskelijoille, uuteen työtehtävään perehtyville työntekijöille ja sisäisen siirron kautta tuleville työntekijöille. Bioanalytiikan opiskelijoilla on mahdollisuus valita virtaussytometria vaihtoehtoisin ammattiopintoihin, jolloin he tulevat perehtymään laitteeseen.

Perehtyjien taustat tulee huomioida tekstiä laadittaessa ja sitä on tarkasteltu bioanalytiikon näkökulmasta. Perehdytysohjeen teksti laaditaan kaksitasoiseksi. Siinä asiat ilmaistaan asiat vasta-alkajille ja kokeneille bioanalytikko-opiskelijoille sekä työntekijöille erillisissä luvuissa. Tekstin kaksitasoisuus tehdään ajatellen käyttäjäryhmän laajaa osaamistasoa. Tällöin perehtyjä voi lukea materiaalia tietotasonsa mukaisesti. Opinnäytetyön tuotoksen johdantoon kirjoitetaan lukijalle selkeät ohjeet siitä, miten työtä kannattaa lukea. Sen perusteella lukija voi päättää luettavat kohdat kiinnostuksensa ja osaamistasonsa mukaan. Lisäksi perehdytysohjeeseen liitetään sanasto, joka helpottaa termien ymmärtämistä.

Perehdytysmateriaalia laadittaessa keskitymme myös sen esteettisyyteen. Siksi tavoitteenamme on käyttää siinä paljon kuvia ja värejä. Tekstin kirjasintyyppi valitaan nykyaikaiseksi, mutta selkeäksi. Kirjasintyyppin koon aioimme pitää kuitenkin perinteisenä. Otsikot erotellaan niin, että ne erottuvat muusta tekstistä. Teksti on ajateltu sijoiteltavan tavallisen yhden palstan sijaan kahdeksi, sillä siinä huomioidaan lukumukavuus ja tuotteen houkuttelevuus. Teksti tullaan tavuttamaan ja reunat tasaamaan. Riviväli valitaan luettavuuden kannalta sopivimmaksi.

5 IMMUNOFENOTYYPITYS JA VIRTAUSSYTOTOMETRIA MENETELMÄNÄ

Virtaussytometria on laboratoriotutkimusmenetelmä, joka perustuu fluoresoivien solujen mittaamiseen. Solujen fluoresenssi saadaan mitattua lasersäteen avulla, kun niihin on kiinnittynyt fluoresoivilla merkkiaineilla päällystettyjä vasta-aineita. Tulosten perusteella solut voidaan luokitella niiden ominaisuuksien mukaan. Virtaussytometrillä tehtävää solujen immunofenotyypitystä käytetään leukemia-, jäännöstauti-, kantasolu- sekä immuunipuutostilatutkimuksissa.

5.1 Immunofenotyypitys

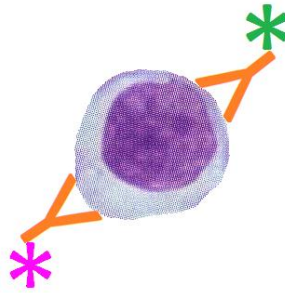
Immunofenotyypitys on menetelmä, jossa monoklonaalisten vasta-aineiden avulla määritetään solun fenotyyppi eli sen erilaistumislinja sekä kypsyysaste. Perinteisesti hematologisten malignien eli pahanlaatuisten sairauksien diagnosoinnissa sekä niiden luokittelussa on käytetty menetelmänä sytokemiallisia värjäyksiä ja niiden mikroskopointia. Immunofenotyypitys tehdään, kun hematologi toteaa tarpeen MGG eli May-Grünwald Giemsa -värjätyin sivelyvalmisteen tuloksen perusteella. Tätä jatkotutkimusta käytetään hematologisille maligniteeteille tyypillisten verisolujen antigeenien tutkimiseen. Immunofenotyypityksen avulla saadaan hematopoeettisille kasvaintaudeille luokittelu, diagnosointi ja hoito. (Kotylo 2002, 546; Paraskevas 2009, 27–28; Pankko 2012a; Pankko 2012c.)

Immunofenotyypitystä käytetään solujen erilaistumislinjan ja kypsyysasteen määrittämiseen solujen ilmentämien antigeenien avulla. Solun pinnalla oleviin antigeeneihin kiinnittyy monoklonaalisia vasta-aineita, joihin on liitetty fluorokromeja. Siitä saatava tieto on osoitettu tärkeäksi diagnostiselta näkökannalta ja myös hoidon sekä ennusteen arvioinnin kannalta. Tärkein käyttökohde virtaussytometriassa on solulinjojen tunnistaminen leukemioissa, lymfoomissa, myeloomissa ja immuunipuutostilojen diagnostiikassa. (Chant 2005, 303–304; Pelliniemi & Siitonen 2005, 206; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134–135; Pankko 2012a.)

Kaikki normaalit solut ilmentävät solulle tyypillisiä markkereita eli erilaisia merkkiaineita, jotka riippuvat solun tyypistä ja kypsyysasteesta. Epänormaalien verisolujen erilaistuminen ja kypsyminen eivät ole säännönmukaisia verrattuna terveisiin soluihin. Hematologisten pahanlaatuisten kasvainten luokitteluun käytetään WHO:n eli Maailman terveysjärjestön laatimaa luokittelua. Siinä hematologiset kasvaimet luokitellaan immunofenotyypin ja molekyylibiologisten tutkimusten mukaan. Terveen ja sairaan verinäytteet voivat erota antigeeni-ilmentymältään. Solutyypit ovat kuvaajilla selkeästi nähtävissä, mutta sairaan henkilön epänormaalit solut muodostavat niille tyypillisen kuvaajan. Jos potilaalle tehdään immunofenotyyppitys uudestaan, solukuvaajissa ilmentyvien antigeenien määrä voi muuttua edellisistä kuvaajista. Tunnistettavat antigeenit voivat olla yleisiä tai harvinaisia, mutta kaikki ovat diagnoosin kannalta tärkeitä. (Chant 2005, 303; Felgar & Ryan 2005, 2680; Rahman 2005, 22; Paraskevas 2009, 28; Wu 2011, 4; Pankko 2012a.)

5.1.1 Monoklonaaliset vasta-aineet ja antigeenit

Immunofenotyyppityksessä hyödynnetään spesifisiä monoklonaalisia vasta-aineita, koska ne ovat puhtaita, toistettavia, homogeenisia, reaktiotaipuvaisia ja niitä voidaan käyttää suurissakin näytemäärissä. Polyklonaalisia vasta-aineita ei käytetä immunofenotyyppityksessä, koska ne ovat epätarkkoja ja niitä on vaikea standardisoida. Immunofenotyyppityksessä monoklonaaliset vasta-aineet ovat välttämätön apuväline. Monoklonaaliset vasta-aineet voidaan päällystää fluorokromeilla ja ne tunnistavat antigeenejä, jonka vuoksi niitä voidaan hyödyntää tarkoissa tunnistusmenetelmissä. Monoklonaaliset vasta-aineyhdistelmät mahdollistavat moniparametrisia lähestymistapoja diagnostiikkaan. (McKenzie 2004, 422; Chant 2005, 304; Pelliniemi & Siitonen 2005, 206–207; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135; Paraskevas 2009, 21; Pankko 2012a.) Kuvassa 1 esitetään solu, jonka pinnan antigeeniin on tarttunut fluorokromilla leimattu vasta-aine. Fluorokromeista lisää kappaleessa 5.2.3.



KUVA 1. Lymfosyytin pinnan antigeeneihin on kiinnittynyt kahdella eri fluorokromilla leimattua vasta-ainetta (McKenzie 2004, 422; Ek 2009, 20, muokattu).

Fimlab Laboratoriot Oy:llä on käytössä monia eri vasta-aineita solujen immunofenotyyppityksessä. Esimerkiksi kroonisen lymfocytoosin immunofenotyyppityksessä käytetään seulontaputkessa eli ammattiterminä ”screening-putkessa” neljäätoista vasta-ainetta ja kymmentä eri fluorokromia. Vasta-aineita ovat CD20, CD4, CD45, CD8, CD56, anti-lambda, anti-kappa, CD5, CD14, CD19, TCR $\gamma\delta$, CD3, CD7 ja CD38. Jos seulontaputkesta löytyy klonaalinen solupopulaatio, selvitetään jatkotutkimuksena tarkemmin lymfocyttipopulaatiot toisilla vasta-ainepaneeleilla. Jatkopaneeleissa käytetään edellä mainittujen vasta-aineiden lisäksi paljon muitakin vasta-aineita. (Kemppi 2012a; Pelliniemi 2012, 1–2.)

Immunofenotyyppityksessä voidaan määrittää solun pinnalla olevia tai solunsisäisiä antigeenejä. Solun pinnalla olevia antigeenejä merkitään CD-lyhenteellä ja solun sisäisiä antigeenejä cCD-lyhenteellä. Antigeenit eli solun pintarakenteet muodostuvat aluksi solun sisälle ja vasta solun kypsyessä ne ilmaantuvat solun pinnalle. Solunsisäisiä antigeenejä määrittämällä saadaan varhaisemmin selville solun erilaistumissuunta ja kypsyysaste. Määrittämisessä tarvitaan erikoiskäsittely, jossa solukalvo permeabilisoidaan eli käsitellään puoliläpäiseväksi. Solun antigeenit voivat olla myös DNA:ssa. (Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135; Wu 2011, 4.)

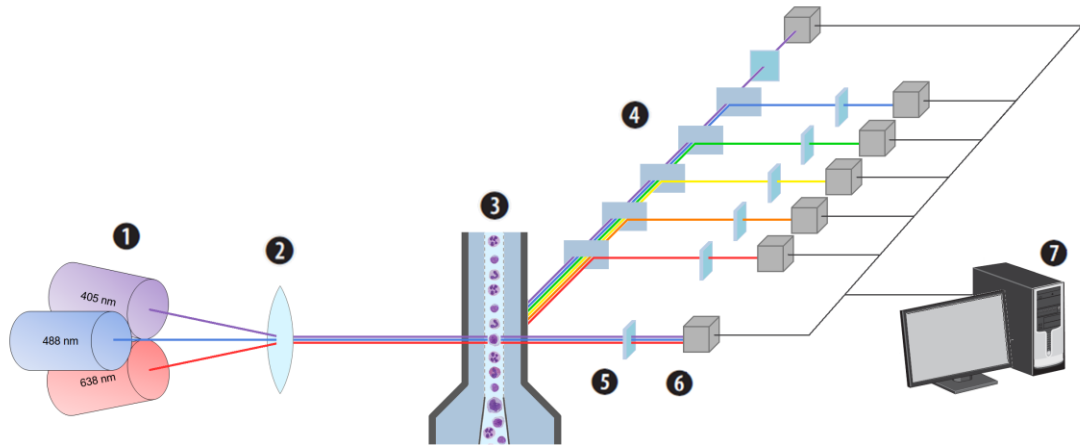
5.1.2 Cluster of Differentiation- eli CD-luokitus

Kaupalliset tuottajat antoivat saman antigeenin tunnistaville monoklonaalisille vasta-aineille eri nimiä eli niin sanottuja kauppanimiä. Tämä aiheutti luokitteluun ongelmia, jonka vuoksi alettiin kehittää yhtenäistä luokittelujärjestelmää. Yhtenäisenä luokitteluna alettiin jaotella vasta-aineita solulinjojen CD-luokkiin eli erilaistumisluokkiin, joissa monoklonaalisten vasta-aineiden jako tapahtuu antigeenien tarttumisen perusteella. Näitä luokkia on yli 300 kappaletta ja tällä hetkellä Fimlab Laboratoriot Oy:llä käytetään näistä noin seitsemääkymmentä (Kemppi 2012d). On olemassa vain harvoja monoklonaalisia vasta-aineita, jotka ovat solulinjalle, erilaistumis- ja kypsyyssasteelle täysin spesifisiä. Siksi leukeemisten solujen luokittelu perustuu useiden vasta-aineyhdistelmien antamiin tuloksiin. Esimerkiksi lymfaattisen linjan solut jaetaan B- ja T-soluihin sekä NK-soluihin ja myeloiset solut jaetaan omaan ryhmäänsä. On myös paljon muita luokitteluun kuuluvia antigeenejä, jonka perusteella solut voidaan jaotella ryhmiin. Lisäksi soluja voidaan jakaa HLA-tyyppien eli ihmisen leukosyyttiantigeenin, kappa- tai lambda-antigeenien mukaan. (McKenzie 2004, 422; Chant 2005, 304; Pelliniemi & Siitonen 2005, 206–207; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135; Paraskevas 2009, 21; Pankko 2012a.)

5.2 Virtaussytometria

Virtaussytometrisen menetelmän tarkoituksena on mitata verisolujen ominaisuuksia. Tällä tavalla solujen määrä voidaan laskea ja ne voidaan tunnistaa. Virtaussytometrillä mitataan partikkeleita, esimerkiksi molekyylien pintarakenteita tai yksittäisiä soluja. Analysaattorilla saadaan eroteltua yksittäiset solut tai partikkelit, niihin liitetyillä fluoresoivilla merkkiaineilla. Solut eksitoivat ja emittoivat fluoresenssivaloa, kun niihin on liitetty fluoresoivilla merkkiaineilla päällystettyjä monoklonaalisia vasta-aineineita. Virtaussytometriä käytetään kliinisissä laboratorioissa analysoitaessa yksittäisten solujen antigeenejä, kun erotellaan lymfaattisia, granulosityttisiä tai monosyyttisiä antigeenejä. Soluille ominaiset antigeenit tunnistetaan CD-luokitelluilla monoklonaalisilla vasta-aineilla. Lisäksi virtaussytometriä käytetään DNA:n eli deoksiribonukleinihapon tai RNA:n eli ribonukleinihapon määrän selvittämiseen. (Craig 2004, Czader 2007, 452–453, 420–421; Paraskevas 2009, 21; Pankko 2012a.)

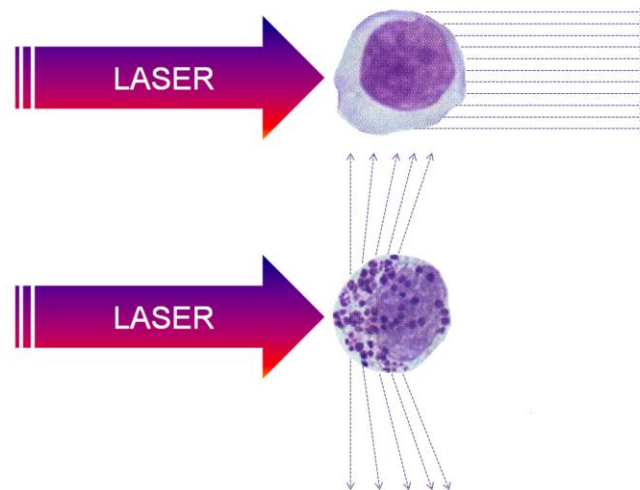
Kuvassa 2 on esitetty virtaussytometrin rakenne ja toimintaperiaate, joka havainnollistaa ja muodostaa kokonaiskäsityksen virtaussytometriasta menetelmänä. Kuvassa esitetyt osat selvitetään tarkemmin seuraavissa kappaleissa.



KUVA 2. Virtaussytometrin rakenne: 1. kolme laseria, 2. linssit ja prismat, 3. virtauskammio, 4. peilit ja suodattimet, 5. suodattimet 6. suora-, sivu- ja fluoresenssisironnan-detektorit ja 7. tietokone (Rahman 2005, 7; Beckman Coulter Inc 2009a, 35; Ek 2009, 20, 28, 36–37, muokattu).

5.2.1 Valonsironta ja partikkelien erottelu

Valonsirontaa voidaan käyttää solujen erottelemiseen, kuten hematologian analytiikassa leukosyyttejä eroteltaessa. Tässä lasersäde siroaa yksittäisestä partikkelista ja tapahtumassa siroavan valon aallonpituus ei muutu. Eri suuntiin sironnutta valon määrää detektoidaan eli mitataan ja niin partikkeleista saadaan selville niiden fyysisiä ominaisuuksia. Näitä ovat koko, granulaarisuus ja tuman rakenne. Sivusironta eli valon sironta 90° kulmassa kertoo solun sisäisistä ominaisuuksista eli tuman ja sytoplasman suhteesta sekä granulaarisuudesta. Neutrofiileillä on suuri sivusironta, koska niillä on paljon sytoplasmista granulaa. Suorasironta eli suoraan kulkeva valonsäde kertoo solun koosta. Suuret solut tuottavat enemmän suorasirontaa kuin pienet solut. Elävät solut tuottavat taas enemmän sirontaa kuin apoptoottiset eli normaaliin solukuolemaan menevät solut. (Craig 2004, 421; Czader 2007, 456; Paraskevas 2009, 22.) Solun suora- ja sivusironta ominaisuuksia voi tarkastella kuvasta 3.



KUVA 3. Granulaarinen ja ei-granulaarinen solu ja sen sirontaominaisuudet (Rodak 2007, 551; Ek 2009, 20, 37, muokattu).

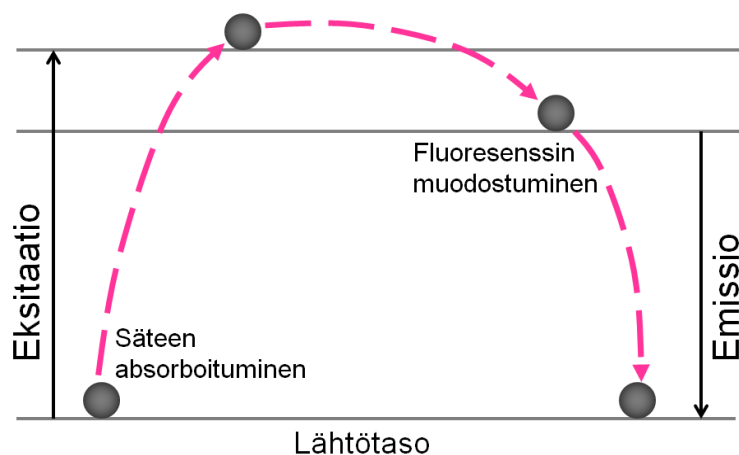
Virtaussytometriassa näytteenä käytetään partikkelisuspensiota, joka voi olla joko soluja tai niiden tumia. Suspensio ensin aspiroidaan eli imetään ja sen jälkeen injektoidaan eli syötetään virtauskammioon. Virtaussytometrissä virtauskammio on näytteenkulkualue, jossa solut ohjataan yksitellen kulkemaan suoraan lasersäteen läpi. Virtauskammiossa on kahdentyypistä nestettä. Sisemmässä pylväässä kulkee näyteliuos ja ulommassa virtaa vaippaliuos. (Näistä esitetään kuva myöhemmin kappaleessa 6.1.2 Näytteenkier-tojärjestelmä.) Liuokset eivät pääse sekoittumaan, koska niiden välinen paine-ero on asetettu erilaiseksi. Tämän vuoksi niillä on myös eri virtausnopeus. Tätä kutsutaan hydrodynaamiseksi fokusoinniksi. Siinä sisempi näytepylväs kavennetaan paineen avulla, jolloin solut saadaan kulkemaan yksitellen jonossa lasersäteen läpi. Tämä mahdollistaa solujen tuottaman fluoresenssin mittaamisen. Lasersäde on fokusoitu kohti yksittäisten solujen virtaa ja siroavaa valoa mitataan valomonistinputkilla eli valodetektoreilla. Jos solut päällystetään fluoresoivilla merkkiaineilla eli fluorokromeilla, lasersäde eksitoi fluorokromit, jotka emittoivat tiettyä aallonpituutta. Emittoitunut valo mitataan valodektoreilla. (Craig 2004, 421; Czader 2007, 455.)

5.2.2 Fluoresenssin osoitus

Näkyvä valo on elektromagneettinen energian muoto, joka kulkee aaltoina. Nämä aallot ovat yleisiä ja pitkiä. Aallonpituus määrää valon värin. Näkyvä valo on ultraviolettiva-

lon ja infrapunavalon välissä ja on aallonpituudeltaan 380–700 nanometriä. (Rahman 2005, 9.)

Fluorokromit ovat fluoresoivia väriaineita, jotka eksitoivat ja emittoivat valoa fluoresenssina. Ne tuottavat fluoresenssivaloa, lasersäteen aktivoitessa solun pinnalla olevan fluorokromin. Eksitaatiossa fluorokromit absorboivat valoa ja emissiossa valoa vapautuu fluoresenssina. Tapahtumassa valon aallonpituus muuttuu riippuen fluorokromista. Eksitaation ja emission syntyminen ja muodostuminen esitetään kuvassa 4. Kun valo absorboituu fluorokromiin, sen elektronit siirtyvät alimmalta elektronikuorelta ylimmälle tasolle, tämä on maksimaalisen energian taso. Energiapulssi kokonaisuudessaan kestää fluorokromin tyypistä riippuen 1–10 nanosekuntia, koska fluorokromien sisäiset ominaisuudet vaihtelevat ja jotkut vapauttavat absorboitua energiaa lämpönä. Eksitaation jälkeen elektronit palaavat alemmalle välikuorelle. Kun elektronit palaavat lähtötasolle, ne vapauttavat valoa fluoresenssina. Tätä ilmiötä kutsutaan emissioksi. Emissio tapahtuu erittäin nopeasti, yleensä nanosekunneissa. Siinä energian vähentyessä fluorokromit ilmentävät eri valon väriä kuin aikaisemmin eksitaatiossa. Siksi emission aallonpituus on aina pidempi kuin eksitaation aallonpituus. (Rahman 2005; Czader 2007, 455–456, 9–10.)



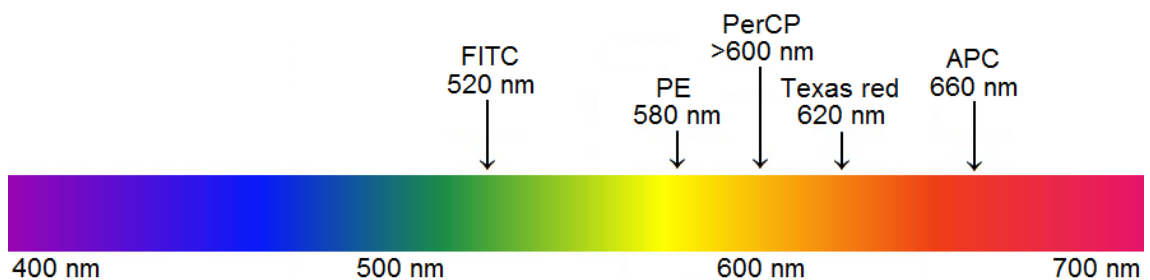
KUVA 4. Eksitaation ja emission syntyminen ja muodostuminen elektronitasoilla (Rohdak 2007, 456, muokattu).

Virtausytometrillä voidaan mitata fluoresoivista merkkiaineista johtuvaa fluoresenssia. Fluoresoivat merkkiaineet eli fluorokromit on liitetty solun rakenteita tunnistaviin monoklonaalisiin vasta-aineisiin, jotka kiinnittyvät solun antigeeneihin. Fluorokromit ek-

sitoivat valoa yhdellä aallonpituudella ja emittoivat monilla eri aallonpituuksilla fluoressivaloa. Virtaussytometriassa on käytettävissä erilaisia fluorokromeja (Rahman 2005, 9). Virtaussytometrit mittaavat fluorokromeista emissoituvaa spektriä. Fluorokromien emittoima valo erotetaan käyttäen suodattimia ja peilejä. Peilien ja suodattimien avulla haluttu valon kaista johdetaan valomonistinputkille, joilla signaali havaitaan. (Craig 2004, 421–422; Pankko 2012a.)

Fluorokromeja käytetään virtaussytometriassa yhä enemmän ja niiden hyödynnettävissä oleva määrä vain kasvaa koko ajan. Fluorokromeina käytetään yksittäisiä värejä tai tandem- eli kaksoisvärejä. Yksittäiset värit ovat olleet käytössä kauemmin, esimerkiksi FITC-fluorokromia eli fluoroisotiosyanaattia ja PE-fluorokromia eli fykoerytriiniä on käytetty viimeisen 30 vuoden aikana. Nykyään käytetään useita erilaisia värejä niiden ominaisuuksien takia. (Rahman 2005, 12.)

Yleisimpiä fluorokromeja ovat FITC, PE, PerCP eli peridiniini-klorofylli-a-proteiini, APC eli allofykosyaniini ja Texas red. Kuvassa 5 on havainnollistettu näkyvän valon aallonpituudet sekä näiden fluorokromien emissioaallonpituudet. Fluorokromeja on myös paljon muita ja suurin osa emittoi näkyvän valon aallonpituuksia. Aallonpituuksien päällekkäisyydestä aiheutuneita ongelmia säädetään kompensaaion avulla. Huolellisella aallonpituuden valinnalla ja sopivilla suodattimilla minimoidaan ongelmia. (Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134; Paraskevas 2009, 24–25.)



KUVA 5. Näkyvän valon aallonpituudet ja yleisimpien fluorokromien emissioaallonpituudet (Karkela, Kervinen, Meriläinen, Parkkila & Seppänen 2006, 87; Paraskevas 2009, 24–25, muokattu).

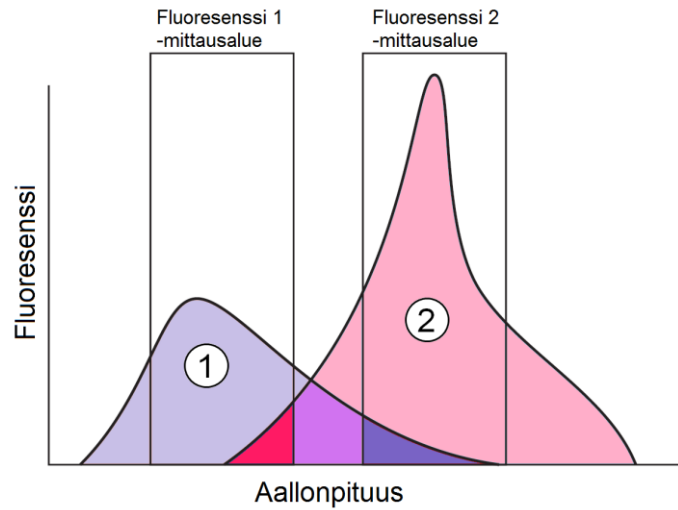
Tandemväreissä fluorokromiin on liitetty tai kiinnitetty toinen fluorokromi. Kun ensimmäinen väri eksitoituu ja pääsee maksimaaliselle energiatasolle, kaikki sen energia muuttuu hetkessä mitattavaksi valoksi. Tämä aktivoi toisen fluorokromin, jonka fluoresenssi mitataan. Tandemvärit ovat hyödyllisiä moniväri fluoresenssitutkimuksissa erityisesti yksittäisten värien yhdistelminä. (Rahman 2005, 12.)

5.2.3 Värikompensaatio

Fluorokromit emittoivat valoa usealla eri aallonpituudella ja siten muodostavat spektrin. Peilejä, suodattimia ja fotodiodeja käytetään detektoimaan emittoituneet valon aallonpituuden huippua joka fluorokromista. Fluorokromit emittoivat valoa eri aallonpituuksilla ja siitä aiheutuu aallonpituuksien päällekkäisyyttä. Tämä hankaloittaa todellisen fluoresenssin mittaamista. Aallonpituuksien päällekkäisyyttä voidaan välttää valitsemalla fluorokromeja eri spektrin alueilta, mutta se ei aina ole mahdollista. Esimerkiksi fluorokromien emissiohuiput FITC:lla eli fluoreseiini-isotiosyanaatilla ja PE:lla eli fykoerytriinilla ovat erilaiset, mutta PE emittoi myös valoa aallonpituudella, jota käytetään FITC:in detektoimiseen. Tämä päällekkäisyys täytyy olla kompensoitu ennen informaation eli ammattitermillä ilmaistuna ”datan” käsittelyä. (Craig 2004, 422; Rahman 2005, 14.)

Kompensaatioksi kutsutaan virtaussytometrille tehtyä hienosäätöä, jossa on otettu huomioon eri fluorokromien emissioaallonpituuksien päällekkäisyys. Tätä on havainnollistettu kuvassa 6. Fluorokromien emissioaallonpituuksien päällekkäisyys saadaan selville fluorokromin kanavasta laskukaavan avulla. Fluorokromin kanavassa on valittuna tarkasti mitattava aallonpituus, mutta silti ei päästä eroon spektrien päällekkäisyydestä ja siksi tarvitaan kompensaatiota. Tämä aiheuttaa mittaushäiriötä kanavalle, kun sinne vuotaa toisen fluorokromin valoa. Analysaattorin käyttökunnosta pitää huolehtia kontrolloinnilla ennen kompensaatiolaskua. (Craig 2004, 422; Rahman 2005, 14–15.) Kompensaatioprosentti lasketaan mittaamalla ensin yhdellä fluorokromilla värjättyjen solujen emissio kultakin detektorilta. Esimerkiksi FITC:lla värjätyin solun fluoresenssia voidaan nähdä lisäksi PE-kanavalla ja vastaavasti PE:lla värjätyin solun fluoresenssia voidaan nähdä FITC-kanavalla. Tästä saadaan laskettua kompensaatioprosentit, joita käytetään monivärjättyissä näytteissä todellisen fluoresenssisignaalin laskemiseen. Nykyaikai-

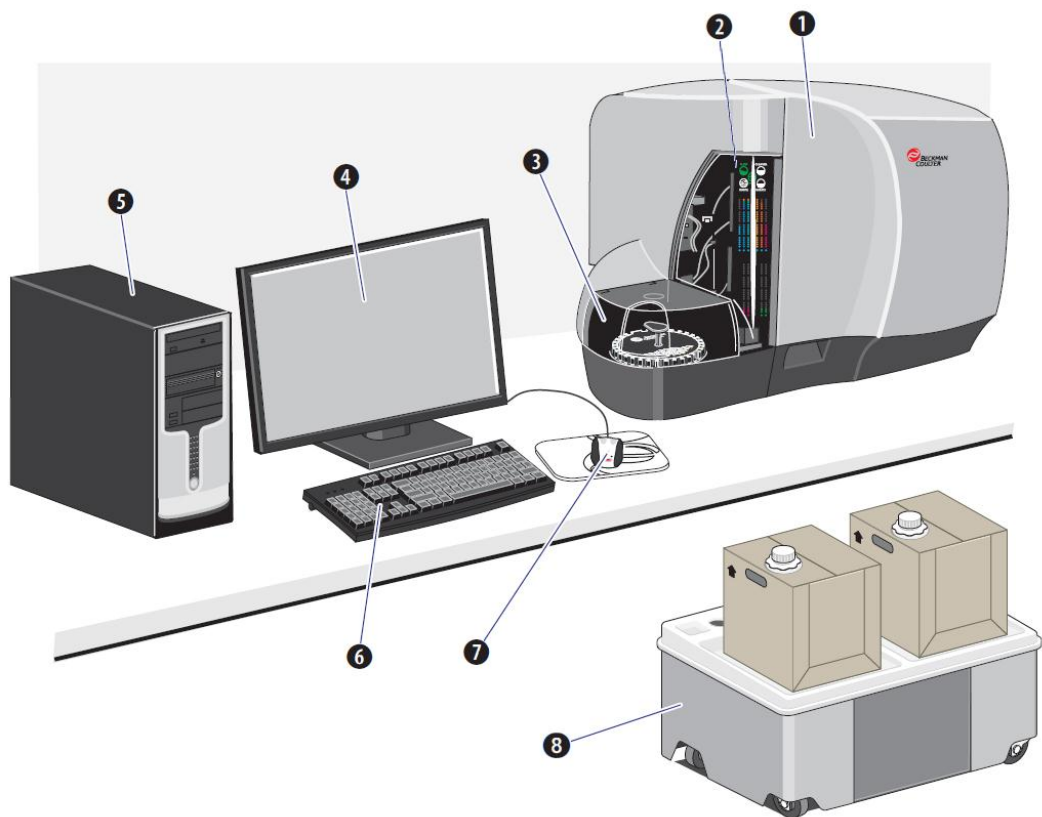
set virtausytometrit ovat digitaalisia, mikä mahdollistaa yli neljän värin käytön analyseissä. (Kemppi 2012b.)



KUVA 6. Kompensaatiokuvaaja, jossa 1 ja 2 ovat eri fluorokromien spektrejä (Rahman 2005, 15, muokattu).

6 BECKMAN COULTER NAVIOS™

Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin kokonaisuuteen kuuluvia osia ovat analysaattori, näytteensyöttöyksikkö, paineyksikkö ja käyttöliuokset sekä informaation käsittely-yksikkö, joka koostuu tietokoneesta, näytöstä, näppäimistöstä sekä hiirestä (Beckman Coulter Inc 2009a, 35, 47). Näitä osia voi tarkastella kuvasta 7. Luvussa on tarkemmin perehdytty analysaattorin rakenteeseen ja käsitelty sitä, miten virtaussytometrin osat mahdollistavat valonsironnan ja fluoresenssin mittaamisen.



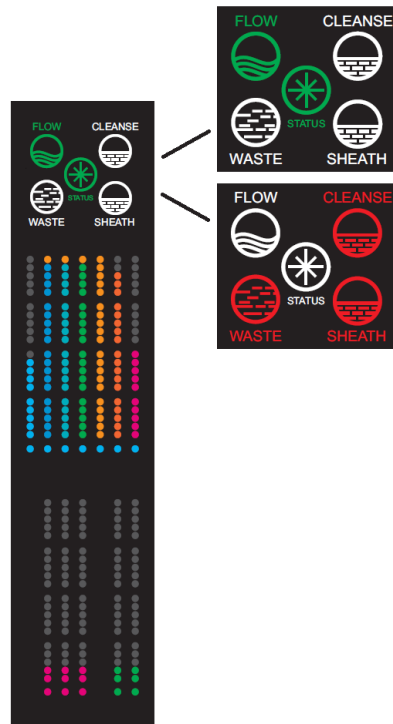
KUVA 7. Beckman Coulter Navios™ virtaussytometrin osat: 1. analysaattori, 2. merkivalot, 3. näytteensyöttöyksikkö, 4. näyttö, 5. tietokone 6. näppäimistö, 7. hiiri ja 8. paineyksikkö sekä käyttöliuokset (Beckman Coulter Inc 2009a, 35, muokattu).

6.1 Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometri

6.1.1 Virtaussytometrin merkkivalot

Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin etupaneelissa on käytön kannalta hyödyllisiä merkkivaloja. Niiden värit ilmoittavat analysaattorin käyttövalmiuden ja liuosten täyttöasteen. Nämä näkyvät kuvassa 8. Kun flow- ja status eli virtaus- ja valmiustilamerkkivalot ovat vihreitä, virtaussytometri on valmiustilassa ja vaippaliuos käytettävissä. Cleanse- ja sheath eli puhdistus- ja vaippaliuoksen merkkivalot ovat punaisia, kun nämä liuokset ovat loppumassa. Waste- eli jätemerkkivalo on myös punainen, kun jäteastia on täynnä. (Beckman Coulter Inc 2009a, 93.)

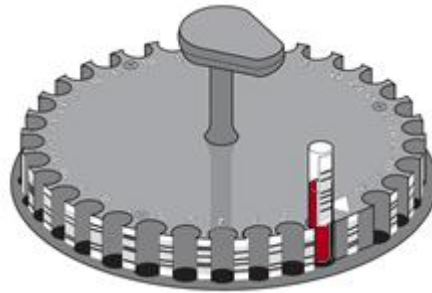
Signaalien voimakkuuksilla on myös omat merkkivalonsa etupaneelissa, jotka näkyvät myös kuvassa 8. Analysaattorin valmiutta ilmaisevien merkkivalojen alapuolella on toisenlaisia merkkivaloja, jotka näyttävät sinisen laserin antamien signaalien voimakkuuden. Kullekin valonsironnalle on oma merkkivalopylväänsä ja nämä valot näkyvät sinisellä. Alarivissä on punaisen laserin ja violetin laserin antamien signaalien voimakkuuksien merkkivalot. (Beckman Coulter Inc 2009a, 92.)



KUVA 8. Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin merkkivalot (Beckman Coulter Inc 2009a, 92–93, muokattu).

6.1.2 Näytteenkiertojärjestelmä

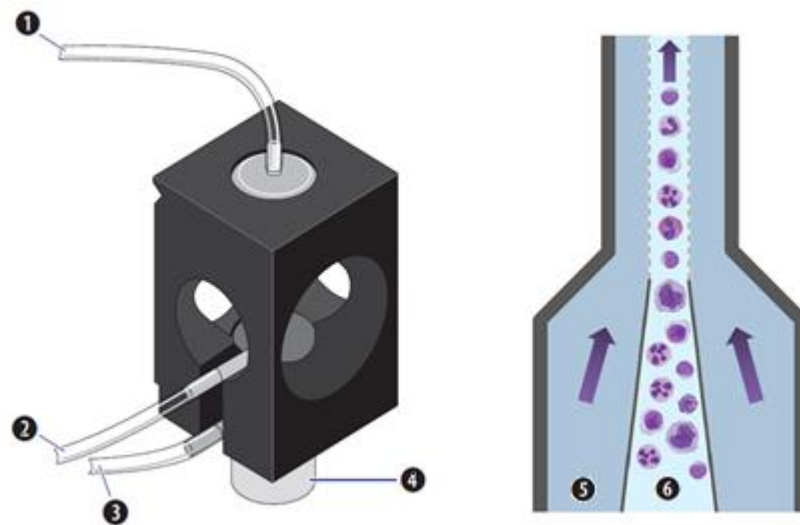
Näytteensyöttöyksikössä on karuselli, johon esikäsitellyt näyteputket laitetaan analysointia varten. Näytteensyöttöyksikön yhteydessä on myös viivakoodinlukija, joka tunnistaa karusellin ja putken paikan viivakooditunnisteesta karusellin pyöriessä. Se lukee myös viivakoodit näyteputkien tarroista. (Beckman Coulter Inc 2009a, 36, 47.) Karuselli ja siihen aseteltu putki näkyy kuvassa 9.



KUVA 9. Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin karuselli (Beckman Coulter Inc 2009a, 96, muokattu).

Näytteensyöttöyksikkö aloittaa näyteputken käsittelyn siirtämällä karusellin paikkaa ja pyörittää sen kohtaan, josta näyte otetaan. Seuraavaksi putki nostetaan niin, että sekoittaja voi sekoittaa näytteen pyöriä liikkein. Sekoituksen jälkeen näyteneula laskeutuu putkeen ja näyteputki paineistetaan. Tämän jälkeen näytteen virtaus alkaa. Mittauksen loputtua näyteneula puhdistuu automaattisesti. (Beckman Coulter Inc 2009a, 47–48.)

Näyte kulkee analysaattorissa hydrodynaamisen fokuosoinnin vaikutuksesta. Tämä varmistaa, että solut liikkuvat lasersäteeseen läpi yksi kerrallaan virtauskammion läpi. Virtauskammiossa on suorakulmainen kanava. Paineistettu vaippaliuos virtaa kanavan läpi alhaalta ylöspäin. Läpi virtaavan solun tunnistusalue on virtauskammion keskellä kanavassa. Näytevirta syötetään keskelle vaippaliuosta. Vaippaliuoksen paine fokusoi näytevirtaa siten, että solut virtaavat lasersäteeseen läpi yksitellen peräkkäin. Ulkoreunoilla oleva vaippaliuos virtaa kammiossa hitaasti ja keskellä virtaava näyte nopeasti hydrodynaamisen fokuosoinnin vuoksi (Rahman 2006, 4). Vaikka vaippaliuos ja näyte virtaavat sisäkkäin, ne eivät sekoitu keskenään. Näytteen analysointi voi vääristyä, jos solut liikkuvat lasersäteeseen läpi eri tavalla kuin on oletettu. (Beckman Coulter Inc 2009a, 47.) Tämä on havainnollistettu kuvassa 10.



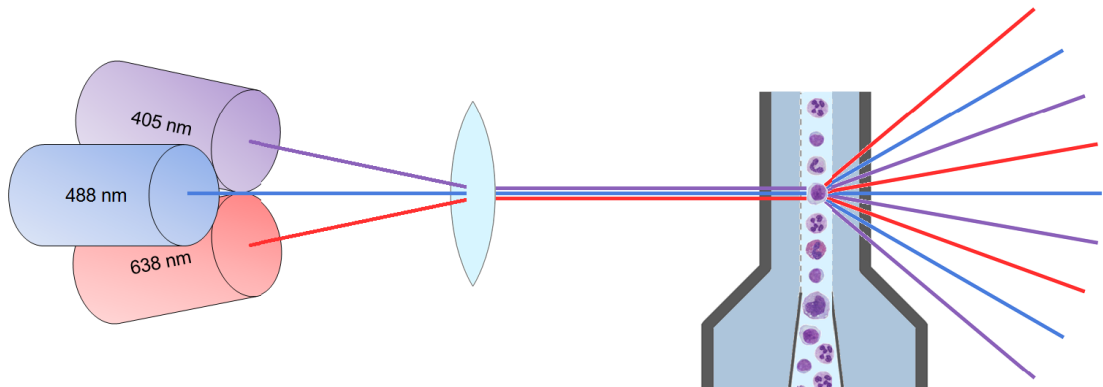
KUVA 10. Beckman Coulter NaviosTM virtausytometrin virtauskammio vasemmalla ja sen hydrodynaaminen fokuointi oikealla. Virtauskammion osat: 1. Jätteenpoistoletku, 2. ilmakuplienpoistoletku, 3. vaippaliuoksentuloletku ja 4. näytteentuloletku. Hydrodynaaminen fokuointi koostuu 5. vaippaliuoksesta ja 6. näytevirrasta. (Craig 2004, 421; Beckman Coulter Inc 2009a, 48; Ek 2009, 20, 28, 36–37, muokattu.)

6.1.3 Laservalo, optiikka ja detektorit

Beckman Coulter NaviosTM -virtausytometrissä on kolme eriväristä puolijohdelaseriala, violetti, sininen ja punainen. Sinisen laser eli aallonpituudeltaan 488 nanometriä antaa informaatiota suorasironnasta ja sivusironnasta. Merkkivalopaneelin fluoresenssivaloista 1–5 saadaan tietoa sinisen laserin toiminnasta. Punaisesta laserista eli 638 nanometrin laserista saadaan tietoa merkkivalopaneelin fluoresenssivaloista 6–8. Violetti laser eli 405 nanometrin laser antaa informaatiota merkkivalopaneelin fluoresenssivaloista 9–10. Punainen laser on teholtaan 25 millivoltia, sininen laser on 22 millivoltia ja violetti laser on 40 millivoltia. (Karkela ym. 2006, 87; Beckman Coulter Inc 2009a, 63–64, 92.)

Laservaloja ohjaavat linssit ja prismat, jotka muotoilevat ja fokuoivat laservaloa. Ennen kuin lasersäteet saavuttavat näytevirran, poikittais-sylinterimäiset linssit keskittävät lasersäteet yhdeksi sädekimpuksi. Keskittäminen ohjaa säteet kohtisuoraan näytevirtaa kohden. Kolmesta eri laserista tulee näin yksi säde, jossa on montaa aallonpituutta. Nä-

mä erotellaan myöhemmin optisten suodattimien avulla. Lasersäteiden keskittäminen saa säteen tarpeeksi pieneksi valaistakseen vain yhden solun kerrallaan. Ensimmäinen linssi kontrolloi säteen leveyttä ja toinen korkeutta. Tuloksena ellipsin muotoinen valo-keila kohdistetaan tunnistusalueelle virtauskammioon. (Rahman 2006, 5; Beckman Coulter Inc 2009a, 48, 50; Pankko 2012b.) Kuvassa 11 on esitetty lasersäteiden ohjautuminen näytteeseen sekä sen sironta solusta.

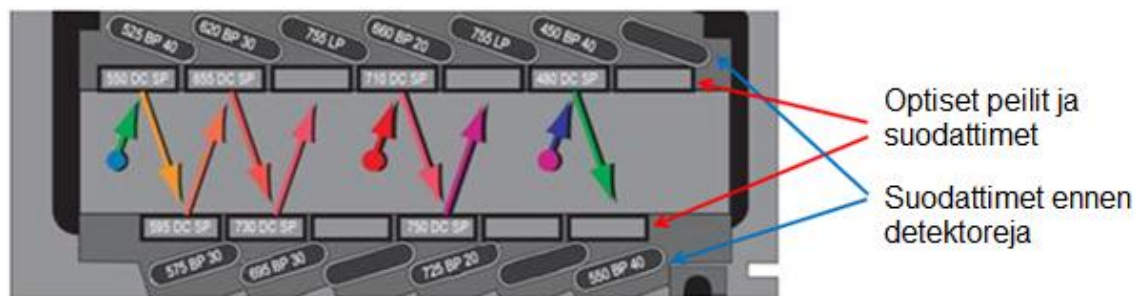


KUVA 11. Lasersäteiden ohjautuminen linssien ja prismojen kautta soluun (Craig 2004, 421; Beckman Coulter Inc 2009a, 50; Ek 2009, 20, 28, 36–37, muokattu).

Kun solut näytevirrassa menevät tunnistusalueen läpi virtauskammiossa, ellipsin muotoinen lasersäde valaisee soluja. Solut hajottavat laservaloa ja emittoivat niihin kiinnitettyjen fluorokromien aiheuttamaa fluoresenssivaloa. (Beckman Coulter Inc 2009a, 49.)

Suorasironnaksi kutsutaan tilannetta, jossa laservalon sironta on kapeassa kulmassa lasersäteen akseliin nähden. Suorasironnan määrä on suoraan verrannollinen laservalon hajottaneen solun kokoon. Sivusironnaksi kutsutaan tilannetta, kun laservalon sironta on noin 90° kulmassa akseliin nähden. Sivusironta on verrannollinen solun tuma-sytoplasmasuhteeseen ja granulaarisuuteen, jotka hajottavat laservaloa. Sivusirontaa käytetään erottamaan esimerkiksi lymfosyytit, monosyytit ja granulosyytit. Sen lisäksi solut emittoivat fluoresenssivaloa kaikissa kulmissa lasersäteen akseliin nähden. Fluoresenssivaloa käytetään tunnistamaan molekyylijä, kuten solun pinta-antigenejä. (Beckman Coulter Inc 2009a, 49.)

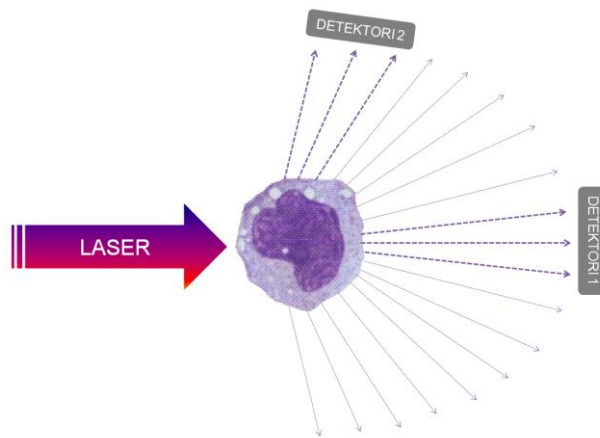
Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrissä keräilyoptiikkana on optisia peilejä ja suodattimia, joiden tehtävänä on ohjata valitut aallonpituudet oikeille detektoreille. Optisia peilejä ja suodattimia voi tarkastella kuvasta 12. Virtaussytometrissä detektoreina voidaan käyttää fotodiodeja tai valomonistinputkia. Fotodiodeja voidaan käyttää, kun signaali on voimakasta suora- tai sivusirontaa. Valomonistinputket ovat herkempiä kuin fotodiodit ja ne ovat ihanteellisia fluoresenssin tunnistamiseen. Valomonistinputkia käytetään mittaamaan säteilyä 200 ja 800 nanometrin välillä. Detektorien spesifisyyttä kontrolloidaan optisilla suodattimilla, jotka päästävät läpi vain tietyt aallonpituudet. Suodattimia on kahdenlaisia, joita kutsutaan englanninkielisillä termeillä ”longpass” ja ”bandpass”. ”Longpass”-suodattimet päästävät määrättyä aallonpituutta korkeammat säteet lävitseen ja heijastavat tätä aallonpituutta alhaisemmat säteet pois. ”Bandpass”-suodattimet päästävät määrätyn aallonpituusalueen eli kaistan säteilyn lävitseen ja heijastavat loput säteet pois. (Rahman 2006, 5–6; Beckman Coulter Inc 2009a, 50, 64; Kemppe 2012b; Pankko 2012b; Pankko 2012d.)



KUVA 12. Optiset peilit ja suodattimet sekä niiden koodit (Beckman Coulter Inc 2009a, 51, muokattu).

Suorasironta-detektori kerää suoraan siroutuneen laservalon, joka on sironnut kapeassa kulmassa lasersäteeseen akseliin nähden. Suorassa kulmassa valo suodatetaan 488 nanometrin optisella suodattimella. Valosta muodostetaan suodattimien avulla signaalien sähköjännitepulsseja, ennen kuin valo ohjataan suorasironta-detektorille. Nämä signaalit ovat verrannollisia anturin vastaanottaman valon määrään. Suorasironta-detektori kerää erilaisista kulmista suoraan sironnutta valoa. Laaja detektioalue kerää suorasirontaa laajemmista kulmista eli 1–19° ja on ihanteellinen pienemmille partikkeleille. Kapea detektointialue kerää suorasirontaa kapeammasta kulmasta eli 1–8°, joka on ihanteellinen suuremmille partikkeleille. Lisäksi tämä järjestelmä mahdollistaa sironnan keräämisen laajemmalla detektioalueella, jota käytetään nanopartikkelien erottelukseen. (Beckman

Coulter Inc 2009a, 49; Paraskevas 2009, 22.) Tämä on havainnollistettu kuvan 13 avulla.



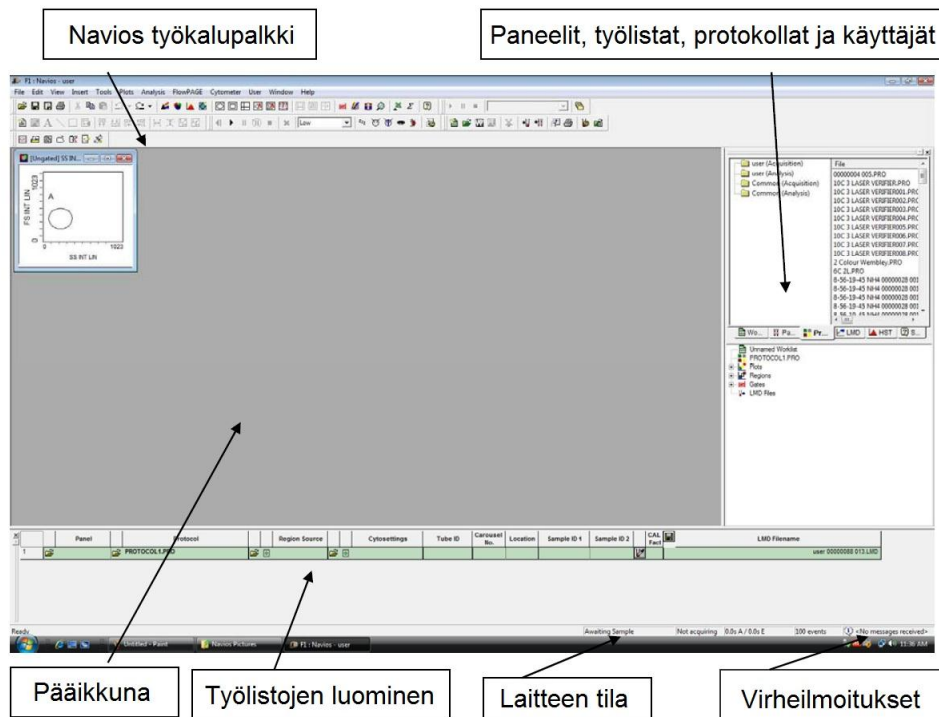
KUVA 13. Suora- ja sivusironnan sekä fluoresenssin detektorit. Detektori 1 on suorasiironnan detektori ja detektori 2 on sivusironnan ja/tai fluoresenssidetektori. (Chapman, Longanbach, Miers & Waldron 2007, 553; Ek 2009, 28, muokattu.)

Laservalon sivusironta ja fluoresenssi mitataan 90° kulmasta. Sivusironta kerätään vastapäätä fluoresenssin detektoria. Fluoresenssilinssin suodatinosa on kytketty geelillä virtauskammioon. Se kerää fluoresenssivaloa virtauskammiossa ja fokusoi sen. Aallonpituus sivusironnassa on 488 nanometriä. Sivusironta on paljon voimakkaampaa kuin fluoresenssivalo. Sivusironta suodatetaan 488 nanometrin kaistanpäästösuodattimella, joka on asennettu kuituoptisen kaapelin sisälle. (Beckman Coulter Inc 2009a, 49.)

Korkealta ja laajemmalla alueelta suodattavat optiset suodattimet siirtävät lasersäteitä. Säteistä on tarkoitus mitata fluorokromeista syntynyttä fluoresenssivaloa. Dikromaattisia suodattimia käytetään heijastamaan tiettyjä värejä. Dikromaattisten suodattimien sijainti on suunniteltu tarkasti, koska tarkoituksena on vähentää optisia pintoja. Tämä mahdollistaa fluoresenssivalon kulun valodetektoreille. Niiden sijainti suhteessa optiseen akseliin on myös optimoitu, jotta valo pääsee symmetrisesti kaikista suodattimista. Optisia suodattimia voi myös vaihtaa erikseen eikä optista järjestelmää ei tarvitse uudelleensuunnata, vaikka suodattimia vaihdetaan. (Beckman Coulter Inc 2009a, 50; Paraskevas 2009, 23)

6.2 Tietoyksikkö

Informaationkäsittely-yksikön näytöltä selviää mittaukseen liittyviä tapahtumia. Näyttö on jaettu kolmeen eri ikkunaan. Pääikkunassa näkyy mittauksen tapahtumat ja siihen tulostuvat kuvaajat. Sivussa olevassa ikkunassa on paneelit ja protokollat, joiden avulla voidaan luoda työllistat alaikkunaan. Alaikkunaan luodusta työllistasta saadaan selville näytteiden analysointijärjestys, niiden karusellissa oleva paikka, potilastiedot, näytteelle luotu tiedostotunnus sekä kalibrointihelmien konsentraatio. Luotua työllistaa voidaan myöhemmin muokata, jos näytteitä tulee lisää tai niitä poistuu. Näytön yläpalkissa on käyttöön liittyviä muita painikkeita, kuten käynnistyspainike. Näytön alareunassa näkyy laitteen tila, tapahtumien mittausnopeus soluina sekunnissa, mittaukseen kulunut aika, tapahtumien kokonaislukumäärä sekä virheilmoitukset. (Beckman Coulter Inc 2009b, 15; Kemppe 2012a.) Kuvassa 14 esitetään informaationkäsittely-yksikön näytöstä kuva, johon on koottu edellä mainitut asiat.

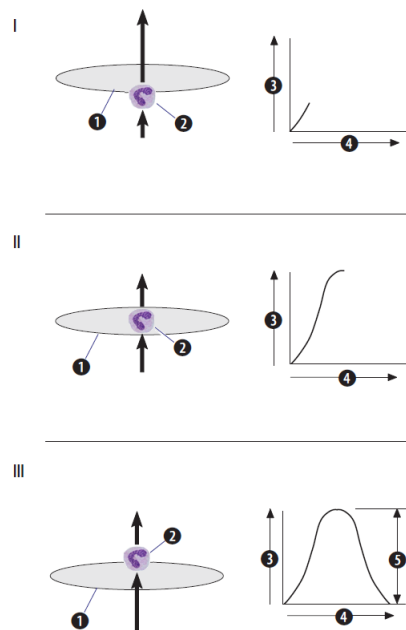


KUVA 14. Informaationkäsittely-yksikön näyttö, jossa tapahtuu analysaattorin toiminnan ohjaus ja tulosten käsittely (Beckman Coulter Inc. 2009b, 15, muokattu).

6.2.1 Signaalien käsittely

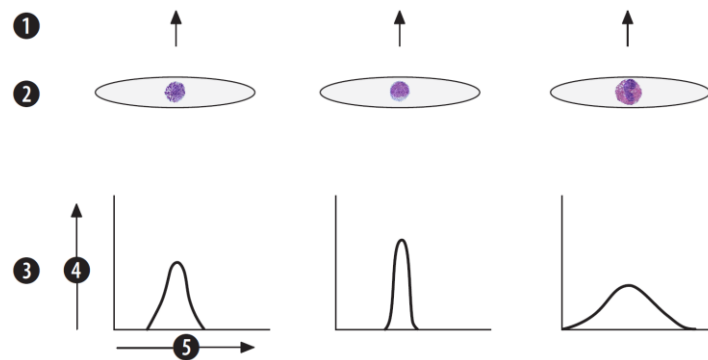
Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrillä on 12 detektoria, joita ovat suorasiironta-, sivusiironta- ja fluoresenssidetektorit. Suora- ja sivusiironnalla on molemmilla oma fotodiodidetektor ja fluoresenssivalolla on kymmenen valomonistinputkidetektoria. Signaalin jännitepulssi muodostuu solun mennessä lasersäteen läpi. Se on verrannollinen detektoreilla havaittavaan valon intensiteettiin eli voimakkuuteen. Virtaussytometrin elektroniikka vahvistaa, mukauttaa, yhdistää ja analysoi näitä pulsseja. (Beckman Coulter Inc 2009a, 51.)

Signaalien huippu muodostuu, kun solu läpäisee lasersäteen. Valon siirron intensiteetti ja fluoresenssi määräävät signaalin huipun voimakkuuden. Huippusignaalin muodostuminen esitetään kuvassa 15. Ensin solu tulee sisään lasersäteen valoakeilaan, jolloin säde osuu vain vähän soluun saaden osan valosta siroma. Solu liikkuu lasersäteen keskelle ja siirron sekä pulssin voimakkuus on maksimissa tässä vaiheessa. Tämän jälkeen solu jättää lasersäteen ja siroava valo heikkenee. Pulssin leveys kertoo määrittymiseen menneen ajan. Siksi kokonaisfluoresenssi eli intensiteetti ja kulunut aika määritetään koko pulssin alueena. (Beckman Coulter Inc 2009a, 51–52.)



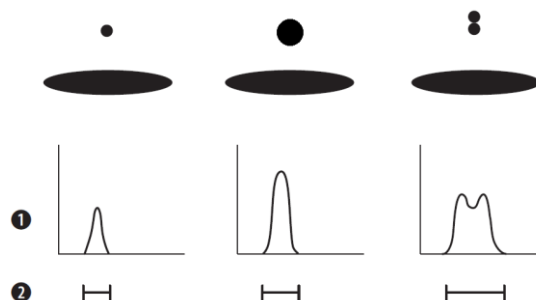
KUVA 15. Huippusignaalin muodostuminen kuvaajalle, kun solu ohittaa lasersäteen. Kuvassa on mukana: 1. lasersäde, 2. solu, 3. jännite voltteina, 4. kulunut aika ja 5. pulssin korkeus. (Beckman Coulter Inc 2009a, 52; Ek 2009, 37, muokattu.)

Erilaisilla soluilla voi olla sama kokonaisfluoresenssi, mutta eri fluoresenssin intensiteetti, jolloin ne tuottavat erilaiset huippupulssit. Erilaisten huippupulssien syntyminen on kuvassa 16. Kokonaisfluoresenssin ollessa eri solulla sama, mutta jakauman erilainen, elektroniikka yhdistää pulssin yhtenäiseksi signaaliksi. Pulssin voimakkuus on verrannollinen kokonaisfluoresenssiin ja se saadaan solun kohdatessa lasersäteen valo-keilan. Pulssin alue on verrannollinen kokonaisfluoresenssille. Pulssin huippukohta kuvaa erittäin voimakasta fluoresenssia. (Beckman Coulter Inc 2009a, 52–53.)



KUVA 16. Erilaisten solujen signaalien syntyminen: 1. näytevirran suunta, 2. solu lasersäteessä, 3. huippupulssi, 4. jännite voltteina ja 5. aika (Beckman Coulter Inc 2009a, 53; Ek 2009, 20, 37, muokattu).

Pulssin huipun leveys on mitattu ja se voidaan yhdistää mihin tahansa huippusignaaliin. Pulssin vahvistimista kaksi ovat verrannollisia läpikulkuajalle eli partikkelin liikkumiseen lasersäteiden läpi ja solun koon laskemiselle. Tämä on esitetty kuvassa 17. Kuvassa ylhäällä olevat mustat pallot kuvaavat soluja. Valokeila on säädetty normaaliksi virtaus-sytometrissä niin, että lasersäteiden leveyden vaikutuksien annetaan heikentyä läpikulku-mittauksessa. (Beckman Coulter Inc 2009a, 53.)



KUVA 17. Läpikulkuajan pulssin muodostuminen koostuu: 1. pulssin korkeudesta sekä muodosta ja 2. läpikulkuajasta (Beckman Coulter Inc 2009a, 54, muokattu).

Jotkut jännitepulssit täytyy olla vahvistettu niin, että solujen ominaisuudet voidaan havaita. Järjestelmä lisää hyötyä lineaarisesti vahvistamalla yhtenäisen, huippu- ja läpikulkuajansignaalin. Lineaarista vahvistusta ja huippusignaalin tietoja muutetaan logaritmisesti. Logaritminen muutos korostaa eroja pienien pulssien välillä ja heikentää eroja suurten pulssien välillä. (Beckman Coulter Inc 2009a, 54.)

6.2.2 Protokollat ja parametrit

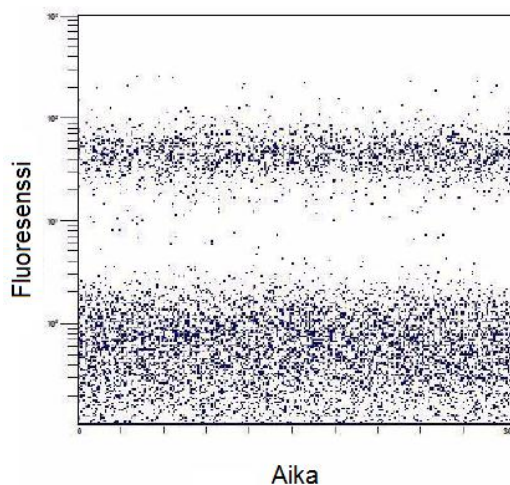
Protokollat ovat informaation kokoelma virtaussytometrin ja Navios-ohjelman asetuksista. Protokollat voidaan luoda hankituille näytteille tai analysoitavalle varastotiedolle. Ne koostuvat asetelman näkymisestä, parametrien nimistä sekä asetelmista, alueista, porteista, värien tarkkuuksista, tilastotiedoista, laitteen asetuksista ja tiedottamisen perustasta. (Beckman Coulter Inc 2009a, 55; Kemppi 2012b.)

Laatukontrollien protokollien nimet alkavat QC-lyhenteellä eli Quality Control. Ne ovat laatukontrolliasetuksia ja lyhennettä käytetään, jotta tieto saadaan muotoiltua yhdelle merkitsevälle riville. Tuloksia voidaan julkaista myös Excel-muotoisena. (Beckman Coulter Inc 2009a, 55.)

Pesuprotokollien alut nimetään Cleanse-lyhenteellä. Laitteasetusprotokollien nimessä on AS-lyhenne, joka tulee sanasta AutoSetup. Näitä käytetään määriteltäessä jännitteitä, vahvistuksia ja kompensatioita. Pesuprotokollista voidaan muodostaa pesuputkien paneeli. Paneelin mukaiset putket ajetaan työpäivän päätteeksi. (Beckman Coulter Inc 2009a, 55; Kemppi 2012b.)

Laite tuottaa monia parametreja, joita voidaan tilastoida. Parametri on näytteen solupulaatiosta tuotettu numeerinen, tilastoitavissa oleva arvo. (Turgeon 2005, 495.) Jokaisesta solusta saadaan kaksitoista parametriä, joita ovat suorasisironta-, sivusironta- sekä kymmenen fluoresenssiparametriä. Aikaparametri on kolmastoista parametri. Aikaparametri esitetään fluoresenssikuviossa ja siihen syntyy leima jokaisesta tapahtumasta. Fluoresenssikuvio voi vaihdella tasaisesta vaihtelevaan riippuen nesteistä ja optiikan kunnosta. Siitä voidaan päätellä mittauksen laatua selvitetessä onko analysaattorin virtaus tasaista tai onko siinä katkoksia. Kuvassa 18 on esimerkki aikaparametrin kuvasta.

Suhteelliset parametrit lasketaan kaavan avulla, eikä niitä saada suoraan kuvaajasta. (Beckman Coulter Inc 2009a, 56; Kemppi 2012.)



KUVA 18. Aikaparametrin fluoresenssikuvaaja (Beckman Coulter Inc 2009a, 56, muokattu).

6.3 Paineyksikkö, käyttöliuokset ja huollot

Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin alapuolella tai lähetyvillä on kompressorin, virtajärjestelmä ja liuoksia, joita tarvitaan laitteen käytössä. Kompressorin tehtävänä on paineistaa analysointinäytteenkulkuletkut sekä virtauskammio. Liuokset ovat omilla astioillaan kompressorin päällä. Astioissa on vaippaliuos ja jätenestettä, joka tulee analysointinäytteenkulkuletkusta jätteenkulkuletkuun. (Beckman Coulter Inc 2009a, 35.) Fimlab Laboratoriot Oy:llä virtaussytometrin jäteluos menee suoraan viemäriin, koska viemäriä vahingoittavien aineiden konsentraatio on todella pieni (Kemppi 2012d).

Vaippaliuoksen lisäksi virtaussytometrillä käytettäviä liuoksia ovat näytteisiin lisättävät vasta-aine-reagenssit. Reagenssit säilyvät avaamattomana pakkauksessa merkittävään viimeiseen käyttöpäivään saakka. Avattuna ne säilyvät valmistajasta riippuen yhdeksänkymmentä päivää tai siihen asti, kunnes reagensseissa havaitaan muutoksia. Monoklonaliset vasta-aineet säilytetään jääkaappilämpötilassa. Ne eivät saa jäätyä ja ne pidetään valolta suojattuna. Kun reagensseja käytetään, pidetään ne viileänä jäähauteen päällä. (Kemppi 2012d.)

Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrille tehdään huoltoja päivittäin, viikoittain, kuukausittain ja vuosittain. Jokaisena käyttöpäivänä tarkistetaan paineet ja tehdään FlowClean Cleaning Agent -pesuliuksella ja vesisarjalla päiväpesu. Kerran viikossa suoritetaan pidempi pesuohjelma, jossa käytetään hypokloriitti- ja FlowClean Cleaning Agent -pesuliuosta sekä vesisarjoja. Viikkohuoltoon kuuluu näyteneulan pesu ja kuukausihuoltoon sheat- ja cleaning-astian pesut. Kuukausihuoltoon kuuluu myös suodattimien puhdistus. Vuosihuollossa vaihdetaan tietyt osat virtaussytometriin, jonka suorittaa huoltomies. (Kemppi 2012d.)

7 NÄYTTEIDEN ANALYSOINTI JA TULOSTEN KÄSITTELY

Fimlab Laboratoriot Oy:ssä analysoidaan päivässä keskimäärin viidestä viiteentoista lymfosyyttidiffinäytettä. Muita hematologisia markkerimääryksiä tehdään yleensä enimmillään kymmenen päivässä. Määrytyksen kokonaiskesto aika yhdelle lymfosyyttidiffinäytteelle on noin tunti. Toiset määrytykset vievät enemmän aikaa kuin toiset, koska näytteiden pipetointi putkiin, putkien määrä ja analysointi aika vaihtelevat eri paneeleissa. Fimlab Laboratoriot Oy:ssä yleisimmät näytteet ovat veri- ja luuydinnäytteitä.

Tässä luvussa käsitellään näytteiden yleistä esikäsittelyä sekä analysoimista, jota painotetaan lymfosyyttidiffi-analyysin näkökulmasta työelämän yhteyshenkilön toiveiden mukaisesti. Muiden hematologisten markkerimäärytysten esikäsittelyä ja analysointia ei käsitellä tarkemmin, koska niitä on paljon, eikä niiden luetteleminen ole ymmärtämisen kannalta oleellista. Luvun lopussa käsitellään myös tulosten analysointia sekä työturvallisuutta ja ergonomiaa.

7.1 Näytteiden esikäsittely ja määrytykset

Näyte on tyypillisimmin perifeeristä verta, luuydintä tai ruumiinontelonesteitä. Nämä ovat käsittelyn kannalta ihanteellisia, koska ne ovat valmiiksi solususpensiona. Suspensio koostuu toimintakykyisistä yksittäisistä soluista. Myös solukasat tai solujätteet voivat häiritä analyysiä. Immunofenotyypityksessä voidaan käyttää myös kiinteitä kudoksia, kun epäillään pahanlaatuista hematologista kasvainta. (Kotlyo 2002, 549; Craig 2004, 424; Czader 2007, 454.)

Perifeerinen veri ja luuydinnäytteet otetaan antikoagulanttiputkeen, joko hepariiniputkeen tai EDTA eli etyleenidiamiini tetra-etikkahappoputkeen. Luuydinbiopsia- sekä kiinteäkudosnäytteet kuljetetaan ravintonesteessä tai käärittynä fysiologisella keittosuolaliuoksella kostutettuun harsoon, jotta niissä olevat solut säilyttävät elinkykyisyytensä. (Czader 2007, 454.) Näytteiden kuljetus ja säilytys tapahtuu huoneenlämmössä, eikä näytteitä saa pitää kylmässä. Näytteet pyritään saamaan mahdollisimman nopeasti laboratorioon analysoitavaksi. (Fimlab Laboratoriot Oy 2011.)

Jos näyte on plasminen eli kun näyte sisältää plasmaa, se pitää pestä pois. Esimerkiksi perifeerinen veri ja luuydin ovat plasmisia näytteitä. Kun näistä näytemateriaaleista on tarkoitus määrittää lambda- sekä kappa-aste-aineet, tehdään pesut HBSS-pesuliuksella kaksi kertaa peräkkäin. Tällöin pestään plasma pois. Tämän jälkeen lisätään PBS+BSA-liuosta, jossa on PBS- eli fosfaattipuskuroitua suolaliuosta ja BSA-proteiineja. PBS-liuos toimii laimentimena ja BSA-proteiineja lisätään, jotta reagenssit toimivat oikein. (Kemppi 2012a.)

Jos lymfosyyttien määrä lymfosyyttidiffinäytteessä on yli $5 \times 10^9/l$, näyte pitää laimentaa. Hematologisilla potilailla voi lymfosyytit olla yli $100 \times 10^9/l$. Ihmisen immuunipuutosviruksen infektoimilla potilailla lymfosyytit ovat usein alhaiset ja harvoin niiden määrä on yli $5 \times 10^9/l$. (Catovsky, Matutes & Morilla 2006, 336; Kemppi 2012a.)

Lymfosyyttidiffi-analyysissä jokaiselle näytteelle varataan kaksi putkea. Putkiin pipetoidaan eri reagensseja, jotka sisältävät vasta-aineita paneelin mukaan. Paneelilla tarkoitetaan reagenssien eli monoklonaalisten vasta-aineiden pipetointiohjetta, joka voidaan esittää esimerkiksi taulukkomuodossa. Käytettävät monoklonaaliset vasta-aineet paneelissa määräytyvät selvitettävän taudin tai tilan mukaan. Liitteessä 3 on esitetty esimerkipaneeli. Molemmista putkista saadaan selvitettyä lymfosyyttimäärä. Tuloksia vertailemalla saadaan selville pipetointitarkkuuden laatu. Toisesta putkesta saadaan CD4-CD8-suhde ja toisesta lasketaan CD19- ja CD56 -positiivisten solujen määrä. Putkeen pipetoidaan reagenssit joko reagenssiseoksena tai yksitellen ja erikseen omina liuksina. Lymfosyyttidiffi-analyysissä käytetään reagenssiseosta. (Kemppi 2012a.)

Tämän jälkeen putkeen pipetoidaan hyvin sekoitettu veri elektronisella pipetillä käänteisellä menetelmällä, koska veri on viskoosia ainetta. Ennen kärjen laittamista putkeen, se pyyhkitään sellulapulla niin, että sisään pipetoitu liuoksen tilavuus ei muutu. Pipetointi tapahtuu putken pohjalle seinämää vasten. Pipettiä pois ottaessa kärki ei saa osua reunoihin, jottei tilavuus kasva tai solut jää värjäytymättä. Tämä voi aiheuttaa mittaukseen häiriötä. Tämän jälkeen näyte sekoitetaan Vortex-sekoittajalla. (Kemppi 2012a.)

Seuraavaksi näytettä inkuboidaan 15 minuuttia pimeässä huoneenlämmössä. Inkuboinnin jälkeen punasolut hajotetaan eli lyysataan lisäämällä lyysausliuosta. Sen jälkeen lymfosyyttidiffinäytettä inkuboidaan uudestaan 15 minuuttia. Lyysauksen inkubointi-

aika on tarkka, sillä pidentynyt aika altistaa suora- ja sivusironnan muutoksille. Liian lyhyt aika jättää punasolut ehjiksi, mikä saa kuvaajaan piirtymään jätteet ja tuloksesta tulee epätarkka. (Catovsky ym. 2006, 336; Kemppi 2012a; Kemppi 2012d.) Lyysauksen jälkeen lymfosyyttidiffinäytteessä ei tehdä enää muita pesuja, koska tässä analyysissä mitataan leukosyyttien absoluuttista arvoa. Muissa analyyseissä pestään tässä vaiheessa kiinnittymättömät vasta-aineet pois, koska niissä mitataan prosentti-arvoja. (Pankko 2012e.)

Ennen mittausta näyteputken pohjalle pipetoidaan latex-helmiä samalla pipetillä millä näyte on lisätty. Näin vältetään pipetin tilavuudesta johtuvaa häiriötä. Lopuksi näyte sekoitetaan Vortex-sekoittajalla. Helmien avulla lasketaan leukosyyttien määrä suoraan verrannollisesti, kun helmien konsentraatio eli helmien pitoisuus liuoksessa on tunnettu. (Kemppi 2012a.) Niiden konsentraatio on eräkohtainen ja syötetään informaationkäsittely-yksikölle ennen ajoa. Helmien avulla saadaan laskettua absoluuttiset arvot. (Pankko 2012e.)

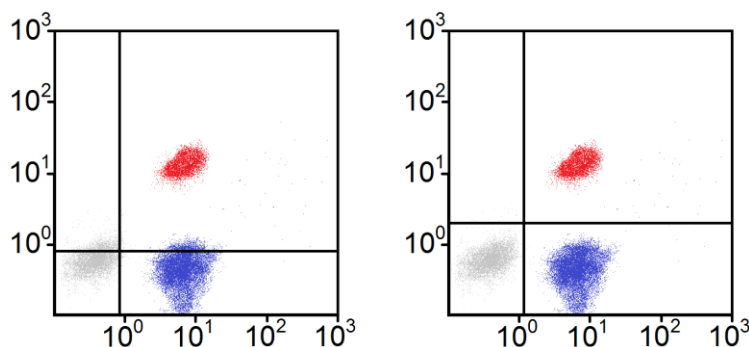
Tietokoneelle tehdään työjono, johon syötetään potilaan henkilötunnus ja nimi, näyte-numero sekä lymfosyyttimäärä Sysmex®-verenkuva-analysaattorilta. Näyteputket siirretään tiettyyn järjestykseen karuselliin työjonon määräämään paikkaan. Ajo käynnistetään näytöltä. (Beckman Coulter Inc 2009b, 100; Kemppi 2012a.)

Tietokoneelle tallentuu informaatiota monista tuhansista soluista tai partikkeleista ja sitä varastoidaan tietokoneelle lisäanalyysejä varten (Craig 2004, 421). Analysaattori kerää lymfosyyttidiffinäytteessä 600 tapahtumaa eli virtauskammion läpimeneviä lymfosyyttejä. Jos näytteen lymfosyyttimäärä on vähäinen, kerätään tapahtumia kolmensadan sekunnin ajan. Näiden tapahtumien avulla saadaan määritettyä tulokset. Helmien konsentraatiota käytetään kalibroitukertoimena laskussa, jotta saadaan laskettua lymfosyyttitulokset. (Kemppi 2012a.)

7.2 Tulosten analysointi

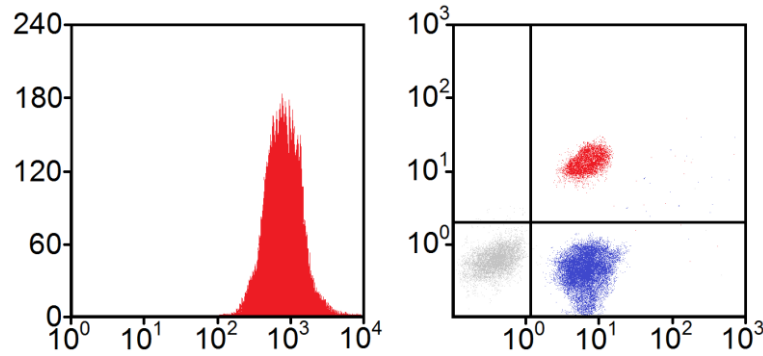
Tuloksia analysoidaan näytölle tulostuvilta kuvaajilta ja tulosteliuskoilta. Kuvaajien ulkomuoto ja tulosteliuskojen numeroarvot tarkistetaan ennen tulosten vastaamista pyy-

tävälle yksikölle. Kuvaaja on jaettu neljään osaan pysty ja vaakaviivin, niiden jakamia osia kutsutaan neljänneksiksi. Rajauksia voidaan muokata sopiviksi siirtämällä pysty- ja vaakaviivoja, jotta solut asettuvat oikeisiin neljänneksiin. Siten tietoyksikkö pystyy laskemaan oikeat arvot neljänneksiin asettuneiden solupopulaatioiden mukaan. (Kemppi 2012a; Turgeon 2005, 495.) Kuvassa 19 vasemmanpuoleista kuvaajaa ei ole muokattu, kun taas oikeanpuoleinen kuvaaja on laboratoriohoitajan muokkaama.



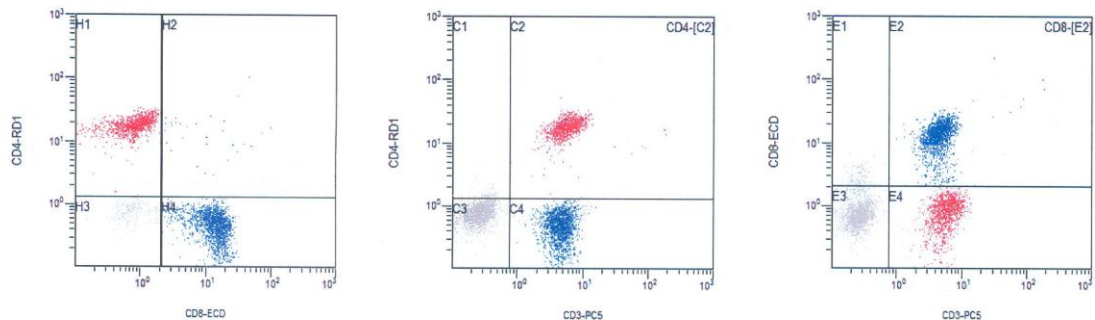
KUVA 19. Kuvaajat ennen muokkausta (vasemmalla) ja muokkauksen jälkeen (oikealla) (Kemppi 2012a, muokattu). Muokkaus on tapahtunut harmaan negatiivisen alueen mukaan, niin että vaakaviiva ei ole sen päällä (Pankko 2012a).

Näytölle tulostuu yhden- ja kahden parametrin kuvaajia. Yhden parametrin histogrammeilla esitetään yhden parametrin mittausta. Siinä x-akselilla on fluoresenssin tai valon sironnan voimakkuus ja y-akselilla tapahtumien lukumäärä eli lasketut solut. Sitä käytetään vain laaduntarkkailussa. Kahden parametrin kuvaajassa esitetään kahden parametrin mittaukset sekä x- että y-akselilla. Se voidaan esittää tiheyskuvaajana, joka on jaettu neljänneksiin. Mitattavat parametrit voivat olla sivu- tai suorasirota tai fluoresenssi ja mittaukset perustuvat fluoresoivien ja ei-fluoresoivien solujen erotteluun. Kahden parametrin kuvaajissa on mahdollisuus analysoida tarkemmin yhtä solupopulaatiota monista solupopulaatioista sekä jätteistä. (Rahman 2005, 18, 20; Turgeon 2005, 495.) Kuvassa 20 esitetään yhden parametrin histogrammi ja kahden parametrin kuvaaja.



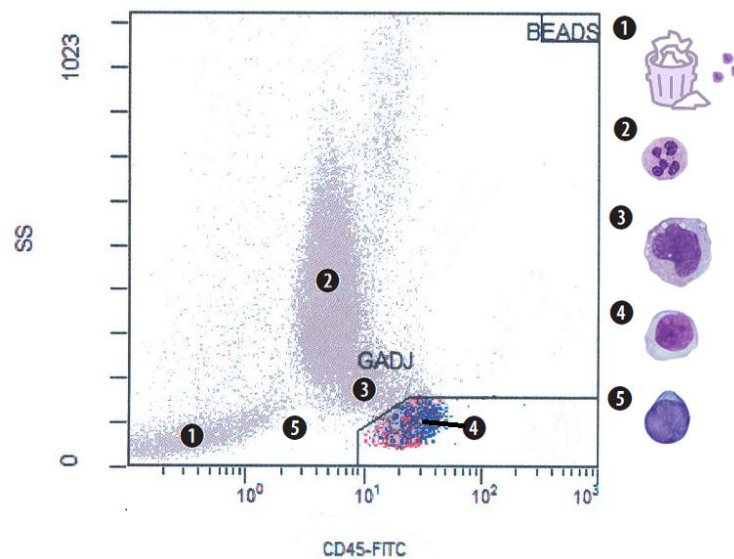
KUVA 20. Yhden parametrin histogrammi (vasemmalla) ja kahden parametrin kuvaaja (oikealla) (Rahman 2005, 18, 20, muokattu).

Neljänneksiä käytetään erottamaan erilaisia solujen ominaisuuksia, kun samassa kuvaajassa tarkastellaan monia solupopulaatioita. Siinä erotellaan negatiiviset, yksittäiset positiiviset ja kaksoispositiiviset solupopulaatiot toisistaan. Negatiivinen solupopulaatio sijoittuu vasempaan alaneljännekseen ja kaksoispositiiviset solut sijoittuvat oikeaan yläneljännekseen. Yhden solupopulaation tarkastelu tapahtuu eri tavalla kuin usean solupopulaation histogrammin tarkastelu. Siinä negatiivinen solupopulaatio pysyy samassa neljänneksessä, mutta loppujaottelu riippuu solujen CD-antigeeneistä. Mittaus voi tapahtua kahdella CD-parametrilla, jolloin CD-antigeenin suhteen positiiviset solut asettuvat kuvaajalla joko vasempaan yläneljännekseen tai oikeaan alaneljännekseen. Jos solu on molemmille CD-antigeeneille positiivinen, silloin se näkyy oikeassa yläneljänneksessä. Jokainen piste kahden parametrin kuvaajalla on määritelty tietyksi määräksi tapahtumia, esimerkiksi yksi piste kuvaajalla voi tarkoittaa sataa mitattua solua. (Turgeon 2005, 495; Kemppi 2012a; Pankko 2012a.) Kuvassa 21 on havainnollistettu solupopulaatioiden asettuminen eri neljänneksiin.



KUVA 21. Vasemmalla on tarkasteltu monen solun populaatiota. Keskellä ja oikealla on tarkemmassa tarkastelussa yksittäiset solupopulaatiot. (Kemppi 2012a, muokattu.)

Solupopulaatiot muodostuvat kuvaajaan omille alueilleen, jotka on esitetty kuvassa 22. Eroteltavia solupopulaatioita ovat blastit, lymfosyytit, monosyytit ja granulositytit sekä solujätteet ja trombosyytit. Ne voidaan ympäröidä graafisilla rajoilla ja tätä tehdessä puhutaan rajauksista. Rajauksia kuvataan englanninkielisellä sanalla ”gating”, josta on muodostunut suomenkielinen ammattitermi ”geittaus”. (Rahman 2005, 16; Turgeon 2005, 495; Kemppi 2012a.)



KUVA 22. Solujen jakautuminen kuvaajalle: 1. roskat, solujätteet ja trombosyytit, 2. neutrofiilit, 3. monosyytit, 4. lymfosyytit ja 5. blastit. (Ek 2009, 20, 23, 28, 36; Kemppi 2012a, muokattu). Tämä kuvaaja on normaalinäytteestä eikä siinä esiinny blasteja. Niiden mahdollinen esiintymispaikka on kuitenkin merkitty kuvaajaan.

Pyytävälle yksikölle lähetetään tulosliuskan tulokset erillisen tietokoneohjelman avulla, koska Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrin tietokoneelta ei ole yhteyttä potilastietojärjestelmään. Primaaritulostetta eli analysaattorin tietokoneelta tulostettua tulosteliuskaa ja kuvaajia säilytetään laboratoriossa puoli vuotta, jotta niitä voidaan tarkastella vielä jälkepäin. (Kemppi 2012a.)

7.3 Laadunvarmistus virtaussytometriassa

Kaikissa laboratorion tutkimuksissa arvioidaan tarkkuutta ja toistettavuutta. Virtaussytometrisissä määrittelyissä on tärkeää menetelmän huolellinen validointi, kalibrointi ja

laitteiden toimintakunnon varmistaminen. Määrittämisestä riippuen laatua painotetaan eri tavoilla, esimerkiksi osoitetaan pinta-antigeenien mukaan jaoteltuja soluja, mitataan solujen määrää vai tulkitaan kuvaajia. (Mahlamäki 1999, 124; Perkins 2009, 1–2.)

Sisäiseen laadunvarmistukseen kuuluu päivittäin eri parametrien seuraaminen, joissa apuna käytetään helmiä. Näin säilyy toistettavuus tulostasossa. Jos niitä säädetään, pitää tarkistaa kompensatioasetukset normaaleilla soluilla, joiden immunofenotyypityksessä ei esiinny kaksoispopulaatiota. Yli- ja alikompensaatiota voidaan havaita solususpensiolla, jossa on mukana ei-ekspressoivia eli ei-ilmentäviä ja erittäin hyvin ekspressoivia eli ilmentäviä soluja. Näiden lisäksi laitteen mittaustason lineaarisuutta varmistetaan kontroleilla, jotka ovat päällystetty erivahvaisilla fluorokromeilla. Negatiiviset kontrollit ovat ihmisten soluja, joihin ei pidä kiinnittyä vasta-aineita. Nämä vasta-aineet kiinnittyvät normaalisti näyte- ja positiivisiin kontrollisoluihin. Negatiivisia kontroleja käytetään epäspesifisen sitoutumisen kontrolloimiseksi sekä rajattaessa negatiivista ja positiivista soluryhmää. Negatiivisten kontrollien tekeminen on vähentynyt, kun on siirrytty monivärianalyysiin. Kontrollierän vaihtuessa tarkistetaan tavoitearvot ja sen toimivuus. Laitteen tausta-arvojen puhtaus mitataan negatiivisten helmien avulla. (Mahlamäki 1999, 124–126; Perkins 2009, 2; Kemppi 2012a.)

Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrille tehdään lymfosyyttidiffikontrollit noin kaksi kertaa viikossa. Laitteen kontrollointi tapahtuu myös seuraamalla ja vertailemalla Sysmex XE5000 -solulaskimen lymfosyyttimäärää ja Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin TBNK-tulosta. TBNK-tulos sisältää T-, B- ja NK-solujen yhteenlasketun määrän. (Kemppi 2012a.) Helmillä analyysoiti kontrolloidaan jokaisena työpäivänä ja CD34-määritys tehdään kerran viikossa (Kemppi 2012c).

Laboratorioiden on hyvä osallistua ulkoisiin laadunarviointikierroksiin, mikäli niitä on saatavilla. Kotimaisia Labquality-kierroksia ei ole saatavilla, mutta kansainvälisiä ulkoisia laadunarviointikierroksia on UK NEQAS:illa (Wahlstedt 2012). Fimlab Laboratoriot Oy:llä on käytössä CD34, LyDiffi, PNH, Leukemia ja MRD -laadunarviointikierrokset. (Mahlamäki 1999, 126; Kemppi 2012d.)

7.4 Työturvallisuus ja ergonomia

Työturvallisuudella tarkoitetaan työntekijöiden työolosuhteiden turvallisuutta. Työnantajalla on velvollisuus huolehtia turvallisesta työnteosta työturvallisuuslain mukaan. Työturvallisuuteen liittyviin asioihin on kiinnitettävä huomiota erityisesti, kun työntekijä tai opiskelija harjoittelee uutta työtehtävää (Jokinen ym. 2009, 269). Kokeneet työntekijät saattavat tunnistaa työpaikan vaaratekijät. Perehdyttäjän on ilmoitettava työntekijälle työpaikan haitta- ja vaaratekijöistä. Niitä voivat olla esimerkiksi tartuntavaaralliset näytteet tai reagenssit. Fimlab Laboratoriot Oy:llä virtaussytometreillä käytettävät reagenssit ovat käytössä turvallisia, mutta jos reagenssia roiskuu iholle, on se huuhdeltava vedellä. Jotkut tumaan menevät väriaineet saattavat kuitenkin olla karsinogeenisiä. Tämä ja näytteiden tartuntavaarallisuuden riski tulee huomioida työskentelyssä käyttämällä suojakäsineitä. Työturvallisuutta suunniteltaessa pitää huomioida myös työnteon turvallisuuteen, työntekijän terveyteen ja ergonomiaan liittyvät asiat. Vuosittain on hyvä varmistaa työpaikan käytännöt ja niihin liittyvät riskitekijät sekä liittää ne perehdyttämissuunnitelmaan. (Kupias & Peltola 2009, 23–25; Kemppi 2012d.)

Kun suunnitellaan uusia työtiloja ja työtehtäviä, pitää muistaa huomioida ergonomia. Hyvä ergonomia on ennaltaehkäisevää ja sillä voidaan ehkäistä esimerkiksi tuki- ja liikuntaelimestön vaivoja. Mikäli vaivoja kuitenkin ilmenee, niitä voidaan parantaa tai lieventää korjaavalla ergonomialla. Työntekijän hyvän ergonomian ajattelutapa tulisi näkyä päivittäisessä toiminnassa sekä valinnoissa ja ratkaisuissa. (Sillanpää 2006, 111.) Esimerkiksi pipetoitaessa tulisi huomioida istumakorkeus ja -asento, työtason korkeus sekä pipetointiasento ja pipetin ergonomiset ominaisuudet.

8 HEMATOLOGISTEN TILOJEN DIAGNOSTIIKKA

Virtaussytometriasta on tullut tärkeä menetelmä diagnosoinnissa, luokittelussa ja jännöstautien osoituksessa potilailla, joilla on pahanlaatuisia hematologisia sairauksia (McCurley & Greer 2009, 1509). Fimlab Laboratoriot Oy:llä yleisimpiä hematologisia markkeritutkimuksia ovat leukemiat, jännöstaudin seuranta, myeloomat, lymfoomat, immuunipuutostilat sekä kantasolusiirrot (Fimlab Laboratoriot Oy 2006; Kemppe 2012a).

8.1 Hematologiset sairaudet

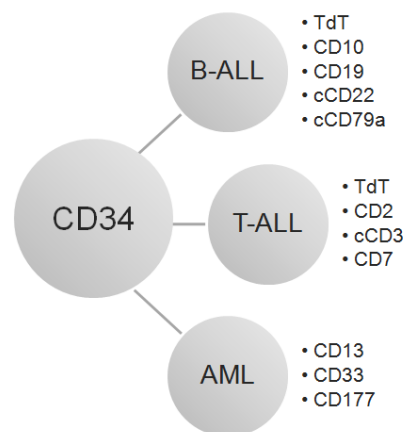
Akuutit leukemiat

Akuuteilla leukemioilla tarkoitetaan pahanlaatuisia verisairauksia, joissa normaalin verenmuodostuksen sijaan blastit lisääntyvät ensin luuytimessä ja myöhemmin niitä ilmaantuu myös perifeeriseen vereen. Akuutit leukemiat jaetaan kahteen ryhmään, akuutteihin lymfaattisiin ja myeloisiin leukemioihin. Harvinaisempia tapauksia ovat erilaisumattomat ja molempien solulinjojen sekapopulaatioleukemia. Akuutteja lymfaattisia ja myeloisia leukemioita määritetään erilaisilla kriteereillä, muun muassa immunofenotyypeillä. (Elonen 2007, 285; Hoffbrand & Mehta 2009, 50; Hoffbrand & Moss 2011, 179.)

Akuuteissa leukemioissa esiintyy blastisoluja 20 % tai enemmän luuytimessä tai perifeerisessä veressä. Diagnoosi voidaan kuitenkin tehdä, vaikka blastisoluja olisi vähemmänkin. Jos niitä on vähemmän kuin 20 %, diagnoosin saamiseksi täytyy havaita akuuteille leukemioille tyypillisiä sytogeneettisiä tai molekyylogeneettisiä muutoksia. Akuuttia leukemiaa tutkitaan mikroskopialla, immunofenotyyppityksellä, sytogeneettisillä ja molekyyllisillä analyyseillä. Näiden tutkimusten avulla solut voidaan jakaa lymfaattiseen ja myeloiseen linjaan. (Hoffbrand & Moss 2011, 179.)

Immunofenotyyppityksellä luokitellaan akuutit leukemiat myeloiseen ja lymfaattiseen, jota voidaan tarkentaa vielä B- ja T-solutyyppeihin. Useita geneettisiä solutyyppejä

esiintyy B-solulinjassa, T-soluilla näitä on vähemmän. Akuutissa myeloisessa leukemiassa tyypilliset immunofenotyypit ovat $CD13^+$, $CD33^+$ ja $CD117^+$. Akuuteissa lymfaattisissa B-soluleukemioissa tyypilliset immunofenotyypit ovat $CD10^+$, $CD19^+$, $cCD22^+$, $cCD79a^+$ ja TdT^+ . Akuuteissa lymfaattisissa T-soluleukemioissa immunofenotyypit ovat puolestaan $CD2^+$, $cCD3^+$, $CD7^+$ ja TdT^+ . (Paraskevas 2009, 31; Hoffbrand & Moss 2011, 179, 224, 228.) Kuvassa 23 on koottuna akuuttien leukemioiden immunofenotyypit.



KUVA 23. Akuuttien leukemioiden CD-luokittelu (Hoffbrand & Moss 2011, 180, muokattu).

Myeloproliferatiiviset sairaudet

Kroonisessa myeloisessa leukemiassa valkosolumäärät kohoavat, erityisesti neutrofiilien ja basofiilien määrät nousevat perifeerisessä veressä. Taudissa leukemiakantasolujen antigeenejä ei täysin tunneta, mutta ne ovat yleensä $CD34$ -positiivisia ja usein myös $CD56$ - sekä $CD90$ -positiivisia. Niissä ei ole $CD38$ -antigeenia ja muiden erilaistumisan-tigeenien suhteen negatiivisia. Virtaussytometrinen analyysi on hyödyllinen, kun blastiteja on 20 % tai enemmän eli blastikriisin aikana määritettäessä blastien linjaa. Kroonisessa myeloisessa leukemiassa diagnoosi tehdään kuitenkin sytogeneettisellä tutkimuksella, jossa Philadelphia-kromosomin translokaatio on tyypillinen. (Hoffbrand & Mehta 2009, 55; Larson, Rabinowitz & Reichard 2009; Mustjoki 2011, 11; Pankko 2012a.)

Myelodysplastisissa oireyhtymissä blastin immunofenotyyppi on $CD66^+$, $CD11a^+$, $CD116^+$, $CD10^+$. Lisäksi $CD7$ esiintyminen on huonon ennusteen merkki. Morfologial-

taan myelodysplastinen syndrooma on vaikea diagnosoida, mutta sideroblastit helpottavat sitä. Kun veressä on paljon epäkypsiä soluja, ne ilmentävät CD95 antigeeniä, jolloin soluista tulee vähemmän alttiita apoptoosiin. Taudissa voi esiintyä myös paroksysmaalisen yöllisen hemoglobinurian eli PNH:n kloonija. Kloonija voidaan tutkia immunofenotyypityksessä käytettävän FLAER-proteiinin avulla. Sillä selvitetään GPI:n eli glykofosfoinositolin-molekyylien puutosta. Neutrofiilit ovat CD24-antigeenien ja FLAER:in sekä monosyytit CD14-antigeenien ja FLAER:in suhteen negatiivisia PNH-klooni tapauksissa. Myös punasoluista voidaan tutkia PNH-kloonija. (Fimlab Laboratoriot Oy 2009; Paraskevas 2009, 31; Kemppi 2012c; Kemppi 2012d.)

Multippeli myelooma

Multippeli myelooma on hematologinen kasvaintauti, jossa luuytimeen kerääntyy patologisia plasmajoluja. Plasmajolut erittävät plasmaan tai virtsaan monoklonaalista immunoglobuliinia tai osaa sen rakenteesta. (Remes 2007, 454; Hoffbrand & Moss 2011, 273.)

Diagnosoinnin pääkriteereinä käytetään monoklonaalisen proteiinin ilmestymistä seerumiin tai virtsaan, patologisten plasmajolujen lisääntymistä luuytimessä ja kudosisiopian plasmajytoomaa. Malignien plasmajolujen immunofenotyypisiä piirteitä ovat korkeat CD38- ja CD138-antigeenit sekä matala CD45-antigeeni. (Remes 2007, 461; Hoffbrand & Moss 2011, 273, 277.) Multippelin myelooman oireet ratkaisevat yleensä hoidon aloittamisen. Hoitovastetta arvioidaan vertaamalla poikkeavan antigeeni-ilmentymän omaavien plasmajolujen osuutta diagnoosivaiheen löydökseen. Tämä on multippelin myelooman jäännöstaudin seuraamista. (Pankko 2012a.)

Krooninen lymfaattinen leukemia

Krooniset lymfaattiset leukemiat luokitellaan B- ja T-solujen mukaan. Kroonisen lymfaattisen leukemian T-soluhäiriöt ovat harvinaisempia kuin B-soluhäiriöt. Ne voidaan kuitenkin luokitella neljään ryhmään. Krooninen lymfaattinen leukemia, prolymfosyytileukemia, karvasoluleukemia ja plasmajoluleukemia ovat B-soluleukemioita. LGL-

leukemia eli suuri granulaarinen soluleukemia, T-prolymfosyytileukemia, aikuisten T-soluleukemia ja Sézaryn oireyhtymä kuuluvat T-soluleukemioihin. (Gibson, Johnston & Seftel 2009, 2227; Hoffbrand & Moss 2011, 235.)

Kroonisessa lymfaattisessa leukemiassa ja prolymfosyytileukemiassa esiintyy lymfocytoosia eli lymfosyyttien määrän kasvua. Krooninen lymfaattinen leukemia on immunofenotyyppiltään CD5⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD23⁺ ja CD43⁺. Prolymfosyyttisessä leukemiassa CD19, CD20, CD22, CD23, CD79b, CD43 ovat positiivisia. Karvasoluleukemiassa esiintyy tavallisesti pansytopeniaa eli kaikkien solulinjojen puutosta, erityisesti neutro- ja monosytopeniaa eli neutrofiilien ja monosyyttien puutosta perifeerisessä veressä. Karvasoluleukemian varianttimuodossa leukosyyttiarvo voi olla kohonnut. Karvasoluleukemian immunofenotyyppi on CD11c⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD25⁺, CD43⁺, CD79b⁺, CD103⁺. Karvasoluleukemian varianttimuodossa immunofenotyyppi on muuten sama, paitsi CD25 puuttuu. Plasmasoluleukemia aggressiivinen häiriö, jossa plasmajäi on paljon perifeerisessä veressä. Sen immunofenotyyppi on CD38⁺ ja CD138⁺. (Elonen & Porkka 2007, 445; Gibson ym. 2009, 2223, 2227; Hoffbrand & Mehta 2009, 65, 67; Hoffbrand & Moss 2011, 236; Pankko 2012a.) Nämä kroonisten lymfaattisten B-soluleukemioiden immunofenotyypit on koottu taulukkoon 1.

TAULUKKO 1. Kroonisen lymfaattisen B-soluleukemian muodot ja niiden CD-positiiviset pinta-antigeenit (Elonen & Porkka 2007, 445; Gibson ym. 2009, 2223, 2227; Hoffbrand & Mehta 2009, 65, 67; Hoffbrand & Moss 2011, 236).

Krooninen lymfaattinen B-soluleukemia			
Krooninen lymfaattinen leukemia	Prolymfosyytileukemia	Karvasoluleukemia	Plasmasoluleukemia
CD5 CD19 CD20 CD23 CD43	CD19 CD20 CD22 CD23 CD79b CD43	CD11c CD19 CD20 CD22 CD25 CD43 CD79b CD103	CD38 CD138

Suurigranulaarisessa lymfosyytti leukemiassa eli LGL-leukemiassa solut voivat olla joko T- tai NK- eli luonnollisia tappajasoluja. Ne ilmentävät CD16⁺-, CD56⁺- ja CD57⁺-antigeenejä ja verenkuvassa esiintyy sytopeniaa eli veren solujen vähyyttä, erityisesti neutropeniaa. Immunofenotyypiltään T-prolymfosyyttileukemia on CD3⁺, CD4⁺ ja CD7⁺. Taudissa verenkuvasta muistuttaa B-prolymfosyyttileukemiaa. Aikuisten T-soluleukemiaa esiintyy imusolmukesairauksien sekä maksan tai pernan suurentumisen yhteydessä. Lymfosyytit ovat omituisen näköisiä morfologialtaan ja immunofenotyypiltään ovat CD4-positiivisia. Sézaryn oireyhtymässä diagnoosi tehdään, kun perifeerisessä veressä on Sézaryn soluja yli $1 \times 10^9/l$ tai niiden määrä lymfosyyteistä on yli 20 %. Immunofenotyypiltään ne ovat CD4-positiivisia, joka vaaditaan morfologian lisänä diagnoosin varmistamiseksi. (Gibson ym. 2009, 2227–2228; Hoffbrand & Moss 2011, 242–243.) Nämä kroonisten lymfaattisten T-soluleukemioiden immunofenotyypit on koottu taulukkoon 2.

TAULUKKO 2. Kroonisen lymfaattisen T-soluleukemian muodot ja niiden CD-positiiviset pinta-antigeenit (Gibson ym. 2009, 2227–2228; Hoffbrand & Moss 2011, 242–243).

Krooninen lymfaattinen T-soluleukemia			
LGL-leukemia	T-prolymfosyytti-leukemia	Aikuisten T-soluleukemia	Sézaryn oireyhtymä
CD16 CD56 CD57	CD3 CD4 CD7	CD4	CD4

Hodgkin ja non-Hodgkin lymfoomat

Hodgkin lymfooma on pahanlaatuinen imusolmukesyöpä ja kuuluu B-soluperäisiin lymfoomiin. Se voidaan jakaa histologisesti kahteen tyyppiin klassiseen ja nodulaariseen lymfosyyttivaltaiseen lymfoomaan. Klassisen Hodgkin lymfooman solut ilmentävät CD30⁺-, CD40⁺- ja CD15⁺-antigeenejä ja ne ovat usein negatiivisia B-soluantigeeneille. Myös CD68 voi olla positiivinen. Nodulaarisessa lymfoomassa immunofenotyypit ovat CD20⁺, CD40⁺ ja CD45⁺. (Elonen & Karjalainen-Lindsberg 2007, 393, 395;

Hoffbrand & Moss 2011, 247–248.) Hodgkin lymfooman jaottelu on esitetty taulukossa 3.

TAULUKKO 3. Hodgkin lymfooman jaottelu ja niiden CD-positiiviset pinta-antigeenit (Elonen & Karjalainen-Lindsberg 2007, 393, 395; Hoffbrand & Moss 2011, 247–248).

Klassinen lymfooma	Nodulaarinen lymfosyytti- valtainen lymfooma
<ul style="list-style-type: none"> • CD30 • CD40 • CD15 • CD68 	<ul style="list-style-type: none"> • CD20 • CD40 • CD45

Klassinen lymfooma jaetaan vielä neljään alatyyppiin, sidekudoskyhmyiseen, runsas- ja vähälymfosyyttiseen sekä sekasoluiseen. Nämä voivat olla esimerkiksi syövän etäpesäkkeitä, niissä on eroavaisuuksia lymfosyyteissä tai voivat olla anaplastisia suurisolulymfoomia. Nodulaarisessa lymfosyyttivaltaisessa lymfoomassa lymfosyytit ovat pieniä ja se on T-soluvaltainen B-solulymfooma. (Elonen & Karjalainen-Lindsberg 2007, 396; Hoffbrand & Moss 2011, 248.)

Non-Hodgkin lymfooma voidaan jakaa T-solun ja NK-solujen sekä kypsiin B-solujen kasvaimiin. T- ja NK-solujen kasvaimet voidaan jakaa varhaisten T-solujen kasvaimiin ja kypsiin T- ja NK-solujen kasvaimiin. Näihin kuuluu myös joitain kroonisia leukemioita ja myeloomia, joista on esitetty esimerkkejä taulukossa 4. Non-Hodgkin lymfoomien kypsissä B-solujen kasvaimissa tavallisesti immunofenotyypit CD20 ja CD19a ovat positiivisia. Taudista riippuen myös muiden antigeenien esiintyvyys vaihtelee. (Karjalainen-Lindsberg & Teerenhovi 2007, 410; Hoffbrand & Mehta 2009, 71; Hoffbrand & Moss 2011, 254, 259.)

TAULUKKO 4. Non-Hodgkin lymfooman WHO 2008 -luokituksen esimerkkejä (Karjalainen-Lindsberg & Teerenhovi 2007, 410, muokattu; Hoffbrand & Mehta 2009, 71; Hoffbrand & Moss 2011, 254).

Kypsät B-solujen kasvaimet	T- ja NK-solujen kasvaimet
<ul style="list-style-type: none"> • Krooninen lymfosyyttileukemia / pieni lymfosyyttinen lymfooma • B-prolymfosyyttileukemia • Karvasoluleukemia • Plasmasolunyelooma • Plasmasytooma • Ekstanodaalinen marginaalivyöhykkeen B-solulymfooma (MALT-lymfooma) • Follikulaarinen lymfooma • Manttelisolulymfooma • Diffuusi suurisolainen B-solulymfooma • Burkittin lymfooma tai Burkittin solu-leukemia 	<ul style="list-style-type: none"> • Varhaiset T-solujen kasvaimet • Varhaiset T-lymfoblastinen lymfooma • Blastinen NK-solulymfooma • Kypsät T- ja NK-solujen kasvaimet • Perifeerinen T-solulymfooma • Anaplastinen suurisolainen lymfooma • T-prolymfosyyttileukemia • Aggressiivinen NK-solu leukemia • Aikuisten T-solulymfooma / leukemia • Mycosis Fungoides • Sézaryn oireyhtymä • Angioimmunoblastinen T-solulymfooma

8.2 Jäännöstitutiidiagnostiikka

Jäännöstitudilla tarkoitetaan remissio eli taudin elpymävaiheessa olevaa leukemiaa. Hoitojen avulla luuytimeistä saadaan poistettua leukemiasolut ja silloin tauti on remissiovaiheessa. Kuitenkin muualla elimistössä voi vielä olla leukemiasoluja ja jos hoidot lopetetaan, niin tauti voi uusiutua niistä. Siksi käytetään lisähoitoja, jos elimistössä on vielä leukemiasoluja. Jäännöstitutiä seurataan, jotta voidaan lopettaa parantuneiden potilaiden hoidot tai seurata relapsin eli taudin uusiutumisen riskiä. Jos pieniäkin merkkejä relapsista ilmenee, silloin pystytään nopeasti aloittamaan sopivat leukemiahoidot. Mitä paremmin solun antigeenit leukemiasoluissa tunnetaan diagnoosivaiheessa, sitä paremmin jäännöstitutiä pystytään seuraamaan. (Kairisto, Pelliniemi & Tienhaara 2003, 66–67; Elonen 2007, 298; Hoffbrand & Moss 2011, 232.) Jäännöstitutiä seurataan koko hoitajakson ajan, varsinkin akuutin lymfaattisen leukemian hoitojen jälkeen ja sen seuraaminen on yleistynyt myös akuutissa myeloisessa leukemiassa. Hoito määräytyy virtausytometrisen jäännöstitutiitutkimuksen tuloksen mukaan. (Pankko 2012e.)

Jäännöstitudin seurantaan käytetään monia menetelmiä, joita ovat morfologinen tutkimus, kromosomitutkimus, In situ -hybridisaatio eli FISH-tutkimus, immunofenotyyppitys ja polymeerasiketjureaktio- eli PCR-tutkimus. Useampaa menetelmää käytetään luotettavuuden varmistamiseksi. Immunofenotyyppityksellä voidaan seurata akuuttien leuke-

mioiden ja kroonisten lymfaattisten leukemioiden jäännöstitä. Kroonisen myeloisen leukemian jäännöstitä seurataan sytogeneettisillä tutkimuksilla. Autologista kantasolusiirrettä tehtäessä sen puhtaus varmistetaan herkillä menetelmillä, niin ettei siinä ole mukana tautisoluja. (Kairisto ym. 2003, 66–67; Elonon 2007, 298; Kairisto, Pelliniemi & Penttilä 2007, 203; Coutre & Itakura 2009, 1825–1826; Hoffbrand & Moss 2011, 229.)

8.3 Kantasolusiirrot hoitomuotona

Kantasolujen siirroissa siirretään hematopoeettisia kantasoluja luuytimeistä tai perifeerisestä verestä. Kantasolusiirtoja käytetään korvaamaan potilaan vaurioitunut vertamuodostava solukko. Kantasolusiirto ajoitetaan jälkihoitovaiheeseen tai hematologisen tai muun sairauden remissiovaiheeseen. Vaurio on syntynyt veritaudista tai voimakkaista syövän hoidoista. (Ruutu 2007, 492; Hoffbrand & Mehta 2009, 48.)

Kantasolusiirtoja on kahden tyyppisiä, joko allogeenisia tai autologisia. Allogeenisissä kantasolusiirroissa luovuttajana toimii toinen ihminen, jolla on mahdollisimman samanlainen HLA-tyyppi eli ihmisen leukosyyttiantigeeni-tyyppi. Autologisissa kantasolusiirroissa käytetään potilaan omia kantasoluja. Nämä solut kerätään potilaalta aiemmin ja siirre annetaan potilaalle kemo- tai radioterapian jälkeen. Allogeenisia ja autologisia kantasolusiirtoja käytetään hematologisten maligniteettien remissiovaiheen hoitona. Esimerkiksi allogeenisissä siirroissa sairautena voi olla akuutti leukemia, krooninen myeloinen leukemia tai myelodysplastinen syndrooma. Autologisissa siirroissa puolestaan sairaus voi olla lymfooma tai myelooma. Taulukossa 5 on esitetty allogeenisten ja autologisten kantasolusiirtojen indikaatiot. (Ruutu 2007, 492; Hoffbrand & Mehta 2009, 48–49; Pankko 2012a.)

TAULUKKO 5. Kantasolusiirtojen indikaatiot (Hoffbrand & Moss 2011, 298, muokattu; Pankko 2012a).

Allogeeninen kantasolusiirto	Autologinen kantasolusiirto
<ul style="list-style-type: none"> • Akuutti lymfaattinen tai myeloinen leukemia • Muut häiriöt luuytimessä • Perittyjä häiriöitä • Hankittuja häiriöitä 	<ul style="list-style-type: none"> • Lymfoomat • Myelooma • Akuutti myeloinen leukemia • Primaari amyloidoosi

Solusalpaajahoidon ja kasvutekijöiden avulla saadaan kantasoluja runsaasti perifeeriseen vereen. Näiden määrää mitataan immunofenotyypityksen avulla, josta saadaan selville CD34-antigeeniposiiviset solut. Kantasolujen määrä on tarpeeksi korkea vain muutamana päivänä ja keräys pitää suorittaa silloin. Kantasoluja kerätään peräkkäisinä päivinä yhdestä kolmeen kertaa. Niiden keräys tehdään leukafereesilaitteella ja se kestää neljästä viiteen tuntia kerrallaan. Laite erottelee ensin puna- ja valkosolut sentrifugomalla ja palauttaa punasolut potilaalle. Tämän jälkeen valkosoluista voidaan erotella kantasolut, jotka säilytetään nestetyypijäissä kunnes siirre voidaan tehdä. Kantasolujen erottelu valkosoluista on kuitenkin kallista, eikä siitä saada potilaalle suurta lisäarvoa. (Ruutu 2007, 495, 498; Hoffbrand & Moss 2011, 298, 300; Pankko 2012a.)

8.4 Immuunipuutostilat

Ihmisen immuunipuutostilat ovat hankittuja tai perinnöllisiä tiloja, joissa immuunijärjestelmä voi aiheuttaa huonon immuunivasteen ja lisää infektioherkkyyttä. Immuunipuutostilat voidaan jakaa primaarisiin ja sekundaarisiin tiloihin. Esimerkiksi primarisia immuunipuutostiloja ovat hypogammaglobulinemia, kateenkorvan kehitymättämyys ja Wiskott-Aldrich oireyhtymä. Ihmisen immuunipuutosvirusinfektio eli HIV on puolestaan sekundaarinen immuunipuutostila. (Hoffbrand & Moss 2011, 139; Pankko 2012a.)

Immuunipuutostiloja seurataan tutkimalla CD4:n absoluuttista arvoa sekä CD4:n CD8:n -suhdetta immunofenotyypityksessä. Esimerkiksi HIV-infektiossa CD4 ja CD8 solut kompensoivat toisiaan. Siinä CD4 solut vähenevät ja CD8 solut lisääntyvät. Normaalisti ihmisen CD4:n ja CD8:n suhde on 0,8–3,7. HIV potilaiden lääkehoito aloitetaan suh-

teen laskiessa alle 0,35, mutta hoito voidaan aloittaa myös jo diagnosointivaiheessa. Hoidon aloitukseen vaikuttaa lisäinfektiot, muut sairaudet ja ikä. (Groopman & Sloan 2009, 1624; Anttila 2012; Kemppi 2012a;.)

9 OPINNÄYTETYÖN ETENEMINEN

Syyskuussa 2011 valitsimme mieleisemme aiheen annetuista opinnäytetyöaiheista. Aluksi lähdimme työstämään opinnäytetyötä ideapaperin laadinnalla sekä tutustumalla aiheeseen liittyviin asiasanoihin sekä kirjaston ja internetin antamaan tietoon. Annoimme aiheen kypsä hetken aikaa mielessämme, jonka jälkeen alkoi suunnitelman tekeminen. Aihe selkiytyi meille askel askeleelta opettajien antaman palautteen avulla ja pohtimalla itse aihetta syvemmin.

Syksyn harjoittelun päätyttyä varasimme joulukuulta viikon opinnäytetyön aloittamista varten. Kävimme silloin tutustumassa Fimlab Laboratoriot Oy:n hematologian laboratoriossa oleviin Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometreihin. Toimeksiantajamme esitteli meille laitteet ja kertoi toimintaperiaatteista. Saimme häneltä myös materiaalia laitteesta luettavaksi. Joulukuun opinnäytetyöviikolla työstimme opinnäytetyötämme hahmottelemalla aihetta ja sisällysluetteloa. Työstämisen aloitimme kirjoittamalla kapaleen opinnäytetyön tarkoituksesta, tehtävistä ja tavoitteista. Viikon edetessä tutuimme perehdyttämiseen ja työssä oppimiseen liittyvään kirjallisuuteen. Saimme kootua niistä hyvän pohjan opinnäytetyölle, jota olemme täydentäneet opinnäytetyöprosessin aikana.

Alkuvuodesta harjoittelun aikaan tutustuimme itsenäisesti Fimlab Laboratoriot Oy:ltä saatuun materiaaliin sekä muuhun virtaussytometriaan liittyvään materiaaliin. Löysimme myös etsimäämme tietoa perehdytysohjeen visuaalisista piirteistä. Tammikuussa saimme opinnäytetyön lupa-asiat kuntoon ja uskalsimme alkaa toteuttamaan opinnäytetyön teoriaosuutta. Ammattia edistävän harjoittelun päätyttyä maaliskuussa aloimme jäsenellä virtaussytometrisen menetelmän ja Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometriin liittyvää sisältöä. Tässä vaiheessa lähetimme sisältöehdotelman Fimlab Laboratoriot Oy:n yhteyshenkilölle.

Maaliskuun puolessavälissä kirjoitimme Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrin rakenteesta. Analysaattoriin liittyvän ammattisanaston kääntäminen suomenkielelle tuotti hieman ongelmia, koska emme ole ennen käyttäneet tätä laitetta. Maaliskuun lopussa aloimme kirjoittaa virtaussytometriasta menetelmänä ja kävimme ohjaavien opet-

tajiemme kanssa ohjauskeskustelua opinnäytetyöstämme. Huhtikuun alussa kirjoitimme immunofenotyypityksestä.

Huhtikuun loppuun opiskelijoille oli varattu viikko opinnäytetyön työstämistä varten. Aloitimme viikon opinnäytetyön ohjauskäynnillä Fimlab Laboratoriot Oy:llä. Siellä pääsimme näkemään näytteen analysointiprosessin sekä saimme vastauksia matkan varrella kertyneisiin kysymyksiin. Yhteyshenkilöltä saimme myös korjausehdotuksia tuotoksen rakenteeseen. Vierailun jälkeen saimme parannettua opinnäytetyön kappalejaosta loogisemman sekä täydennyksiä virtaussytometriaan ja Beckman Coulter NaviosTM-virtaussytometrin rakenteeseen. Samalla viikolla kävimme ohjaavien opettajien kanssa ohjauskeskustelun, jossa käytiin tarkkaan opinnäytetyötä läpi ja saimme rakentavaa palautetta. Opinnäytetyön tekoviikolla kirjoitimme teoriaosuutta huomattavasti eteenpäin sekä otimme muutamaan asiantuntijaan yhteyttä selvittäessämme työstämisen aikana heränneitä kysymyksiä. Saimme asiantuntijoilta vastaukset nopeasti ja käytimme niitä lähteinä opinnäytetyössämme.

Toukokuun alussa työstimme opinnäytetyötä puuttuvilta teorian osilta ja saimme teoriaosuuden tekstin raakaversioon valmiiksi. Kuun puolessavälissä saimme kuvat valmiiksi ja liitettyä ne tekstiin. Seuraavaksi aloitimme tuotteen työstämisen, jonka saimme valmiiksi muutamassa päivässä. Perehdytysohjeessa huomioimme erilaiset käyttäjäryhmät ja teimme siitä kaksitasoisen. Tämä näkyy kappalejaossa ja siitä teimme lukuohjeet perehdytysohjeen alkuun. Tuotosta laadittaessa keskityimme ohjeen luettavuuteen ja luovaan ilmaisuun. Käytimme tuotoksessa yhtenäisiä värisävyjä ja kirjasinasetuksia, jotka muodostivat oman teemansa teksteihin, kuviin ja ulkoasuun. Perehdytysohjeen lukemisen houkuttelemiseksi asetimme tekstin kahteen palstaan.

Ennen kesälomaa kävimme vielä ohjaajien kanssa ohjauskeskustelun. Viimeisellä kevään opiskeluviikolla hioimme raporttia ja tuotosta ohjaajilta saamien vinkkien mukaan. Kesän aikana oikoluimme tekstiä ja pohdimme parannusehdotuksia. Syksyllä ensimmäisellä opiskeluviikolla tartuimme kesän aikana esiin nousseisiin ongelmakohtiin, kuten kieliopillisiin seikkoihin. Syksyllä saimme palautetta ohjaajilta ja alan asiantuntijoilta, joissa kiinnitettiin huomiota enemmän asian oikeellisuuteen. Viimeistelyjen jälkeen saimme palautettua opinnäytetyön ajoissa.

10 PEREHDYTYSOHJEEN ESITTELY JA KÄYTTÖ

Opinnäytetyön tuotokseksi valmistui Beckman Coulter Navios™ -virtaussytometrille perehdytysohje. Se on tarkoitettu Fimlab Laboratoriot Oy:n henkilökunnan ja bio-analyttikko-opiskelijoiden käyttöön. Monenlaiset lukijat on huomioitu lukujaossa niin, että virtaussytometriaosuuden ollessa tuttu, lukija voi siirtyä suoraan Beckman Coulter Navios™ -analysaattoria käsittelevään lukuun. Alussa oleva virtaussytometriä koskeva luku on perustietoa, jota lukijat voivat käyttää tarpeen mukaan. Tämä luku on tarkoitettu erityisesti lukijoille, joille asia on entuudestaan vierasta. Viimeisessä luvussa käsitellään lisätietona hematologisten tilojen diagnostiikasta. Ohjeen sisältämän asian hahmottamiseksi on loppuun koottu keskeisistä termeistä sanasto.

Tuotoksessa on 48 sivua ja 26 kuvaa sekä 5 taulukkoa. Sivuihin kuuluu asiankäsitelysivujen lisäksi kansilehti, sisällys, johdattelusivu, lähteet ja sanasto. Sisältösivut on palstoitettu kahteen sarakkeeseen, kun taas muut osat ovat yhtenä palstana. Kuvat ja taulukot on sommiteltu tekstin joukkoon, niin että lukiessa ne ovat helposti tarkasteltavissa.

Perehdytysohjeen ulkoasu ei ole Tampereen ammattikorkeakoulun raportointiohjeiden mukainen. Kansilehdessä on otsikon ja perehdytysohjeen tekijöiden lisäksi Fimlab Laboratoriot Oy:n sekä Tampereen ammattikorkeakoulun logo. Kannessa on myös kuva Beckman Coulter Navios™ -analysaattorista ja reunaa koristaa solumaisen pyöreät muodot. CD-version kansi on vastaavanlainen kuin paperiversio. Siinä on hyödynnetty CD:n etukannen lisäksi käytettäviä pintoja, kuten takakantta ja sivuosaa. Times New Roman -kirjasintyyppiin sijaan siinä käytetään Trebuchet MS- ja Calibri -kirjasintyyppiä. Kirjasinkoko ja -väri vaihtelevat tekstityypin mukaan. Sivunumerot on aseteltu pyöreän muodon sisälle oikeaan alareunaan.

Perehdytysmateriaali annetaan Fimlab Laboratoriot Oy:lle tulostettuna ja päivitettävänä CD-versiona. Niiden kansikuvia voi tarkastella kuvasta 24. He voivat hyödyntää ohjetta perehdytysprosessissa. Perehdytysohje on väritulostettu A4-kokoiselle paperille ja se on laitettu kansioon. Näin se on helppolukuinen ja -käyttöinen sekä säilyy kauemmin hyvässä kunnossa. CD-versio annetaan tavallisessa CD-kotelossa. Tiedosto on tallennettu

kahteen päivitettävään Microsoft® Office Word -versioon. Microsoft® Office Wordin eri tallennusversioilla huomioimme yhteistyökumppanimme käytössä olevat Microsoft® Office Word -ohjelmaversiot. CD:lle on tallennettu alkuperäinen opinnäytetyö PDF-versio, jota ei voi muokata. Päivitettävä versio on helppo tulostaa kansioon ja vaihtaa vanhentuneen tilalle.



KUVA 24. Oikealla tulostettavan perehdytysohjeen kansi ja vasemmalla CD-version etu- ja takakansi (Ahde & Kuusisto 2012).

11 POHDINTA

”Mekin halutaan alkaa jo tekemään opinnäytetyötä!” Tämä lausahdus kuului meidän opinnäytetyön työstämisen aikana nuoremmilta opiskelijoilta, kun he kuuntelivat ja ihmettelivät meidän tekemisiä viereisessä luokassa. Oli mukavaa, että meidän intomme sekä motivaatiomme välittyi ja tarttui myös tuleville opinnäytetyön tekijöille.

Opinnäytetyön tekeminen oli siis mukavaa, vaikka siihen kuului paljon aikaa ja vaivaa. Aikataulutuksessa haastavuutta tuli siitä, kun olimme harjoittelujaksoilla eri paikkakunnilla. Tämä aikatauluhaaste korjattiin tutustumalla aiheeseen, ideoimalla varsinaista työtä ja keräämällä lähdemateriaalia työstämistä varten. Harjoittelun jälkeen työstimme opinnäytetyötä tiiviillä aikataululla niin, että ennen kesää se oli lähes valmis. Näin meille jäi syksyyn vain työn parantelua. Tähän aikataulutukseen olemme tyytyväisiä, sillä teimme sen kuitenkin jaksoittain. Työstämisyksöt olivat vaihdellen tiivistä yhteistyökentelyä, pohdintaa yhdessä ja erikseen sekä vapaita ajattelutaukoja. Hyvän suunnittelun ansiosta saimme opinnäytetyön koostettua kirjalliseen muotoon eheäksi kokonaisuudeksi. Opinnäytetyöprosessi kuitenkin kannatti, sillä yhteistyötaitomme vielä hioutuivat ja prosessin aikana tapahtui ammatillista kasvua. Yhteistyömme oli sujuvaa ja loppua kohden toistemme tavat olivat tulleet jo hyvin tutuiksi. Siitä oli hyötyä työstämisen aikana, kun mietimme miten asiat ilmaistaan. Välillä tuntui, kun olisimme lukeneet toistemme ajatuksia.

Opinnäytetyöprosessin alussa selvitimme aiheeseen liittyviä opinnäytetöitä, pro graduja sekä väitöskirjoja. Opinnäytetyön kannalta kiinnostavina aiheina pidimme hyvän perehdytysmateriaalin ominaisuuksia, virtaussytometriaa ja immunofonetyypitystä. Halusimme tutustua perehdytykseen hyvin, jotta saisimme käsiteltä varsinaista aiheitamme eli virtaussytometriaa ja immunofenotyypitystä mahdollisimman monipuolisesti sekä selkeästi. Löysimme omaa opinnäytetyötä vastaavimman opinnäytetyön, joka on muutaman vuoden vanha. Muut löytämämme opinnäytetyöt sekä pro gradut vain sivusivat aiheitamme. Kotimaisista väitöskirjoista löytyi virtaussytometriaan liittyviä teoksia, mutta ne olivat vanhoja. Aiheestamme on siis tehty aikaisemminkin opinnäytteitä, mutta niistä saatu apu oli vähäistä opinnäytetyömme kannalta.

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli tuottaa perehdytysohje Beckman Coulter NaviosTM-virtaussytometrille. Tehtävässä koimme onnistuvamme hyvin, koska saimme tuotteen tehtyä aikataulun mukaisesti ja yhteistyömme oli joustavaa. Opinnäytetyön tarkoituksen tavoitimme selvittämällä hyvän perehdytysohjeen ominaisuuksia ja perehtymällä Beckman Coulter NaviosTM-virtaussytometrin toimintaperiaatteeseen sekä tutustumalla hematologisiin sairauksiin ja tiloihin, joita virtaussytometrialla diagnosoidaan.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuoda apua laitteeseen perehtyville Fimlab Laboratoriot Oy:n työntekijöille ja opiskelijoille Beckman Coulter NaviosTM-virtaussytometrin käytössä sekä menetelmän ymmärtämisessä. Tavoitteeseen tähtäsimme suunnittelemalla tuotoksen huomioimalla erilaisia työhön perehtyvien tarpeita. Perehdytysohjeen on tarkoitus helpottaa laitteen menetelmän ymmärtämistä sekä edistää yhtenäisempien työtapojen saavuttamista. Oppimisen tarkoituksenmukaisimmaksi välineeksi päädyimme tuottamaan produktin perehdytysohjeen kansiona sekä päivitettävässä CD-muodossa. Tuotokseen olemme tyytyväisiä, kun saimme käyttää myös omaa luovuuttamme ja mieltymyksiämme sen toteutuksessa. Saimme palautetta tuotteen käytettävyydestä ja ulkoasusta kahdelta bioanalytiikan opiskelijalta. Toiselta saimme enemmän rakentavaa palautetta ja sen avulla saimme työmme opiskelijalähtöisemmäksi. Toinen opiskelija luki työn korjauksien jälkeen ja saimme häneltä vain positiivista palautetta.

Läpi koko opinnäytetyöprosessin olemme pyrkineet huomioimaan eettisyyttä, pohtien mikä on oikein ja mikä väärin. Näiden kysymysten pohjalta olemme päätyneet erilaisiin ratkaisuihin, siitä mikä on sallittua ja mitä velvollisuuksia on opinnäytetyön kirjoittamisessa. Eettisyyden pohjana on ihmisarvon kunnioittaminen, joka näkyy meidän työssä huolellisena lähteiden merkitsemisenä sekä alkuperäislähteiden muokkaamisena. Tämän olemme tehneet alkuperäislähteiden tekijöiden työtä kunnioittaen lainatessa tekstejä ja kuvia.

Lähteinä käytimme suomen- ja englanninkielistä lähdemateriaalia monipuolisesti, joka osoittaa perehtyneisyyttämme käsittelemäämme asiaan. Pyrimme etsimään aina uusimman ja ajantasaisimman lähteen. Joidenkin lähteiden kohdalla oli hankaluuksia ja jouduimme käyttämään vanhempaa materiaalia. Silti lähteiden valinnassa luotettavuus vaikutti niiden hyödyntämiseen. Aluksi yritimme etsiä kaikista lähteistä alkuperäisen lähteen, mutta tästä aiheutui noidankehä lähdeviidakossa. Ongelmana oli, että lähteet olivat

toistensa lähteitä ja mitä enemmän tutkimme asiaa, sitä enemmän löytyi hyvin vanhoja lähteitä. Tässä kohtaa vedimme rajan lähteen alkuperän selvittämiseksi ja tämän takia lähteemme eivät ole kaikissa tapauksissa alkuperäislähteiden kirjoittajien tekstejä.

Lähteiden ajantasaisuuden lisäksi opinnäytetyömme käsittelemät asiat on pyritty hakemaan useasta eri lähteestä. Tällä halusimme varmistaa, että kirjoittamamme asiat ovat luotettavia. Joidenkin lähteiden kohdalla oli pientä ristiriitaa, mikä johtuu todennäköisesti alan nopeasta kehityksestä. Alan asiantuntijat kuitenkin tarkistivat sisällön ajantasaisuuden. Yhden lähteen merkitseminen tuotti pohdintaa ja ongelmaa. Käytimme lähteenä Fimlab Laboratoriot Oy:n internetissä olevaa ohjekirjaa, joka oli tehty yrityksen ollessa vielä Laboratoriokeskus. Tiedostoihin oli kuitenkin vaihdettu Fimlab Laboratoriot Oy:n logo, vaikka päivitys on tehty yrityksen ollessa vielä Laboratoriokeskus. Merkitsimme lähteen tekijäksi Fimlab Laboratoriot Oy:n, sillä lähde löytyy merkitsemiemme tietojen mukaan.

Saimme luvan Beckman Coulter NaviosTM -käyttöoppaiden kuvien käyttöön Beckman Coulter -tuoteryhmän johtajalta. Käytimme niitä opinnäytetyössä tarkoitukseen sopivalla tavalla vähän muokattuina. Muissa kuvissa, joihin emme kysyneet käyttö lupaa, teimme isompia muutoksia. Jos etsimiämme kuvia ei löytynyt, yhdistelimme monen lähteen hyvät ominaisuudet ja teimme niistä omalla idealla varustettuja kuvia. Tässäkin huomioimme lähteiden oikean merkitsemistavan.

Hyvän perehdytysohjeen ominaisuuksissa halusimme selvittää erityisesti visuaalisia ja tekstuaalisia ominaisuuksia, sillä koimme niiden olevan tärkeitä tekijöitä asiamme esilletuonnissa. Omien kokemusiemme mukaan olemme huomanneet, että se vaikuttaa asian sisäistämiseen ja haluun lukea tekstiä. Lähdemateriaalia aiheeseen löytyi niukasti, mutta sinnikkäällä etsinnällä löysimme juuri sen mitä halusimmekin ja koimme saavamme nämä asiat tuotokseen.

Aiheenkäsittelyluvut jaoimme menetelmäosaan, analysaattorin rakenne -osaan, analysointiosaan sekä hematologisten tilojen diagnostiikka -osaan. Aihejaolla pyrimme saamaan kokonaisuudet erottumaan toisistaan selkeästi. Näin saimme rajattua aiheen ja hahmotimme, mitä olemme tekemässä. Uskomme, että kun olemme itse hahmottaneet ja selkiyttäneet asiat, niin myös lukija pystyy hahmottamaan kokonaisuudet toisistaan.

Virtaussytometriaan, immunofenotyypitykseen ja Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometriin perehdyimme suurimmaksi osaksi englanninkielisen lähdemateriaalin kautta. Alussa englanninkielisen suomentamisessa ja erikoissanaston hallinnassa oli hankaluuksia. Tämä johtui osittain myös siitä, ettei virtaussytometriaan ole vakiintunutta suomenkielistä termistöä. Oikeiden termien ja suomennosten käyttöön saimme apua alan asiantuntijoilta. Englanninkielistä aineistoa käyttämällä ja lukemalla kielen hallinta alkoi vähitellen parantua. Uskomme, että tästä on hyötyä meille myös ammatillisesti, eikä vain opinnäytetyön kannalta. Tämän olemme todenneet muuttuneena ja avoimempaa suhtautumisena kansainvälisen materiaalin käytössä.

Hematologisten sairauksien ja tilojen diagnostiikka -osiossa käsitelimme lyhyesti mikä kyseinen sairaus tai tila on ja miten se tulee esille immunofenotyypityksessä. Sairaudet ja tilat rajasimme oman mielenkiinnon mukaan hematologisiin sekä eniten Fimlab Laboratoriot Oy:ssä tehtäviin tutkimuksiin. Halusimme kertoa nämä asiat tiivistetysti, koska tämä luku otettiin mukaan oman mielenkiintomme takia. Rajauksessa onnistuimme mielestämme hyvin, sillä saimme niistä selkeät kokonaisuudet lähdemateriaalin runsaudesta huolimatta. Luvussa esitettävät tautien CD-luokat ovat peräisin kirjallisuudesta, koska emme saaneet yhteistyökumppaniltamme kaikkiin haluamiimme tauteihin heidän käyttämää luokitusta. Myös laboratorioden CD-luokitusten välillä on eroja ja siksi meidän esittämiä CD-luokituksia ei välttämättä kaikista laboratorioista löydy.

Menetelmäksi valitsimme toiminnallisen opinnäytetyön, vaikka se olisi voinut olla myös kokeellinen. Selkeän perehdytysoppaan laatiminen tuntui sopivalta toiminnallisessa opinnäytetyössä. Kokeellisessa opinnäytetyössä painotus olisi ollut esimerkiksi valittavan sisällön testauksessa. Silloin siitä tulisi liian laaja kokonaisuus kahden opiskelijan työstettäväksi. Tämä päätös on mielestämme vieläkin hyvä, vaikka haastatteleamalla saatu tieto olisi ollut myös antoisaa materiaalia työhömmme. Nyt pystyimme keskittymään kirjallisuuden antamaan informaatioon ja työmme pysyi kohtuullisen laajuisena.

Työtämme voisi kehittää esimerkiksi kyselemällä Fimlab Laboratoriot Oy:n henkilökunnalta, mitkä asiat he kokevat tärkeiksi perehdytysohjeessa. Materiaalin voisi testata myös käytännössä perehtyvillä työntekijöillä ja bioanalytiikan opiskelijoilla. Näiden kehittämisehdotuksien avulla työmme saisi lisäarvoa. Opinnäytetyömme jatkotutkimus-

aiheeksi sopisi aihe, jossa perehdytään enemmän Beckman Coulter NaviosTM -virtaus-sytometrillä näytteiden esikäsittelyyn ja analysointiin eri vasta-ainepaneeleissa. Erilaisena tuotoksena voisi toteuttaa esimerkiksi videomateriaalin, diakuvasarjan tai pienen tehtävän opitun asian testaamiseen.

LÄHTEET

Airaksinen, T. & Vilkka, H. 2004. 1–2. painos. Toiminnallinen opinnäytetyö. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Anttila, L. Sairaanhoidtaja. 2012. HIV-potilaiden hoitoraja. Sähköpostiviesti. leena.anttila@pshp.fi. Tulostettu 4.5.2012.

Beckman Coulter Inc. 2009a. Navios™ Flow Cytometer: Instructions for use. Käyttöopas. Mervue, Galway: Mervue Business Park.

Beckman Coulter Inc. 2009b. Training guide for the Navios and Gallios flow cytometer. Käyttöopas.

Bioanalytiikan koulutusohjelma. Tampereen ammattikorkeakoulu. 2010. Opetussuunnitelma vuosi 2010–2011. Luettu 25.4.2012. Tampere.

Catovsky, D., Matutes E. & Morilla R. 2006. 10. painos. Immunophenotyping. Teoksessa Bain, B., Bates, I. & Lewis, M. Dacie and Lewis Practical Haematology. Saksa: Churchill Livingstone Elsevier. 335–355.

Chant, I. 2005. 2. painos. Flow cytometry and molecular biology in haematology. Teoksessa Burnett, D. & Crocker, J. The science of laboratory diagnosis. Barcelona: John Wiley & Sons Ltd. 303–311.

Chapman, D., Longanbach, S., Miers, M. & Waldron, K. 2007. Automated Cell Counting Instrumentation and Point of Care Testing. Teoksessa Doig, K., Fritsma, G. & Rodak, B. Hematology: Clinical Principles and Applications. Kiina: Saunders Elsevier. 541–571.

Coutre, S. & Itakura, H. 2009. 12. painos. Hematologic Malignancies. Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 2. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 1820–1842.

Craig, F. 2004. Laboratory Procedures Used in Diagnosis of Neoplastic Hematologic Disorders. Flow Cytometry. Teoksessa McKenzie, S. Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Pearson Education Inc. 419–475.

Czader, M. 2007. 3. painos. Leukocyte Disorders. Flow Cytometric Analysis in Diagnostic Hematologic Disorders. Teoksessa Doig, K., Fritsma, G. & Rodak, B. Hematology: Clinical Principles and Applications. Kiina: Saunders Elsevier. 451–470.

Gibson, S., Johnston, J. & Seftel, M. 2009. 12. painos. Hematologic Malignancies. Lymphoproliferative Disorders. Chronic Lymfocytic Leukemia. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 2. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 2214–2254.

Greer, J. & McCurley, T. 2009. 12. painos. Nonmalignant Disorders of Leukocytes, the Spleen, and/or Immunoglobins: Diagnostic Approach to Malignant and Nonmalignant Disorders of the Phagocytic and Immune Systems. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 2. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 1509–1547.

Groopman, J. & Sloand, E. 2009. 12. painos. Nonmalignant Disorders of Leukocytes, the Spleen, and/or Immunoglobins. Acquired Immunodeficiency Syndrome. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 2. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 1623–1636.

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

Elonen, E. 2007. 3. uudistettu painos. Pahanlaatuiset veritaudit. Akuutit leukemiat. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 285–309.

Elonen, E. & Karjalainen-Lindsberg, M-L. 2007. 3. uudistettu painos. Pahanlaatuiset veritaudit. Hodgkin-lymfooma. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 393–408.

Elonen, E. & Porkka, K. 2007. 3. uudistettu painos. Pahanlaatuiset veritaudit. Harvinaiset lymfoproliferatiiviset taudit. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 443–453.

Falenius, M., Leino, M., Leinonen, R., Lumme, R. & Sundqvist, L. 2006. Monimuotoinen / toiminnallinen opinnäytetyö. Julkaistu 5.8.2006. Luettu 15.8.2012. www.amk.fi/opintojaksot

Felgar, R. & Ryan, D. 2005. 4. painos. Automated Analysis of Blood Cells. Teoksessa Benz, E., Cohen, H., Furie, B. Hoffman, R., McGlave, P., Shattil, S. & Silberstein, L. Hematology: Basic Principles and Practice. Yhdysvallat: Elsevier Inc. 2673–2686.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2006. Ohjekirja: Hematologinen markkeritutkimus (fenotyytipitys). Päivitetty 30.10.2006. Luettu 26.4.2012. www.laboratorio.fi/lake.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2011. Ohjekirja: Lymfosyytit, erittely. Päivitetty 5.10.2011. Luettu 24.4.2012. www.laboratorio.fi/lake

Fimlab Laboratoriot Oy. 2009. Ohjekirja: Paroksysmaalinen nokturnaalinen hemoglobiuria. Päivitetty 19.10.2009. Luettu 26.4.2012. www.laboratorio.fi/lake

Frisk, T. 2005. 3. painos. Ohjaaminen työssä. Helsinki: Edita Prima Oy.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. 15. uudistettu painos. Tutki ja kirjoita. Hämeenlinna: Kariston Kirjapaino Oy.

Hoffbrand, V. & Mehta, A. 2009. 3. painos. Haematology at a Glance. Singapore: Wiley-Blackwell.

Hoffbrand, V. & Moss, P. 2011. 6. painos. Essential Haematology. Singapore: Wiley-Blackwell.

Jokinen, J., Lähteenmäki, L. & Nokelainen, P. 2009. Työssäoppimisen lumo. Ammatillisen sekä ammatillisen korkea-asteen koulutuksen ja työelämän yhteistyön hyvät käytännöt. Saarijärvi: Hämeen ammattikorkeakoulu.

Kairisto, V., Pelliniemi, T-T. & Tienhaara, A. 2003. Akuutin leukemian jäännöstautianalytiikka. *Moodi* 2/2003, 66–71.

Kairisto, V., Pelliniemi, T-T. & Penttiä, T-L. 2007. Pahanlaatuisten veritautien nykydiagnostiikka. *Moodi* 6/2007, 201–208.

Karjalainen-Lindsberg, M-L. & Teerenhovi, L. 2007. 3. uudistettu painos. Pahanlaatuiset veritaudit. Non-Hodgkin-lymfoomat. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 409–442.

Karkela, L., Kervinen, M., Meriläinen, P., Parkkila, I. & Seppänen, R. 2006. Maol taulukot. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.

Kemppi, R. 2012a. laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto 23.4.2012. Tampere: Finn-Medi Delta B 302 Mikroskopia ja virtausytometria. Fimlab Laboratoriot Oy.

Kemppi, R. 2012b. laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto 12.9.2012. Tampere: Finn-Medi Delta B 302 Mikroskopia ja virtausytometria. Fimlab Laboratoriot Oy.

Kemppi, R. 2012c. laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto 14.9.2012. Tampere: Finn-Medi Delta B 302 Mikroskopia ja virtausytometria. Fimlab Laboratoriot Oy.

Kemppi, R. 2012d. laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto 21.9.2012. Tampere: Finn-Medi Delta B 302 Mikroskopia ja virtausytometria. Fimlab Laboratoriot Oy.

Kjelin, E. & Kuusisto, P-C. 2003. Tulokkaasta tuloksetekijäksi. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Kotylo, P. 2002. 2. painos. Flow Cytometric Analysis in Diagnostic Hematology. Teoksessa Rodak, B. Hematology: Clinical Principles and Applications. Yhdysvallat: W.B. Saunders Company.

Kupias, P. & Peltola, R. 2009. Perehdyttämisen pelikentällä. Tampere: Juvenes Print.

Laki yhteistoiminnasta yrityksissä 30.3.2007/334.

Lammi, O. 2009. 1. painos. Vaikuta visuaalisesti! Laadi selkeä esitys. Jyväskylä: Saarijärven Offset Oy.

Larson, R, Rabinowitz, I. & Reichard, K. 2009. 12. painos. Hematologic Malignancies. Chronic Myeloid Leukemia. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 2. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 2006–2030.

Liimatainen, O. 2010. Laboratorioprosessin laatu; mistä elementeistä laatu koostuu. *Moodi* 1/2010, 57–58.

Mahlamäki, E. 1999. Virtausytometrian laaduntarkkailusta. *Moodi* 3/1999, 124–126.

Mustjoki, S. 2011. Leukemiakantasolut. Luentolyhennelmät Laboratoriolääketiede ja näyttely 2011, 11.

Pankko, L. 2012a. laboratoriohoitaja. Henkilökohtainen tiedonanto. 20.8.2012. Tampere: Finn-Medi Delta.

Pankko, L. 2012b. laboratoriohoitaja. Immunofenotyyppitys ja molekyylogeneettiset tutkimukset pahanlaatuisten veritautien diagnostiikassa, ennusteen arvioinnissa ja hoidossa. Virtausytometria. 23.3.2012. Laadunohjaus hematologiassa ja solumorfologian syvennys. 5.–29.3.2012. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Tampere: Finn-Medi Delta U1-11 Kl. hematologia.

Pankko, L. laboratoriohoitaja. 2012c. Immunofenotyyppityksen selitys. Sähköpostiviesti. leena.pankko@tamk.fi. Tulostettu 23.8.2012.

Pankko, L. laboratoriohoitaja. 2012d. Flow. Sähköpostiviesti. leena.pankko@tamk.fi. Tulostettu 17.9.2012.

Pankko, L. laboratoriohoitaja. 2012e. Analysointi ja helmet. Sähköpostiviesti. leena.pankko@tamk.fi. Tulostettu 27.9.2012.

Paraskevas, F. 2009. 12. painos. Laboratory Hematology. Clinical Flow Cytometry. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 1. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 21–49.

Perkins, S. 2009. 12. painos. Laboratory Hematology. Examination of the Blood and Bone Marrow. Teoksessa Arber, D., Foerster, J., Glader, B., Greer, J., Means, R., Paraskevas, F. & Rodgers, G. Wintrobe's Clinical Hematology. Osa 1. Kiina: Lippincott Williams & Wilkins. 1–20.

Pelliniemi, T-T. 2012. Fimlab Laboratoriot Oy. Kroonisen lymfosytoosin immunofenotyyppitys Navios virtausytometrillä (9–10 väripaneelit). Päivitetty 10.3.2012.

Pelliniemi, T-T. & Siitonen, S. 2005. Virtausytometria hematologian laboratoriossa: nelivärianalyysistä kuusivärianalyysiin. *Moodi* 6/2005, 206–210.

Pelliniemi, T-T. & Tienhaara, A. 2007. 3. uudistettu painos. Hematologiset laboratoriotutkimukset. Leukemioiden immunofenotyyppitys. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 134–144.

Rahman, M. 2006. Introduction to Flow Cytometry. Kidlington, Oxford: Serotec Ltd.

Remes, K. 2007. 3. uudistettu painos. Pahanlaatuiset veritaudit. Multippleli myelooma ja muut gammapatiat. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 454–480.

Ruutu, T. 2007. 3. uudistettu painos. Hematopoieettisten kantasolujen siirrot. Kantasolujen siirrot veritautien hoidossa. Teoksessa Lassila, R., Porkka, K., Rajamäki, A. & Ruutu, T. Veritaudit. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 492–503.

Sillanpää, J. 2006. 3. korjattu painos. Työn kuormittavuus. Teoksessa Kämäräinen, M., Lappalainen, J., Oksa, P., Pääkkönen, R., Rantanen, S., Riikonen, E., Saarela, K-L. & Sillanpää, J. Työsuojelun perusteet. Vammala: Työterveyslaitos. 102–123.

Sosiologi-Filosofiapu Vilkka. 2010. Toiminnallinen opinnäytetyö. Julkaistu 12.2.2010. Luettu 19.12.2011. http://vilkka.fi/hanna/Toiminnallinen_ont.pdf.

Söderlund, L. 2005. Asiantuntija visuaalista. Teoksessa Karhu, M., Salo-Lee, L., Sipilä, J., Selänne, M., Söderlund, L., Uimonen, T. & Yli-Kokko, P. Asiantuntija viestii ajatuksesta vaikutukseen. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy. 271–295.

Tampereen ammattikorkeakoulu hallitus. 12.10.2011. Opetussuunnitelma Tampereen ammattikorkeakoulussa. Liite nro 4/54 §.

Tikkamäki, K. 2006. Työn ja organisaation muutoksissa oppiminen. Etnografinen löytöretki työssä oppimiseen. Tampere: Tampereen Yliopistopaino Oy Juvenes Print.

Turgeon, M. 2005. 4. painos. Clinical Hematology. Theory and Procedures. Yhdysvallat: Lippincott Williams & Wilkins.

Työsopimuslaki 26.1.2001/55.

Työturvallisuuskeskus. 2004. 2. uudistettu painos. Työpaikkakouluttajan käsikirja. Helsinki: Alfabox Oy.

Työturvallisuuslaki 23.8.2002/738.

Wahlstedt, J. Asiakaspalvelupäällikkö. 2012. Laaduntarkkailukierroksista. Sähköpostiviesti. info@labquality.fi. Tulostettu 27.4.2012.

Wu, H-K. 2011. The measurement of biomarkers by flow cytometry and molecular technology. Cancer Biomarkers. Applied Clinical Trials 9/2011, 4–5.

LIITTEET

Liite 1. Sanasto

APC	allofykosyaniini
aspiroida	imeä
bifenotyypipi	kahden eri solulinjan CD-vasta-aineelle positiivinen solu
BPS	Phosphate buffered saline eli fosfaattipuskuroitu suolaliuos
BSA	Bovine serum albumin -proteiiniliuos
CD-luokitus	Cluster of Differentiation, monoklonaalisten vasta-aineiden jako niiden tunnistamien antigeenien perusteella
detektoida	mitatata, havaita, ilmaista
eksitaatio	virittää, ottaa vastaan valon energiaa ja antaa aallonpituutta
emissio	siroava valo, vapauttavat valoa fluoresenssina
FITC	fluoroisotiosyanaatti
fluorokromit	värejä, jotka eksitoivat ja emittoivat valoa
geittaus	gating, solupopulaatioiden graafinen rajaus
HLA-tyyppi	Human Leukocyte Antigen eli ihmisen leukosyyttiantigeeni
HBSS	Hank's balanced salt solution eli pesuliuos
huippupulssi	korkeimman pulssin signaalin detektoiminen
huippusignaali	tietokoneen käsittelemä huippu- eli korkein pulssi, joka muodostuu kuvaajalle
hydrodynaaminen fokusointi	solujen oikeanlaisen liikkumisen mahdollistaminen virtauskammion vaippaliuksen paineistuksen avulla
immunofenotyyppitys	menetelmä, jota käytetään solujen erilaistumislinjan sekä kypsyysasteen määrittämiseen solujen ilmentämien antigeenien avulla
injektoida	syöttää
kompensaatio	virtaussytometrille tehty hienosäätö, jossa otetaan huomioon eri fluorokromien emissioaallonpituuksien päällekkäisyys
LAIR1	vasta-aine B-, T- ja NK-soluille
LGL-leukemia	Large granular lymphocytic leukemia eli suurigranulaarinen lymfosyyttileukemia
LyDiffi	Lymfosyyttidiffi
maligniteetti	pahanlaatuisuus, pahanlaatuinen sairaus

markkeri	merkkiaine, joka voi olla esim. antigeeni
MRD	minimal residual disease eli jäännöstauti
paneeli	reagenssien eli monoklonaalisten vasta-aineiden ja fluo- rokromien pipetointiohje, joka voidaan esittää esi- merkiksi taulukkomuodossa
PE	fykoerytriini
PerCP	peridiniini-klorofylli-a-proteiini
PNH	paroksysmaalinen yöllinen hemoglobinuria
protokollat	informaation kokoelma virtausytometrin ja Navios- ohjelman asetuksista
remissio	taudin lopullinen tai väliaikainen elpymävaihe
screening-putki	seulontaputki
sivusironta	valon sironta 90° kulmassa
suorasironta	suoraan kulkeva sironnut valonsäde
Tandemväri	kaksoisväri
TBNK	T-, B- ja NK-solut
TdT	Terminal deoxynukleotidyl Transferase -antigeeni eli tumamarkkeri
valomonistinputki	valodetektor eli valon mittaaja
virtauskammio	näytteen paineistettu kulkupaikka, johon kohdistetaan laser mittauksen mahdollistamiseksi

Liite 2. Esimerkki vasta-ainepaneelistista

Kroonisen lymfocytoosin immunofenotyypitys Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrillä

Kaikille kroonisen lymfocytoosin immunofenotyypitys -näytteille tehdään aluksi seulontaputki eli screening-putki. Seulontaputken jälkeen valitaan jatkotutkimukseksi joko B-lymfocytoosi- tai T/NK-lymfocytoosipaneeli. Tutkimus voidaan myös lopettaa seulontaputken jälkeen, jos ei löydy mitään maligniin viittaavaa. (Kemppi 2012a; Kemppi 2012c.) Tämä esimerkki on saatu Fimlab Laboratoriot Oy:ltä.

Lymfocytoosin seulontaputki

Putki	H450	KO	FITC + PE Yhdistelmä reag.	ECD	PC5.5	PE-Cy7	APC	APC A700	APC-Alexa 750
L	CD20 CD4	CD45	CD8 + CD56 lambda + kappa	CD5	CD14	CD19 TCR $\gamma\delta$	CD3	CD7	CD38

B-lymfocytoosi (3. putki vain karvasoluleukemian yhteydessä)

Putki	HV450 BV421	KO	FITC	PE	ECD BC	PC5.5 BC	PE-Cy7	APC	APC- Alexa 700	APC- Alexa 750
1	CD38	CD45	CD31	LAIR1	CD5	CD19	CD200	CD81	CD23	CD20
2	CD27	CD45	CD103	CD10	CD5	CD22	CD19	CD79b	CD25	CD20
3	CD11c	CD45	CD103	LAIR1	HLADR	CD22	CD19	CD123	CD25	CD20

T/NK-lymfocytoosi

Putki	H450 BV421	KO	FITC	PE	ECD BC	PC5.5 BC	PE-Cy7	APC	APC- Alexa 700	APC- Alexa 750
1	CD4	CD45	CD57	CD26	CD56	CD3	CD16 BC	CD28	CD7	CD8
2	CD27	CD45	CD10	CD30	CD5	CD3	CD2 BC	CD7	CD25	CD8
3	CD11c	HLADR	CD18 + CD56 lambda + kappa		CD45RA	CD3	CD16	CD94	CD19	CD45

Liite 3. Perehdytysohje Beckman Coulter NaviosTM -virtaussytometrille