

Opinnäytetyö AMK

Bioanalytikkokoulutus

NBIOAK14

2017

Tiina Kuusela

VIRTSAN CYTO-TEK - VALMISTEEN KUVALLINEN TYÖOHJE TYKS-SAPA- PATOLOGIAN LABORATORIOILLE

Tiina Kuusela

VIRTSAN CYTO-TEK -VALMISTEEN KUVALLINEN TYÖOHJE TYKS-SAPA-PATOLOGIAN LABORATORIOILLE

Virtsan irtosolututkimus on perustutkimus rakkosyöpädiagnostiikassa. Virtsan irtosolututkimusta käytetään myös rakkosyövän hoidon seurannassa.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa kuvallinen työohje TYKS-Sapa-Patologian laboratoriolle sytosentrifuginäytteitä varten. Lisäksi pyrittiin kehittämään laboratorion nykyistä sytosentrifugointitekniikkaa. Tässä opinnäytetyössä käytetyt näytteet olivat virtsanäytteitä, jotka oli analysoitu jo aiemmin. Tässä opinnäytetyössä virtsanäytteistä tehtiin erilaisilla laimennoksilla sytosentrifugivalmiste, ja valmistuneita laseja verrattiin alkuperäisiin näytelaseihin. Havaintojen pohjalta kehitettiin sytosentrifugointitekniikkaa ja tuotettiin kuvallinen työohje.

Työohje tuli laatia, sillä TYKS-Sapa-Patologian laboratoriolle ei ollut ajankohtaista työohjetta sytosentrifugoinnin suorittamiseen. Menetelmän kehittäminen taas vaikuttaa positiivisesti näytelasien laatuun.

ASIASANAT:

sytologia, virtsatiet, virtsan irtosolututkimus, sytosentrifugi, työohje

BACHELOR'S THESIS THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biomedical laboratory science

2017 | 33+1

Tiina Kuusela

VISUAL WORK INSTRUCTION OF CYTO-TEK - PREPARATION OF URINE FOR TYKS-SAPA- PATHOLOGY LABORATORY

Cytological examination of urine is a basic examination in diagnosis of bladder tumors. It is also used when controlling treatment of bladder tumors.

The purpose of this thesis was to create a visual work instruction of cytocentrifugating samples for TYKS-Sapa-Pathology laboratory. Developing their current methods of cytocentrifugation was also one aspiration. Urine samples used in this study were already analyzed. In this thesis urine samples were cytocentrifugated by using different dilutions and then compared to the original preparations. Developing the method of cytocentrifugation and creating a visual work instruction were based on perceptions.

Creating a visual work instruction was important because there was not current work instruction for cytocentrifugation in TYKS-Sapa-Pathology laboratory. Development of the method has positive effects for sample quality.

KEYWORDS:

cytology, urinary tract, cytological examination of urine, cytocentrifuge, work instruction

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	6
2 TEOREETTINEN TAUSTA	7
2.1 Sytologia	7
2.2 Virtsatiet	8
2.3 Virtsan irtosolututkimus	11
2.4 Sytosentrifugi	14
2.5 Työohje	16
2.6 Aikaisemmat tutkimukset	17
3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT	19
4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS	20
4.1 Opinnäytetyön toteutus	20
4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	24
4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	24
5 TULOKSET JA TUOTOS	26
6 POHDINTA	28
LÄHTEET	31

LIITTEET

Liite 1. Tutkimuslupa

KUVAT

Kuva 1. Esimerkkejä erilaisista virtsanäytteistä. (Kuusela 2017.)	12
Kuva 2. Täytettyjä kyvettejä sytosentrifugissa. (Kuusela 2017.)	15
Kuva 3. Papanicolau-värjättyjä ja päällystettyjä näytelaseja. (Kuusela 2017.)	16

TAULUKOT

Taulukko 1. Virtsanäytteiden väri ja sameusaste sekä tehdyt laimennokset.	21
Taulukko 2. Cyto-Tek-työohjeessa käytettävät PEG-, näyte- ja natriumkloridimäärät käytettäessä 12 millilitran näytekyvettä.	27

1 JOHDANTO

Virtsan irtosolututkimusta käytetään virtsarakon kasvainten diagnostiikassa ja rakkokasvainten hoidon seurannassa. Virtsan irtosolut edustavat virtsateistä paljon laajempaa pinta-alaa kuin biopsiat eikä osa kasvaimista näy ollenkaan kystoskopiassa. Virtsan irtosolututkimus on rakkotähystyksen lisäksi perustutkimus epäiltäessä rakkokasvain. (Laurila 2013.) Luotettavat laboratoriotulokset ovat erittäin tärkeitä potilasturvallisuutta ajatellen. Laadunhallintajärjestelmä tarjoaa vakaan pohjan erinomaiseen laatuun pyrkimiselle. Auditoinnin lisäksi laadunhallinta näkyy laboratorioissa esimerkiksi laadunhallintänäytteinä, työtehtäviin perehdyttämisenä, työn dokumentoimisena ja työohjeina. (Räisänen 2016.) Toiminnan kehittäminen kuuluu laboratorioiden arkiseen toimintaan (Yli-Pyky 2016). Lisäksi patologian laboratorion virtaustehokkuutta voidaan parantaa esimerkiksi työohjeita tarkentamalla ja visualisoimalla pikaohjeita (Laiho 2015).

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on kuvallisen Cyto-Tek-ohjeistuksen tekeminen näytteiden sytosentrifugikäsittelyä varten Turun yliopistollisen keskussairaalan sairaanhoidollisten palvelujen liikelaitoksen patologian palvelualueelle eli TYKS-Sapa-liikelaitoksen patologian palvelualueelle ja lisäksi kehittää kyseisen laboratorion Cyto-Tek-tekniikkaa. Jatkossa palvelualueeseen viitataan lyhenteillä TYKS-Sapa-Patologia ja TYKS-Sapa-Sytologia.

Tämän opinnäytetyön aihe on tärkeä, sillä tällä hetkellä näytteiden Cyto-Tek-käsittelystä ei ole TYKS-Sapa-Sytologialla ajankohtaista kirjallista ohjeistusta. Tulevassa Medisiina D:ssä tässä työpisteessä työntekijöiden vaihtuvuus saattaa olla suurta, joten kuvallinen ohjeistus on tulevaisuudessa hyödyksi työntekijöiden perehdytyksessä, opiskelijoiden harjoittelujaksolla sekä akkreditointia ajatellen.

Lisäksi tässä opinnäytetyössä pyritään kehittämään TYKS-Sapa-Sytologian tekniikkaa Cyto-Tek-näytteiden valmistuksessa. Tavoitteena on TYKS-Sapa-Patologian Cyto-Tek-tekniikan kehittäminen entistäkin paremmaksi, jolloin näytteistäkin tulee laadukkaampia kuin aikaisemmin. Lisäksi syntyy kuvallinen ohjeistus TYKS-Sapa-Patologialle, mikä helpottaa käytännön työskentelyä ja perehdyttämistä tulevaisuudessa ja ehkäisee virheitä Cyto-Tek-prosessin aikana.

2 TEOREETTINEN TAUSTA

2.1 Sytologia

Sytologia tarkoittaa soluoppia. Se syntyi mikroskoopin keksimisen jälkeen, kun solujen ja niiden rakenneosien tutkiminen tuli mahdolliseksi. Sytologisen tiedon lisääntyminen on ollut riippuvaista optisen ja muun mikrotekniikan kehityksestä. (Stenbäck & Koivuniemi 1994.)

Sytologisia tutkimuksia käytetään pahanlaatuisten kasvainten diagnostiikassa, ja se on suuntaa antava tutkimus ennen lopullista histologista diagnoosia. Sytologiset näytteet ovat irtosolunäytteitä erilaisista elimistön spontaaneista eritteistä. Ne voivat olla harjairtosolu-, kaapimis-, huuhtelu-, punktio- tai ohutneulabiopsianäytteitä. Tähystyksen yhteydessä voidaan ottaa imunäytteitä, ja myös verestä on mahdollista saada sytologisia näytteitä. (Tuokko ym. 2009.)

Sytologiset näytteet voidaan jakaa eksfoliatiivisiin ja ohutneulanäytteisiin. Eksfoliatiivisessa sytologiassa tutkitaan esimerkiksi ruumiinoteloista ja limakalvoilta nesteeseen irronneita soluja. Solut on saatettu myös hangata limakalvoilta tai näytteet voivat olla huuhtelunesteitä. Ohutneulanäytteet imetään neulaan, joka on kiinnitetty tyhjään ruiskuun. Tällä tavoin saadut solut voidaan ruiskuttaa joko näytelasille tai kuljetuskiinnitteeseen. (Aho 1999.)

Tavanomaisia irtosolunäytteitä, jotka saadaan elimistön spontaaneista eritteistä, saadaan helposti esimerkiksi virtsasta ja ysköksistä tai vaginan ja kohdunkaulaosan eritteistä. Endoskopian eli tähystyksen yhteydessä voidaan ottaa imunäytteitä, jotka ovat imemällä otettavia eritenäytteitä. Huuhtelunäytteitä voidaan ottaa sisäelinonteloista, kuten keuhkoputkista. Harjairtosolunäytteitä ja kaapimisnäytteitä saadaan esimerkiksi keuhkoputkista tai ruuansulatuskanavasta. Punktionäytteitä voidaan ottaa neulalla tai ruiskulla sisäelimiä ympäröivistä tiloista. Tällaisia näytteitä saadaan muun muassa pleura- ja nivelonteloista sekä nenän sivuonteloista. Ohutneulabiopsiassa epäilyttävästä elin- tai kudosuutoksesta eli leesioista imetään neulan tai ruiskun avulla pieniä kudospappaleita ja solumateriaalia. Ohutneulabiopsia on siis histologisen ja sytologisen tutkimuksen välillä oleva näytetyyppi. Leikkaushaavojen huuhtelunäytteitä ja veren sytologisia näytteitä on käytetty jonkin verran syöpäsolujen etsintään, mutta lähinnä tutkimusmielessä. (Stenbäck & Koivuniemi 1994.)

2.2 Virtsatiet

Virtsateihin kuuluvat munuaisten munuaisaltaat, virtsanjohtimet, rakko ja virtsaputki. Kaikkien näiden pinnalla on välimuotoista epiteeliä. Välimuotoisen epiteelisolukon paksuus vaihtelee seinämän venytyksen mukaan. (Niensted ym. 2009.) Munuaiset ja virtsanjohtimet kuuluvat ylempiin virtsateihin. Virtsarakko ja virtsaputki taas muodostavat alemmat virtsatiet. (Nurmi ym. 2003.)

Munuainen on punaruskea, parillinen elin (Hervonen & Virtanen 2003). Munuaiset huolehtivat virtsan muodostamisesta. Ne myös säätelevät virtsan tilavuutta ja suolapitoisuutta sekä happamuutta. Tällä tavoin ne osallistuvat elimistön happo-emästasapainon sekä vesi- ja elektrolyyttitasapainon säätelyyn. Lisäksi munuaiset erittävät hormoneja. (Niensted ym. 2009.) Munuaiset painavat yksittäin noin 160 grammaa, ja niillä on pituutta keskimäärin 12 senttimetriä, leveyttä 6 senttimetriä ja paksuutta 3 senttimetriä. Munuaiset sijaitsevat selkärangan kummallakin puolella retroperitoneaalitilassa, ja niiden hilukset ovat 2. lannenikaman korkeudella. Munuaisten ympärillä on perirenaalista rasvaa, jota Gerotan faskia rajaa ulkopinnalla. Munuaisen pinnalla on sidekudoksesta muodostunut kapseli. Munuaisessa on kaksi kerrosta, kuorikerros eli cortex ja ydin eli medulla. Ydin muodostuu kärjellään kohti hilusta osoittavista pyramideista sekä niiden kannasta ulkopinnan konvekseiteettia kohti osoittavista ydinjuosteista. Kuorikerroksen muodostaa noin 12 - 15 millimetriä leveä vyöhyke, joka jää kannan ja kapselin väliin. Vyöhykkeestä työntyy pyramidiin väliin kuorijuosteita eli Bertinin pylviä. (Helin 2012.) Cortex voidaan jakaa ulkoiseen ja jukstamedullariseen corteksiin. Myös medulla jaetaan kahteen osaan, ulkoiseen ja sisäiseen medullaan. (Kierszenbaum & Tres 2012.)

Kuorikerroksessa ovat munuaisten toiminnallisista yksiköistä eli nefroneista glomerulukset, tubulusten kiemuraiset osat ja Henlen lingon nousevat osat. Kokoajaputket ja Henlen lingon muut osat sijaitsevat ytimessä. Kokoajaputket avautuvat munuaisaltaaseen työntyvään papillaan, jonka muodostavat useammat pyramidit. Glomerulus muodostuu Bowmanin kappaleesta ja suonikeräsestä, joiden väliin virtsatila jää. Bowmanin kapselin sisäpinnalla on parietaalista epiteelisolukkoa. Suonikeräsessä on haaroittuvaa kapillaariverkkoa, jota pitää yhdessä mesangium eli tukiranka. Kapillaarien ulkopinnalla on viskeraalista epiteelisolukkoa, jonka solujen jatkeet työntyvät toistensa lomaan. Kapillaarien sisäpinnalla on fenestroitunutta epiteeliä. Tukirangan koostavat magnesiumsolut ja väliaine. (Helin 2012.)

Kokonaisia munuaisia pystytään tutkimaan makroskooppisesti ja histopatologisesti. Munuaisista on mahdollista ottaa koepaloja tai irrallisia soluja neulaa apuna käyttäen. Virtsan irtosolunäyte sisältää vain vähän munuaisten soluja. Munuaisaltaan kasvainten diagnostiikassa virtsan tai virtsanjohtimen irtosolunäytteen tutkimus taas on hyödyllisempi. (Helin 2012.)

Virtsanjohdin alkaa munuaisaltaasta ja sijaitsee vatsakalvon takana puoliksi vatsaontelon ja puoliksi lantion alueella. Virtsanjohdin on noin 5 millimetrin paksuinen ja noin 25 senttimetrin pituinen putki. Virtsaputken seinämässä on vahva lihaksisto ja lihaskerrosten alapuolella on löyhä submukoosa. Sisimpänä oleva limakalvon epiteeli on virtsatie eli uroepiteeliä. Tämä rakenne mahdollistaa peristalttisen liikkeen sekä sen, että seinämä voi paineen vaikutuksesta venyä ja virtsaputken normaalisti kapea ontelo voi laajentua. Virtsanjohdinseinämän kerrokset jatkuvat munuaisaltaan ja pikareiden seinämissä. (Hervonen & Virtanen 2002.)

Alempien virtsateiden pinnalla on välimuotoista epiteeliä, jota kutsutaan uroteeliksi tai transitioepiteeliksi. Virtsaputken alaosan pinnalla taas on sarveistumatonta levyepiteeliä. Fertiili-iässä olevilla naisilla sarveistumatonta levyepiteeliä on normaalisti myös virtsarakossa virtsanjohtimen tulokohdan ja virtsaputken lähtökohdan rajaamalla alueella. Normaali uroteeli on paksuudeltaan 6 - 7 solukerrosta, mutta täyttyneessä rakossa epiteeli on ohuempaa. Syvemmissä solukerroksissa on lieriömäisiä tai kuutiomaisia yksitumaisia soluja. Pintaosien litteät eksfolioituvat solut ovat kooltaan suurempia. Nämä solut voivat olla normaalisti jättikokoisia ja monitumaisia erityisesti virtsanjohdinten alueella. Näitä soluja kutsutaan sateenvarjosoluiksi eikä niitä luokitella sytologisesti atyyppisiksi. Pintasolut suojaavat limakalvoa virtsassa olevien väkevöityneiden aineenvaihduntatuotteiden ja muiden haitallisten aineiden vaikutuksilta. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.) Sateenvarjosolujen koko ja morfologia vaihtelevat rakon täyttymisasteen mukaan (Khandelwal ym. 2009).

Uroteeli voi erilaistua moneen suuntaan eli se on multipotenttia. Tämän takia alemmissa virtsateissa voi esiintyä sekä lieriö- että levyepiteeliä. Yleensä tällainen metaplastinen ilmiö liittyy erilaisiin välimuotoisen epiteelin ärsytystiloihin, joita on kahta tyyppiä: levyepiteelimetaplasia (epidermisaatio) ja lieriöepiteelimetaplasia (suolimetaplasia). Lieriöepiteeliä esiintyy normaalisti myös virtsateiden sivuelimissä, kuten eturauhasessa, siemenrakkuloissa ja parauretraalirauhasissa. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.)

Virtsarakko on lihaspussi, jonka sisäpinnalla on epiteeliä, uroteeliä. Päälimmäisenä rakkoepiteelissä on sateenvarjosoluja. Uroteelin paksuus riippuu rakon laajenemisesta, paksuuden ollessa normaalisti 3 - 7 solukerrosta. (Nordling 2012.) Epiteelin lepotilapaksuus on enintään 6 - 7 solukerrosta. Venytetyssä tilassa solukerroksen paksuus voi olla 2 - 3 solukerrosta. (Hervonen & Virtanen 2003.) Rakon tehtäviä ovat virtsan varastointi ja tyhjennys. Munuaispikarit ja virtsanjohtimet kuljettavat virtsaa munuaisista rakkoon. Rakossa oleva virtsa poistuu elimistöstä virtsaputken kautta. (Stevens & Lowe 2005.)

Miehen virtsaputken, uretran, pituus on 12 - 20 senttimetriä. Se johtaa virtsan rakosta virtsaputken ulkosuun kautta pois elimistöstä. Miehen virtsaputki koostuu kolmesta osasta, jotka ovat eturauhasosa, kalvo-osa ja paisuvasosa. Eturauhasosa on virtsaputken venyvin osa ja sillä on pituutta noin 3 senttimetriä. Kalvo-osa sijaitsee lantion alapohjassa. Se alkaa eturauhasen kärjestä ja päättyy lantion alapuolella peitinkalvon kohdalla. Kalvo-osa on noin sentin pituinen, ja se on virtsaputken vähiten venyvä osa. Paisuvasosa, joka on virtsaputken pisin osa, kulkee siittimen läpi. Paisuvasosa on paisuvasen sisällä. (Hervonen & Virtanen 2003.)

Naisen virtsaputki on lyhyempi kuin miehen: se on noin 3 - 5 senttimetriä pitkä. Naisella virtsaputken seinämät ovat myötäilevämpiä kuin miehellä. Naisen virtsaputki kulkee emättimen etuseinämää pitkin ja sen ulkoaukko sijaitsee vulvassa häpykielen ja emätinaukon välissä. (Hervonen & Virtanen 2003.)

Virtsanäytteiden solumateriaali saadaan munuaisista ja alemmista virtsateistä sekä miehillä virtsateihin liittyvistä sivuelimistä, joita ovat eturauhanen, siemenrakkulat ja -johtimet. Merkittävä alue sytologisen diagnostiikan kannalta ulottuu virtsaputken ulkosuulta munuaisaltaaseen. Munuaisten ja virtsateiden soluja eksfolioituu virtsaan vain vähäisissä määrin, ja solut säilyvät usein huonosti. Näiden elinten sairauksien kohdalla solunäytteet ovatkin vähemmän luotettavia. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.)

Normaalissa tilanteessa lasketussa virtsassa esiintyy vain vähän välimuotoisen epiteelin soluja. Näiden solujen koko voi vaihdella. Ureterkatetri- ja rakkohuuhtelunäytteet sisältävät runsaasti syvän kerroksen soluja. Miehen laskettu virtsa sisältää normaalisti uroteelisolujen lisäksi levyepiteelin pintasoluja, joiden määrä vaihtelee ja jotka ovat peräisin virtsaputken alaosaan. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.) Miehen virtsassa voi lisäksi joskus olla spermaa tai rakkularauhasen ja eturauhasen lieriösoluja (Laurila 2013). Naisilla levyepiteeliä on usein runsaasti vulvakontaminaation takia. Levyepiteelisolut esiintyvät

yleensä yksittäin. Lisäksi normaali virtsa voi sisältää niukasti neutrofiilejä, ja punasoluja-kin voi joskus löytyä muutamia. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.)

2.3 Virtsan irtosolututkimus

Virtsan irtosolututkimuksen indikaationa on uroteelikarsinoomaepäily (Tykslab ohjekirja 2016). Virtsanäytteiden irtosolututkimusta käytetään myös hoidon seurannassa (Stenbäck & Klemi 2012). Uusiutuvien ja syyltään selvittämättä jääneiden tulehdusten ja kroonisten virtsaamisvaivojen lisäksi myös pelkkä hematuria eli verivirtsaisuus riittää tutkimuksen aiheeksi. Kasvaimen erilaistumisasteen ja tyypin arvioinnissa histologinen näyte on luotettavampi. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.)

Virtsanäytteet otetaan näytesarjana 3 - 5 peräkkäisenä päivänä lasketusta virtsasta. Runsassoluisessa aamuvirtsassa solut saattavat olla degeneroituneita, minkä takia näyte voidaan antaa myös nesteen nauttimisen jälkeen, jolloin potilas juo ennen näytteen antamista 1 - 2 tunnin aikana noin 0,5 – 1 litraa nestettä. Nesteen nauttimisen jälkeen annettavassa näytteessä on vähemmän soluja, mutta ne ovat hyväkuntoisia. Kystoskopian tai katetroinnin yhteydessä voidaan ottaa rakkohuuhtelunäyte, jolloin saadaan runsassoluisen ja kuona-aineista puhdas näyte. Kystoskopian yhteydessä voidaan ottaa myös harjasytologinen näyte. Ureterkatetrivirtsanäytteitä voidaan ottaa erityyvästä virtsasta tai huuhtelemalla, jos halutaan saada näyte ylemmistä virtsateistä erikseen. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.) Tyypillisimpiä virhelähteitä ovat väärin suoritettu näytteenotto, näytteen vääränlainen käsittely ja tutkimuspyynnön puutteellisuus tai virheellisyys (Tuokko ym. 2009).

Tutkimusta varten tarvitaan 15 millilitraa tuoretta kertaisvirtsa, joka ei ole seissyt yön yli rakossa. Virtsan joukkoon lisätään sama määrä 70 % etanolia. Näytteenottotapa tulee aina mainita lähetteessä. Näytteestä tehdään sytosentrifugivalmiste, joka värjätään Papanicolaou-värjäyksellä ja lopulta mikroskopoidaan. Virtsarakon kasvaimia etsittäessä tutkimus on luotettavin, mutta munuaisaltaan, munuaiskudoksen ja ureterin kasvainten yhteydessä ovat väärät negatiiviset yleisempiä. (Tykslab ohjekirja 2016.) Kuvassa 1 on esimerkkejä erilaisista virtsanäytteistä.



Kuva 1. Esimerkkejä erilaisista virtsanäytteistä. (Kuusela 2017.)

Papanicolaoun värjäyksessä näytelasit käsitellään ensin alkoholilla ja rehydroidaan. Tämän jälkeen lasit värjätään Harrisin hematoksyliinillä, joka toimii tumavärinä. Laseille suoritetaan ammoniakki- tai suolahappokäsittely ja näytteet dehydroidaan alkoholilla. Seuraavaksi näytteet värjätään Orange G 6 -fosfovolframihapolla ja eosiniatsuuri 50:lla. Orange G 6 -fosfovolframihappo on hapan väri. Eosiniatsuuri 50 sisältää Eosiini Y- ja Light Green -väriaineita, peittausaineena toimivaa fosfovolframihappoa ja litiumkarbonaattia. Joidenkin ohjeiden perusteella mukana voi olla väriaineena myös Bismarckin ruskeaa. Värjäystä voidaan nopeuttaa ja värjäystulosta voimistaa etikkahapolla. Näytteelle suoritetaan lopuksi dehydraatio ja kirkastus. Papanicolaoun värjäyksessä tumat värjäytyvät tummansiniseksi tai mustaksi ja sytoplasma joko punertavaksi tai siniseksi. (Aho 1999.)

Sedimentin levyepiteelisolut viittaavat yleensä kontaminaatioon. Niiden keskimääräinen halkaisija on 55 mikrometriä, ja ne ovat sedimentin suurimpia soluja. Näitä soluja irtoaa jatkuvasti emättimestä ja virtsaputkesta. Jos sedimentissä on paljon levyepiteelisoluja ja niiden lisäksi valkosoluja, on se yleensä merkki vaginaaliseen valkovuotoon liittyvästä löydöksestä. Jos sedimentistä löytyy vaginaaliseen kontaminaatioon liittyvä löydös, on virtsatieinfektion diagnoosi aina tarkistettava. (Pasternack 2012.)

Laskettu virtsa sisältää normaalisti vain vähäisiä määriä välimuotoisen epiteelin soluja, jotka voivat olla kooltaan hyvin vaihtelevia. Pinnallisissa soluissa saattaa olla useita tumia, ja ne vastaavat kooltaan vaginan levyepiteelin välikerrossoluja. Ne ovat epäsäännöllisen muotoisia, runsasplasmaisia ja niiden kulmat ovat usein pyöristyneet. Niiden tumat ovat vaaleita ja läpimitaltaan 6-10 mikrometriä. Tumien kromatiini on hienojyväistä, ja nukleolit ovat yleensä pienikokoisia. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.) Alempien virtsateiden ja rakon välimuotoisen epiteelin syvistä kerroksista peräisin olevien solujen löytymi-

nen sedimentistä viittaa kasvaimeen, kiveen tai infekioon. Suuret, pinnalliset välimuotoisen epiteelin solut ovat tavallisia, ja ne voivat irrota vähäisestä syystä. Yleensä niiden esiintyminen voi viitata infekioon alempien virtsateiden alueella. (Pasternack 2012.) Syvempien kerrosten uroteeli on pienisoluisempaa, ja solut ovat usein pyöreähköjä, joskus kulmikkaita. Hyvin säilyneiden solujen tuma on pyöreä tai soikea, pieninukleolinen ja vaalea. Tavallisessa virtsanäytteessä tumat värjäytyvät usein tummiksi. Rakkohuuhtelu- ja ureterkatetrinäytteet sisältävät runsaasti syvän kerroksen soluja. (Koivuniemi & Tyrkkö 1994.)

Tubulus- eli munuaistiehytsolujen esiintyminen virtsassa on aina seurausta munuaistiehyiden vauriosta eikä niitä normaalissa virtsassa esiinny. Syynä tubulussolujen esiintymiseen virtsassa voi olla jokin tubulusvaurioita aiheuttava tauti. Myös munuaisille myrkylliset lääkkeet voivat aiheuttaa tubulussolujen erittymisen virtsaan. Tubulussolujen rakenne, koko ja muoto vaihtelevat nefronin eri osissa, ja niiden suuri tuma voi olla keskellä tai syrjemmässä. Niiden halkaisija on keskimäärin 13 mikrometriä. Tubulussolut esiintyvät yleensä yksittäin, mutta rykelmät ovat myös mahdollisia. (Pasternack 2012.)

Noin 30 – 70 prosentissa tapauksissa välimuotoisen epiteelin karsinoma löytyy sitä helpommin, mitä huonompi sen erilaistumisaste on. Carcinoma in situ on löytyvyydeltään yhtä hyvä kuin huonosti erilaistunut välimuotoisen epiteelin karsinoma. (Stenbäck & Klemi 2012.) Useimmiten virtsan irtosolututkimuksessa löytyy kasvainsoluja, kun kyseessä on huonosti tai kohtalaisesti erilaistunut kasvain. Hyvin erilaistuneiden kasvainten kohdalla kasvaimista irtoavia soluja on hankala erottaa normaaleista uroepiteelisolusta. Tämä vuoksi ainoastaan positiivinen löydös on diagnostiikassa merkitsevä. (Nurmi & Rintala 2003.)

Useimmat munuaisallas- ja virtsanjohdinkasvaimet ovat välimuotoisesta pintasolukosta lähtöisin olevia uroteelikarsinoomia. Levyepiteelikarsinoomat ovat harvinaisia, ja adenokarsinoomia on kuvattu vain yksittäistapauksia. (Nurmi & Rintala 2003.) Pahanlaatuisista rakkokasvaimista 90 prosenttia on uroteelin karsinoomia, 5 - 8 % levyepiteelikarsinoomia ja 1 - 2 % on adenokarsinoomia. Alle 1 % on sarkoomia. (Rintala ym. 2013.)

Ylävirtsateiden uroteelin kasvaimet ovat kudosopillisesti samanlaisia kuin rakossa. Kasvaimet voidaan luokitella hyvin (G1), kohtalaisesti (G2) tai huonosti (G3) erilaistuneiksi. Hyvin erilaistuneet kasvaimet ovat usein pinnallisia ja pehmeitä ja makroskooppisesti sormimaisen näköisiä. Huonosti erilaistuneet solut ovat yleensä kyhmyisiä ja kiinteitä, ja

toteamishetkellä ne ovat saattaneet levitä alla olevaan kudokseen. Kudosopillisesti hyvänlaatuista uroteelikasvainta kutsutaan papilloomaksi, johon käytännössä suhtaudutaan samoin kuin hyvin erilaistuneeseen karsinoomaan. (Nurmi & Rintala 2003.)

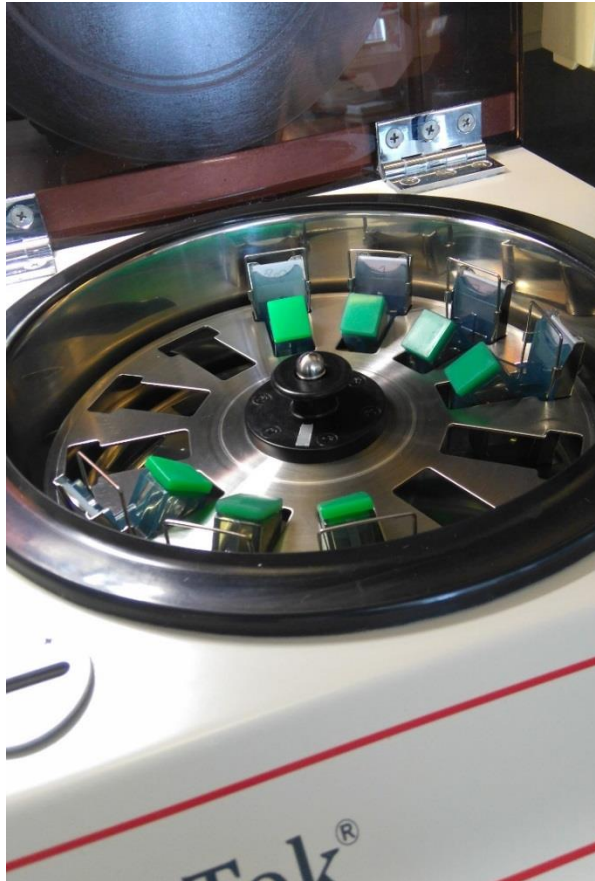
Virtsan irtosolututkimus siis perustuu kasvainten virtsaan vapauttamien solujen tunnistukseen. Maligni löydös on lähes varma, sillä virtsan sytologian tarkkuus on korkea, 95 - 100 prosentin luokkaa. Kuitenkaan benigni löydös ei sulje pois syöpää. (Laurila 2013.)

Virtsan irtosolunäytteistä määritetään Papanicolaoun luokka, joita on yhteensä viisi. Normaali virtsan solut ja vähäiset degeneratiiviset muutokset kuuluvat luokkaan I. Luokka II käsittää benignit reaktiiviset solumuutokset. Luokan II muutoksia ovat tulehdusatyypia, virusinfektiot, krooniset ärsytysmuutokset esimerkiksi virtsakivien yhteydessä, kemoterapian aiheuttama atypia sekä sädeatypia. Syövän suhteen epäilyttävät löydökset kuuluvat luokkiin III – IV. Varmat syöpämuutokset kuuluvat luokkaan V. (Laurila 2013.) Lähitulevaisuudessa virtsan sytologialle on kuitenkin tulossa uusi luokitus, The Paris System For Reporting Urinary Cytology (Kholová & Krogerus 2014).

2.4 Sytosentrifugi

Sentrifugin avulla pystytään erottamaan aineita toisistaan. Kun eri aineita sisältävää nestettä pyöritetään suurella nopeudella, raskaimmat kappaleet vajoavat alas kevyempien jäädessä nesteeseen. (Solunetti 2017.)

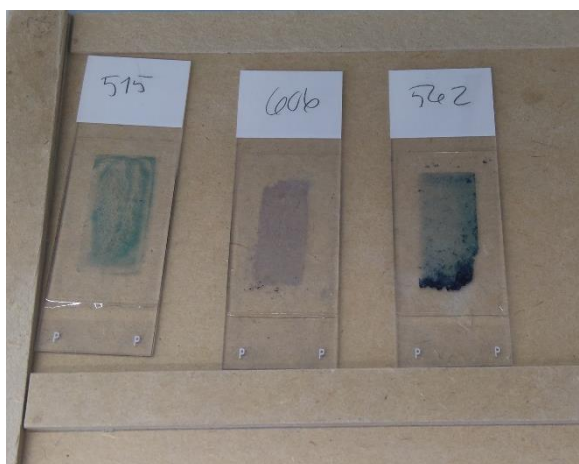
Monissa laboratorioissa käytetään nykyisin sytosentrifugia, joka soveltuu niukkasoluisille näytteille, kuten virtsanäytteille. Sytosentrifugin avulla solut sentrifugoidaan suoraan lasille. Joskus näytettä voi olla tarve laimentaa. (Aho 1999.) Virtsan sytologisissa tutkimuksissa sytosentrifuginäytteitä on alettu käyttää enemmän 1980-luvun loppupuolella, kun tekniikka on kehittynyt näytteiden säilytys- ja fiksointimenetelmien ja sentrifugilaitteistojen osalta (Koivuniemi & Tyrkkö 1994). Kuvassa 2 on osittain täytetty sytosentrifugi.



Kuva 2. Täytettyjä kyvettejä sytosentrifugissa. (Kuusela 2017.)

Sytosentrifugivalmisteen teko aloitetaan kokoamalla näytekyvetti, joka on tilavuudeltaan yleensä 6 - 12 millilitraa. Näytelasi asetetaan metallipidikkeeseen ja sen päälle asetetaan näyterajaaja. Muovinen kyvetti asetetaan niiden päälle ja kiinnitetään metallisangan avulla. Tämän jälkeen kyvettiin kaadetaan tai pipetoidaan näytettä. Näyttemäärä riippuu näytteen paksuudesta ja sameudesta. Kirkkaita näytteitä ei tarvitse laimentaa, mutta paksuja, paljon soluja sisältäviä näytteitä voidaan laimentaa 50 % etanolilla. Lisäksi joukkoon voidaan lisätä PEG-liuosta eli polyetyylenglykolia fiksatiiviksi. Kyvetti suljetaan korkilla, näyte sekoitetaan huolellisesti ja kyvetti laitetaan sytosentrifugiin. Näytettä sentrifugoidaan muutamia minuutteja yleensä nopeudella 2000 kierrosta minuutissa. Sentrifugoinnin jälkeen supernatantti kaadetaan pois ja kyvettejä kuivatetaan täyttöaukko alas päin joitakin minuutteja. Tämän jälkeen kyvetin kiinnittäjänä toiminut metalli-sanka avataan, kyvetti poistetaan ja näytelasi poistetaan rajaajan kera metallipidikkeestä. Näytelasin annetaan kuivahtaa hetki rajaajan kanssa joko tasaisella alustalla tai lämpölevyllä. Rajaaja poistetaan näytteen hieman kuivahdettua. Paksuksi jääneet näytteet voidaan sivellä toisen lasin avulla ohuemmiksi. Valmiit, kuivuneet lasit värjätään Papanicolaoun

värjäyksellä, päällystetään ja mikroskopoidaan. (henkilökohtaiset tiedonannot: Lamminaho 14.11.2016; Niemi 23.11.2016; Oslanus 23.11.2016; Sortti 14.11.2016; Yli-Pyky 15.11.2016.) Kuvassa 3 on esimerkkejä Papanicolaou-värjätystä, päällystetyistä näytelaseista.



Kuva 3. Papanicolau-värjättyjä ja päällystettyjä näytelaseja. (Kuusela 2017.)

Tuoreena laboratorioon saapuvat näytteet voidaan ensimmäiseksi sentrifugoida sytosentrifugilla. Supernatantti kaadetaan pois ja sedimentin päälle lisätään 50-prosenttista etanolia. Näyte ja etanoli sekoitetaan, minkä jälkeen näytettä seisotetaan jonkin aikaa, jotta solut fiksoituvat. Myös etanolifiksoidut näytteet voidaan sentrifugoida putkessa ja sen jälkeen lisätä sedimentin päälle etanolia kuten tuorenäytteidenkin kohdalla. Sentrifugoitu näyte saattaa sisältää enemmän soluja kuin sentrifugoimaton. (henkilökohtaiset tiedonannot: Lamminaho 14.11.2016; Niemi 23.11.2016; Oslanus 23.11.2016; Sortti 14.11.2016; Yli-Pyky 15.11.2016.)

Verisistä virtsanäytteistä voidaan perusvalmisteen lisäksi tehdä hemolysoitu sytosentrifugivalmiste, jossa kyvettiin lisätään näytteen ja PEG-liuoksen lisäksi hieman suolahappoa, jotta punasolut hajoaisivat. Tämän jälkeen joukkoon lisätään etanolia. (henkilökohtaiset tiedonannot: Lamminaho 14.11.2016; Niemi 23.11.2016; Oslanus 23.11.2016; Sortti 14.11.2016; Yli-Pyky 15.11.2016.)

2.5 Työohje

Työohjeen tarkoituksena on järjestää työvaiheet loogiseen järjestykseen. Tällä tavoin työntekijä voi itsenäisesti ja helposti seurata niitä työskentelynsä aikana. Työohjeissa on

mahdollista jättää pois joitakin yksityiskohtia, jolloin työntekijän on helpompi ymmärtää prosessin kokonaisuus. Työohjeiden laatiminen on tärkeää varsinkin silloin, kun prosessiin sisältyy paljon tehtäviä. (Highet 2006.)

Työohjeet ovat hyödyksi varsinkin uusille työntekijöille (Highet 2008). Kouluttaessaan uutta työntekijää tehtäviinsä ohjaaja käyttää työohjetta. Tällä tavoin uusi työntekijä pystyy ymmärtämään tehtäviensä lähtökohdat. (Guitar 2005.) Hyvä työohje ehkäisee virheitä ja on lisäksi helppolukuinen sekä johdonmukainen ilman ristiriitaisuuksia. Työohjeen tulisi myös olla ajan tasalla. (Highet 2008.) Työohjeet pitäisi käydä läpi aina, kun parannusehdotuksia tulee ilmi. Työohjeita parannettaessa tulisi pyrkiä päivittämään olemassa olevaa työohjetta ennen uuden luomista. (Guitar 2005.)

Oikeanlaiset, ajan tasalla olevat työskentelytavat ovat osa tavanomaisia varotoimia. Ohjeiden pitäisi olla sekä paperiversiona että sähköisenä ja lisäksi kaikkien työntekijöiden saatavilla. (Tuokko ym. 2009.)

2.6 Aikaisemmat tutkimukset

Miyanaga ym. (1997) tutkivat NMP22-proteiinia virtsassa uutena uroteelisyövän markerina. Tutkimuksessa selvitettiin kyseisen proteiinin kliinistä hyödyllisyyttä uroteelisyöpämarkerina erityisesti lasketun virtsan sytologian korvaajana. Tutkimuksessa määritettiin NMP22-arvot 280 potilaalta sekä 20 terveeltä vapaaehtoiselta. Lasketun virtsan sytologisia tutkimustuloksia ja NMP22-tuloksia vertaillen huomattiin, että NMP22-testi oli uroteelisyöpäpotilailla herkempi kuin sytologinen tutkimus. Tutkimuksen perusteella NMP22-määritys on virtsan sytologisen tutkimuksen korvaajana hyödyllinen uroteelisyövän seurannassa.

Miyoshi ym. (2001) tutkivat NMP22-proteiinin hyödyllisyyttä virtsateiden välimuotoisen epiteelin karsinooman havaitsemisessa verrattuna virtsan sytologiseen tutkimukseen. 227 eriasteisesta hematuriaasta kärsivää potilasta tutkittiin. Virtsan NMP22-proteiinin taso oli huomattavasti korkeampi välimuotoisen epiteelin karsinoomasta kärsivillä kuin muilla potilailla. Huolimatta NMP22:n herkyydestä välimuotoisen levyepiteelin karsinooman havaitsemisessa, se ei kuitenkaan tutkimuksen perusteella ollut virtsan sytologista tutkimusta parempi.

Muus Ubago ym. (2013) arvioivat tutkimuksessaan virtsan atyyppisen sytologian kehittymistä pahanlaatuisiksi. 11 vuoden aikana tunnistettiin 1320 atyyppistä löydöstä 851

potilaan virtsanäytteistä. Kaikki myöhemmät patologin lausunnot käytiin läpi, jotta saatiin tietää, ketkä potilaista saivat lopulta positiivisen sytologisen tai kirurgis-patologisen diagnoosin. Kaikkiaan 4106 sytologista ja kirurgista näytettä käytiin tutkimuksessa läpi. 11 vuoden aikana 16 299 virtsanäytteestä 1320 oli todettu atyyppisiksi. 1320 alkuperäisestä atyyppisestä näytteestä 271 kehittyi parempaan suuntaan. Pahanlaatuisiksi kehittyneistä tapauksista 118 oli korkeamman tason ja 92 matalamman tason uroteelikarsinomia. Tutkimuksen mukaan atyyppisistä näytteistä ylempien virtsateiden näytteissä oli korkein riski kehittyä korkean tason karsinoomaksi. Tutkimuksen perusteella tämän näyteryhmän atyyppisillä löydöksillä on enemmän kliinistä merkitystä ja lisäksi niitä pitäisi hoitaa tehokkaammin.

3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on laatia kuvallinen työohje virtsan irtosolututkimuksen Cyto-Tek-käsittelylle TYKS-Sapa-Patologian laboratorion sytologian osastolle, sillä ajankohtaista työohjetta näytteiden Cyto-Tek-käsittelylle ei ole.

Työohje laaditaan sen jälkeen, kun nykyisellä Cyto-Tek-tekniikalla valmistettuja näytteitä on verrattu eri laimennoksien tehtyjen verrokinäytteiden Cyto-Tek-valmisteisiin. Tavoitteena on siis kehittää ja parantaa TYKS-Sapa-Patologian nykyistä Cyto-Tek-tekniikkaa.

Tuotoksena syntyvä työohje on tulevaisuudessa hyödyksi työntekijöiden perehdytystä ja akkreditointia ajatellen. Työohje helpottaa myös opiskelijoiden työskentelyä harjoittelujaksojen aikana. Lisäksi työohje vaikuttaa positiivisesti Cyto-Tek-käsiteltävien näytteiden laatuun ja ehkäisee virheiden syntymistä.

4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

4.1 Opinnäytetyön toteutus

Tämän opinnäytetyön aihe saatiin TYKS-Sapa-Patologialta syksyllä 2016. Tarkoituksena on laatia TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriolle kuvallinen ohjeistus näytteiden Cyto-Tek-käsittelylle sekä lisäksi pyrkiä kehittämään heidän nykyistä tekniikkaansa näytteiden Cyto-Tek-käsittelyn osalta. Suunnitelman valmistuttua joulukuussa 2016 haettiin tutkimuslupaa Turun kliiniseltä tutkimuskeskukselta (Turku CRC). Tutkimuslupa saatiin tammikuussa 2017.

Käytännön toteutus aloitettiin TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriossa tammikuussa 2017. Säilytettäviksi valituista virtsanäytteistä valittiin yhteensä 30 näytettä, joita tämän opinnäytetyön tekemisessä käytettiin. Virtsanäytteitä valittaessa kiinnitettiin huomiota näytteen määrään, väriin ja sameuteen. Näytettä piti olla tarpeeksi jäljellä, jotta siitä pystyttiin tekemään kaksi pitoisuudeltaan erilaista laimennosta, joista tehtyjä Cyto-Tek-valmisteita verrattaisiin aikaisemmin TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriossa nykytekniikalla tehtyihin Cyto-Tek-valmisteisiin. Lisäksi mukaan pyrittiin valitsemaan väritään ja sameudeltaan erilaisia näytteitä. Osa näytteistä oli kirkkaita, osa jonkin verran sameita ja sakkaisia ja jotkut hyvin sameita. Valittujen virtsojen väri vaihteli haalean keltaisen, keltaisen, hieman oranssin ja erittäin punaisen välillä. Näytteiden väri ja sameusaste arvioitiin silmämääräisesti. Taulukossa 1 on esitetty opinnäytetyössä käytettyjen virtsojen väri, sameus ja käytetyt laimennokset.

Taulukko 1. Virtsanäytteiden väri ja sameusaste sekä tehdyt laimennokset.

Näyte	Väri	Sameus	1. laimennos (näyte + NaCl)	2. laimennos (näyte + NaCl)
1	syväkeltainen, oranssisävy	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
2	vaaleankeltainen	sameahko	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
3	lähes väritön	hieman samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
4	syväkeltainen	sameahko	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
5	vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
6	punainen	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
7	syväkeltainen, oranssisävy	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
8	vaaleankeltainen	kirkas, hippuja	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
9	vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
10	vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
11	keltainen	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
12	hyvin vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
13	syväkeltainen	sameahko	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
14	hieman oranssi	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
15	lähes väritön	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
16	vaaleankeltainen	melko kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
17	syväkeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
18	vaaleahko keltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
19	vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
20	punainen	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
21	keltainen	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
22	vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
23	keltainen	samea, hippuja	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
24	syväkeltainen	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
25	vaaleankeltainen	kirkas	6 ml + 6 ml	9 ml + 3 ml
26	hieman oranssi	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
27	keltainen	hieman sakkaa	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
28	syväkeltainen	sameahko	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
29	vaaleankeltainen	sameahko, hiput	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml
30	oranssinkeltainen	samea	0,5 ml + 11,5 ml	1 ml + 11 ml

Näytteiden Cyto-Tek-käsittelyssä käytettävät laimennokset suunniteltiin ennen käsittelyjen aloittamista yhdessä tämän opinnäytetyön ohjaajan kanssa. Käytettävät laimennokset valittiin näytekohteisesti arvioimalla näytteen sameutta. Näytteet jaettiin silmämääräisesti arvioiden kirkkaihin ja sameisiin. Jokaisesta näytteestä tehtiin kaksi laimennosta Cyto-Tek-käsittelyä varten. Käytettyjen kyvettien tilavuus oli 12 millilitraa. Kirkkaiden

näytteiden kohdalla käytettiin laimennoksina 6 millilitraa näytettä ja 6 millilitraa laimennosliuoksena käytettävää natriumkloridia sekä 9 millilitraa näytettä ja 3 millilitraa natriumkloridia. Sameat näytteet laimennettiin suhteissa 0,5 millilitraa näytettä ja 11,5 millilitraa natriumkloridia sekä 1 millilitra näytettä ja 11 millilitraa natriumkloridia. Käytetty natriumkloridi oli pitoisuudeltaan 0,9 %. Virtsan ja natriumkloridin lisäksi kyvetteihin lisättiin 0,5 millilitraa 50 % PEG-liuosta solujen kiinnittämiseksi lasille. Kyvettien täytön jälkeen näytteitä pyöritettiin Cyto-Tek-sentrifugissa viisi minuuttia nopeudella 2000 rpm. Sentrifugoinnin jälkeen kyvetit tyhjennettiin ja purettiin. Näytelasien annettiin kuivua ja seuraavana päivänä ne värjättiin Papanicolaoun värjäyksellä värjäysautomaatilla sekä päällystettiin käsin.

Laimennoksilla tehtyjen näytelasien valmistuttua niitä verrattiin kyseisten näytteiden alkuperäisiin lasihin, jotka oli tehty TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriossa jo aikaisemmin tämänhetkistä Cyto-Tek-tekniikkaa käyttäen. Alkuperäiset näytelasit oli tehty arvioimalla tarvittavat näytemäärät silmämääräisesti sekä mahdollisesti sivelemällä paksuksi jääneet näytteet sytosentrifugoinnin jälkeen kyvettien purkamisen yhteydessä. Jokaisesta 30:sta näytteestä tehtiin makroskooppinen eli silmämääräinen sekä mikroskooppinen arvio alkuperäisen lasin ja kahden eri laimennoksella tehdyn lasin välillä. Jokaisesta näytteestä oli siis tehty kolme lasia, jolloin tarkasteltavia laseja oli yhteensä 90 kappaletta. Makroskooppisessa arvioinnissa kiinnitettiin huomiota näytteen paksuuteen ja pysyvyyteen lasilla. Lasilla pysymisellä tarkoitetaan tässä opinnäytetyössä sitä, oliko näyte lasilla makroskooppisesti tarkasteltaessa esimerkiksi levinneen tai hajonneen näköinen vai oliko näyte pysynyt hyvin koossa. Mikroskooppisessa arvioinnissa kiinnitettiin huomiota näytteen paksuuteen ja solukkuuteen. Havainnot kirjattiin jokaisen näytelasin kohdalla ylös sekä makroskooppisen että mikroskooppisen arvioinnin osalta. Makroskooppisessa ja mikroskooppisessa arvioinnissa katsottiin näytelasien yleistä ulkonäköä eikä pyritty diagnostiseen esitarkastukseen, vaikka osa näytteiden alkuperäisistä näytelaseista sisälsikin renkaita, joissa esiintyi esimerkiksi atyyppisiä soluja.

Kun kaikki kolme näytelasia oli käyty jokaisen kolmenkymmenen näytteen osalta läpi, laseista valittiin ne, jotka tarkasteltiin vielä yhdessä ohjaajan kanssa. Tällä tavoin pystyttiin työohjetta varten näkemään, minkälaisia laimennetuilla näytteillä valmistetut lasit olivat alkuperäisiin verrattuna. Kolmenkymmenen näytteen joukosta valittiin toiselle tarkastelukierrokselle kymmenen näytteen lasit eli yhteensä kolmekymmentä lasia. Toiselle tarkastelukierrokselle valittiin näytteet ensimmäisen tarkastelukierroksen makroskooppisten ja mikroskooppisten havaintojen perusteella. Valintaan vaikutti myös se, oliko

näytteiden alkuperäisiin lasihin merkitty renkain atyyppisiä soluja sisältäviä kohtia. Osassa toiselle tarkastelukierrokselle valituista alkuperäisistä näytelaseista sisälsi renkaita, osa taas ei.

Toisessa tarkastelussa kiinnitettiin rengastettujen lasien kohdalla huomiota yleisen ulkonäön lisäksi myös siihen, olivatko atyyppiset solut laimennoksilla valmistetuissa lasissa yhtä hyvin nähtävissä kuin alkuperäisissä näytelaseissa. Kaikista kymmenestä näytteestä käytiin siis toisen kerran mikroskoopilla läpi kaikki kolme lasia eli alkuperäinen lasi ja laimennoksilla valmistetut lasit. Toisen tarkastelun aikana laimennoslaseja verrattiin jälleen alkuperäisiin lasihin ja tällä tavalla tehtyjen havaintojen perusteella valittiin, mikä lasista oli laadultaan ja mikroskopoitavuudeltaan paras. Ensimmäisen ja toisen tarkastelukierroksen näkemykset lasien laadusta ja mikroskopoitavuudesta olivat melko yhteneviä.

Tätä opinnäytetyötä varten tehtyjen Cyto-Tek-valmisteiden tarkastelun jälkeen keskusteltiin siitä, millaisia laimennoksia tulevassa työohjeessa käytettäisiin. Kun laimennosuhteet oli päätetty, valittiin tässä opinnäytetyössä käytetyistä virtsanäytteistä kahdeksan erityyppistä virtsanäytettä, joista tehtiin Cyto-Tek-valmisteet testimielessä. Kolme näytteistä päättyi mikroskopoitavaksi, jolloin arvioitiin näiden näytteiden laatua.

Virtsanäytteistä tehtyjen lasien vertailun jälkeen pohdittiin Cyto-Tek-näytteiden valmistusta varten tehtävän kuvallisen työohjeen toteuttamista. Työohjeen toteuttamisen suhteen pohdittiin työohjeen sisältöä ja rakennetta sekä sitä, millaisia laimennoksia työohjeessa neuvottaisiin käyttämään sameudeltaan ja paksuudeltaan erilaisten näytteiden kohdalla. Tämän jälkeen työohjetta alettiin työstää kirjoittamalla ensin työohjeesta raakaversio, joka kirjoitettiin laboratoriosta löytyneen vanhan ohjeen pohjalta muokkaamalla ja päivittämällä ohjeen sisältö. Työohjeen raakaversio annettiin TYKS-Sapa-Sytologian laboratorion työntekijöille luettavaksi muokausehdotusten varalta, minkä jälkeen työohjeen tekstiosuutta korjailtiin ehdotusten pohjalta. Työohjeen tekstiosuuden korjausten jälkeen ohjeeseen lisättiin Cyto-Tek-valmisteiden tekoprosessiin liittyvät valokuvat, jotka otettiin TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriossa. Kuvat otettiin älypuhelimien kameralla, jonka kuvien laatu oli todettu riittäväksi tämän opinnäytetyön ohjaajan kanssa aikaisemmin otettujen testikuvien perusteella. Työohjeen valmistumisen jälkeen se annettiin vielä TYKS-Sapa-Sytologian laboratorioon luettavaksi mahdollisten lisäkorjausten varalta.

4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Toiminnallisessa opinnäytetyössä voidaan tuottaa esimerkiksi jonkinlainen ohje tai ohjeistus tai toteuttaa jonkinlainen tapahtuma (Vilkka & Airaksinen 2003). Toimintatutkimuksessa tähdätään ratkomaan jonkin toiminnallisen yhteisön ongelmia ja pyritään muutokseen. Toimintatutkimus on siis tutkimuksellinen lähestymistapa, jossa ongelmien ratkaisemiseen pyritään teoreettista ja käytännön kokemuksista saatua tietoa yhdistelmällä. (Lauri 1997.)

Tämä opinnäytetyö on toiminnallinen opinnäytetyö, sillä tarkoituksena on luoda kuvallinen työohje TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriolle näytteiden CytoTek-käsittelyä varten. Tässä opinnäytetyössä myös selvitetään, voisiko TYKS-Sapa-Sytologian laboratorion nykyistä CytoTek-tekniikkaa kehittää ja parantaa. Opinnäytetyössä yhdistyvät sekä teoreettinen että käytännön kautta saatu tieto. Lisäksi tämän opinnäytetyön toimeksiantajana toimii TYKS-Sapa-Patologia.

4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Hyvän tieteellisen käytännön noudattaminen on edellytys tutkimuksen eettiselle hyväksyttävyydelle sekä uskottavuudelle ja luotettavuudelle. Hyvin tehdyt tutkimukset ovat yleensä myös eettisesti kestäviä. (Launis 2007.) Avoin julkinen keskustelu on oleellinen osa eettisesti kestävänn toiminnan muotoutumisessa ja ylläpitämisessä (Juujärvi ym. 2007). Tarkkuus ja rehellisyys ovat osa hyvää tieteellistä käytäntöä (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012). Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu myös muiden tuottaman tekstin omana esittämisen eli plagioinnin välttäminen. Tuloksia ei pidä sepittää eikä yleistää ja raportointi tulee suorittaa yksityiskohtaisesti. (Hirsjärvi ym. 2008.) Muitakin laiminlyöntejä, kuten havaintojen vääristelyä tai luvaton lainaamista, pitää välttää. (Leino-Kilpi & Välimäki 2014). Tässä opinnäytetyössä noudatetaan hyvää tieteellistä käytäntöä edellä mainittujen seikkojen mukaisesti.

Tälle opinnäytetyölle hankittiin asianmukaiset ja tarvittavat tutkimusluvut joulukuussa 2016. Tämän opinnäytetyön aihe on tärkeä TYKS-Sapa-Patologian laboratoriolle, sillä kyseisellä laboratoriolle ei ole ajankohtaista ohjeistusta näytteiden Cyto-Tek-käsittelyä varten. Uudessa Medisiinassa D:ssä työpisteen työntekijöiden vaihtuvuus voi olla suurta, minkä vuoksi konkreettinen ohjeistus on tarpeellinen. Ohjeistus on myös hyödyllinen

työntekijöiden perehdytystä ajatellen. Tämän opinnäytetyön avulla myös kehitetään ja parannetaan TYKS-Sapa-Patologian Cyto-Tek-menetelmää, jolloin näytteistä saadaan vieläkin laadukkaampia. Potilastietoja ei tässä opinnäytetyössä hyödynnetä millään tavalla, vaikka ohjeistuksen laatimisessa käytetäänkin oikeita virtsanäytteitä. Potilaiden anonymiteettia siis kunnioitetaan. Käytettävät virtsanäytteet on jo aiemmin analysoitu ja tulokset on vastattu. Näytteet ovat siis menossa jo hävitykseen.

5 TULOKSET JA TUOTOS

Tässä opinnäytetyössä 30:sta erilaisesta virtsanäytteestä tehtiin kahdella erilaisella laimennoksella Cyto-Tek-valmisteet. Käytettävät laimennossuhteet riippuivat näytteen sameusasteesta. Näytelasien valmistuttua laimennoksilla tehtyjä laseja verrattiin alkuperäisiin eli TYKS-Sapa-Sytologian laboratorion tämänhetkisellä menetelmällä tehtyihin lasihin.

Näytteet olivat valmiilla lasilla melko vaihtelevia makroskooppisesti ja mikroskooppisesti tarkasteltaessa. Jotkin näytteet olivat lasilla kummassakin laimennoksessa erittäin paksumia sekä mikroskooppisesti että makroskooppisesti, minkä takia kyseisten näytteiden solukuvan arviointi olisi hyvin haastavaa. Laimennosten paksuus verrattuna alkuperäisiin näytelaseihin saattoi selittyä sillä, että alkuperäisiä laseja tehdessä näytettä laitettiin kyvetiin vähemmän kuin laimennoksissa. Lisäksi asiaan saattoi vaikuttaa se, että alkuperäisellä tekniikalla valmistetuissa näytelaseissa paksuksi jääneet näytteet siveltiin kyvetien purkamisen yhteydessä. Joidenkin näytteiden kohdalla laimennokset olivat jääneet hyvin niukkasoluisiksi, mikä sekin tekee solukuvan arvioinnista lähes mahdotonta. Joidenkin näytteiden kohdalla laimennokset olivat näytelaseilla joko ohuempia tai paksumpia kuin alkuperäiset valmisteet. Jotkin näytteet olivat rajatapauksia, joissa alkuperäisen näytelasin ja laimennoksilla valmistettujen lasien solukkuudessa ei ollut juurikaan eroa.

Toisella tarkastelukerralla arvioiduista 10 näytteen laseista kaikkein parhaimmiksi valitut olivat joko alkuperäisiä laseja tai laimennossuhteilla 1 millilitra näytettä ja 11 millilitraa natriumkloridia tai 9 millilitraa näytettä ja 3 millilitraa natriumkloridia valmistettuja näytelaseja. Vain yhden toiseen kertaan tarkastellun näytteen kohdalla parhaaksi lasiksi osoittautui joko alkuperäinen tai 6 millilitraa näytettä ja 6 millilitraa natriumkloridia sisältävä laimennos.

Virtsanäytteistä valmistettujen näytelasien tarkastelun, vertailun ja arvioinnin jälkeen pohdittiin, minkälaisia laimennossuhteita työohjeessa käytettäisiin. Lopulta päädyttiin siihen, että työohjeessa ei käytettäisi sellaisenaan mitään niistä laimennoksista, joilla Cyto-Tek-valmisteet tehtiin, vaan niiden pohjalta luotiin uudet laimennossuhteet sameudeltaan ja paksuudeltaan erilaisille näytteille. Opinnäytetyöprosessin aikana tehdyt Cyto-Tek-valmisteet toimivat siis suuntaa-antavina. Lisäksi näytteet päätettiin jakaa sameudeltaan ja paksuudeltaan kolmeen tyyppiin eli kirkkaisiin, hieman paksuihin tai sak-

kaisiin sekä erittäin paksuihin tai sakkaisiin sen sijaan, että näytteet jaettaisiin laimennostarpeen mukaan vain kirkkaisiin tai sameisiin. Uudessa työohjeessa käytettävät laimennokset käytettäessä 12 millilitran näytekyvettiä näkyvät taulukossa 2.

Taulukko 2. Cyto-Tek-työohjeessa käytettävät PEG-, näyte- ja natriumkloridimäärät käytettäessä 12 millilitran näytekyvettä.

Näytteen laatu	Pipetoitavat määrät (ml)
Kirkas näyte	1 ml PEG + 11 ml näytettä
Hieman paksu tai sakkainen näyte	1 ml PEG + 6 ml näytettä + 5 ml NaCl
Erittäin paksu tai sakkainen näyte	1 ml PEG + 1 ml näytettä + 10 ml NaCl

PEG-liuoksen määrää nostettiin 0,5 millilitrasta 1 millilitraan ja määrä lasketaan mukaan kyvettiin laitettavan materiaalin tilavuuteen. Kirkkaiden näytteiden kohdalla ajatuksesta laimentaa päätettiin luopua kokonaan ja paksumpien näytteiden kohdalla päädyttiin kahteen erilaiseen laimennosvaihtoehtoon näytteen paksuusasteesta riippuen. Kirkkaat näytteet saattaisivat laimennettuina jäädä liian vähäsoluisiksi, jotta niitä voisi mikroskopioida. Paksut näytteet taas ovat lasilla aivan liian paksuja ja mahdollomia tulkita mikroskooppisesti, jos niitä ei laimennettaisi. Näytteen, natriumkloridin ja PEG-liuoksen määriä pohdittaessa mietittiin myös sitä, millaiset määrät olisi helppo ja nopea pipetoida. Lisäksi pyrittiin sellaisiin pipetoitaviin määriin, joista olisi helppoa suorittaa suhdelaskutoimitukset, mikäli käytettäisiin jotakin toista kyvettikokoa 12 millilitran kyvetin sijaan.

Lopulliselle työohjeelle tuli pituutta neljä sivua. Työohjeeseen eriteltiin omien alaotsikoidensa alle menetelmän periaate, näytteen laatu, työn suoritus, tulos ja sen tulkinta, virhelähteet, laitteet ja välineet, reagenssit ja varotoimenpiteet. Kuvia työohjeeseen lisättiin yhteensä 10 kappaletta, ja ne laitettiin työohjeeseen tekstin lomaan sopiviin kohtiin. Työohjetta varten otettiin kuvia Cyto-Tek-valmisteiden työvaiheista. Kuvien kokoon ja yleiseen laatuun ja selkeyteen pyrittiin kiinnittämään mahdollisimman tarkasti huomiota, jotta kuvamateriaali palvelisi työohjeen käyttäjää. Myös työohjeen tekstiosioihin kiinnitettiin huomiota niin sisällön oikeellisuuden kuin kielellisen selkeydenkin osalta. TYKS-Sapa-Sytologian työntekijät kävivät työohjeen läpi sen kirjoittamisen aikana sekä lopuksi, jotta siitä tulisi oikeanlainen. Kuvien laatua testattiin etukäteen ottamalla muutamia kuvia ennen kuin varsinaiset työohjeen kuvat otettiin ja liitettiin ohjeeseen.

6 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli laatia kuvallinen työohje TYKS-Sapa-Patologian sytologian laboratoriolle sytologisten näytteiden Cyto-Tek-käsittelyä varten. Samalla kehitettiin kyseisen laboratorion Cyto-Tek-käsittelyn menetelmää. TYKS-Sapa-Sytologian laboratoriossa ei nimittäin ollut käytössä ajantasaista kirjallista ja kuvallista työohjetta Cyto-Tek-käsittelyyn. Lisäksi näytteen sekä mahdollisen laimennosliuoksena toimivan natriumkloridin määrät suhteessa toisiinsa arvioitiin ja mitattiin aina silmämääräisesti ja paksuiksi jääneet näytteet siveltiin sytosentrifugoinnin jälkeen kyvettien purkamisen yhteydessä. Uusi työohje helpottaa käytännön työskentelyä ja auttaa uusien työntekijöiden perehdytyksessä. Myös harjoittelujaksolle tulevat opiskelijat hyötyvät kuvallisesta työohjeesta. Tarkkojen pipetoitavien määrien käyttämisellä voidaan vaikuttaa positiivisesti näytelasien laatuun ja tarkkuus on eduksi myös akkreditointia ajatellen.

Tässä opinnäytetyössä päädyttiin käyttämään pelkästään virtsanäytteitä, vaikka muistakin näytelajeista voidaan tehdä sytologinen irtosoluvalmiste. Sytologinen tutkimus on keskeisessä asemassa virtsatiekasvainten diagnostiikassa, kuten esimerkiksi Muus Ubagon ym. tutkimuksesta (2013) voidaan päätellä. Miyanaga ym. (1997) ja Miyoshi ym. (2001) tutkivat myös NMP22-proteiinia virtsateiden syövän diagnostiikassa verrattuna sytologiaan, mutta herkkyydestään huolimatta se ei kuitenkaan välttämättä pysty korvaamaan virtsan sytologista tutkimusta virtsatiesyöpien havaitsemisessa.

Jo tämän opinnäytetyön suunnitteluvaiheessa pyrittiin etsimään ja löytämään mahdollisimman monenlaisia ja monipuolisia lähteitä. Tutkimusluvan saamisen jälkeen alkaneen varsinaisen käytännön tutkimus- ja kirjoitusprosessin aikana lähteitä etsittiin vielä lisää, jotta lähdemateriaalia olisi mahdollisimman paljon ja monipuolisesti. Myös lähteiden luotettavuuteen ja tuoreuteen kiinnitettiin huomiota. Tästä huolimatta osa lähteistä on melko vanhoja, mikä saattaa vaikuttaa luotettavuuteen hieman heikentävästi. Toisaalta vanhempia lähteitä pyrittiin hyödyntämään vain sellaisen tiedon osalta, joka on paikkansa pitävää vielä nykyäänkin. Aiheesta löytyi melko runsaasti kirjallisuutta, josta suuri osa oli suomenkielistä. Tästä huolimatta myös englanninkielistä lähdekirjallisuutta hyödynnettiin tässä opinnäytetyössä. Englanninkielisen materiaalin kääntäminen oli ajoittain hankalaa erilaisten termien vuoksi. Lisäksi oli haastavaa saada käännetty materiaali suomennettua järkevään muotoon. Kirjallisuuden lisäksi tässä opinnäytetyössä käytettiin lähteenä

myös joitakin internetlähteitä, joiden kohdalla myös pyrittiin kiinnittämään huomiota niiden luotettavuuteen.

Myös käytännön tutkimusvaiheessa oli tekijöitä, jotka vaikuttavat tämän opinnäytetyön luotettavuuteen. Tällaisia tekijöitä saattavat olla esimerkiksi tämän opinnäytetyön tekijän melko vähäinen pipetointi- ja mikroskopointikokemus. Näytetyypin rajaaminen virtsanäytteisiin esti tämän opinnäytetyön liiallisen laajenemisen, mutta useampien näytetyypien käyttäminen olisi saattanut tuoda lisää tietoa laimennosten sopivuudesta eri näytteiden kohdalla. Muita laatuun vaikuttavia tekijöitä olivat esimerkiksi oikeanlainen näytteenottotapa sekä näytteen oikea säilytys ja käsittely. Tätä opinnäytetyötä varten pyrittiin valitsemaan mahdollisimman erilaisia virtsanäytteitä, mikä vaikuttaa luotettavuuteen positiivisesti.

Tuotoksena syntynyt työohje onnistui hyvin. Siitä tuli selkeä ja tiivis kokonaisuus, joka on hyödyksi sekä työntekijöille että harjoitteluun tuleville opiskelijoille. Työohjeen kuvat olivat selkeitä ja sopivan kokoisia, ja ne auttavat hahmottamaan työohjeen tekstiosuutta. Työohje ei laajentunut sisällöllisesti liikaa eikä siitä tullut liian pitkä. Mikäli työohje otetaan TYKS-Sapa-Patologian laboratoriossa rutiinikäyttöön, laatuvaastaava tarkastaa sen.

Tässä opinnäytetyössä käytettiin potilailta saatuja virtsanäytteitä, joiden tulokset oli jo vastattu. Eettisestä puolesta huolehdittiin siten, ettei tässä opinnäytetyössä käytettyjä virtsanäytteitä pysty yhdistämään potilaisiin esimerkiksi tulosten perusteella. Potilaiden henkilötietoja ei siis hyödynnetty millään tavalla. Tämän opinnäytetyön toteutuksessa noudatettiin tarkkuutta ja huolellisuutta ja tulokset raportoidaan vääristelemättä ja avoimesti.

Tämän opinnäytetyön aihe oli hyvin mielenkiintoinen ja sopivan haastava. Sopivan haastavuustason ja aiheen kiinnostavuuden takia motivaatiota tämän opinnäytetyön tekemiseen löytyi. Aikaisemmin hankituista sytologian tiedoista ja taidoista oli paljon hyötyä tämän opinnäytetyön tekemisessä, minkä takia tämän opinnäytetyön tekijä koko itsenäisen laboratoriotyöskentelyn esimerkiksi sytosentrifugin käyttämisen osalta melko sujuvaksi. Kuitenkin tämän opinnäytetyön tekeminen opetti tekijäänsä hyvin paljon sekä teoreettisella että käytännön työskentelyn tasolla. Teoriaosuuden työstäminen opetti erittäin paljon varsinkin virtsateiden rakenteesta ja erilaisten solujen esiintyvyyden merkityksestä. Käytännön työskentely laboratoriossa vahvisti tarkan ja huolellisen työskentelyn ja vastuun merkitystä sekä antoi itseluottamusta itsenäiseen työskentelyyn.

Jatkotutkimusaiheita voisivat olla esimerkiksi tuotoksena syntyneen työohjeen testaaminen käytännössä ja erilaisilla näytteillä. Tässä opinnäytetyössä käytettiin tutkimusvaiheessa pelkkiä virtsanäytteitä, joten olisi mielenkiintoista nähdä, miten laaditut laimennossuhteet toimisivat muiden näytteiden kohdalla. Työohjeen käytännön testaamisessa voisi esimerkiksi hyödyntää kyselytutkimusta.

LÄHTEET

Aho, H. 1999. Histologiset menetelmät patologiassa. Turun yliopisto, kliinis-teoreettinen laitos, Patologia.

Guitar, M. 2005. The Reason For Work Instructions. Viitattu 2.5.2017. <http://www.production-machining.com/articles/the-reason-for-work-instructions>

Helin, H. 2012. Munuaisten anatomia, diagnostiikka ja sairaudet. Teoksessa Mäkinen, M.; Carpén, O.; Kosla, V-M.; Paavonen, T. & Stenbäck, F. (toim.) Patologia. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Hervonen, H. & Virtanen, I. 2003. Virtsateiden rakenne. Teoksessa Nurmi, M.; Lukkarinen, O.; Ruutu, M.; Taari, K. & Tammela, T. (toim.) Urologia. 2. painoksen muuttumaton jatkopainos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Highet, D. 2006. Work Instructions – How to Develop Effective Work Instructions. Viitattu 16.4.2017. http://grizmo.com/management_news_200607.html

Highet, D. 2008. Work Instructions That Work. Viitattu 16.4.2017. http://grizmo.com/management_news_200810.html

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2008. Tutki ja kirjoita. 13.-14. osin uudistettu painos. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.

Juujärvi, S.; Myyry, L. & Pesso, K. 2007. Eettinen herkkyyys ammatillisessa toiminnassa. 1. painos. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Khandelwal, P.; Abraham S. N. & Apodaca, G. 2009. Cell Biology and Physiology of the Uroepithelium. American Journal of Physiology - Renal Physiology 6/2009. Volume 297. Viitattu 21.3.2017. <http://ajprenal.physiology.org/content/297/6/F1477>

Kierszenbaum A. L. & Tres, L. L. 2012. Urinary System. Teoksessa Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. Third Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.

Koivuniemi, A. & Tyrkkö, J. 1994. Virtsan irtosolututkimukset. Teoksessa Koivuniemi, A. (toim.) Kliininen sytologia. 1. painos. Forssa: Kandidaattikustannus Oy.

Krogerus, L. & Kholová, I. 2014. Sytologia syntyy uudelleen. Duodecimlehti 22/2014. Viitattu 23.11.2016. http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/uusinnumero?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_lifecycle=0&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_p_frompage=uusinnumero&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_viewType=viewArticle&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_tunus=duo11952

Laiho, M. 2015. Virtaustehokkuuden lisääminen patologian laboratoriossa – Lean-toimintastrategian implementointi. Opinnäytetyö YAMK. Terveysala. Sosiaali- ja terveysalan kehittäminen ja johtaminen. Turku: Turun ammattikorkeakoulu.

Launis, V. 2007. Moniarvoinen terveys. Turku: Areopagus.

Lauri, S. 1997. Toimintatutkimus. Teoksessa Paunonen, M. & Vehviläinen-Julkunen, K. (toim.) Hoitotieteen tutkimusmetodiikka. 1.- 2. painos. Juva: WSOY.

Laurila, M. 2013. Sytologia virtsarakon tautien diagnostiikassa. Moodi 7/2013.

Leino-Kilpi, H. & Välimäki, M. 2014. Etiikka hoitotyössä. 8. uudistettu painos. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

- Miyanaga, M.; Akaza, H.; Ishikawa, S.; Ohtani, M.; Noguchi, R.; Kawai, K.; Koiso, K.; Kobayashi, M.; Koyama, A. & Takahashi, T. 1997. Clinical Evaluation of Nuclear Matrix Protein 22 (NMP22) in Urine as a Novel Marker for Urothelial Cancer. *European Urology* 2/1997. Volume 31. Issue 2. Viitattu 5.12.2016. <http://europepmc.org/abstract/med/9076459>
- Miyoshi, Y.; Matsuzaki, J. & Miura, T. 2001. Evaluation of Usefulness of Urinary Nuclear Matrix Protein 22 (NMP22) in the Detection of Urothelial Transitional Cell Carcinoma. *Hinyokika Kiyo. Acta Urologica Japonica* 6/2001. Volume 47. Issue 6. Viitattu 6.12.2016. <http://europepmc.org/abstract/med/11496392>
- Muus Ubago, J.; Mehta, V.; Wojcik, E. M. & Barkan, G. A. 2013. Evaluation of Atypical Urine Cytology Progression to Malignancy. *Cancer Cytopathology* 7/2013. Volume 121. Issue 7. Viitattu 8.12.2016. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncy.21278/full>
- Niensted, W.; Hänninen, O.; Arstila, A. & Björkqvist, S-E. 2009. Ihmisen fysiologia ja anatomia. 18. uudistettu painos. Helsinki: WSOY.
- Nordling, S. 2012. Virtsarakon anatomia ja anomalia. Teoksessa Mäkinen, M.; Carpén, O.; Kosma, V-M.; Paavonen, T. & Stenbäck, F. (toim.) *Patologia*. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Nurmi, M. & Rintala, E. 2003. Virtsateiden kasvaimet. Teoksessa Nurmi, M.; Lukkarinen, O.; Ruutu, M.; Taari, K. & Tammela, T. (toim.) *Urologia*. 2. painoksen muuttumaton jatkopainos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Pasternack, A. 2012. Muut virtsan solut. Teoksessa Pasternack, A. (toim.) *Nefrologia*. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Rintala, E.; Bono, P. & Joensuu, H. 2013. Virtsarakon syövän patologia ja luokitus. Teoksessa Joensuu, H.; Roberts, P. J.; Kellokumpu-Lehtinen P-L.; Jyrkkiö, S.; Kouri, M. & Lyly, T. (toim.) *Syöpätaudit*. 5. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Räisänen, K. 2016. Sisäiset auditoinnit osana klinisen laboratorion laadunhallintaa. *Bioanalyttikko* 1/2016.
- Solunetti. 2006. Sentrifugi. Viitattu 28.4.2017. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/sentrifugi/>
- Stenbäck, F. & Klemi, P. 2012. Kliininen sytologia. Teoksessa Mäkinen, M.; Carpén O.; Kosma, V-M.; Lehto, V-P.; Paavonen, T. & Stenbäck, F. (toim.) *Patologia*. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Stenbäck, F. & Klemi, P. 2012. Näytteenottotavat. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. (toim.) *Patologia*. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Stenbäck, F. & Koivuniemi, A. 1994. Yleistä sytologiaa. Teoksessa Koivuniemi, A. (toim.) *Kliininen sytologia*. 1. painos. Forssa: Kandidaattikustannus Oy.
- Stevens, A. & Lowe, J. 2005. Urinary System. Teoksessa Stevens, A. & Lowe, J. *Human Histology*. Third Edition. Philadelphia: Elsevier Mosby.
- Tuokko, S.; Rautajoki, A. & Lehto, L. 2009. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. 1.-2. painos. Helsinki: Tammi.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö. Viitattu 17.11.2016 <http://www.tenk.fi/fi/htk-ohje/hyva-tieteellinen-kaytanta>
- TYKSLAB tutkimusohjekirja. 2016. U-Syto. Viitattu 10.11.2016. <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=4078>

Vilkka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Yli-Pyky, M. 2016. Kehitys kehittyä patologian laboratoriossa. Bioanalytiikko 1/2016

Tutkimuslupa

VARSINAIS-SUOMEN SAIRAAHOITOPIIRI	TUTKIMUSLUPAHAKEMUS 3 / 3
--	---------------------------

Vastuullisen tutkijan allekirjoitus

Allekirjoituksellani sitoudun noudattamaan VSSH:n terveystieteellisen tutkimuksen ohjeistoa (www.turkuerc.fi) sekä hyvää tutkimustapaa ja tieteellistä käytäntöä. Mahdolliset epäilyt hyvän tieteellisen käytännön loukkaamisesta käsitellään noudattaen Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohjetta "Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa (www.tenk.fi).

Päiväys: 06/12/2016
 Allekirjoitus: [Redacted]
 Nimenselvennys: [Redacted]
 Virka/toimi: lehtori

Lomake toimitetaan liitteineen TurkuCRC:hen (rakennus 9, 2 kerros)
 TurkuCRC toimittaa lomakkeen puolettavaksi ja hyväksyttäväksi. Saatte lupapäätöksen sähköpostitse.

**Toimialueen, palvelualueen, tulosalueen tai liikelaitoksen
TUTKIMUKSEN JA OPETUKSEN VASTUUHENKILÖN PUOLTO**

Päätösnumero: J. Järvi Sk/rt
 Päiväys: [Redacted]
 Allekirjoitus: [Redacted]
 Nimenselvennys: [Redacted]

**Toimialueen, palvelualueen, tulosalueen tai liikelaitoksen johtajan päätös
tai johtajayliääkärin päätös, VSSH:n tutkimuslupa**

Päätösnumero: YH1-17006
 Päiväys: 5.12.2017
 Allekirjoitus: [Redacted]
 Nimenselvennys: [Redacted]

Jakelu:

☐ vastuullinen tutkija
☐ tutkimuksen puoltanut tutkimuksen ja opetuksen vastuuhenkilö
☐ tarjouksen antaneet palveluyksiköt
☐ taloushallinnon palvelukeskus
☐ yhteyshenkilö

YHT 50a VSSH 10.2015