

Opinnäytetyö (AMK)
Bioanalytikkokoulutus
2018

Reetta Takatupa

INDUSOITU YSKÖS - TYÖOHJE PATOLOGIAN LABORATORIOON



OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Bioanalytikkokoulutus

2018 | 17 + 4

Reetta Takatupa

INDUSOITU YSKÖS – OHJE PATOLOGIAN LABORATORIOON

Patologialla tarkoitetaan oppia toiminnallisista ja rakenteellisista muutoksista sairauksissa solu-, kudosis- ja elimistötasolla. Patologisten tutkimusten tärkeänä tehtävänä on sairauksien kuvaus ja tunnistaminen ja siksi se on monien sairauksien hoidon oleellinen perusta. Työ patologian laboratoriossa voidaan jakaa kahteen osa-alueeseen, histologiaan ja sytologiaan. Sytologian laboratoriossa tutkitaan erilaisia kehon nesteitä esim. ysköstä.

Indusoidun ysköksen tutkiminen on tärkeä toimenpide hengitystietulehduksen tutkimismenetelmänä. Toimenpiteessä potilas hengittää lievästi hypertonista keittosuolaa, joka aiheuttaa yskärefleksin ja kerätty yskös lähetetään patologian laboratorioon analysoitavaksi. Patologian laboratoriossa yskösnäytteestä erotellaan sylki ja se käsitellään limaa pilkkovalla aineella. Näyte suodatetaan ja suodoksesta tehdään kokonaissolulaskenta ja näytepreparaatit erittelylaskentaa varten.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli laatia selkeä ja kattava työohje indusoidun ysköksen käsittelyyn Turun yliopistollisen keskussairaalan patologian osastolle.

Opinnäytetyölle asetettuihin tavoitteisiin päästiin. Työohjeesta tuli toimiva, johdonmukainen ja se otettiin käyttöön Tyksin patologian laboratoriossa.

ASIASANAT:

indusoitu, yskös, työohje, patologia

BACHELOR'S / MASTER'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme in Biomedical laboratory science | Pathology

2018 | 17 + 4

Reetta Takatupa

INDUCED SPUTUM – WORK INSTRUCTIONS FOR PATHOLOGY LABORATORY

Pathology refers to learning about functional and structural changes in illnesses at the cellular, tissue and organ levels. An important purpose of pathological studies is the description and identification of diseases and that is why it is an essential basis for treatment of many diseases. In laboratory work, pathology can be divided into two sub-areas, histology and cytology. In the cytology laboratory, various body fluids can be analysed, for example, sputum.

Analyzing induced sputum is an important method of treating airway inflammation. In the course of the procedure, patients breathe slightly hypertonic saline solution, which causes coughing and the collected sputum is sent to the laboratory to be analyzed. In the pathology laboratory, a saliva is separated from the sputum sample and treated with a mucus digestive agent. The sputum sample is filtered and the filtrate is subjected to total cell count and sample preparation for analysis counting.

The purpose of this thesis was to produce explicit and comprehensive work instructions for treatment of induced sputum for pathology department at the Turku University Hospital.

The goals set for the thesis were achieved. Work instructions were functional, consistent and were introduced to pathology laboratory at the Turku University Hospital.

KEYWORDS:

induced, sputum, work instructions, pathology

SISÄLTÖ

| | |
|---|-----------|
| 1 JOHDANTO | 5 |
| 2 TEOREETTINEN TAUSTA | 6 |
| 2.1 Indusoitu yskös | 6 |
| 2.2 Tutkimuksen merkitys astman diagnostiikassa | 6 |
| 2.3 Työohje | 7 |
| 2.4 Näytteen käsittely laboratoriossa | 8 |
| 2.5 Erittelylaskenta ja tulosten tulkinta | 11 |
| 3 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS | 12 |
| 4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS | 13 |
| 4.1 Opinnäytetyön käytännön toteutus | 13 |
| 4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat | 13 |
| 4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat | 14 |
| 5 POHDINTA | 15 |
| LÄHTEET | 17 |

LIITTEET

Liite 1. Indusoitu yskös- työohje.

KUVAT

| | |
|--|----|
| Kuva 1. Yskösnäyte petrimaljalla. | 8 |
| Kuva 2. Sputolysiinin lisääminen yskösnäytteeseen. | 8 |
| Kuva 3. Yskösnäytteen suodatus nailonverkon läpi. | 9 |
| Kuva 4. Näytteen pipetointi Bürkerin kammioon. | 9 |
| Kuva 5. Kertakäyttöinen Cytotek-näytekyvetti (x2). | 10 |
| Kuva 6. Cytotek-sytosentrifugi. | 10 |
| Kuva 7. May-Grünwald-Giemsa-värjätty näytelasi. | 11 |
| Kuva 8. Erittelylaskennan tulostaulukko. | 11 |

1 JOHDANTO

Patologialla eli tautiopilla tarkoitetaan oppia toiminnallisista ja rakenteellisista muutoksista sairauksissa solu-, kudus- ja elimistötasolla. Patologisten tutkimusten tärkeänä tehtävänä on sairauksien kuvaus ja tunnistaminen ja siksi se on monien sairauksien hoidon oleellinen perusta. (Mäkinen ym. 2012.) Työ patologian laboratoriossa voidaan jakaa kahteen osa-alueeseen, histologiaan ja sytologiaan. Histologian laboratoriossa tutkitaan kudoksenäytteitä ja sytologian laboratoriossa tutkitaan erilaisia kehon nesteitä esim. ysköstä. (Suomen Bioanalytikkoliitto, 2018)

Indusoidun ysköksen tutkiminen on tärkeä non-invasiivinen toimenpide hengitystietulehduksen tutkimismenetelmänä. Astman diagnosointi perustuu usein potilaan oireisiin ja keuhkojen toimintakokeisiin, mutta nämä kuvastavat kuitenkin huonosti taustalla olevaan pitkittynyttä hengitystietulehdusta ja sen voimakkuutta. Kaikille potilaille ei ole mahdollista spontaanin yskösnäytteen antaminen, jolloin näyte voidaan ottaa käyttämällä apuna ultraäänisumutinta ja lievästi hypetonista suolaliuosta. (Rytilä & Malmberg, 2003.)

Turun yliopistollisen keskussairaalan patologian osastolla on käytössä indusoidun ysköksen sytologinen tutkimus ja tämän opinnäytetyön tarkoituksena on luoda tälle tutkimukselle työohje laboratorioon näytteenkäsittelyä varten. Indusoidun ysköksen tutkimus on Tyksin patologialla uusi ja sillä on suora yhteys potilaiden hyvinvointiin ja hoitoon, jolloin aihe on ajankohtainen ja tärkeä. Opinnäytetyön lopputuloksena syntynyt työohje sisältää tietoa tutkimuksen taustasta, menetelmän periaatteesta, näytteen käsittelyn etenemisestä ja siihen tarvittavista välineistä ja reagensseista. Opinnäytetyön tavoitteena on laboratoriohoitajien ohjeistaminen oikeaoppisessa indusoidun ysköksen käsittelyssä ja työohjeen käyttöönotto Tyksin patologian laboratoriossa.

2 TEOREETTINEN TAUSTA

2.1 Indusoitu yskös

Yskös tarkoittaa hengitysteistä yskimisellä saatua suun kautta ulos tulevaa limaa tai märkää. Pelkkä suun sylki ei kelpaa näytteeksi, vaan ysköksen tulee olla syvältä hengitysteistä. (Duodecim 2018a) Kaikille potilaille ei ole kuitenkaan ole mahdollista spontaanin yskösnäytteen antaminen, jolloin näytteen indusointiin voidaan käyttää ultraäänisumutinta ja lievästi hypertonista suolaliuosta. Potilas hengittää ultraäänisumuttimella hienojakoista keittosuolaa, joka aiheuttaa ärsytystä hengitysteissä ja näin aiheuttaa yskärefleksin. Jotta indusoidun ysköksen näytteenotto olisi turvallista, se aloitetaan keuhkojen toimintakokein. Potilaalle annetaan keuhkoja avaavaa lääkettä, sillä keittosuolahöyryn hengittäminen voi aiheuttaa hengitysteiden lievää ahtautumista. Keuhkojen toiminnan seuraamista jatketaan koko toimenpiteen ajan keuhkojen toimintakokein. (Ryttilä & Malmberg, 2003, Weiszhar & Horvath 2013)

2.2 Tutkimuksen merkitys astman diagnostiikassa

Indusoidun ysköksen tutkiminen on hyödyllinen menetelmä hengitystietulehduksen diagnostiikassa. Astma on hengitysteiden limakalvon tulehdussairaus, joka pitkittyessään aiheuttaa keuhkoputkien vaihtelevaa ahtautumista siihen taipuvaisilla ihmisillä. Tulehdukselliselle astmalle tunnuksenomaista on eosinofiilisten valkosolujen esiintyminen hengitysteiden limakalvossa, myös syöttösolujen ja lymfosyyttien määrä kasvaa. Astman diagnosointi perustuu usein potilaan oireisiin ja keuhkojen toimintakokeisiin, mutta nämä kuvastavat kuitenkin huonosti taustalla olevaan pitkittyntä hengitystietulehdusta ja sen voimakkuutta. Astmalle tyypilliset oireet ja eosinofiilinen hengitystietulehdus ovat väestössä kuitenkin paljon yleisempiä kuin toimintahäiriöinen astma.

Hengitystietulehduksen tutkiminen auttaa potilasta hoitavaa lääkärinä lievän astman, pitkittyneen yskän ja keuhkohtaumataudin diagnostiikassa, hoidon tehon arvioinnissa ja mahdollisesti hoidon suunnittelussa. (Ryttilä & Malmberg 2003, Tykslab ohjekirja 2018, Duodecim 2018b)

2.3 Työohje

Hyvin suunniteltu ja toteutettu työohje on tärkeä apuväline erilaisten työtehtävien suorituksessa. Työohjeen kirjoittamisessa tulee huomioida kohdeyleisö, jotta siitä tulee selkeä ja käytännöllinen. Työohjeen tarkoitus on välittää tietoa ja ohjata lukijaa työnsuorituksessa. Työohjeen tulee sisältää kaikki työn suorittamiseen tarvittava tieto ja sen tulee olla tarpeeksi yksityiskohtainen, jotta työohjeen avulla saataisiin virheiden ja väärinkäsitysten mahdollisuus minimoitua. Työohjeen tulee olla helposti saatavilla ja sen tulee olla päivitetty ajanmukaiseksi. (Highet, 2002)

Hyvä työohje on yksiselitteinen, kattava ja loogisesti etenevä. Se seuraa mallipohjaltaan muita työorganisaation työohjeita, jolloin lukija löytää tarvittavan tiedon nopeasti ja vaivattomasti. Työohjetta tulisi kokeilla ennen ohjeen käyttöönottoa, jotta se voidaan todeta luotettavaksi ja toimivaksi. (Highet, 2008)

2.4 Näytteen käsittely laboratoriossa

Näytteitä käsitellään aina huolellisesti, turvallisesti ja yleisestä siisteydestä huolehtien. Näytteiden käsittelyssä käytetään aina suojahanskoja ja näyte käsitellään vetokaapissa. (Tampereen yliopisto, 2018). Näyte lähetetään laboratorioon fiksoimattomana, jotta näytteen käsittely voidaan aloittaa mahdollisimman nopeasti. (Tykslab ohjekirja, 2018) Näytettä voidaan käsitellä kahdella eri tavalla. Näytteen käsittelytapa riippuu siitä, käytetäänkö näytemateriaalina yskösnäytettä kokonaisuudessaan vai analysoidaanko näytteestä eroteltuja ysköshippuja. Yskös näyttää petrimaljalta eroteltaessa kiinteältä ja samealta (Kuva 1.) Näytteestä pyritään erottelamaan syljen seasta yskös, jotta syljen mukana tuleva levyepiteeli saataisiin mahdollisimman hyvin eroteltua näytteestä. Eroteltu yskösnäyte punnitaan ja näytemäärä kirjataan ylös.

Jos näytettä käsitellään kokonaisuudessaan ilman erotteluvaihetta, tulee koko näyte kaataa valmiiksi punnittuun asiaan ja punnita tämän jälkeen näytemäärä. Tämän jälkeen tutkimus etenee samantyyppisesti kuin eroteltu yskösnäyte. (Weiszhar & Horvath 2013)



Kuva 1. Yskösnäyte petrimaljalla.

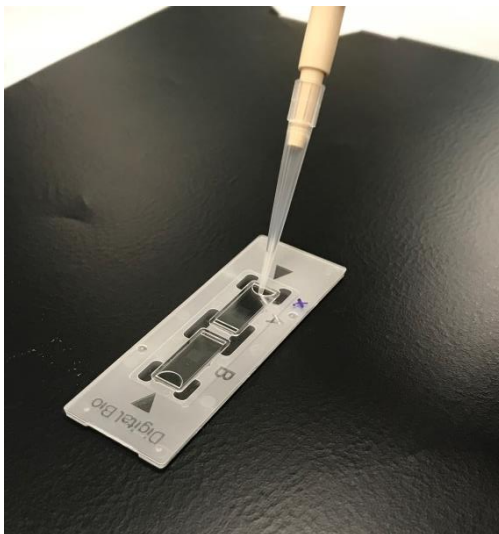
Yskösnäytteeseen lisätään limaa pilkkovaa ainetta (esim. Sputolysiini), jotta ysköksen solut ja solunulkoiset liukoiset proteiinit saadaan erilleen (Kuva 2.) Näyte suodatetaan (esim. pipetin avulla) 48 μm nailonverkon läpi uuteen näyteastiaan (Kuva 3) ja suodatetusta näytteestä lasketaan kokonaissolumäärä laskentakammiossa (Kuva 4). (Rytilä & Malmberg 2003, Weiszhar & Horvath 2013)



Kuva 2. Sputolysin lisäminen yskösnäytteeseen.



Kuva 3. Yskösnäytteen suodatus nailonverkon läpi.



Kuva 4. Näytteen pipetointi Bürkerin kammioon.

Suodatettua yskösnäytettä ja käytössä olevaa puskuriliuosta lisätään objektilasilla varustettuun Cytotek-näytekyvetin kammioon (Kuva 4). Näytekyvetti sentrifugoidaan Cytotek-sytosentrifugilla (Kuva 5) jolloin solut sentrifugoidaan suoraan lasille. (Rytilä & Malmberg 2003, Weiszhar & Horvath 2013)

Näytelasi värjätään May-Grunwald-Giemsa-menetelmällä. May-Grunwald-liuoksen happan eosiini ja emäksinen metyleeninsininen värjäävät solujen happamat tumarakenteet siniseksi ja basofiillisen sytoplasman pinkkiin taittavan punaiseksi. Giemsa-liuoksen atsuuriväri syventää tumaväriin voimakkuutta ja tehostaa solurakenteiden kontrastia ((Rytilä & Malmberg 2003, Weiszhar & Horvath 2013, Reagen Oy 2018, DJBlabcare 2018))



Kuva 5. Kertakäyttöinen Cytotek-näytekyvetti (x2).

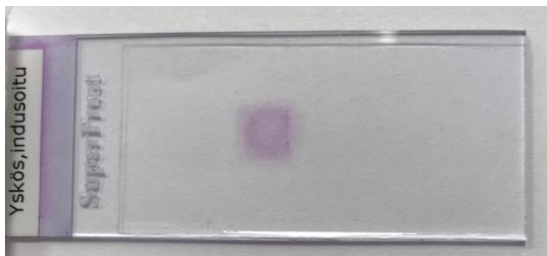


Kuva 6. Cytotek-sytosentrifugi.

2.5 Erittelylaskenta ja tulosten tulkinta

Erittelylaskenta on hyvin validoitu tutkimusmenetelmä ysköksen mikroskooppisessa tutkimuksessa. Erittelylaskennassa May-Grünwald-Giemsa-värjätystä näytelasilta (Kuva 7) lasketaan solujakauma prosentteina sekä levyepiteelin määrä laskettuja soluja kohti. Solujakauman laskettaviin solukategorioihin kuuluu makrofagit, neutrofiilit, eosinofiilit, lymfosyytit ja lieriöepiteeli (Kuva 8). Levyepiteelin määrä lasketaan erikseen ja sen määrällä arvioidaan näytteen laatua ja suun syljen kontaminaation määrää. (Rytilä & Malmberg 2003, Weiszhar & Horvath 2013)

Näyte voidaan tulkita huonolaatuiseksi, jos levyepiteeliä on solujakauman lasketulla alueella yli 20 %. Näytteen edustavuutta voidaan arvioida makrofagien esiintymisellä näytteessä. Jos yskösnäyte on saatu tarpeeksi syvältä hengitysteistä, näytteestä löytyy makrofageja. Normaalisti yskösnäytteen erittelylaskennassa eosinofiilejä on vain n. 3%, mutta astmatulehduksessa eosinofiilisten solujen esiintyminen on tyypillistä ja niiden määrä kasvaa huomattavasti. Myös lymfosyyttien ja syöttösolujen määrä lisääntyy astmatulehduksen yhteydessä. (Weiszhar & Horvath 2013)



Kuva 7. May-Grünwald-Giemsa-värjätty näytelasi.

| | |
|---------------------------------------|----------------------|
| Totaalisolumäärä (milj./l): | |
| Solujakauma | |
| | Makrofagit (%): |
| | Lymfosyytit (%): |
| | Neutrofiilit (%): |
| | Eosinofiilit (%): |
| | Lieriöepiteeli (%): |
| | Levyepiteeli (kpl) : |
| Näytteen laatu (levyep. / 200solua): | |
| Näytteen edustavuus: | |

Kuva 8. Erittelylaskennan tulostaulukko.

3 OPINNÄYTETYÖN TAVOITTEET JA TARKOITUS

Opinnäytetyön tarkoituksena oli laatia selkeä ja yksityiskohtainen työohje Turun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorioon indusoidun ysköksen käsittelyyn. Työohjeen tarkoituksena oli kuvailla tutkimusmenetelmän taustaa, ohjata näytteenkäsittelyprosessissa ja sisältää tiedon kaikista näytteen käsittelyyn tarvittavista välineistä ja reagensseista. Opinnäytetyön tekemisestä oli hyötyä sekä opinnäytetyön tekijälle että toimeksiantajalle.

Opinnäytetyön tavoitteena oli työnsuorituksen ohjaaminen ja opinnäytetyön lopputuloksena syntyneen kirjallisen työohjeen käyttöönotto Tyksin patologian laboratoriossa. Työohjeen avulla laboratoriohenkilökunta pystyy suorittamaan tutkimuksen yhdenmukaisesti, joka lisää tutkimuksen laatua ja luotettavuutta.

4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

4.1 Opinnäytetyön toteutus

Aihetta opinnäytetyölle ehdotettiin Turun yliopistollisen keskussairaalan patologian laboratoriolta. Toimeksianto päätettiin ottaa vastaan, sillä aiheen todettiin olevan ajankohtainen ja hyödyllinen sekä opinnäytetyön tekijälle että toimeksiantajalle. Opinnäytetyölle laadittiin toimeksiantosopimus syksyllä 2018. Opinnäytetyö on osa Turun Ammattikorkeakoulun bioanalyttikko koulutuksen käynnissä olevaa Työelämäyhteistyön ja koulutuksen kehittäminen bioanalyttikkokoulutuksessa -hanketta. Opinnäytetyölle laadittiin tutkimussuunnitelma, jonka hyväksymisen jälkeen opinnäytetyön kirjoittaminen aloitettiin.

Opinnäytetyön tekeminen aloitettiin keräämällä tietoperustaa aiheesta työhjeen tekemistä varten. Toimeksiantajalta saatiin ohjeistusta ja mallipohja työhjeelle. Lähteinä käytetty materiaali koostui suurimmaksi osaksi Turun kaupungin kirjastosta ja internetistä kerätystä materiaalista. Käytetty aineisto koostuu pääasiallisesti suomenkielisestä tai englanninkielisestä kirjallisuudesta tai artikkeleista. Valmis työhje hyväksyttiin toimeksiantajalla ja sen jälkeen aloitettiin opinnäytetyöraportin kirjoittaminen. Opinnäytetyön tekeminen ei aiheuttanut kustannuksia toimeksiantajalle.

4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Toiminnallinen opinnäytetyö on vaihtoehto ammattikorkeakoulun tutkimukselliselle opinnäytetyölle. Toiminnallisen opinnäytetyön tavoitteena on materiaali, jonka pääasiallinen tarkoitus on käytännön toiminnan ohjaus ja kehittäminen ammatillisessa ympäristössä. Opinnäytetyötä tehtäessä tulisi pyrkiä työelämälähtöiseen, käytännönläheiseen ja riittävällä tasolla alan tietoa ja taitoa osoittavaan lopputulokseen. Toiminnallisen opinnäytetyön lopputuloksena voi syntyä esimerkiksi ammatillisessa ympäristössä käytettävä perehdytysmateriaali tai turvallisuusohjeistus. Toiminnallinen opinnäytetyö rakentuu käytännön toteutuksesta sekä sen raportoinnista tutkimusviestinnän keinoin. (Vilka & Airaksinen 2003, Turun Ammattikorkeakoulu 2018)

Tämä opinnäytetyö on toiminnallinen, sillä sen lopputuotos on työhohje, jonka tarkoitus on opastaa laboratorion henkilökuntaa näytteenkäsittelyssä. Opinnäytetyö sisälsi käytännöntoteutuksena suoritettua työhohjeen laadinnan ja sen raportoinnin.

4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Opinnäytetyön teossa noudatetaan hyviä tieteellisiä ja eettisiä käytäntöjä. Opinnäytetyössä käytettävien lähteiden valinnassa huolehditaan, että ne ovat luotettavia ja laadukkaita. Lähteet merkitään opinnäytetyöhön selkeästi ja tekijänoikeuksia kunnioittaen opinnäytetyössä ei plagioida alkuperäistekstiä käytetyistä lähteistä. Lähteiden valinnassa pyritään käyttämään harkintaa ja valitsemaan lähteeksi vain luotettavia ja uskottavia lähteitä. Opinnäytetyön teossa tulee huomioida sen mahdollinen vaikutus potilaan hoitoon ja hyvinvointiin. (Leino-Kilpi & Välimäki 2014, Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, Hirsijärvi ym. 2009)

Opinnäytetyölle laadittiin tutkimussuunnitelma ja työn tekeminen aloitettiin vasta sen hyväksytyä. Tässä opinnäytetyössä käytettiin potilasnäytteitä indusoidun ysköksen käsittelyn havainnointiin, mutta potilastietoja eikä näytteen alkuperäistä kuvaa ilmii, jolloin potilaan tietosuoja säilyy.

5 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda selkeä ja kattava työohje indusoidun näytteen käsittelystä ja työohjeen käyttöönotto Tyksin patologian laboratoriossa. Aihe opinnäytetyölle saatiin Tyksin patologian laboratoriolta. Aihe otettiin vastaan, sillä aihe oli mielenkiintoinen ja opinnäytetyön koettiin olevan hyödyllinen sekä toimeksiantajalle että opinnäytetyön tekijälle. Opinnäytetyön aihe ajateltiin myös tärkeäksi, sillä se kehittää patologian laboratoriohoitajien ammattiosaamista ja sitä kautta vaikuttaa potilaan hoitoon. Toimeksiannon saaminen Tyksin patologian osastolta loi myös mahdollisuuden yhteistyöhön laboratoriohoitajien ja sairaalabiologin kanssa työyhteisössä.

Työohjeen oli tarkoitus olla rakenteeltaan selkeä, ymmärrettävä ja sen oli suunniteltu etenevän loogisesti. Työohjeesta oli tarkoitus tulla hyvin yksityiskohtainen, jotta mahdollisimman vähän sen sisällöstä jäisi tulkinnan varaan. Näin pidettäisiin huolta siitä, että kaikki laboratoriohoitajat toimisivat yhdenmukaisesti. Laaditun työohjeen toimivuutta kokeiltiin laboratoriossa ja annetun palautteen perusteella ohjetta muokattiin paremmaksi. Haastavaksi opinnäytetyön tekemisessä koettiin pysyminen suunnitellussa aikataulussa, sillä työohjeella oli kova tarve laboratoriossa ja valmista työohjetta toivottiin melko nopealla aikataululla. Myös ysköksen indusointia koskevan suomenkielisen kirjallisuuden löytäminen oli hieman hankalaa, mutta onneksi aiheesta oli enemmän vieraskielistä kirjallisuutta.

Työohjeesta tuli sopivan pituinen ja se vastasi pitkälti alkuperäistä suunnitelmaa. Työohje sisältää tietoa tutkimuksen lääketieteellisestä taustasta, lyhyen kuvauksen tutkimusmenetelmän periaatteesta, yksityiskohtaisen kuvauksen työn suorituksesta laboratoriossa ja siihen on listattu kaikki tutkimuksessa käytettävät välineet ja reagenssit. Työohjeeseen päätettiin olla laittamatta valokuvia, sillä työohje haluttiin pitää samankaltaisena kuin muutkin patologian laboratorion työohjeet. Opinnäytetyöraporttiin lisättiin kuitenkin tekstin tueksi valokuvia havainnollistamaan näytteen kulkuprosessia.

Kaiken kaikkiaan opinnäytetyöprosessi oli hyvin ammattitaitoa kehittävä kokonaisuus. Opinnäytetyölle annettuihin tavoitteisiin päästiin ja opinnäytetyön lopputuotoksena muodostunut työohje otettiin käyttöön Tyksin patologian laboratoriossa.

Mahdollisia jatkotutkimusaiheita opinnäytetyölle voisi olla työn käsittelyä kuvaava videomateriaali tai mikroskooppikuvia sisältävä kirjallinen tulkintaohje indusoiduille yskösnäytteille.

LÄHTEET

- Djblabcare 2018. Cyto-Tek Cyto Centrifuge. Viitattu 1.10.2018
https://www.djblabcare.co.uk/djb/product/2060/Centrifuges-4323-Cyto_Tek_Cyto_Centrifuge
- Duodecim 2018a. Sytologia. Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 6.9.2018
<http://www.terveysportti.fi> > Lääketieteen termit (Terveysportti) > Yskös
- Duodecim 2018b. Astma. Kustannus Oy Duodecim. Viitattu. 23.9.2018
https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00009
- Hamid, Q.; Kelly, M.M.; Linden, M.; Louis, R.; Pizzichini, M.M.M.; Pizzichini, E.; Ronchi, C.; Van Overveld, F. & Djukanović, R. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. 2002. European Respiratory Journal. Vol 20
- Highet, D. 2006. Work Instructions – How to Develop Effective Work Instructions. Viitattu 3.10.2018
http://www.grizmo.com/management_news_200607.html
- Highet, D. 2008. Work Instructions that work. Viitattu 3.10.2018
http://www.grizmo.com/management_news_200810.html
- Hirsijärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita.15., uudistettu painos. Kariston Kirjapaino Oy.
- Leino-Kilpi, H. & Välimäki, M. 2014. Etiikka hoitotyössä. 8. uudistettu painos. Sanoma Pro Oy.
- Mäkinen, M.; Carpen, O.; Kosma, V-M.; Lehto, V-P.; Paavonen, T. & Stenbäck, F. 2012. Patologia. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Reagena Oy. 2018. Patologian värjäysliuokset ja fiksatiivit. Viitattu 20.11.2018
<https://reagena.com/fi/tuotteet/diagnostiikka/varjaysliuokset/patologia/#MGG>
- Ryttilä, P. & Malmberg, P. 2003. Astmatulehduksen uudet noninvasiiviset tutkimukset. Duodecim-lehti.
- Suomen bioanalyttikoliitto ry. 2018. Kliininen histologia ja sytologia. Viitattu 7.5.2018.
<https://www.bioanalyttikoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalyttikko/bioanalyttikon-koulutus/erikoisalut/kliininen-histologia-ja-sytologi/>
- Tampereen yliopisto. 2018. Laboratorioturvallisuus. Viitattu 27.11.2018.
<http://www.uta.fi/las/opiskelunopas/laboratorioturvallisuus>
- Turun Ammattikorkeakoulu 2018. Opinnäytetyön lajit. Viitattu 6.2.2018. www.messi.turkuamk.fi > opiskelu > opinnäytetyö > opinnäytetyön lajit
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Viitattu 3.10.2018
http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf
- Tykslab ohjekirja 2018. Indusoitu yskös. Viitattu. 3.10.2018.
<http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/#>
- Vlachos-Mayer, H., Leigh, R., Sharon, RF., Hussack, P., Hargreave, FE. Success and safety of sputum induction in the clinical setting. 2000.
- Weiszhar, Z. & Horvath, I. 2013. Induced sputum analysis: step by step. Breathe Vol 9: 300-306.

Tyks laboratoriotolmialue, Patologia

Indusoitu yskös

144}

Versio: 2

Laatinut: 23.5.2018 Reetta Takatupa, Saara Hämälistö

Hyväksynyt: 1.10.2018 Heikki Aho

Päivittynyt: 1.10.2018 Nina Nieminen

1. MENETELMÄN PERIAATE

Potilas antaa keuhko-osastolla yskösnäytteen hengittämällä lääkesumuttimella lievästi hypertoniasta suolaliuosta. Potilasta yskitetään tilanteesta riippuen 1-3 kertaa käyttäen joko ns. 'herkän potilaan' protokollaa tai standardiprotokollaa. Tutkimushuoneen/osaston puh. 53369 ja vain tutkimuspäivinä on indusoidun ysköksen tekijä paikalla. Tämän jälkeen tuore fiksoimaton näyte tuodaan välittömästi laboratorioon. Näyte pitää prosessoida mahdollisimman pian oton jälkeen (tunnin sisällä) ja sitä säilytetään +4 °C käsittelyyn saakka. Näytteestä erotetaan pinseteillä syljen seasta leadukas yskös, joka sitten käsitellään limaa pilkkovalla aineella (Sputolysiini) ja suodatetaan nailonverkon läpi. Suodoksesta lasketaan kokonaissolumäärä Bürkerin kammiossa ja valmistetaan eosuentrifuginäyte MGG-värjäykseen erittelylaskentaa varten.

2. LÄÄKETIETEELLINEN TAUSTA

Indusoitu yskös on noninvasiivinen menetelmä, jota voidaan käyttää hengitystietulehduksen diagnostiikkaan. Indusoinnin avulla saadaan yskösnäyte alemmista hengitystiestä potilalta, jotka eivät kykene antamaan spontaania yskösnäytettä. Normaalisti alateistä saadussa ysköksessä on paljon makrofageja ja neutrofiileja ja vähemmän lymfosyyttejä ja lieriöepiteelisoluja. Astmatulehdukselle tyypillistä on runsas eosinofiilisten valkosolujen esiintyminen. Indusoidun ysköksen tutkimisesta voi olla apua lievän astman, pitkittyneen yskän ja keuhkoahautautaudin diagnostiikassa.

3. NÄYTTEEN KÄSITTELY

Näyte käsitellään vetokaapissa. Näytteen käsittelyssä tulee aina käyttää suojakäsineitä. Näyte tulee käsitellä mahdollisimman nopeasti, koska sitä ei ole fiksoitu. Käsittelyn jälkeen vetokaapin pinnat puhdistetaan kloriililla ja 70% alkoholeilla. Työn suorituksen jälkeen loput näytteestä laetaan jääkaappiin.

1. Näytteen lähettävä osasto ilmoittaa näytteenoton ajankohdasta viimeistään edellisenä päivänä. Näytepurkit (1-3) tuodaan laboratorioon tavallisella henkilötietofarralla sekä juoksevilla numerolla merkittynä, jossa ne kirjataan saapuneeksi. Näytteen mukana tuleva paperilähete skannataan läheteeseen. Ajalta näytteen käsittely mahdollisimman pian; jos se ei ole mahdollista, aloita käsittely kuitenkin viimeistään ½-1 tunnin sisällä näytteen olostä (säilytä näytettä +4°C siihen saakka).
2. Kaada yskös näytepurkista mustalla alustalla olevalle petrimaljalle (Ø 10 cm) ja erottele näytteestä sylki pölmimalla pinseteillä (tai käyttämällä Pasteur-pipettiä) yskös valmiiksi punnittuun 30 ml näytepurkkiin. Kerättävä yskös näytetään petrimaljalla kiinteältä ja usein

Tyks laboratoriotolmualue, Patologia

Indusoitu yksäs

2(4)

Versio: 2

Laatinut: 23.5.2018 Reetta Takatupa, Saara Hämälistö

Hyväksynyt: 1.10.2018 Heikki Aho

Päivittänyt: 1.10.2018 Nina Nieminen

samaalta, vaihtomainen sylki jätetään keräämättä. Kerättävä näytemäärä on 100-1000 mg, yleensä n. 500 mg. Punnitse ja kirjaa näytemäärä ylös.

3. Tee sputolysiinipullon kumikorkkiin ilmareikä 23G neulalla, käännä pullo ylösalaisin, jotta saat sputolysiinin helposti ruiskun avulla näytepurkkiin. Jos näytettä jää nestepinnan yläpuolelle purkin seinämiin, spaattelln avulla voi työntää näytteen purkin pohjalle.
 - Jos näytemäärä on 250 mg tai enemmän, lisää näytteeseen 1 ml sputolysiiniä ja 1 ml aquaa
 - Jos näytemäärä on alle 250 mg, lisää näytteeseen 0,5 ml sputolysiiniä ja 0,5 ml aquaa
4. Aseta näyte sekoittumaan tasosekoittimeen 130 rpm nopeuteen tai tarvittaessa enemmän, kunnes näyte hajoaa ja samenee (n.30 min).
5. Suodata näyte varovasti pipetillä 48 µm nailonverkon (valmiiksi leikatut palaset) läpi 10 ml kartloputkeen. Ota seelua suodosta 50 µl eppendorf-putkeen, sekota näytettä mikserissä ja vie se/soita esitarkastajalle kokonaissolumäärän laskemista varten.

Kokonaissolumäärän laskeminen

 - Kokonaissolumäärä lasketaan Bürkerin kammiossa (koko kammiio + 1 A-ruutu). Kaikki solut lasketaan **lukuunottamatta levy- ja lieriöepiteelisoluja**.
6. Näytteestä tehdään 2 cytoteck-näytelasia (näytelasi + varelasi) 1 ml kertakäyttöiseen kyvetiin+filteripaperiin jossa on pieni neliö. Aseta näytenumeroilla varustetut objektilasit cytoteck-näytekyvetiin.
 - Jos kokonaissolumäärä on yli 250x10⁹/l, lisää kyvetiin 50 µl näytettä ja 450 µl PBS-puskuria
 - Jos kokonaissolumäärä on alle 250x10⁹/l, lisää kyvetiin 150 µl näytettä ja 350 µl PBS-puskuria
 - Jos kokonaissolumäärä on hyvin pieni (alle 10x10⁹/l), lisää kyvetiin 300 µl näytettä ja 200 µl PBS-puskuria

Eli molemmille laselle yhteensä 500 µl nestettä. Näin saadaan sopiva määrä laskettavia soluja näytelasille.
7. Sentrifugoi 1000 rpm x 10 min. Anna näytteen kylvua noin 30 minuuttia, kunnes ne ovat kuivia.

Tyks laboratoriotuotantialue, Patologia

Indusoitu yksös

314}

Versio: 2

Laatinut: 23.5.2018 Reetta Takatupa, Saara Hämälistö

Hyväksynyt: 1.10.2018 Helkki Aho

Päivittänyt: 1.10.2018 Nina Nieminen

8. Lisää näytelasi värjäysautomaattiin MGG-värjäykseen ja laita varalasi talteen niille sovittuun paikkaan. Anna näytelasin kuvua ja päälyystä kulva lasi Pentax:llä.

Erittelylaskenta

- Erittelylaskennassa näytelasilta lasketaan solujakauma prosentteina 200:n solun alueelta (Laskettavat kategoriat: Makrofagit, Neutrofiilit, Eosinofiilit, Lymfosyytit ja Lierlöepiteeli) sekä levyepiteelin määrä askettuja soluja kohhti. Tulokset merkitään QPatissa olevaan tämän tutkimuksen kohdalla olevaan taulukkoon.
- Lopullisen lausunnon näytteestä antaa patologi

NÄYTTEEN EDUSTAVUUS

Näytteen edustavuus voidaan määrittellä makrofagien esiintymisellä näytteessä. Jos näytteestä löytyy makrofageja, näyte on edustava. Jos ei, niin näyte luokitellaan epäedustavaksi.

NÄYTTEEN LAATU:

Näytteen laatu määritelly diagnostisten solujen määrässä suhteessa levyepiteelin määrään. Levyepiteelin esiintymisellä näytteessä voidaan arvioida, miten paljon näytteestä on suun syjen kontaminaatiota.

- Hyvä <50
- Kohtalainen 50-100
- Välttävä >100

4. VÄLINEET JA LAITTEET

- Kertakäyttökäsineet
- Kertakäyttöpipetti
- 30 ml kannellinen näytepurkki
- Petrimalja
- Finnpipetti ja kertakäyttökärjet
- Pinsetit (koukkupäiset sekä latteat)
- Musta alusta

Tyks laboratoriotoinialue, Patologia

Indusoitu yskös

4(4)

Versio: 2

Laatinut: 23.5.2018 Reetta Takatupa, Saara Hämälstö

Hyväksynyt: 1.10.2018 Heikki Aho

Päivittänyt: 1.10.2018 Nina Nieminen

-
- Vaaka
 - Spaatteli
 - 23 G neula
 - 1 ml ruisku
 - Tasosekoitin
 - 48 µm nylonverkkoa
 - 10 ml kartioputki
 - Eppendorff-putki
 - Vortex-mikseri
 - Bürkerin kammio
 - Mikroskooppi
 - Solulaskin
 - Objektilaseja
 - Cytotek-näytekyvetti
 - Cytotek-solusentrifuugi

5. REAGENSIT

- Dulbecco's phosphate-buffered saline (PBS), without Calcium and Magnesium (Gibco)
- Sputolysin reagent (Merck, 560000)