

Noora Jussila

BAL-näytteen valmistustekniikan kehittäminen ja yhdenmukaistaminen

HUSLABin patologian laboratoriossa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka (AMK)

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

2.12.2016

Tekijä Otsikko	Noora Jussila BAL-näytteen valmistustekniikan kehittäminen ja yhdenmu- kaistaminen patologian laboratoriossa
Sivumäärä Aika	37 sivua + 3 liitettä 2.12.2016
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaajat	Tuotantopäällikkö Olayinka Raheem Laboratoriohoitaja Laura Lepola Laboratoriohoitaja Suvi Majjala Erikoislaboratoriohoitaja Leena Sulka Lehtori Heidi Malava
<p>Bronkoalveolaarinen huuhtelu (BAL) on menetelmä, jolla saadaan tutkittavaksi keuhkoputkien ja -rakkuloiden soluja. Huuhtelunäytteitä otetaan bronkoskopian eli keuhkoputken tähystyksen yhteydessä, jolloin huuhtelusuihku voidaan suunnata suoraan epäiltyyn kohteeseen. BAL-näytteillä on tärkeä rooli keuhkosairauksien diagnosoinnissa ja niitä epäiltäessä.</p> <p>Meilahden patologian laboratorion aikaisempi BAL-näytteiden valmistustekniikka koettiin liian työläänä ja se poikkesi muiden HUSLABin patologian laboratorioden käyttämistä tekniikoista. Hyvinkään ja Jorvin patologian laboratorioissa käytettiin menetelmiä, joissa oli vähemmän välivaiheita. Tässä opinnäytetyössä vertailtiin Meilahden, Jorvin ja Hyvinkään patologian laboratorioden BAL-työohjeita sekä sitä, vaikuttivatko pesuvaiheen poisjättäminen ja säilyttäminen elatusaineessa BAL-näytteiden laatuun. 19 potilasnäytteestä tehtiin versiot pesuvaiheella ja ilman sekä erimittaisten säilytysaikojen jälkeen.</p> <p>Pesun kanssa ja ilman pesua valmistetuissa näytteissä ei ollut merkittäviä eroja mikroskoopilla tarkasteltaessa. Valkosolujen erittelylaskennan olisi pystynyt tekemään molemmista. Eri valkosolujen suhteiden muutoksia ei tutkittu tässä työssä. Yhden ja kolmen vuorokauden elatusaineessa säilyttämisen jälkeen näytteet olivat edelleen niin hyviä, että erittelylaskennan olisi pystynyt suorittamaan. Mitä kauemmin näytettä säilytettiin, sitä enemmän soluissa näkyi kuivumista ja hajoamista.</p> <p>Työohjeesta päädyttiin jättämään pesuvaihe pois. Tulokset antoivat myös viitteitä, että tarvittaessa näytteen voi jättää jääkaappiin yön tai viikonlopun yli ja tehdä sen vasta seuraavana työpäivänä.</p>	
Avainsanat	BAL, bronkoalveolaarinen lavaatio, keuhkohuuhtelu, keuhkojen sytologia, keuhkohuuhteluneste

Author Title	Noora Jussila Development and harmonization of BAL preparation technique in pathology laboratory
Number of Pages Date	37 pages + 3 appendices 2 December 2016
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Olayinka Raheem, production manager Laura Lepola, biomedical laboratory scientist Suvi Majjala, biomedical laboratory scientist Leena Sulka, biomedical laboratory scientist Heidi Malava, lecturer
<p>Bronchoalveolaric lavation (abbreviation BAL) is a method for surveying cells from bronchus and alveoli. Lavation samples are collected during bronchoscopy or bronchial endoscopy, when the lavation douche can be angled directly to suspected target. BAL-samples have an important role in suspecting and diagnosing lung diseases.</p> <p>The previous method for preparing BAL-samples exercised in Meilahti pathology laboratory was experienced too laborious. It diverged from techniques exercised in other pathology laboratories. In Hyvinkää and Jorvi pathology laboratories BAL-samples were made with fewer stages. In this thesis BAL-instructions used in Meilahti, Jorvi and Hyvinkää pathology laboratories were compared. Additionally, was examined if leaving out the washing stages and storing in sustenance matter have an effect in the quality of BAL-samples. Versions with and without the washing stage and a durability examination of 19 patient samples were made.</p> <p>Samples made with and without washing seemed not to have any significant differences. Leucocyte count could have been made from both samples. Changes in different leucocyte relations were not studied in this work. After one and three days storing in sustenance matter the samples were still so good, that the leucocyte count could have been still performed. The longer the samples were stored, the more was there to be seen drying and degeneration of the leucocytes.</p> <p>The washing stage was decided to leave out of the method instructions. The results also gave hints that if needed, BAL-sample could be left in the refrigerator overnight or over weekend and prepared the next day. Mutations in the leucocyte relations was not inspected.</p>	
Keywords	BAL, bronchoalveolaric lavation, lung cytology

Sisälllys

1	Johdanto	1
2	Työn tarkoitus, tavoite ja tutkimuskysymykset	1
3	Opinnäytetyön prosessi	2
4	Bronkoalveolaarinen lavaationäyte	4
4.1	Indikaatiot	5
4.2	Näytteen ottaminen	7
4.3	Diagnostiikka	9
5	BAL- näytteen valmistustekniikat	15
5.1	Meilahden patologian laboratorion BAL-työohje	16
5.2	Jorvin patologian laboratorion BAL-työohje	17
5.3	Hyvinkään patologian laboratorion BAL-työohje	18
6	Työn toteutus	18
6.1	BAL-näytteen valmistaminen ilman pesuja	21
6.2	Sentrifugoitujen BAL-näytteiden valmistaminen heti, yön jälkeen ja viikonlopun jälkeen	22
7	Tulokset ja tulosten tarkastelu	26
7.1	Pesuvaiheen vaikutus BAL-näytteen laatuun	27
7.2	Elatusaineessa säilyttämisen vaikutus BAL-näytteen laatuun	29
8	Pohdinta	31
8.1	Opinnäytetyön hyödyntäminen	31
8.2	Jatkoehdotuksia	32
8.3	Eettisyys	32
8.4	Luotettavuus	33
9	Työn julkistaminen	34
	Lähteet	35
	Liitteet	
	Liite 1. Näytteiden kirjaamistaulukko	
	Liite 2. Näytteiden tarkastelun tulokset	
	Liite 3. Sanastoa	

1 Johdanto

Bronkoalveolaarinen lavaatio- eli BAL-näyte on keuhkoputken tähystyksen eli bronkoskopian yhteydessä kerättyä huuhtelunestettä, joka antaa tietoa keuhkorakkuloiden ja alempien keuhkoputkien haarojen soluista ja niiden muutoksista. BAL-näytteillä on tärkeä rooli keuhkosairauksien diagnosoinnissa ja niitä epäiltäessä. (Randell – Koskela 2014: 71.)

Meilahden patologian laboratoriollla oli tarve saada bronkoalveolaaristen lavaationäytteidien sytologista tutkimusta kehitettyä ja yhdenmukaistettua muiden vastualueen yksiköiden kanssa. HUSLABin patologian laboratorioissa oli käytössä erilaisia ohjeituksia BAL-näytteiden tekemisestä. Käytössä oleva menetelmä koettiin liian työlääksi ja se poikkesi muista vastualueen laboratorioden valmistustekniikoista.

Ei ollut selvää, ovatko näytteet laadukkaampia ylimääräisten työvaiheiden ansiosta. Vaihtoehtoisia menetelmiä piti testata ja tuloksia verrata. Tarkoituksena oli luoda uusi työohje, joka otettaisiin käyttöön kaikissa vastualueen yksiköissä.

Työ vaati aluksi tiedonhakua ja tietoperustan rakentamista. Lukijalle on selvennettävä termejä ja käsitteitä. Työhön kuului myös käytännön toteutuksen osuus, joka piti sisälään vaihtoehtoisen valmistustekniikan kokeilemisen ja säilytyksen vaikutusten havainnoimisen Meilahden patologian laboratoriossa.

Opinnäytetyön tuloksia voidaan hyödyntää kehittäessä BAL-näytteen tutkimusprosessia patologian laboratoriossa. Heille jää käyttöönsä opinnäytetyöni kirjallinen raportti, jonka avulla he voivat halutessaan perustella mahdollisia muutoksia käytännössään.

2 Työn tarkoitus, tavoite ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyöni tarkoituksena oli verrata eri ohjeilla tehtyjen BAL-näytteiden laatua. Keuhkoputken tähystyksessä käyneiden potilaiden huuhtelunäytteitä valmistettiin eri tekniikoilla ja vertailtiin saatuja tuloksia. Tarkoituksena oli selvittää, pysyykö näytteiden laatu samalla tasolla, vaikka ne valmistettaisiin ilman pesuja. Meilahden patologian laboratorion BAL-työohjeeseen sisältyi pesuvaihe. BAL-näytteistä tehtiin rinnakkaisia

näytteitä, joista kaksi valmistettiin heti, toinen pesun kanssa ja toinen ilman. Pestystä näytteestä tehtiin näytteet myös yön säilytyksen jälkeen ja viikonlopun säilytyksen jälkeen. Selvitettiin, oliko elatusaineessa säilyttämällä vaikutusta näytteiden valmistamiseen tai niiden tulkitsemiseen.

Tavoitteena oli saada tuloksia, joita Meilahden patologian laboratorio pystyy hyödyntämään. Pyrittiin saamaan selkeä vastaus, onko pesuvaiheen säilyttäminen näytteiden käsittelyohjeissa tarpeen, vai voiko sen ottaa pois näytteen silti pysyessä yhtä laadukkaana. Haluttiin myös selvittää, vaikuttaako säilyttäminen näytteiden laatuun. Tavoitteisiin kuului oppia BAL-näytteistä ja niiden valmistamisesta enemmän sekä pystyä hallitsemaan koko projekti sekä toteutus- että kirjoittamisnäkökulmasta.

Tutkimuskysymykset:

- Vaikuttavatko pesut BAL-näytteen laatuun; pystyykö valkosolujen erittelylaskennan tekemään myös ilman pesua valmistetusta näytteestä?
- Säilyykö BAL-näyte sentrifugoituna elatusaineessa yön ja viikonlopun yli; pystyykö näyte erittelylaskentakelpoisena säilytyksen jälkeen?

3 Opinnäytetyön prosessi

Opinnäytetyöprosessi alkoi 2015 syyslukukaudella (kuvio 1). Aihetta ideoitiin ja suunniteltiin syys-lokakuussa. Tiedustelin mahdollisuutta tehdä jokin patologiaan liittyvä opinnäytetyö. Ehdotettiin aihetta bronkoalveolaaristen lavaationäytteiden sytologisen tutkimuksen kehittämisestä. Meilahden patologian laboratorion ohjausryhmän kanssa tavattiin ensimmäisen kerran tammikuussa 2016, jolloin keskusteltiin aiheesta ja aikataulusta. Tapaamisessa käsiteltiin myös tulevaa patologian työharjoittelua heillä. Toisen kerran tavattiin maaliskuussa 2016, jolloin sovittiin käytännön työn ajoittuvan syyskuuhun, arvioitiin näytemäärää ja annettiin vinkkejä hyvästä lähdekirjallisuudesta. Opinnäytetyön aihe jäseneltiin tammi-helmikuussa 2016 ja suunnitelma tehtiin helmikuussa 2016. Tiedonhakuprosessi aloitettiin heti aiheen varmistuttua ja se jatkui prosessin loppumetreille saakka. Tietoa haettiin ja opinnäytetyön tietoperustaa rakennettiin internetin hakukoneiden ja viitetietokantojen avulla, alan kirjallisuudesta sekä ohjaajien suosittelujen perusteella.

Kesätöissä Meilahden patologian laboratorion histologisella puolella oli mahdollisuus hyödyntää laboratorion työntekijöiden osaamista ja tietoja myös opinnäytetyön kannalta. Tietoperustaa pystyttiin syventämään kesän aikana. Syyskuussa 2016 toteutettiin opinnäytetyön käytännön osuus patologian laboratoriossa. Syys-lokakuussa tulokset käsiteltiin ja kirjattiin opinnäytetyöhön. Valmis työ esiteltiin ja julkistettiin marras-joulukuussa 2016.



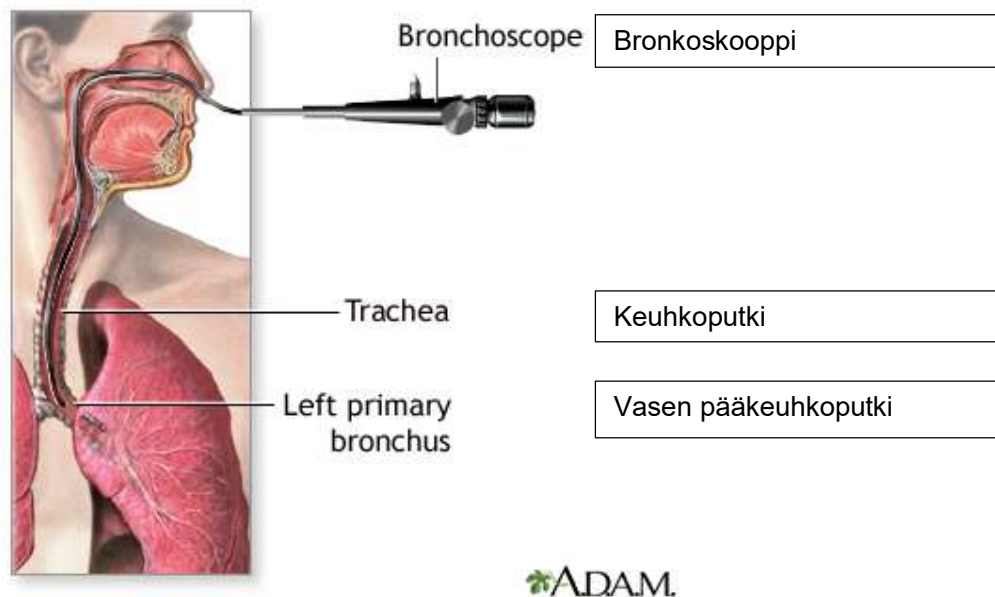
Kuvio 1. Opinnäytetyöprosessin vaiheiden aikataulu.

Työtä varten tarvittiin ohjaavan opettajan ja työelämän ohjaajien tukea. Aikaisempaa kokemusta opinnäytetyön suunnittelusta tai kirjoittamisesta ei ollut. Opettajan ohjaus oli tärkeässä roolissa, sillä hän oli ohjannut opinnäytetöitä aikaisemminkin ja tiesi, millainen hyvän opinnäytetyön tulisi olla. Opinnäyteprosessiin kuuluvissa työpajoissa ohjeistettiin kunkin vaiheen tärkeiden asioiden kanssa ja vastattiin projektiin liittyviin kysymyksiin. Työelämän ohjaajat tukivat käytännön työn toteuttamisessa ja toimivat aiheen asiantuntijoina. Heillä oli paljon kokemusta näytteiden valmistamisesta ja lisätietoa käytännön toiminnasta.

4 Bronkoalveolaarinen lavaationäyte

Bronkoalveolaarinen huuhtelu (lyhenne BAL) on menetelmä, jolla saadaan tutkittavaksi bronkuslimaa ja siinä esiintyviä soluja (Lyly 2012: 1200). Huuhtelunäytteitä otetaan keuhkoputkista joko pelkällä letkulla tai tähystyksen yhteydessä (kuvio 2), jolloin huuhtelusuihku voidaan suunnata suoraan epäiltyyn kohteeseen (Stenbäck – Klemi 2012: 1145).

BAL-näytteen ja imunäytteen ottaminen ovat vähiten kajoavia bronkoskopian yhteydessä (kuvio 2) tehtyjä näytteenottoja (Randell – Koskela 2014: 71). Sytologisten näytteiden otto kuuluu perustutkimuksiin esimerkiksi potilailla, joilla epäillään keuhkovainaa (Pirinen – Kosma – Pääkkö 2012: 557). BAL-näytteellä saadaan arvokasta tietoa keuhkojen immunologiasta keuhkorakkulatasolta saakka, solujakauman muutoksista, tulehduksesta ja sen luonteesta ja infektioiden etiologiasta. BAL-näytteen solujakauma ja solujen aktiivisuus korreloivat hyvin esimerkiksi keuhkobiopsiasta saadun tiedon kanssa. (Randell – Koskela 2014: 71.)

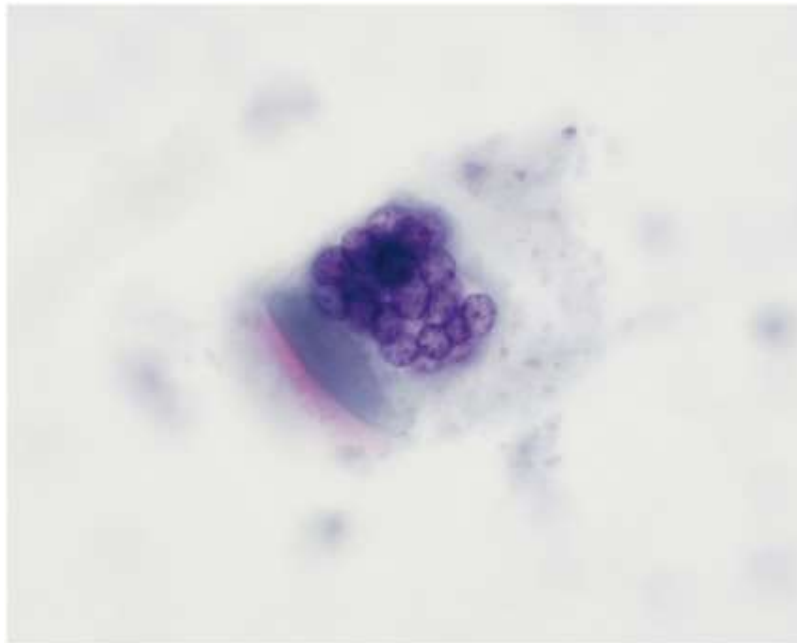


Kuvio 2. Bronkoskopia (Bronchoscopy n.d.)

4.1 Indikaatiot

BAL:n avulla voidaan päästä spesifiseen diagnoosiin eräissä keuhkojen infektioidissa (kuvio 3), diffuuseissa pahanlaatuisissa taudeissa ja eräissä harvinaisissa sairauksissa. Tyypilliset löydökset eri sairauksissa antavat vahvaa tukea kliiniselle epäilylle. Hajonta solulöydöksissä on suuri, jonka vuoksi yksittäisissä tapauksissa löydös voi olla epätyypillinen tai normaali. Lievästi patologisia solulöydöksiä esiintyy esimerkiksi kroonisen keuhkoputkentulehduksen, keuhkolaajentuman, astman ja pleuramuutosten yhteydessä. Huuhtelunesteen solumäärä, solujen erittelylaskenta, pölyanalyysi ja tarvittavat mikrobiologiset tutkimukset antavat kliinikolle tärkeimmät tiedot. Lymfosyyttien ryhmäanalyysistä, makrofagien toimintakokeista ja liukoisten aineiden määrittämisestä saadaan kiinnostavaa tietoa erilaisten sairauksien patogeneesistä ja keuhkofibroosin muodostumisesta. (Tukiainen – Taskinen 1988: 384.) Keuhkokuuhtelunäytettä pidetään diagnostisena eosinofiilisessä pneumoniassa (kuvio 5), alveolaarisessa proteinoosissa, Langerhansinsoluhistiosytoosissa, alveolaarisessa mikrolitiaatiossa ja idiopaattisessa hemosideroosissa (Pääkkö 2016). BAL-näytteestä analysoidaan myös asbestikappaleita, josta on hyötyä asbestialtistusta arvioidessa (Hodgson - Lindström - Pallasaho - Suojalehto 2014).

Tieteelliseltä kannalta BAL:n käyttöönotto on avannut uuden mahdollisuuden keuhkojen tutkimiseen. Sen avulla voidaan tarkastella hengitysteiden puolustusmekanismien häiriöitä, alveolirakenteiden tulehdusreaktion voimakkuutta ja laatua sekä reaktion muutoksia taudin eri vaiheissa sekä fibroosin muodostusta. (Tukiainen – Taskinen 1988: 378.)



Kuvio 3. Keuhkohuuhtelunestenäyte. Monitumainen solu, jonka perusteella voidaan epäillä esimerkiksi respiratory syncytial -virusinfektiota. (Kaarteenaho – Pääkkö– Anttila 2012: 544.)

Huangin, Bassettin, Levinin, Montillan ja Ghion (2006) tekemässä tutkimuksessa havaittiin, että huuhtelun kanssa tehty bronkoskopia aiheuttaa akuutin vaiheen vasteen, joka tarkoittaa neutrofiilien määrän lisääntymistä, rautahomeostaasin säätelyn vajautointia ja fibrinogeenin ja C-reaktiivisen proteiinin määrän kasvua. Akuutti faasi tarkoittaa akuuttia tai kroonista tulehdusta, johon liitetään metabolian ja neuroendokriinien muutoksia. Bronkoskopia ja keuhkohuuhtelu tehtiin 28 terveelle, 18-40-vuotiaalle, tupakoimattomalle vapaaehtoiselle. Edellä mainitut plasmamarkerit mitattiin laskimoverinäytteistä välittömästi ennen, 1-2 tuntia ja 24 tuntia keuhkotähystyksen jälkeen. Akuutin faasin muutoksia havaittiin pääasiallisesti 24 tuntia operaation jälkeen.

Bronkoalveolaarisen huuhtelun sivuvaikutuksia ovat kuume, päänsärky ja tilapäinen hypoksemia. Usein nämä oireet alkavat muutama tunti bronkoalveolaarisen lavaation jälkeen ja laantuvat yhden päivän kuluessa. Alveolaarisista makrofageista peräisin olevat sytokiinit saavat aikaan kuumeen potilailla, joilla on keuhkokudoksen sairaus. (Terashima ym. 2001.) Valkosolujen määrä veressä kasvaa 24 tunnin kuluessa keuhkohuuhtelun suorittamisesta (Huang ym. 2006; Terashima ym. 2001).

4.2 Näytteen ottaminen

Keuhkohuuhtelu voidaan tehdä myös hengityskoneessa olevalle, intuboidulle potilaalle. BAL-näytteenotto kohdennetaan alueelle, jossa tutkittava keuhkomuutos sijaitsee. Mikäli kysymyksessä on epätarkka kudossairaus, joka on levinnyt kaikkiin lohkoihin, näyte kannattaa ottaa sieltä, missä muutokset sijaitsevat keuhkojen tietokonetomografiatutkimuksen perusteella. Alalohkoista näytettä saadaan parhaiten ylemmistä ja etummaisista segmenteistä eli jaokkeista. Näyte voidaan tarvittaessa ottaa kahdesta tai kolmesta keuhkosegmentistä. BAL-näyte pitää ottaa ennen kajoavampia toimenpiteitä, kuten kaikukuvausta tai neulanäytteenottoa, jotta näiden aiheuttama artefakti, esimerkiksi verenvuoto, ei häiritse tulkintaa. Eritteiden imemistä kannattaa mahdollisuuksien mukaan välttää ennen BAL:ta, jotta imukanava ei kontaminoituisi keuhkoputken soluilta. Tämä on erityisen tärkeää infektio-BAL:ia tehtäessä. (Randell – Koskela 2014: 72.)

Kun kohde on valittu, tähystin työnnetään subsegmentti- eli alalohkon keuhkoputkeen kunnes se kevyesti kiilautuu siihen kiinni seinämää vaurioittamatta. Kiilautumista voi arvioida kevyellä imulla: jos keuhkoputken seinämä vetäytyy sisäänpäin, kiila on riittävä. Mikäli kiila ei ole riittävä, on vaarana, että näytteeseen tulee keuhkoputkieritettä proksimaalisuunnasta ja toisaalta, että imu ei ole riittävä ääreisosaan menevän nesteen takaisinsaamiseksi. Bronkusuustoon näytealueelta tähystimen ohi vuotava neste aiheuttaa yskimistä. Usein suositellaan, että keittosuolaliuos lämmitetään etukäteen kehon lämpöiseksi, joskaan toimenpiteen hyödyistä ei ole näyttöä. Nestettä ruiskutetaan 20–60 ml:n annoksina yhteensä 100–240 ml kohdealueelle ruiskulla, jolla kevyesti imemällä näyte saadaan takaisin. Jos ruiskutetun nesteen määrä jää alle 100 ml:n, on riskinä, että näytteessä on liikaa keuhkoputkieritteestä ja keuhkoputkista peräisin olevia soluja. Näytettä voi imeä myös bronkoskoopin imulla, mutta tämä on tehtävä kevyesti, jotta kohteena oleva keuhkoputki ei painu kasaan ja näin estä nesteen paluuta. Ensimmäinen BAL-annos palautuu huonommin (n. 20 %), mutta seuraavat palautuvat yleensä paremmin (40–70 %). Tupakointi ja keuhkohtaumatauti vähentävät palautuvan nesteen määrää. Toimenpide lopetetaan, jos potilas saa voimakasta yskää, happikyllästeisyys alkaa pienentyä lisähapesta huolimatta tai jos näytteen määrä on riittävä analyysijä varten. (Randell – Koskela 2014. 72.) Tähystysosastolla on tärkeää kirjata ylös, kuinka paljon infusoidusta näytteestä saadaan takaisin. Tieto kertoo paljon sekä huuhtelun onnistumisesta että keuhkojen tilanteesta. (Pääkkö 2016.)

Saatu neste ruiskutetaan steriileihin infuusiopulloihin, joita soludegeneraation estämiseksi säilytetään jäähauteessa (Tukiainen – Taskinen 1988: 379). BAL- ja aspiraatiinäytteet sekoitetaan fysiologiseen keittosuolaan ja lähetetään välittömästi laboratorioon. Jos näytteen lähettäminen viivästyy, on ehdotettu näytteen sentrifugointia, sedimentin sivelyä 3-5 objektilaseille ja niiden kuivattamista tai vaihtoehtoisesti sytosentrifugin käyttöä. Amebiaasiepäilyssä näytteet tulee kiinnittää polyvinyylialkoholilla (PVA:lla). (Jokiranta – Siikamäki – Meri 2011. 76-77.)

Ensimmäisissä huuhtelunäytteissä on enemmän bronkusepiteelisoluja kuin seuraavissa. Tämä kertoo bronkuskontaminaatiosta. Kontaminaation vaikutus häviää huuhtelunesteen kokonaismäärän ollessa yli 200 millilitraa. Tätä pienemmällä nestemäärillä kontaminaation mahdollisuus on otettava huomioon. Kertaruiskutuksen suuruus ei juuri vaikuta solulöydökseen. Jossain huuhteluita suorittavissa paikoissa ensimmäiset 60 ml huuhtelunesteestä saatetaan hylätä ja tutkimukset tehdään myöhemmistä huuhteluneste-eristä. Toimenpide voidaan yleensä suorittaa polikliinisesti. (Tukiainen – Taskinen 1988: 379.)

BAL-näytteenoton vasta-aiheet ovat samat kuin keuhkoputkien tähytyksen yleensä. Näytteenotto aiheuttaa kuitenkin enemmän hypoksemiaa eli happivajetta kuin tavallinen bronkoskopia, koska yhden keuhkosegmentin ventilaatiota huononnetaan tilapäisesti ruiskuttamalla sinne keittosuolaa. Siksi potilaan happikyllästeisyys olisi saatava ennen toimenpidettä 90 % tasolle ja hänelle pitää antaa lisähappea toimenpiteen ajan ja jälkiseuranta-aikana. (Randell – Koskela 2014: 71-72.)

Bronkoskopia on turvallinen tutkimus, ja vasta-aiheet ovat suhteellisia ja potilaskohtaisesti harkittavia. Ne liittyvät potilaan kuntoon, tehtäviin tutkimuksiin ja tutkimuksesta mahdollisesti koituvaan hyötyyn. Vasta-aiheita ovat esimerkiksi vaikeat rytmihäiriöt, vaikea, ei-korjattavissa oleva hypoksemia, vaikea vuototaipumus ja akuutti sydänlihasiskemia eli hapenpuute. Ohjeissa kehoitetaan sydäninfarktin jälkeen välttämään tähytystä kuusi viikkoa, mutta tilanteen niin vaatiessa se voidaan tehdä aiemminkin ja myös teho-osastolla. Kokenut henkilökunta voi tehdä toimenpiteen tarkasti valvoen myös hypokseemisille potilaille. Kuten kaikissa toimenpiteissä, vasta-aiheina ovat potilaan tai hänen edustajansa suostumuksen puuttuminen, potilaan erityisen huono yhteistyökyky, tekijän riittämätön kokemus toimenpiteen teosta ilman ohjaajaa, tähytys-henkilökunnan puutteellinen kyky todeta ja hoitaa komplikaatioita, kuten sydämen-

pysähdystä, ilmarintaa, verenvuotoa tai hengitysvajausta. (Randell – Koskela 2014: 65.)

4.3 Diagnostiikka

Terveen ihmisen BAL-näytteessä on 20-100 x 10⁶/l soluja. Tupakoivilla solumäärä on kolminkertainen. Terveillä, tupakoimattomilla henkilöillä alempien hengitysteiden immunologisen puolustusjärjestelmän solut ovat lepotilassa ja tuottavat hyvin vähän välittäjäaineita. Tupakoitsijoilla makrofagit ovat aktiivisia ja erittävät monia välittäjäaineita ja proteaaseja. (Tukiainen – Taskinen 1988: 380.)

BAL-näytteen solut ovat peräisin sekä alveoliontelosta että perifeerisistä keuhkoputken haaroista. Keuhkohuuhtelunäytteen ja keuhkobiopsianäytteen solulöydökset vastaavat hyvin toisiaan. BAL- ja keuhkokudosnäytteen lymfosyyttien immunologiset ominaisuudet ovat samankaltaisia. BAL-näytteen neutrofiilien ja eosinofiilien osuus on suurempi ja lymfosyyttien ja plasmasolujen osuus pienempi kuin keuhkonäytteessä. (Tukiainen – Taskinen 1988: 381.)

Spesifejä BAL-nesteestä tehtäviä löydöksiä ovat malignit solulöydökset, malignit mikrobiologiset löydökset ja jotkin diffuusit keuhkoprosessit, kuten alveolaarinen mikrolitiaasi, alveolaarinen proteinoosi ja pulmonaalinen hemosideroosi. Tutkimushavaintojen perusteella voidaan puolestaan suuntaa-antavasti arvioida mahdollista immunoaktiivaatiota keuhkoissa, taudin aktiivisuutta, hoidon vaikutusta ja pölyaltistusten aiheuttamia reaktioita, kuten eosinofiilistä pneumoniaa ja joidenkin lääkeaineiden aiheuttamia reaktioita. Lausunnossa ilmoitetaan mahdollinen veri- tai epiteelisolukontaminaatio, kokonaissolukkuus, erittelylaskennan tulos, mahdolliset patogeenit, solyatypia ja pintamarkkeritutkimusten tulokset, jos ne on pyydetty. (HUSLAB n.d.)

Etiologialtaan epäselvät keuhkoinfektiot, immunosuppressio- eli hyljinnänestolääkitystä saavien potilaiden keuhkoinfektiot (esimerkiksi opportunisti-infektiot), alveolaarisen verenvuodon epäily, alveolaarinen mikrolitiaasi, jossa alveoleihin kertyy kalkkia ja eosinofiilinen keuhkokuume ovat tyypillisiä tiloja, joiden diagnostiikassa BAL-näytteestä on usein ratkaisevaa hyötyä. Tällöin otetaan sairaalakohtaisesti määrätty infektio-BAL-paketti, joka on laajempi immuunivajepotilaita tutkittaessa. Lääkeinereaktiossa ja sädefibroosissa (keuhkon kutistuminen ja arpeutuminen) BAL:lla voi sulkea pois muita erotusdiagnostisia vaihtoehtoja. Vaikka perifeerisen, paikallisen keuhkosyövän suh-

teen BAL:n diagnostinen osuvuus on huono, syöpä saattaa levittää soluja ympäristöönsä. Osuvuus onkin jopa 80–90 % karsinoosissa (laajalle levinnyt syöpäkudos) ja bronkoalveolaarisessa karsinoomassa. BAL:ta voidaan käyttää joskus esimerkiksi astman ja keuhkohtaumataudin tulehdusprosessin luonteen ja voimakkuuden arvioon sekä hoitovasteen seurantaan ja alveoliittien (allerginen keuhkokudossairaus, homepölykeuhko) tutkimiseen. Solujakaumat korreloivat huonosti monien interstitiaalisten eli perifeerisissä osissa esiintyvien keuhkosairauksien vaiheeseen tai hoitovasteeseen, mutta joitakin harvinaisia interstitiaalisia sairauksia keuhkohuuhtelulla voidaan tutkia tehokkaasti. Keuhkohuuhtelusta on hyötyä alveolaarisen proteinoosin diagnosoinnissa ja hoidossa sekä alveolaarisen verenvuodon ja langerhansinsoluhistiosytoosin diagnosoinnissa. (Randell – Koskela 2014: 71.)

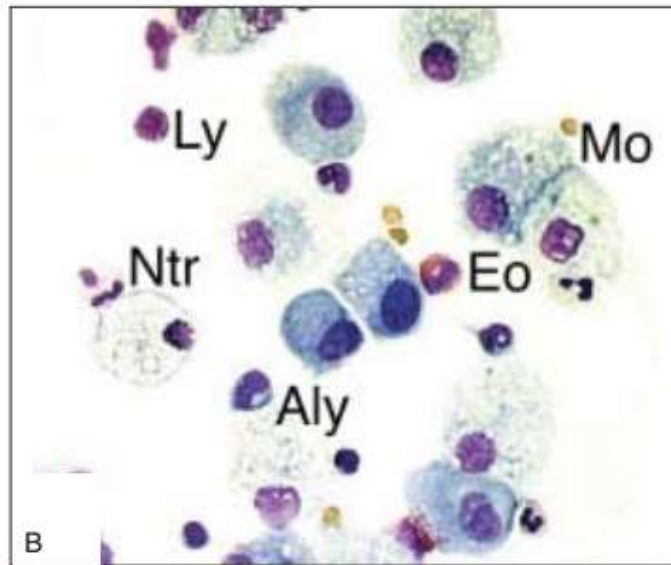
Bronkoalveolaarisessa karsinoomassa ja diffuusissa adenokarsinooman metastasoinnissa maligneja soluja esiintyy 70-80 % tapauksista. Lymfoomien yhteydessä löydöksenä on usein epäspesifinen lymfocytoosi. (Tukiainen – Taskinen 1988: 380-381.)

Diffuuseissa parenkymisairauksissa muutoksia esiintyy pääasiassa alveoliseinämässä. Solujakauma alveoliontelossa taas ei välttämättä ole sama kuin seinämässä. (Tukiainen – Taskinen 1988: 381.) Keuhkohuuhtelunäytteen solukuva edustaa alveolililassa olevaa solupopulaatiota näytteenottohetkellä. Se ei kerro keuhkoparenkyymin tilanteesta suoraan. Keuhkohuuhtelunäyte otetaan ensisijaisesti tiettyjen opportunisti-infektioiden poissulkemiseksi. Lisäksi sen avulla voidaan mahdollisesti varmistaa, ettei kyseessä ole pneumokonioosi eli esimerkiksi asbestikappaleita. Keuhkohuuhtelunäytteen solukuva parenkyymitaudissa on suuntaa antava, mutta näyte voi olla täysin normaalikin. (Myllärniemi – Hodgson – Tukiainen – Kinnula 2005. 3129.)

Tuoreissa sarkoidoositapauksissa auttaja- ja estäjä-T-solujen suhde on suuri, mutta se pienenee normaaliksi tai matalammaksi taudin pitkittyessä (Tukiainen – Taskinen 1988: 381). Sarkoidoosin seurannassa keuhkohuuhtelunäytteessä todettu selvä, usein voimakas ja relatiivinen lymfocytoosi viittaa aktiiviseen tautiin. BAL-löydös riippuu sairauden vaiheesta. Aktiivivaiheessa huuhtelunesteestä saatetaan löytää lymfocyttiaktivaatio eli lymfocyttien suurentunut CD4- ja CD8-solujen suhde, joka on sarkoidoosille spesifinen löydös. (Myllärniemi ym. 2005: 3129; Pietinalho 2009: 1237; Tukiainen – Taskinen 1988: 384.)

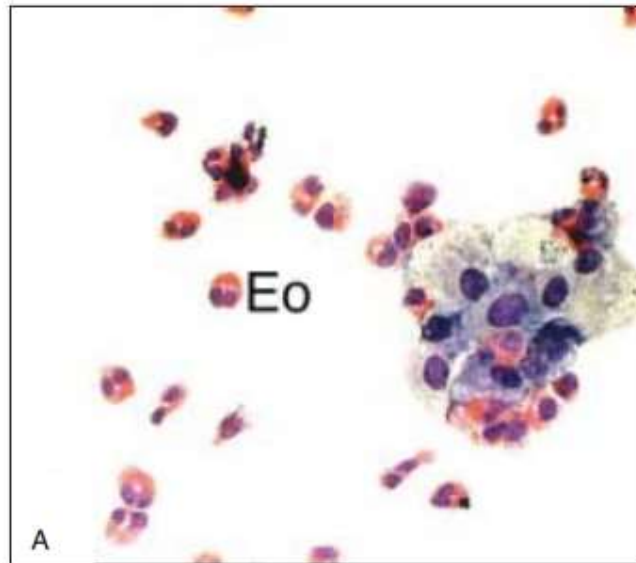
Allergisessa alveoliitissa solumäärä kasvaa huomattavasti ja myös lymfocytoosia esiintyy. Auttaja- ja estäjä-T-solujen suhde vaihtelee immunoaktiivisuuden vaiheen mukaan. Tyypillisesti huuhtelunesteessä esiintyy plasma- ja syöttösolujen, basofiilien ja lymfosyytien spontaanirosetteja. Vahvan immunoaktiivisuuden merkinä todetaan lisäksi stimuloituneita lymfosyyttejä, suuria granulaisia lymfosyyttejä ja lymfoidien blasteja. Osalla potilaista esiintyy neutrofiliaa. Homepölylle altistuneilla saattaa esiintyä lievää lymfocytoosia ilman homepölykeuhkosairauden oireita. (Tukiainen – Taskinen 1988: 381.) Taudin parantuessa lymfocytoosi näyttää säilyvän siitä huolimatta, että kliiniset löydökset normalisoituvat. On epäselvää, kuinka kauan immunoaktivaatio jatkuu altistuksen loputtua. (Tukiainen – Taskinen 1988: 384.) Allergisessa alveoliitissa lymfosyytteihin alkaa ilmestyä sytoplasman poimuuntumista, jopa ulokkeita. Joskus makrofagien kyljessä näkyy rivistö pienempiä leukosyyttejä. (Pääkkö 2016.)

Fibrosoivassa alveoliitissa löydös on tyypillisesti neutrofilia tai eosinofilia. Hyvin tuoreissa tapauksissa voi olla havaittavissa myös lymfocytoosia. Auttaja- ja estäjä-T-solujen suhde on yleensä normaali tai pienentynyt. Sytostaattien aiheuttamissa alveoliiteissa löydös muistuttaa fibrosoivaa alveoliittia. Fibrosoivassa alveoliitissa solumäärä pienenee steroidihoidon aikana ja erittelylaskentalöydös muuttuu normaalimpaan suuntaan riippumatta hoitovasteesta. BAL-löydöksen merkitys fibroottisen prosessin aktiivisuuden arvioinnissa on epäselvä. (Tukiainen – Taskinen 1988: 381-384.) Alveoliiteissa nähdään usein epäspesifinen sekatilehdus (kuvio 4) eli lievää lymfocytoosia, eosinofiliaa ja neutrofiliaa (Myllärniemi ym. 2005: 3129).



Kuvio 4. Alveoliittiin liittyvässä sekatilehduksessa (B) solukuva ei ole spesifinen, vaan koostuu lymfosyyteistä (Ly), neutrofiileista (Ne) ja eosinofiileista (Eo). Mo = makrofagi. (Myllärniemi ym. 2005: 3130.)

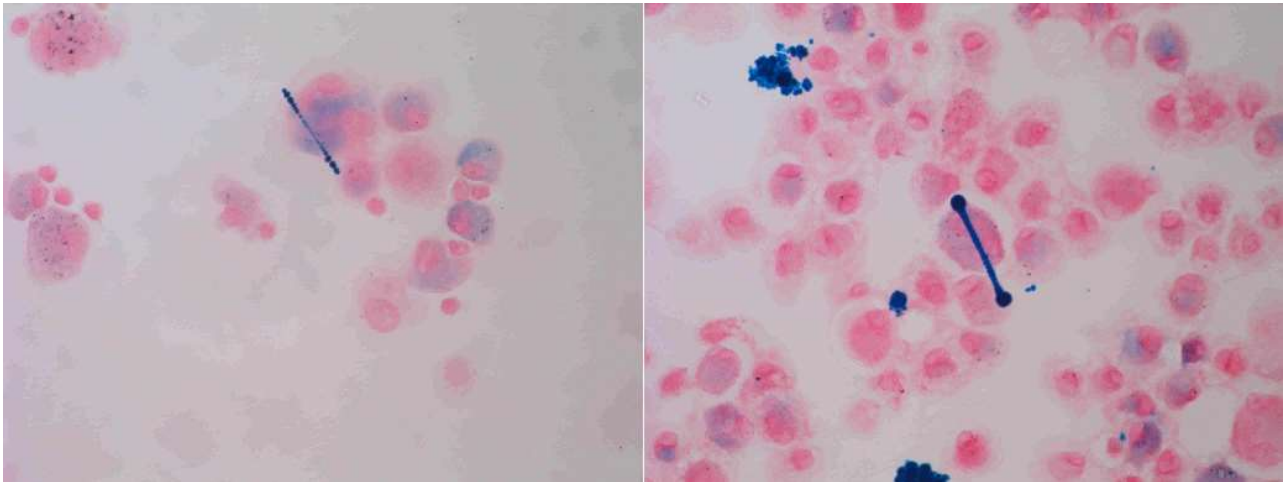
Eosinofiilisessä pneumoniassa (kuvio 5) huuhtelunäyte on diagnostinen (Myllärniemi ym. 2005: 3129). Tyyppilöydös on suuri solumäärä sekä huomattava suhteellinen ja absoluuttinen eosinofilia yhdistyneenä neutrofiliaan. Absoluuttinen eosinofiilimäärä on suurempi kuin missään muussa tautiryhmässä. Nitrofurantoiinin aiheuttamassa akuutissa pneumoniitissa huuhtelulöydös muistuttaa suuresti eosinofiilista pneumoniaa. Subakuuteissa tai kroonisissa tapauksissa esiintyy myös lymfocytoosia tai siihen liittyvää lievää eosinofiliaa, jota esiintyy myös kullan aiheuttamissa keuhkoreaktioissa. (Tuokiainen – Taskinen 1988: 382.)



Kuvio 5. Keuhkohuuhtelunäyte: eosinofiilinen pneumonia on selvästi diagnosoitavissa BAL-tutkimuksen soluista (Myllärniemi ym. 2005: 3130).

Eosinofiilisessa granuloomassa osa makrofageista latautuu monoklonalisella antitymosyyttivasta-aineella ja makrofageissa voidaan todeta x-body -muodostumia elektronimikroskoopilla. Alveolaarisessa mikrolitiaasissa huuhtelunesteeseen tulee tyypillisiä pyöreitä, lamellaarisia kappaleita. Alveolaarisessa proteinoosissa sekä makrofagien vakuoleissa että vapaana havaitaan runsaasti PAS-positiivista massaa. Idiopaattisessa pulmonaalisessa hemosideroosissa huuhtelunesteen makrofageissa esiintyy runsaasti fagosytoitunutta hemosideriiniä ja esimerkiksi immunosuppressiopotilaan keuhkoverenvuodoissa löydös on samanlainen. Kroonisissa fibroosin asteelle edenneissä tapauksissa alkaa ilmaantua neurofiliaa lymfocytoosin hävitessä. (Tukiainen – Taskinen 1988: 382-384).

BAL-näytteestä mitataan tavallisesti asbestikappaleiden (AB) pitoisuus valomikroskooppisesti millilitraa kohti. Luotettavaan analyysiin tarvitaan alveolitasoa edustava, vähintään 10 ml:n näyte ja mieluiten rautavärjäys. (Karjalainen – Tukiainen 1997. 3588.) Asbestille altistuneiden näytteistä löydetään asbestisäikeitä (kuvio 6) joko paljaina tai proteiini-rautakuoren peittäminä (Tukiainen – Taskinen 1988: 381). Pääkkö (2016) mainitsee omana huomiona, että asbestialtistuspotilaita löytyy usein lymfocytoosi.



Kuvio 6. Asbestikappaleita, vahvasti ja heikosti rautaposiitivisia (sinertävät) sekä rautanegatiivisia (vaaleanpunaiset ja pinkit) leukosyyttejä BAL-näytteessä. Fe-värjäys.

Erilaisten BAL-muuttujien tutkiminen on muodostunut keskeiseksi diffuusien keuhkosairauksien patogeneesin selvittelyssä. Lymfosyyttien fenotyyppi- ja toimintahäiriöitä on kartoitettu perusteellisesti, ja niiden tilalle on tulossa erilaisia makrofagien aineenvaihduntaa, fagocytoosia ja erityis- ja yhteistoimintaa tarkastelevia tutkimuksia. Nämä selvittävät niitä keuhkojen puolustusmekanismien häiriöitä, jotka johtavat diffuusien keuhkosairauksien syntyyn. Toinen tutkimuslinja kohdistuu fibrogeneesiin ja erityisesti niiden kriittisten vaiheiden toteamiseen, joiden aikana tulehdusreaktion alkaa liittyä sidekudoksen muodostusta. Fibroosin käynnistymistä ja muodostumista voidaan seurata erilaisten keuhkohuuhtelunesteeseen erittyvien, kollageenin muodostusta heijastavien peptidien ja entsyymien avulla. Näissä tutkimuksissa on todennäköisesti vielä paljon muitakin potentiaalisia hyödyntämisalueita. (Tukiainen – Taskinen 1988: 384.) Normaalili BAL-näyte ei koskaan sulje pois mikroskooppisia muutoksia keuhkoparenkyymissä (Pääkkö 2016).

5 BAL- näytteen valmistustekniikat

Solumorfologian tutkimista ja solujen erittelylaskentaa varten tarvitaan MGG-värjätty natiivinäyte, alkoholiin fiksoitu näyte Papanicolau-värjäyksellä ja Berliininsini-rautavärjäys. Lymfosyyttien alaryhmäanalyysia varten tarvitaan monoklonaalisia vasta-aineita virtausytometrisesti immunofluoresenssitekniikalla. (HUSLAB n.d.)

Sille on syynsä, miksi BAL-näytteistä tehdään montaa eri värjäystä ja kahta erilaista valmistetta. MGG-värjättyllä CytoSpin-lasilla solumorfologia on äärimmäisen hyvä: puna- ja syöttösolut erottuvat hyvin. Lymfosyyttejä voi kuitenkin irrota MGG-CytoSpin – lasilta tai ne voivat kasautua näytteen toiseen reunaan. Papanicolau-värjättyllä Cyto-Tek-lasilla lymfosyytit pysyvät hyvin paikoillaan. Punasoluja, eosinofiilejä ja syöttösoluja puolestaan ei näy tai niitä ei tahdo tunnistaa. (Pääkkö 2016.)

Laboratorioiden BAL-työohjeita vertailtiin keskenään. Niistä etsittiin samankaltaisuuksia ja eroavaisuuksia (taulukko 1). Kaikkien laboratorioiden ohjeista saatiin kopiot tammi-kuussa 2016. Jorvin ohjeista saatiin uudet versiot toukokuussa 2016 ja Meilahden päivitetty ohje syyskuussa 2016. Tämän ajankohdan jälkeen työohjeisiin tehtyjä muutoksia ei ole huomioitu tässä työssä.

Meilahden, Jorvin ja Hyvinkään patologian laboratorioissa kaikissa tehdään sekä tavallisia BAL- että asbesti-BAL-tutkimuksia. Näytteet saapuvat laboratorioon kylmäkuljetuksena. Jokaisessa paikassa näytteen fiksoitu osa tehdään sekoittamalla huuhtelunestettä 96-prosenttiseen etanoliin. Kaikkialla käytetään ja valmistetaan Cyto-Tek -laseja ja värjätään näytteitä MGG- ja rautavärjäyksillä.

Taulukko 1. Työohjeiden tärkeimmät erot.

Meilahti	Jorvi	Hyvinkää
1 (tai 2) fiksoitua putkea	Vain tuorenäytteet	Vain tuorenäytteet
Vain BAL-osa	BAL-br.- ja BAL - erottelu	Vain BAL-osa
CytoTek ja CytoSpin: suodatetaan ja sentri- fugoidaan	Vain CytoTek	Vain CytoTek
-	Tuorenäytteen CytoTek: papa, MGG, Fe	Tuorenäytteen CytoTek: papa (formaliini) ja MGG
RPMI + FBS	Huuhteluneste, RPMI+FBS jos CD4/CD8 → Meilahteen	Huuhteluneste
Neubauer	Bürker	Bürker
	Gelatiinilasi: papa ja Fe	
Kammiolaskenta: Trypan Blue	Kammiolaskenta: Trypan Blue	Kammiolaskenta natiivisti
Kammiolaskenta: labora- torio Lymfosyyttien erittely: esitarkastaja	Kammiolaskenta ja lymfo- syyttien erittely: esitarkas- taja	Kammiolaskenta + lymfo- syyttien erittely: laborato- rio

5.1 Meilahden patologian laboratorion BAL-työohje

Meilahden patologian laboratorion käyttämää BAL-työohjetta ei ole tehty HUSLAB:in viralliselle työohjepohjalle. Kirjoitusasu muistuttaa epävirallista dokumenttia, sillä ohje on lähinnä lista luettelomerkkejä. Ohjeesta huomaa, että yksityiskohtia on muokattu useamman työntekijän toimesta, mutta kokonaisuus vaatisi hiomista.

Näytteet voivat saapua laboratorioon siten, että niiden mukana on jo valmiiksi keuhkötähystyksessä fiksoitu näyteputki tai -putkia. Fiksoitu näyte voi tulla yhdessä tai kahdessa putkessa, joista ensimmäistä pidetään mahdollisesti kontaminoituneena, ensimmäiseen keuhkoputkista kerättynä näytteenä. Jos fiksoitu näyte tulee kahdessa putkessa, niistä tehdään omat näytelasinsa. Jorvin ja Hyvinkään laboratorioihin saapuu vain tuorenäytteitä.

CytoSpin-valmisteita tehdään vain Meilahdessa. Laseja tehdään kaksi, joille tehdään MGG- ja Fe-värjäykset. CytoSpin-näytteitä varten näyte suodatetaan kaksinkertaisen sideharsotaitoksen läpi 50 ml:n Falcon-muoviputkeen tai -putkiin näytemäärästä riippuen. Putki tai putket sentrifugoidaan ja näytteistä kaadetaan kaikki neste pois. Suodatus tai sentrifugointia ei tehdä Jorvissa eikä Hyvinkäällä, koska niissä ei tehdä CytoSpin-valmisteita. Sentrifugoinnin jälkeen näytteen solut pestään lisäämällä näytteeseen PBS-puskuria ja sentrifugoimalla se toisen kerran. PBS kaadetaan pois ja näytteeseen lisätään RPMI-elatusainetta, jonka määrän ja kammiolaskennan avulla vakioidaan näytteiden solutiheys mahdollisimman lähelle toisiaan. Näyte käsitellään siten, että solutiheys saadaan tiheämmäksi kuin se on ollut alkuperäisessä huuhtelunesteessä. Solutiheys pyritään vakioimaan 1×10^6 soluun millilitrassa.

Solulaskenta tehdään Neubauerin kammiossa, kun Jorvissa ja Hyvinkäällä käytetään Bürkerin kammiota. Fiksoidusta näytteestä tehdään CytoTek-valmiste, jolle tehdään vain Papanicolaun värjäys. Kun tarvittavat näytelasit on valmistettu, näyteputkiin lisätään FBS (Fetal Bovine Serum) -ravintoliuosta kymmenen prosenttia näytteen tilavuudesta. Näytteitä ja varalaseja säilytetään kaksi viikkoa. Työohjeiden perusteella Meilahden on ainoa paikka, jossa tehdään siirrekeuhkonäytteitä. CD4/CD8 -pintamarkerimäärityksiä tehdään vain Meilahden transplantaatiolaboratoriossa. Jorvi ja Hyvinkää lähettävät nämä näytteensä Meilahteen. Sekä Lohjan sairaalasta tulleet fraktionäytteet että Ahvenanmaalta tulleet mini-BAL-näytteet valmistetaan Meilahdessa.

5.2 Jorvin patologian laboratorion BAL-työohje

Jorvissa on käytössä kaksi erilaista BAL-työohjetta, joissa on eri tietoja näytteiden valmistusprosessista. Näyte saapuu laboratorioon keuhkotähystyksessä kerätyissä ruiskuissa, joista ensimmäiset kaksi on merkitty. Näiden ruiskujen sisältöä käsitellään koko prosessin ajan bronkusosien näytteenä, lyhenteellä BAL-br.osa. Näytteen osien erotte-lua ei tehdä muissa laboratorioissa. Näytettä käsitellään huuhtelunestemuodossa. Jorvissa näytteiden kammiolaskennan tekee esitarkastaja, kun Meilahdessa ja Hyvinkäällä se kuuluu BAL-pisteen työntekijän tehtäviin. Työohjeissa käytetään rautavärjäyksestä sen virallista nimeä berliininsini, kun muissa paikoissa käytetään lyhennettä Fe-värjäys.

Yhden potilaan näytteistä tehdään monta näytelasia. Bronkusosan huuhtelunesteestä (BAL-br.osa) valmistetaan yksi CytoTek-lasi, joka värjätään Papanicolaun värjäyksellä. Itse BAL-näytteestä tehdään CytoTek-lasit Papa-, MGG- ja Fe-värjäyksiä varten sekä yksi varalasi. Jorvissa näytteet kiinnitetään Papa- ja Fe-värjäyksiä varten gelatiinilaseille, joita ei käytetä ollenkaan muissa paikoissa. Jos potilaan näytteistä on tehty asbesti-BAL-pyyntö, tehdään Millipore® -valmiste erillisen ohjeen mukaan.

Näytteiden valmistuksen jälkeen loput BAL-br ja BAL -näytteet fiksoidaan. Fiksoidusta näytelaimennoksesta pystytään tekemään mahdollisia lisä- ja erikoisvärjäyksiä. Fiksoituja näytteitä säilytetään kuusi viikkoa. Näyte sentrifugoidaan ja siihen lisätään RPMI-elatusainetta, jossa on kymmenen prosenttia FBS (Fetal Bovine Serum) -ravintoliuosta vain silloin, jos näytteestä on pyydetty CD4/CD8 -pintamarkerimääritys, jota varten näyte lähetetään Meilahden transplantaatiolaboratorioon.

5.3 Hyvinkään patologian laboratorion BAL-työohje

Tuorenäytteestä tehdään Papa- ja MGG-värjäykset sekä yksi varalasi. Papa-lasia varten tuorenäytteen sekaan lisätään kymmenenprosenttista formaliinia. Fiksoidusta näytteestä tehdään Papa- ja Fe-värjäykset. Tuorenäyte sekoitetaan keittosuolaliuokseen. Jorvissa tai Meilahdessa näytteitä ei sekoiteta formaliiniin tai keittosuolaliuokseen.

Solulaskenta tehdään Hyvinkäällä natiivisti, kun muualla se tehdään Trypan Bluella värjättyinä. Kammiolaskennan suorittava BAL-pisteen työntekijä erittelee myös lymfosyyttien osuuden, mikä Meilahdessa kuuluu esitarkastajille. Varalasia säilytetään kaksi viikkoa jääkaapissa. Muiden näytteiden säilytysajoista ei ole mainintaa.

6 Työn toteutus

Alkupalaverissa 5.9.2016 ohjausryhmän (Raheem, Lepola, Maijala, Sulka) kanssa sovittiin tarkemmin käytännön työn toteuttamisesta. Suunnitelmasta poiketen pidettiin parempana vaihtoehtona sitä, että syyskuun aikana maanantaisin ja tiistaisin tulevat potilasnäytteet tehtäisiin itse ohjaajan valvonnassa. Normaalien, pyynnön mukaisten lasien lisäksi tehtiin yhteensä neljä ylimääräistä lasia, jotka jäivät minulle – MGG- sekä Fe-värjäykset sekä pesulla että ilman tehdyistä näytteistä. Oikeat näytelasit jatkoivat

matkaansa esitarkastajille ja patologille, mutta rinnakkaislasit jäivät värjäyksen jälkeen laboratorioon. Näin lasien palaamista patologilta ei tarvinnut odottaa, vaan tätä projektia varten oli heti käytettävissä omat lasit. Koska BAL-näytteitä ei näyttänyt tulevan tarpeeksi maanantaisin ja tiistaisin, suunnitelmaa sovellettiin ja joitain näytteitä säilytettiin 24 ja 72 tunnin lisäksi 96 tuntia. Tällöin tavoitteena oli, että jokaisessa aikajaksossa olisi ainakin viisi näytettä, jotka ovat vertailukelpoisia keskenään. Eli minimissäänkin olisi saatu kasaan viisi näytettä, joista on nyt ja 24h säilytyksen jälkeen tehdyt rinnakkaiset näytteet, viisi nyt vs. 72h ja viisi nyt vs. 96h -näytettä. Maanantaisin ja tiistaisin mahdollisesti tehdyistä näytteistä olisi tehtynä sekä nyt että 24h ja 72h näytteet, jolloin ne toimisivat molempien säilytysaikojen verrokkeina. Toteutunut valmistusprosessi on kuvattu kuviossa 8.

Alkuperäisestä suunnitelmasta poiketen sovittiin myös, että valmiita laseja Meilahdesta, Jorvista ja Hyvinkäältä ei tilata. Eri laboratorioissa tehtyjä näytteitä ei olisi otettu samoista potilaista, mikä olisi vaikeuttanut lasien laadun vertailua. Laseista saattaisi olla nähtävissä eroja esimerkiksi taustan siisteydessä tai sotkuisuudessa, mutta ne olisivat voineet johtua valmistustekniikan sijaan myös potilaan kunnosta, näytteenoton onnistumisesta tai näytteen koostumuksesta. Pidettiin mahdollisena, että valmiiden lasien vertaileminen olisi sisällytetty työhön vielä myöhemmin, mutta se ei ollut tarpeen.

Lisäksi tehtiin kammiolaskentaa myös fiksoiduista näytteistä. Normaalisti solut lasketaan tuoreista näytteistä heti niiden saavuttua laboratorioon. Laskemalla solut myös fiksoidusta näytteestä haluttiin selvittää, vaikuttaako fiksoiminen esimerkiksi solujen rakenteisiin siten, että kammiolaskennan lopputulos muuttuu fiksoimisen johdosta. Tartuntavaarallisten – kuten tuberkuloosipotilaiden – näytteiden käsittelyssä olisi kuitenkin turvallisempaa, jos kammiolaskennan voisi suorittaa myös fiksoidusta näytteestä. Ensimmäisten päivien aikana tätä kokeillessa kuitenkin huomattiin, että fiksoidusta näytteestä laskeminen ei onnistu.

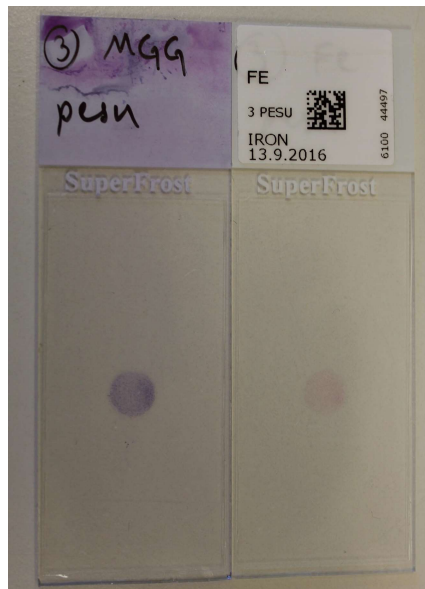
Tuorenäytteen solutiheyttä muutetaan tiiviimmäksi näytettä käsiteltäessä. Alun perin esimerkiksi 80 millilitran näyte saadaan ikään kuin tiivistettyä siten, että näytteen kokonaissolumäärä saadaan pienempään tilavuuteen, esimerkiksi viiteen millilitraan solutiheydestä riippuen. Käsitellyn näytteen solutiheys olisi tässä esimerkkitapauksessa 16 kertaa tiheämpi, kuin alkuperäisessä, potilaan keuhkoista kerätyssä huuhtelunesteessä. Fiksoidun näytteen solutiheys taas on puolet alkuperäisen näytteen tiheydestä: viiteen millilitraan huuhtelunestettä lisätään viisi millilitraa 96-prosenttista etanolia. Tuo-

reen ja fiksoidun näytteen solutiheydet olisivat verrattavissa toisiinsa laskutoimitusten avulla. Käytännössä kuitenkin siitä ei olisi hyötyä, koska kammiolaskenta on melko nopeasti suoritettava vaihe, jota ylimääräiset laskutoimitukset venyttäsivät. Erittäin runsassoluisten näytteiden kohdalla kammiolaskennalla ja laskutoimituksella saatavat tulokset olivat hyvin lähellä toisiaan. Vähäsoluisten näytteiden kohdalla taas tulokset erosivat radikaalisti. Näytteen solutiheyttä ei pysty arvioimaan silkmääräisesti sen saapuessa laboratorioon, jolloin kammiolaskennan onnistuminen pitäisi tarkistaa laskemalla myös tuorenäyte. Tällöin alkuperäinen idea parantaa työntekijän turvallisuutta jäisi toteutumatta ja näytteen valmistamisesta tulisi monimutkaisempaa.

Suoritettaessa sekä pestyjen, pesemättömien että fiksoitujen näytteiden kammiolaskentaa tehtiin jo muutamia huomioita. Ilman pesua valmistetuissa näytteissä näytti olevan enemmän ylimääräistä sotkua taustalla. Kammiossa näkyi punertavia, pitkiä rakenteita, jotka olivat todennäköisesti limaa ja pieniä partikkeleita. Valkosolujen laskemiseen tausta ei kuitenkaan vaikuttanut. Leukosyytit näyttivät samanlaisilta ja laskeminen onnistui samalla tavalla kuin pestyäkkin näytettä laskiessa. Fiksoidussa näytteessä soluja oli vähemmän näytteen laimeuden takia. Solut olivat paljon tummemman siniseksi värjäytyneitä ja osittain kutistuneita etanolin takia. Etanoli kuivattaa soluja, jolloin niiden koko pienenee ja ne imevät Trypan-väriainetta enemmän itseensä verrattuna tuorenäytteeseen.

Esitarkastaja Leena Sulkan kanssa pidettiin mikroskopointiperehdytys ennen näytteiden tarkastelua, jotta silloin ei tarvitsisi käyttää aikaa perustietojen läpikäymiseen.

Kaikista toteutusajanjaksolla laboratorioon saapuneista näytteistä tehtiin sekä potilasnäytteet että tähän työhön tarvittavat näytelasit. Laboratorioon tuli Meilahden lisäksi esimerkiksi Lohjalla ja Kotkassa otettuja näytteitä. Keuhkohuuhtelunestenäytteen tuli olla tarpeeksi runsas, jotta varsinaisen näytteen lisäksi sitä riitti niin paljon, että siitä pystyttiin ottamaan sivuun osa ilman pesua tehtävää näytelasia varten sekä säilyvyys-tutkimukseen. Lasit kirjoitettiin käsin, jolloin niihin ei tarvinnut laittaa mitään potilastietoa tai näyttenumeroita (kuvio 7). Näyttenumerot otettiin varmuuden vuoksi ylös kirjanpito- taulukkoon (liite 1), jos niitä olisi sattunut tarvitsemaan esimerkiksi näytteiden tarkaste- lun jälkeen. Näyttenumerot sensuroitiin, kun käytännön osuus oli tehty.



Kuvio 7. Valmiita näytelaseja.

Jokaisesta näytteestä tarvittavat lasit tehtiin vertailtavilla menetelmillä yksi kerrallaan. Samaan aikaan pyrittiin käsittelemään vain yhtä näytettä kontaminaatoriskin välttämiseksi ja jotta kirjanpito pysyi varmasti ajan tasalla. Keskittymisen koettiin herpaantuvan helposti, jos monta näytettä olisi käsiteltävänä yhtä aikaa. Työn edetessä ja työvaiheiden tullessa tutuksi pystyttiin kuitenkin tekemään kaksi näytettä yhtä aikaa sarjatyönä siten, että molemmat näytteet olivat koko ajan samassa vaiheessa. Pyrittiin saamaan yksi vaihekokonaisuus valmiiksi ennen seuraavan aloittamista.

6.1 BAL-näytteen valmistaminen ilman pesuja

Potilasnäytteet ja pesun kanssa opinnäytetyötä varten valmistettavat näytteet valmistettiin työohjeen mukaisesti. Oikeiden, Meilahden työohjeen mukaan tehtyjen näytteiden lisäksi potilasnäytteistä tehtiin toinen versio ilman pesua. Ilman pesua valmistettavia näytteitä varten työohjeesta jätettiin vain pesuvaihe pois, muuten työvaiheet vastasivat työohjetta. Tuorenäytteen suodatusvaiheessa otettiin pieneen Falcon-putkeen näytettä, johon lisättiin fuugauksen jälkeen suoraan RPMI:tä.

Aihetta suunnitellessa ja jäsentäessä tarkoituksena oli tehdä säilyvyystutkimus myös ilman pesua valmistetusta näytteestä. Tästä tavoitteesta kuitenkin luovuttiin aikataulu- ja aiheenrajaussyistä. Säilyvyystutkimuksen tekeminen myös ilman pesua valmistetuista näytteistä on sopiva jatkoehdotus tälle opinnäytetyölle.

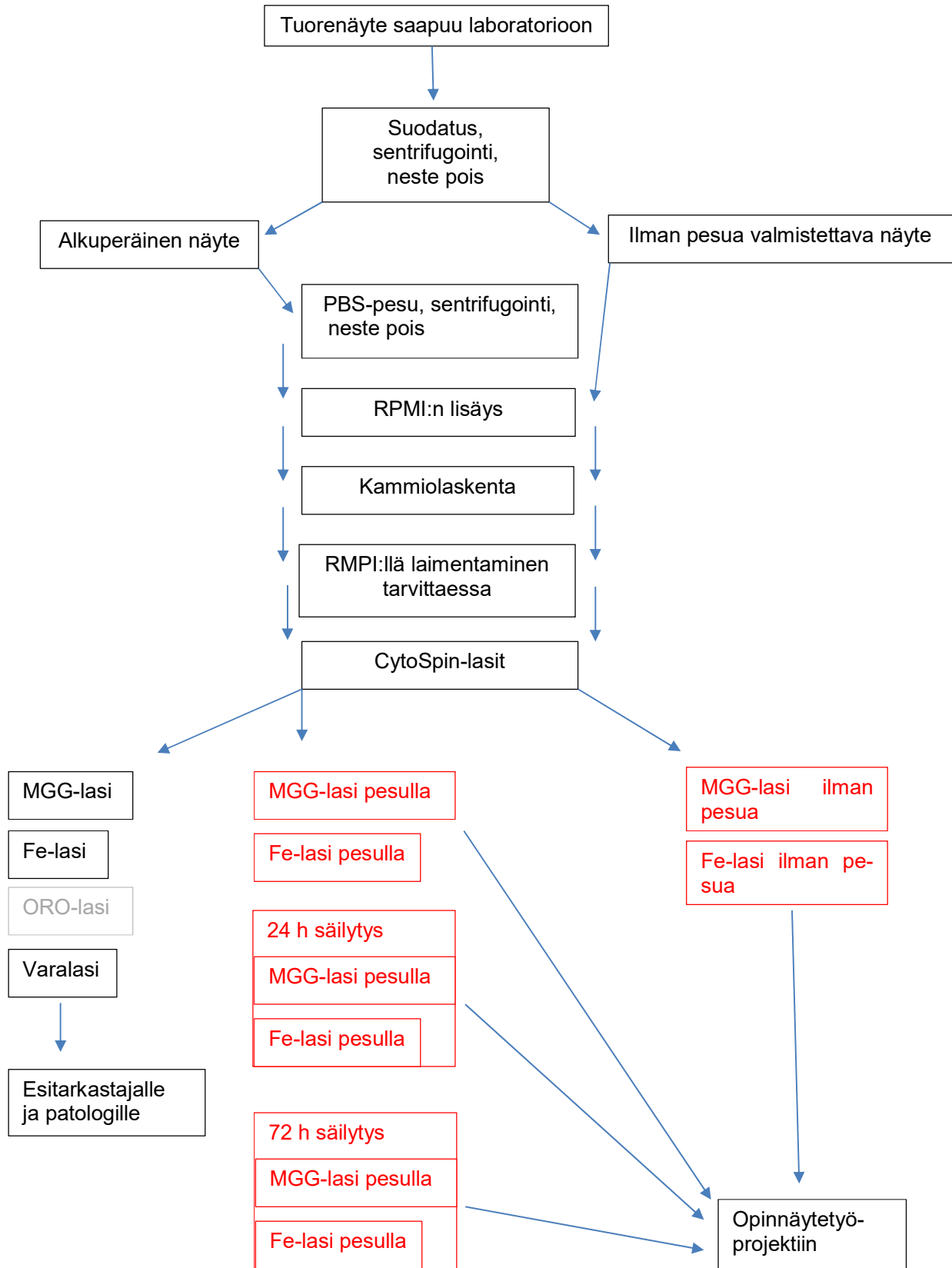
6.2 Sentrifugoitujen BAL-näytteiden valmistaminen heti, yön jälkeen ja viikonlopun jälkeen

Pestystä näytteestä valmistettiin yhdet MGG- ja Fe-värjättävät CytoSpin-lasit heti, yhdet yön yli säilytyksen, yhdet viikonlopun yli säilytyksen jälkeen ja tarvittaessa neljän vuorokauden säilytyksen jälkeen. Koko säilytysjakson ajan näytteet säilytettiin elatusaineessa.

Tehty näyte, johon oli lisätty elatusainetta, säilytettiin jääkaapissa. Siitä tehtiin lasit 24 ja 72 tunnin sekä joidenkin kohdalla 96 tunnin säilytyksen jälkeen, jotta säilytyksen vaikutuksia pystyttiin vertailemaan. Normaalisti tuorenäytteisiin lisätään päivän päätteeksi FBS-ravintoliuosta, mutta näytteistä otettiin projektia varten talteen 12ml erilliseen pieneen Falcon-putkeen ennen ravintoliuoksen lisäämistä. Tätä projektia varten käsitellyt näytteet säilytettiin siis vain RPMI-elatusaineessa.

Työssä kokeiltiin ja selvitettiin, säilyykö BAL-näyte fuugauksen jälkeen elatusaineessa yön ja viikonlopun yli. Verrattiin samasta näytteestä tehtyjä valmisteita, joista yksi oli valmistettu heti, toista säilytetty yön yli jääkaapissa ja kolmatta, jota oli säilytetty viikonlopun yli. Tarkoituksena ja tavoitteena oli selvittää, poikkeavatko samasta potilaasta eri tekniikoilla tehdyt näytteet toisistaan. Tässäkin materiaalina piti olla useamman potilaan näytteet, jotta vertailua pystyttiin pitämään luotettavana. Esitarkastajat ja patologian asiantuntijat toimivat apuna myös tässä vaiheessa.

Näytteiden valmistamista dokumentoitiin kirjaamalla näytteiden tiedot ja työvaiheet taulukkoon (liite 1) ja ottamalla työvaiheista valokuvia (kuviot 7 ja 9-12) sekä näytteistä mikroskooppikuvia (kuviot 13-19). Toivottiin saatavan kuvia esimerkiksi pesun ja sen poisjättämisen eroista ja siitä, miten säilytyksen vaikutukset näkyvät mikroskoopilla. Työtä tehdessä pyrittiin taltioimaan lukijan näkökulmasta asianmukaisia ja havainnollistavia kuvia tekstin tueksi.



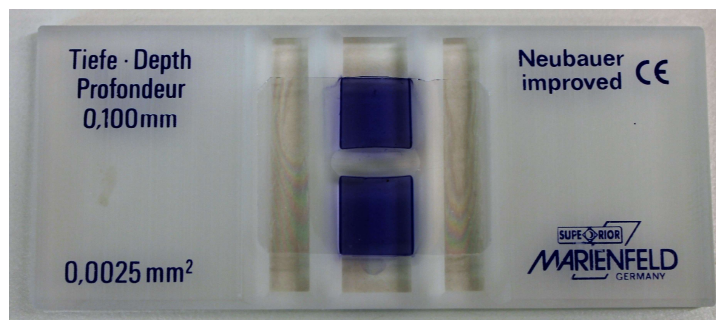
Kuvio 8. Näytelasien valmistusprosessi.



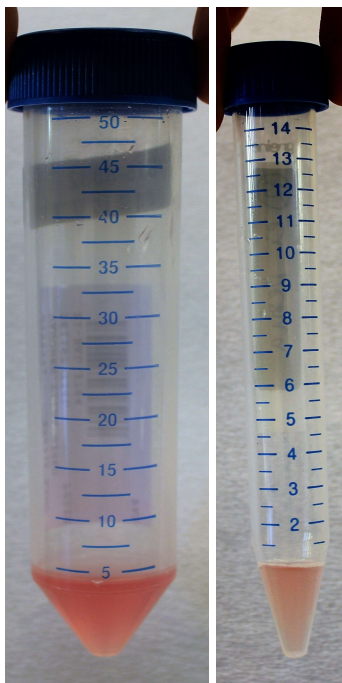
Kuvio 9. Näytteen suodatus. Yli 50 ml:n näyte suodatetaan kahteen 50 ml:n Falcon-putkeen kaksinkertaisen sideharsotaitoksen läpi. Opinnäytetyöprojektia varten otettiin erilliseen 15 ml:n Falcon-putkeen 6-12 ml suodatettua näytettä.



Kuvio 10. Koko näytteen solunappi kahden Falcon-putken yhdistämisen ja sentrifugoinnin jälkeen.



Kuvio 11. Ohjeen mukaan pesulla ja ilman pesua valmistetut näytteet Trypan-väriaineeseen sekoitettuna Neubauerin kammiossa kammiolaskentaa varten.



Kuvio 12. Ohjeen mukaan ja ilman pesua valmistetut näytteet kammiolaskennan avulla lasketun RPMI:n lisäyksen jälkeen.

7 Tulokset ja tulosten tarkastelu

Näytelaseja tehtiin yhteensä 19 potilasnäytteestä yhteensä 140 kappaletta. Näytteiden epätasaisen ja ennakoimattoman saapumistahdin takia ei pystytty tekemään suunniteltua kahdeksaa lasia jokaisesta näytteestä (MGG- ja Fe- lasit pesuilla, ilman pesuja, 24h ja 72h säilytyksen jälkeen). Kahdesta näytteestä ei pystytty tekemään laseja ilman pesua näytteen niukkuuden vuoksi. Kuudesta näytteestä tehtiin myös 96 tunnin säilytykset. Taulukossa 2 on esitetty kaikki mahdolliset näytelasivariaatiot lukumäärineen. Eniten oli näytteitä, jotka tehtiin alkuperäisen suunnitelman mukaan (vain 96h puuttuu), joista puuttui 24 tunnin säilytys tai joista tehtiin vain 24 tunnin säilytys. Merkittävin tekijä vaihtelevuudessa oli viikonpäivä, jona näyte saapui laboratorioon. Tiistaina saapuvasta näytteestä ei pystytty tekemään 96 tunnin säilytystä, sillä se olisi osunut lauantaille. Torstaina saapuvista näytteistä jäi 72 tunnin säilytys väliin ja tässä tapauksessa jätettiin myös 96 tunnin säilytys pois, sillä sen ei alun perinkään pitänyt olla työssä mukana. Perjantaina saapuvista näytteistä puolestaan ei pystytty tekemään 24 tunnin säilytystä, koska sekin olisi pitänyt tehdä lauantaina.

Taulukko 2. Näytelasien rinnakkaisten versioiden variaatiot ja niiden lukumäärät.

Näytteiden valmistustekniikat ja säilytysajat					n
Pesulla	Ilman pesua	24h säilytys	72h säilytys	96h säilytys	1
Pesulla	Ilman pesua	24h säilytys	72h säilytys	-----	6
Pesulla	-----	24h säilytys	72h säilytys	-----	2
Pesulla	Ilman pesua	-----	72h säilytys	96h säilytys	4
Pesulla	Ilman pesua	-----	72h säilytys	-----	1
Pesulla	Ilman pesua	24h säilytys	-----	96h säilytys	1
Pesulla	Ilman pesua	24h säilytys	-----	-----	4

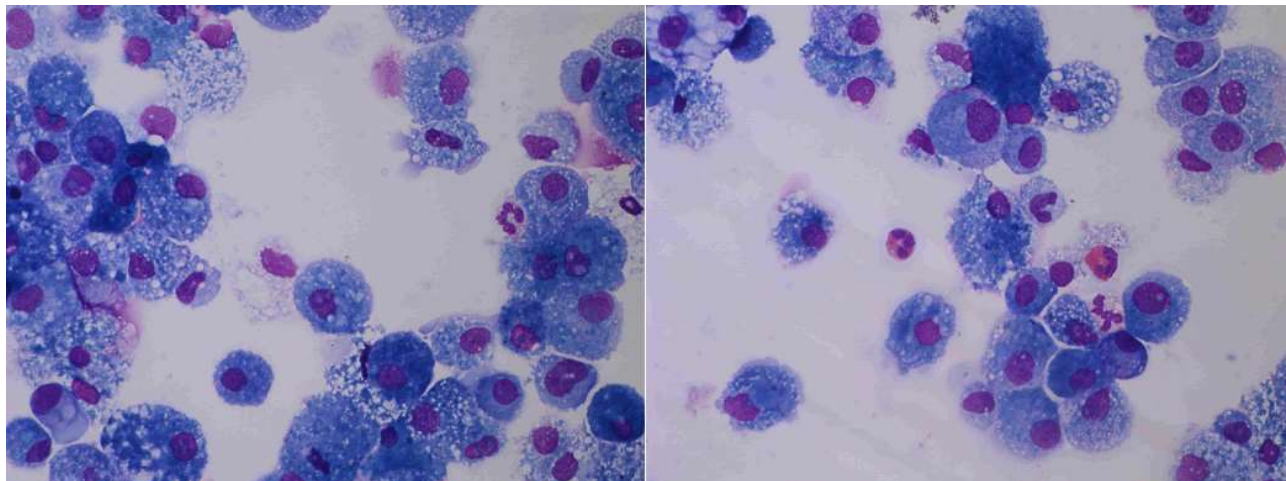
Kaikki tehdyt lasit katsottiin yhdessä esitarkastajan kanssa mikroskoopilla. Näytelaseista arvioitiin näytteen käyttökelpoisuutta, paksuutta, solujen määrää ja värjäytyvyyttä (taulukko 3). Kaikki näytteistä tehdyt huomiot kirjattiin ylös (liite 2). Lasit vietiin patologille, joka katsoi ensin kaikki näytteet läpi itse. Patologin kanssa tavattiin seuraavana päivänä, jolloin käytiin yhdessä vain osa laseista läpi ja vaihdettiin mielipiteitä työn tuloksista. Patologi ei tiennyt etukäteen, mitä päätelmiä esitarkastajan kanssa oli tehty aikaisemmin.

Taulukko 3. Näytteiden arviointikriteerit.

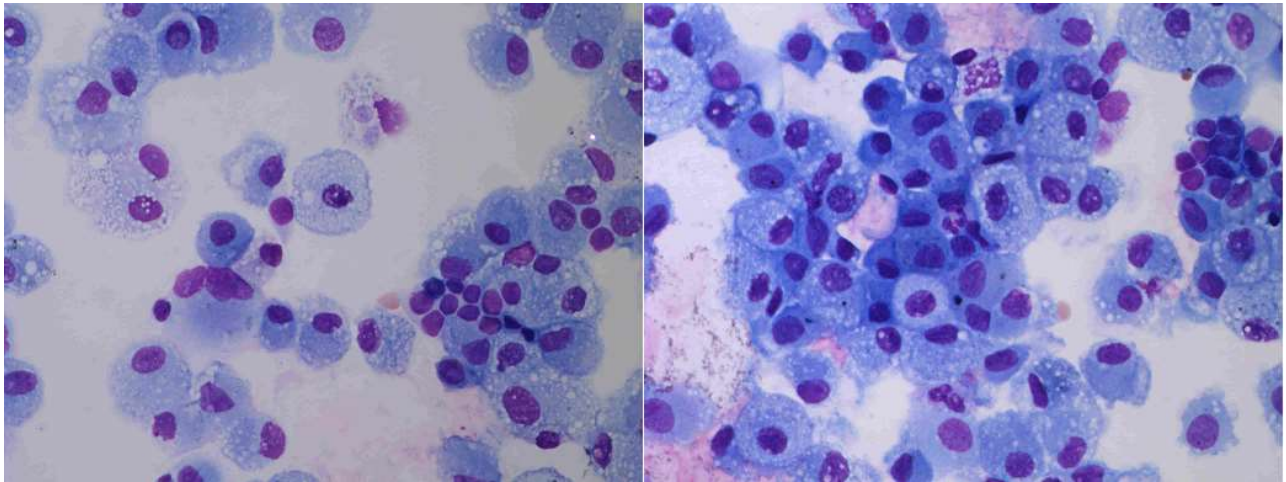
Näyte ID	Käyttökelpoinen		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

7.1 Pesuvaiheen vaikutus BAL-näytteen laatuun

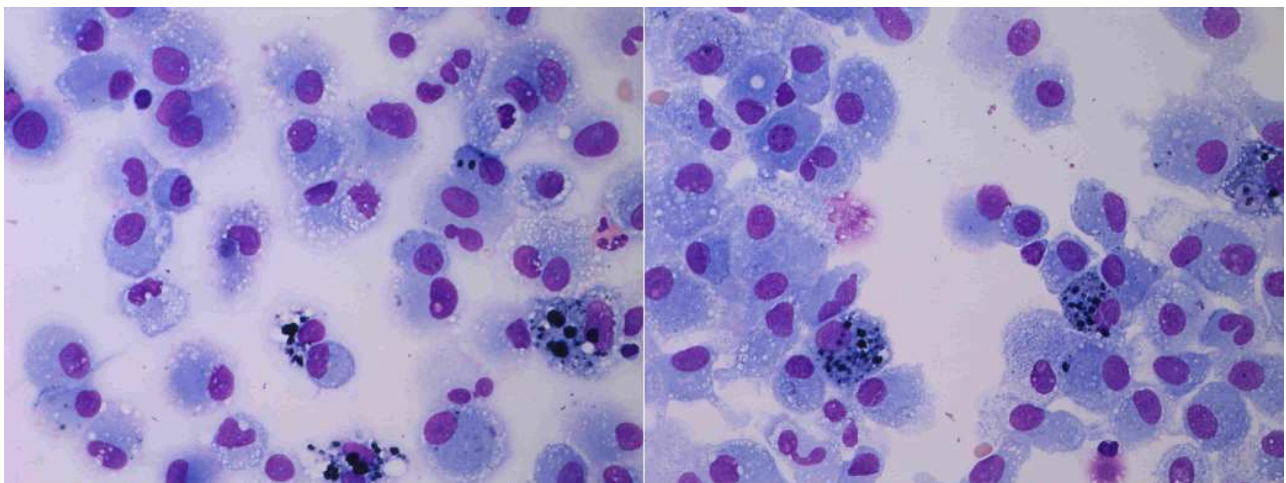
Esitarkastajan ja patologin kanssa oltiin samaa mieltä siinä, että pestyn ja pesemättömän lasin välillä ei ollut juuri minkäänlaista eroa. Joissain lasit olivat aivan identtiset (kuviot 13-15), eikä niitä olisi erottanut toisistaan ilman lasien tietoja. Näytteen 1 pestyn ja pesemättömän näytteen (kuvio 13) välillä ei näkynyt eroavaisuuksia. Makrofagit olivat värjäytyneet molemmissa näytteissä epätasaisesti ja niissä näkyi vakuolisaatiota. Molemmissa näytteissä näkyi neutrofiilejä ja oikean puoleisessa kaksi eosinofiiliäkin. Näytteen 2 pesty ja pesemätön näyte (kuvio 14) olivat molemmat tasaisesti värjäytyneitä. Eri kokoisia ja muotoisia makrofageja sekä pieniä lymfosyyttejä löytyi molemmista. Näytteessä 15 näkyi samaa makrofagien kokovaihtelua ja niiden syömiä mustia hiilipartikkeleita sekä pestyssä että pesemättömässä näytteessä (kuvio 15).



Kuvio 13. Näyte 1. Vasemmalla pesty näyte, oikealla pesemätön näyte.



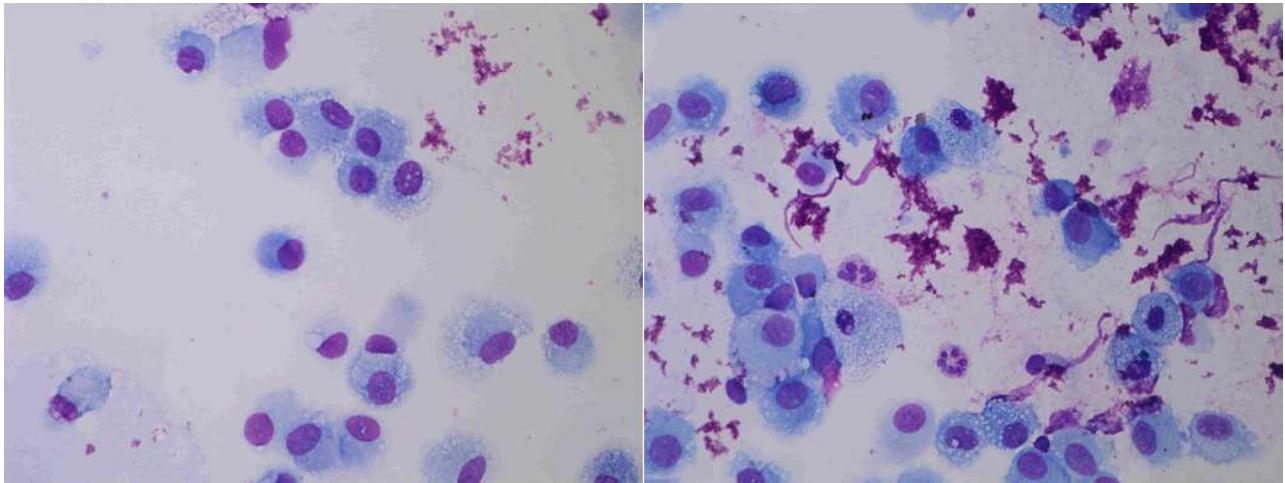
Kuvio 14. Näyte 2. Vasemmalla pesty näyte, oikealla pesemätön näyte.



Kuvio 15. Näyte 15. Vasemmalla pesty näyte, oikealla pesemätön näyte.

Muutamassa tapauksessa pesemättömän lasin taustalla näkyi jotain, johon väri oli tarttunut. Tämän otaksuttiin olevan esimerkiksi limaa tai hajonneiden solujen jäännöksiä. Näytteessä 6 (kuvio 16) näkyi sakkaa niin pestyssä kuin ilman pesua valmistetussa näytteessä. Sakkaa oli pesemättömässä näytteessä enemmän.

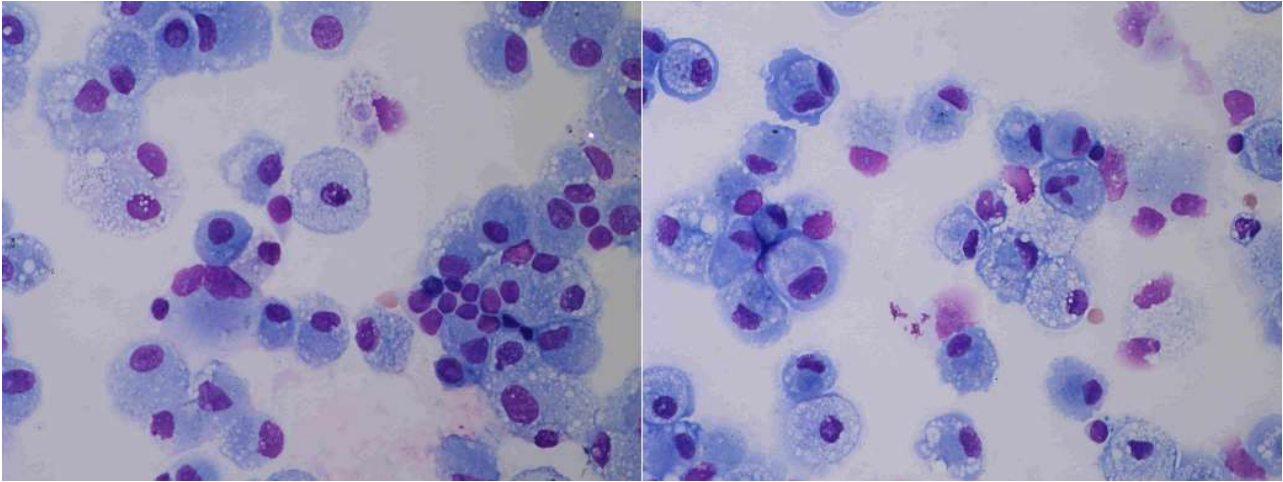
Taustan mahdollinen sotkuisuus ei tehnyt pesemättömien näytteiden tarkastelemisesta haastavampaa verrattuna pestyihin näytteisiin. Sekä esitarkastajan että patologin mielestä kaikista ilman pesua valmistetuista näytteistä olisi pystynyt tekemään valkosolujen erittelylaskennan yhtä hyvin kuin saman näytteen pestystä versiosta.



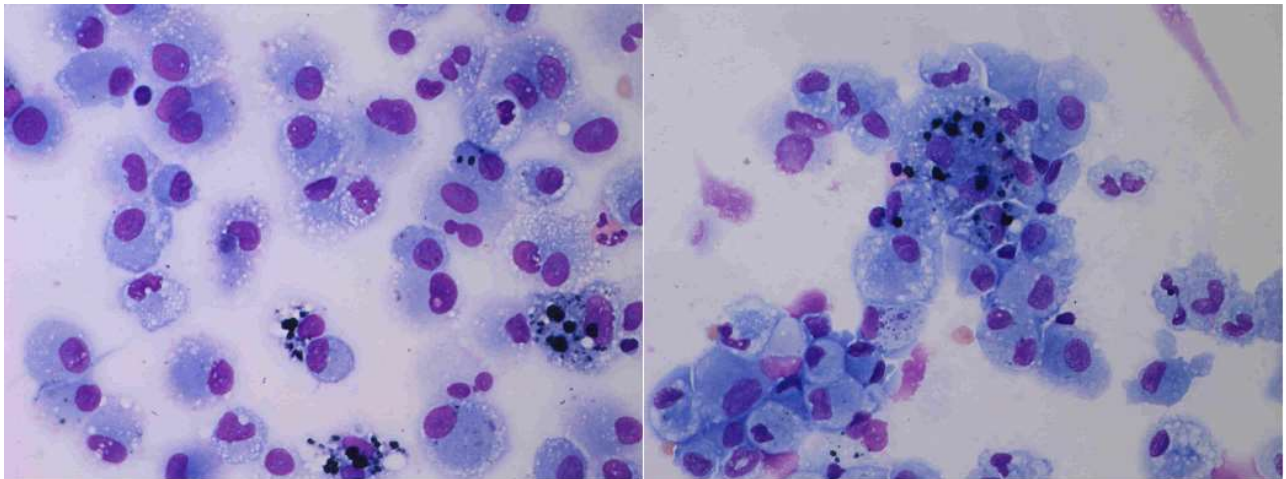
Kuvio 16. Näyte 6. Vasemmalla pesty näyte, oikealla pesemätön näyte.

7.2 Elatusaineessa säilyttämisen vaikutus BAL-näytteen laatuun

Pisimmissä 72 tunnin ja 96 tunnin säilytysajoissa näkyi 24 tunnin säilytystä enemmän solujen pyöreiden menettämistä ja reunan epätasaisuutta. Erittelylaskennan olisi kuitenkin pystynyt tekemään yhtä hyvin verrattuna saman näytteen ensimmäisiin, heti valmistettuihin laseihin. Kuvioden 17 ja 18 oikean puoleisissa kuvissa on esimerkkejä tyypillisistä muutoksista säilytysajan jälkeen. Näytteessä 2 oli havaittavissa makrofagien hajoamista, solukalvon epätasaisuutta ja solun ulkoreunan tummumista. Vertaamalla heti valmistettua näytettä 72 tunnin säilytyksen jälkeen valmistettuun (kuvio 17), oli helppo nähdä näytteessä 2 näkyvät säilytysajan seuraukset. Näytteessä 15 (kuvio 18) näkyi säilytyksen aiheuttamaa solujen kasaantumista ja toisiinsa tarrautumista. Esitarkastajan ja patologin kanssa oltiin yhtä mieltä siitä, että erittelylaskennan olisi pystynyt suorittamaan kaikkien säilyvyysaikojen jälkeen.

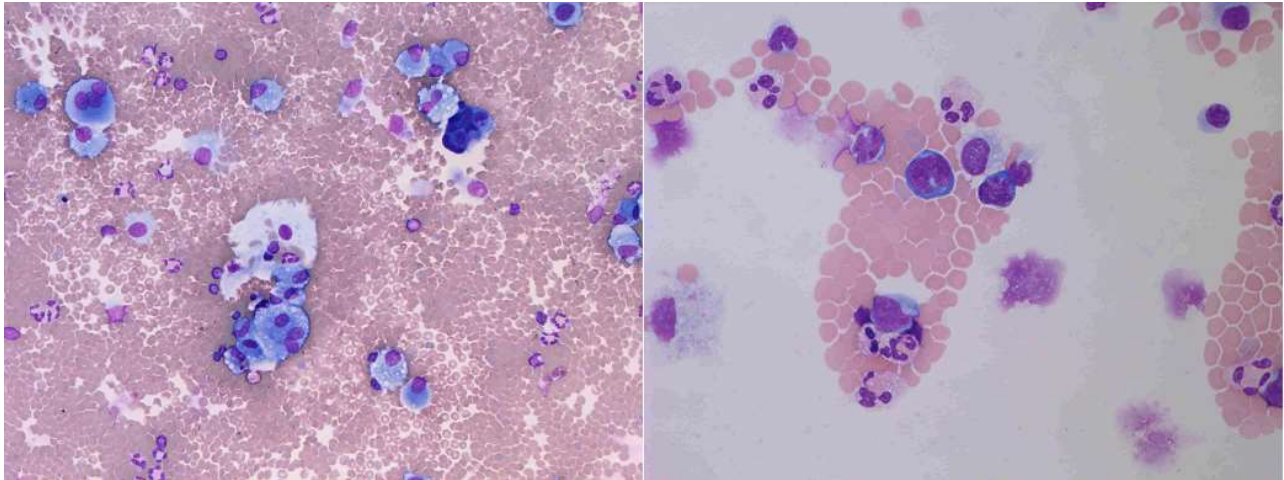


Kuvio 17. Näyte 2. Vasemmalla heti valmistettu, oikealla 72 tunnin säilytyksen jälkeen valmistettu näyte.



Kuvio 18. Näyte 15: 96 tunnin säilytyksen jälkeen valmistettu näyte.

Hyvin verisessä näytteessä punasolut tarroutuivat erityisesti suurikokoisiin makrofageihin, jolloin makrofagit jäivät hieman puristuksiin. Paksu punasolumassa leukosyyttien reunoilla hankaloitti solun rajojen hahmottamista, mikä saattoi johtaa virheisiin erittelylaskennassa. Veri häiritsi kaikissa näytteen laseissa yhtä paljon. Kuvion 19 vasemman puoleisessa kuvassa verisen näytteen 10 ensimmäinen lasi, joka valmistettiin näytteen saavuttua laboratorioon ja vastasi täten potilasnäytettä. Neutrofiilisestä, lymfosyyttisestä ja verisestä sekataulehduksesta esimerkki kuvion 19 oikean puoleisessa kuvassa. Normaalisti neutrofiilien määrä on korkeintaan kolme prosenttia (Pääkkö 2016).



Kuvio 19. Vasemmalla verinen näyte, oikealla sekatilehdus.

8 Pohdinta

Työn tuloksena havaittiin, että BAL-näytteen peseminen tai pesun pois jättäminen ei vaikuta näytteen laatuun merkittävästi. Pesun kanssa ja ilman pesua valmistetuista näytelaseista ei löytynyt merkittäviä eroja. Pesuvaihe päätettiin jättää pois työohjeesta. Näytteet säilyivät elatusaineessa yön ja viikonlopun yli, mutta näytteissä näkyi säilytyksen aiheuttamia muutoksia. Solujen kuivuminen, hajoaminen, kasaantuminen ja toisiinsa tarrautuminen, pyöreän muodon menettäminen, reunojen epätasaisuus ja solujen reunoille ilmestyneet tummat kehät korostuivat sitä enemmän, mitä kauemmin näytettä säilytettiin ennen sen valmistamista. Valkosolujen erittelylaskennan olisi pystynyt tekemään niin pesemättömästä kuin säilytetystäkin näytteestä yhtä hyvin kuin pestystäkin, kunhan näyte oli otettu oikein ja oli jo laboratorioon saapuessaan hyvälaatuinen.

8.1 Opinnäytetyön hyödyntäminen

Meilahden patologian laboratorio sai perustelun sille, että BAL-näytteiden työohjeen pesuvaihe ei paranna näytteiden laatua ja miksi vaihe voitiin jättää ohjeesta pois. BAL-näytteen käsittelyprosessi ja -aika patologian laboratoriossa lyheni ja työpisteen työntekijä pystyy rytmittämään muita työtehtäviään paremmin. Tämä mahdollisti yhden yhteisen työohjeen luomisen kaikille HUSLABin patologian laboratorioille, jolloin laborato-

rioiden välisiä eroja keuhkokuuhtelunäytteiden valmistustekniikoissa saatiin supistettua.

8.2 Jatkoehdotuksia

Työtä on mahdollista jatkaa tekemällä valkosolujen erittelylaskenta kaikista tätä työtä varten valmistetuista näytelaseista. Tällöin selviäisivät myös pesun poisjättämisen ja säilytyksen mahdolliset vaikutukset näytteen valkosolujen suhteisiin. Makrofagien suhteellisen määrän lasku nousi kysymykseksi jo tätä työtä tehdessä.

Tätä työtä varten säilytysaikatuokimukset tehtiin vain pestyistä näytteistä. Tutkimusta voisi täydentää säilyttämällä myös ilman pesua valmistettuja näytteitä yhden ja useamman vuorokauden. Näytteet säilytettiin RPMI-elatusaineessa, vaikka normaalisti näytteisiin lisätään lasien valmistamisen jälkeen FBS (Fetal Bovine Serum) -ravintoliuosta. Myös FBS:n vaikutukset näytteen laatuun olisi sopiva jatkoehdotus tälle työlle.

8.3 Eettisyys

Bioanalyytikon, laboratoriohoitajan eettisten ohjeiden (2006) mukaan potilaan hyvinvointi ja oikeuksien kunnioittaminen ovat etusijalla laboratoriotutkimusprosessin kaikissa vaiheissa. Laboratoriotutkimuksia varten on hankittava vain niiden suorittamisen kannalta välttämätön tieto, eikä mitään muuta. Ohjeiden mukaan tutkimus edellyttää potilaan suostumusta. Potilaita ei kuitenkaan informoitu tekemästani tutkimuksesta, sillä tutkimuksen kohteena eivät olleet potilasnäytteet vaan laboratoriomenetelmä. Jo-kaisen näytteen kohdalla arvioitiin, onko määrä riittävä myös tähän projektiin vai olisiko se riittänyt vain potilasnäytteisiin. Joitain niukkoja näytteitä hylättiin tästä syystä, eikä niitä otettu ollenkaan osaksi työtä.

Opinnäytetyötä tehdessä oltiin tekemisissä potilastietojen kanssa. Kaikkien tehtyjen näytteiden näytenuumerot kerättiin kirjanpitotaulukkoon (liite 1), jos näytteistä olisi sattunut löytymään tarkasteluvaiheessa jotain, jonka vuoksi näytteen alkuperä olisi pitänyt selvittää. Käytännön osuuden päätyttyä sensuroitiin numerot ja viivakoodit. Opinnäytetyötä varten tehtyihin näytelaseihin ei kirjoitettu mitään potilastietoja, vaan käytettiin omaa merkintätapaa ja näytteiden juoksevaa numerointia (kuvio 7). Myöskään missään

työtä varten otetuissa kuvissa ei näy potilaita tai heidän henkilötietojaan. Näin ollen kaikki projektin aikana esillä ja käsiteltävänä olleet potilastiedot ovat pysyneet - ja pysyvät edelleenkin - salassa.

Tätä työtä varten tarvittiin sekä Metropolian että HUS:n oma tutkimuslupa. Eettisen lautakunnan lausuntoa ei tarvittu, sillä tutkimus kohdistui näytteiden valmistustekniikkaan eikä potilaisiin.

8.4 Luotettavuus

BAL-näytteiden prosessissa on melko monta vaihetta. Monivaiheisuuden vuoksi näyteprosessin luotettavuus saattaa kärsiä monessa kohdassa. Jotta keuhkohuuhtelunäyte parhaiten ilmentäisi potilaan tilannetta, on prosessin vaiheiden toimittava hyvin. Keuhkoputkien tähytysten ja huuhtelunäytteen ottamisen on oltava perusteltua. Näytteen keräämisen toivotaan tapahtuvan mutkattomasti ja onnistuneesti. Huuhtelusuihku on suunnattava oikeaan kohteeseen, jotta se kerää mukaansa oikeita soluja. Kovin verisistä tai tulehtuneista keuhkoista irtoaa valkosolujen lisäksi punasoluja ja tulehdussoluja, jotka voivat hankaloittaa näytteen tulkittamista. Näyte on kerättävä ja pakattava oikeanlaisiin astioihin ja käsittelyä vaativat näytteet on käsiteltävä jo tähytysosastolla, jotta se säilyisi potilaan bronkoalveolaarista tilannetta vastaavassa tilassa laboratorioon asti. Kuljetuksen on tapahduttava kylmässä. Näytettä käsittelevän laboratorion työntekijän on oltava perehtynyt BAL-näytteiden valmistamiseen. Käsittely- ja valmistusprosessin jokaisessa vaiheessa on oltava varma siitä, että mahdollisesti samaan aikaan käsiteltävät näytteet eivät kontaminoi toisiaan tai mene sekaisin. Näytelasien värjäämisen on myös onnistuttava, jotta etsittävät partikkelit värjäytyvät oikealla tavalla. Myös patologin on tulkittava ja lausuttava näkemänsä havainnot oikein väärinkäsityksien välttämiseksi. Edellä mainituista tekijöistä näytettä käsittelevän laboratorion työntekijän osaaminen oli ainoa asia, johon pystyttiin vaikuttamaan työtä tehdessä. Omien taitojen taso varmistettiin tekemällä näytteet ohjaajien valvonnassa.

Näytteen piti olla runsas, jotta siitä pystyttiin tekemään valmiste sekä pesulla että ilman. Näytteitä oli lisäksi saatava useammasta potilaasta laadun ja luotettavuuden takaamiseksi. Näytteen edustavuus on usein ensimmäinen asia, johon joudutaan ottamaan kantaa ennen sen tarkastelua ja lausunnon antamista (Pääkkö 2016). Edustavuus oli keskiössä laseja tarkastellessamme. Valtaosa näytteistä oli edustavia ja onnistuneita. Erityisesti veriset ja tulehdukselliset näytteet (kuvio 19) eivät puolestaan olleet

kaikkein edustavimpia, mutta kuitenkin riittäviä. Näytteiden ja valmisteiden laatua arviointiin yhdessä esitarkastajan ja patologian asiantuntijoiden kanssa.

Mikään tiedonhauilla saatu tulos BAL-näytteiden työohjeista ei vastannut kaikkia HUSLABin patologian laboratorioden ohjeita. Löydetyt yleisohjeet (Tukiainen – Taskinen 1988) olivat vanhentuneita, jonka vuoksi vertailtiin vain laboratorioden omia, tulos-tettuja työohjeita. Meilahden työohje tunnettiin kaikkein parhaiten, sillä näytteet tehtiin sen mukaisesti. Vertailussa ei ole huomioitu mahdollista hiljaista tietoa, joka välittyy vain laboratorioden työntekijöiden välillä. Tämän vuoksi on mahdollista, että työohjeita on tulkittu virheellisesti. Työohjeiden olisi lähtökohtaisesti hyvä olla sellaisessa muodossa, että ne ovat sisäistettävissä lukemalla. Opinnäytetyön tarve ja aihe kuitenkin perustuvat siihen, että laboratorioden työohjeissa ja menetelmissä on eroja, joita saadaan vähennettyä luomalla uusi yhteinen työohje.

Opinnäytetyötä kirjoittaessa pyrittiin käyttämään vain luotettavista lähteistä löydettyä tietoa. Lähdetekstien yhteyteen on liitetty tieto, mistä ne ovat peräisin ja tarkistettavissa.

Alun perin suunnitelmaan kuului vertailla eri laboratorioissa niiden omilla ohjeilla tehtyjä näytelaseja. Laseja piti pyytää Meilahden, Jorvin ja Hyvinkään patologian laboratorioista kymmenen kustakin, jolloin vertailtavia laseja olisi ollut yhteensä kolmekymmentä. Käytännön toteutuksen alkaessa päädyttiin kuitenkin jättämään tämä kokonaan väliin ja keskittymään valmistustekniikojen vertailuun.

9 Työn julkistaminen

Työ julkistettiin ensimmäisen kerran Laboriolääketiede ja näyttelyssä 6. ja 7. loka-kuuta posterin muodossa. Metropolia Ammattikorkeakoulussa 15. marraskuuta 2016 järjestetyssä opinnäytetyöseminaarissa esiteltiin valmis työ. Opinnäytetyö julkistettiin lisäksi HUSLABin patologian laboratioissa. Esittelytilaisuudet pidettiin sekä Meilahden että Jorvin patologian laboratioissa marras-joulukuussa 2016. Hyväksytyt ja paranneltu työ ladattiin Theseus- opinnäytetyö- ja julkaisutietokantaan, josta se on vapaasti luettavissa.

Lähteet

Anttila, Sisko 2012. Kudosnäytteiden vierashiukkasten toteaminen ja määrän arvioiminen. Teoksessa Mäkinen, Markus – Carpén, Olli – Kosma, Veli-Matti – Lehto, Veli-Pekka – Paavonen, Timo – Stenbäck, Frej (toim.): Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 565-566.

Bioanalyytikon eettiset ohjeet 2006. Suomen bioanalytikkoliitto ry. Verkkodokumentti. <<http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+suomi+2011+%281%29.pdf>> Luettu 3.11.2016.

Bronchoscopy n.d. U.S. National Library of Medicine. Verkkodokumentin kuva. Päivitetty 26.4.2014. <<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/9138.htm>> Luettu 17.3.2016.

Hodgson, Ulla 2014. Harvinaiset keuhkosairaudet. Teoksessa Kaarteenaho, Riitta – Brander, Pirkko – Halme, Maija – Kinnula, Vuokko (toim.): Keuhkosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 270-282.

Hodgson, Ulla - Lindström, Irmeli - Pallasaho, Paula - Suojalehto, Hille 2014. Asbestiin liittyvät sairaudet ja pölykeuhkosairaudet. Kustannus Oy Duodecim. Verkkootikkeli. <<http://www.oppiportti.fi/op/kes00271/do>> Luettu 17.11.2016.

Huang, Yuh-Chin – Bassett, Mary Ann – Levin, Debra – Montilla, Tracy – Ghio, Andrew 2006. Acute Phase Reaction in Healthy Volunteers After Bronchoscopy with Lavage. Chest 129 (6). 1565-1569.

HUSLAB n.d. Bronkoalveolaarisen lavaationäytteen sytologinen tutkimus, bronkoalveolaarihuuhtelunesteestä. BI-BAL. HUSLAB-liikelaitos. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 20.3.2015. <<http://huslab.fi/ohjekirja/3784.html>> Luettu 28.3.2016.

Hyvinkää 2016. BAL-työohje. Palvelutuotanto/menettelyohje. Versio 5.0. HUSLAB-liikelaitos. Saatavilla Hyvinkään patologian laboratorion kautta.

Jokiranta, Sakari – Siikamäki, Heli – Meri, Seppo 2011. Parasitologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 65-77.

Jorvi 2016. Bronkoalveolaarinen lavaatio (BAL) -työohje. Menetelmäohje. Versio 5. Laatiija: T. Huotari, P. Manninen 17.5.2010. Tarkastaja: A. Rissanen 27.8.2010. Hyväksyjä: S. Anttila. HUSLAB-liikelaitos. Saatavilla Jorvin patologian laboratorion kautta.

Kaarteenaho, Riitta – Jartti, Ari 2011. Diffuusit keuhkoinfiltraatit – radiologiasta klinikkaan. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 127 (2). 197-207. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_action=1&p_p_state=maximized&viewType=viewArticle&tunnus=duo99307>.

Kaarteenaho, Riitta – Pääkkö, Paavo – Anttila, Sisko 2012. Sienten aiheuttamat keuhkotulehdukset. Teoksessa Mäkinen, Markus – Carpén, Olli – Kosma, Veli-Matti – Lehto, Veli-Pekka – Paavonen, Timo – Stenbäck, Frej (toim.): Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 543-544.

Karjalainen, Antti – Tukiainen, Pentti 1997. Keuhkokuuhtelunäytteen ja keuhkokudoksen asbestimääritykset asbestisairauksien diagnostiikassa. Suomen lääkärilehti 52 (31). 3587-3590.

Lyly, Teppo 2012. Sanasto. Teoksessa Mäkinen, Markus – Carpén, Olli – Kosma, Veli-Matti – Lehto, Veli-Pekka – Paavonen, Timo – Stenbäck, Frej (toim.): Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 1197-1222.

Meilahti 2016. BAL- työhjeet. HUSLAB-liikelaitos. Saatavilla Meilahden patologian laboratorista.

Myllärniemi, Marjukka – Hodgson, Ulla – Tukiainen, Pentti – Kinnula, Vuokko 2005. Keuhkoparenkymisairauksien diagnostiikka ja hoito. Suomen Lääkärilehti 60 (33). Helsinki: Lääkärilehti. 3125-3132.

Pajunen, Marjo – Siimes, Martti 1993. Elämä syövän jälkeen. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 109 (10). 935-941. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_auth=uo1IE58T&p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_viewType=viewArticle&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_tunnus=duo30162&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_p_frompage=uusinnumero>.

Pietinalho, Anne 2009. Salakavala sarkoidoosi. Suomen Lääkärilehti 64 (13). Helsinki: Lääkärilehti. 1235-1241.

Pirinen, Risto – Kosma, Veli-Matti – Pääkkö, Paavo 2012. Keuhkojen sytologiset näytteet. Teoksessa Mäkinen, Markus – Carpén, Olli – Kosma, Veli-Matti – Lehto, Veli-Pekka – Paavonen, Timo – Stenbäck, Frej (toim.): Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 557-558.

Pääkkö, Paavo 2016. BAL-tutkimuksen sytologian ABC. Luento. Laboratoriolääketiede ja näyttely. Helsinki. 6.10.

Randell, Jukka – Koskela, Heikki 2014. Keuhkoputken tähyystys. Teoksessa Kaarteenaho, Riitta – Brander, Pirkko – Halme, Maija – Kinnula, Vuokko (toim.): Keuhkosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 64-80.

Sand, Olav – Sjaastad, Øystein V. – Haug, Emil – Bjälje, Jan G. – Toverud, Kari C. 2013. Ihminen. Fysiologia ja anatomia. 8.-10. painos. Hekkanen, Raila (suom.) Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Stenbäck, Frej – Klemi, Pekka 2012. Näytteenottotavat. Teoksessa Mäkinen, Markus – Carpén, Olli – Kosma, Veli-Matti – Lehto, Veli-Pekka – Paavonen, Timo – Stenbäck, Frej (toim.): Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 1145.

Terashima, Takeshi – Amakawa, Kazuhisa – Matsumaru, Akiko – van Eden, Stephan – Hogg, James – Yamaguchi, Kazuhiro 2001. BAL Induces an Increase in Peripheral Blood Neutrophils and Cytokine Levels in Healthy Volunteers and Patients with Pneumonia. Chest 119 (6). 1724-1729.

Terveyskirjasto 2016. Lääketieteen sanasto. Kustannus Oy Duodecim.

Tukiainen, Pentti – Taskinen, Eero 1988. Bronkoalveolaarinen huuhtelu – ikkuna keuhkoihin. Duodecim 104 (6). 378-385.

Työterveyslaitos 2015. Allerginen alveoliitti. Ammattitaudit ja työperäiset sairaudet. Työterveyshuolto. Verkkodokumentti.
<http://www.ttl.fi/fi/tyoterveyshuolto/ammattitaudit/tavallisimpia_ammattitauteja/allerginen_alveoliitti/Sivut/default.aspx> Luettu 23.2.2016

Uibu, Toomas 2001. Lumipyry keuhkoissa. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 117 (12). 1247-1249. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa
<http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_auth=AJ9GHinv&p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&Article_WAR_DL6_Articleportlet_viewType=viewArticle&Article_WAR_DL6_Articleportlet_unnus=duo92323&Article_WAR_DL6_Articleportlet_p_frompage=uusinnumero>.

1 (2)

Näytteiden kirjaamistaulukko

	näytenro	pvm	pesuilla / nyt v	ilman pesuja v	24h pvm	v	72h pvm	v
✓	Näyte 1	8.9.	✓	✓	9.9.	✓	96h 12.9.	✓
✓	Näyte 2	9.9.	✓	✓			12.9.	✓
✓	Näyte 3	12.9.	✓	✓	13.9.	✓	15.9.	✓ + 96h 16.9. ✓
✓	Näyte 4	13.9.	✓		14.9.	✓	16.9.	✓
✓	Näyte 5	14.9.	✓	✓	15.9.	✓		
✓	Näyte 6	14.9.	✓	✓	15.9.	✓		
✓	Näyte 7	16.9.	✓	✓			19.9.	✓ + 96h 20.9. ✓
✓	Näyte 8	16.9.	✓	✓			19.9.	✓ + 96h 20.9. ✓
✓	Näyte 9	19.9.	✓	✓	20.9.	✓	22.9.	✓
✓	Näyte 10	20.9.	✓	✓	21.9.	✓	23.9.	✓

2 (2)

	näytenro	pvm	pesuilla / nyt v	ilman pesuja v	24h pvm	v	72h pvm	v
✓	Näyte 11	20.9.	✓	✓	21.9.	✓	23.9.	✓
✓	Näyte 12	21.9.	✓	✓	22.9.	✓		
✓	Näyte 13	21.9.	✓	✓	22.9.	✓		
✓	Näyte 14	23.9.	✓	✓			26.9.	✓ +96h 27.9. ✓
✓	Näyte 15	23.9.	✓	✓			26.9.	✓ +96h 27.9. ✓
✓	Näyte 16	26.9.	✓	✓	27.9.	✓	29.9.	✓
✓	Näyte 17	27.9.	✓	✓	28.9.	✓	30.9.	✓
✓	Näyte 18	27.9.	✓	✓	28.9.	✓	30.9.	✓
✓	Näyte 19	27.9.	✓	✓	28.9.	✓	30.9.	✓
	Näyte 20							

Näytteiden tarkastelun tulokset

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	
Näyte 1	X												
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X				X		
MGG ei pesua				X			X				X		Näyttää samanlaiselta kuin pesty näyte.
Fe ei pesua				X			X				X		
MGG 24h				X			X				X		Ehkä hieman hajoamista, mutta johtuuko säilytyksestä? Osa soluista ihan normaalin näköisiä.
Fe 24h				X			X				X		
MGG 96h				X			X				X		Näkyvissä enemmän hajoamista, mutta edelleen normaaleita, ehjiä soluja.
Fe 96h				X			X				X		
Näyte 2	X												Rautaposiitiivinen.
MGG pesu				X			X				X		Ei näy niin paljon kehiä kuin MGG 72h:ssa.
Fe pesu				X			X				X		Kehät näkyvät tässäkin
MGG ei pesua				X			X				X		Ei eroa pestyyn.
Fe ei pesua				X			X				X		Ei eroa pestyyn.
MGG 72h				X			X				X		Makrofagien ympärillä tummia kehiä.
Fe 72h				X			X				X		Ei eroa pestyyn.

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 3	X													Näytteessä näkyy liilertäviä tahroja, "haamusoluja" ja taustasakkaa.
MGG pesu				X			X				X			
Fe pesu				X			X				X			
MGG ei pesua				X			X				X			Ehkä vähän enemmän taustasakkaa kuin pestyssä näytteessä.
Fe ei pesua				X			X				X			Positiiviset solut vähän sinisempiä kuin pestyssä näytteessä.
MGG 24h				X			X				X			Näkyy paljon sakkaa, eli sakan määrä ei riipu pesun poisjättämisestä. Näkyy hajoamista.
Fe 24h				X			X			X	X			Tummemmin värjäytynyt kuin aikaisemmat Fe-lasit. Esitarkastajien mielestä näytteen paras Fe-lasi.
MGG 72h				X			X				X			Solut ja tumat venyneitä, sytoplasman reuna epätasainen. Näkyy myös muutamia kehiä solujen reunoilla.
Fe 72h				X			X				X			Suurempi kontrasti: negatiiviset vaaleamman punaisia ja positiiviset tummemman sinisiä.
MGG 96h				X			X				X			Näkyy selkeitä kehiä solujen ympärillä.
Fe 96h				X			X				X			Näyttää paremmalta kuin ensimmäinen pesty lasi. Positiiviset kunolla sinisiä.
Näyte 4	X													
MGG pesu				X			X				X			Näkyy vähän kehiä, vähän sakkaa, jonkin verran irtonaisia tumia ilman sytoplasmaa.
Fe pesu				X			X		X		X			Aika vaalea.
MGG 24h				X			X				X			Taustalla näkyy jotain sotkua.
Fe 24h				X			X				X			Positiiviset vahvemmin sinisiä. Soluja, joissa vain kehä on sininen.
MGG 72h				X			X				X			Näkyy bakteereja siellä täällä.
Fe 72h				X			X				X			Selkeämmin negatiivinen kuin muut Fe:t.

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	
Näyte 5	X												
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X				X		
MGG ei pesua				X			X		X		X		Aavistuksen vaaleampi kuin pesty. Näkyy vähän makrofagien hajonnutta sytoplasmaa.
Fe ei pesua				X			X		X		X		Vaaleampi, vähemmän värjäytynyt.
MGG 24h				X	X		X	X			X		Aika runsas näyte.
Fe 24h				X	X		X	X			X		Sekä näytettä että positiivisia soluja enemmän kuin muissa näytteen Fe-laseissa. Rauta näkyy erittäin selkeästi.
Näyte 6	X												
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X		X		X		Haalea.
MGG ei pesua				X			X				X		Vähän enemmän sakkaa kuin pestyssä, muuten ei eroa.
Fe ei pesua				X			X				X		
MGG 24h			X	X			X		X		X		Vähän ohuempi ja vaaleampi näyte. Näkyy muutamia kehiä.
Fe 24h				X			X				X		Todella selkeästi negatiivinen.

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 7	X												Rautaposiitiivinen.
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X				X		
MGG ei pesua				X			X				X		Hennomman näköisiä soluja. Hieman hajoamista?
Fe ei pesua				X			X				X		Todella saman näköinen kuin pesty.
MGG 72h				X			X				X		Solut enemmän kasoissa, toisiinsa tarrautuneina, raharullissa. Näkyy myös kehiiä ja muutama vakuoli.
Fe 72h				X			X				X		Rauta näkyy ehkä vähän paremmin kuin muissa näytteen Fe-laseissa.
MGG 96h				X			X				X		Muutamien makrofagien sytoplasman reuna epätasainen. Näkyy myös vakuoleja.
Fe 96h				X			X				X		Saman näköinen kuin näytteen muut Fe-lasit.
Näyte 8	X												Näytteen rautalasiset ovat yllättävän tasalaatuisia.
MGG pesu				X			X			X	X		Todella tumma.
Fe pesu				X			X				X	X	Epäspesifisesti värjäytynyt: osa negatiivisista soluista todella tumman pinkkejä, osa hyvin vaaleita.
MGG ei pesua				X			X				X		Solurajat suttuisia. Vähän vaaleampi ja vähän vähemmän näytettä, siksi huonompi kuin pesty.
Fe ei pesua				X			X		X		X		Vaaleampi kuin pesty.
MGG 72h				X	X		X	X			X		Paksumpi näyte, siksi vähän huonompi kuin pesty.
Fe 72h				X			X				X		Noudattelee edellisiä.
MGG 96h				X			X				X		Näkyy pientä levähtämistä, solukalvo ei täydellisen pyöreä. Näkyy aika paljon vakuoleja.
Fe 96h				X			X		X		X		Vähän vaalea.

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 9		X												Märkäinen, neutrofiilinen tulehdus, joka aiheuttaa solujen hajoamista.
MGG pesu				X			X				X			
Fe pesu			X			X			X					
MGG ei pesua			X	X		X	X				X			
Fe ei pesua			X			X			X					
MGG 24h			X			X					X			Makrofageihin tarttunut sekä neutrofiilejä että taustasuttua. Solujen reunat hapsottavat.
Fe 24h			X			X					X			Ne vähän negatiiviset makrofagit mitä on, näkyvät paremmin
MGG 72h														Näyte irronnut lasista värjäyksessä.
Fe 72h			X			X			X					Todella vaalea.
Näyte 10	X	X												Verinen näyte, siksi näyte irronnut rautalaseista? Laskeminen olisi haastavaa, mutta onnistuisi.
MGG pesu				X	X		X	X			X			Jotkin leukosyytit turvonneet/hajonneet veren takia?
Fe pesu							X				X			Punasolut hajonneet.
MGG ei pesua				X			X				X			Vähän harvempi kuin pesty, eli parempi.
Fe ei pesua														Lasilla ei näy näytettä.
MGG 24h				X			X				X			
Fe 24h			X	X		X	X							Vähän parempi kuin edelliset, edelleen kuitenkin niukahko.
MGG 72h				X			X				X			Venähtäneitä soluja.
Fe 72h			X			X			X					Tosi vaalea ja huono, koko värjäys todella heikko, ei pystyisi laskemaan.

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 11	X												Verinen, neutrofiilinen ja lymfosyyttinen epäspesifinen sekataulehdus. Pystyisi laskemaan verestä huolimatta
MGG pesu				X			X				X		Taustalla paljon hajonneiden solujen jäämiä.
Fe pesu				X			X		X		X		Aika haalea.
MGG ei pesua				X			X				X		Aika paljon hajonneita soluja, taustalla myös suttua.
Fe ei pesua				X			X		X		X		Yhtä haalea kuin pesty.
MGG 24h			X	X		X	X				X		Vähän harvempi kuin edelliset.
Fe 24h				X			X		X		X		Näkyv venymistä ja kasautumista, vaikei se tässä värjäyksessä merkitsekään.
MGG 72h				X			X				X		Näkyv selkeää kasaantumista.
Fe 72h				X			X				X		Vähän siistimpi kuin 24h. Paljon solu-lima-kasoja.
Näyte 12	X												Vähän hassu. Soluissa reikiä, ei näy lymfosyyttejä. Vaikuttaisiko jokin sairaus tai lääkitys tähän? Rautaposiivinen.
MGG pesu				X			X				X		Solut vähän hajalla. Makrofagien reunat epätasaisia.
Fe pesu				X			X				X		Niin positiivinen, että etsittiin asbestia, jota ei kuitenkaan löytynyt.
MGG ei pesua				X			X				X		Samanlainen kuin pesty.
Fe ei pesua				X			X				X		Samanlainen kuin pesty.
MGG 24h				X			X						Lasi oli liian kauan värjäyksen viimeisessä puskurissa. Onnistunut värjäyksen epäonnistumisesta huolimatta.
Fe 24h				X			X			X	X		Vähän tummemmin värjäytynyt, muuten noudattelee edellisiä.

7 (10)

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 13	X												Neutrofiilipohjainen. Rautaposiitiivinen.
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X				X		
MGG ei pesua				X	X		X	X		X	X		Aavistuksen tummempi kuin pesty, mutta näyttää myös olevan enemmän näytettä.
Fe ei pesua				X	X		X	X		X	X		Vähän tummempi kuin pesty ja ehkä vähän vähemmän näytettä.
MGG 24h				X		X	X		X		X		Lasi oli liian kauan värjäyksen viimeisessä puskurissa. Vaaleampi ja vähemmän näytettä kuin ensimmäinen pesty näyte.
Fe 24h				X			X				X	X	Väri on haaleampi reunoilta ja tummempi keskeltä.
Näyte 14	X												Kontaminoitunut, näkyy levyepiteelisoluja. Rautaposiitiivinen.
MGG pesu				X			X			X	X	x	Todella tumma, ylivärjäytynyt? Näkyy bakteerilauttoja.
Fe pesu				X			X			X	X	x	Voimakkaasti positiivinen, myös voimakkaasti värjäytynyt. Vähän suttuinen.
MGG ei pesua				X			X			X	X	X	Yhtä tumma ja epätasainen kuin pestykin.
Fe ei pesua				X			X				X		Hieman vähemmän näytettä kuin pestyssä, siksi paremman näköinen.
MGG 72h				X			X				X		
Fe 72h				X			X				X		Pinkimpi kuin edelliset Fe-lasit. Negatiiviset ja positiiviset solut näkyvät selkeämmin.
MGG 96h				X			X				X		Hyvän näköisiä soluja. Ei aivan niin tummasti värjäytyneet kuin edelliset.
Fe 96h				X			X				X		Tummempi, solut erottuvat paremmin.

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 15	X												Asbestikappaleita.
MGG pesu				X			X				X		Makrofagien sisällä näkyy mustia kappaleita, nokea?
Fe pesu				X			X				X		Näyttää juuri siltä miltä Fe-lasin kuuluisikin: negatiiviset ovat vaaleita ja positiiviset tummia.
MGG ei pesua				X			X				X		Saman näköinen kuin pesty. Ehkä pientä venymistä.
Fe ei pesua				X			X				X		Samanlainen kuin pesty.
MGG 72h				X			X				X		Tasaisemman näköinen kuin ei pesty.
Fe 72h				X			X				X		Negatiiviset pinkimpiä kuin edellisissä.
MGG 96h			X	X		X	X		X		X		Vähän harvempi ja vaaleampi. Solut enemmän kasoissa, raharullissa.
Fe 96h				X			X				X		Tausta hieman utuisempi kuin muissa Fe-laseissa.
Näyte 16	X												Rautapositiivinen.
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X				X		Tuman ja sytoplasman kontrasti pieni: vain tumakalvo on aavistuksen tummempi kuin tuma ja sytoplasma.
MGG ei pesua				X			X				X		Ei eroa pestystä. Ehkä hieman vaaleampi.
Fe ei pesua				X			X				X		Tuma-plasma kontrasti yhtä olematon kuin pestyssä.
MGG 24h				X			X				X		Ehkä hieman kasaantumista, muuten ei eroa edellisiin MGG-laseihin.
Fe 24h				X			X				X		Tumat vähän tummempia kuin plasma, tausta suttuisempi.
MGG 72h				X	X		X				X		Vähän paksumpi, värjäys ei kuitenkaan liian tumma. Hajoamisen merkkejä, venymistä, kasaantumista.
Fe 72h				X			X				X		Tumat tummempia kuin sytoplasma. Ympärillä näkyy töhnää, hajoamista? Solujen ympärillä näkyy töhnää, hajoamista?

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 17	X	X											Neutrofiilinen, verinen tulehdus. Punasoluja ja neutrofiilejä kerääntynyt makrofagien ympärille.
MGG pesu					X		X				X		Makrofagit eivät ole kovin teräväreunaisia, mikä johtunee tulehduksesta.
Fe pesu				X			X		X		X		Erittäin haalea. Kohtalaisen negatiivinen, muutama heikosti positiivinen?
MGG 24h				X	X		X				X		Makrofagit alkavat kerääntyä lautoiksi, jotka keräävät muuta näytettä. Soluissa näkyy hajoamista.
Fe 24h													Todella isoja kasoja, ei pysty laskemaan.
MGG 72h				X			X						Harvempi näyte. Isompia solukasoja. Paljon hajonneiden solujen jäämiä taustalla. Ei ehkä pysty laskemaan.
Fe 72h			X			X							Niukka, pelkkiä kasoja. Ei pysty laskemaan.
Näyte 18	X												Todella lymfosyyttinen näyte.
MGG pesu				X			X				X		Taustalla utusia solujen jäämiä tai limaa?
Fe pesu				X			X		X		X		Täysin negatiivinen. Melko vaalea.
MGG ei pesua				X			X				X		Aivan saman näköinen kuin pesty.
Fe ei pesua				X			X				X		Aavistuksen tummempi kuin pesty.
MGG 24h				X			X				X		Hieman enemmän hajonneita soluja. Lymfosyytit alkavat kerääntymään makrofagien kylkiin.
Fe 24h				X			X		X				Tosi vaalea, vaikea erottaa soluja. Tummat erottuvat vähän paremmin.
MGG 72h				X			X				X		Enemmän kasaantumista kuin 24h:ssa, myös hajoamistuotteita. Näkyy myös kehä.
Fe 72h			X			X			X				Vielä haaleampi kuin 24h ja vähän näytettä. Näkyy kasoja.

10 (10)

Näyte ID	Käyttökelpoin.		Näytteen paksuus			Solujen määrä			Värjäytyvyys				Kommentteja (näytteestä, solujen hajoamisesta, mistä vain)
	Kyllä	Ei	Ohut	OK	Paksu	Vähän	OK	Paljon	Vaal.	Tumm.	OK	Epätas.	

Näyte 19	X												Rautanegatiivinen.
MGG pesu				X			X				X		
Fe pesu				X			X				X		Hyvin värjäytyneet makrofagit säilyneet hyvin.
MGG ei pesua			X			X							Vähemmän näytettä. Näytteelle selkeästi tapahtunut jotain prosessin aikana, ei käyttökelpoinen.
Fe ei pesua				X			X				X		Ihan saman näköinen kuin pesty.
MGG 24h				X			X				X		Samana näköinen kuin ensimmäinen pesty MGG-lasi. Vähän hajoamista, epätasaisia reunoja ja kehiä.
Fe 24h				X			X				X		Pientä kasaantumista. Tumat näkyvät hieman paremmin kuin ensimmäisessä pestyssä Fe-lasissa.
MGG 72h				X			X				X		Näky enemmän kehiä ja kasoja.
Fe 72h				X			X			X	X		Muutama heikosti positiivinen, muuten selkeästi negatiivinen. Vähän tummempi ja kasaantuneempi kuin muut Fe-lasit.

Sanastoa

Alveolaarinen proteinoosi: *alveoleihin kertyy proteiineja ja fosfolipidejä.*

Alveoliitti: *allerginen keuhkokudossairaus, homepölykeuhko.*

Anteriorinen: *kehon etuosa, rinnan ja kasvojen puoli.*

Hypoksemia, hypoksia: *kudosten hapenpuute.*

Interstitiaalinen: *perifeerisissä osissa esiintyvä.*

Karsinoosi: *laajalle levinnyt syöpäkudos, yleissyöpäisyys.*

Langerhansinsoluhistiosytoosi: *Langerhansin solujen lisääntyminen keuhkoissa.*

Proksimaalinen: *lähellä vartalon keskusta sijaitseva.*

Segmentti eli jaoke: *keuhkolohkon alue, johon päättyy yksi pääkeuhkoputken ja keuhkovaltimon päähaara.*

Superiorinen: *kehon yläosa vaakasuorassa tasossa jaettuna.*

Sädefibroosi: *keuhkon kutistuminen ja arpeutuminen.*