

Honkimaan Anna-Liisa & Leinonen Lotta

KUDOSNÄYTTEIDEN ORIENTOINTI JA VALAMINEN SEKÄ LEIKKAAMINEN

Työohjeita Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikölle

KUDOSNÄYTTEIDEN ORIENTOINTI JA VALAMINEN SEKÄ LEIKKAAMINEN

Työohjeita Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikölle

Honkima Anna-Liisa & Leinonen
Lotta
Opinnäytetyö
Syksy 2017
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Oulun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tekijät: Honkimaa Anna-Liisa & Leinonen Lotta

Opinnäytetyön nimi: Kudosnäytteiden orientointi ja valaminen sekä leikkaaminen: Työohjeita Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikölle

Työn ohjaaja: Paldanius Mika & Reponen Paula

Työn valmistuslukukausi ja -vuosi: Syksy 2017

Sivumäärä: 29 + 34

Tämä on toiminnallinen opinnäytetyö, jonka toimeksiantaja on Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikkö. Tavoitteena on kehittää tulosyksikön toimintaa yhtenäistämällä työtapoja ja varmistamalla työtapojen oikeellisuus opinnäytetyön tuotoksena syntyneiden työohjeiden avulla sekä parantaa työn laatua pidemmällä aikavälillä. Työohjeiden käyttäjinä toimivat laboratoriohoitajat patologian tulosyksiköstä. Muita mahdollisia käyttäjiä ovat yksikköön harjoitteluun tulevat bioanalytiikan opiskelijat sekä uudet perehdytettävät työntekijät.

Opinnäytetyön tuloksena syntyi kaksi erillistä työohjetta työpisteille ”Näytteiden orientointi ja valaminen” sekä ”Näytteiden leikkaaminen”. Jälkimmäiseksi mainitussa käsitellään sekä vesiliukumikrotomilla että liukumikrotomilla leikkaaminen. Työohjeissa prosessit läpikäydään vaihe vaiheelta niin, että työ voidaan toistaa annetun ohjeen perusteella. Lisäksi ohjeissa annetaan tietoa työturvallisuudesta.

Jatkoprojektina voitaisiin luoda yhtenäistetty pohja helpottamaan työohjeiden kokoamista tulevaisuudessa. Pohjan toimivuutta lisäisivät ennalta määritellyt asetukset, tyyli ja kuvakoko. Suurempana projektina, tietoperustaa laajentamalla ja työohjeita muokkaamalla yleisluontoisemmiksi, voitaisiin työohjeista muotoilla myös oppikirja.

Asiasanat: työohje, histologiset menetelmät, mikrotomia, kudosleikkeiden valmistaminen

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree programme in Biomedical Laboratory Science

Authors: Honkimaana Anna-Liisa & Leinonen Lotta
Title of thesis: Orienting, embedding and sectioning tissue samples: Working instructions for Lapland Central Hospital Pathology Profit Centre
Supervisor(s): Paldanius Mika & Reponen Paula
Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2017 Number of pages: 29 + 34

This is a practice-based thesis commissioned by Lapland Central Hospital Pathology Profit Centre. The aim is to improve function of the profit center's processes by creating working instructions which are the products of this thesis. Working instructions standardizes working methods and ensures their accuracy. The users of working instructions are profit center's laboratory assistants. Other possible users are biomedical laboratory science students and new employees who are familiarized with the work tasks.

The result of this thesis is two different working instructions "Orienting and embedding the samples" and "Sectioning the samples". The latter working instruction consists cutting with both a sliding microtome and rotary microtome with section transfer system. In the working instructions, the processes are experienced step by step so that the work is reproducible. Instructions also include information about work safety.

In future, a standardized template could be created to simplify the compilation of working instructions. Predetermined layout, style and format would add functionality to the template. As a bigger project, it would be possible to build up a textbook from the working instructions. This would require expanding the knowledge basis and adapting the working instructions more general.

Keywords: working instructions, histological techniques, microtomy, tissue embedding

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	HISTOLOGINEN LABORATORIOPROSESSI.....	8
2.1	Näytteen saapuminen laboratorioon.....	8
2.2	Näytteen fiksaatio	8
2.3	Näytteen esikäsittely	9
2.4	Kuduskuljetus eli kudoksen prosessointi	10
2.5	Näytteen orientointi ja valaminen	12
2.5.1	Valamisprosessi.....	12
2.5.2	Valuaineet.....	13
2.6	Näytteen leikkaus	14
2.7	Näytteen värjäys.....	15
3	HYVÄ TYÖOHJE.....	17
4	AUDITOINTI JA LAATU.....	19
5	TYÖN TOTEUTUS	21
6	TYÖN YHTEENVETO	23
7	POHDINTA	25
	LÄHTEET.....	27
	LIITTEET	30

1 JOHDANTO

Tämä on toiminnallinen opinnäytetyö, joka koostuu kirjallisesta raporttiosasta ja kahdesta erillisestä työhjeesta ”Näytteiden orientointi ja valaminen” ja ”Näytteiden leikkaus mikrotomilla”. Työn toimiksiantajana toimii Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikkö. Työhjeiden tarkoituksena on esitellä molemmat prosessit tarkasti vaihe vaiheelta laboratorion työntekijöille. Lisäksi työhjeet auttavat uusia työntekijöitä ja harjoittelijoita työtehtäviin tutustumisessa. Työn tavoitteena on kehittää patologian tulosyksikön toimintaa yhtenäistämällä työtapoja ja varmistamalla työtapojen oikeellisuus työhjeiden avulla.

Vaikka opinnäytetyön tietoperusta painottuu histologisen prosessin selventämiseen, käsitellään siinä myös auditointia ja laatua Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikön kannalta sekä hyvän ohjetekstin kirjoittamista. Opinnäytetyömme aiheeseen olemme perehtyneet kirjallisuuden ja verkosta löydettävän materiaalin avulla. Kosketuspintaa aiheeseen antoivat suorittamamme harjoitellut patologian yksiköissä Rovaniemellä ja Oulussa. Pyrimme valitsemaan vakiintunutta, formaalia ja ajantasaista tietoa. Hyödynsimme työssä myös laboratorion työntekijöiden käytännöllistä tietoa sekä luentomateriaalia Suomen histotekniikan yhdistyksen koulutuspäiviltä Rovaniemeltä 22.4.2017.

Histologia eli kudospoppi tutkii kudosten rakenteita ja toimintaa pääosin mikroskooppisin ja kemiallisin menetelmin (Terveyskirjasto Duodecim 2017, viitattu 26.10.2017). Näytteiden saapuessa laboratorioon, joko tuoreena tai fiksoituna, annetaan niille ensiksi yksilöivä tunniste. (Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikkö 2016, 13; Mäkinen 2012, viitattu 26.10.2017.) Tämän jälkeen näytteet esikäsitellään. Pieni näyttemateriaali, kuten pienikokoiset koepalat, laitetaan kokonaisuudessaan näytekasettiin ja siirretään kuduskuljetukseen. Suuremmat näytteet tarvitsevat patologin suorittaman käyntiänpänon. Käyntiänpänonossa patologi tutkii näytteen ja ottaa siitä edustavat viipaleet näytekasetteihin. (Mäkinen 2012, viitattu 26.10.2017.)

Esikäsitellyn jälkeen näytteet siirretään automatisoituihin kuduskuljettimiin. Kuduskuljetuksen tarkoituksena on kiinnittää kudokset sekä poistaa niistä vesi ja rasva. (Mäkinen 2012, viitattu 26.10.2017.) Seuraavaksi näytteet orientoidaan, eli asetetaan valumuottiin, ja valetaan valuaimeeseen, yleensä parafiiniin (Spencer & Bancroft 2008b, 83–92). Parafiiniblokeista saadaan mikrotomo-

milla leikattua leikkeitä, joita sitten värjätään näytteen ominaisuuksien korostamiseksi. Tämän jälkeen patologi voi tutkia näytteen mikroskoopilla ja antaa siitä lausunnon. (Mäkinen 2012; Suomen Bioanalytikkoliitto 2017, viitattu 26.10.2017.)

2 HISTOLOGINEN LABORATORIOPROSESSI

Histologiset näytteet saapuvat laboratorioon joko tuoreena tai fiksoituna. Ensiksi näytteet esikäsitellään. Pieni näytemateriaali laitetaan kokonaisuudessaan näytekasettiin ja siirretään kuduskuljetukseen. Suuremmat näytteet patologi tutkii ja ottaa niistä viipaleet näytekasetteihin. Esikäsitelyn jälkeen näytteet siirretään kuduskuljettimiin. Kuduskuljetuksen tarkoituksena on kiinnittää kudokset sekä poistaa niistä vesi ja rasva. Seuraavaksi näytteet orientoidaan, eli asetetaan valumuottiin, ja valetaan valuaineeseen. Tämän jälkeen näyteblokista saadaan mikrotomilla leikattua leikkeitä, joita sitten värjätään näytteen ominaisuuksien korostamiseksi.

2.1 Näytteen saapuminen laboratorioon

Näyte saapuu laboratorioon tuoreena tai fiksoituna 10-prosenttiseen formaliiniin (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 13). Näytepurkkiin on merkittynä potilaan henkilötiedot. Näytteen mukana tulee lähete, josta käy ilmi potilaan mahdollinen diagnoosi, sekä kliiniset esitiedot lyhyesti. (Billings & Grizzle 2008, 75–81.) Näytteelle annetaan koodi, josta ilmenee näytteen tyyppi, vuosiluku, juokseva näytenumero ja alanumero, sekä laboratorion yksilöivä tunniste. (Mäkinen 2012, viitattu 13.10.2017).

Kirjauspaikalla näytteestä kirjataan ylös tietojärjestelmään näytenumero, eriteltyjen näytteiden määrä, näytelaji ja kiireellisyysluokka. Kirjaajan tulee aina tarkistaa vastaavatko näytepurkin ja lähetteen tiedot toisiaan. Jos näytettä ei tunnisteta, sitä ei voida siirtää jatkokäsittelyyn. Tarvittaessa lähettävästä yksiköstä voidaan pyytää henkilökuntaa tunnistamaan näyte. Puuttuvat lähetetiedot tai muut epäselvyydet selvitetään puhelimitse lähettävän yksikön kanssa. (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 13.)

2.2 Näytteen fiksaatio

Näytteen fiksaation eli kiinnityksen tarkoituksena on estää kudoksen hajoaminen entsyymien toiminnan ja bakteerien vaikutuksen takia. Fiksointi säilyttää tutkittavan kudoksen luonnollisen

näköisenä sekä kiinteyttää kudosta, jolloin sen jatkokäsittely on helpompaa. (Aho 1994, 6.) Fiksaation avulla näyte säilyy tutkimuskelpoisena pitkiäkin aikoja, jotta sitä voidaan tarvittaessa tarkastella myöhemmin (Grizzle, Fredenburgh & Myers 2008, 53–74).

Kiinnitykseen voidaan käyttää fysikaalisia ja kemiallisia menetelmiä. Fysikaalisia menetelmiä ovat esimerkiksi kuumentaminen, mikroaallot ja ilmakeittäminen. Näitä menetelmiä ei juurikaan käytetä yksinään, vaan tehostamaan kemiallisia menetelmiä. Kemiallisia menetelmiä on useita, vesipohjaiset ovat niistä yleisimpiä. (Grizzle ym. 2008, 53–74.) Fiksatiivina valitessa joudutaan tekemään kompromisseja, sillä jokaisella fiksatiivilla on omat etunsa ja heikkoutensa. Yleisin diagnostisessa patologiassa käytettävä fiksatiivi on 10-prosenttinen formaliini. (Grizzle ym. 2008, 53–74.)

Fiksaation onnistumiseen vaikuttavat useat tekijät, esimerkiksi näytepalan koko, fiksaatioaika, pH ja liuosten väkevyydet. Fiksaatioaika riippuu näytepalan koosta: pieni näytepala fiksoituu nopeammin kuin suuri näytepala. Liian pitkää fiksaatiota tulee välttää, sillä se voi kovettaa ja kutistaa kudosta. (Aho 1994, 7.) Liian vahva formaliini kovettaa ja kutistaa kudosta, kun taas liian laimea etanoli ei poista vettä kudoksesta. Tämän takia on huomioitava myös liuosten väkevyydet. Myös pH:n vaikutus fiksaatioon voi olla merkittävä, esimerkiksi voimakkaasti hapan ympäristö vaikuttaa proteiinien rakenteeseen. (Grizzle ym. 2008, 53–74.)

2.3 Näytteen esikäsittely

Näytteen saapuessa laboratorioon, se tunnistetaan, käsitellään ja prosessoidaan. Pienet näytepalat voidaan prosessoida sellaisenaan, mutta suuremmista näytteistä leikataan pienempiä paloja jatkokäsittelyä varten. (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 13.) Myös kaikki näytteelle tässä vaiheessa tehtävät toimenpiteet ovat tärkeitä, sillä ne vaikuttavat näytteestä tehtävään lopulliseen diagnoosiin. Laboratoriossa patologi ja bioanalyttikko toimivat yhteistyössä varmistaakseen näytteiden oikean käsittelyn. (Billings & Grizzle 2008, 75–81.)

Laboratoriohoitaja voi aloittaa sellaisen näytemateriaalin käsittelyn, joka ei vaadi näytteen pienentämistä. Tällaista näytemateriaalia ovat esimerkiksi pienet näytepalat, kaapeet ja muu rakenteeton materiaali. Käsittelyn aloittamista kutsutaan käyntiinpanoksi. (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 14.) Käytännössä se tarkoittaa sitä, että näytemateriaali asetetaan tai suodate-

taan näytekasettiin ja siirretään kuduskuljetukseen (Mäkinen 2012, viitattu 13.10.2017). Näytepöydän siirtäminen näytepurkista kasetille suoritetaan vetokaapissa ja käsineitä käyttäen, sillä näytteestä haihtuu terveydelle haitallista formaldehydiä (Aho 1994, 12).

Suurempien näytteiden käyntiinpanon ja pienentämisen suorittaa lääkäri. Näytettä tarkastellaan makroskooppisesti ja kirjataan kaikki huomiot ylös. Tarvittaessa näyte voidaan myös valokuvata. (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 14.) Tämän jälkeen patologi leikkaa näytteestä edustavat palat kasetteihin jatkokäsittelyä varten. Kasetteja voi tulla jopa useita kymmeniä näytteestä riippuen. (Mäkinen 2012, viitattu 13.10.2017.) Useimmat laboratoriot ovat kehittäneet standardoituja menettelytapoja makroleikkelyn ja prosessoinnin suorittamisesta (Billings & Grizzle 2008, 75–81).

2.4 Kuduskuljetus eli kudoksen prosessointi

Esikäsitelyn jälkeen näytteet siirretään joko automaattisiin tai manuaalisiin kuduskuljettimiin. Kuduskuljetuksen tehtävänä on kiinnittää kudokset ja poistaa niistä vesi ja rasva. Näin kudorakenteet kovettuvat ja säilyvät. Kuduskuljetuksen loppuvaiheessa näytteet käsitellään parafiinissa eli pe-tausaineessa, jotta se jäähtyy kudoksen sisä- ja ulkopuolelle. Parafiinin avulla näytteitä voidaan sitten leikata. (Mäkinen 2012, viitattu 13.10.2017.)

Kudoskappaleet eivät saa olla liian isoja automatisoitujen menetelmien takia. Sopiva koko kuduskappaleelle on 25x20x4 mm, tällöin se mahtuu näytekasettiin. Kuljetus jaetaan kahteen osaan: vedenpoistoon ja kirkastukseen sekä parafiini-infiltraatioon. Vedenpoisto tapahtuu nousevassa alkoholisarjassa aloittaen 50–70 prosenttisesta alkoholista absoluuttiseen alkoholiin asti. Koska parafiini ei liukene alkoholiin, on alkoholi poistettava. Tämä tapahtuu kirkastuksessa läpikuultamisella, jossa alkoholi poistetaan ksyleenillä. Näytekasetit eivät saa olla ksyleenissä liian kauaa, sillä kudokset voivat kutistua liikaa. (Aho 1994, 12.) Kuduskuljetuksessa tapahtuvat virheet ovat vähäisiä, mutta jos virheitä tapahtuu, koskevat ne suuria määriä näytteitä samanaikaisesti (Mäkinen 2012, viitattu 13.10.2017).

Koneellinen kuljetus on yleisin tapa kuduskuljetuksen suorittamiseen. Koneellisessa kuduskuljetuksessa kasetit laitetaan reiällisiin astioihin, jotka kone sitten siirtää kuljetusliuksesta toiseen yön

aikana (Aho 1994, 12). Reagenssit ja sulatettu parafiini liikkuvat peräkkäin sisään ja ulos kammi-
oista tyhjiön ja paineen avulla (Spencer & Bancroft 2008b, 83–92). Seuraavassa taulukossa (tau-
lukko 1) on esitelty yleisin kuduskuljetusohjelma.

TAULUKKO 1. Esimerkki kuduskuljetusohjelmasta (Spencer & Bancroft 2008b, 83–92)

Asema	Reagenssi	Aika	Paine/vakuumi	Lämpötila
1	10 % formaliini	1 h	kyllä	38 °C
2	10 % formaliini	1 h	kyllä	38 °C
3	50 % alkoholi/formaliini	1 h	kyllä	38 °C
4	70 % alkoholi	30 min	kyllä	38 °C
5	95 % alkoholi	30 min	kyllä	38 °C
6	95 % alkoholi	40 min	kyllä	38 °C
7	100 % alkoholi	40 min	kyllä	38 °C
8	100 % alkoholi	40 min	kyllä	38 °C
9	ksyleeni	40 min	kyllä	38 °C
10	ksyleeni	40 min	kyllä	38 °C
11	parafiini	30 min	kyllä	60 °C
12	parafiini	20 min	kyllä	60 °C
13	parafiini	20 min	kyllä	60 °C
14	parafiini	40 min	kyllä	60 °C

Erikoissuunnitellut mikroaaltouunit ovat hiljalleen yleistyneet kudoksen prosessoinnissa. Mikroaal-
touuni stimuloi liuosten imeytymistä kudoksiin nostamalla näytteen sisäistä lämpötilaa. Se nopeut-
taa koneen käsittelyaikaa tunneista minuuteiksi. Kudokset pitää kuitenkin siirtää käsin liuoksesta
toiseen. Käsittelyn nopeutumisen lisäksi mikroaaltouunin etuna on se, että myrkyllistä ksyleeniä ei
tarvita. (Spencer & Bancroft 2008b, 83–92.)

2.5 Näytteen orientointi ja valaminen

Ennen kuin näyte voidaan mikrotomilla leikata ohuiksi leikkeiksi, se täytyy valaa tukiaineeseen. (Aho 1994, 12). Yleisin valomikroskopiassa käytettävä tukiaine on parafiini (Lintunen 2017, 1). Valamisprosessi aloitetaan näytteen orientoinnilla, jonka tarkoituksena on asetella näyte oikeaan asentoon muotissa. Orientoinnissa tulee huomioida näytetyyppien erilaisuudet, jotta niistä saadaan mikroskoopilla näkyviin tarvittavat asiat. (Spencer & Bancroft 2008b, 83–92.) Orientoinnin jälkeen näyte valetaan parafiiniin, ja muotin päälle asetetaan kasetti. Kasetti identifioi näytteen ja helpottaa myös leikkaamista. Lopuksi muotti siirretään kylmälevylle jähmettymään. Jähmettymisen jälkeen blokki on valmis leikattavaksi. (Lampela, keskustelu 17.10.2017.)

2.5.1 Valamisprosessi

Näytteen orientointi ja valaminen tehdään valuasemalla, joita on olemassa erilaisia riippuen laitteen iästä ja mallista. Niihin kuuluu yleensä vähintään vahan annostelija eli vaha-automaatti, kylmälevy ja lämmitetty säilytyslokero muoteille. Muottien pohjan koko vaihtelee, mutta päällysosa on aina sen kokoinen, että näytteen identifioiva kasetti sopii sen päälle. Kasetti helpottaa myös blokin kiinnittämistä mikrotomiin leikkaamista varten. (Anderson & Bancroft 2002, 89–90.)

Orientointi aloitetaan laskemalla lämmitetyn muotin pohjalle hieman kuumaa parafiinia. Orientoidessa kudospala asetetaan muottiin yleensä leikkauspinta alaspäin (Aho 1994, 14). Kuitenkin putkimaiset rakenteet valetaan pystyyn, sillä niistä halutaan poikkileikkaus ja lihasbiopsioista leikataan sekä poikkileikkaus että pitkittäisleikkaus, eli ne täytyy valaa sekä pystyyn että kyljelleen. (Anderson & Bancroft 2002, 90.) Ihobiopsiat tai muut epiteelirakenteet taas asetellaan kyljelleen niin, että eri kerrokset tulevat päällekkäin näkyviin (Aho 1994, 12–14).

Tässä vaiheessa näytteen asentoa voi vielä tarkastaa ja korjata tarvittaessa (Aho 1994, 12–14). Kaikki samaan muottiin tulevat näytteet täytyy valaessa painaa muotin pohjaa vasten, jotta ne tulevat samaan tasoon. Tämä on tärkeää myös epätasaisissa näytepaloissa. Jos näytettä ei ole painettu pohjaa vasten, se leikkautuu epätasaisesti, ja pahimmassa tapauksessa jotain tärkeää voi jäädä pois. (Lintunen 2017, 3.) Näytepalojen orientoinnissa voi olla myös laboratorio- tai patologi-kohtaisia eroja, jotka täytyy valaessa ottaa huomioon.

Orientoinnin jälkeen muotti siirretään kylmälevylle varmistaen, että pala pysyy halutussa asennossa. Näytepalaa pidetään paikallaan, kunnes parafiini on jähmettynyt sen verran, että pala pysyy itsestään paikoillaan. Sitten muotin päälle asetetaan näytteen identifioiva kasetti, ja kasetin päälle lasketaan vielä parafiinia sen verran, että muotti tulee täyteen. Lopuksi muotti siirretään kylmälevylle ja odotetaan että blokki jähmettyy kokonaan. Jähmettynyt blokki voidaan irrottaa muotista, ja blokki on heti valmis leikattavaksi. (Lampela, keskustelu 17.10.2017.)

2.5.2 Valuaineet

Parafiini on useista syistä histologian käytetyin tukiaine. Se on halpaa, helposti käsiteltävää, eikä aiheuta yleensä ongelmia leikkeiden käsittelyssä. Sen sulamispiste vaihtelee laajalla asteikolla, mikä on eduksi maapallon eri ilmasto-olosuhteissa. (Anderson & Bancroft 2002, 89) Parafiini on sekoitus hiilivetyjä, jotka on erotettu maaöljyn tislauksessa. Parafiini ei liukene veteen, vaan esimerkiksi eetteriin tai ksyleeniin. (Lintunen 2017, 1.) Sen ominaisuudet ovat vaihtelevia, esimerkiksi sulamispiste vaihtelee 40–70 celsiusasteen välillä. Ominaisuuksiltaan korkeamman sulamispisteen parafiini on kovempaa. Hyvien leikkeiden saamiseksi tulee valita parafiini, jonka kovuus on sopiva huoneenlämmössä (Anderson & Bancroft 2002, 89.)

Parafiinin itsestymislämpötila on noin 250–300 celsiusastetta, ja tulipalossa se voi nousta jopa 800–1200 celsiusasteeseen. Siksi sitä ei suositella säilytettävän poistumisteiden lähetyillä. Palavaa parafiinia ei voi sammuttaa vedellä. Parafiinia ei ole luokiteltu vaaralliseksi, mutta on kuitenkin varottava aineen joutumista iholle ja silmiin. Tyhjä pakkaus tulee hävittää ongelmajätteenä. Lisäksi parafiini voi aiheuttaa liukastumisvaaran. (Lintunen 2017, 2.)

Aina parafiini ei ole sopiva valuaine valettavalle leikkeelle. Toinen valuaine voidaan valita esimerkiksi, kun halutaan ohuempia leikkeitä tai kudokset tarvitsee vahvemman tukiaineen. Tällaisia vaihtoehtoisia tukiaineita ovat muun muassa hartsi, agar ja gelatiini. Hartsia käytetään valuaineena elektronimikroskopiassa ultraohuisiin leikkeisiin ja pehmentämättömään luuhun. Agar taas tukee hauraita näytteitä, mutta se ei yksinään anna tarpeeksi tukea leikkaamiseen. Näytteet voidaan ensin valaa agariin ja tämän jälkeen parafiiniin. Gelatiinia käytetään, kun halutaan leikata kokonaisia elimiä. Sitä voidaan käyttää myös jääleikkeissä. (Anderson & Bancroft 2002, 91.)

2.6 Näytteen leikkaus

Mikrotomia tarkoittaa niitä keinoja histologisessa laborioproosessissa, joilla kudokset saadaan leikattua ja kiinnitettyä lasille mikroskooppista tarkastelua varten. Suurin osa mikrotomiasta suoritetaan parafiiniin valetuille kudostenblokeille. (Spencer & Bancroft 2008a, 93–104; Isohäätä 2017.) Kudostenäytteiden leikkaamiseen käytettävää työkalua kutsutaan mikrotomiksi. Vaikka mikrotomeja on tarjolla useaa eri mallia erilaisille käyttötarkoituksille, voidaan monia malleja kuitenkin käyttää monipuolisesti erilaisiin käyttötarkoituksiin. (Spencer & Bancroft 2008a, 93–104.) Käytettävän mikrotomin valinta riippuu työn laadusta ja käsiteltävästä näytemateriaalista. Myös mikrotomin terä valitaan leikattavan materiaalin perusteella. Terän materiaali voi olla teräs, lasi tai timantti. (Isohäätä 2017, 1.)

Mikrotomit voidaan jakaa kahteen ryhmään toimintaperiaatteidensa mukaisesti. Liukumikrotomilla leikattaessa terä liikkuu näyteblokkia kohti, näyteblokin pysyessä paikallaan. Rotaatiomikrotomilla asia on päinvastoin, eli terä pysyy paikallaan ja näyteblokki liikkuu veistä kohti. Oli kyseessä sitten liukumikrotomi tai rotaatiomikrotomi, löytyy siitä blokinpidike, veitsenpidike ja säätöruuvit, joilla säädetään leikkauskulmaa ja leikepaksuutta. Blokki asetetaan siis blokinpidikkeeseen ja terä teränpidikkeeseen. Mikrotomilla leikattaessa veitsen ja blokin etäisyys on aina ennalta määritelty, ja tämä etäisyys määrää leikkeen paksuuden. (Isohäätä 2017, 1.)

Liukumikrotomilla leikattaessa blokki pysyy paikallaan terän liikkuessa blokkia kohti vaakatasossa, noin 40 asteen kulmassa (Aho 1994, 15). Tämän tyyppisessä mikrotomissa on raskas kelkka, johon terä on kiinnitetty. Kelkkaa käsin vetämällä syntyy leikkeitä. (Isohäätä 2017, 1.) Liukumikrotomilla hyvin ohuiden, kolmen mikrometrin paksuisten, leikkeiden leikkaaminen voi olla vaikeaa. Sitä käytetäänkin ensisijaisesti makroblokkien, kovien kudosten ja kokonaisten elinten leikkaamiseen. (Spencer & Bancroft 2008a, 93–104.)

Rotaatiomikroskoopin peruseriaatteena on 360 astetta pyörivän ohjauspyörän pyörittäminen, jolloin näyte liikkuu kohtisuoraan veitsen ohi ja palautuu sen jälkeen lähtöpaikkaansa. (Spencer & Bancroft 2008a, 93–104.) Jokainen ohjauspyörän kokonainen kierros tuo näyteblokkia lähemmäksi veistä (Isohäätä 2017, 1). Rotaatiomikrotomissa terä pysyy paikallaan ja kudostenblokki liikkuu ylös ja alas kohdaten terän suorassa kulmassa. Terän ja blokin välille muodostuu kaltevuuskulma, joka vaihtelee välillä 4 – 13 astetta. Kaltevuuskulma riippuu leikattavasta kudoksesta, valuaaineesta, käytettävästä mikrotomista, sekä terästä. Pelkästään terästä riippuva kulma on leikkauskulma. Se

muodostuu terän ylä- ja alapinnasta. (Aho 1994, 15.) Rotaatiomikrotomi voi olla manuaalinen, puoliksi automaattinen tai täysin automaattinen (Spencer & Bancroft 2008a, 93–104).

Mikrotomilla työskentelyssä tarvitaan ainakin kylmä levy, pinsetit ja pensseli, objektilaseja, tislattua vettä kylmä- ja lämminvesihauteisiin, imupaperia, sellua ja lasien keräyspiste. Huomionarvioisia asioita ovat myös hyvä valaistus, ergonominen työasento, imuri ja puhdistusaine. Näytteiden leikkaaminen alkaa blokin jäähdyttämällä kylmällä levyllä. Tämän jälkeen näyte trimmataan esille parafiinin sisältä. Trimmaamisen jälkeen näyte leikataan ja siirretään kylmään veteen, jossa leike suoristuu. Seuraavaksi leike siirretään lämpimään veteen, jotta se saadaan kiinnitettyä objektilasille. Lopuksi leike kuivataan ja kiinnitetään lasiin lämmön avulla. (Isohätälä 2017.)

2.7 Näytteen värjäys

Parafiiniblokeista leikatut leikkeet kiinnitetään näytelasille, jonka jälkeen ne värjätään. Värjäysten tehtävänä on värjätä näytelasien kuollutta kudosta, johon vaikuttaa erilaiset fysikaaliset ja kemialliset tekijät. Kemiallinen vetovoima on tärkeää, sillä se vaikuttaa vuorovaikutusvoimillaan värin kykyyn sitoutua kudokseen. Värjäykset voidaan jakaa neljään pääryhmään: entsyymihistokemia, immunohistokemia, lektiinihistokemia ja hybridisaatiohistokemia. (Horobin 2008, 105–120.) Monet värjäyksistä tehdään nykyään värjäysautomaateilla, mutta osa näytteistä vaatii edelleen haastavamman käsivärjäyksen (Aho 1994, 19–22). Värjäyksen tekijä vastaa laadusta. Värjäys on onnistunut, kun siinä on hyvä värinvoimakkuus ja taustavärjäytyvyys. Lisäksi tuman yksityiskohdat tulee erottua. (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 17–18.)

Suomessa yleisimmin käytössä on hematoksyliini-eosiini-värjäys (HE). Hematoksyliini värjää pääasiassa tumia ja osaksi sytoplasmassa esiintyvää RNA:ta sinimustaksi. Eosiini taas tarttuu sytoplasmaan sekä solunsisäisiin ja ulkoiisiin proteiineihin, kuten sidekudokseen. (Mäkinen 2012.) Sidekudokset värjäytyvät värin voimakkuuden ja muodon mukaan vaaleanpunaiseksi, oranssiksi ja punaiseksi (Gamble 2008, 121–134). He-värjäyksen suosio perustuu sen hyvään säilyvyyteen, helppoon valmistettavuuteen ja siihen, että se värjää tumat selkeästi. Se myös helpottaa tuman poikkeavuuden arviointia. (Gamble 2008, 121–134; Mäkinen 2012.)

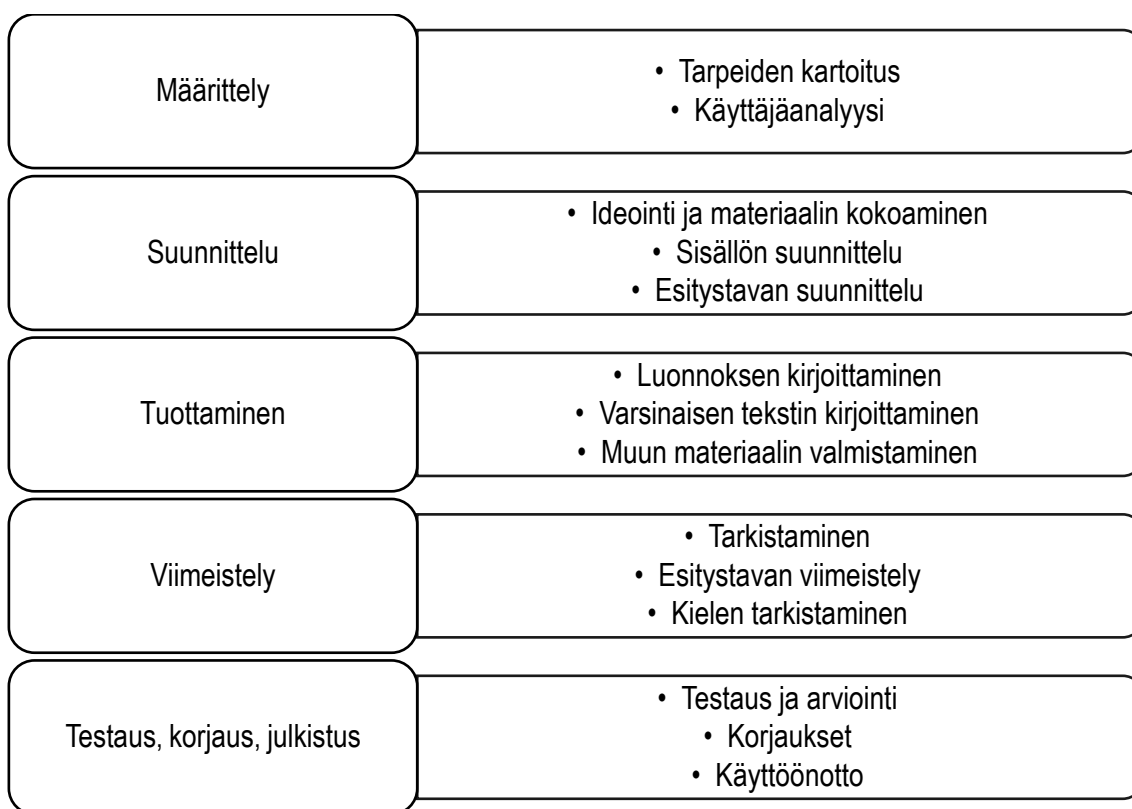
Kaikkia näytteitä ei voida värjätä hematoksyliini-eosiini-värjäyksellä. Erikoisvärjäyksiä tarvitaan muun muassa maksa- munuais- ja luuydinnäytteissä. Lisäksi erikoisvärjäystä voidaan käyttää, kun

perusvärjäyksen löydöstä halutaan tutkia tarkemmin tai jotakin tiettyä kudskomponenttia halutaan selkeyttää. Immunohistokemia on kuitenkin syrjäyttämässä erikoisvärjäykset tulevaisuudessa. (Mäkinen 2012.)

Nykyään useimmissa laboratorioissa on värjäysautomaatti nopeuttamassa, tehostamassa ja yhdenmukaistamassa värjäystä. Värjäysautomaatin työjälki on tasalaatuista ja automaatti kykenee käsittelemään suuremman määrän näytteitä kerralla. (Gamble 1998; Flaten, Briscoe, Burns, Rehse, Maloff & Farahani 2011, viitattu 24.10.2017.) Värjäysautomaatilla voidaan käsitellä useita erilaisia näytetyyppejä, kuten verta, luuydintä ja selkäydinnestettä (Flaten ym. 2011, viitattu 24.10.2017). Automaattien värjäysmenetelmät vaihtelevat laitemallin mukaan. Pääperiaatteena on kuitenkin se, että automaatti kuljettaa näytelaseja valitun värjäysohjelman mukaisesti. (Gamble 1998, viitattu 24.10.2017.)

3 HYVÄ TYÖOHJE

Ohjeella kuvataan käytännön ilmiötä, tapahtumaa tai prosessia (Oulun ammattikorkeakoulu 2006, viitattu 12.10.2017). Ohje ohjaa lukijaa turvalliseen, tehokkaaseen ja miellyttävään käyttöön. Lisäksi se vähentää erilaisten toimintahäiriöiden riskiä. (Nykänen 2002, 50–51.) Ohjeella annetaan lukijalle hänen tarvitsemaansa informaatiota kirjoittajan kuvaaman ilmiön uusimiseen. Näkökulma on siis ohjeistava ja opastava. (Oulun ammattikorkeakoulu 2006, viitattu 12.10.2017.) Ohjeen laatimistyön prosessi (kuvio 1) etenee aiheen määrittelystä sisällön suunnitteluun ja tuottamiseen. Pelkkä ohjeen kirjoittaminen ei riitä, vaan se on myös tarkistettava ja viimeisteltävä. (Nissi 2009a, viitattu 24.10.2017.)



KUVIO 1. Ohjeen laatimisvaiheet prosessina (Nissi 2009a, viitattu 12.10.2017)

Ohje laaditaan käyttäjän näkökulmasta, joten käyttäjäryhmän tunteminen on tärkeää (Nykänen 2002, 50–51). Vaikka kirjoittamisen pohjalla on jokin aikaisemmin tapahtunut ilmiö, esitetään se ohjeessa tulevana (Oulun ammattikorkeakoulu 2006, viitattu 12.10.2017). Selkeys, johdonmukai-

suus ja yksiselitteisyys ovat onnistuneen ohjetekstin ominaisuuksia. Parhaimmillaan ohje onkin täysin yksitulkintainen. Selkeän tekstin kerronta etenee sujuvasti ja kielellinen ilmaisu on helposti ymmärrettävää. Johdonmukaisuutta lisäävät yhtenäinen esitystarkkuus ja kirjoitustyyli alusta loppuun sekä johdonmukaiset asioiden nimitykset. Yksiselitteisyyttä tekstiin tuovat täsmälliset ja yksinkertaiset virkerakenteet, mutkikkaita lauserakenteita kannattaa välttää. (Nykänen 2002, 11–12.)

Kuvitus lisää ohjeen ymmärrettävyyttä. Kuvien on kuitenkin oltava laadukkaita ja selkeitä. Olenaiden yksityiskohtien tulee erottua, mutta niissä ei kannata ilmaista enempää tietoa kuin käyttäjän kannalta on tarpeellista. Tärkeintä on, että kuvat ja teksti muodostavat harmonisen ja ristiriidattoman kokonaisuuden. (Nykänen 2002, 11–12.)

Halutut tiedot on oltava käyttäjän helposti löydettävissä, vaikka käyttäjä tarvitsee ohjeesta vain yhden asian (Nykänen 2002, 50–51). Tällöin puhutaan ohjeen helppokäyttöisyydestä tai käytettävyydestä. Käytettävyyttä voidaan parantaa esimerkiksi lisäämällä tekstin silmäiltävyyttä, kielellistä ymmärrettävyyttä ja lukemisen ohjaamista. Lukemisen ohjaaminen käsittää ne keinot, joilla lukijan huomiota kiinnitetään edes tärkeimpiin asioihin. Tällaisia keinoja ovat muun muassa tarkat lukemaan houkuttelevat otsikot, laadukas sisällysluettelo, tyhjä tila, tekstin fonttikoot ja kirjasinlajit sekä kappaleen aloittaminen ennestään tunnetuilla asioilla. (Nissi 2009b, viitattu 12.10.2017.)

4 AUDITOINTI JA LAATU

Histopatologian laboratoriossa laatu on abstrakti kokonaisuus, jonka määritelmä vaihtelee sen mukaan, mistä näkökulmasta asiaa tarkastellaan. Esimerkiksi leikkeitä tuottavalle työntekijälle laatu on suoraan verrannollinen leikkeiden laatuun, patologille laatu taas tarkoittaa diagnoosin tarkkuutta. (Gamble, Banks & Bancroft 2008, 1-10.)

Laboratoriotoiminnan laadunvarmistus edellyttää mahdollisuutta kontrolloida ja seurata kaikkea toimintaa. Kontrollointiin ja seurantaan liittyy vahvasti dokumentointi, jotta työ on mahdollisimman jäljitettävää. Laboratorioissa voidaan työskennellä joko työohjeen mukaan tai ilman tarkkaa työohjetta. Työohjeen avulla työ voidaan toistaa uudestaan erittäin tarkasti. (Hänninen, Ruismäki, Seikola & Slöör 2012, 21–22.) Laboratoriotoiminnan laatu taataan noudattamalla jatkuvasti ylläpidettävää ja päivitettävää laatujärjestelmää. Tarkoituksena on ennaltaehkäistä mahdollisia virheitä analyseissa ja tulkinnoissa. Laatujärjestelmä kirjataan yleensä laboratorion laatukäsikirjaan, jossa määritellään tavoitteet ja keinot tulosten luotettavuuden saavuttamiseksi. (Hänninen ym. 2012, 21–22.)

Laboratorioiden laatua valvotaan sisäisillä ja ulkoisilla tarkastuksilla eli auditoinneilla. Sisäisessä auditoinnissa arvioidaan organisaation omaa laatujärjestelmää. Ulkoisen auditoinnin suorittaa yrityksen asiakas tai viranomainen. Auditoidijan tehtävä on selvittää, toimitaanko laboratoriossa laatujärjestelmän mukaisesti. Auditointitilaisuudessa keskustellaan työn suorituksesta siitä vastaavien henkilöiden kanssa, sekä käydään tarvittavat asiakirjat läpi. Auditointeja suositellaan tehtäväksi säännöllisesti, jotta laatujärjestelmän ja toiminnan jatkuva kehittäminen voidaan varmistaa. Lisäksi mahdolliset puutteet saadaan korjattua nopeasti. (Hänninen ym. 2012, 21–22.)

Rovaniemen patologian laboratorio on toiminnassaan sitoutunut noudattamaan International Academy of Pathology Suomen osaston laadunvarmistusryhmän vaatimuksia ja suosituksia (2016, viitattu 25.10.2017). Laboratorio osallistuu myös Lapin sairaanhoitopiirin laatutyöhön Labquality Oy:n suunnitteleman SHQS-laatuohjelman mukaisesti niiltä osin kuin ohjelmaa sairaanhoitopiirissä ylläpidetään. Laboratorio ottaa osaa Labqualityn ja NordiQC:n laaduntarkkailukierrokseen tehden tulosten perusteella tarvittavia jatkotoimenpiteitä. Toimienpiteillä parannetaan diagnostiikan, laboratoriotyön ja palvelun laatua käyttäen hyväksi sekä sisäistä että ulkoista laaduntarkkailua. (Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016, 6.)

Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikön ulkoisen auditoinnin suoritti Labquality Oy syksyllä 2016. Auditoinnissa toimi ylisolubiologi Anita Naukkarinen (KYS). Auditoinnissa todettiin, että sisäiset auditoinnit etenevät hyvin. Sisäisessä auditoinnissa 2016 tehtiin työpistearviointeja, joissa todettiin, että kahdelta työpisteeltä puuttuvat työohjeet ja niitä tarvittaisiin. Puutteet kirjattiin ylös ja käytiin yhteisesti läpi. (Sortti, keskustelu 4.5.2017.)

Vuoden 2018 aikana Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö siirtyy noudattamaan lääketieteellisten laboratorioiden laatua ja pätevyyttä koskevia vaatimuksia (SFS-EN ISO 15189: 2013; Sortti, sähköposti 25.10.2017). Standardiin kuuluu myös asiakirjojen hallintaan liittyviä vaatimuksia ja laboratorioilla tulee olla menettelyt niiden täyttymisen varmistamiseksi. Vaatimusten mukaan valtuutetun henkilöstön on tarkistettava laadunhallintajärjestelmään sisältyvät asiakirjat ennen niiden julkaisua. (SFS-EN ISO 15189: 2013.)

Standardin mukaan kaikissa asiakirjoissa tulee olla otsikko, voimassa olevan painoksen päivämäärä, sivun yksilöivä tunniste, sivunumero ja kokonaissivumäärä ja valtuutetun henkilön antama hyväksymismerkintä julkaisulle. Laboratorioiden tulee huolehtia, että asiakirjoihin tehdyt muutokset ovat tunnistettavissa ja vain voimassa oleva painos on käytettävissä. Vanhentuneet asiakirjat on merkittävä vanhentuneiksi, mutta niistä tulee säilyttää vähintään yksi kopio määritellyn ajan. Myös käsintehty muutokset on merkittävä selkeästi. Asiakirjojen on säilyttävä luettavassa kunnossa, ja niitä tulee tarkastella säännöllisesti ja päivitettävä riittävän usein. (SFS-EN ISO 15189: 2013.) Työohjeet tehdään standardin vaatimusten mukaisesti.

5 TYÖN TOTEUTUS

Idea opinnäytetyöaiheesta syntyi keväällä 2017, jolloin toinen opinnäytetyön tekijöistä oli harjoittelussa Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikössä. Harjoitteluajalle sattui palaveri, jossa läpikäytiin aiemmin suoritetun sisäisen auditoinnin työpistearvioinnin tuloksia. Palaverissa todettiin työohjeiden puuttuvan kahdelta työpisteeltä ”Näytteiden orientointi ja valaminen” sekä ”Näytteiden leikkaaminen”. Tarjouduimme tekemään ohjeet opinnäytetyönä talveksi 2017. Aiheen rajaaminen oli mielestämme helppoa sen luonteen vuoksi.

Toiminnallisessa opinnäytetyössä yhdistyvät käytännön toteutus, kuten käytännön toiminnan ohjeistus, ja sen raportointi. Huomionarvoista on, että toiminnallinenkin opinnäytetyö edellyttää selvityksen tekemistä, eli tietoperustan rakentamista, sillä tarvittavia tietoja ja taitoja ei muuten tavoiteta. (Vilka & Airaksinen 2003, 9.) Tiedonhaun tietoperustaa varten aloitimme heti keväällä 2017.

Raportissa päätimme käsitellä koko histologisen prosessin painottaen kuitenkin työohjeessa läpikäytäviä asioita. Näin loppuraportin lukijan on helpompi ymmärtää asiakokonaisuus. Luontevalta tuntui käsitellä myös hyvän ohjetekstin kirjoittamista, sillä työohjeen kirjoittaminen on merkittävä osa opinnäytetyötä. Toimeksiantajan toiveesta käsitelimme myös auditointia ja laatua. Kuvittelimme aluksi sen olevan hieman irtonainen osa opinnäytetyötä, mutta lopulta ymmärsimme sen merkityksen kaikessa laboratorion toiminnassa ja saimme sidottua luvun muuhun opinnäytetyöhön sopivaksi.

Opinnäytetyön toiminnallisen osuuden tuotoksena syntyivät työohjeet näytteiden orientointiin ja valamiseen sekä leikkaamiseen. Työohjeen määrittelyn, tarpeiden kartoituksen ja käyttäjäanalyysin, olimme tehneet jo aiemmin keväällä 2017. Saman vuoden alkusyksystä opinnäytetyösuunnitelmaa tehdessä ideoimme työohjetta tarkemmin. Tämän jälkeen itse työohjeet toteutettiin reippaalla aikataululla.

Lokakuussa 2017 toinen opinnäytetyön tekijöistä lähti vielä viikoksi harjoitteluun Lapin keskussairaalan patologian yksikköön. Harjoittelun ohella perehdyttiin tarkasti työohjeessa läpikäytäviin asioihin ja äänitettiin molemmat histologiseen prosessiin kuuluvat vaiheet. Tämän jälkeen työohjeista kirjoitettiin raakaversiot. Lisäksi laboratoriossa työskentelevä lääkintävahtimestari Timo Nieminen

otti työhjeeseen tarvittavat kuvat. On sovittu, että saamme käyttää Niemisen ottamia kuvia, kunhan mainitsemme niiden lähteen.

Harjoitteluviikon jälkeen yhdistimme kuvat ja tekstin, ja aloitimme muotoilemaan varsinaista ohje-tekstiä. Suunnitelman mukaisesti pyrimme tekemään ohjeista mahdollisimman selkeitä ja helppokäyttöisiä. Ohjeiden muotoileminen oli yksi vaikeimmista työvaiheista ja siihen kului runsaasti aikaa. Erityisen haastavalta tuntui kuvien sovittaminen tekstiin ja pohjaan sekä kahden yhtenäisen työhjeen tekeminen.

Ohjeiden ensimmäisten versioiden valmistumisen jälkeen lähetimme ne sähköpostitse arvioitavaksi Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikköön. Työhjeiden mukana lähetimme tarkistuslistan ja ohjeistusta työhjeen tarkistamiseksi (liite 1). Tarkistuslistan tekemisessä on hyödynnetty Olli Nykäsen ohjeiden tarkistuskysymyksiä (2002, 51). Aikataulullisista syistä johtuen jouduimme hylkäämään suunnittelemamme vierailun laboratorioon. Sinä aikana, kun työhjeet olivat testattavana, pyrimme kirjoittamaan raporttia mahdollisimman valmiiksi. Tarkistuslista ja tulostetut työhjeet palautettiin meille postitse. Kumpikin työhjeistä oli testattu ja arvioitu Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikön kahden työntekijän toimesta.

Tarkistuslistaan tehdyt huomiot olivat lähinnä lyhyitä toteamuksia, ja sitä olikin hyödynnetty ennemminkin apuna työhjeiden lukemiseen. Varsinaiset korjaukset oli tehty tulostettuihin työhjeisiin. Korjaukset olivat pieniä: joitakin termejä ja puutteita oli korjattu sekä tarkennuksia lisätty. Esimerkiksi joitakin mikrotomin osia oli jäänyt merkitsemättä ja muutamille termeille toivottiin suomennoksia vierasperäisten termien käytön sijaan. Tarkistuslistoista ja työhjeistä saattoi päätellä, että itse työhjepohja on selkeä ja toimiva.

Teimme toivotut muutokset ja korjaukset sekä pakkasimme työhjeiden kuvatiedostot pienempään kokoon tiedostojen toimivuuden lisäämiseksi. Tämän jälkeen tarkistimme vielä kieliasun. Valmiit työhjeet toimitettiin toimeksiantajalle sekä opinnäytetyön liitteenä paperisena versiona että tiedostomuodossa, jotta myöhemmin voidaan tehdä haluttuja muutoksia tai päivityksiä. Valmiit työhjeet ovat opinnäytetyön liitteenä (liitteet 2 & 3).

6 TYÖN YHTEENVETO

Työn tuloksena syntyi kaksi erillistä työohjetta, joista ensimmäinen näytteiden orientointiin ja valamiseen ja toinen näytteiden leikkaamiseen. Jälkimmäiseksi mainittuun sisällytettiin ohjeistus sekä vesiliukumikrotomilla että liukumikrotomilla leikkaamiseen. Työohjeet ovat toimeksiantajan, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikön, tarkistamia. Työohjeiden käyttäjinä toimivat laboratoriohoitajat patologian tulosityksiköstä. Lisäksi muita mahdollisia käyttäjiä ovat yksikköön harjoitteluun tulevat bioanalytiikan opiskelijat sekä uudet perehdytettävät työntekijät. Ohjeesta tehtiin mahdollisimman laadukas, havainnollistava ja selkeä, ja sen avulla pyritään varmistamaan työtapojen oikeellisuus.

Suunnitellessamme työohjeita asetimme tavoitteeksi luoda kaksi yhtenäistä ja selkeää työohjetta, joissa työpisteiden työvaiheet käydään kohta kohdalta läpi. Lisäksi halusimme selkeyttää tärkeimpiä ja haastavimpia työvaiheita kuvilla. Toimeksiantajan kanssa oli sovittu, että käytettävien laitemallien eroavaisuuksia ei tarvitse huomioida, sillä toimintaperiaate eri mallien välillä on sama. Sovittiin myös, että ohjeissa huomioidaan vain päivittäiset huollot ja puhdistukset, koska niistä huolehtiminen kuuluu laboratoriohoitajien työhön. Lisäksi toivottiin, että työohjeissa käydään läpi laatuun ja työturvallisuuteen liittyviä asioita. Ennen varsinaisen työohjeen aloittamista perehdyimme ohjekirjoittamiseen sekä tutustuimme lääketieteellisten laboratorioiden laatua ja pätevyyttä koskeviin vaatimuksiin SFS-EN ISO 15189:een, johon sisältyy asiakirjojen hallintaan liittyviä vaatimuksia.

Laatimamme työohjeet etenevät kronologisesti työhön valmistautumisesta laitteen käynnistykseen, itse työhön ja jälkitöihin. Työohjeen käyttämistä helpottaaksemme, lisäsimme sisällysluettelot niiden alkuun. Näin tottuneempikin käyttäjä löytää tarvitsemansa yksityiskohdan. Tekstin silmäilyä lisättiin mahdollisimman kevyellä rakenteella. Pyrimme välttelemään pitkiä tekstejä ja valitsimme niiden sijaan luettelomaisen rakenteen. Luettelomaisuus auttaa lukijaa kiinnittämään huomion vähintään tärkeimpiin asioihin. Turvallisuus ja laatu kulkevat työohjeissa koko ajan mukana, jotta käyttäjän on helppo huomioida ne työtä tehdessään.

Ennen varsinaista ohjetta, ensimmäisessä luvussa, on ohjeissa johdanto, joka johdattelee käyttäjän aiheeseen käymällä työpisteen toiminnot tiivistettynä lävitse. Seuraavassa pääluvussa alkaa itse työohje, jossa aluksi esitellään laitteiden osat, joita tarvitaan päivittäisessä työssä. Pääluku on

jaettu alalukuihin, joissa kussakin käydään työvaihe tarkasti lävitse. Alaluvun otsikko on aina työvaihetta kuvaava. Työturvallisuus ja laatu kulkevat ohjeessa koko ajan mukana, jotta ne on helppo huomioda työskennellessä. Työohjeeseen vesiliikumikrotomilla ja liukumikrotomilla leikkaamiseen sisällytettiin omat lukunsa leikkeiden mahdollisista ongelmista ja korjausehdotuksista, sillä leike voi epäonnistua useilla eri tavoilla, mutta ongelmat voivat olla korjattavissa.

Lisäsimme ohjeeseen laadukkaita ja selkeitä kuvia, jotka lisäävät ohjeiden ymmärrettävyyttä. Työohjeeseemme kuvat otti lääkintävahtimestari Timo Nieminen. Kuvat olivat erittäin onnistuneita, selkeitä ja tarkkoja. Tavoitteenamme oli luoda kuvista ja tekstistä sopusointuinen kokonaisuus, jossa kuvat korostavat haluttuja yksityiskohtia ja tärkeimpiä työvaiheita.

Työohjesuunnitelmaa ja varsinaista työohjetta verratessa, voidaan todeta suunnitelman toteutuneen varsinaisessa työohjeessa. Työohjeet koettiin onnistuneeksi myös Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikön henkilökunnan toimesta. Lähetimme työohjeet arvioitavaksi ja testattavaksi ohjeiden tarkistuslistan kanssa (liite 1). Kysymykset listaan muotoiltiin Olli Nykäsen ohjeiden tarkistuskysymysten pohjalta (2002, 51).

Molempia työohjeita testasi kaksi yksikön työntekijää. Ohjeiden koettiin antavan tarpeeksi informaatiota ja tietojen pitävän paikkaansa, muutamaa tarkennusta lukuun ottamatta. Lisäksi ohjeet olivat vastaajien mielestä loogisia ja kattavat kaikki prosessien vaiheet. Myös selkeys koettiin hyväksi, sillä kieli oli vastaajien mukaan helppolukuista ja ymmärrettävää, kuvitus havainnollista ja tarvitut yksityiskohdat löytyivät ohjeista nopeasti. Tulosteen painoasu oli vastaajien mielestä riittävä ja fonttikoko sopiva. Tarkistuslistan lisäksi merkintöjä oli tehty tulostettuihin työohjeisiin. Merkinnät olivat pieniä korjauksia esimerkiksi käytettyihin termeihin liittyen tai lisäyksiä työvaiheisiin. Merkintöjen ja tarkistuslistojen pohjalta teimme toivotut korjaukset lopullisiin työohjeisiin.

7 POHDINTA

Työ toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä, jonka tarkoituksena oli tuottaa kaksi erillistä työohjetta näytteiden orientointiin ja valamiseen sekä näytteiden leikkaamiseen. Jälkimmäiseksi mainittu käsittelee sekä vesiliukumikrotomilla että liukumikrotomilla leikkaamisen. Työllä tavoiteltiin patologian laboratorion toiminnan kehittämistä yhtenäistämällä työtapoja ja varmistamalla niiden oikeellisuus. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimii Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Toteutus vastaa todelliseen työelämästä tulevaan tarpeeseen, sillä vuonna 2016 laboratorion sisäisessä auditoinnissa todettiin työohjeiden puuttuvan näiltä työpisteiltä (Sortti, keskustelu 4.5.2017).

Voisi kuvitella, että työohjeiden kirjoittaminen on nopea ja helppo prosessi. Aluksi luulimme, että vain liitämme kirjoittamamme työohjeet valmiiseen pohjaan. Meille selvisi kuitenkin, että laboratoriolle ei ollut vielä yhtenäistettyä pohjaa työohjeille. Saimmekin kulutettua paljon aikaa niin varsinaiseen työohjeiden kirjoittamiseen kuin työohjeen pohjan suunnitteluun ja toteuttamiseen. Halusimme työohjeiden todella onnistuvan, sillä ne menevät oikeasti käyttöön. Työohjeista saatu palaute oli hyvää, ohjeet koettiin selkeiksi, helppolukuisiksi ja ymmärrettäviksi. Voimme siis sanoa saavuttaneemme opinnäytetyösuunnitelmassa asettamamme tavoitteen luoda laadukkaita työohjeita.

Opinnäytetyön onnistuimme tekemään melko nopealla aikataululla, sillä työskentelimme tehokkaasti ja säännöllisesti. Työn tekeminen vaati runsaasti ajanhallinta- ja organisointitaitoja, ja koemme kehittyneemme niissä opinnäytetyöprosessin aikana. Tiukka aikataulu olisi voinut hankaloittaa aikataulujen yhtensovittamista työn toteuttajien välillä, mutta yhteistyö sujui mainiosti. Valitut viestintäkanavat olivat toimivia ja pystyimme reaaliajassa seuraamaan työn edistymistä puolin ja toisin. Parantuneiden ajanhallinta- ja organisointitaitojen lisäksi tulevaisuudessa meidän on helpompi käyttää erilaisia työohjeita ja tarvittaessa myös muotoilla uusia ohjeita, sillä tiedämme kuinka sellaisen koota ja mitä on otettava huomioon. Osaamme myös arvioida projektiin kuluvaan aikaan paremmin, sillä nyt aikataulutukset tuntuivat välillä hankalalta.

Opinnäytetyö tarjosi mahdollisuuden tutustua patologian alueeseen paljon tarkemmin kuin tutkinon suorittamiseksi vaaditaan. Opintojen aikana aihetta käytiin loppujen lopuksi melko suppeasti lävitse. Tunnumme histologisen prosessin paremmin, sillä tutustuimme siihen opinnäytetyön tietoperustaa kirjoittaessa. Tulevaisuudessa on varmasti itsevarmempi olo hakeutua työskentelemään

patologian laboratorioon. Opinnäytetyö opetti myös, että laatu kulkee käsi kädessä arkityön kanssa, ja se on aina taustalla kaikessa tekemisessä. Bioanalyytikon työn laajuus, mahdollisuudet ja vaadittava ammattitaito ovat iso kokonaisuus. Se yllättää joka kerta, kun aihetta ajattelee yhtään syvällisemmin.

Koemme opinnäytetyön tuotoksena syntyneiden työohjeiden olevan onnistuneita, ja niistä saatu palaute toimeksiantajalta oli myös positiivista. Tulevaisuudessa onnistumista voidaan arvioida arkityössä ohjetta käyttämällä ja eteenpäin kehittämällä. Luomamme työohjeet ovat vasta ensimmäisiä versioita, joita muutetaan tarvittaessa. Nyt luodut työohjeet eivät myöskään automaattisesti paranna Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikön työn laatua, sillä jokainen työntekijä on omaksumin oman tapansa työskennellä. Tekemämme työohjeet ovat kuitenkin keino yhtenäistää ja kehittää toimintaa pidemmällä aikavälillä.

Jatkoprojektina työohjeille voitaisiin luoda yhtenäistetty pohja, jolloin tulevaisuudessa työohjeiden kokoaminen helpottuisi. Pohja olisi tehty SFS-EN ISO 15189 (2013) lääketieteellisten laboratoriorien laatua ja pätevyyttä koskevien vaatimusten mukaisesti. Lisäksi tyylit, asettelu ja kuvakoot olisi ennalta määriteltävä, jolloin ohje on varmasti selkeäksi todettu. Tämä vaatii hyvää tietoteknistä osaamista, jotta pohjasta tulee oikeasti toimiva. Keskusteluista Lapin keskussairaalan patologian tulosyksikön työntekijöiden kanssa, tuli ilmi myös tarve uusille suomenkielisille patologian oppikirjoille. Ehkä työohjeiden kautta sellaisen toteuttaminen olisi mahdollista. Oppikirjaa varten kaikki työohjeet tulisi kuitenkin ensin muokata yleisluontoisesti päteviksi, mikä voisi olla melko iso työ. Lisäksi tarvittaisiin ajankohtainen ja laaja tietoperusta.

LÄHTEET

Aho, H. 1994. Histologiset menetelmät patologiassa. 3. p. Turku: Turun yliopisto, kliinis-teoreettinen laitos, patologia.

Anderson, G. & Bancroft, J. 2002. Tissue processing and microtomy. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) *Theory and Practice of Histological Techniques*. Fifth Edition. London: Churchill Livingstone, 89-90.

Billings, P. & Grizzle, W. E. 2008. The Gross Room/Surgical Cutup. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) *Theory and Practice of Histological Techniques*. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 75–81.

Flaten, D., Briscoe, D., Burns, D., Rehse, M., Maloff, S. C. & Farahani, P. 2011. What's new in slide makers and slide strainers? *Medical Laboratory Observer*. Viitattu 25.10.2017, <https://www.mlo-online.com/whats-new-in-slide-makers-and-slide-stainers.php>.

Gamble, M. 1998. A Guide to Automating the Histology Laboratory. *Laboratory Medicine* 29 (8). Viitattu 25.10.2017, <https://doi.org/10.1093/labmed/29.8.497>.

Gamble, M. 2008. The Hematoxylin and Eosin. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) *Theory and Practice of Histological Techniques*. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 121–134.

Gamble, M., Banks, I. & Bancroft, J. D. 2008. Managing the Laboratory. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) *Theory and Practice of Histological Techniques*. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 1-10.

Grizzle, W. E., Fredenburgh, J. L. & Myers, R. B. 2008. Fixation of Tissues. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) *Theory and Practice of Histological Techniques*. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 53–74.

Horobin, R. W. 2008. How do Histological Stains Work? Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) Theory and Practice of Histological Techniques. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 105–120.

Hänninen, H., Ruismäki, M., Seikola, A. & Slöör, S. 2012. Laboratoriotyön perusteet. Helsinki: Edita.

International Academy of Pathology, Suomen osasto 2016. Patologian laboratorion toimintajärjestelmä. Versio 4.2.5. Viitattu 25.10.2017, https://www.labquality.fi/wp-content/uploads/2017/10/Patologian-laboratorion-toimintajarjestelma_versio-4_2_5.pdf.

Isohätä, A. 2017. Bioanalytiikka YAMK, OYS patologian osasto / Pohjois-Suomen biopankki Boreal. Mikrotomia. Luento 22.4.2017. Tekijän hallussa.

Lampela, T. 2017. Laboratoriohvitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Keskustelu 17.10.2017. Tekijän hallussa.

Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö 2016. Toimintakäsikirja. Versio 13.6. (ei julkaisupaikkaa.)

Lintunen, M. 2017. (Solubiologi), Tyks-Sapa-liikelaitos, patologia. Kudosnäytteiden valaminen. Luento 22.4.2017. Tekijän hallussa.

Mäkinen, M. 2012. Näytteiden käsittely laboratoriossa. Duodecim. Viitattu 13.10.2017, <http://www.oppiporssi.fi/op/pat00732/do>.

Nissi, U. 2009a. Laatisprosessi. Viitattu 12.10.2017, <http://www2.amk.fi/digma.fi/eetu/www.amk.fi/opintojak-sot/030905/1116425173436/1117079889682/1141365129925/1141365242596.html>.

Nissi, U. 2009b. Milloin ohje on lukijan kannalta helppokäyttöinen? Viitattu 12.10.2017, <http://www2.amk.fi/digma.fi/eetu/www.amk.fi/opintojak-sot/030905/1116425173436/1117079889682/1117096445579/1117097997493.html>.

Nykänen, O. 2002. Toimivaa tekstiä: opas tekniikasta kirjoittaville. Helsinki: Tekniikan Akateemisten Liitto.

SFS-EN ISO 15189. 2013. Lääketieteelliset laboratoriot. Laatu ja pätevyyttä koskevat vaatimukset. 3. painos. Helsinki: Suomen Standardisoimisliitto SFS.

Sortti, P. 2017a. Osastonhoitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Keskustelu 4.5.2017. Tekijän hallussa.

Sortti, P. 2017b. Osastonhoitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Sähköposti 25.10.2017. Tekijän hallussa.

Spencer, L. T. & Bancroft, J. D. 2008a. Microtomy: Paraffin and Frozen. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) Theory and Practice of Histological Techniques. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 93–104.

Spencer, L. T. & Bancroft, J. D. 2008b. Tissue Processing. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) Theory and Practice of Histological Techniques. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 83–92.

Terveyskirjasto Duodecim 2017. Lääketieteen sanasto: histologia. Viitattu 24.10.2017, http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt01158.

Vilikka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Tammi.

Kiitos kun autat meitä työohjeiden testaamisessa!

Merkitse ylös kumpaa työohjeista testasit. Käy ensin läpi kysymykset ja työohje. Tämän jälkeen suorita työ ohjeiden mukaisesti. Kirjaa huomioitasi ylös tähän lomakkeeseen. Merkitsethän ongelmakohdan tai muun huomion tarvittaessa tarkasti ylös, jotta löydämme saman kohdan työohjeita korjatessa.

Kysymys	Vastaus
1. Kumpaa työohjetta testasit?	
2. Antaako ohje tarpeeksi informaatiota aiheesta?	
3. Pitävätkö kaikki työohjeen tiedot paikkaansa?	
4. Eteneekö ohje loogisesti? Kattaako se kaikki työvaiheet?	
5. Onko ohjeen jäsentelyssä parannettavaa?	
6. Löytyvätkö tarvittavat tiedot nopeasti ja helposti?	

7. Onko ohjeen kieli ymmärrettävää ja riittävän helpoluista?	
8. Onko kuvitus havainnollista ja riittävää? Eteneekö se tekstin mukaisesti? Onko kuvituksen ja tekstin välillä ristiriitoja?	
9. Onko ohje riittävän selkeä painoasultaan? Onko kirjainkoko riittävä tulosteessa? Erottavatko kuvien yksityiskohdat helposti?	
10. Muita huomioita tai kommentteja	

TYÖOHJE NÄYTTEIDEN ORIENTOINTIIN JA VALAMISEEN

Julkaisupäivämäärä:

Version numero: 1

Hyväksyjä:

Sisällys

1	JOHDANTO	34
1.1	Turvallisuus.....	34
1.2	Valuaseman osat.....	35
2	ORIENTOINTI JA VALAMINEN.....	36
2.1	Valamisen aloittaminen.....	36
2.2	Sopivan kokoisen muotin valinta	36
2.3	Näytteiden orientointi	37
2.3.1	Epiteelirakenteet.....	37
2.3.2	Harsopussit.....	37
2.3.3	Isot näytepalat.....	38
2.3.4	Putkimaiset rakenteet.....	38
2.3.5	Eturauhasbiopsiat	38
2.3.6	Pienet tähystysnäytteet.....	38
2.4	Muotin siirtäminen pienelle kylmälevylle.....	39
2.5	Identifioivan kasetin asettaminen.....	40
2.6	Blokin siirto kylmälevylle	40
2.7	Jälkityöt.....	41
	LÄHTEET	42

1 JOHDANTO

Ennen kuin näyte voidaan mikrotomilla leikata ohuiksi leikkeiksi, se täytyy valaa tukiaineeseen. Yleisin käytettävä tukiaine on parafiini. Valuprosessi aloitetaan näytteen orientoinnilla, jonka tarkoituksena on asetella näyte oikeaan asentoon muotissa. Orientoinnissa tulee huomioida näytetyyppien erilaisuudet, jotta niistä saadaan mikroskoopilla näkyviin tarvittavat asiat. Orientoinnin jälkeen näyte valetaan parafiiniin, ja muotin päälle asetetaan kasetti. Kasetti identifioi näytteen ja helpottaa myös leikkaamista. Lopuksi muotti siirretään kylmälevylle jähmettymään. Jähmettymisen jälkeen blokki on valmis leikkattavaksi.

1.1 Turvallisuus

- Valuaseman kuumalevyt ovat kuumia.
- Palavaa parafiinia ei voi sammuttaa vedellä, vaan se tulee tukahduttaa sammutuspeiton avulla.
- Parafiinia ei ole luokiteltu vaaralliseksi, mutta varo aineen joutumista iholle ja silmiin sen kuumuuden vuoksi.
- Parafiinijäte ja tyhjä parafiinijätepakkaus tulee hävittää ongelmajätteenä.
- Parafiini voi aiheuttaa liukastumisvaaran.

1.2 Valuaseman osat



Kuva 1. Valuaseman osat

1. Seitsemän lämpölevyä, joilla kasettia voi pitää ennen valamista ja valamisen aikana. Lämpölevyt ovat kuumia.
2. Pieni kylmälevy, jossa näyte kiinnitetään muotin pohjaan.
3. Iso kylmälevy, joka on tarkoitettu näytteiden kokonaan jäädyttämistä varten. Isolle kylmälevylle mahtuu useita kymmeniä muotteja.
4. Parafiinisäiliö
5. Käsikäyttöinen vipu parafiinin valuttamiseen. Lattialla on myös jalkapoljin, jota voi halutessaan käyttää.
6. Pinsettien lämpöasema. Pinsettejä on aina vähintään kahdet, jotta jäähtyneet pinsetit voi aina tarpeen mukaan vaihtaa lämpimiin.
7. Ohjauspaneeli. Ohjauspaneelista voi säätää parafiinin lämpötilaa, käynnistää ison kylmälevyn ja sytyttää valot.
8. Lämmin kammio muoteille
9. Lämmin kammio kaseteille
10. Paikka suurennuslasille

2 ORIENTOINTI JA VALAMINEN

2.1 Valamisen aloittaminen

- Aloittaessasi valamisen sytytä valuaseman valot ja laita kylmälevyt päälle. Valuasemat on ajastettu niin, että ne lämmittävät parafiinin sulaksi siihen mennessä, kun näytteitä aletaan aamulla valaa.
- Vala ensimmäiseksi kiireelliset näytteet ja muut erikoisnäytteet, kuten erikoisvärjäykseen menevät näytteet.
 - Kiireelliset näytteet ovat oransseissa kaseteissa.
 - Muut erikoisnäytteet ovat näytehäkissä näytenumero alaspäin.

2.2 Sopivan kokoisen muotin valinta

- Valitse muotti näytteen koon tai näytepalojen määrän mukaan.
 - Muotti on sopivan kokoinen kun muotin reunoille jää joka puolelle hieman parafiinia. Tämä helpottaa näytteen leikkaamista, sillä parafiini toimii tukiaineena näytteen ympärillä ollessaan.
 - Liian isoa muottia ei kannata valita, jotta leikatessa lasille mahtuu mahdollisimman monta leikettä.

2.3 Näytteiden orientointi

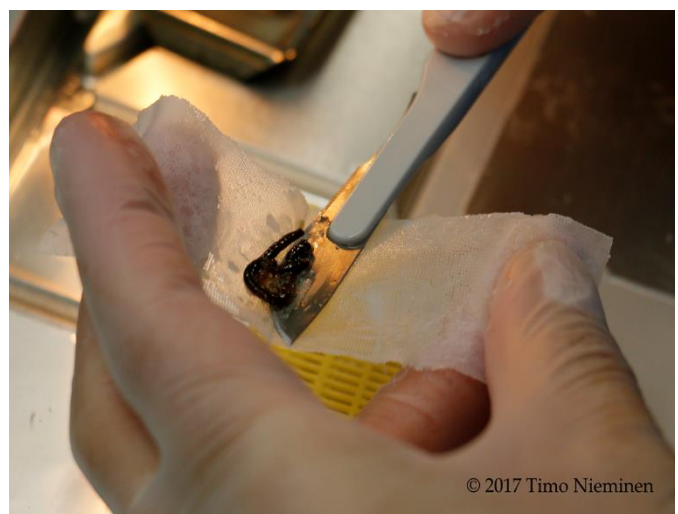
- Laske hieman parafiinia muottiin ja orientoi näytepala tai -palat muottiin lämpimillä pinseteillä.
- Jäähdyneisiin pinsetteihin tarttuu parafiinia, mikä vaikeuttaa näytepalojen käsittelyä. Muista puhdistaa pinsetit jokaisen näytteen välissä sellulla, jotta edellisestä näytteestä ei siirry osia seuraavaan näytteeseen.
- Varmista, että kaikki kasetissa näkyvä näytemateriaali on siirretty valumuottiin. Pie-nissä biopsioissa näytepalojen määrä on merkitty myös kasetin päälle ja sivulle.
 - Joskus näytepalat ovat kuitenkin voineet mennä useampaan osaan, jolloin kasettiin merkitty määrä ei täsmää. Yleensä kuitenkin näytepaloja tulisi löytyä vähintään se määrä kuin kasettiin on merkitty.

2.3.1 Epiteelirakenteet

- Vala epiteelirakenteet, esimerkiksi iho, kyljelleen. Näin niistä saadaan lasille näkyviin eri kerrokset.
 - Epiteelien tulee olla kasetin tekstiin nähden vaakasuunnassa, se helpottaa näytteen leikkaamista.

2.3.2 Harsopussit

- Näytemateriaali voi olla myös harsopussissa. Tällöin kaavi kaikki mahdollinen näytemateriaali pinseteillä tai veitsellä muottiin.
- Jos harsopussista jää parafiinia kylmä- tai lämpölevylle, siivoa jäljet huolellisesti ennen seuraavaa näytettä.



Kuva 2. Näytteen kaapiminen harsopussista

2.3.3 Isot näytepalat

- Asettele patologin pilkkomat näytepalat muottiin niin päin kuin ne olivat kasetillakin.

2.3.4 Putkimaiset rakenteet

- Vala putkimaiset rakenteet, kuten siemenjohtimet ja verisuonet, pystyyn. Tällöin niistä saadaan esille poikkileikkaukset.

2.3.5 Eturauhasbiopsiat

- Vala eturauhasbiopsioita samaan muottiin kaksi kappaletta.
- Eturauhasbiopsiat ovat kevyitä ja jäävät helposti kellumaan parafiinin pinnalle. Tämän takia varmistaa, että biopsiat pysyvät pohjalla ja samalla tasolla kylmälevylle siirrettäessä.

2.3.6 Pienet tähytysnäytteet

- Asettele pienet tähytysnäytteet riveihin niin, että yhdellä rivillä on kolme tai neljä näytepalaa.
- Rivejä voi olla niin monta kuin tarvitaan, mutta ne tulee tehdä kasetin tekstin suuntaisesti. Tämä helpottaa myöhemmin näytetasojen tunnistamista, eli sitä mistä leike alkaa ja mihin se loppuu.



Kuva 3. Pieniä tähytysnäytteitä riveittäin aseteltuna

2.4 Muotin siirtäminen pienelle kylmälevylle

- Siirrä muotti pienelle kylmälevylle varmistaen, että näyte pysyy pohjalla.
 - Varsinkin epäsäännöllisen muotoisia, esimerkiksi kuperia tai koveria näytepalloja kannattaa painaa pohjaa vasten, jotta näyte ei leikatessa mene osaksi hukkaan.
- Varmista, että näytepalat ovat muotin pohjalla samassa tasossa, jotta ne saadaan leikattua samalle leikkeelle eikä esimerkiksi niin, että trimmatessa toinen näytepalloista leikkautuu pois, ja vain toinen saadaan lasille.
- Anna näytteen jähmettyä kylmälevyllä sen verran, että näytepala on varmasti tarttunut muotin pohjaan.



Kuva 2. Näytteen painaminen pohjaa vasten kylmälevyllä

2.5 Identifioivan kasetin asettaminen

- Aseta muotin päälle näytteen identifioiva kasetti, ja laske siihen vielä sen verran parafiinia, että kasetin reunat täyttyvät.
 - Kasetti asetetaan muottiin näyttenumero ylöspäin, jotta sen saa mikrotomissa blokinpidikkeeseen pystyasentoon.
- Joskus näyte on kuitenkin sen verran korkea, että kasettia ei saa tasaisesti muotin päälle. Tällaisissa tilanteissa voit laittaa kasetin muotin päälle näyttenumero alaspäin.

2.6 Blokin siirto kylmälevylle

- Siirrä valmis blokki kylmälevylle jähmettymään.
- Blokki on valmis leikattavaksi, kun se irtoaa muotista helposti.
- Asettele kiireelliset ja erikoisnäytteet reunaan, jotta leikkaaja huomaa ne.



Kuva 5. Blokkeja jähmettymässä isolla kylmälevyllä. Kiireelliset ja muut erikoisnäytteet kuvassa vasemmalla.



Kuva 6. Valmiita blokkeja leikattavaksi

2.7 Jälkityöt

- Valettuasi kaikki näytteet, siisti tasot parafiinista.
- Tarvittaessa tyhjä valuasemasta laatikot, joihin valuu ylimääräistä, jätteeksi menevää parafiinia.
- Käytetyt muotit ja pinsetit sekä tyhjä näytehäkki viedään syrjään välinehuoltajan pestäväksi.
- Sammuta valuasemasta valot ja kylmälevy kun näytteet on leikattu.
- Pyyhi kylmälevy paperilla, kun jää on sulanut.
- Jätä valuasema yöksi päälle. Tarvittaessa lisää parafiinia.

LÄHTEET

Aho, H. 1994. Histologiset menetelmät patologiassa. 3. p. Turku: Turun yliopisto, kliinisteoreettinen laitos, patologia.

Anderson, G. & Bancroft, J. 2002. Tissue processing and microtomy. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) Theory and Practice of Histological Techniques. Fifth Edition. London: Churchill Livingstone, 89-90.

Lampela, T. 2017. Laboratoriohoitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Keskustelu 17.10.2017. Tekijän hallussa.

Lintunen, M. 2017. (Solubiologi), Tyks-Sapa-liikelaitos, patologia. Kudosnäytteiden valaaminen. Luento 22.4.2017. Tekijän hallussa.

Spencer, L. T. & Bancroft, J. D. 2008. Microtomy: Paraffin and Frozen. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) Theory and Practice of Histological Techniques. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 93–104.

**TYÖOHJE VESILIUUKUMIKROTOMILLA
JA LIUKUMIKROTOMILLA LEIKKAAMISEEN**

Julkaisupäivämäärä:

Version numero: 1

Hyväksyjä:

Sisällys

1	JOHDANTO	45
2	VESILIUKUMIKROTOMILLA LEIKKAAMINEN	46
2.1	Vesiliukumikrotomin osat.....	46
2.2	Ennen leikkaamista	48
2.2.1	Mikrotomin säädöt	48
2.2.2	Veden virtauksen käynnistäminen	48
2.3	Blokin asettaminen pidikkeeseen	49
2.3.1	Jarrun ja teräsuojan poistaminen.....	50
2.4	Näytteen trimmaaminen	50
2.5	Leikkeen leikkaaminen.....	51
2.6	Leikkeen siirtäminen lämminvesihauteeseen	51
2.7	Leikkeen tai leikejonon edustavuuden varmistaminen	52
2.8	Edustavan leikkeen tai leikejonon nostaminen lasille.....	52
2.9	Leikkeen kiinnittäminen lasille	53
2.10	Ennen seuraavaa leikettä	54
2.11	Mikrotomin terän vaihtaminen	54
2.12	Leikkeen kiinnittyminen lasiin	54
2.13	Jälkityöt	55
2.14	Leikkeen mahdollisia ongelmia ja korjausehdotuksia	56
3	MAKROBLOKKIEN LEIKKAAMINEN LIUKUMIKROTOMILLA	58
3.1	Liukumikrotomin osat.....	58
3.2	Ennen leikkaamista	59
3.3	Näytteen trimmaaminen	60
3.4	Ennen leikkaamista	61
3.5	Leikkeen leikkaaminen.....	61
3.6	Leikkaamisen jälkeen	61
3.7	Jälkityöt.....	62
3.8	Leikkeen mahdollisia ongelmia ja korjausehdotuksia	62
	LÄHTEET	63

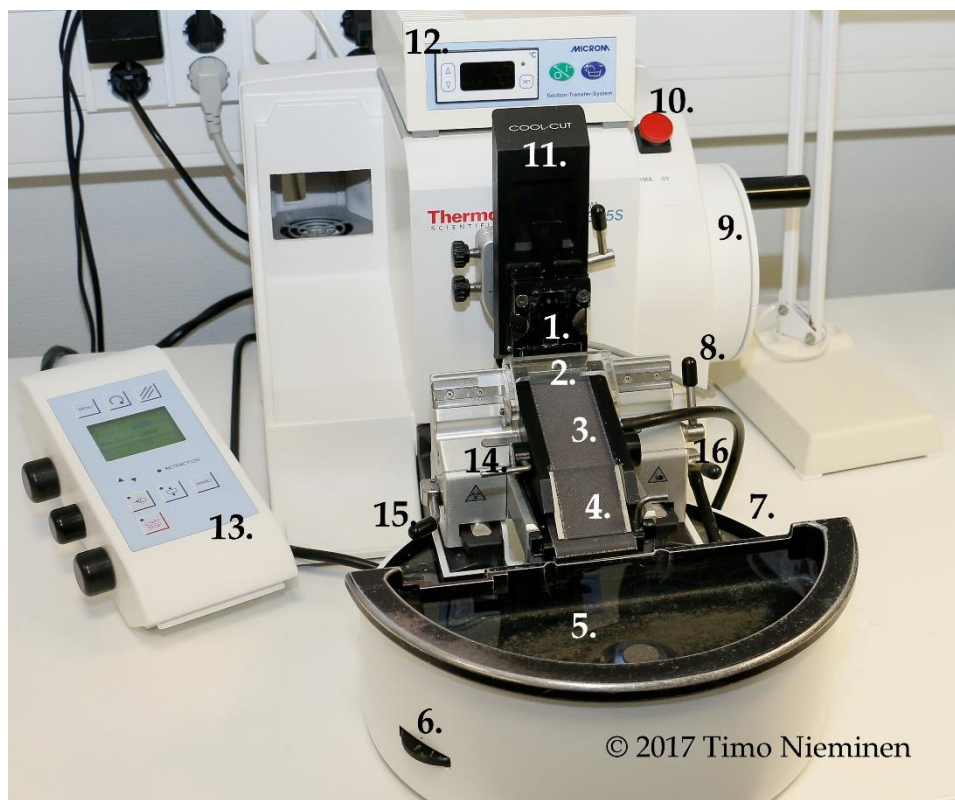
1 JOHDANTO

Mikrotomia tarkoittaa niitä keinoja, joilla kudokset saadaan leikattua ja kiinnitettyä lasille mikroskooppista tarkastelua varten. Suurin osa mikrotomiasta suoritetaan parafiiniin valetuille kudoksetilakkeille. Kudoksetilakkeiden leikkaamiseen käytettävää työkalua kutsutaan mikrotomiksi. Mikrotomit toimivat joko niin, että leikattaessa terä liikkuu kohti näyteblokkia tai niin, että terä pysyy paikallaan näyteblokin liikuessa terää kohti.

Mikrotomilla työskentelyssä tarvitaan ainakin kylmälevy, pensseli, objektilaseja, tislattua vettä kylmä- ja lämminvesihauteisiin ja sellua. Näytteiden leikkaaminen alkaa blokin jäädyttämällä kylmällä levyllä. Jäädyttämisen jälkeen näyte trimmataan esille parafiinin sisältä. Sitten näyte leikataan ja siirretään kylmään veteen, jossa leike alkaa suoristua. Kun leike siirretään lämpimään veteen, se suoristuu kunnolla. Tämän jälkeen leike siirretään lämpimästä vedestä objektilasille. Lopuksi leike kuivataan ja kiinnitetään lasiin lämmön avulla.

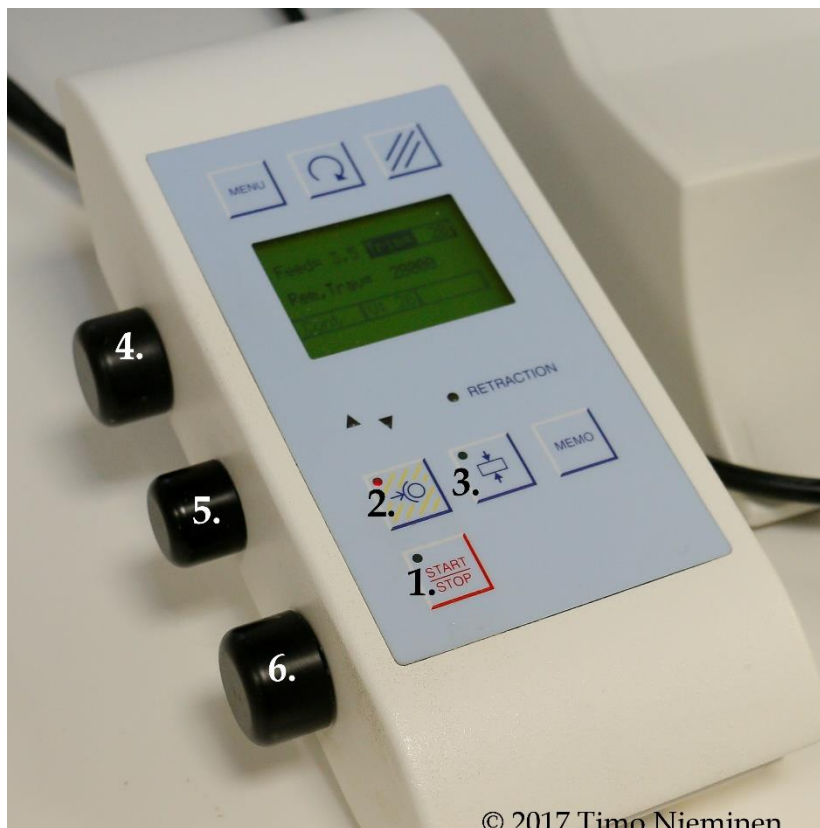
2 VESILIUKUMIKROTOMILLA LEIKKAAMINEN

2.1 Vesiliukumikrotomin osat



Kuva 3. Vesiliukumikrotomin osat

1. *Blokinpidike*
2. *Terän suoja ja terä sen takana. Terän suojan tulee olla paikallaan terää siirtäessä tai vaihdettaessa.*
3. *Matto, jota pitkin leike kulkee näytteitä leikatessa.*
4. *Leikkeenkuljetinsilta, jota pitkin leike kulkee lämminvesihauteeseen.*
5. *Lämminvesihaude*
6. *Virtauksen säätö, josta virtauksen nopeutta voidaan säätää sopivaksi.*
7. *Kylmävesiallas, josta vesi kiertää matolle ja leikkeenkuljetinsillalle.*
8. *Teränpidike, jonka löysäämällä terän saa siirrettyä tai vaihdettua.*
9. *Käsikampi*
10. *Hätäpysäytysnappi, jota painamalla blokinpidike pysähtyy välittömästi.*
11. *Cool-Cut, joka pitää blokin kylmänä leikkaamisen aikana.*
12. ja 13. *Ohjauspaneelit*
14. *Katkaisuterä*
15. *Teränpitimen lukitusvipu*
16. *Terän kulman lukitusvipu*



Kuva 4. Ohjauspaneeli

1. Moottoroidun leikkuun käynnistys ja pysäytys
2. Kammen jarru, jonka ollessa päällä blokinpidike pysyy paikallaan, eikä moottoroitu leikkuu käynnisty.
3. Leikkuuikkuna, jota voidaan käyttää halutessaan leikkauksen apuna.
4. Trimmaus- ja leikepaksuuden säätö. Nuppia painamalla siirrytään joko leikkaus- tai trimmaustilaan. Kiertämällä nuppia valitaan leikepaksuus.
5. Blokin lähennys ja loitonnuus, josta nuppia kiertämällä blokkia saadaan siirrettyä joko lähemmäs tai kauemmas terää.
6. Leikkuunopeuden säätö

Muut ohjauspaneelin painikkeet eivät ole käytössä rutiinityöskentelyssä.

2.2 Ennen leikkaamista

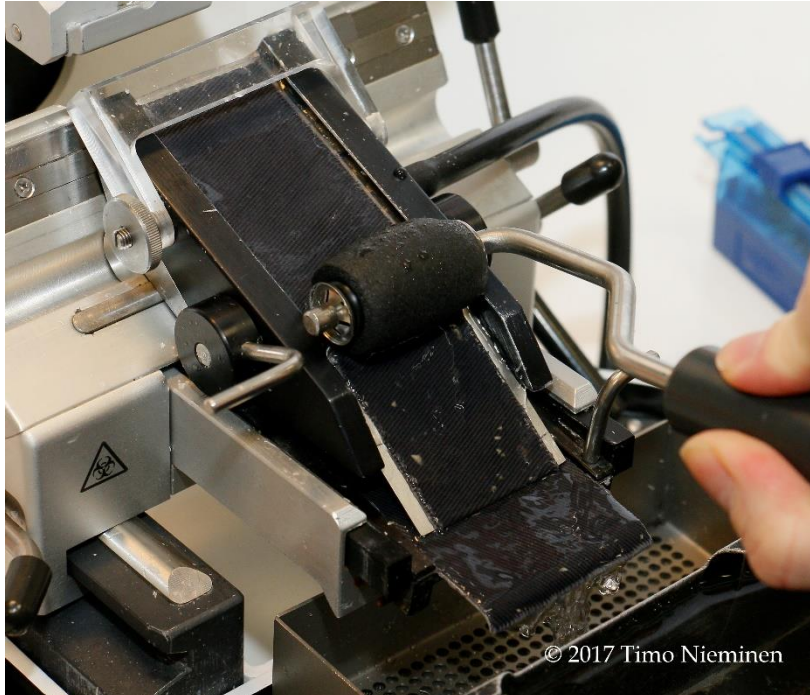
- Lisää tislattu vesi sekä kylmävesialtaaseen että lämminvesihauteeseen.
- Laita virrat päälle laitteisiin kun tulet töihin. Tällöin vesi ehtii lämmitä oikean lämpöiseksi. Vesi ehtii lämmitä näytteiden valamisen aikana.
 - Vesihautteen lämpötila on noin 40 astetta. Lämpötila on yleensä valmiiksi säädettyinä laitteessa.

2.2.1 Mikrotomin säädöt

- Ennen kuin aloitat leikkaamisen, tarkista että laitteen säädöt ovat oikein:
 - Leikkauskulma on noin 10 astetta.
 - Blokinpidike on suorassa, jotta blokki leikkautuu tasaisesti. Tarvittaessa voit testata tämän vatupassin avulla.
 - Leikepaksuus on normaalisti 3,5 mikrometriä, joidenkin erikoisvärjäysten leikepaksuus on paksumpi tai ohuempi.
- Säättöjä on syytä tarkistaa ja korjata, jos blokin leikkaamisessa ilmenee jatkuvasti ongelmia.
- Laita terä paikalleen.

2.2.2 Veden virtauksen käynnistäminen

- Laita sellua ohut kerros jäteastiaan, jotta parafiinia ei pääse kylmävesialtaaseen.
- Laita kylmä vesi virtaamaan mattoa pitkin.
- Veden saa levitettyä matolle tähän tarkoitukseen suunnitellulla työkalulla (kuva 3).
- Säädä sitten virtaus niin, että vesi kulkee matolla tasaisesti.
 - Liian hitaassa virtauksessa leikkeet eivät pääse kulkeutumaan lämminvesihauteeseen asti. Liian kova virtaus taas voi rikkoa esimerkiksi helposti hajoavan näytteen.
- Virtausta kannattaa säätää näytekohtaisesti.



Kuva 5. Veden virtauksen levittäminen matolle tasaisesti

2.3 Blokin asettaminen pidikkeeseen

- Ennen asettamista tarkista, että näytenumero on sama leikattavassa blokissa ja lasilla, johon leike tulee.
- Varmista, että teränsuoja on paikoillaan ja jarru päällä.
- Aseta blokki numeropuoli ylöspäin blokin pidikkeeseen (kuva 4), tai sivuttain, jos blokki on valettu kasetin näytenumero alaspäin.
- Jos kasetin reunoilla on ylimääräistä parafinia, se sulatetaan siihen tarkoitetulla työkalulla pois, jotta blokin saa pidikkeeseen mahdollisimman suoraan. Jos blokki on vinossa, se tasoittuu trimmatessa kaltevaksi, jolloin näytettä ei saada kokonaisena leikkeeseen.



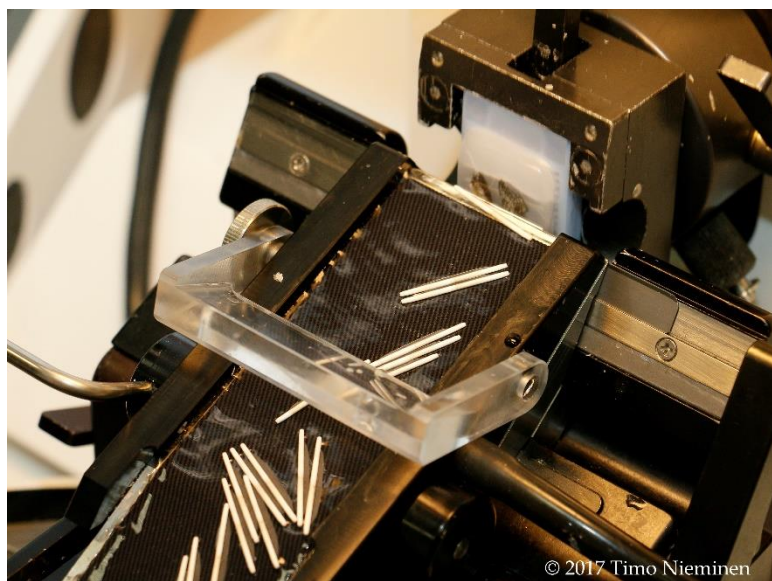
Kuva 6. Blokki blokinpidikkeessä

2.3.1 Jarrun ja teräsuojan poistaminen

- Ota jarru ja teräsuoja pois, ja säädä blokin ja terän etäisyys mahdollisimman pieneksi.
- Voit varovasti tarkistaa etäisyyden käsikammella.
 - Jos blokki on liian lähellä terää, terä voi tehdä blokkiin loven ja pahimmassa tapauksessa rikkoa näytteen.

2.4 Näytteen trimmaaminen

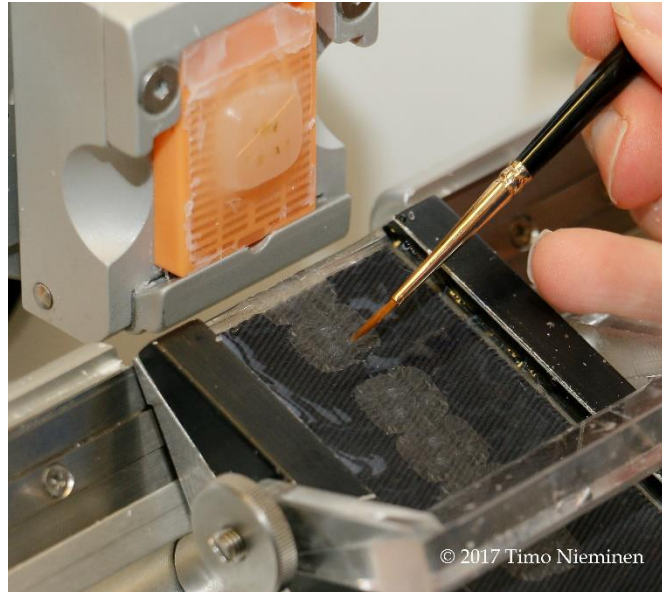
- Aloita trimmaamalla näytettä.
 - Trimmaaminen tarkoittaa blokin syventämistä niin kauan, että koko leike on näkyvillä. Tätä kutsutaan myös avaamiseksi.
- Trimmatessa hyvä leikepaksuus on 10–20 mikrometriä.
 - Hyvin pienissä näytepaloissa on tärkeää olla varovainen, ettei näytettä trimmata hukkaan. Liian varovainenkaan ei saa olla, jotta näytteen mahdollinen muutos ei jää lasilta kokonaan pois, kun blokkia ei ole avattu tarpeeksi.
- Trimmauspaksuus ja -nopeus täytyy säätää näytekohtaisesti.



Kuva 7. Blokin trimmaaminen

2.5 Leikkeen leikkaaminen

- Kun näyte on kokonaan esillä, leikkaa siitä 3,5 mikrometrin paksuisia leikkeitä.



Kuva 8. Näytteen leikkaaminen

2.6 Leikkeen siirtäminen lämminvesihauteeseen

- Yhdistä leikkeenkuljetinsilta lämminvesihauteeseen ja katkaise leikejono tai yksittäinen leike katkaisuterällä.
- Näytteen siirryttyä lämpimään veteen, siirrä silta takaisin paikalleen, jotta lämmin vesi ei kylmene liikaa.
- Tässä vaiheessa, leikkeen ollessa lämpimässä vedessä, voit vielä suoristaa leikettä kahden penselin avulla.



Kuva 9. Leikejono lämminvesihauteessa

2.7 Leikkeen tai leikejonon edustavuuden varmistaminen

- Varmista, että leike/leikejono on edustava. Edustavan näytteen kriteerejä ovat:
 - Leikkeessä ei ole taitoksia. Näiden kohdalla soluja on liian paksusti, mikä hankaloittaa kudoksen rakenteiden erottamista.
 - Leikkeessä ei ole kiinnittymistä estäviä ilmakuplia.
 - Leike pysyy kasassa.
 - Leikkeessä ei ole naarmuja tai raitoja.
 - Näytettä näkyy leikkeessä saman verran kuin blokissa eli blokkia on avattu tarpeeksi.

2.8 Edustavan leikkeen tai leikejonon nostaminen lasille

- Nosta mielestäsi edustava leike/leikejono varovasti lasille pensselin avulla.
 - Ensimmäinen leike tulee lasin hiospäähän, ja loput sen jälkeen järjestyksessä. Voit ottaa niin monta leikettä kuin lasille mahtuu.
- Jos samasta näytteestä on jo ennestään laseja, ota uudet leikkeet lasille samansuuntaisesti kuin edelliset. Tämä onnistuu, jos vanhat lasit ovat vieressä mallina.
 - Tällöin patologin on halutessaan helppo verrata näytteitä mikroskoopissa.
 - Ota myös yksittäiset leikkeet lasille samansuuntaisesti.
- Halutessasi voit laittaa leikkeet lasille kahteen riviin.
 - Näin voi toimia, jos esimerkiksi epäilet, että ensimmäinen rivi on liian pinnasta tai haluat muuten vain ottaa leikkeitä syvemältä.
 - Laita ensimmäinen rivi vasempaan reunaan ja toinen oikeaan. Näin patologia tietää, kummalla puolella on ensimmäinen leiketaso. Tämä järjestys on ennalta sovittu.
- Varo koskettamasta lasilla lämminvesihauteen pohjaa ja reunoja, sillä niissä on yleensä paljon pieniä ilmakuplia.
 - Ilmakuplat voivat leikkeen alle jäädessään estää näytteen kunnollisen kiinnittymisen lasille. Pienet ilmakuplat voi yrittää poistaa pensselin avulla.



Kuva 10. Leikkeen nostaminen lasille

2.9 Leikkeen kiinnittäminen lasille

- o Imeytä lasilta ylimääräinen vesi paperiin.
- o Nosta lasi lämpölevylle kuivumaan ja kiinnittymään siksi ajaksi, kun leikkaat muita näytteitä.



Kuva 11. Lasit lämpölevyllä

2.10 Ennen seuraavaa leikettä

- Ennen seuraavia leikkeitä varmista, että lämminvesihauteen vesi on puhdasta, jotta edellisestä näytteestä mahdollisesti veteen jääneitä osia ei siirry seuraavalle lasille.
 - Tämä voi johtaa pahimmassa tapauksessa väärään diagnoosiin.
 - Vesi puhdistetaan pensselillä tai ohuella sellulla.
- Myös letkut täytyy puhdistaa aika ajoin, jotta niistä ei tule kontaminaatiota näytteisiin.

2.11 Mikrotomin terän vaihtaminen

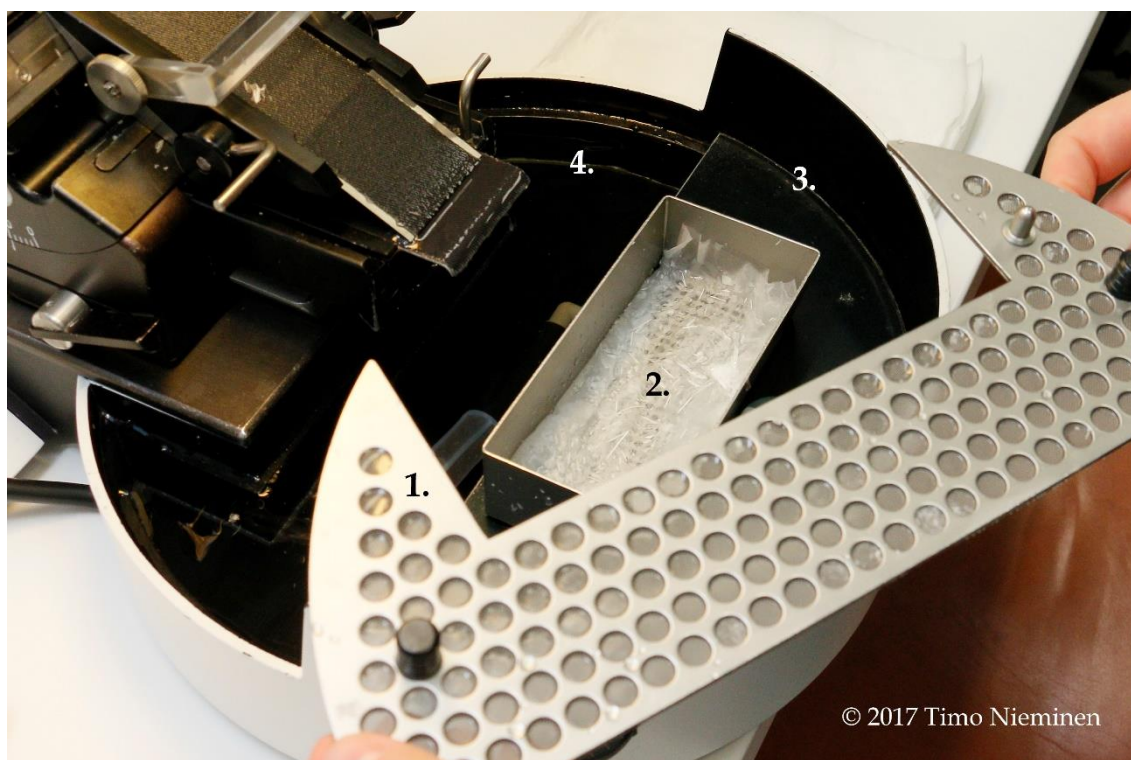
- Vaihda mikrotomin terä aina tarvittaessa. Terän on pysyttävä terävänä, jotta sillä saadaan leikattua edustavia leikkeitä.
- Terän tylsymisen huomaa muun muassa seuraavista asioista:
 - leikkeeseen tulee ruttuja,
 - leikkeet ovat liian paksuja,
 - leikkeet eivät pysy kasassa
 - ja leikkeessä on naarmuja tai raitoja.
- Tällaiset näytteet eivät ole edustavia. Terän vaihtaminen tapahtuu seuraavasti:
 - katkaise veden virtaus,
 - vapauta teränpidike,
 - siirrä terän käyttämätön reuna leikkausalueelle, tai vaihda kokonaan uusi terä,
 - kiristä teränpidike
 - ja säädä blokin ja terän etäisyys uudestaan, sillä vaihdon jälkeen se on saattanut hieman muuttua.

2.12 Leikkeen kiinnittyminen lasiin

- Vie lopuksi kaikki valmiit lasit värjäystelineessä noin 60-asteiseen lämpökaappiin puoleksi tunniksi kiinnittymään.

2.13 Jälkityöt

- Pese lämminvesihaude, parafiinijätekori, pumppusuodatin, takana oleva siivilä ja jätesiiivilä lämpimällä vedellä ja saippualla.
- Poista vesi kylmävesialtaasta letkua pitkin ja kuivaa loput vedet paperilla.
- Kerran kuukaudessa tai tarvittaessa laitetaan pesuliuos kiertämään, jotta letkutkin puhdistuvat. Likaiset letkut voivat aiheuttaa joskus ilmakuplia.
- Maton, jota pitkin leikkeet kulkevat, voi irrottaa ja pestä, jos se alkaa kerätä bakteerikasvustoa tai muuta likaa.
- Koko leikkenekuljetusjärjestelmän irrottamalla saa paremmin pestyä sen osia, esimerkiksi katkaisuterän ja terän väliin jäänyttä parafiinia ei muuten saa puhdistettua.



Kuva 12. Jälkityöt

1. Jätesiiivilä

2. Parafiinijätekori

3. Lämminvesihaude

4. Kylmävesiallas

2.14 Leikkeen mahdollisia ongelmia ja niiden ratkaisuja

SYY	KORJAUS
1. Leikkeessä taitoksia	
1. Tylsä terä	1. Käytä terän toista reunaa tai vaihda terä
2. Liian lämmin blokki	2. Jäähdytä blokki uudelleen
2. Leikkeen paksuus vaihtelee	
1. Liian lämmin blokki	1. Jäähdytä blokki uudelleen
2. Blokki tai terä on löystynyt	2. Kiristä blokki tai terä
3. Väärä leikkauskulma	3. Säädä kulmaa
4. Mekanismissa tai laitteessa on jokin vika	4. Tarkista ilmeisimmät viat
3. Kudoksen alueet eivät näy leikkeissä	
1. Kudokseen ei ole imeytynyt tarpeeksi parafiinia kuduskuljetuksessa	1. Jos parafiinia ei ole imeytynyt tarpeeksi, laita blokki muottiin, jossa on sulaa parafiinia. Siirrä muotti valukoneen lämpimään kammioon. (LKS:n oma käytäntö)
2. Vahablokki on haljennut	2. Kiinnitä uudestaan kuumalla spaattelilla/lastalla
4. Leikkeet tarttuvat blokkiin kiinni	
1. Väärä leikkauskulma	1. Säädä leikkauskulmaa
2. Parafiinia blokin reunalla	2. Sulata parafiini kuumalevyllä
3. Vahaa/likaa terän reunalla	3. Pyyhi ksyleeniin kostutetulla liinalla
5. Leikkeet eivät yhdisty nauhaksi	
1. Terän kulma on liian jyrkkä tai matala	1. Säädä leikkauskulmaa
2. Vahaa/likaa terän reunalla	2. Pyyhi ksyleeniin kostutetulla liinalla
3. Vaha on liian kovaa	3. Lämmitä blokkia hieman

6. Leikkeessä on lohkeamia tai naarmuja

1. Vahassa on kovia osia
 2. Kudoksessa on kovia osia
 3. Terän reunassa on lovi
1. Sulata blokki ja vala blokki uudelleen
 2. Jos kudoksessa on kalsiumia, dekalsifoi kudokseen. Jos kudoksessa on mineraaleja tai muita aineita, poista ne teräväkärkisellä veitsellä.
 3. Käytä terän käyttämätöntä reunaa tai vaihda uusi

7. Leikkeet rullautuvat eivätkä pysy suorana

1. Terä on tylsä
 2. Leikkeet ovat liian paksuja
 3. Liian pieni leikkauskulma
1. Käytä terän käyttämätöntä reunaa tai vaihda uusi
 2. Vähennä leikkauspaksuutta
 3. Säädä leikkauskulmaa

8. Leikkeet laajenevat ja hajoavat vedenpinnalla

1. Kudokseen ei ole imeytynyt tarpeeksi parafiinia kudokkuljetuksessa
 2. Veden lämpötila liian korkea
1. Laita kudokkuljetuskoneeseen vielä muutamaksi tunniksi tai käsittele kokonaan uudelleen, jos haitta on suuri
 2. Jäähdytä vettä

TAULUKKO 1. Problems and solutions for paraffin section (Spencer & Bancroft 2008, 97-98)

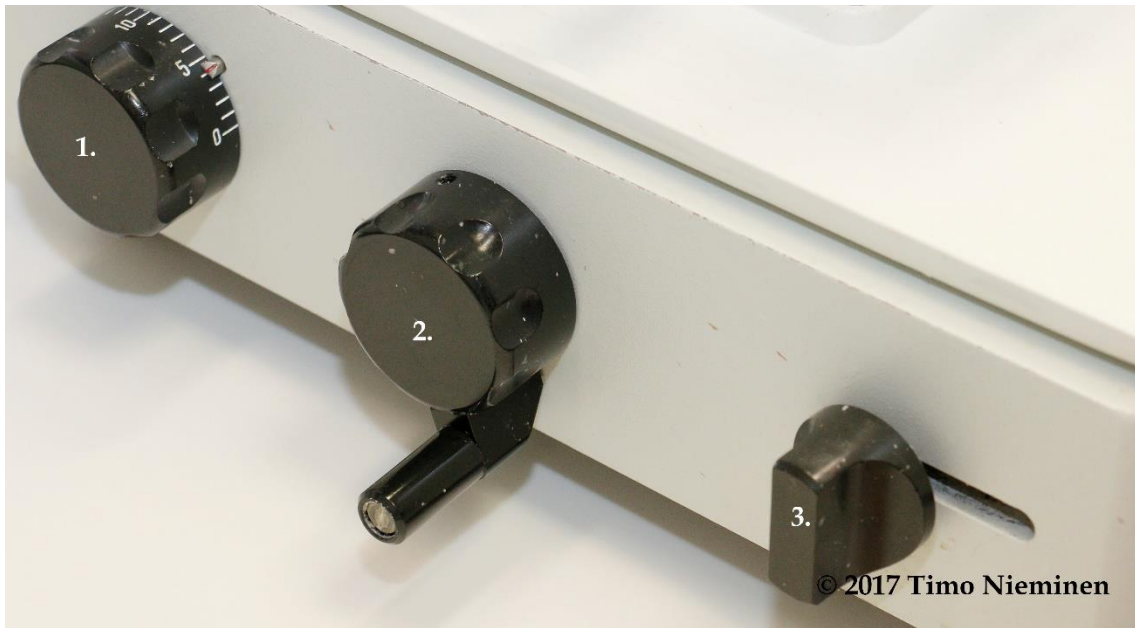
3 MAKROBLOKKIEN LEIKKAAMINEN LIUKUMIKROTOMILLA

3.1 Liukumikrotomin osat



Kuva 13. Liukumikrotomin osat

1. Teränpidike
2. Terä
3. Teränpidikkeen kiristysvipu
- 4., 5. & 6. Teränpidikkeen säätöruuveja

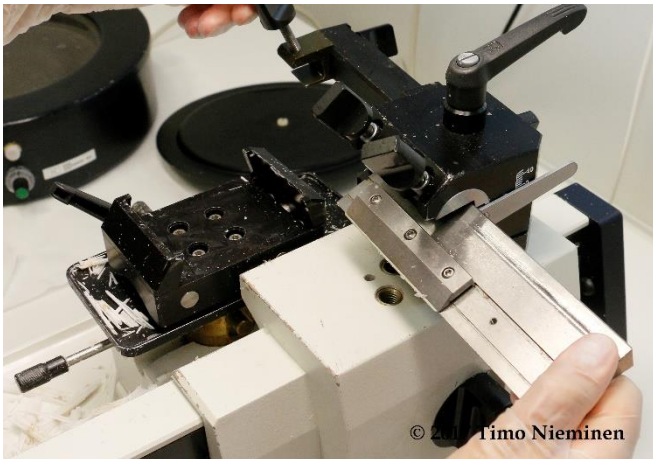


Kuva 14. Liukumikrotomin osat

1. *Leikkauspaksuuden säädin*, sopiva leikkauspaksuus on noin neljä mikrometriä.
2. *Karkeasäädön käsipyörä*, jota pyörittämällä blokia saa trimmattua.
3. *Hienosäätö*, jota käytetään itse leikkaamisessa.

3.2 Ennen leikkaamista

- Laita tislattu vesi lämpenemään lämminvesihauteeseen noin 40-asteiseksi.
- Kylmävesihaude voi olla mikä tahansa astia, johon makroleike mahtuu oikeenomaan.
 - Tummalta pohjalta leikkeen rutut näkyvät paremmin.
- Laita makroblokki kylmenemään kylmälevylle.
- Kirjoita makrolasille blokin näytenumero.
- Aseta kertakäyttöterä liukumikrotomin teränpidikkeeseen.
 - Kiristä terä pidikkeeseen ruuvimeisselillä: ensin keskeltä, sitten reunoista. Aseta teränpidike omalle paikalleen mikrotomiin (kuva 13), ja kiristä se säätöruuveilla.
- Tarvitset yhden paksun pensselin ja kaksi pientä pensseliä.
- Varmista että lukko on päällä (kuva 14) ja lukitse blokki telineeseen.



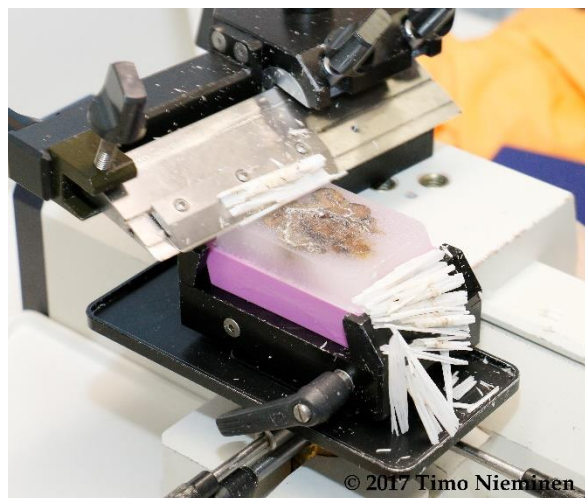
Kuva 15. Teränpidikkeen paikalleen laittaminen



Kuva 16. Teränpidikkeen lukko

3.3 Näytteen trimmaaminen

- Trimmaa näyte kokonaan esille.
 - Terää vedetään käsin blokkia kohti. Käsikampea pyöräytetään ensin (pyöräytys määrää leikepaksuuden). Teline liikkuu käsikampea pyörittämällä kohtisuoraan ylöspäin. Ensin siis pyöräytetään käsikampea, sitten vedetään terä blokin yli. Tätä jatketaan niin kauan, että näyte on kokonaan esillä.
- Puhdista trimmaamisesta syntynyt parafiinijäte paksulla pensselillä.



Kuva 17. Blokin trimmaaminen

3.4 Ennen leikkaamista

- Säädä leikkauspaksuus sopivaksi (noin neljä mikrometriä), laitteen sivusta löytyvällä säätönupilla. Tarkista leikkauskulma (nollan tuntumassa) ja säädä se oikeaksi, jos se ei ole valmiiksi säädettyä.
- Kastele pensselit ja halutessasi myös blokin pinta.

3.5 Leikkeen leikkaaminen

- Leikkaa leike samaan tapaan kuin trimmatessasi leikettä (luku 3.2), mutta tällä kertaa käsikammen sijaan käytetäänkin nuppia, jota vetämällä teline liikkuu ylöspäin sen verran kuin leikepaksuudeksi on määritetty.

3.6 Leikkaamisen jälkeen

- Nosta leike kahden pensselin avulla kylmävesihauteeseen, suurimmat rutut ja taitokset saa suoristettua kahden pensselin avulla kylmävesihauteessa.
- Nosta leike lasin avulla lämminvesihauteeseen, ja suorista loput rutut ja taitokset.
- Valuta vesi leikkeen alta selluun.
- Nosta lasi lämminvesihauteen reunalle kiinnittymään.
- Vie kaikki lasit lämpökaappiin vähintään tunniksi kiinnittymään.
 - Huomaa, että makrolaseille on oma telineensä.



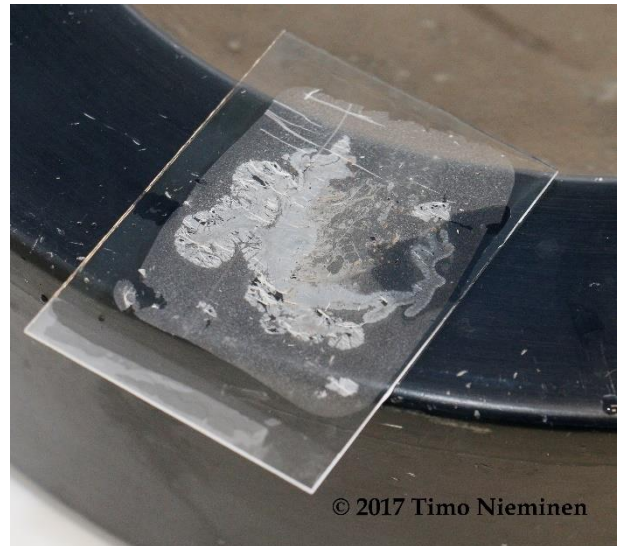
Kuva 16. Leikkeen nostaminen kahdella pensselillä



Kuva 17. Leikkeen nostaminen kahdella pensselillä



Kuva 18. Leikkeen nostaminen lasille



Kuva 19. Leikkeen kiinnittäminen lasille

3.7 Jälkityöt

- Irrota teränpidike mikrotomista.
- Puhdista mikrotomi parafiinista imurin avulla.
- Tyhjennä molemmat vesihautteet ja aseta ne kuivumaan.

3.8 Leikkeen mahdollisia ongelmia ja korjausehdotuksia

- Jos parafiinia ei ole imeytynyt tarpeeksi, laita blokki sulaa parafiinia sisältävään muottiin. Tämän jälkeen siirrä muotti valukoneen lämpimään kammioon.
- Jos blokki ei leikkaannu kunnolla, laita se uudestaan kylmenemään.
- Säädä leikepaksuutta, paksumpi leike voi onnistua paremmin kuin ohut.
- Säädä leikkauskulmaa.
- Sipaise blokkia kostealla sormella, leike voi näin pysyä paremmin kasassa.

LÄHTEET

Isohätä, A. 2017. Bioanalyytikko YAMK, OYS patologian osasto / Pohjois-Suomen biopankki Borealis. Mikrotomia. Luento 22.4.2017. Tekijän hallussa.

Lampela, T. 2017. Laboratoriohoitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Keskustelu 16.10.2017. Tekijän hallussa.

Lampela, T. 2017. Laboratoriohoitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Keskustelu 20.10.2017. Tekijän hallussa.

Sortti, P. 2017. Osastonhoitaja, Lapin keskussairaalan patologian tulosityksikkö. Keskustelu 18.10.2017. Tekijän hallussa.

Spencer, L. T. & Bancroft, J. D. 2008. Microtomy: Paraffin and Frozen. Teoksessa Bancroft, J. D. & Gamble, M. (toim.) Theory and Practice of Histological Techniques. Sixth Edition. London: Churchill Livingstone, 93–104.

Vainio, H. 2017. Laboratoriohoitaja, Lapin patologian tulosityksikkö. Keskustelu 16.10.2017. Tekijän hallussa.