



TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

KONTROLLIEN KERÄÄMINEN

Työohjeistus

Fimlab Laboratoriot Oy

Histologian laboratorio

Satu Harola

Satu Mäkinen



SISÄLLYS

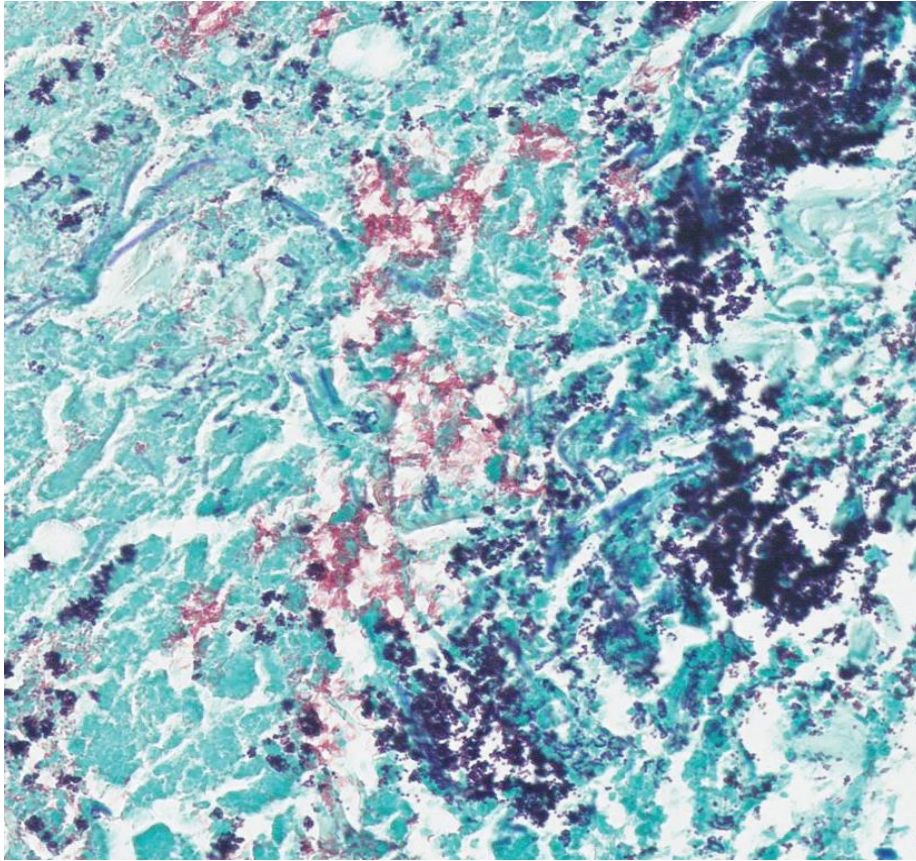
1	KONTROLLIA TARVITSEVAT VÄRJÄYKSET	3
1.1	GRAM (Artisan, Ventana).....	3
1.2	KONGO (Artisan, Ventana)	5
1.3	RAUTA (Artisan, Ventana).....	6
1.4	SM JA PCC (Artisan) – GMS II (Ventana).....	7
1.5	Verhoeff Van Gieson – Elastic (Artisan, Ventana)	9
1.6	Warthin Starry (Artisan) – Steiner II (Ventana).....	10
1.7	Ziehl Neelsen – AFB (Artisan) – AFB III (Ventana).....	12
2	KONTROLLIEN KERÄÄMINEN	14
2.1	Dissekointityöpiste.....	15
2.2	Värjästyöpiste	15
2.3	Patologit	16
2.4	Leikkaustyöpiste	16

1 KONTROLLIA TARVITSEVAT VÄRJÄYKSET

Kontrolleja kerätään kahdeksalle värjäykselle, joita ovat: GRAM, Kongo, PCC, Rauta, SM, Verhoeff Van Gieson, Warthin Starry ja Ziehl Neelsen. Nämä värjäykset ovat värjäysautomaateilla (Artisan, Ventana) tehtäviä värjäyksiä, joihin kuhunkin kuuluu kontrolli.

1.1 GRAM (Artisan, Ventana)

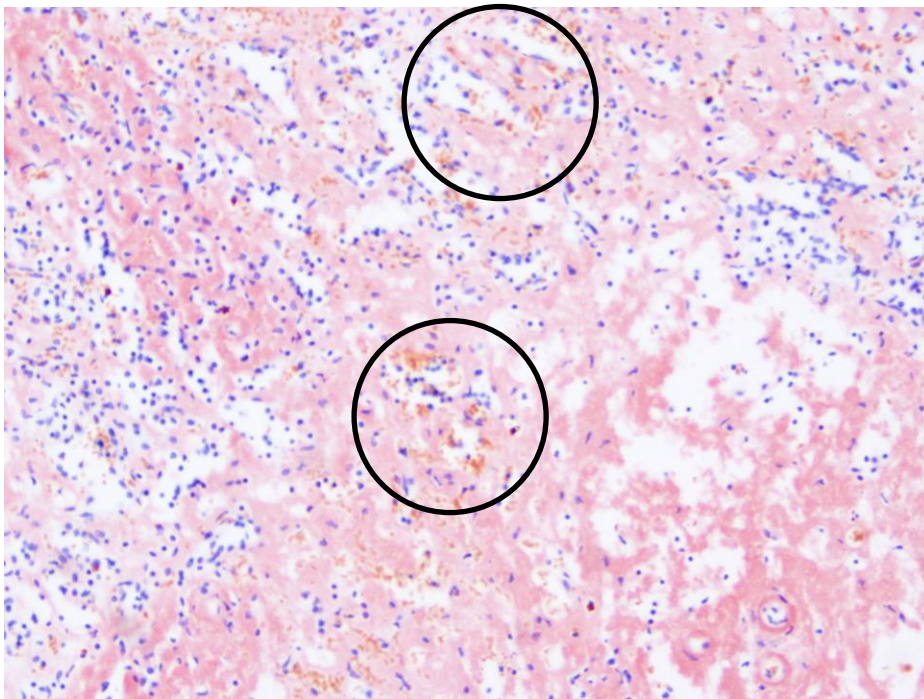
Käyttötarkoitus	Bakteerien tunnistus
Värjäysperiaate	Perustuu bakteerin soluseinämän rakenteeseen. Värjäys sisältää kristallivioletti- ja safraniinivärjäyksen.
Värjäystulos	Bakteerit, jotka säilyttävät ensisijaisen väriaineen, kristallivioletin kutsutaan gram-positiivisiksi. Ne, joista kristallivioletti huuhtoutuu pois värinpoiston yhteydessä, värjäytyvät vaaleapunaisiksi safraniinilla, joten niitä kutsutaan gram-negatiivisiksi.
Kontrolli	Kudos, jossa on positiivista/negatiivista bakteeria tai molempia



Gram-värijäys, gram-negatiiviset bakteerit (vaaleanpunaiset) ja gram-positiiviset bakteerit (tumman violetit). (Kuva: Gram, viitattu 29.9.2015) Saatavissa: http://www.dako.com/fi/29030_atlas-of-special-stains.pdf

1.2 KONGO (Artisan, Ventana)

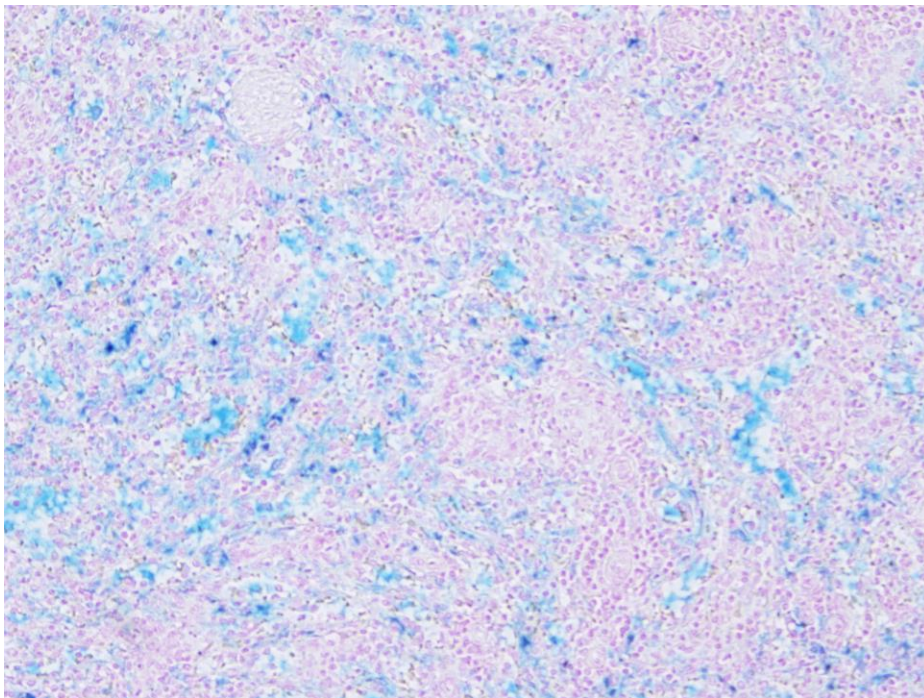
Käyttötarkoitus	Värjäystä käytetään amyloidoosin diagnostiikassa.
Värjäysperiaate	Värjäysprosessi on alkalinen kongopunavärjäys, jossa käytetään Mayerin hematoksyliiniä ja alkalista alkoholia vähentämään taustan elektrokemiallista värjäytymistä sekä parantamaan kongopunan ja amyloidin sitoutumista.
Värjäystulos	Kongopuna kiinnittyy amyloidisäikeisiin, jolloin tavallisessa valossa ne näkyvät vaalean- ja lohenpunaisen sävyissä ja polarisoidussa valossa kirkkaan vihreänä.
Kontrolli	Amyloidista kudosta tai sydänekudosta



Kongo-värjäys, lohenpunaisia amyloidisäikeitä (esimerkiksi ympyröityjen alueiden sisällä)

1.3 RAUTA (Artisan, Ventana)

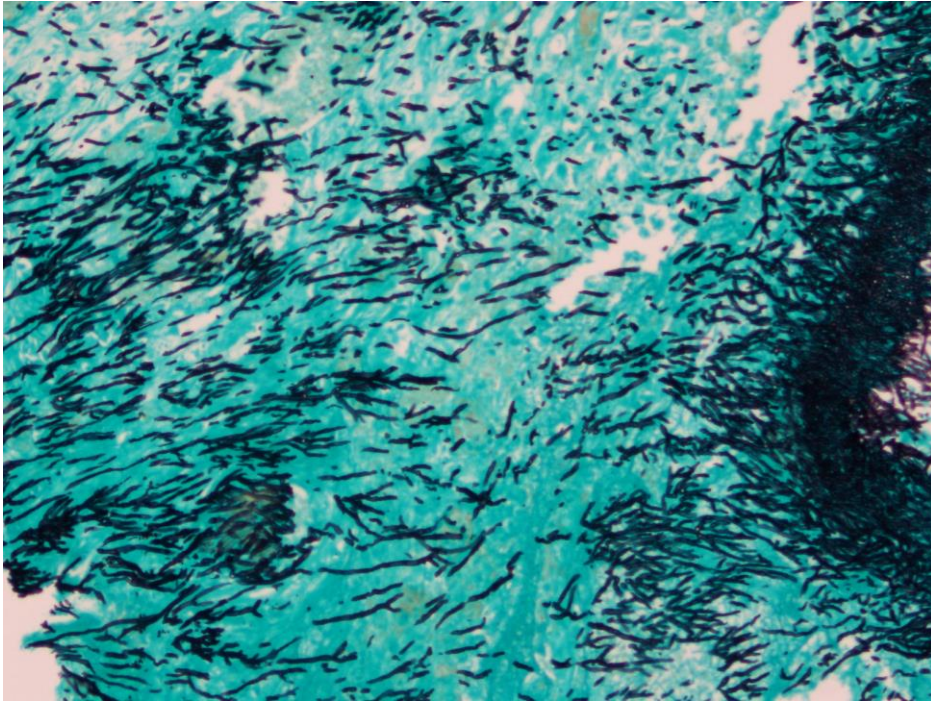
Käyttötarkoitus	Värjäystä käytetään hemokromatoosin diagnostiikassa, etsimällä hemosideriini-proteiinin varastoimia rautakertymiä maksasta, pernasta ja luuytimestä.
Värjäysperiaate	Kaliumferrosyanidin ja suolahapon liuos erottaa näytteestä raudan. Rauta reagoi kaliumferrosyanidin kanssa muodostaen kirkkaan sinistä ferriferrosyanidia. Tämän jälkeen solujen tumat värjätään punaisiksi.
Värjäystulos	Rautakertymät värjäytyvät kirkkaan siniseksi.
Kontrolli	Pernaa tai maksaa, jossa on hemosideroosi



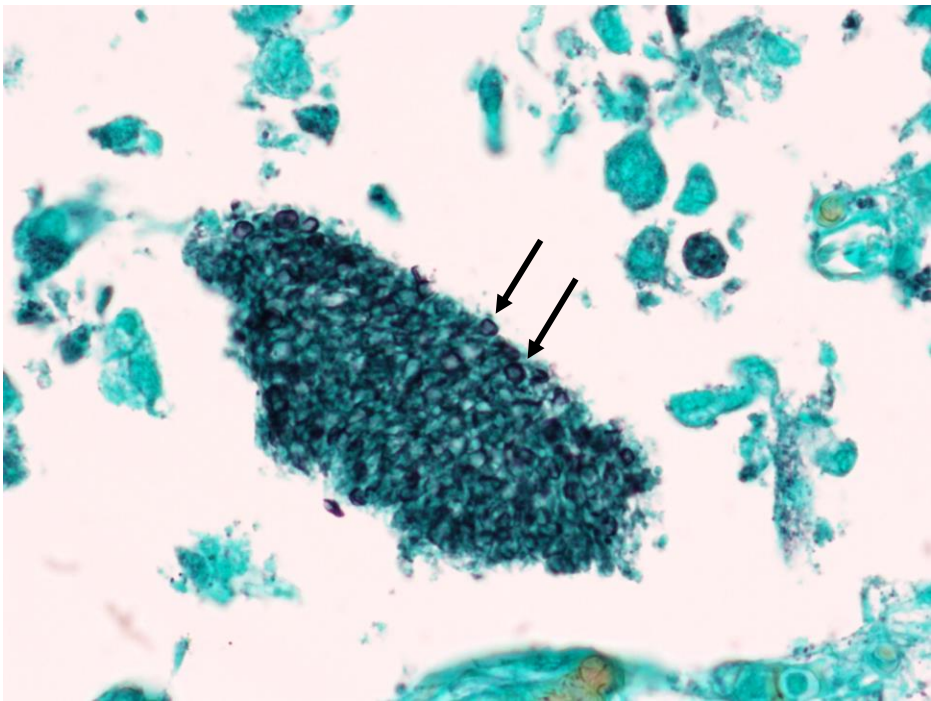
Rauta-värjäys, rautakertymät sinisiä

1.4 SM JA PCC (Artisan) – GMS II (Ventana)

<p>Käyttötarkoitus</p>	<p>SM-värjäystä käytetään sieniorganismien ja bakteerien tunnistamiseen. PCC-värjäys perustuu samaan menetelmään kuin SM. PCC:tä käytetään sytologiassa Pneumocystis jiroveciin (aiemmin käytetty nimeä Pneumocystis carinii) identifiointiin (-PncaVr). Erona on, että näyte on sytologinen ja se on tutkittava kiireellisesti, heti kun näyte saapuu laboratorioon.</p>
<p>Värjäysperiaate</p>	<p>Hapettumisreaktion kautta vapautuu aldehydyryhmiä, jotka saadaan näkyvään muotoon metenamiinihopeanitraattiliuoksella. Alkaalisessa liuoksessa aldehydyryhmät pelkistävät hopeaionit metalliseksi, joka näkyy mustana. Hopeasaostuman väriä voidaan vahvistaa kultakloridiliuoksella. Liuoksen käyttö ehkäisee epäspesifiä sitoutumista taustaan.</p>
<p>Värjäystulos</p>	<p>Sienet ja Pneumocystis värjäytyvät mustiksi ja tausta vastavärjäyksen (light green) jälkeen vaalean vihreäksi.</p>
<p>Kontrolli</p>	<p>SM: Kudos, jossa on Aspergillusta tai Candidaa PCC: Kudos, jossa on Pneumocystistä</p>



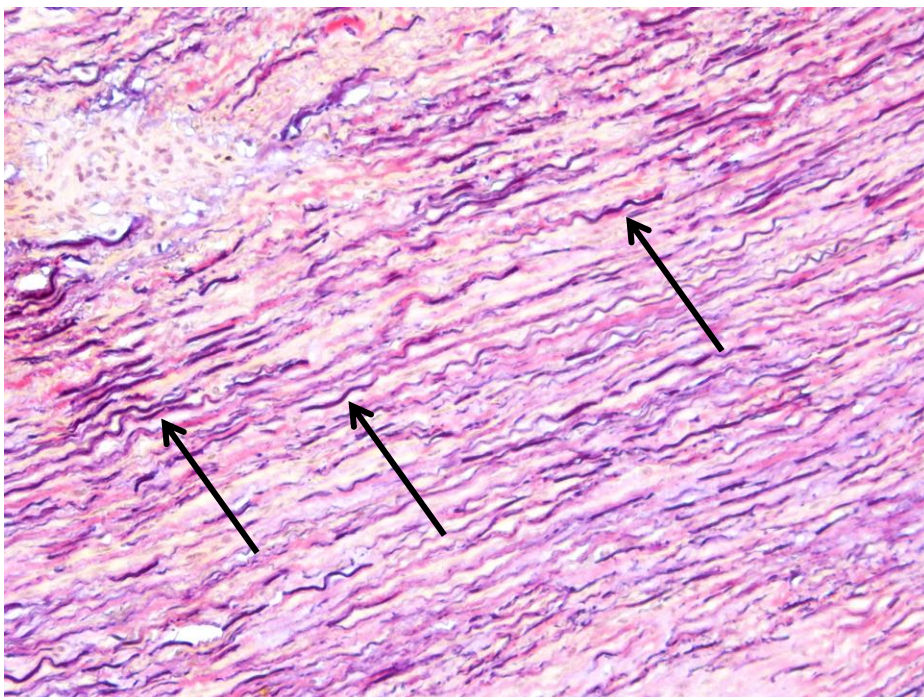
SM-värjäys, mustia sienirihmastoja



PCC-värjäys, *Pneumocystis jirovecii* (esimerkiksi mustien nuolten osoittamat kohteet)

1.5 Verhoeff Van Gieson – Elastic (Artisan, Ventana)

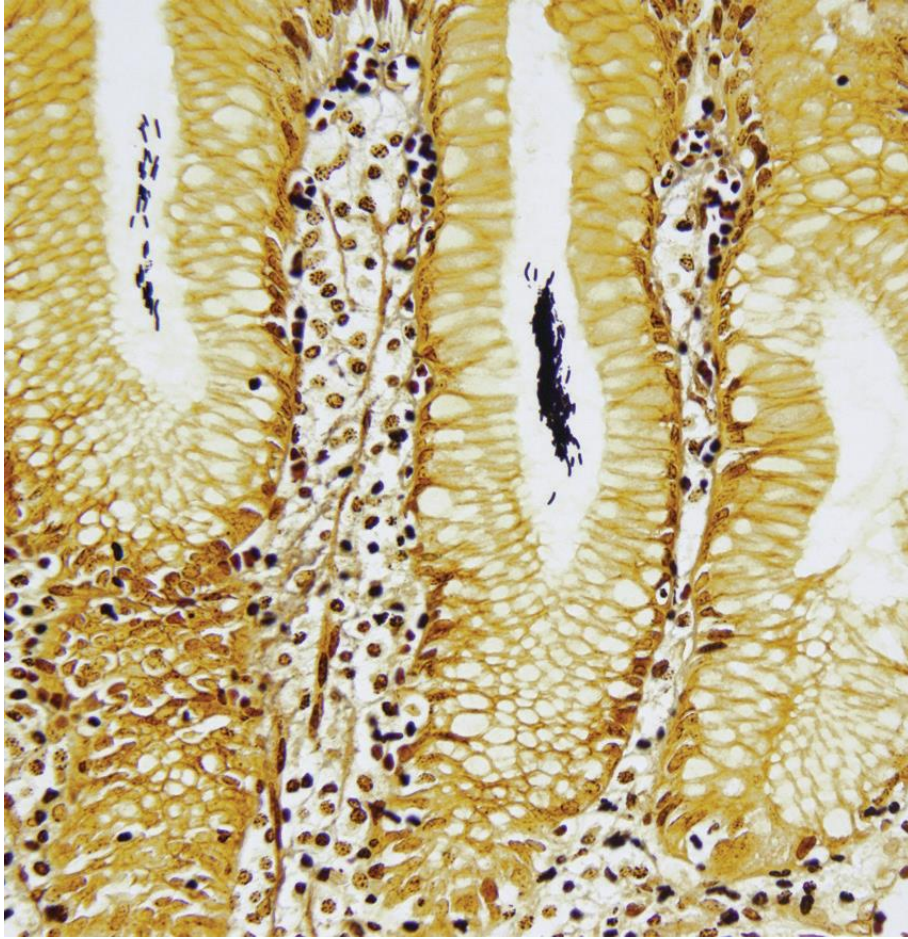
Käyttötarkoitus	Värjäystä käytetään elastisten kudosten tunnistamiseen. Värjäyksen avulla voidaan tunnistaa surkastuneet elastiset säikeet, esimerkiksi emfyseemassa.
Värjäysperiaate	Värjäykseen käytetään hematoksyliiniä, joka koostuu rautakloridista ja jodista. Elastisella kudoksella on vahva affiniteetti rautahematyoksyliiniin, jolloin väri kestää kauemmin kuin muissa kudoksissa.
Värjäystulos	Elastiset kuidut ja tumat värjäytyvät tumman sinertävän lilasta mustiksi, kollageeni punaiseksi ja muut kudoselementit keltaisiksi.
Kontrolli	Iho, valtimo ja umpisuoli



Verhoeff Van Gieson-värjäys, elastiset kuidut (esimerkiksi nuolten osoittamat kohteet)

1.6 Warthin Starry (Artisan) – Steiner II (Ventana)

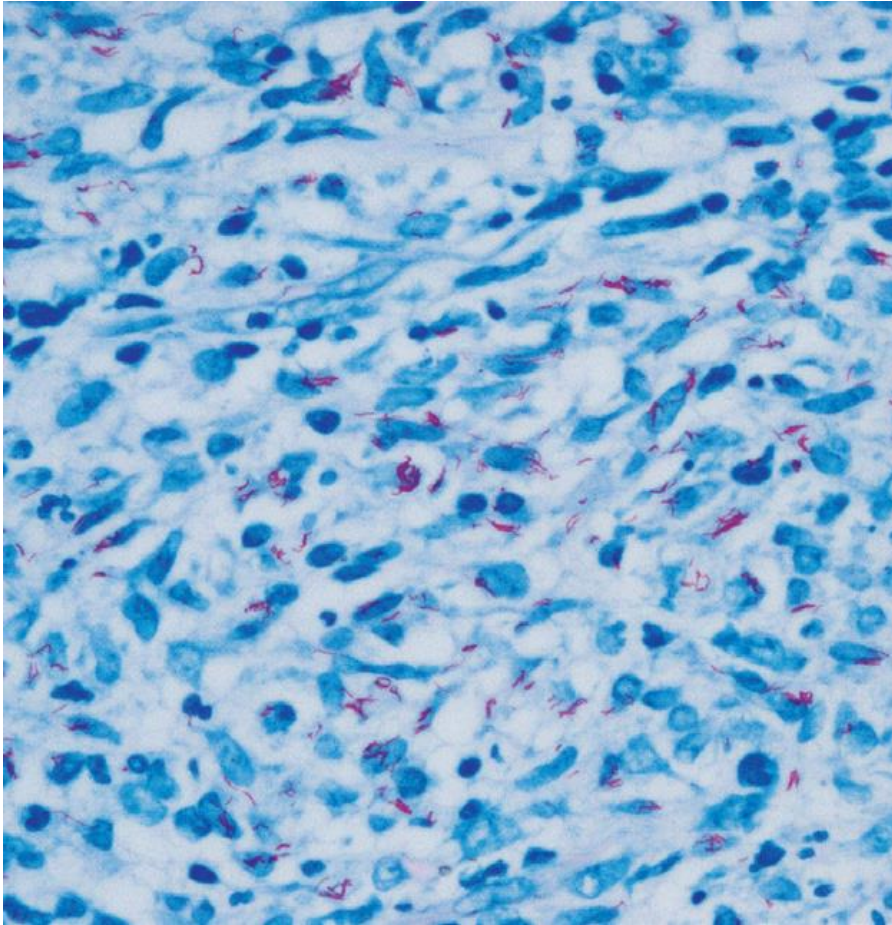
Käyttötarkoitus	Värjäystä käytetään mm. Helicobacter pyloriin, spirokeettojen ja Legionella pneumophila-bakteerien tunnistamiseen.
Värjäysperiaate	Värjäys perustuu hopeakyllästystekniikkaan. Hopeanitraatin sisältämää hopeaa käytetään kudoksen kyllästämiseen. Hydrokinoni pelkistää hopean metalliseksi, näkyväksi muodoksi.
Värjäystulos	H. pylori, spirokeetat ja L. pneumophilia värjäytyvät mustiksi ja tausta kullankeltaiseksi.
Kontrolli	Kudos, joka sisältää helikobakteeria tai spirokeettoja



Warthin Starry-värjäys, helikobakteerit värjäytyvät mustiksi (Kuva: Warthin-Starry, viitattu 29.9.2015) Saatavissa: http://www.dako.com/fi/29030_atlas-of-special-stains.pdf

1.7 Ziehl Neelsen – AFB (Artisan) – AFB III (Ventana)

Käyttötarkoitus	Värjäys värjää hapon ja alkoholin kestäviä organismeja, kuten Mycobacterium tuberculosis ja M. leprae sekä näiden lähisukuiset organismit.
Värjäysperiaate	Väri tunkeutuu organismin lipidikerroksen läpi ja se kestää hapon- ja alkoholinpoistoliuoksia. Pienet partikkelit voivat haitata värjäytymistä ja tulkintaa.
Värjäystulos	Hapon ja alkoholin kestävät sauvabakteerit värjäytyvät kirkkaan punaisiksi ja vastavärjäys tekee taustan siniseksi.
Kontrolli	Kudos, joka sisältää haponkestäviä sauvoja, esim. keuhko



Ziehl Neelsen-värjäys, hapon kestävät sauvat värjäytyvät kirkkaan punaisiksi (Kuva Acid-Fast Bacteria, viitattu 29.9.2015) Saatavissa: http://www.dako.com/fi/29030_atlas-of-special-stains.pdf

2 KONTROLLIEN KERÄÄMINEN

Kontrollien kerääminen on koko henkilökunnan vastuulla. Kontrollitilanteesta tiedottamisen on oltava jatkuvaa ja sujuvaa. Verkkolevyllä esim. M-asemalle luodaan Excel-taulukkopohjaan kontrollitaulukko, johon kirjoitetaan värjäyksien nimet ja niiden varastossa olevien kontrolliblokkien määrä (kuva 1). Kansioon liitetään myös kontrolleille hälytysrajat eli jokaiselle värjäykselle katsotaan tietty määrä, jolloin kontrollimateriaaliksi sopivaa kudosta on alettava keräämään. Jokaisen, joka käyttää loppuun kontrolliblokkeja niille tarkoitettusta säilytyslaatikosta, on velvollisuus päivittää kontrollien määrä taulukkoon. Kun hälytysraja saavutetaan, niin kyseisen värjäyksen VARASTOBLOKIT-sarakkeen solu muuttuu punaiseksi. Tämä toiminto voidaan toteuttaa Excel-taulukko-ohjelman funktioilla. Kontrollitaulukko pitää olla henkilökunnan käytettävissä henkilökohtaisilla kirjautumistunnuksilla. Henkilökunnan velvollisuus on seurata kontrollitaulukon tilannetta säännöllisesti.

KONTROLLITAUUKKO				
VÄRJÄYS	VARASTOBLOKIT	HÄLYTYSRAJA	KONTROLLI OTETTU	NÄYTENUMERO
GRAM	8	4		
Kongo	4	4		1258111
Rauta	8	4		
SM	10	4		
PCC	9	4		
VVG	3	4	x	1528208
WS	8	4		
ZN	6	4		

KUVA 1. Esimerkki Excel-taulukkoon luodun kontrollitaulukon rakenteesta.

Kansion KONTROLLI OTETTU-sarakkeeseen laitetaan ruksi kun puuttuva kontrollimateriaali on otettu talteen. Tämän toiminnon voi suorittaa sekä laboratoriohoitaja että patologi. Kansio siis toimii myös viestintäkanavana. Hän, joka laittaa valmiit kontrolliblokit taulukkoon muuttaa varastoblokkimäärän oikeaksi. Hän varmistaa, että lukumäärä täsmää ja pyyhkii KONTROLLI OTETTU-sarakkeen ruksin ja NÄYTENUMERO-sarakkeen numeron pois.

Tarkoituksena on saada kontrollimateriaalin keräys jatkuvaksi. Jos hälytysrajan jälkeen ei sopivaa kontrollia ala löytyä, niin varakeinona voidaan tehdä hakuja tietojärjestelmästä esim. anatomialla tai diagnoosilla ja tämä on dissekointiavustajan tai patologin tehtävä.

2.1 Dissekointityöpiste

Dissektioavustaja tarkistaa kerran kuukaudessa, maanantaina ennen dissektiotyön alkamista kontrollitilanteen kontrollitaulukosta. Avustajan tehtävä on tiedottaa patologeille ja dissektiohoitajille kontrollikudostarpeesta ja etsiä tarvittaessa näytenumerolla näyte dissekoitavaksi.

Patologien ja dissektiohoitajien tehtävä on dissekoinnin ohessa kiinnittää huomiota dissekointiavustajan tiedottamaan kontrollikudostarpeeseen. Kun kontrollikudos on dissekoitu, niin kontrollia varten tulostetaan omat kasetit, joiden blokkikommenttiin kirjoitetaan esim. kontrollinäyte, GRAM. Dissektioavustajan ja dissektiohoitajien tehtävänä on laittaa ruksi KONTROLLI OTETTU-sarakkeeseen kun kontrollimateriaali on dissekoitu.

2.2 Värjäystyöpiste

Värjäyspisteen hoitaja tarkistaa näytelasien värjäystuloksia ja samalla huomioi sopiiko näyte mahdollisesti kontrolliksi. Näitä kriteereitä on muun muassa onnistunut värjäys ja näytteen positiivisuus eli löytyykö näytteestä esim. bakteereita. Jos hoitajan mielestä näyte sopii kontrolliksi, hän laittaa asiasta sähköpostia patologeille. Patologin vahvistettua näytteen sopivuuden, hoitaja laittaa kontrollitaulukon NÄYTENUMERO-sarakkeeseen kyseisen värjäyksen kohdalle näytenumeron.

Värjäystyöpisteen hoitaja seuraa kontrollitaulukon blokkitilannetta kerran kuukaudessa, kuun ensimmäisenä maanantaina. Kun hälytysraja on ylittynyt, hoitaja huomaa VARASTOBLOKIT-sarakkeessa kyseisen värjäyksen kohdalla hälytyksen (punainen solu). Tällöin hän laittaa sähköpostiviestin tilanteesta patologeille, jotka voivat tarkistaa kontrollia tarvitsevan värjäyksen kontrollitaulukosta. Hoitaja seuraa värjäystyöpisteessä

myös valmiiden kontrollilasiens kulutusta. Kun kontrollilaseja tarvitaan lisää, niin hoitaja ilmoittaa asiasta leikkaajille, jotka leikkaavat tarpeen mukaan lisää kontrolleja.

2.3 Patologit

Tarkistaessaan näytelaseja patologit huomioivat kontrollitarpeen. He seuraavat kontrollipyynnöjä sähköposteistaan ja kontrollitaulukosta. He vastaavat värjääjän lähettämiin kontrolliviesteihin mahdollisimman pian. Jos patologit huomaavat näytelaseja tarkastaessaan näytteen sopivan kontrolliksi, niin he laittavat kontrollitaulukkoon NÄYTENUMERO-sarakkeeseen näytenumeron sen värjäyksen kohdalle, jolle kontrolli sopii. Heidän tehtävänä on myös dissekoida dissektioavustajan etsimät kudokset kontrollitarpeeksi.

2.4 Leikkaustyöpiste

Leikkauspisteen hoitajan tehtävänä on päivittää kontrollien määrä taulukkoon joka kerta kun kokonainen kontrolliblokki on leikattu ja blokkien määrä vähenee. Tämän hän tekee Excel-tilukko-ohjelman funktioita hyödyntäen. Kun hoitaja laittaa lisää kontrolliblokkeja säilytyslaatikoon, niin hän samalla muuttaa taulukkoon blokkimäärän oikeaksi, jolloin kyseisen värjäyksen VARASTOBLOKIT-sarakkeen solun punainen hälytys häviää. Hoitaja myös varmistaa, että lukumäärä täsmää kontrollien säilytyslaatikossa ja pyyhkii KONTROLLI OTETTU- sarakkeen ruksin ja NÄYTENUMERO-sarakkeen numeron pois. Hänen tehtävänä on myös värjäystyöpisteen hoitajan pyynnöstä leikata lisää kontrolleja.