



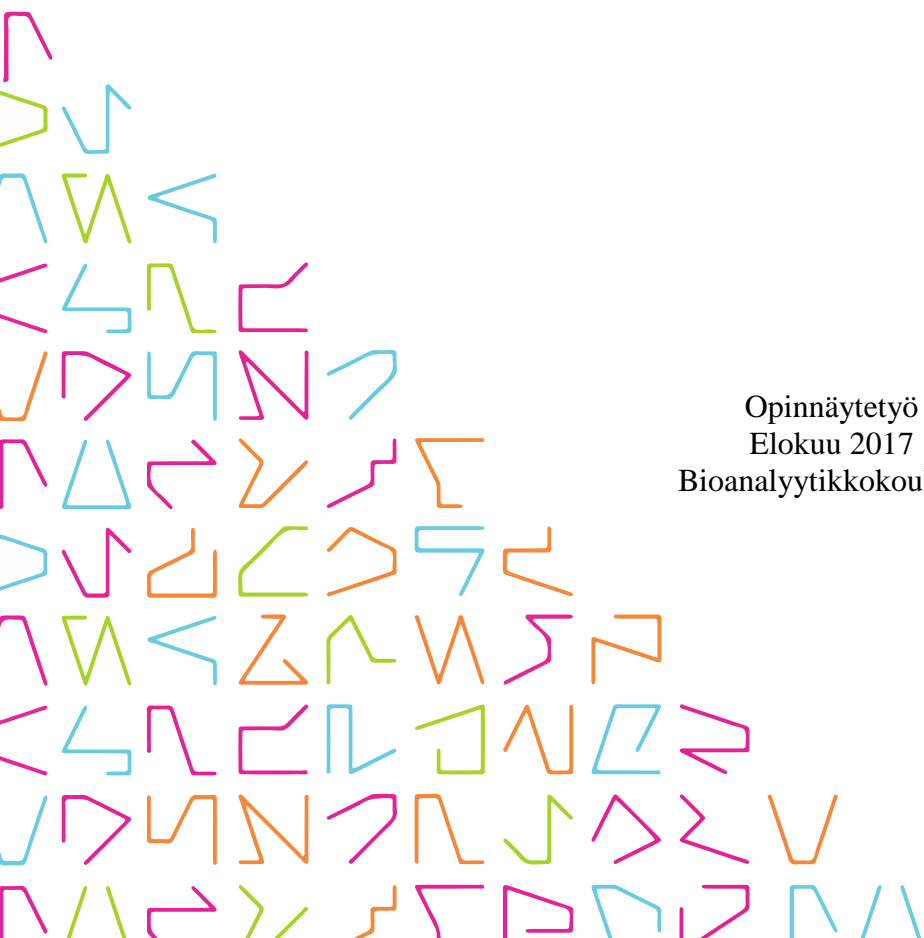
TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

Perehdytysopas Beckman Coulter AQUIOS CL - virtaussytometrille

Jemina Mäkinen

Elisa Niemistö

Opinnäytetyö
Elokuu 2017
Bioanalytikkokoulutus



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytikkokoulutus

JEMINA MÄKINEN & ELISA NIEMISTÖ
Perehdytysopas Beckman Coulter AQUIOS CL -virtausytometrille

Opinnäytetyö 66 sivua, joista liitteitä 6 sivua
Elokuu 2017

Virtausytometria on menetelmä, jonka avulla yksittäisistä soluista pystytään analysoimaan useita ominaisuuksia lyhyessä ajassa. Sen avulla pystytään esimerkiksi immunofenotyyppittämään soluja, eli selvittämään solujen erilaistumisaste ja –linja solujen ilmentämien antigeenien perusteella. Menetelmää käytetään esimerkiksi HI-virusinfektion hoidon seurannassa. HI-virus on pääasiassa suojaamattoman seksin ja veren välityksellä tarttuva ihmisen immuunikatovirus, joka hoitamattomana johtaa vakavaan immuunikatoon ja lopulta kuolemaan.

Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometri otettiin käyttöön Fimlab Laboratoriot Oy:llä vuonna 2015. Laitteella tutkitaan HI-virusnäytteiden lisäksi joitakin immuunivajavuustilojen näytteitä. Uuden laitehankinnan myötä perehdytysoppaan laatiminen katsottiin tarpeelliseksi. Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda laadukas ja pitkäikäinen perehdytysopas, joka helpottaa uuden työntekijän tai harjoittelijan perehdyttämistä laitteen käyttöön. Opinnäytetyön menetelmä oli toiminnallinen ja opinnäytetyö koostui raportista ja tuotoksesta, joka oli Fimlab Laboratoriot Oy:lle tuotettava perehdytysopas Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrille.

Perehdytysopas tukee uuden työntekijän ja harjoittelijan perehdyttämistä vaikuttaen laboratoriotuotteen laatuun. Raportti koostui teoreettisesta tiedosta ja siinä käsiteltiin sekä perehdyttämisen vaikutusta työnlaatuun, että perehdyttämismateriaalin luomista. Raportissa kerrottiin olennaisesti laitteen käyttöön liittyvistä tekijöistä, kuten lymfosyyteistä ja laitteella tutkittavasta HI-viruksesta sekä laitteen käyttämästä virtausytometriestä menetelmästä ja immunofenotyyppityksestä. Siinä käsiteltiin myös Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrin ominaisuuksia ja toimintaa ja kerroimme opinnäytetyömme etenemisestä.

Jatkotutkimuksena opinnäytetyölle voisi olla syvällisempi koulutusmateriaali esimerkiksi immunofenotyyppityksestä ja CD-luokituksesta tai esimerkiksi Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrin antamien kuvaajien tarkempi esitleminen. Materiaali voisi olla paperisessa ja sähköisessä muodossa.

ABSTRACT

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

MÄKINEN, JEMINA & NIEMISTÖ, ELISA:
Instruction Guide for Beckman Coulter AQUIOS CL – Flow Cytometer

Bachelor's thesis 66 pages, appendices 6 pages
August 2017

Flow cytometry is a method used to analyse different characters of a single cell in a short time. Immunophenotyping is performed by flow cytometer and it is used to detect different lymphocyte populations. Immunophenotyping can be used for example to follow the response to treatment on leukemias and HIV (human immunodeficiency virus).

The approach of this study is functional. The study consists of two parts: theoretical section and the product that is an instructional guide for Beckman Coulter AQUIOS CL -flow cytometer. The theoretical section presents information on lymphocytes, flow cytometry, immunophenotyping, HI-virus and information about Beckman Coulter AQUIOS CL -flow cytometer. The objective of this study was to design an instruction guide for Beckman Coulter AQUIOS CL –flow cytometer for Fimlab Laboratoriot Oy. Introducing the work duties and the work environment to employees is important, since it has a great impact on the quality of the employee's work. The product will be delivered to Fimlab Laboratoriot Oy in digital- and paper- form. The digital version can be updated if needed. The aim of the study was to produce a high-quality instruction guide which supports the orientation of a new employee or students doing their clinical training in the field of flow cytometry in Fimlab Laboratoriot Oy.

Key words: Beckman Coulter AQUIOS CL, flow cytometry, immunophenotyping, HIV, human immunodeficiency virus

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	7
2	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT	9
3	OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄ	10
4	PEREHDYTTÄMINEN.....	11
	4.1 Perehdytyksen tarkoitus ja tavoite	11
	4.2 Perehdytysmateriaali	14
	4.3 Perehdytysmateriaalin ulkonäkö	14
5	LYMFOSYYTIT	17
	5.1 Lymfopoeesi	18
	5.2 Lymfosyytit elimistön puolustusjärjestelmässä	20
6	IHMISEN IMMUNIKATOVIRUS	22
	6.1 Viruksen vaikutukset elimistöön	22
	6.2 Veritartuntavaara	24
	6.3 HIV-infektion diagnostiikka	24
	6.4 HIV-infektion hoito ja hoidonseuranta	25
7	VIRTAUSSYTOMETRINEN MENETELMÄ JA IMMUNOFENOTYYPITYS	27
	7.1 Virtaussytometria.....	28
	7.1.1 Valonsironta	29
	7.1.2 Fluorokromit ja fluoresenssi	29
	7.2 Immunofenotyyppitys	31
8	BECKMAN COULTER AQUIOS CL	32
	8.1 Lymfosyyttien erittelytutkimus.....	33
	8.2 Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrin toimintaperiaate	35
	8.3 Työturvallisuusohjeet.....	36
	8.4 Reagenssit, käyttöliuokset ja huollot	38
	8.5 Kontrollit.....	39
	8.6 Tulosten hyväksymiskriteerit ja käsittely	40
	8.6.1 Tulosten hyväksymiskriteerit	41
	8.6.2 Tulosten käsittely kuvaajia rajaamalla	43
8	OPINNÄYTETYÖN ETENEMINEN	48
9	PEREHDYTYSOPPAAN KUVAUS	50
10	POHDINTA.....	52
	LÄHTEET.....	54
	LIITTEET	61

Liite 1. Keskeisimmät CD-luokat Beckman Coulter AQUIOS CL – virtaussytometrin tutkimuksissa	61
Liite 2. Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrin liputukset	62
Liite 3. Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrin huomautukset.....	64

ERITYISSANASTO

AIDS	acquired immune deficiency syndrome eli hankittu immuunipuutosoireyhtymä
Absorboida	imeä itseensä
Aspiroida	imeä
Aspiraationäyte	imunäyte
CD-luokitus	Cluster of Differentiation, spesifiset monoklonaaliset vasta-aineet, jotka jaetaan tunnistamiensa antigeenien perusteella ns. CD-luokkiin
Detektori	ilmaisin
EIA-menetelmä	Entsyymi-immunologinen menetelmä
Elektrolyyttiliuos	liuos, jossa ionit kuljettavat liikkeessaan sähkövarauksia
Emittoida	säteillä tai lähettää
Fluorokromi	fluorokromit ovat kemiallisia yhdisteitä, jotka absorboivat näkymätöntä ultraviolettisäteilyä, ja vapauttavat osan energiasta näkyvinä valon aallonpituuksina eli fluoresenssina
Fotoni	säteilyn alkeishiukkanen
Granulaarinen	rakeinen, jyvämäisistä osista koostuva
HI-virus	ihmiselle immuunikadon aiheuttava virus
ILC-solut	luontaiset lymfosyytit
Immunofenotyyppitys	menetelmä, jossa solujen ilmentämien antigeenien perusteella määritetään solujen erilaistumislinja ja erilaistumisaste
Immunoglobuliini	vasta-aine
Ly-Diffi	lymfosyytti diffi, lymfosyyttien erittelytutkimus
Lyysata	hajottaa
Markkeri	merkkiaine
Monoklonaalinen vasta-aine	teollisesti tuotettu vasta-aine, joka tunnistaa antigeenin yhden epitoopin spesifisesti
Polyklonaalinen vasta-aine	teollisesti tuotettu vasta-aine, joka tunnistaa antigeenin useita epitooppeja

1 JOHDANTO

Virtaussytometrisessä menetelmässä yksittäisiä fluoresenssileimattuja soluja kuljetetaan lasersäteen ohi, jolloin solusta saadaan tärkeää tietoa esimerkiksi leukemioiden ja immuunivajavuustilojen kuten HI-viruksen tutkimisessa. Menetelmällä saadaan tietää muun muassa solun koko ja sen rakenne lasersäteen siroaman valon avulla. (Mc Kenzie & Williams 2015, 852; Siitonen & Penttilä 2015, 139.) Saksalainen tutkija Wolfgang Göhde kehitti ensimmäisen fluoresenssiin perustuvan virtaussytometrin vuonna 1968 ja hiljalleen virtaussytometriasta tuli suosittu tutkimusmenetelmä laboratorioissa (Beckman Coulter Life Sciences, 2017).

HIV on lyhenne sanoista Human Immunodeficiency Virus, jonka suomenkielinen nimitys on ihmisen immuunikatovirus (Vuento 2016, 63). Maailmanlaajuisesti HI-virusta kantaa yli 35 miljoonaa ihmistä, joista noin kymmenen miljoonaa ei saa lääkitystä viruksen hoitoon. Suurin osa tartunnan saaneista asuu Afrikassa, jossa monet lapset jäävät orvoksi vanhempien kuollessa HIV:n ja AIDS:n takia. (Punainen Risti 2017; Lapintie 2013.) AIDS on lyhenne englanninkielisistä sanoista Acquired Immunodeficiency Syndrome eli hankittu immuunipuutosoireyhtymä (Prosser & Lykke 2015). Se on HIV-infektion viimeinen vaihe. AIDS diagnosoidaan vasta henkilön sairastuttua johonkin HIV:n oheis-tautiin elimistön puolustuskyvyn heikentymisen myötä. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 341.)

Suomessa HIV-tartuntoja on tilastoitu yli 3800 ja viime vuosikymmenen aikana tartuntojen määrä on kasvanut hälyttävästi (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2017; Lapintie 2013). HI-virus on tunnistettu AIDS:n aiheuttajaksi 1980-luvulla, mutta ensimmäinen varmennettu HIV positiivinen näyte on otettu vuonna 1959 kongolaisesta miehestä (The AIDS Institute, 2017). Pääasiassa suojaamattoman seksin ja veren välityksellä tarttuva HI-virus on aluksi yhdistetty homojen sairaudeksi, ja sen entiset nimet ovatkin viitanneet vahvasti homouteen (Heikkinen & Tigersted 2016). Virusta esiintyy paljon myös heroiininkäyttäjien keskuudessa. Viruksen hoitoon ei ole olemassa vielä parannuskeinoja, mutta taudin etenemistä AIDS:iin voidaan ehkäistä lääkityksellä. Aiemmin kuolemanvaarallinen HI-virustartunta diagnosoidaankin nykyään kroonisenä sairautena kehittyneen lääketieteen myötä. (Lumio 2017a.)

Suomessa HIV:n testaus on maksutonta ja ensisijaisesti testaus tehdään terveyskeskuksissa. Testaus voidaan tehdä suoninäytteestä tai pikatestinä sormenpästä otettavasta veripisarasta, syljestä tai virtsasta 1-3 kuukauden kuluttua mahdollisesta altistumisesta. HI-viruksen diagnosointi perustuu yleensä vasta-ainemääritykseen, sillä elimistö alkaa tuottaa vasta-aineita vierasta virusta kohtaan pian tartunnan jälkeen. Kolmen kuukauden jälkeen altistumisesta saatu negatiivinen tulos on luotettava, sillä vasta-aineet ovat viimeistään silloin todettavissa. (Hiv-tukikeskus 2011.) Fimlab Laboratoriot Oy:llä on useita eri määrittymenetelmiä HIV-tartunnan diagnosointiin, taudin seuraamiseen ja lääkevästean seurantaan. HI-virusinfektiota ja sen hoidon seuranta voidaan tutkia esimerkiksi virtausmittomietrisellä menetelmällä, joka tunnistaa fluoresenssin ja vasta-aineiden avulla virukselle infektoituneita lymfosyyttejä. (Fimlab Laboratoriot Oy 2016a; Fimlab Laboratoriot Oy 2016b.) Tampereen Fimlab Laboratoriot Oy:n toimipisteeseen on hankittu hiljattain Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausmittometri, joka analysoi näitä lymfosyyttien erittelynäytteitä. Edeltävään laitteeseen verrattuna AQUIOS CL parantaa työntekijän työturvallisuutta, sillä työntekijän ei tarvitse olla analysointivaiheessa näytteen kanssa kosketuksissa. Lisäksi laite nopeuttaa määrittymisen tekemistä.

Opinnäytetyömme tuotoksena teemme perehdytysoppaan Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausmittometrille helpottamaan uuden työntekijän perehdyttämistä laitteen käyttöön. Perehdytysoppas otetaan käyttöön sen valmistuttua Fimlab Laboratoriot Oy:lla. Työtehtäviin ja työpaikkaan perehdyttäminen on tärkeää, jotta työntekijä osaa hoitaa vaadittavat työtehtävät ja hän viihtyy työympäristössä. Kunnollinen perehdytys lisää työntekijän motivaatiota ja vaikuttaa positiivisesti työn laatuun. Suomen laboratorioissa laadunvalvonta on tarkkaan määriteltyä, sen takia toimintamallien tulisikin olla yhtenäisiä eri työntekijöiden välillä. Riittävä perehdytys ja perehdytysmateriaali edesauttavat toimintamallien yhtenäistämässä ja laadun ylläpitoa. Perehdytysmateriaali on käytännöllinen tuki työntekijälle, sillä sen lisäksi, että se tukee perehdyttämistä, materiaaliin voi palata halutessaan myöhemmin. (Penttinen & Mäntynen 2009, 2-3.)

2 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa suomenkielinen perehdytysopas Fimlab Laboratoriot Oy:n Beckman Coulter AQUIOS CL -virtaussytometrille. Laite on otettu käyttöön Fimlab Laboratoriot Oy:n Tampereen toimipisteessä kesäkuussa 2015. Tarkoituksemme on palvella virtaussytometrian työpisteeseen perehtyviä työntekijöitä ja valinnaisiin/syventäviin opintoihin tulevia opiskelijoita luomalla laadukas perehdytysopas, joka tukee työskentelyä ja perehdytystä heidän tarpeidensa mukaisesti. Perehdytysopas on pitkäaikainen ja sitä saatetaan tarvita päivittäin työskentelyn tukena. Perehdytysopas toimitetaan toimeksiantajalle paperi- ja digitaalimuodossa. Digitaalisenmuodon etuna on se, että työtä voi tarvittaessa päivittää.

Opinnäytetyön tavoitteena on helpottaa uuden työntekijän tai harjoittelijan perehdyttämistä Beckman Coulter AQUIOS CL -virtaussytometrin käyttöön. Perehdytysoppaan ansiosta laitteella työskentely on sujuvampaa, yhdenmukaisempaa ja luotettavampaa. Tavoitteena on myös oma oppiminen virtaussytometrisestä menetelmästä ja käytöstä hematologian tutkimuksissa.

Opinnäytetyön tehtävät:

1. Millainen on laadukas perehdytysopas?
2. Millainen Beckman Coulter AQUIOS CL -virtaussytometri on toimintaperiaatteeltaan?
3. Millaisia sairauksia seurataan Beckman Coulter AQUIOS CL -virtaussytometrillä?

3 OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄ

Toiminnallisessa opinnäytetyössä hyödynnetään teoreettisia sekä käytännön tietoja. Työtä tehdessä kehittyvät tekijän ammattitaito ja samalla toimeksiantaja hyötyy toteutetusta työstä. Toiminnallisessa opinnäytetyössä tehdään sekä raportti että tuotos eli produkti. (Vilka & Airaksinen 2003, 9; Kananen 2012, 45.) Kehittämistutkimus tehdään muutostarpeen vuoksi ja sen tuloksena syntyy tuotos. Tarkoituksena on poistaa ongelma tai kehittää haluttua asiaa parempaan suuntaan. (Kananen 2012, 19, 44.) Alasta riippuen työ voi olla esimerkiksi käytäntöön suunnattu ohje tai opastus, kuten perehdyttämisopas tai turvallisuusohjeistus (Vilka & Airaksinen 2003, 9; Salonen 2013, 25). Kehittämistutkimuksessa tulee ottaa huomioon, kenen ehdoilla tutkimus toteutetaan. Lähtökohtaisesti ne kenelle tuotos tuotetaan päättävät siitä mitä tehdään, kehitetään ja tutkitaan. (Kananen 2012, 85.)

Tuotos ja opinnäytetyö ovat tekstillisesti erilaisia. Raportissa kerrotaan työprosessista sekä oppimisesta, kun taas tuotoksessa puhutellaan kohderyhmää. (Vilka & Airaksinen 2003, 65; Salonen 2013, 25.) Raportissa kerrotaan mitä, miksi ja miten työ on tehty. Lisäksi kerrotaan, miten työprosessi on edennyt ja millaisia johtopäätöksiä on tehty. Raportista pystyy arvioimaan, miten opinnäytetyö on onnistunut. (Vilka & Airaksinen 2003, 65.) Ennen tuotoksen toteutusta perehdytään teorioihin ja tutkimuksiin aiheesta. Itse tuotosta tehdessä dokumentoidaan työn vaiheet ja perustellaan työhön liittyviä valintoja. Toiminnallisessa opinnäytetyössä ei keskitytä tutkimusongelmaan vaan sen sijaan ratkotaan toiminnallista pulmaa. (Airaksinen 2009.) Tuotoksesta on hyvä kerätä palautetta, jotta voidaan arvioida tavoitteiden saavuttamista myös subjektiivisesti. Kommentteja voidaan pyytää esimerkiksi tuotoksen toimivuudesta käytännössä. Työn tulee olla ammatillisesta näkökulmasta kiinnostava ja sen täytyy palvella kohderyhmäänsä. (Vilka & Airaksinen 2003, 157; Kananen 2012, 80; Salonen 2013, 18.) Opinnäytetyön prosessiarvioinnissa arvioidaan lopputulosta, eikä sen luotettavuuteen ja laatuun vaikuta työhön käytetty aika (Kananen 2012, 194).

4 PEREHDYTTÄMINEN

Perehdyttämiseksi kutsutaan toimia, joilla työsuhteen alussa uusi työntekijä oppii tuntemaan työpaikkansa. Sen keskeisin tavoite on saada työntekijä vakuuttuneeksi hänen olevan tärkeä osa uutta työyhteisöä. Perehdytykseen sisältyy työpaikan tavat, kollegat ja esimiehet, sekä työnkuva ja siihen liittyvät odotukset. Työnopastukseen puolestaan kuuluu kaikki ne asiat, jotka liittyvät itse kyseisen työn tekemiseen. Tähän kuuluvat työkokonaisuus ja työnkuva, mitä tietoa ja osaamista työssä edellytetään, työssä käytettävät laitteet ja välineet sekä työhön liittyvät terveys- ja turvallisuusvaarat. Työnopastusta annetaan kaikille tarvittaessa, myös jo pidempään työssä olleille henkilöille. (Penttinen & Mäntynen, 2009, 2; Kupias & Peltola 2009, 18; Kangas & Hämäläinen 2007, 2.) Pidempään työskennelleitä työntekijöitä perehdytetään esimerkiksi työtehtävien muuttuessa tai pitkän tauon kuten äitiyslomalta palaamisen jälkeen. (Penttinen & Mäntynen 2009,5; Kangas & Hämäläinen 2007, 2-3; Kangas 2003, 4-5; Kjelin & Kuusisto 2003, 166.)

Perehdyttäminen on vuosien saatossa muuttunut monimuotoisemmaksi ja laajemmaksi. Aiemmin perehdytys oli vain työhön opastamista, ja sitä pidettiin riittävänä perehdytyksenä, sillä työympäristöt olivat yksinkertaisempia. Nykyisin organisaatiot ja työtehtävät ovat monimutkaistuneet, joten laaja-alaisempi perehdyttäminen on tullut aiheelliseksi. (Kupias & Peltola 2009, 13-14; Kjelin & Kuusisto 2003, 36.) Perehdytyksen onnistumisen määrittelee lopulta yrityksen asiakas, kun hän arvioi saamaansa palvelua (Kupias & Peltola 2009, 16).

4.1 Perehdytyksen tarkoitus ja tavoite

Perehdytyksellä edesautetaan työntekijän edellytyksiä onnistua tulevassa työssään. Hyvä perehdytys onkin eräänlainen investointi. Kun henkilöstö on kunnolla perehdytetty, siitä hyötyvät asiakas, yritys ja työntekijät. Sillä lisätään henkilöstön osaamista, joka tukee työssä jaksamista ja vähentää työtaturmia sekä sairaspöissaoloja. Nämä tekijät parantavat kokonaisvaltaisesti laatua. Kunnollinen perehdytys auttaa työntekijää sopeutumaan paremmin työhönsä, jolloin työmukavuus lisääntyy ja mieliala ja motivaatio paranevat. Myös työn sujuvuus ja palvelun laatu paranevat työntekijän oppiessa toimivat työtavat. (Penttinen & Mäntynen 2009, 2-3; Kupias & Peltola 2009, 18-20; Laakso-

nen, Niskanen & Ollila 2012, 191; Kangas & Hämäläinen 2007, 4-5; Kangas 2004, 4-6; Kjelin & Kuusisto 2003, 46-48.)

Työmotivaatio muovautuu sen perusteella, miten hyvin uusi työntekijä tuntee kuuluvansa joukkoon ja miten hänet vastaanotetaan uudessa työpaikassa. Toimiva perehdytys-suunnitelma saa myönteisiä mielikuvia uudelle tulokkaalle, ja vastaanottava työyhteisö auttaa uutta työntekijää pääsemään mahdollisimman nopeasti kiinni uusiin työtehtäviin. Perehdytys tukee uutta työntekijää niin kauan, kunnes hän on tarpeeksi varma omasta osaamisestaan, ja on valmis itsenäiseen työskentelyyn. (Laaksonen, Niskanen & Ollila 2012, 190-191; Kangas & Hämäläinen 2007, 5.) Työntekijöitä kannustetaan perehdyttämällä omatoimisuuteen ja osaamiseen. Edellytyksenä työelämän muutoksissa on sekä kyky ja halu itsenäiseen vastuunottoon, että yhteistyö työyhteisön muiden jäsenten kanssa. Työntekijälle täytyy painottaa kysymisen tärkeyttä epäselvissä asioissa. (Penttinen & Mäntynen 2009, 3.)

Esimies on vastuussa koko työryhmän työn sujuvuudesta, tavoitteisiin pääsystä sekä työn johtamisesta. Hän voi siirtää ja delegoida perehdyttämiseen liittyviä tehtäviä nimeytyille koulutetuille perehdyttäjille, mutta lopullinen vastuu perehdyttämisestä säilyy silti aina esimiehellä. Tehtäviä on kuitenkin tarkoituksenmukaista jakaa eri henkilöille, joten käytännössä työnopastus kuuluu työpisteen jokaiselle työntekijälle. (Penttinen & Mäntynen 2009, 2; Kupias & Peltola 2009, 47; Laaksonen, Niskanen & Ollila 2012, 115; Kangas & Hämäläinen 2007, 1.) Työantajan on huolehdittava, että työntekijä saa riittävän perehdytyksen aina uuden työtehtävän alkaessa, tai uuteen työpisteeseen siirryttäessä. Usein perehdytyksen tueksi annetaan myös kirjallista materiaalia työntekijän luettavaksi. (Tehy 2017.) Perehdyttävälle on hyvä antaa henkilökohtainen perehdyttämisohjelma, johon merkitään asiat ja päivämäärät, joihin hänet on jo perehdytetty. (Laaksonen, Niskanen & Ollila 2012, 191-192; Kangas & Hämäläinen 2007, 17.)

Fimlab Laboratoriot Oy:n Tampereen toimipiste sijaitsee Tampereen yliopistollisen sairaalan (TAYS) yhteydessä. Tampereen yliopistollisessa sairaalassa kaikki harjoittelua suorittavat perehdytetään, sillä oppimisen kannalta on tärkeää suorittaa harjoittelujakso oikeassa työympäristössä. Hyvällä perehdytyksellä pyritään takaamaan, että harjoittelujakso sujuu mahdollisimman hyvin. Jokaisen terveysalalla työskentelevän ammattihenkilön velvollisuuksiin kuuluu uusien opiskelijoiden ohjaus. Ammatillisen osaamisen kehittyminen vaatii turvallista ohjaussuhdetta ohjaajan ja opiskelijan välillä. Terveys-

alan opiskelijat kantavat itse vastuun omasta oppimisestaan. (Tays 2016b.) Taysissa on luotu kattava perehdytysohjelma, jotta uusi työntekijä pääsee mahdollisimman sujuvasti kiinni työntekoon (Tays 2016a). Fimlab Laboratoriot Oy:llä perehdyttämisestä vastaa lähiesimies. Hematologialla on käytössä perehdytyslomake jokaiselle työpisteelle, joiden mukaan perehdytys etenee. Perehdytyksen kesto on tapauskohtaista, ja sen kesto vaihtelee työstä ja työntekijästä johtuen. Työpisteiden vastuuhoidajien kanssa arvioidaan kuitenkin työhön perehtymiseen kuluva vähimmäisaika ja perehtyjä yhdessä perehdyttäjän kanssa arvioi perehdytyksen riittävyyden. Perehdytyksen antaa vastuuhoidaja tai kokenut työntekijä, ja esimies seuraa perehdytyksen etenemistä keskustelemalla perehdytettävän kanssa. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015.)

Jokaisella yksilöllä on luontevimmat oppimistyylinsä. Jotkut ihmiset oppivat paremmin kinesteettisesti eli käsillä tehden ja toiset oppivat parhaiten näköaistinsa avulla eli visuaalisesti oppimalla. Audittiivinen oppija hyödyntää kuuloaistia, ja hän tarvitsee puhetta ja loogista etenemistä oppiakseen. Hyvä perehdytystyyli olisi näyttää perehdytettävälle ensin mallia, sitten antaa luettavaksi työohje, jonka jälkeen antaa hänen itsenäisesti tehdä työ mallin ja ohjeen mukaan. Tärkeää on myös kertoa miksi tiettyjä asioita tehdään. (Penttinen & Mäntynen 2009,4-6; Kupias & Peltola 2009, 121; Kangas & Hämäläinen 2007, 13-14, Kangas 2004, 13-14.)

Perehdytys pitää parhaimmillaan sisällään keskustelua, kyselyä, kuuntelua ja kannustusta. Työn lomassa käydyissä keskusteluissa on oiva tilaisuus palautteen antamiselle puolin ja toisin. (Kangas & Hämäläinen 2007, 17; Kangas 2004, 16.) Ihminen tarvitsee palautetta kehittyäkseen ja oppiakseen. Kokematon työntekijä ei välttämättä pysty itse hahmottamaan, milloin työnteko on sujuvaa. Perehdyttämiseen voidaan liittää palautekeskusteluja, joissa nostetaan esille asiat jotka onnistuvat hyvin, ja asiat jotka tarvitsevat vielä harjoittelua. Näin uudelle työntekijälle ei jää vääristynyttä kuvaa osaamisestaan. (Kupias & Peltola 2009, 136-137; Kangas & Hämäläinen 2007, 17.) Erinäisissä laeissa on viittauksia ja määräyksiä liittyen perehdytykseen. Työnteko ja siihen oppiminen on tärkeää lainsäätäjälle. Työnantaja velvoitetaan perehdyttämään ja kouluttamaan työntekijä kunnolla. Perehdyttämistä käsitellään erityisesti kolmessa laissa: työsopimuslaissa, työturvallisuuslaissa ja laissa yhteistoiminnasta yrityksissä. (Kupias & Peltola 2009, 20.)

4.2 Pehdytysmateriaali

Pehdytyksen tukena on hyvä käyttää muun muassa tervetuloa taloon -oppaita, toimintakertomuksia, henkilöstölehtiä, yritysotteita, DVD-ohjelmia, ohjekirjoja ja työohjeita, internetiä ja intranetiä (Kangas & Hämäläinen 2007,2,10; Kangas 2004, 8). Kirjallinen aineisto on käytännöllinen, sillä pehdytys voi tutustua asioihin jo etukäteen, ja myöhemmin palata tarkistamaan askarruttavia asioita materiaalista. (Kangas & Hämäläinen 2007, 7; Kangas 2004, 10; Kupias & Peltola 2009, 70.) Sen lisäksi, että työ on paperisessa muodossa, työ on hyvä tallentaa myös digitaalisesti. Digitaalisella dokumentoinnilla on monia hyötyjä. Lähes jokainen tiedosto vaatii jossain vaiheessa muokkaamista ja päivittämistä, digitaalinen dokumentointi tekee tämän helpommaksi. Tiedoston päivittämisen avulla sisältö pysyy tuoreena. Lisäksi digitaalinen dokumentointi helpottaa tiedoston säilyttämistä ja se on helposti löydettävissä. (Ray Morgan Company 2015.) Tämän takia luovutamme tekemästämme pehdytysoppaasta paperimuodon lisäksi myös digitaalisen tiedoston.

Jotta haluttu sanoma tulee ymmärretyksi, täytyy tekstin lisäksi kiinnittää huomiota selkeään ja mielenkiintoa herättävään ulkoasuun. (Söderlund 2005, 271; Hirsijärvi, Remes & Sajavaara 2014, 290.) Tekstin tulee olla helppolukuista ja ymmärrettävää (Hirsijärvi ym. 2014, 290). Teokseen luodaan visuaalisuutta esimerkiksi kuvilla, väreillä ja graafisilla kuvioilla. Näiden tekijöiden avulla lukija sisäistää paremmin luetun asian. Esteettisyyden lisäksi lukijalle pystytään visuaalisuudella selventämään vaikeasti ymmärrettäviä asioita. (Söderlund 2005, 271.) Suunniteltaessa visuaalisuutta, täytyy muistaa välttää käyttämästä liiallisia tehokeinoja. Viestin ulkoasua suunniteltaessa tulee huomioida sen kohderyhmä ja arvioida mitkä asiat on helpompi sisäistää kuvien kautta, kuin tekstiä lukemalla. (Söderlund 2005, 290-291.)

4.3 Pehdytysmateriaalin ulkonäkö

Hyvä otsikko vaikuttaa positiivisesti lukijan muistiin ja tietovarastoon, sekä herättää mielenkiinnon tekstiä kohtaan. Teksteissä on vähintään yksi otsikko, jota täydennetään väliotsikoilla. (Hirsijärvi ym. 2014, 316; Koskinen 2001, 78.) Otsikko erottuu leipätekstistä isomman kokonsa tai eri fontin avulla (Koskinen 2001, 78). Otsikoiden typografia tulisi olla viimeisteltyä, sillä ne ovat visuaalisesti hallitsevia. Otsikot kirjoitetaan mieluiten pienaakkosilla, sillä ne ovat kauniimpia ja helppolukuisempia kuin suuraakkoset.

(Itkonen 2012, 106; Lammi 2009, 87.) Otsikoissa käytettävä riviväli on yleensä yhtenäisyyden kannalta pienempi kuin leipätekstissä (Itkonen 2012, 107). Otsikon tulee olla mielenkiintoa herättävä ja ytimekäs (Söderlund 2005, 285-289). Otsikko ei saisi olla liian pitkä, korkeintaan 4-5 sanaa (Loiri & Juholin 2006, 43).

Kuvia käytetään kirjallisuudessa elävöittämään tekstiä ja se onkin tietoa näkyvässä muodossa. Kuvitus voi toimia itsenäisenä tiedonlähteenä tai sen avulla voidaan tuoda tekstistä olennainen asia esille. Kuvan täytyy olla aiheeseen sopiva. (Söderlund 2005, 272-273, 277-278.) Kuva jää mieleen tehostaen oppimista ja tiedon muistiin palauttamista (Lammi 2009, 148). Kuvia voidaan käyttää moneen eri tarkoitukseen ja usein kuvissa tarvitaan kuvatekstejä. Kuvatekstien on tarkoitus johdatella lukijaa ymmärtämään kuva halutulla tavalla. Sen tulee olla lyhyt ja ytimekäs, ja sen ollessa mielenkiintoinen se johdattelee lukijan katseen siirtymään kirjoitettuun tekstiin. (Söderlund 2005, 272-273, 277-278.)

Tekstin luotettavuutta ja sen ymmärrettävyyttä voidaan tehostaa myös taulukoin (Hirsijärvi ym. 2014, 322). Käyrät, pylväät ja piirrookset ovat selkeitä ja helposti tulkittavia, jonka takia niitä käytetään painottamaan ja havainnollistamaan tekstiä (Hirsijärvi ym. 2014, 328). Värien tehtävänä on korostaminen (Lammi 2009, 66). Käytettävät värit vaikuttavat työn visuaaliseen ilmeeseen ja värien tulee sopia käsiteltävään aiheeseen. Väreillä saadaan aikaan miellelyhtymiä lukijoissa, joiden avulla viesti tulkitaan. (Söderlund 2005, 278-281; Lammi 2009, 74; Loiri & Juholin 2006, 111-112.) Käyttämällä värillisiä otsikoita herätetään lukijan huomio, mutta varsinaisessa tekstissä tulee kiinnittää huomio tekstin luettavuuteen värien käytössä. Otsikossa voi käyttää esimerkiksi kuvassa esiintyvää väriä, jotta teksti ja kuva sopivat hyvin yhteen. (Söderlund 2005, 278-281.)

Typografialla tarkoitetaan graafista ulkoasua (Loiri & Juholin 2006, 32; Lammi 2009, 82). Sen avulla vaikutetaan tekstin viestin havaitsemiseen, luettavuuteen ja ymmärrettävyyteen tulemiseen (Koskinen 2001, 67). Tekstin lukeminen on helppoa ja vaivatonta, kun typografia on onnistunutta (Loiri & Juholin 2006, 32). Typografia luo visuaalista ilmettä edesauttaen sanoman vastaanottoa ja ymmärtämistä. Typografia on osa tuotoksen muodostelua, joka luodaan typografisen aineiston ja välineistön pohjalta (Loiri & Juholin 2006, 32). Typografialla varmistetaan julkaisun visuaalinen yhtenäisyys, ja eri osioiden yhteensopivuus (Itkonen 2009, 85; Huovila 2006, 99).

Typografiseen luettavuuteen vaikuttaa fontti, kirjainten pistekoko, värit ja taustatarkaisu (Lammi 2009, 82; Itkonen 2009, 81-82). Selkeyden vuoksi on hyvä käyttää vain muutamaa kirjasintyyppiä eli fonttia yhdessä teoksessa. Yksi kirjaintyyppi on liian vähän muoto- ja vahvuuskontrastin esiintuomiseksi. Liian monen kirjaintyyppin käyttö taas saa aikaan sekavuuden tunteen. (Söderlund 2005, 285-289; Itkonen 2009, 83; Loiri & Juholin 2006, 34.) Otsikon kirjasintyyppi saa olla näyttävä, kun taas varsinainen teksti tulee olla luettavuudeltaan selkeä (Söderlund 2005, 285-289).

Karkeasti kirjaintyyppit jaetaan kahteen ryhmään muodon perusteella: Antiikva ja groteski. Antiikvakirjaimissa on vaakasuorat päätteet, ja kirjainten viivat ovat eri vahvuisia esimerkiksi Times New Roman. Groteski on päätteetön, tasavahvaviivainen tyyli esimerkiksi Arial ja Verdana. (Itkonen 2009, 12; Lammi 2009, 83; Huovila 2006, 88-89.) Antiikvat sopivat parhaiten pitkiin leipätekstiosuuksiin, groteski puolestaan lyhyisiin kokonaisuuksiin ja taulukoihin (Loiri & Juholin 2006,35; Lammi 2009, 87). Yleensä käyttökelpoisin ja suositelluin yhdistelmä teksteissä on yhdistää antiikvaa ja groteskia (Itkonen 2009, 83; Loiri & Juholin 2006, 35; Huovila 2006, 95; Koskinen 2001, 70).

Leipätekstin pistekokona käytetään yleensä 9-12 pistettä (Itkonen 2009, 91; Huovila 2006,98; Koskinen 2001, 74). Kirjainkoko määritellään yleisesti käytössä olevan Pica-mittajärjestelmän pistekokona (pt). Yksi pica on 12 pica-pistettä, mistä tuleekin nimi 12-järjestelmä. (Lammi 2009,84; Koskinen 2001, 70; Huovila 2006, 97; Loiri & Juholin 2006, 36.) Rivivälillä säädellään kappaleiden ja palstojen näkövaikutelmaa, eli sitä kuinka tiiviiltä teksti näyttää. Leipätekstin riviväli on yleensä 1-4 pistettä kirjainkoko suurempi. (Itkonen 2009, 93.) Eri pistekoon vaihtelulla tuodaan tekstille rytmiä ja jännitettä (Huovila 2006, 98). Ilman rytmiä lukijan mielenkiinto lopahtaa (Itkonen 2009,81). Otsikoissa oleva suuri pistekoko saa silmän lukemaan sen ensimmäisenä, ja sen jälkeen siirtymään eteenpäin (Huovila 2006, 98). Tekstistä voidaan korostaa haluttuja asioita kursivoimalla, lihavoittamalla ja alleviivaamalla. Korostamista kannattaa kuitenkin käyttää harkitusti, sillä se menettää tehoaan paljon käytettynä, sillä ihmisen silmä turtuu liiallisiin tehokeinoihin. (Söderlund 2005, 285-289; Loiri & Juholin 2006, 43; Lammi 2009, 95.)

5 LYMFOSYYTIT

Hematopoieesi eli veren muodostuminen on läpi elämän jatkuva tapahtumasarja, joka sisältää solujen jakautumisen eli proliferaation, solujen erilaistumisen eli differentiaation sekä ohjelmoidun solukuoleman eli apoptoosin. Hematopoieesi on tarkoin säädeltyä ja häiriöt verisolujen tuotannossa johtavat lukuisiin veritauteihin. (Siitonen & Koistinen 2015, 16-20; Mehta & Hoffbrand, 2014, 12.) Sikiön verisolujen muodostuminen käynnistyy kolmannella viikolla hedelmöitymisestä. Sikiöllä verisoluja muodostuu esimerkiksi ruskuaispussissa, istukassa ja maksassa. Kymmenennen viikon jälkeen verisoluja alkaa muodostua myös luuytimessä, josta syntymän jälkeen tulee pääasiallinen verisolujen muodostumispaikka. Aikuisilla vertamuodostavaa kudosta on vain litteissä luissa, kuten kylkiluissa ja nikamissa. Lapsilla sitä on kaikkien luiden luuydinonteloissa. (Siitonen & Koistinen 2015, 16-20.)

Kaikki veren solut syntyvät hematopoieettisista kantasoluista linjavalintojen, solunjakautumisen sekä kypsymisen seurauksena. Toisin kuin muut solut monikykyinen hematopoieettinen kantasolu tuottaa itsensä kaltaisia kantasoluja ja erilaistumiskyvyltään suppeampia jälkeläisiä. Kantasolut luokitellaan hematopoieesia ylläpitäviin pitkäaikaisiin- (LT-HSC) ja lyhytaikaisiin (ST-HSC) -kantasoluihin sekä monikykyisiin progenitorisoluihin (MPP). (Siitonen & Koistinen 2015, 16–18.) LT-HSC lyhenne tulee englanninkielisistä sanoista long-term haematopoietic cell, kun taas ST-HSC on lyhenne sanoista short-term haematopoietic cell (Howard & Hamilton 2013, 3). MPP on lyhenne englanninkielisistä sanoista multipotential progenitor cell (McKenzie & Williams 2015, 42). Transkriptiotekijät sekä erilaiset signaalit ympäristöstä vaikuttavat siihen, erilaistuvatko solut kypsiksi soluiksi vai uusiutuvatko ne takaisin itsensä kaltaisiksi kantasoluiksi. (Siitonen & Koistinen 2015, 18.) Hematopoieettisia kantasoluja ja progenitorisoluja ei pystytä morfologisesti tunnistamaan, vaan ne muistuttavat lymfosyyttejä. Kantasolut ilmentävät pinnallaan niille spesifisiä antigeenejä, jotka muuttuvat solukehityksen myötä. Käyttämällä virtausytometriä menetelmää, kantasoluja ja niiden ilmentämiä antigeenejä pystytään tunnistamaan vasta-aineiden avulla. (Siitonen & Koistinen 2015, 16-20; Mehta & Hoffbrand, 2014, 12; McKenzie & Williams 2015, 39.)

5.1 Lymfopoieesi

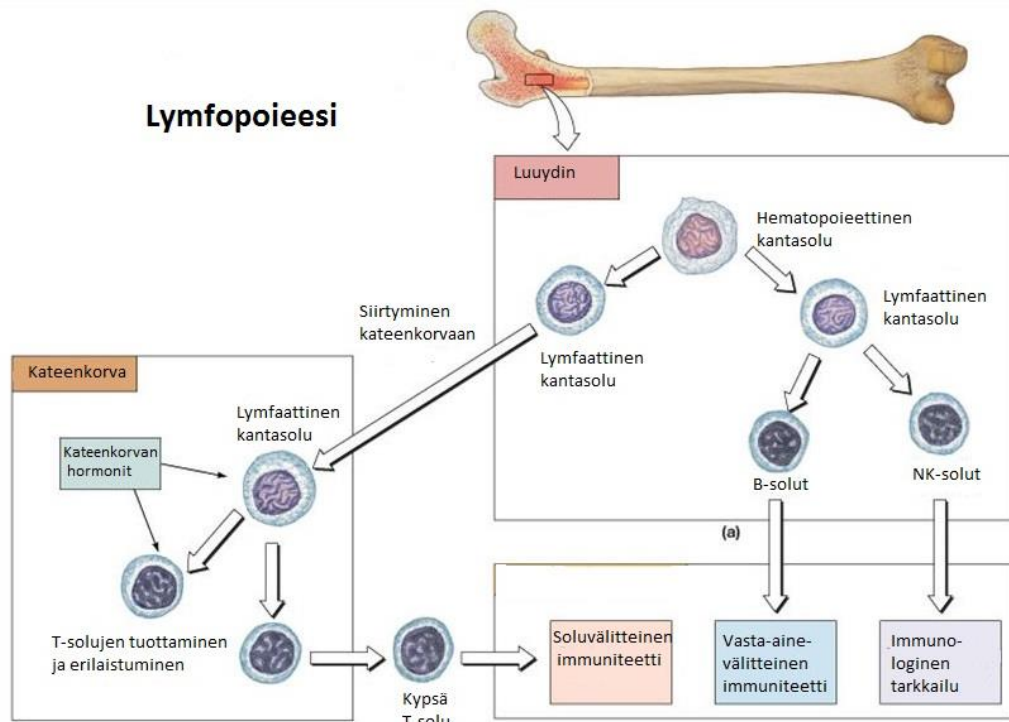
Lymfosyyttien kehittymistä kypsiksi soluiksi kutsutaan lymfopoieesiksi. Kuten muutkin verensolut, ne saavat alkunsa monikykyisistä hematopoieettisista kantasoluista. Solu erilaistuu kasvutekijöiden avulla joko lymfaattiseksi (CLP, common lymphoid progenitor) tai myeloiseksi (CMP, common myeloid progenitor) kantasoluksi. Lymfaattisesta kantasolusta kehittyy välivaiheiden kautta B-soluja, T-soluja, NK-soluja (Natural Killer) sekä dendriittisoluja. (Siitonen & Koistinen 2015, 27-30; McKenzie & Williams 2015, 124.) Antigeenistimulaatiosta riippumattomat B-solut kehittyvät luuytimessä Pro-B soluista Pre-B soluiksi ja siitä edelleen epäkypsiksi B-soluiksi, jotka siirtyvät perifeeriseen vereen kypsinä B-soluina. Verenkierrosta B-solu siirtyy lymfaattiseen järjestelmään, jossa se joko kohtaa T-solun muuttuen pitkäikäiseksi plasmasoluksi tai muuttuu ilman T-solua lyhytikäiseksi plasmasoluksi. (Siitonen & Koistinen 2015, 27-28.)

T-solujen erilaistuminen alkaa luuytimessä pro-T soluista. Varhaisessa erilaistumisvaiheessa ne siirtyvät kateenkorvan kuorikerrokseen verenkierron mukana. Kuorikerroksessa solujen pinnalle muodostuu CD2-antigeenia, jonka lisäksi se aloittaa apureseptori CD3-kompleksin ilmentämisen varsinaisen antigeenireseptorin vieressä. Tämän jälkeen pre-T solu siirtyy kateenkorvan ydinkerrokseen, jossa solu alkaa ilmentää pinnallaan CD4- ja CD8-molekyylejä. Ydinkerroksessa pre-T solut opettelevat tunnistamaan elimistön omia antigeenejä, jotta ne tunnistaisivat omat rakenteensa vieraista rakenteista. Tämän jälkeen alkaa valikoimisprosessi, jossa vialliset eli autoreaktiiviset T-solut eliminoidaan. Valikoimisprosessin aikana 95% T-soluista tuhoutuu kateenkorvassa. Valikoimisprosessin lopussa T-solulla on pinnallaan vain joko CD4- tai CD8 -pintarakenne. (Siitonen & Koistinen 2015, 29-30.)

Luonnollisen ja hankitun immunitetin solujen välimaastosta on hiljan löydetty uusi immuunisoluryhmä, luontaiset lymfosyytit eli ILC-solut (innate lymphoid cells). Niiden toiminnan merkityksen ymmärtäminen on vielä puutteellista, mutta niillä on tärkeä merkitys elimistön rajapintojen puolustuksessa. Veressä ja imukudoksessa ILC-soluja on vähän, mutta iholla, suolistossa ja keuhkokuudoksessa ILC-soluja esiintyy runsaasti. ILC-solut aistivat erilaisia vaarasignaaleja elimistössä, ja muokkaavat saadun tiedon pohjalta immuunivastetta. (Grönholm, Junttila & Pesu 2016.)

ILC-solut kehittyvät yhteisestä lymfosyyttien kantasolusta, mutta muista lymfosyyteistä poiketen niiden kehitystä ohjaavat ILC-linjoille tyypilliset transkriptiotekijät kuten Id2, TOX ja NFIL3. ILC-soluja on myös olemassa auttajatyyppiä, jolla on samankaltaisuutta CD4-positiivisten auttaja T-solujen kehityksen kanssa. Siihen viittaa GATA3-transkriptiotekijän ilmeneminen. ILC-solut tunnistetaan solulinjamerkkiainenegatiiviseksi soluksi, sillä niiden pinnalla ei ole muille immuunisoluille tyypillisiä pintamolekyylejä. Kypsien ILC-solujen solukalvolla kuitenkin ilmennetään tavanomaisille lymfosyyteille tyypillisiä sytokiinireseptoreita (mm. Interleukiinireseptorit IL-2R ja IL-7R), mutta niillä ei ole antigeenireseptoreja (T- ja B-solureseptorit), jotka vaaditaan tarkkaan kohdetunnistukseen. ILC-solut eivät vaadikaan aktivoituaakseen spesifistä antigeenitunnistusta kuten T- ja B-lymfosyytit. (Grönholm, Junttila & Pesu 2016.)

NK-solut kuuluvat ILC-soluihin. T- ja B-lymfosyyttien tavoin luonnolliset lymfosyytit kehittyvät CLP-solusta eli lymfaattisesta kantasolusta. ILC-solut eroavat nopeasti omaksi kehityslinjakseen, josta ne edelleen kehittyvät NK-esisoluksi ja lopulta kypsiksi NK-soluiksi. (Grönholm, Junttila & Pesu 2016.) Dendriittisolut voivat syntyä kahdesta eri linjasta: lymfaattisesta linjasta tai myeloisesta linjasta. Dendriittisolut ohjaavat T-solujen aktivaatiota tuottamalla interferonia. (Siitonen & Koistinen 2015, 18, 27.) Kuva 1 auttaa havainnollistamaan lymfopoiesia.



KUVA 1. Lymfopoiesi (Howard 2004, muokattu)

5.2 Lymfosyytit elimistön puolustusjärjestelmässä

Lymfosyytit ovat immunologisia soluja, jotka puolustavat elimistöä. Lymfosyyttien tärkeimmät tehtävät ovat tunnistaa ja reagoida niille spesifisiin antigeeneihin, tehdä yhteistyötä makrofagien kanssa patogeenien eliminoimiseksi ja tuottaa pitkäkestoinen immunitetti jo kohdattuja antigeenejä vastaan. Lymfosyyttien elämänskaari voi kestää muutamista tunteista useimpiin vuosiin. Immunologinen puolustusjärjestelmä on jaettu luontaiseen immunitettiin sekä hankinnaiseen immunitettiin. (McKenzie & Williams 2015, 123; Siitonen & Koistinen 2015, 27, 43.)

Luontaisen immunitetin makrofagit ja dendriittisolut tunnistavat antigeenit niiden elimistölle vieraista rakenteista, ottavat ne sisäänsä prosessointia varten ja esittelevät myöhemmin löydöksiään T-soluille. Hankinnainen immunitetti toimii kahdella tavalla, B-lymfosyytit ovat vastuussa humoraalisesta immunitetistä ja T-lymfosyytit soluvälitteisestä immunitetistä. B-lymfosyytit tunnistavat natiiveja antigeenejä ja tuottavat vastaaineita. T-solureseptorit taas tunnistavat MHC-kompleksiin (major histocompatibility complex) sitoutuneita prosessoituja antigeenejä ja tappavat viruksen infektoimia soluja, minkä vuoksi sitä kutsutaan soluvälitteiseksi immunitetiksi. (Siitonen ja Koistinen 2015, 44; Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 4-5.) Monet synnynnäiset immuunipuutostilat ovat seurausta geneettisistä poikkeavuuksista, jotka estävät joko B- tai T-lymfosyyttien tai molempien kypsymistä (Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 250).

B-lymfosyytit ovat ainoita soluja, jotka kykenevät tuottamaan vastaaineita (Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 10). Kypsä B-solu, joka ei ole vielä kohdannut antigeeniä, tuottaa pinnalleen IgD- ja IgM-luokan immunoglobuliinimolekyylejä (Siitonen & Koistinen 2015, 28; Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 148). Kun B-solu kohtaa spesifisen antigeenin, naiivi B-solu jakautuu ja erilaistuu vastaainetta erittäväksi plasmamolukseksi. Osa näistä soluista kehittyy pitkäikäisiksi muistisolukseksi, joilla on kyky reagoida nopeasti saman antigeenin myöhäisempään altistukseen. Tehokkaamman immunitetin luovien pitkäikäisten plasmamolujen syntyminen edellyttää B-solun kohtaamista T-solun kanssa. B-solun aktivoituessa ilman T-solun vaikutusta, syntyy lyhytikäisiä plasmamoluja. (Siitonen & Koistinen 2015, 28-29.)

T-lymfosyytit ovat vastuussa elimistön soluvälitteisestä immuniteetista. Dendriittisolut kohtaavat antigeenejä ja kuljettavat ne imukudoksiin, jossa T-solujen antigeenireseptorit tunnistavat MHC-molekyyleihin sitoutuneita antigeenejä. MHC-molekyylejä on antigeeniä esittelevien solujen pinnalla. T-lymfosyytit jaetaan kahteen pääryhmään: $CD4^+$ T-solut eli auttaja-T-solut auttavat B-lymfosyyttejä tuottamaan vasta-aineita ja fagosyyttejä tuhoamaan mikrobeja. Tämän T-lymfosyytit tekevät erittämällä sytokiinia, joka samalla houkuttelee ja aktivoi muita lymfosyyttejä ja makrofageja. $CD8^+$ T-lymfosyytit eli tappaja-T-solut tuhoavat infektoituneita soluja, ne ovatkin erittäin tärkeitä virusinfektioiden yhteydessä. $CD4^+$ solut vastaavat pääasiassa soluvälitteisestä immuniteetista, kun taas $CD8^+$ solut tuhoavat infektoituneita soluja ilman fagosyyttien apua. (Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 10, 104, 129-130.) Auttaja-T-solut ovat tärkeässä roolissa ihmisen infektiopuolustuksessa ja niiden pinnalla olevien $CD4^+$ reseptorien välityksellä esimerkiksi HI-virus tarttuu ihmiseen (Lumio 2017b). Natural Killer- solut tunnistavat infektoituneita soluja ja tappavat niitä erittämällä sytokiinia. NK-soluja on noin 10% lymfosyyteistä veressä ja imukudoksissa. NK-solun aktivoituessa, se erittää sytotoksisia yhdisteitä solun ulkopuoliseen tilaan. Sytotoksinen erite aiheuttaa apoptoosin infektoituneessa solussa. Aktivoituneet NK-solut lisäksi erittävät sytotoksista ainetta, joka aktivoi makrofageja aktiivisemmiksi mikrobien tappamisessa. (Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 39.)

6 IHMISEN IMMUNIKATOVIRUS

HI-virus on lentiviruksiin kuuluva immuunipuutosta aiheuttava retrovirus (Suni, Saksela & Ristola 2010, 640; Vuento 2016, 63; Lumio 2017a). Se tarttuu pääasiassa suojaamattoman seksin välityksellä, mutta myös esimerkiksi veren välityksellä HI-viruksella kontaminoituneesta neulasta. Verenluovutuksen tartuntariski on pienentynyt verenluovuttajien seulonnalla. Virus voi tarttua myös äidiltä lapselle raskauden, synnytyksen tai imeytyksen aikana. Raskauden ja synnytyksen välityksellä tapahtuvaa infektioiden määrää on kuitenkin onnistuttu vähentämään antamalla äidille antiviraalista eli virusta tuhoavaa tai sen kasvua vähentävää lääkitystä. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 338; Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 259; Lumio 2017a.) Alkujaan HIV-1 on siirtynyt ihmisiin simpansseista zoonoosina, infektio on levinnyt Keski-Afrikasta aiheuttaen pandemian ja vaikuttaa ihmisiin maailmanlaajuisesti (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 327; Vuento 2016, 54-55; Lumio 2017a). Zoonoosi tarkoittaa muutosta, jossa eläinvirus siirtyy ihmiseen ja muuntautuu ihmistä infektoivaksi (Vuento 2016, 55).

HI-viruksen kaksi päätyyppiä ovat HIV-1 ja HIV-2, joista HIV-2-virus on harvinaisempi ja vähemmän patogeeninen. Molemmat virusmuodot infektoivat immuunipuolustuksen soluja, pääasiassa auttaja T-lymfosyyttejä ja makrofageja. Hoitamattomana virus on usein oireeton ja sen itämisaika on noin kymmenen vuotta, jonka aikana T-lymfosyytit vähenevät huomattavasti. T-lymfosyyttien vähenemisen myötä immuunipuolustus ei pysty toimimaan enää kunnolla ja infektoituneelle aiheutuu immuunipuutos. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 327.) Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen mukaan HIV-tartuntoja on Suomessa tilastoitu kesäkuuhun 2017 mennessä yli 3800 tapausta ja yhteensä viruksen tartunnan saaneista ilmoitettuja kuolemia on Suomessa 486 (Terveiden ja hyvinvoinnin laitos, 2017). Maailmanlaajuisesti on arvioitu, että yli 35 miljoonaa ihmistä elää HI-viruksen kanssa. Virus on löydetty vuonna 1983 ja vuosien aikana diagnoosi on muuttunut kohtalokkaasta sairaudesta krooniseksi tilaksi lääkehoidon kehityksen myötä. (Adler, Edwards, Miller, Sethi & Williams 2012, 1-2.)

6.1 Viruksen vaikutukset elimistöön

HI-virus tarttuu pääasiassa auttaja-T solujen, mutta myös makrofagien pinnalla olevien CD4-reseptorien välityksellä. Auttaja T-soluista ja makrofageista suurin osa sijaitsee lymfaattisissa kudoksissa kuten imusolmukkeissa, pernassa ja kateenkorvassa sekä suo-

liston imukudoksissa. Dendriittisolut kuljettavat viruksen imusolmukkeisiin viruksen tartuttua esimerkiksi genitaalialueen limakalvolta solun pinnalla olevaan proteiiniin. Imusolmukkeissa virus infektoi kohdesolunsa tarttumalla gp120 pintaproteiinilla kohdesolun CD4-reseptoriin. CD4-molekyylin lisäksi myös eräät muut solun pintarakenteet voivat välittää tai edesauttaa HIV:n tarttumista soluun. (Suni, Saksela & Ristola 2010, 645; Dimmock, Easton & Leppard 2016, 338; Abbas, Lichtman & Pillai 2016, 259.) Viruksen päästyä soluun sen genomi aloittaa käänteiskopiointinsa välittömästi (Suni, Saksela & Ristola 2010, 646).

HI-virus muuntuu helposti, sillä viruksen käänteiskopiointi RNA-genomista DNA:ksi on erittäin virhealtista, jonka lisäksi virukselta puuttuu virheiden korjausominaisuus. Pienikin muutos aminohappojärjestyksessä saattaa aiheuttaa resistenssin tietyille lääkitykselle. (Hiv-tukikeskus, 2011; Vuento 2016, 65.) Toisin kuin monet muut retrovirukset, HIV-genomi pystyy käyttämään hyväksensä solun omia kuljetusmekanismeja päästäkseen solun tumaan ja tämän ansiosta infektiio on riippumaton mitotoosissa tapahtuvasta tumen hajoamisesta. Näin ollen virus pystyy infektoimaan myös jakautumattomia soluja kuten hermosoluja ja dendriittisoluja. (Suni, Saksela & Ristola 2010, 648; Dimmock, Easton & Leppard 2016, 339.) Infektoituaan solun, virus tuhoaa CD4⁺ T-auttajasoluja, jotka aktivoivat sekä tukevat muita immuunijärjestelmän soluja. Edelleen on kuitenkin epäselvää, miten virus aiheuttaa CD4⁺ solujen kuoleman. Viruksen myötä elimistöön aiheutuu CD4⁺ solujen puute, sillä virus vaikeuttaa solujen uudelleen muodostumista ja näin ollen elimistön immuunijärjestelmään aiheutuu vakavia häiriöitä. (Dimmock, Easton & Leppard 2016.)

Terveellä ihmisellä T-lymfosyytit kontrolloivat elimistön kommensaalisia mikro-organismeja eli valikoimaa mikro-organismeista, joita jokainen kantaa elimistössään. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 341.) Kommensalismissa eri lajien yksilöt elävät yhteisessä ympäristössä sovussa toisen hyötyessä yhteiselosta ja toiselle suhde on merkityksetön (Tieteen termipankki 2017; MOT Sanakirjasto 2017). Immunisysteemi ei tällöin poista näitä mikrobeja, mutta jatkuvalla toiminnallaan huolehtii, että nämä mikrobit pysyvät vaarattomina. Kun HIV infektoi T-lymfosyyttejä, näiden normaalisti harmittomien mikro-organismien määrät moninkertaistuvat ja ne voivat aiheuttaa kroonisia sairauksia. Tällaisten liitännäistautien ilmaantuessa HIV-infektio on edennyt AIDS-vaiheeseen. Eripuolilla maailmaa HIV-infektion saaneet kärsivät eri mikro-organismien aiheuttamista liitännäistaudeista. Jos potilas ei kuole liitännäistauteihin,

HI-virus alkaa lopulta infektoida CD4⁺ soluja aiheuttaen lihassairauksia sekä hermojärjestelmän sairauksia. Viimeinen vaihe on niin kutsuttu 'AIDS dementia' eli aivotoiminnan romahtaminen. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 341.) Tällä hetkellä on arvioitu, että oireeton infektoitunut henkilö tuottaa noin 10¹⁰ HIV-1 virionia päivittäin. Näistä pieni mutta ratkaisevan tärkeä osa on latentisti infektoituneissa eli lepäävissä CD4⁺ muisti T-soluissa (10³–10⁴/henkilö). Näitä infektoituneita soluja ei voida hoitaa lääkkeillä, sillä saatavilla olevat lääkkeet tehoavat vain aktiivisessa jakautumisprosessissa oleviin soluihin. Latentisti infektoituneet solut, jotka eivät tuota virusta sisältävää proteiinia, voivat kuitenkin jakautua ja tuottaa tytärsoluja, jotka ovat myös infektoituneita. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 341–342.)

6.2 Veritartuntavaara

Altistuminen HIV-positiivisen henkilön verelle tai näkyvästi veriselle eritteelle aiheuttaa tartuntavaaran. Tartunnalle altistaa sekä verisen neulan pisto, että veren joutuminen rikkiäiselle iholle tai limakalvoille, kuten suulle tai silmän sidekalvolle. (Tays 2015; Nieminen 2011.) Veritapaturman tapahtuessa tulee suorittaa paikallishoito kohdalle, johon verialtistus on tapahtunut. Roiskeet tulee huuhdella suurella määrällä juoksevaa vettä, jonka jälkeen altistuskohda puhdistetaan käyttämällä 80-prosenttista alkoholia haavaa puristamatta. Tämän jälkeen alkoholihaudetta tulee pitää altistuskohdassa muutamia minuutteja. Lopuksi veritapaturmasta tehdään työturvallisuusilmoitus. (Tays 2017; Nieminen 2011.) Terveystieteiden tutkimuksessa oletuksena on, että mikä tahansa veri voi sisältää HI-virusta. Aina käsiteltäessä verta tulee käyttää varotoimia kuten suojahanskoja. Verisiä neuloja tulee käsitellä huolellisesti ja ne tulee hävittää työnantajan ohjeistamalla tavalla. (Lumio 2017a; Nieminen 2011.)

6.3 HIV-infektion diagnostiikka

HI-virus voidaan diagnosoida esimerkiksi immunologisella EIA-menetelmällä, jossa tunnistetaan verestä viruksen antigeenejä ja vasta-aineita. Tällä menetelmällä suurin osa infektioista pystytään toteamaan kuuden viikon kuluessa tartunnasta, mutta lopullinen infektion poissulkeminen saadaan kolmen kuukauden päästä altistumisesta. Joissain erityistilanteissa viruksen tunnistamiseen käytetään myös herkkää viruksen geenejä tunnistavaa testiä. (Lumio 2017a.) Lisäksi perifeerisen veren morfologiassa voidaan havai-

ta atyyppisten lymfosyyttien lisääntymistä tai jättimetamyyelossyyttejä (Mahlamäki 2006).

6.4 HIV-infektion hoito ja hoidonseuranta

CD4 lymfosytopenian vaikeusaste ja viruksen RNA-kopioiden konsentraatio plasmassa korreloi sairauden vaikeusasteeseen. Normaalisti CD4:CD8 suhde perifeerisessä veressä on 2:1. AIDS potilaalla tämä suhdeluku kääntyy päinvastaiseksi CD4⁺ lymfosyyttien puutteen vuoksi. (McKenzie & Williams 2015, 417.) CD4-solujen normaali taso on yli $0,5 \times 10^9/l$, kun taas HIV-infektion saaneella CD4-solujen taso laskee ja tasolla $0,3-0,4 \times 10^9/l$ infektiokerkyys alkaa lisääntyä (Anttila & Syrjänen 2014). Elimistön CD4⁺ T-lymfosyyttien osuuden laskiessa, virus spesifisten CD8⁺ T-lymfosyyttien osuus nousee. Virus pyrkii pitämään näiden solujen suhteen tasapainossa, sillä CD8⁺ T-lymfosyyttien osuuden kasvaminen on riippuvainen CD4⁺ soluista. Virus siis tuhoaa CD4⁺ soluja jättäen niitä tarpeeksi CD8-solujen tuottamiseen. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 340.)

Suurista rahallisista sijoituksista ja monista kliinisistä kokeista huolimatta HIV-infektiota vastaan ei vielä ole tehokasta rokotetta (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 343; Vuento 2016, 68; Lumio 2017a). Aikaisella infektion toteamisella ja lääkehoidon aloittamisella voidaan pienentää AIDS:iin sairastumisen ja kuoleamisen riskejä (Lumio 2017a). Lääkehoito hidastaa taudin kulkua, jolloin HIV-infektion kanssa on mahdollista elää. Lääkehoito on kallista ja tämän vuoksi infektiota ei yleensä pystytä hoitamaan maissa, joissa infektiot ovat yleisimpiä. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 343; Vuento 2016, 68.)

Nykyisin HIV-potilaita hoidetaan pääsääntöisesti HAART (highly active anti-retrovirus therapy) –lääkehoidolla, joka on otettu käyttöön vuonna 1994. Lääkehoito koostuu vähintään kolmen lääkkeen yhdistelmähoidosta. Parhaassa tapauksessa lääkehoito pysäyttää viruksen etenemisen niin, ettei sitä perifeerisestä verestä löydetä nyky menetelmillä. Näin ollen virus ei pysty infektoimaan uusia CD4-soluja ja niiden määrä saadaan kasvamaan tai jopa normalisoitumaan. Lääkehoito ei kuitenkaan poista virusta lepäävistä CD4⁺ -soluista ja jopa muutaman päivän lääkkeen syömättä jättäminen saa viruksen lisääntymään huomattavasti. Pahimmassa tapauksessa tästä syntyy lääkeresistenssi. HIV-infektoitunut henkilö joutuu käyttämään lääkitystä säännöllisesti koko elämänsä

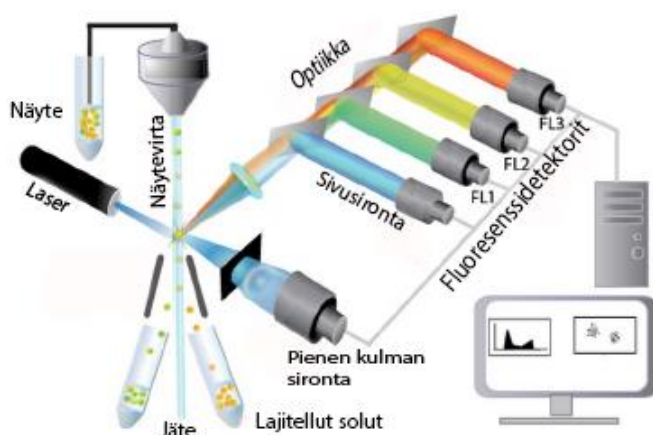
ajan. Lääkkeen hoitovastetta tulee seurata säännöllisesti, jotta mahdollinen resistenssi havaitaan ajoissa ja lääkettä voidaan vaihtaa. (Dimmock, Easton & Leppard 2016, 344–345; Anttila & Syrjänen 2014.)

Pirkanmaalla HIV:n hoito on keskitetty Tampereen yliopistolliseen sairaalaan sisätautien poliklinikan infektio- ja sisätautien poliklinikalle. Sairauden tutkiminen, hoito sekä hoidon seuranta ovat maksutonta potilaalle. (Anttila & Syrjänen 2014.) Pienikin epäily HI-virukselle altistumisesta on hyvä syy testauttaa itsensä ja testi on mahdollista tehdä myös oman terveysalueen ulkopuolella (Lumio 2017a). Infektoituneen potilaan ollessa oireeton, rutiinikontrolleissa tulee käydä 3-6 kuukauden välein, kun taas lääkehoitoa saavat käyvät kontrolleissa 2-4 kuukauden välein. Infektion alkuvaiheessa sekä lääkehoidon aloitusvaiheessa kontrollikäynnejä on useammin. Lääkehoito aloitetaan CD4-solujen laske-neen tason perusteella sekä potilaan oireiden perusteella. (Anttila & Syrjänen 2014.)

7 VIRTAUSSYTOTOMETRINEN MENETELMÄ JA IMMUNOFENOTYYPITYS

Virtausytometrian periaate mahdollistaa yksittäisen solun eri ominaisuuksien analysoinnin lyhyessä ajassa (Leach, Drummond, Doig & Allyson 2013, 3). Menetelmää käytetään esimerkiksi immunofenotyyppityksessä analysoimaan yksittäisiä antigeenejä esitteleviä soluja. Immunofenotyyppitystä käytetään leukemioiden ja HIV-infektion diagnostiikan tukemisessa sekä hoidon seurannassa. (Mc Kenzie & Williams 2015, 854; Della Porta & Picone 2017, 2.) Virtausytometrinen menetelmä monine sovelluksineen on lisännyt ymmärrystä esimerkiksi solubiologiasta ja immunologiasta (Leach, Drummond, Doig & Allyson 2013, 3). Kliinisessä hematologiassa virtausytometrialla tutkitaan muun muassa pahanlaatuisten veritautien diagnostiikkavaiheen näytteitä ja analysoidaan jäännöstauteja (Siitonen & Penttilä 2015, 139-140).

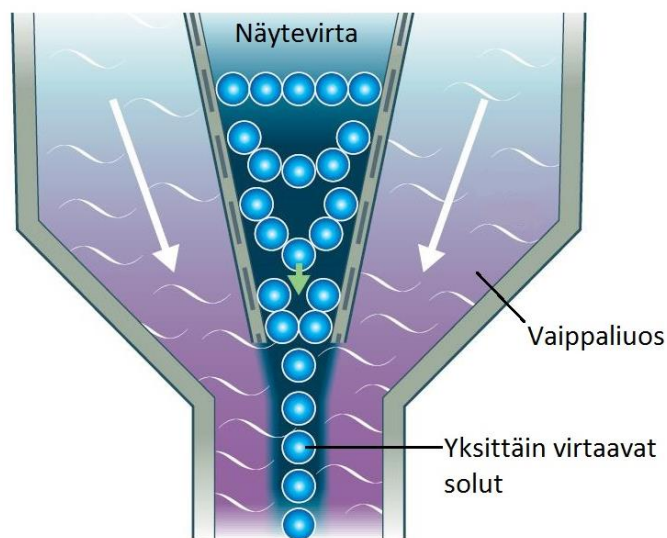
Menetelmässä hyödynnetään fluoresenssileimattuja vasta-aineita, jotka ovat spesifisiä näytteestä etsittäville antigeeneille (Leach, Drummond, Doig & Allyson 2013, 3). Laite rekisteröi yksittäisten solujen valonsirontaa ja lähettämää valoa solun kulkiessa lasersäteen läpi (Siitonen & Penttilä 2015, 139). Menetelmässä on mahdollista käyttää näytteenä esimerkiksi perifeeristä verta, luuytimen aspiraationäytettä tai likvornäytettä. Näissä näytteissä solut ovat toisistaan erillään, joten ne sopivat menetelmään erityisen hyvin. Menetelmässä voidaan käyttää myös kudoksenäytettä, mutta kudokset tulevat hajotettua mekaanisesti ja siitä valmistetaan solususpensio ennen analyysia. (Siitonen & Penttilä 2015, 139; Hatton, Hughes-Jones, Hay, Keeling 2013, 54.) Kuvassa 2 on esitettyä virtausytometrin eri osat.



KUVA 2. Virtausytometrinen toiminnallinen rakenne (Roy J. Carver Biotechnology Center 2017, muokattu).

7.1 Virtausytometria

Ennen näytteen analysointia virtausytometrillä solususpensiosta yleensä poistetaan punasolut lyysaamalla (Mc Kenzie & Williams 2015, 855). Lisäksi suspesioon lisätään analyysiin tarvittavat fluoresenssimerkkiaineet (Richad, Jahan-Tigh, Cairiona, Obermoser & Scwarzenberger, 2012, 1). Tämän jälkeen solususpensio aspiroidaan virtauskammioon. Virtauskammiossa solut pakotetaan kulkemaan yksittäin lasersäteen ohi. Virtauskammio koostuu kahdesta eri nestepylväästä: näytevirrasta ja vaippaliuoksesta. Nestepylväät ovat esitettyinä kuvassa 3. Solut ohjataan sisempään nestepylväeseen sitä ympäröivällä vaippaliuoksella. (Mc Kenzie & Williams 2015, 855.) Paine-eron avulla näytevirtaus saadaan pidettyä erillään vaippaliuoksesta ja kulkemaan näytekammiossa eri nopeuksilla (Mc Kenzie & Williams 2015, 855). Menetelmässä hyödynnetään vaippaliuoksen paineen vaihtelun vaikutusta näytevirtauksen kulkuun ja määrittämisessä tulee valita virtausnopeus aina käyttötarkoituksen mukaan. Esimerkiksi immunofenotyypityksessä voidaan käyttää suurta virtausnopeutta, kun taas DNA analyysissä matala virtausnopeus on tärkeä. (Leach M., Drummond M., Doig A. 2013.)

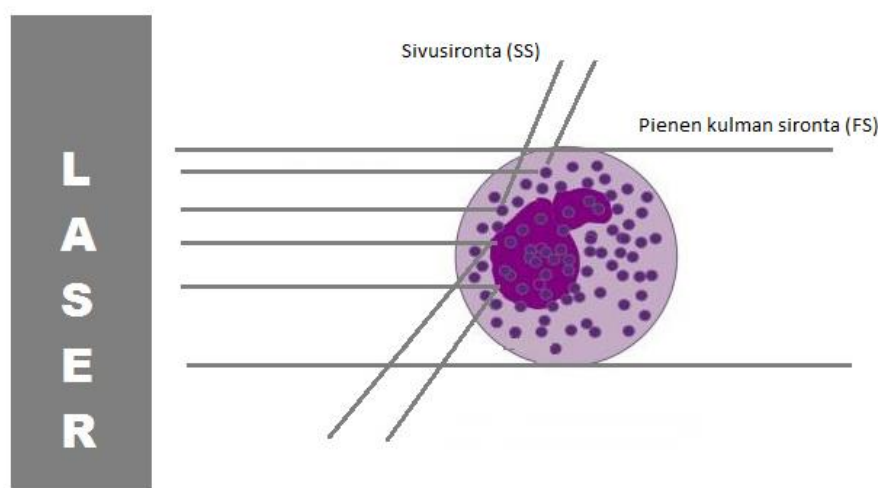


KUVA 3. Virtausytometrin virtauskammio 2017 (Flow Cytometry, muokattu)

Nestepylväiden lisäksi virtausytometri sisältää optiikkaa, joka koostuu valoa lähettävästä ja valoa keräävästä optiikasta. Valoa eksitoiva optiikka sisältää linsskejä ja prismoja, kun taas valoa keräävä optiikka ohjaa lasersäteitä detektoreille linssien ja peilien avulla. (Leach, Drummond & Doig 2013, 4-5.)

7.1.1 Valonsironta

Solun kulkiessa lasersäteen ohi, valonsironta tapahtuu kohtisuoraan ja 90° kulmassa. Pienen kulman sironta (Forward side scatter, FS) on verrannollinen solun kokoon, kun taas 90° kulmassa mitattava sivusironta (Side scatter, SS) on verrannollinen solun granulaarisuuteen. Sivusironta syntyy, kun lasersäteet osuvat solun organelleihin ja siroavat sivusuuntaisesti. Kuva 4 havainnollistaa solujen sirontaominaisuuksia. Yhdessä pienen kulman sironta sekä sivusironta tarjoavat tietoa, jonka avulla laite tekee valkosolujen erittelylaskennan. Laite muuttaa detektorien keräämät signaalit digitaaliseen muotoon tietojärjestelmän avulla. Kun valo osuu detektoriin, siihen saapuvat fotonit muutetaan elektroneiksi, jolloin saadaan aikaiseksi sähkövirtaa. Sähkövirta kulkee vahvistimen läpi, jonka mittaama jännite on verrannollinen saapuneiden fotonien määrään. Yleisin käytetty valodetektor on valomonistinputki. (Leach, Drummond & Doig A 2013, 5, 9; McKenzie & Williams 2015, 856.) Saatuja tuloksia tarkastellaan havainnollistavina histogrammeina ja sirontakuviaina (Siitonen & Penttilä, 2015, 139).



KUVA 4. Valonsironta sivusirontana (SS) ja pienen kulman sirontana (FS) (Leach, Drummond & Doig 2016, muokattu)

7.1.2 Fluorokromit ja fluoresenssi

Sirontaominaisuuden lisäksi menetelmässä käytetään fluoresoivia merkkiaineita. Merkkiaineet eli niin kutsutut leimat tai fluorokromit ovat yleensä liitetty solujen rakenteita

tunnistaviin monoklonaalisiin vasta-aineisiin. (Siitonen & Penttilä 2015, 139.) Merkkiaineet ovat yleensä glykoproteiinia ja ne auttavat tunnistamaan eri solupopulaatioita. Merkkiaineet lisätään solususpensioon ennen analyysia. Jos tutkittavan solun pinnalla on etsittyä markkeria, vasta-aineen ja fluorokromin yhdistelmä absorboi valoa ja vapauttaa sen spesifisenä aallonpituutena solun kulkiessa lasersäteen ohi. (Richad, Jahan-Tigh, Caitriona, Obermoser & Scwarzenberger, 2012, 1.) Fluorokromeina käytettäviä yhdisteitä ovat muun muassa fluoroisotiosynaatti (FITCH), fykoerytriini (PE), peridiini-klorofylli-a-proteiini (PerCP), allofykosyaniini (APC) sekä erilaiset yhdistelmävärit. Yhdestä solusta lähtevät samanaikaiset signaalit pystytään rekisteröimään erikseen johtamalla valoa sopivien linssien ja suodinten avulla. (Siitonen & Penttilä 2015, 139.)

Yleensä virtausytometreissä käytetään laseria, joka tuottaa valoa aallonpituudella 488nm. Laserin tuottamaa yksittäistä aallonpituutta käytetään usein kolmelle eri fluorokromille, jotka kaikki emittoivat valoa eri aallonpituuksilla. Käytettäessä kolmea eri fluorokromia, voidaan detektoida kolmea eri antigeenia samasta solusta. Kun halutaan tutkia useampia fluorokromeja, voidaan laservalonlähteitä lisätä ja jotkut virtausytometrit kykenevätkin detektoimaan jopa kahdeksaatoista eri fluorokromia samanaikaisesti. Yksi fluorokromi ei kuitenkaan emittoi valoa vain yhdeltä aallonpituudelta ja tämän takia fluorokromien emittoima valo usein aiheuttaa päällekkäisyyksiä. Esimerkiksi fluorokromit fluoroisotiosynaatti (FITC) ja fykoerytriini (PE) emittoivat valoa osittain samalla aallonpituudella. Tämä päällekkäisyys tulee poistaa ja prosessia kutsutaan kompensatioksi. Kompensatio voidaan tehdä muuttamalla virtausytometrin asetuksia tai tekemällä matemaattisia korjauksia ennen tai jälkeen tiedon keräämistä. (McKenzie & Williams 2015, 856-857; Richad, Jahan-Tigh, Caitriona, Obermoser & Scwarzenberger, 2012, 1.)

Fluoresenssissa molekyyli absorboi valoa ja saa tästä energiaa eli molekyyli virittyy korkeammalle tasolle, jolloin se eksitoi elektroneja ja palautuu normaalille energiatasolensa. Samalla energia vapautuu fotoneina, jotka näkyvät fluoresenssivalona. Virtausytometrissä fluoresenssisignaaleja keräävät yleensä valomonistinputket. Valomonistinputkien edessä käytetään filttäreitä, jotka päästävät lävitsensä vain halutun aallonpituuden. Filttäreitä on kolmea erilaista: bandpass (BP) filtteri päästää spesifisen aallonpituuden kulkemaan lävitsensä, shortpass (SP) filtteri transmittoivat valoa matalammalta kuin valittu aallonpituus tai valitulta aallonpituudelta, kun taas longpass (LP) filtteri

päästävät ohitsensa pidempää kuin valittu aallonpituus tai valitulta aallonpituudelta. (Leach, Drummond & Doig 2013, 6-8.)

7.2 Immunofenotyypitys

Immunofenotyypitys on menetelmä, jossa määritetään solujen erilaistumisaste ja erilaistumislinja niiden ilmentämien antigeenien perusteella. Immunofenotyypityksessä käytetään monoklonaalisia vasta-aineita, jotka jaetaan niiden tunnistamien antigeenien perusteella eri CD-luokkiin eli cluster of differentiation -luokkiin. CD-luokat jaetaan ryhmiin sen perusteella mitä soluja niihin kuuluvat vasta-aineet tunnistavat. Vasta-aineet voivat tunnistaa esimerkiksi T-soluja, B-soluja ja myeloisia soluja. Vasta-aineiden sitoutumista voidaan tutkia virtaussytometrialla tai mikroskopoimalla. Mikroskopia on kuitenkin epäherkempi ja epätarkempi menetelmä, sillä mikroskopiolla saatava tulos on subjektiivinen. Monivärianalyysissä käytetään useampia fluoresenssiominaisuuksia selvittämään samanaikaisesti yhden solun ominaisuuksia. Monivärianalyysi mahdollistetaan lasertekniikan, fluoresoivien merkkiaineiden ja sovellusohjelmien ansiosta. Virtaussytometrisen jäännöstautianalyysin spesifisyyttä ja herkkyyttä on pystytty parantamaan monivärianalyysin ansiosta. (Siitonen & Penttilä 2015, 140; Naeim, Grody, Song & Rao 2013, 25.)

Yleisimpiä solumarkkereita, joita käytetään solujen identifioimisessa, ovat esimerkiksi CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD16, CD19, CD22, CD33, CD34, CD45, CD56, CD64 ja CD117. Käyttämällä oikeita vasta-aineita voidaan CD-luokkien avulla erottaa esimerkiksi eri leukemiat toisistaan. (McKenzie & Williams 2015, 505.) HIV-infektion seurannassa tärkeitä markkereita ovat CD4 ja CD8 markerit sekä niiden suhde perifeerisessä veressä (McKenzie 2015, 417). Työmme lopussa on liitteenä taulukko keskeisimmistä CD-luokista, jotka liittyvät työhömmme. Käytetyt vasta-aineet voivat olla monoklonaalisia tai polyklonaalisia. Polyklonaaliset vasta-aineet valmistetaan injektoimalla antigeeniä eläimeen, yleensä hiireen. Polyklonaaliset vasta-aineet tarttuvat erilaisiin antigeenin epitooppeihin, jonka vuoksi niiden sitoutuminen antigeeneihin on epäspesifistä ja sitä on vaikea standardisoida. Monoklonaaliset vasta-aineet on suunnattu sitoutumaan tiettyyn antigeenin epitooppiin ja niitä tuotetaan myelooma- ja kasvainsolulinjassa. Tämän takia ne ovat puhtaampia kuin polyklonaaliset vasta-aineet. (McKenzie & Williams 2015, 857.)

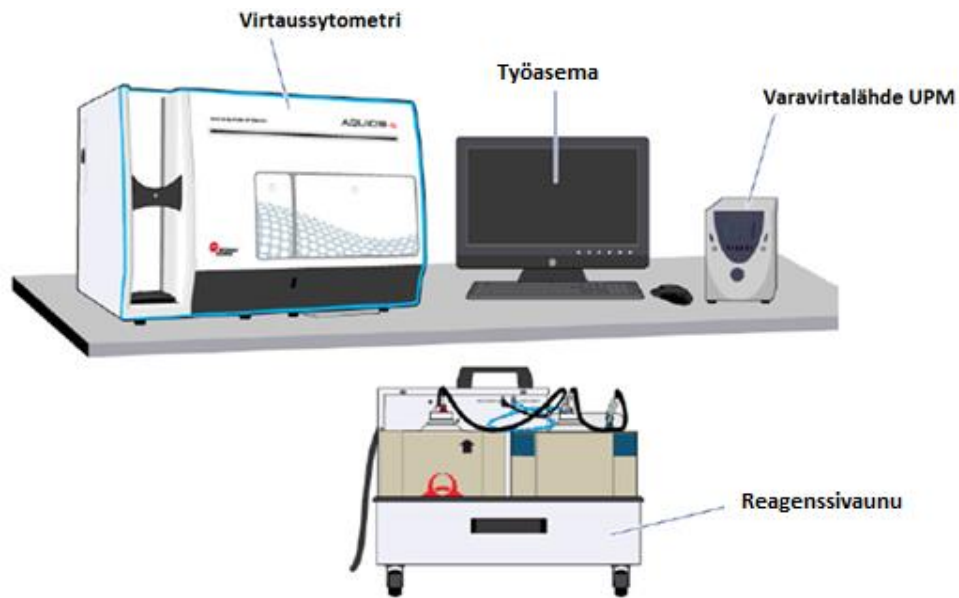
8 BECKMAN COULTER AQUIOS CL

Beckman Coulter AQUIOS CL on täysautomatisoitu virtaussytometri eli työntekijän ei tarvitse koskea näytteeseen näytteensyötön ja tulosten valmistumisen välissä. Laite kykenee mittaamaan seitsemää eri parametria: suoraa valonsirontaa (FS), sivusirontaa (SS), sähköistä tilavuutta eli electronic-volume (EV) ja neljää eri fluoresenssimittausta. (Beckman Coulter Inc 2014a, 2-3.) AQUIOS CL hyödyntää virtaussytometristä menetelmää leimattujen ja lyysattujen kokoverinäytteiden tunnistamiseen solupopulaatioksi spesifisten monoklonaalisten vasta-aineiden ja fluorokromien avulla (Beckman Coulter Inc 2014b, 1-2).

Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometri on ollut laajassa käytössä Amerikassa. Pohjoismaissa Fimlab Laboratoriot Oy:n hankkima laite on kuitenkin vasta toinen. Laite on asennettu Fimlab Laboratoriot Oy:n Tampereen toimipisteeseen joulukuussa 2014 ja se on otettu käyttöön kesällä 2015. Laitetta käyttää tällä hetkellä kahdeksan henkilöä ja sillä analysoidaan noin viisikymmentä näytettä viikossa. AQUIOS CL virtaussytometrin myötä työturvallisuus on parantunut, sillä työntekijöiden ei tarvitse koskea tartuntavaaralliseen näytteeseen analysoinnin aikana. Tämä on erittäin tärkeää, sillä suurin osa laitteella analysoitavista näytteistä on HIV-positiivisia. Ennen laitteen hankkimista näytteet esikäsiteltiin manuaalisesti pipetoimalla ja analysoitiin Beckman Coulter NAVIOS™ -virtaussytometrillä, joka edelleen toimii varamenetelmänä nykyiselle menetelmälle. Uuden laitteen myötä työntekijöiden aikaa säästyy muihin työtehtäviin. Sen lisäksi se on työturvallinen ja kustannustehokas. (Toivari 2016.)

Beckman Coulter AQUIOS CL koostuu kolmesta pääkomponentista: virtaussytometrasta, työasemasta sekä reagenssivaunusta. Pääkomponentit ovat esiteltyinä kuvassa 5. Sähkökatkoksien varalta laitteeseen on yhdistetty varavirtalähde eli UPM (Uninterruptible Power Manager). (Beckman Coulter Inc 2014a, 1-2.) Tampereen Fimlab Laboratoriot Oy:n toimipisteessä laite on kytkettynä toimipisteen laitteiden yhteiseen varavirtalähteeseen, eikä laitteella ole käytössä erillistä varavirtalähdettä tämän vuoksi (Kemppe 2016). Virtaussytometri esivalmisteleo ja analysoi kokoverinäytteitä. Näytteet asetetaan näytetelineessä analysaattorin näytesyöttäjään. Yksittäiset näytteet analysoidaan manuaalisesti. Työasemalla ohjataan virtaussytometriä ja seurataan reagenssivaunun elektronisia signaaleja. Työasema on kosketusnäytöllinen ja sen hiiri sekä näppäimistö toimivat langattomasti. Reagenssivaunu sisältää jäteastian, vaippaliuosastian sekä jäte- ja

vaippaliuossensorit. Reagenssivaunu on yhdistetty virtaussytometriin. (Beckman Coulter Inc 2014a, 1-2, 1-4, 1-10, 1-12, 1-14.)



KUVA 5. Beckman Coulter AQUIOS CL virtaussytometrin komponentit. (Beckman Coulter Inc. 2014a, 1-2, muokattu)

8.1 Lymfosyyttien erittelytutkimus

Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrillä analysoidaan lymfosyyttien erittelynäytteitä (B-LyDiff). Tutkimuksen indikaationa on HIV-infektio ja sen seuranta, jonka lisäksi sillä tuetaan diagnoosia ja seurataan taudinkulkua primäärisissä ja sekundäärisissä immuunivajavuustiloissa. Tutkimukseen tarvitaan 3 ml EDTA-verta. Näyte tulee toimittaa laboratorioon mahdollisimman pian, ja se tulee säilyttää huoneenlämmössä. Tutkimusta tehdään arkipäivisin maanantaista perjantaihin ja tulos on valmiina saman tai seuraavan päivän aikana. (Fimlab Laboratoriot Oy 2016a.) Virtaussytometriin voi laittaa neljäkymmentä näytettä samaan aikaan. Yhteen telineeseen mahtuu viisi näytettä ja telineitä mahtuu laitteeseen kahdeksan. Ensimmäisen tuloksen valmistuminen kestää 20 minuuttia näytteensyötöstä, seuraavat näytteet samasta telineestä valmistuvat neljän minuutin välein. (Toivari 2016.) Taulukossa 1 on koottuna laitteen vaatimat miniminäytemäärät eri näyteputkille.

TAULUKKO 1. Laitteen tarvitsevat miniminäytemäärät eri näyteputkille

Näyteputki (ml)	Näytteen minimimäärä (µl)
2-3 ml	750 µl
6 ml	750 µl
10 ml	1000 µl
mikroputki	650 µl

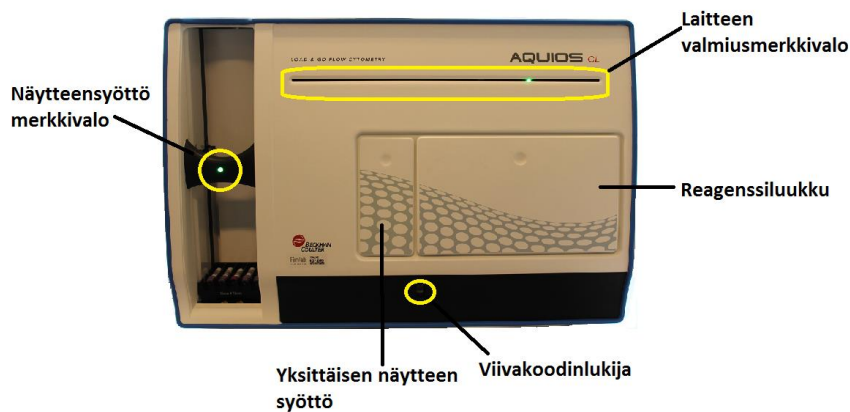
Potilaan leukosyyttitason ollessa alle $0,3 \times 10^9$ tutkimus tehdään vain erityistilanteessa. Taulukossa 2 kerrotaan lymfosyyttien erittelytutkimuksen viitevälit. Jos solujen CD3+/CD4+/CD8+ ja/tai CD3+/CD4-/CD8- osuus on alle seitsemän prosenttia, niitä ei ilmoiteta. (Fimlab Laboratoriot Oy 2016b.)

TAULUKKO 2. Perifeerisen veren viitevälit B-LyDiff tutkimuksessa (Fimlab Laboratoriot Oy 2016b, muokattu)

Perifeerisen veren lymfosyyttien normaalijakauma aikuisilla:	Lyhenne (% luvut)	%	Lyhenne (absoluuttiset arvot)	$\times 10^9/l$
T-Solut (CD3+)	Ly-CD3	58 - 84	B-CD3	0.86 – 2.25
Auttaja-T-solut (CD3+/CD4+)	Ly-CD4	34 - 65	B-CD4	0.52 – 1.47
Estäjä-T-solut (CD3+/CD8+)	Ly-CD8	13 - 38	B-CD8	0.21 – 0.92
Auttaja ja estäjä solujen suhde (CD4/CD8)	Ly-CD4/CD8	suhde: 0.8 - 3.7	-	-
Kaksoisnegatiiviset T-solut (CD3+/CD4-/CD8-)	Ly-CD4-8-	< 7%		
Kaksoispositiiviset T-solut (CD3+/CD4+/CD8+)	Ly-CD4+8+	< 7%		
B-solut (CD19+)	Ly-CD19	6 - 25	B-CD19	0.09 - 0.51
NK-solut (CD3-/CD16+/CD56+)	Ly-CD16/56	4 - 27	B-CD16/56	0.07 - 0.56

8.2 Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrin toimintaperiaate

Laitteen valmiusmerkkivalo kertoo laitteen valmiustilan. Merkkivalon ollessa vihreä, laite on valmis analysoimaan uuden näytteen. Järjestelmän analysoidessa näytettä merkkivalo on sininen ja muuttuu oranssiksi, kun laitteelta pyydetään lupaa avata yksittäisen näytteen syöttöluukku. Punainen merkkivalo tarkoittaa järjestelmän kohdanneen ongelman, eikä näytteitä voida analysoida. Tällöin tulee tarkastaa koneen antama vikailmoitus käyttöohjeesta. (Beckman Coulter Inc 2014a, 1-7.) Näytteesyöttömerkkivalo ilmoittaa, voiko laitteelle syöttää näytteitä. (Beckman Coulter Inc 2014a, 1-5.) Virtaussytometrin merkkivalot sekä osat ovat esitettynä kuvassa 6.



KUVA 6. Virtaussytometrin merkkivalot ja osat (Mäkinen 2016)

Näytteesyötön jälkeen laite esikäsittelee näytteen. Näytettä aspiroidaan avoimesta putkesta tai lävistäen näyteputken korkki. Näytettä jaetaan yhteen tai useampaan kuoppalevyyn kuoppaan. Näytteisiin lisätään fluorokromilla leimattuja vasta-aineita, jotka sitoutuvat inkubaation aikana soluissa niille spesifisiin antigeeneihin. Inkubaatioajan jälkeen laite lisää suspensioon punasoluja hajottavan lyysausliuoksen. Tämän jälkeen solut aspiroidaan virtaukseen. Virtauskammiossa on vaippaliuosta (Sheath fluid) ja kaksi elektrodia, jotka saavat solut virtaamaan kapeampaan putkeen. Kun solut kulkeutuvat virtauskanavaan, solun tilavuus syrjäyttää tietyn määrän elektrolyyttiliuosta. Tämä tilavuus mitataan jännitepulsseina ja saatua arvoa kutsutaan solun sähköiseksi tilavuudeksi eli Electronic Volume:ksi (EV). Sähköisen tilavuuden mittaaminen perustuu Coulterin periaatteeseen. (Beckman Coulter Inc 2014a, 2-3.)

Laitteen valonlähteenä sironta- ja fluoresenssi mittauksille toimii 488nm puolijohdediodi (solid state). Lasersäde saa fluorokromit eksitoimaan valoa soluista niiden kulkiessa lasersäteen ohi. Valonsironta ohjataan optisten filttareiden avulla, jotta valomonistinputket voivat kerätä saapuvat aallonpituudet muuttaen ne jännitepulsseiksi. Suoran sirronnan detektori kerää laservaloa, joka siroaa solusta pienemmässä kuin 10° kulmassa ja se on verrannollinen solun kokoon. Sivusirronnan detektori kerää laservaloa joka siroaa solusta 90° kulmassa ja on verrannollinen solun granulaarisuuteen. (Beckman Coulter Inc 2014a, 2-3.)

8.3 Työturvallisuusohjeet

Tässä kappaleessa esittelemme mielestämme tärkeimmät turvallisuusohjeet laitteen käyttöön liittyen. Turvallisuusohjeet ovat lueteltuna kokonaisuudessaan Beckman Coulter Inc. Instructions For Use –käyttöoppaassa. Työturvallisuusohjeissa käsitellään esimerkiksi biovaarallisten materiaalien ja -jätteiden käsittelyä ja hävittämistä sekä laitteen toimintaan liittyviä työturvallisuusohjeistuksia.

Laitteen osia ei saa irrottaa ja laitteen oven avaamisessa ja sulkemisessa tulee aina seurata Beckman Coulterin käyttöohjeita. Laitteen elektroniset osat saattavat aiheuttaa sähköiskun tai muun vaaratilanteen. (Beckman Coulter Inc 2014a, 9-2). Virtaussytometrin laservalo saattaa aiheuttaa silmävaurion, jos lasersäteeseen katsoo suoraan tai heijastavien pintojen kautta. Tämän vuoksi silmien altistumista lasersäteelle tulee välttää, eikä laitteesta saa poistaa lasersäteeltä suojaavia materiaaleja. (Beckman Coulter Inc 2014a, 9-5, 9-6).

Kaikkia laitteen analyysissä tarvittavia reagensseja, käyttöliuoksia ja näytteitä tulee käsitellä tartuntavaarallisina (Beckman Coulter 2014b, XXI). Esimerkiksi mahdolliset roiskeet tulee poistaa mahdollisimman nopeasti ja puhdistukseen käytetyt materiaalit tulee hävittää laboratorion ohjeiden mukaisesti. Jäteastian, sen sisällön ja letkujen kontaktia ihoon tulee välttää, sillä ne saattavat sisältää jäänteitä biologisesta materiaalista. Myös jäteastian sisältö tulee hävittää laboratorion ohjeiden mukaisesti. Laboratoriossa täytyy olla mahdollisuus työvälaineiden dekontaminoimiseksi. (Beckman Coulter Inc 2014a, 9-4.) Käsitellessä kontrolleja, reagensseja ja käyttöliuoksia, tulee käyttää asianomaista suojavarustusta, kuten suojakäsineitä, laboratoriotakkia ja suojalaseja tarvittaessa (Beckman Coulter Inc 2014a, 4-3, 9-4). Näytettä käsitellessä tulee huomioida, että

näyteputki ei ole ylitäytynyt tai alitäytynyt, jotta vältetään esimerkiksi veriroskeilta lävistettäessä näyteputken korkkia (Beckman Coulter Inc 2014a, 5-1).

8.4 Reagenssit, käyttöliuokset ja huollot

AQUIOS CL -virtaussytometrillä tulisi käyttää vain laitteelle tarkoitettuja AQUIOS reagensseja, jotta vältetään vääriä tuloksia. Kaikki AQUIOS reagenssit ovat viivakoodeilla varustettuja vähentäen mahdollisia näppäilyvirheitä. Laite saattaa lukea kuitenkin viivakoodin väärin, jos viivakoodi on vaurioitunut tai huonolaatuinen. AQUIOS lyysaysreagenssipakkaus sisältää kahta reagenssia: reagenssi A ja reagenssi B. Yhdessä nämä reagenssit valmistelevat kokoverestä leukosyytit analysointikelpoisiksi. Reagenssi A on syaniditon lyysaava reagenssi, joka hajottaa punasoluja, jotta valkosolut voidaan analysoida paremmin. Reagenssi B puolestaan hidastaa reagenssi A:n vaikutusta. (Beckman Coulter 2014b, 1-3; Beckman Coulter Inc 2014a, 1-17.)

Laitteella käytetään kahta erilaista monoklonaalista vasta-ainereagenssia. Molemmat reagenssit sisältävät nestemäisiä yhdistelmiä neljästä tai viidestä hiirestä peräisin olevista monoklonaalisista vasta-aineista. Jokainen vasta-aine on merkattu omalla fluorokromillansa. AQUIOS Tetra 1 paneeli sisältää seuraavat vasta-aineen ja väriaineen konjugaatit: CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5. AQUIOS Tetra 2 paneeli sisältää konjugaatit: CD45/FITC/(CD56+CD16) -RD1/CD19-ECD/CD3-PC5. Tutkimustulokset saadaan käyttämällä vain toista paneelia tai käyttämällä molempia paneeleja yhdistelmänä. (Beckman Coulter Inc 2014b, 1-4.) AQUIOS Sodium Hypochlorite (natriumhypokloriitti) -pesuliuosta käytetään laitteen päivittäiseen puhdistukseen sekä huuhdeltaessa proteiinikasautumia (Beckman Coulter Inc 2014a, 2-3). AQUIOS Sheath Solution on niin kutsuttu vaippaliuos, joka huuhtelee komponentit näyteanalyysien välillä ja kuljettaa soluja yksitellen soluvirrassa (Beckman Coulter Inc 2014a, 1-16; Beckman Coulter Inc 2014b, 1-4). Näytettä valmistaessa määritykseen käytetään 43µl kokovertä ja 13µl valittua monoklonaalista vasta-ainereagenssia. Viidentoista minuutin inkubaation jälkeen veri on lyysaantunut käyttämällä 335µl A lyysaysreagenssia sekä 100µl B lyysausreagenssia. Tämän jälkeen näyte aspiroidaan analyysiin. (Beckman Coulter Inc 2014b, 7-2.)

Laite ei vaadi viikko- tai kuukausihuoltoja. Kuuden kuukauden välein laitteelle tehdään pipetointihuolto (Gravimetrics test) ja määräaikaishuolto tehdään laitteelle kerran vuodessa Beckman Coulterin toimesta. Laite suorittaa pesuja automaattisesti analyysien

välillä ja tarvittaessa pesuja voi myös lisätä laitteen tehtäväksi manuaalisesti. Ulkoiset roiskeet ja liat tulee pestä tarvittaessa päivittäin työntekijöiden toimesta. (Toivari 2016.) Työasemalla on erikseen Maintenance –aukeama eli huoltoaukeama. Aukeama sisältää muun muassa vaihtoehdot laitteen huuhteluun (bleach ja flush). Flush –pesua käytetään tyhjentämään ja uudelleen täyttämään nesteet mittauskammiossa (flow cell) nopealla virtauksella vaippaliuoksen avulla. Flush –pesu on tehokas poistamaan mahdolliset tukkeutumat mittauskammioista ja pesun voi käynnistää laitteen analysoitua näytteet loppuun. Bleach –pesu käyttää AQUIOS Sodium Hypochlorite Solution –pesuliuosta laitteen puhdistamiseen. Bleach –pesua tulee käyttää vasta, kun laite on analysoinut näytteet loppuun. Tämä pesu suoritetaan laitteen liputuksissa: “*General Error, Clog or Bubble, Short Draw, Over Incubation, Over Lyse Incubation tai Control Range Failure.*” Eli liputuksissa yleisestä häiriöstä, tukoksesta tai ilmakuplasta, liian pienestä näytemäärästä, liian pitkästä inkubaatioajasta tai lyysausajasta sekä kontrollihälytyksestä. Pesujen lisäksi aukeama sisältää Diagnostics (vianmääritys) –valinnan, joka on salasanasuojattu huollon käyttöön. Samalta aukeamalta käynnistetään myös pipetointihuolto Gravimetrics –valinnalla. (Beckman Coulter Inc 2014a, 8-32, 6-27, 6-28, 6-29.)

8.5 Kontrollit

Ennen näytteiden analysoimista laitteella tulee ajaa päivittäin kontrollit. Päivittäisten AQUIOS Tetra-1 ja AQUIOS Tetra-2+ paneelien kontrollien ajamiseen tarvitaan seuraavia Beckman Coulter reagensseja: AQUIOS Tetra-1 Monoclonal Antibody Panel, AQUIOS Tetra-2+ Monoclonal Antibody Panel, AQUIOS kontrollit (AQUIOS IMMUNO-TROL Cells ja AQUIOS IMMUNO-TROL Low Cells) ja AQUIOS lyysausreagensseja (AQUIOS Lysing Reagent A ja AQUIOS Lysing Reagent B). (Beckman Coulter Inc 2014b, 3-1.)

Yksi IMMUNO-TROL –kontrolliputki riittää viiteentoista kontrolliajoon Tetra-1 ja Tetra-2+ paneeleja käytettäessä. Käytettäessä Tetra Combo –paneelia IMMUNO-TROL –kontrolliputki riittää kymmeneen kontrolliajoon. Korkkia ei saa lävistää tätä useampaa kertaa, muuten laitteeseen saattaa muodostua tukos. Ennen AQUIOS IMMUNO-TROL kontrolliajtoa tulee varmistaa, että laitteelle on tehty Daily Startup, eli laitteen käynnistys. Lisäksi tulee tarkistaa, että laitteessa on tarpeeksi reagensseja. (Beckman Coulter Inc 2014b, 3-3.)

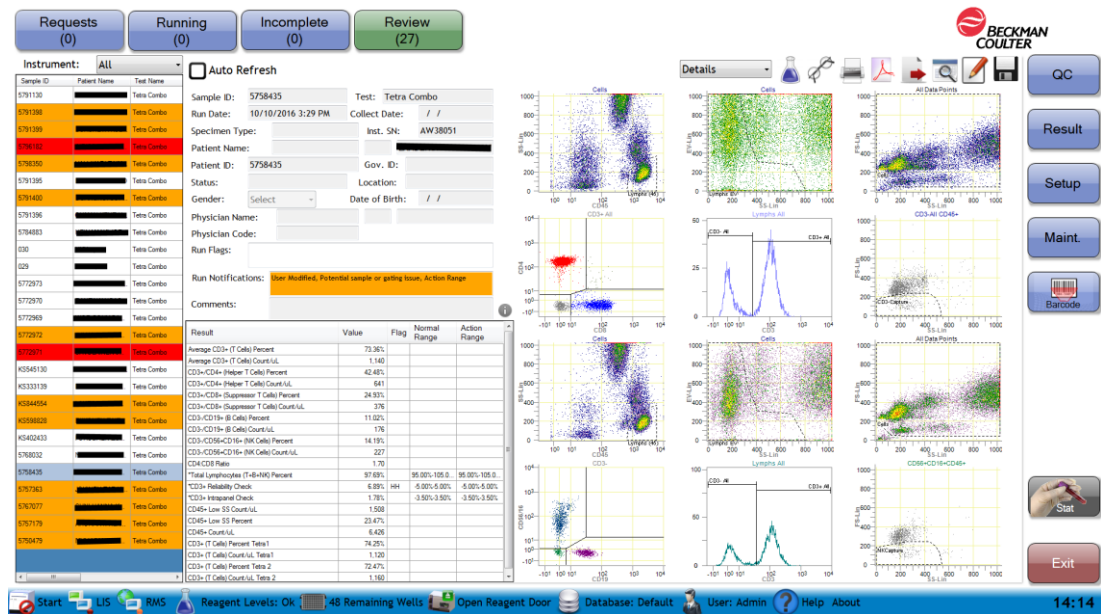
Kontrolliajon tulokset tulee tarkistaa QC (Quality control) eli kontrollinäytöltä. Laite varmentaa kontrolliajon yhteydessä automaattisesti laitteen optisen-, nestemäisen- ja elektronisen- vakauden. Samalla laite tekee automaattisesti kompensatiotarkastuksen ja Status -kentässä näkyy teksti: ”*Compensation Passed*”, jos kompensatio on hyväksytty. Jos kompensatio on hylätty, kentässä lukee teksti: ”*Compensation Failed*”. (Beckman Coulter Inc 2014b, 4-2.) Jos laite liputtaa Tetra Combo kontrolliajon epäonnistumisesta, se saattaa johtua Tetra-1 tai Tetra-2+ kontrolliajon epäonnistumisesta. Kontrolliajojen epäonnistumisen syyn selvittämiseksi tulee tarkistaa Tetra-1 ja Tetra-2+ kontrolliajojen tulokset. (Beckman Coulter Inc 2014b, 4-3.) Kontrolliajoja ei tulisi kuitenkaan käsitellä muokkaamalla kuvaajien rajauksia (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-10).

Kontrolliajojen epäonnistuessa laite antaa seuraavan huomautuksen: ”*Control result failed! – Please check control runs as a blood control has failed QC!*” Tämä huomautus saattaa johtua siitä, että jonkin kontrollin tai reagenssin käyttöikä on ylittynyt. Tällöin tulee tarkistaa kontrollien tulokset ja reagenssit. Jos kontrollit ovat ylittäneet käyttöikänsä, tulee käyttää uuden lotin kontrolleja. Jos taas jonkin reagenssin käyttöikä on ylittynyt, tulee se korvata uudella reagenssipullolla. Tämän jälkeen kontrollit voidaan ajaa uudestaan. Tarvittaessa tulee olla yhteydessä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan. Laite saattaa antaa kontrollien epäonnistumisesta myös seuraavan huomautuksen: ”*Control result failed! - Please check control runs, as a blood control has failed QC! – The system will resume when you exit!* ” Tämän ilmoituksen ilmetessä tulee tarkistaa kontrolliajojen tulokset ja pyytää kontrolliajot uudestaan. Tarvittaessa tulee olla yhteydessä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan. (Beckman Coulter Inc 2014b, 9-26.)

8.6 Tulosten hyväksymiskriteerit ja käsittely

Laboratoriotyöntekijän tulee aina tarkistaa laitteen antamat tulokset manuaalisesti ennen tulosten hyväksymistä, sillä laite saattaa antaa väärinä tuloksia. Väärinä tuloksia saattaa aiheutua esimerkiksi muiden solupopulaatioiden esiintymisestä virheellisesti lymfosyyteinä. (Beckman Coulter Inc. 2014b, 5-8.) Tutkimustuloksia on mahdollista tarkistella tulosikkunassa (Review). Lisäksi tällä välilehdellä tuloksia voi muokata rajaamalla ja tallentaa muutoksia ennen tietojen siirtymistä LIS:iin. (Beckman Coulter Inc. 2014b, 5-2). LIS on lyhenne englanninkielisen sanoista laboratory information system, joka suomenmennetaan esimerkiksi laboratorion tietojenkäsittelyjärjestelmäksi (Saarni 2015).

Muokkaaminen tapahtuu käyttämällä Review -välilehden oikeassa yläkulmassa olevia kuvakkeita. Tuloksia voi myös tulostaa ja muuttaa esimerkiksi PDF muotoon. Kuvassa 7 on esitettyä Review -välilehti, jossa vasemmassa laidassa näkyvät valmistuneet tulokset. Valittaessa haluttu näyte, oikeaan laitaan avautuu näytteen tulokset ja Details -alasettovalikosta voi valita halutun tulosten tarkistelumallin. (Beckman Coulter Inc. 2014b, 5-2, 5-3).



KUVA 7. Tulosten tarkistelu Review -välilehdellä.

Näytteitä vastattaessa tulisi tarkistaa valonsironta- ja EV (Electronic Volume) -kuvaajat, joissa tutkittavien solupopulaatioiden tulee erottua mahdollisimman hyvin toisistaan. Lisäksi tulee tarkistaa vasta-ainevärjäyksen onnistuvuus tarkistamalla, että fluoresenssivärjäys korreloi määrittelyssä käytettyihin vasta-aineisiin. Kuvaajissa tulee rajata tutkittava solupopulaatio siten, että määrittelyssä tarpeettomat solupopulaatiot jäävät rajauksen ulkopuolelle. Punasolut eivät välttämättä lyysaannu kunnolla, esimerkiksi jos näytteessä esiintyy punasolujen tumallisia esiasteita eli NRBC -soluja tai jos proteiini konsentraatio on poikkeava. CD45 -kanavaa tarkkailemalla varmistetaan, että punasolut eivät esiinny virheellisesti lymfosyyteinä. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-8, 5-9.) Eri kanavien kuvaajat ovat esitettyä sivulta 40 lähtien.

8.6.1 Tulosten hyväksymiskriteerit

Laitteella on olemassa monia tapoja, joilla tulee tarkistaa tulosten luotettavuutta. Laitteen kolmelle eri paneelille on olemassa luotettavuuden tarkistamiseen erilliset ohjeet.

AQUIOS Tetra-1 paneelin tuloksille tehdään CD3+ tarkistus, jossa tarkistetaan, että CD3+/CD4+ ja CD3+/CD8+ solujen summien prosentuaaliset arvot eroavat alle viidellä prosentilla CD3+ solujen prosentuaalisesta arvosta. Kone laskee tämän automaattisesti ja tämä prosenttiosuus on nähtävissä kohdassa ”CD3+ Reliability Check”. Jos tulos ei täytä tätä kriteeriä, näytettä ei voida hyväksyä vaan näyte tulee analysoida laboratorion varamenetelmällä. Liian suuri prosentuaalinen ero johtuu yleensä näytteen biologisista tekijöistä, jolloin näytteessä on esimerkiksi kaksoispositiivisia CD4+ ja CD8+ T-soluja. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-9.)

AQUIOS Tetra-2+ paneelin tulokset tarkistetaan lymfosyyttien kokonaisprosentuaalisuuden tarkistamisella, jota kutsutaan myös termillä ”LymphoSum”. Lymfosyyttien kokonaisprosentuaalisuuteen kuuluvat T-, B- ja NK -solut ja arvo lasketaan seuraavalla kaavalla: Lymfosyyttien kokonaisarvo prosentuaalisesti (%) = %CD3+(T) + %CD19+(B) + %CD3-(CD56+CD16+) (NK). Optimaalisesti saadun arvon tulisi olla 95-105%. Laite laskee myös tämän arvon automaattisesti ja se näkyy kohdassa ”Total Lymphocytes (T+B+NK) Percent”. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-9.)

AQUIOS Tetra Combo paneelin tuloksille tehdään ”CD3+ Intrapanel Check”, jossa AQUIOS Tetra-1 ja AQUIOS Tetra-2+ väliset CD3+ prosentuaaliset arvot toimivat sisäisenä kontrollina. Nämä prosentuaaliset arvot saavat erota toisistaan alle 3,5 prosenttiyksikköä. Myös tämä arvo on laskettuna automaattisesti kohdassa ”CD3+ Intrapanel Check”. Kuvassa 8 on kehystettynä punaisella nämä tarkistettavat arvot. Jos arvo ei vastaa kriteerejä, tulee laitteella ajaa ”Bleach” -pesu ja hylätä aiemmat tulokset, joita ei voi hyväksyä kriteerien täyttymättömyyden takia. Tämän jälkeen näyte tulee ajaa uudestaan ja tehdä uudet rajaukset näytteelle. Jos tämäkään ei auta, tulee olla yhteydessä paikalliseen Beckman Coulter edustajaan. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-9.)

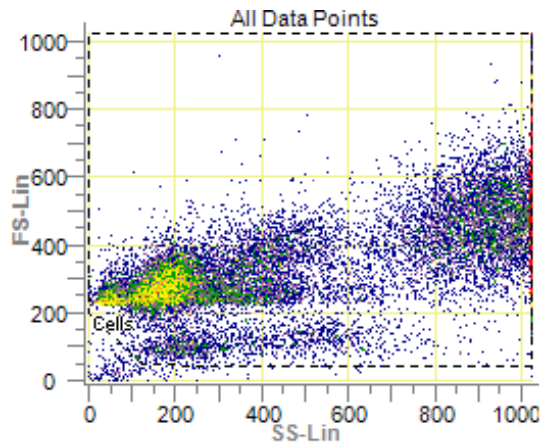
Result	Value	Flag	Normal Range	Action Range
Average CD3+ (T Cells) Percent	73.36%			
Average CD3+ (T Cells) Count/uL	1,140			
CD3+/CD4+ (Helper T Cells) Percent	42.48%			
CD3+/CD4+ (Helper T Cells) Count/uL	641			
CD3+/CD8+ (Suppressor T Cells) Percent	24.93%			
CD3+/CD8+ (Suppressor T Cells) Count/uL	376			
CD3-/CD19+ (B Cells) Percent	11.02%			
CD3-/CD19+ (B Cells) Count/uL	176			
CD3-/CD56+CD16+ (NK Cells) Percent	14.19%			
CD3-/CD56+CD16+ (NK Cells) Count/uL	227			
CD4:CD8 Ratio	1.70			
*Total Lymphocytes (T+B+NK) Percent	97.69%		95.00%-105.0...	95.00%-105.0...
CD3+ Reliability Check	6.89%	HH	-5.00%-5.00%	-5.00%-5.00%
*CD3+ Intrapanel Check	1.78%		-3.50%-3.50%	-3.50%-3.50%
CD45+ Low SS Count/uL	1,508			
CD45+ Low SS Percent	23.47%			
CD45+ Count/uL	6,426			
CD3+ (T Cells) Percent Tetra1	74.25%			
CD3+ (T Cells) Count/uL Tetra1	1,120			
CD3+ (T Cells) Percent Tetra 2	72.47%			
CD3+ (T Cells) Count/uL Tetra 2	1,160			

KUVA 8. Reviw -välilehden vasemmassa alareunassa oleva laatikko, joka näyttää numeraalisesti potilastulokset ja hyväksymiskriteerien tarkistamiseen tarvittavat arvot, jotka ovat kehystettynä tässä kuvassa punaisella

8.6.2 Tulosten käsittely kuvaajia rajaamalla

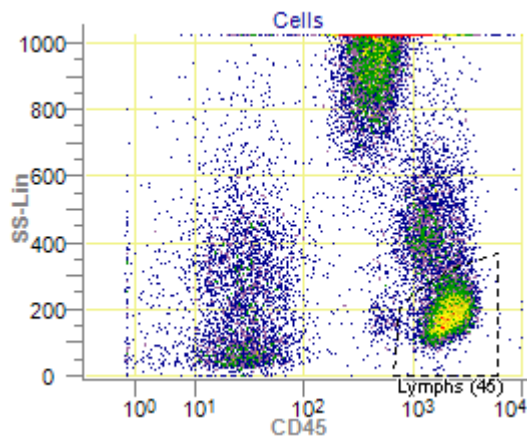
Tuloksia pystytään käsittelemään Review -välilehdellä. Kontrolliajoja ei tulisi kuitenkaan käsitellä muokkaamalla kuvaajien rajauksia. Näytteiden tuloksia muokatessa joitakin tietoja ei pysty muuttamaan, kuten näytteen ajo päivämäärää ja tutkimusnumeroa. Nämä tiedot muuttuvat automaattisesti harmaaksi näytöllä. Kuvaajien rajaaminen alkaa valitsemalla muokattava kuvaaja. Kuvaajaa pystyy suurentamaan tuplaklikkaamalla sitä. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-10.)

Seuraavat rajaukset ovat ohjeita AQUIOS Tetra-1 paneelin vastaamiseen, joista ensimmäiset viisi kuvaajaa kuvaavat CD3+ (T-solut) solupopulaatioita:



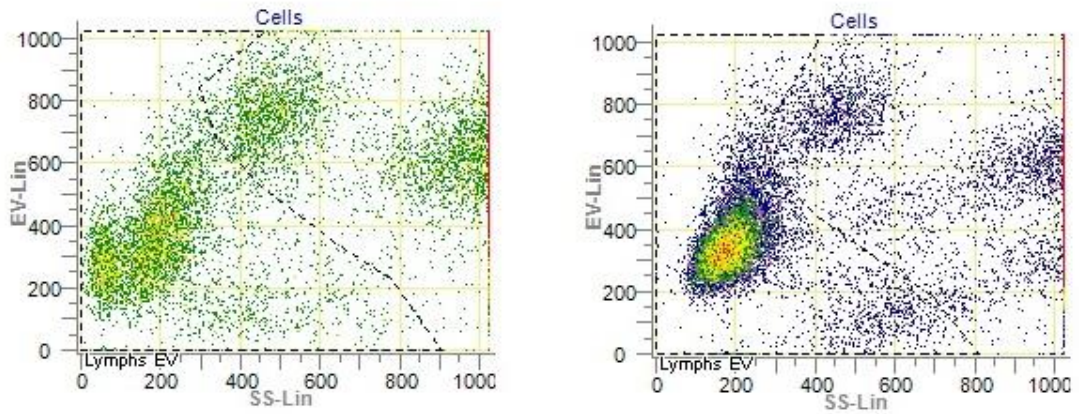
KUVA 9. FS-Lin/SS-Lin -kuvaaja

Kuvan 9 kuvaaja esittää pienen kulman sirontaa (FS) verrattuna sivusirontaan (SS). Kuvaajan tarkoitus on tunnistaa tutkitut leukosyyttisolut ja eliminoida solujätteet (Beckman Coulter Inc 2014b, 2-5). Tämä kuvaaja tulee rajata siten, että alhaalla vasemmalla olevat solujätteet jäävät kuvaajan ulkopuolelle (Beckman Coulter Inc 2014b 5-12).



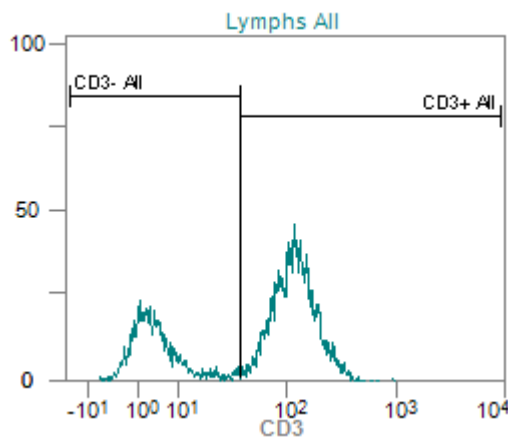
KUVA 10. SS-Lin/CD45 -kuvaaja

Kuvan 10 SS-Lin/CD45 -kuvaaja on luotu erottamaan lymfosyytit muista leukosyyteistä (Beckman Coulter Inc 2014b, 2-5). Kuvaaja rajataan siten, että se sisältää lymfosyytit joissa CD45 + FITC fluoresenssi näkyy kirkaana ja SS matalana (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-11). Myös AQUIOS Tetra-2+ paneelissa tämän kuvion rajaus suoritetaan samalla tavalla (Beckman Coulter Inc 2014b 5-11).



KUVA 11. EV-Lin/SS-Lin -kuvaajat

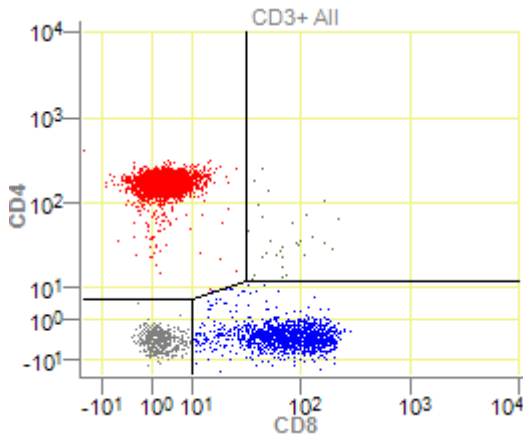
Kuvan 11 sähköinen tilavuus (EV) verrattuna sivusirontaan (SS) –kuvaaja on luotu, jotta tutkittava solupopulaatio saataisiin mahdollisimman hyvin tarkasteltavaksi. Tätä kuvaaja käytetään tuottamaan tietoja, josta saadaan laskettua erilaisia prosentiosuuksia ja absoluuttisia laskelmia. (Beckman Coulter Inc 2014b, 2-6). Tässä kuvaajassa lymfositit rajataan mukaan, kun taas monosyytit ja basofiilit pyritään rajaamaan pois kuvaajasta. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-11.) Myös AQUIOS Tetra-2+ paneelissa tämän kuvion rajaus suoritetaan samalla tavalla (Beckman Coulter Inc 2014b 5-11). Kuvassa 11 on kaksi erilaista mallia mahdollisista kuvaajien tuloksista.



KUVA 12. Lymphs All ja CD3 –histogrammi

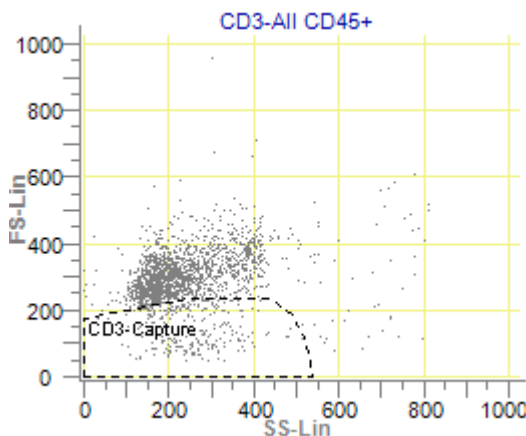
Kuvan 12 CD3 histogrammia käytetään erottamaan CD3 -positiiviset solut CD3 -negatiivisista soluista (Beckman Coulter Inc 2014b, 2-6). Histogrammi rajataan siten, että vasemmalle puolelle jäävät CD3 -negatiiviset solut ja oikealle puolelle jäävät CD3 -positiiviset solut (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-16). Myös AQUIOS Tetra-2+ paneelissa

lissa tämän histogrammin rajausta suoritetaan samalla tavalla (Beckman Coulter Inc 2014b 5-11).



KUVA 13. CD3 All ja CD4/CD8 -kuvaaja

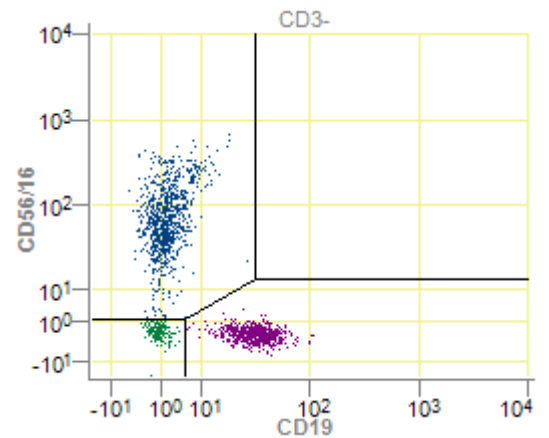
Kuvan 13 kuvaaja on tehty erottamaan positiiviset CD3+CD4+ solut CD3+CD8+ solupopulaatiot toisistaan (Beckman Coulter Inc 2014b, 2-7). Rajaukset tehdään siten, että CD4+ ja CD8+ solut ovat omissa rajausalueissaan (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-12). Oikean yläkulman rajaukseen jää CD4 ja CD8 –markkereita kohtaan kaksoispositiiviset solupopulaatiot ja vasempaan alakulmaan kaksoisnegatiiviset solupopulaatiot.



KUVA 14. FS-Lin/SS-Lin (CD3-All + CD45+) -kuvaaja

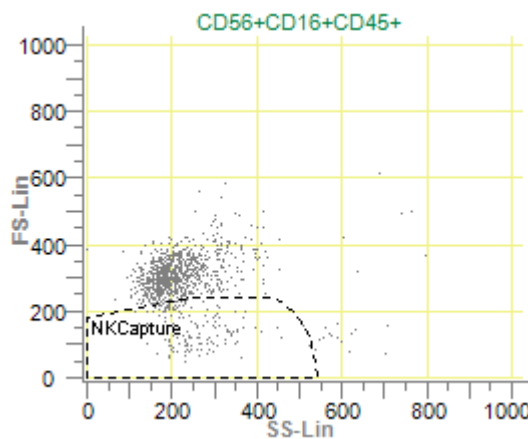
Kuvan 14 kuvaajassa esiintyy CD3 –negatiiviset solupopulaatiot, eli muut kuin T-solupopulaatiot, jotka on tuotu kuvan 12 kuvaajasta. Tästä kuvaajassa tulee rajata CD3 -negatiiviset solut, joilla on matala pienen kulman sironta (FS) ja korkea sivusironta (SS) (Beckman Coulter Inc 2014b, 2-8).

Seuraavissa kuvaajissa on AQUIOS Tetra-2+ paneelin tuloksien rajaukset, joita ei ole vielä aiemmin esitetty:



KUVA 15. CD56+CD16+ verrattuna CD19+ -kuvaaja

Kuvan 15 kuvaajassa rajataan CD3-CD56+CD16+ solupopulaatio CD3-CD19+ populaatiosta ja jätetään tuplanegatiivinen populaatio omalle alueellensa. Laite erottaa oletuksena negatiiviset populaatiot positiivisista CD56/CD16 soluista siten, että raja on lähempänä negatiivista populaatiota. Tätä rajausta ei saa korjata, jos se ei ole välttämättöä. (Beckman Coulter Inc 2014b, 5-14).



KUVA 16. FS verrattuna SS (CD56+CD16+CD45+) -kuvaaja

Kuvan 16 kuvaajassa asetetaan rajaus siten, että se sisältää solut matalalla pienen kulman sironnalla (FS) ja korkealla sivusironnalla (SS) (Beckman Coulter Inc 2014b 2-12).

8 OPINNÄYTETYÖN ETENEMINEN

Opinnäytetöiden aiheet jaettiin alkukevästä 2016. Onnistuimme saamaan itsellemme meitä eniten kiinnostavan aiheen. Siitä innostuneena aloimme heti työstää opinnäytetyösuunnitelmaa, josta suunnitelmaseminaari pidettiin pienryhmämme kesken huhtikuussa. Saamamme palautteen perusteella korjasimme suunnitelmaa paremmaksi. Toukokuun alussa kävimme Fimlab Laboratoriot Oy:llä keskustelemassa toimeksiantajan kanssa heidän toiveistaan perehdytysoppaan suhteen ja opinnäytetyön teoriaosuuden sisällöstä. Lisäksi meille esiteltiin laite ja sen toiminta. Käynnin perusteella korjasimme edelleen opinnäytetyösuunnitelmaamme. Suunnitelma ja sopimuspaperit palautettiin kaikkien osapuolten allekirjoittamana 31.05.2016.

Keväällä meillä oli yksi viikko varattuna opinnäytetyön tekoon ja käytimme ajan teoriaosuuden kirjoittamiseen. Aloitimme kirjoittamisen perehdyttämisestä, lymfosyyteistä ja virtaussytometrisestä menetelmästä. Kesän aikana tutustuimme kumpikin itsenäisesti opinnäytetyössä käsiteltäviin aiheisiin, ja etsimme lähteitä. Syksyllä kävimme Fimlab Laboratoriot Oy:llä tutustumassa paremmin laitteeseen, haastattelemassa laitteenkäyttäjiä ja ottamassa kuvia laitteesta. Jatkoimme teorian kirjoittamista ja aloitimme perehdytysoppaan luomisen.

Ennen perehdytysoppaan tekemisen aloittamista tutustuimme hyvän perehdytysoppaan tuottamiseen sisällöllisesti ja ulkonäöllisesti. Tästä kirjoitimme myös opinnäytetyöhömme oman teoriaosuuden. Mielestämme näihin asioihin tutustuminen ja niistä kirjoittaminen opinnäytetyöhön oli tärkeää, sillä ne auttoivat meitä luomaan laadukkaan perehdytysoppaan. Perehdytysoppaassa tärkein kriteerimme oli, että se vastaisi toimeksiantajan toiveita ja sille asetettua tarkoitusta. Ulkonäöllisesti kiinnitimme huomiota tekstin helppolukuisuuteen ja ymmärrettävyyteen, esimerkiksi siten, että tuotoksessa käytetyt fontit olisivat selkeitä ja sopivankokoisia. Sisällöllisesti lauseiden tuli olla helposti ymmärrettäviä. Halusimme lisätä tekstin ymmärrettävyyttä ja teoksen visuaalisuutta käyttämällä tuotoksessa kuvia ja värejä.

Syksyn aikana käytimme paljon aikaa opinnäytetyön teoriaosuuden kirjoittamiseen. Tässä vaiheessa olimme melko tyytyväisiä teorianne sisältöön ja kesällä 2017 viimeistelimme jo kirjoitettuja tekstejä. Kesällä aloimme kirjoittaa opinnäytetyömme tiivistelmää, abstraktia ja pohdintaa ja pyysimme palautetta Fimlab Laboratoriot Oy:n työnteki-

jöiltä perehdytysoppaasta, jonka mukaan teimme tarvittavia korjauksia. Syksyn opintojen alkaessa elokuussa meillä oli vielä viikko varattuna opinnäytetyön tekemiseen ja tämän ajan käytimme tehokkaasti tehden viimeisiä korjauksia ja työstäen perehdytysopasta. Kävimme myös vielä uudemman kerran Fimlab Laboratoriot Oy:llä näyttämässä opasta.

9 PEREHDYTYSOPPAAN KUVAUS

Opinnäytetyömme tuotoksena syntyi suomenkielinen perehdytysopas Fimlab Laboratoriot Oy:n virtausytometriä työpisteelle. Oppaan tarkoituksena on palvella työpisteelle perehtyviä työntekijöitä ja harjoittelua suorittavia opiskelijoita. Opas luovutetaan toimeksiantajalle sekä paperisessa muodossa, että digitaalisena. Digitaalista tiedostoa voidaan tarvittaessa päivittää. Kansilehden lisäksi oppaassa on 36 sivua. Oppaan alussa on johdanto, jonka tarkoitus on johdatella lukijaa perehdytysoppaan sisältöön ja antaa siitä yleiskatsaus. Halusimme sisällyttää oppaaseen myös sisällysluettelon auttamaan lukijaa löytämään etsimänsä tiedon helpommin.

Kansilehdessä on tuotoksen nimi, Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrin kuva, TAMK:in ja Fimlab Laboratoriot Oy:n logot ja opinnäytetyön tekijöiden nimet ja koulutusohjelma. Kuvassa 17 on perehdytysoppaan kansilehti.



KUVA 17. Perehdytysoppaan kansilehti (Mäkinen & Niemistö 2017)

Opas koostuu teorialiedosta ja laitteen käyttöohjeista. Teorialieto tutustuttaa lukijan Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrin käyttöön liittyvään teoriaan. Oppaassa on käsiteltyä esimerkiksi virtausytometrinen menetelmä ja immunofenotyypitys. Virtausytometrisen menetelmän havainnollistamiseksi olemme käyttäneet oppaassa myös kolmea kuvaa aiheesta. Immunofenotyypityksen teorialiedon oheen liitimme taulukon keskeisimmistä CD-luokista Beckman Coulter AQUIOS CL –

virtaussytometrin tutkimuksissa. Seuraavassa kappaleessa olemme kertoneet lymfosyytien erittely (B-LyDiff) –tutkimuksesta yksityiskohtaisemmin ja tehneet taulukon tutkimuksen viiteväleistä. Oppaassa kerrotaan myös tarkemmin Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrin toimintaperiaatteesta, laitteen käyttämisestä reagensseista ja käyttöliuoksista ja laitteen käyttöön liittyvistä työturvallisuusohjeista.

Oppaan käyttöohjeet sisältävät omat kappaleensa laitteen esivalmisteluista, reagenssien lisäyksestä käynnistyksen yhteydessä, reagenssien lisäyksestä analyysien välissä, laitteen käynnistämistä (Startup), kontrollien analysoimisesta, kontrollien tulosten tarkistamisesta, näytteiden analysoimisesta, tulosten hyväksymiskriteereistä, tulosten käsitteystä kuvaajia rajaamalla, laitteen sulkemisesta, huoltotoimenpiteistä ja lopuksi laitteen liputuksista ja huomautuksista. Kappaleen alussa on lyhyesti yleistä tietoa kappaleessa käsiteltävistä asioista, jota seuraa numeroidut työvaiheet. Käyttöohjeiden tekemisessä olemme käyttäneet tulkitsemista helpottavia laitteen näytöltä löytyviä kuvakkeita. Näin ollen käyttäjä tietää, minkä näköistä kuvaketta hänen tulee painaa tietyssä vaiheessa. Joissain kappaleissa on käytetty myös muita havainnollistavia kuvia, kuvaajia ja taulukoita.

Perehdytysopas on väritykseltään Fimlab Laboratoriot Oy:n värien mukaisesti sinivalkoinen. Sinistä väriä olemme käyttäneet esimerkiksi otsikoissa, sivunumeroinnissa ja taulukoissa. Taustavärin halusimme pitää selkeyden vuoksi valkoisena. Valitsimme selkeän ja helppolukuisen fontin, joka on myös tarpeeksi suurta. Otsikkojen fonttikoko on hieman suurempi, kuin leipätekstin. Oppaan teorialiedossa olevat kuvat ja taulukot ovat numeroituina, jotta teksti olisi liitettynä kuviin, kun taas käyttöohjeisiin liitetyt kuvat ja taulukot ovat numeroimattomia, sillä katsoimme sen olevan siten selkeämpi.

10 POHDINTA

Opinnäytetyön aloittaminen ja tekeminen on ollut mielekästä, sillä saimme juuri meitä kiinnostaneen aiheen työstettäväksemme. Heti alusta alkaen olimme innokkaina etsimässä tietoa opinnäytetyömme aiheesta ja into riitti opinnäytetyön tekemisen loppuun asti. Olemme molemmat kiinnostuneita hematologiasta, ja virtaussytometriä oli menetelmänä meille vielä tuolloin vieraampi, joten tiedon etsiminen oli mielenkiintoista. Toiminnallinen opinnäytetyö sopi meille menetelmänä, sillä työtä tehdessä sai toteuttaa omia visioitaan. Opinnäytetyöparina meidän yhteistyö sujui yllättävän hyvin, työskentelytapamme täydensivät toisiaan ja motivoimme toisiamme työntekoon.

Vastasimme työssämme opinnäytetyöprosessin alussa asetettuihin tehtäviin. Eli kirjoitimme työssämme laadukkaan perehdytysoppaan laatimisesta, Beckman Coulter AQUIOS CL –virtaussytometrin toimintaperiaatteesta ja laitteella tutkittavista sairauksista. Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa suomenkielinen perehdytysopas Fimlab Laboratoriot Oy:lle ja tarkoituksena oli palvella virtaussytometrian työpisteeseen perehtyviä työntekijöitä ja opiskelijoita luomalla laadukas perehdytysopas tukemaan perehdytystä toimeksiantajan tarkoituksen mukaisesti. Onnistuimme mielestämme toteuttamaan onnistuneesti tavoitteemme ja työn tarkoituksen. Perehdytysoppaassa on perehdytyksen kannalta olennaista tietoa virtaussytometrisestä menetelmästä, immunofenotyypityksestä ja Beckman Coulter AQUIOS CL -virtaussytometrin toimintaperiaatteesta. Perehdytysoppaassa on myös selkeät ohjeet laitteen käyttöön. Opasta ei ehditty testaamaan käytännössä, joten tarkoituksen lopullista toteutumista on vaikea arvioida.

Työmme luotettavuuteen vaikuttaa tuoreiden ja monipuolisten lähteiden käyttö. Keräsimme lähteitä esimerkiksi kirjoista, verkkojulkaisuista ja artikkeleista. Lisäksi pyrimme tarkastamaan lähteidemme tiedot useammasta eri teoksesta. Saimme hyviä vinkkejä aiheajauksien tekemiseen toimeksiantajalta ja opettajalta. Näiden perusteella lähdimme miettimään omia mielenkiinnon kohteitamme ja suhteutimme ne opinnäytetyön laajuuteen. Osittain jouduimme myös poistamaan jo kirjoitettuja tekstejä, ettei aiheemme paisuisi liikaa. Työssämme on otettu huomioon eettiset näkökulmat. Olemme noudattaneet työssämme salassapitovelvollisuutta, eikä esimerkiksi käyttämissämme materiaaleissa ole potilastietoja näkyvillä. Lisäksi olemme kunnioittaneet tekijänoikeuksia, sillä emme ole kopioineet mitään käyttämiemme lähteiden alkuperäisiä tekstejä ja

olemme kirjoittaneet työhömmе lähdemerkinnät Tampereen Ammattikorkeakoulun virallisen raportointiohjeen mukaisesti.

Opinnäytetyön tekemisessä kohtasimme useita haasteita. Opinnäytetyön tekemisen aikataulut oli niistä merkittävin, mutta onneksi saimme aiheemme hyvissä ajoin ja osasimme aikatauluttaa työnteon jo alusta asti. Tiesimme alusta alkaen, että tulemme suurella todennäköisyydellä tekemään harjoittelujaksomme eri kaupungeissa ja opinnäytetyön kirjoittaminen harjoittelun aikana olisi ollut rankkaa. Tämän takia halusimme saada työtä tehtyä mahdollisimman paljon ennen harjoittelun alkamista. Silti emme saaneet työtä sille mallille, mille olimme suunnitelleet ja jouduimme tekemään suuren työn vielä viimeisten viikkojen aikana. Lisäksi suurena takapakkina työemme tekemiselle koimme, kun opinnäytetyömme katosi alkuvaiheessa sen ollessa tallennettuna OneDrive pilvipalveluun. Tämän jälkeen opimme olemaan huoleellisempia työn tallentamisessa omille tietokoneillemme. Koimme myös, että työemme kannalta olisi ollut hyvä, jos olimme käyneet useammin Fimlab Laboratoriot Oy:llä tuotoksen toteutuksen aikana. Se olisi auttanut hahmottamaan paremmin heidän toiveitansa perehdytysoppaan suhteen ja olisimme myös voineet opetella laitteen käyttöä ja kokeilla perehdytysoppaan toimivuutta käytännössä.

Olemme tyytyväisiä tuottamaamme perehdytysoppaaseen ja sen sisältöön. Toivomme, että siitä on hyötyä Fimlab Laboratoriot Oy:llä virtausytometriaan perehtyville opiskelijoille ja työntekijöille. Jatkotutkimuksena opinnäytetyöllemme voisi olla syvällisempi koulutusmateriaali esimerkiksi immunofenotyypityksestä ja CD-luokituksesta tai esimerkiksi Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrin antamien kuvaajien tarkempi esittelemine. Materiaali voisi olla paperisessa ja digitaalisessa muodossa.

LÄHTEET

Abbas, A.K., Lichtman, A.H. & Pillai, S. 2016. Basic Immunology – Functions and Disorders of the Immune System. 5. painos. Kanada: Elsevier

Adler, M.W., Edwards, S.G., Miller, R.F., Sethi, G. & Williams, I. 2012. ABC of HIV and AIDS. 6. painos. BMJ Books.

Airaksinen, T. 2009. Toiminnallinen opinnäytetyö kehittää ammattitaitoa ja ammattitekstitaitoja. Luettu 15.8.2016.

https://issuu.com/tiinu/docs/toiminnallinen_opinn__ytety___kehit .

Anttila, L. & Syrjänen, J. 2014. HIV-potilaan ohje. Julkaistu 05.05.2010. Päivitetty 09.12.2014. Tulostettu 12.08.2016. (Intra PSHP)

Beckman Coulter Inc. 2014a. AQUIOS CL Flow Cytometer: Instructions For Use. Käyttöopas.

Beckman Coulter Inc. 2014b. AQUIOS Tetra: System Guide.

Beckman Coulter Life Sciences. History of flow cytometry. Luettu 24.08.2017. <http://www.beckman.com/coulter-flow-cytometry/history>

Della Porta, M.G. & Picone, C. 2017. Diagnostic Utility of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases 9 (1), 2.

Dimmock N.J., Easton A.J. & Leppard K.N. 2016. Introduction to modern virology. UK: Wiley Blackwell.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2015. Intranet: Perehdytysohje hematologialle. Laadittu 25.11.2015. Luettu 18.7.2017.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2016a. Tutkimusluettelo: B-lymfosyytit, erittely. Hyväksymispäivämäärä 29.09.2016. Luettu 12.6.2017.
http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6836;id=15656

Fimlab Laboratoriot Oy. 2016b. Tutkimusluettelo: Hi-virus, antigeeni ja vasta-aineet, yhdistelmätutkimus. Hyväksymispäivämäärä 09.03.2016. Luettu 24.08.2017.
http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6623;id=13706

Flow Cytometry. Assay-Protocol. Luettu 14.10.2016 <http://www.assay-protocol.com/cell-biology/flow-cytometry>

Grönholm, A., Junttila, I. & Pesu, M. 2016. Luontaiset lymfosyytit – uusi immuunisolu-ryhmä. Lääketieteellinen aikakausikirja Duodecim 9/2016, 820-827. Luettu 7.9.2016.
<http://www.duodecimlehti.fi/duo13122>

Hatton C., Hughes-Jones N., Hay D. & Keeling D. 2013. Haematology. United Kingdom: Wiley-Blackwell.

Heikkinen, T. & Tigerstedt, J. 2016. Hiv on homojen sairaus. Julkaistu 23.03.2016. Luettu 24.08.2016. <http://hivpoint.fi/heikkinen-tigerstedt-hiv-on-homojen-sairaus/>

Hirsijärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2014. Tutki ja kirjoita. 19.painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Hiv-tukikeskus. 2011. Hiv-hoitotyön käsikirja. 3. uudistettu painos. Suomen HIV/aids-sairaanhoidajayhdistys ry, Hiv-säätiö/Hiv-tukikeskus ja HUS, HYKS, Infektiosairauksien yksikkö, Auroran Infektiosairauksien yksikkö sekä kirjoittajat, 2011. Luettu 15.8.2016 http://www.hivtukikeskus.fi/wp-content/uploads/2012/08/hiv_kasikirja_2011_web2.pdf

Howard, B. 2004. Human physiology - The immune system. Luettu 03.05.2017.
<http://slideplayer.com/slide/7250064/>

Howard, M. & Hamilton, P. 2013. Haematology. United Kingdom: Churchill livingstone Elsevier.

Huovila, T. 2006. "look" visuaalista viestisi. Helsinki: Inforviestintä Oy.

Itkonen, M. 2012. Typografian käsikirja. 4., tarkistettu ja laajennettu painos. Helsinki: RPS-yhtiöt.

Kananen, J. 2012. Kehittämistutkimus opinnäytetyönä – kehittämistutkimuksen kirjoittamisen käytännön opas. Jyväskylä: Jyväskylän ammattikorkeakoulu

Kangas, P. 2004. Perehdyttäminen palvelualoilla. TTK. 4. uudistettu painos. Edita Prima Oy.

Kangas, P. & Hämäläinen, J. 2007. Perehdyttämisen suunnittelu ja toteutus. 1. painos. Työturvallisuuskeskus TTK.

Kemppi, R. Vastuuhoitaja. 2016. Haastattelu 13.10.2016. Haastattelija Mäkinen, J. & Niemistö, E. Tampere.

Kjelin, E. & Kuusisto, P-C. 2003. Tulokkaasta tuloksetekijäksi. Helsinki: Talentum Media Oy

Koskinen, P. 2001. Hyvä painotuote. Helsinki: Inforviestintä Oy

Kupias, P. & Peltola, R. 2009. Perehdyttämisen pelikentällä. Helsinki: Oy Yliopistokustannus, HYY Yhtymä.

Laaksonen, H., Niskanen, J. & Ollila, S. 2012. Lähijohtamisen perusteet terveydenhuollossa. 2., uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy

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

Lapintie, L. 2013. SPR: Jopa tuhat ihmistä tietämättään HIV-positiivisia Suomessa. Yle Uutiset. Julkaistu 01.12.2013. Päivitetty 01.12.2013. Luettu 24.08.2017. <https://yle.fi/uutiset/3-6962836>

Leach, M., Drummond, M. & Doig, A. 2013. Practical Flow Cytometry in Haematology Diagnosis. Wiley-Blackwell.

Loiri, P. & Juholin, E. 2006. HUOM! Visuaalisen viestinnän käsikirja. 2. painos. Helsinki: Infoviestintä Oy.

Lumio, J. 2017a. HIV (Ihmisen immuunivirus). Lääkärikirja Duodecim. Luettu 12.6.2017 http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk01189

Lumio, J. 2017b. HIV-infektio ja AIDS (immuunikato). Lääkärikirja Duodecim. Luettu 12.6.2017. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk01190

Mahlamäki, E. 2006. Solumorfologia infektioitaudeissa. Luettu 14.6.2017. [http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=B\)%202006%20Laaduntarkkailupaivat%2FMahlam%C3%A4ki%20-%20Solumorfologia%20infektioitaudeissa.pdf&type=file&vuosi=2016](http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=B)%202006%20Laaduntarkkailupaivat%2FMahlam%C3%A4ki%20-%20Solumorfologia%20infektioitaudeissa.pdf&type=file&vuosi=2016)

McKenzie, S.B. & Williams, J.L. 2015. Clinical laboratory hematology. 3. Painos. New Jersey: Pearson.

Mehta, A & Hoffbrand, A.V. 2014. Haematology at a Glance. 4. painos. Chichester: Wiley-Blackwell.

MOT Sanakirjasto. Kommensalismi. Luettu 21.8.2017. <https://mot.kielikone.fi/mot/tamk/netmot.exe?motportal=80>

Naeim, F, Grody, W.W., Song, S. & Rao, N. 2013. Atlas of Hematopathology : Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches. Burlington: Academic Press.

Nieminen, L. 2011.HIV-infektio ja hoitaja. Teoksessa Mäkinen, H., Pakarinen, M. & Teperi, R. (toim) HIV-hoitotyön käsikirja. 3. uudistettu painos. https://moodle.amk.fi/pluginfile.php/4684/mod_resource/content/4/hiv_kasikirja_2011_web2.pdf

Penttinen, A. & Mäntynen, J. 2009. Työhön perehdyttäminen ja opastus – ennakoivaa työsuojelua. TTK. Luettu 27.7.

<http://www.jytyliitto.fi/fi/jyty/materiaalipankki/Documents/Ty%C3%B6suhde/Ty%C3%B6el%C3%A4m%C3%A4n%20kehitt%C3%A4minen/Ty%C3%B6h%C3%B6n%20perehdytt%C3%A4minen%202009%20TTK.pdf>

Prosser, M. & Lykke A. 2015. Hiv on piinannut ihmisiä jo 100 vuotta. Julkaistu 12.06.2015. Luettu 24.08.2017. <http://tieku.fi/laaketiede/sairaudet/aids/hiv-on-piinannut-ihmisia-jo-100-vuotta>

Punainen Risti. HIV ja aids. Luettu 24.08.2017. <https://www.punainenristi.fi/tutustu-punaiseen-ristiin/tyomme-maailmalla/avun-muodot/terveystyo/taudit/hiv aids>

Ray Morgan Company. 2015. 9 business advantages digital documents have over paper. Luettu 21.08.2017. <http://www.raymorgan.com/9-business-advantages-digital-documents-have-over-paper/>

Richard R., Jahan-Tigh, Caitriona Ryan, Gerlinde Obermoser, Kathryn Schwarzenberger, 2012. Flow Cytometry. The society for investigative dermatology.

Roy J. Carver Biotechnology Center. Luettu 23.08.2017. <http://www.biotech.illinois.edu/flowcytometry>

Saarni, H. 2015. LIS –järjestelmät ennen ja nyt. Luettu 24.08.2017. <http://docplayer.fi/2378535-Lis-jarjestelmat-ennen-ja-nyt.html>

Salonen, K. 2013. Näkökulmia tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön. - opas opiskelijoille, opettajille ja TKI-henkilöstölle. Tampere: Suomen yliopistopaino – Juvenes Print Oy.

Siitonen, T. & Koistinen, P. 2015. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa: Porkka, K., Lassila, R., Remes, K. & Savolainen, E-R. 2015. Veritaudit. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Suni, J. Saksela, K. & Ristola, M. 2010. Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Duodecim. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

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.

Tays. HIV-altistuminen. Päivitetty 20.10.2015. Luettu 12.06.2017
[http://www.pshp.fi/fi-FI/Ohjeet/Sairaalahygieniaohjeisto/Henkilökunta/HIValtistuminen\(48460\)](http://www.pshp.fi/fi-FI/Ohjeet/Sairaalahygieniaohjeisto/Henkilökunta/HIValtistuminen(48460))

Tays. Palkkaus ja edut. Päivitetty 10.2.2016a. Luettu 03.05.2017 http://www.pshp.fi/fi-FI/Sairaanhoitopiiri/Meille_toihin/Palkkaus_ja_edut

Tays. Terveysalan harjoittelu ja työssäoppiminen. Päivitetty 6.10.2016b. Luettu 3.5.2017 http://www.pshp.fi/fi-FI/Tutkimus_ja_opetus/Opetustoiminta/Terveysalan_harjoittelu

Tays. Veritapaturmaohje. Päivitetty 17.03.2017. Luettu 12.06.2017.
[http://www.pshp.fi/fi-FI/Ohjeet/Sairaalahygieniaohjeisto/Henkilökunta/Veritapaturmat\(51230\)](http://www.pshp.fi/fi-FI/Ohjeet/Sairaalahygieniaohjeisto/Henkilökunta/Veritapaturmat(51230))

Tehy. Perehdytys. Luettu 03.05.2017 <https://www.tehy.fi/fi/apua/tyosuhteen-alkaminen/perehdytys>

Terveysten ja hyvinvoinnin laitos, 2017. Luettu 15.07.2017.
<https://www.thl.fi/fi/web/infektioaudit/seuranta-ja-epidemiati/tartuntatautirekisteri/hiv-ja-aidstilastot>

The Aids Institute. Where did HIV come from? Luettu 24.08.2017.
<http://www.theaidsinstitute.org/node/259>

Tieteen termipankki. Mikrobiologia: Kommensalismi. Luettu 21.08.2017.
<http://tieteentermipankki.fi/wiki/Mikrobiologia:kommensalismi>

Toivari, E. Erikoistuva kemisti. 2016. Haastattelu. 2.5.2016. Haastattelija Mäkinen, J. & Niemistö, E. Tampere.

Vilka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. PAINOS? Helsinki: Tammi

Vuento, M. 2016. Virukset - Näkymättömät viholliset. Helsinki: Gaudeamus.

LIITTEET

Liite 1. Keskeisimmät CD-luokat Beckman Coulter AQUIOS CL –virtausytometrinen tutkimuksissa

CD	Kuvaus	T	B	NK	SC	Mo	Gr
CD3	T-solureseptori	+	-	-	-	-	-
CD4	Auttaja-T-solut	+	-	-	-	+	-
CD8	Tappaja- T-solut	+	-	+	-	-	-
CD16	IgG-reseptorit	-	-	+	+	+	+
CD19	B-lymfosyytien signaali transduktiomolekyylillä	-	+	-	+	-	-
CD45	Leukosyytti markkeri	+	+	+	+	+	+
CD56	NCAM, adheesiomolekyylillä	+		+			

Siitonen & Penttilä 2015, 141-142, muokattu.

T= T-lymfosyytit

B= B-lymfosyytit

NK= Luontaiset tappajasolut (Natural Killer)

SC = Kantasolut (Stem Cell)

Mo= Monosyytit

Gr= Granulosyytit

Liputus	Määritelmä	Toimenpiteet
”Insufficient Lysing”	Liikaa punasoluja mitattuna näytteessä	<ol style="list-style-type: none"> 1.Varmista lyysaus reagenssin riittävä määrä 2.Hylkää tulos ja aja näyte uudelleen 3.Jos ongelma ei häviä, vaihda lyysausreagenssit uusiin 4.Jos ongelma ei edelleenkään häviä, ota yhteyttä paikalliseen Beckman Coulter edustajaan
”Insufficient Lymphs”	Liian vähän lymfosyyttejä mitattuna näytteessä	<ol style="list-style-type: none"> 1.Tarkista tulokset Review –välilehdeltä. Tämä ongelma voi ratketa muokkaamalla kuvaajien rajauksia 2.Tarvittaessa hylkää tulos ja aja näyte uudelleen 3.Jos ongelma ilmenee monen eri näytteen kohdalla, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan
”No events”	Ei tarpeeksi tietoa näytteestä	<ol style="list-style-type: none"> 1.Käynnistä ”Bleach” –pesu 2.Hylkää tulos ja aja näyte uudelleen 3.Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan

(jatkuu)

<p>”Compensation Flag” (ainoastaan kontrollit)</p>	<p>Solupopulaatiot eivät asetu oikein kontrolliajossa</p>	<p>1.Katso tulos varmistaaksesi kompensatio virheetä 2.Aja kontrolliajo uudelleen 3.Aja kontrollit uusilla kontrollisolupulloilla ja uusilla monoklonalisilla reagensseillä 4. Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan</p>
<p>”Inter Panel Count Error”</p>	<p>Tetra-1 ja Tetra-2+ tulokset ovat ristiriitaisia keskenään</p>	<p>1.Aja ”Bleach” –pesu 2. Hylkää tulos ja aja näyte uudelleen 3. Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan</p>

Huomautus	Määritelmä	Toimenpiteet
”Under Lysed”	Liian suuri määrä punasoluja mitattuna näytteessä	<p>1.Kaikki punasolut eivät välttämättä lyysannu seuraavissa tapauksissa: jos näytteessä on NRBC soluja, epänormaali proteiini konsentraatio tai hemoglobinopatia. Käyttämällä CD45 –kanavaa lymfosyyteille, voidaan varmistua, ettei punasoluja lasketa virheellisesti lymfosyyteihin.</p> <p>2.Tarkista, että EV –kuvio on eheä</p> <p>3.Tarvittaessa hylkää tulos ja aja näyte uudelleen</p> <p>4. Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan</p>

<p>”Potential sample or gating issue”</p>	<p>Mahdollinen vääristymä kuvaajassa tai näytteen poikkeama, joka saattaa vaikuttaa tuloksiin</p>	<p>Tämä huomautus saattaa esiintyä useissa tapauksissa: 1.Tarkista valonsironta ja EV –kuvaajat. Tarvittaessa hylkää tulos ja aja näyte uudelleen. 2.Muokkaa kuvaajien rajoja tarvittaessa 3.Varmista, että näytteen hyväksymiskriteerit täyttyvät 4.Tarkista näytteen kompensatio. Muokkaa kompensatiota manuaalisesti ainoastaan, jos virhe toistuu useiden näytteiden kohdalla 5.Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan</p>
<p>”Low CD8 positives”</p>	<p>Kuvaajien CD8+ alueilla liian matalat solupopulaatiot</p>	<p>1.Tarkista tulokset Review –välilehdeltä. Ilmoitus voi johtua näytteen laadusta tai se voidaan korjata manuaalisesti muokkaamalla rajoja 2.Tarvittaessa hylkää tulos ja aja näyte uudelleen 3.Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan</p>

(jatkuu)

"Low CD3 positives"	Kuvaajien CD3+ alueilla liian matalat solupopulaatiot	<p>1.Tarkista tulokset Review –välilehdeltä. Ilmoitus voi johtua näytteen laadusta tai se voidaan korjata manuaalisesti muokkaamalla rajauksia</p> <p>2.Jos kohta 1 korjaa virhettä, hylkää tulos ja aja näyte uudelleen</p> <p>3.Jos ongelma ei poistu, ota yhteys Beckman Coulter edustajaan</p>
"Low CD3 negatives"	Kuvaajien CD3- alueilla liian matalat solupopulaatiot	<p>1.Tarkista tulokset Review –välilehdeltä. Ilmoitus voi johtua näytteen laadusta tai se voidaan korjata manuaalisesti muokkaamalla rajauksia</p> <p>2.Jos kohta 1 korjaa virhettä, hylkää tulos ja aja näyte uudelleen</p> <p>3.Jos ongelma ei poistu, ota yhteys paikalliseen Beckman Coulter edustajaan</p>