

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

2021

Noora Harlin & Annika Tiikkala

Kudoskuljetusprosessin riskienhallinta patologian laboratoriossa

– Milestone-kudoskäsittelyautomaatin
MileWATCH-seurantajärjestelmän testaus



Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bioanalytikkokoulutus

2021 | 28 sivua

Noora Harlin & Annika Tiikkala

Kudoskuljetusprosessin riskienhallinta patologian laboratoriossa

- Milestone-kudoskäsittelyautomaatin MileWATCH-seurantajärjestelmän testaus

Opinnäytetyössä testattiin Milestonen MileWATCH-seurantajärjestelmää Logos -kudoskuljetusautomaatissa testiajojen avulla. Ajojen aikana aiheutettiin hälytyksiä manuaalisesti ja hälytykset ohjattiin järjestelmän kautta puhelimiin.

Histologiset näytteet ovat ainutkertaisia, joten laboratorioprosessin laadunvalvonta ja riskien minimointi eri työvaiheissa on erityisen tärkeää. Opinnäytetyön tavoitteena oli saada parannettua kudoskäsittelyprosessin riskienhallintaa. Hälytysviesteistä ei yksittäisenä ole merkittävää hyötyä laboratorion laadunhallinnan kannalta, mutta laajempana kokonaisuutena seurantajärjestelmän käyttöönotto voisi olla kannattavaa.

Tarkoituksena oli selvittää MileWATCH-seurantajärjestelmän toimivuutta, sekä soveltuvuutta Tyks Patologian laboratoriossa, mutta selvitys vaatisi seurantajärjestelmän laajempaa testaamista esimerkiksi Batch -toiminnon kautta.

Asiasanat:

patologia, histologia, laadunhallinta, kudos, laboratorio

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Degree programme in Biomedical laboratory science

2021 | 28

Noora Harlin & Annika Tiikkala

Risk management of tissue processing in pathology laboratory

- Testing of MileWATCH server for Milestone tissue processor

In this thesis MileWATCH -surveillance system was tested by test runs. The alarms in Logos tissue processor were caused manually and the alarms were routed through the system to the mobile phones.

Histological tissues are one of a kind so the quality control of a laboratory process and minimizing the risks is particularly important in different stages. The aim of this thesis was to improve the risk management of tissue processing. The alarm messages alone do not have any significant benefit to quality control of pathology laboratory. By expanding the surveillance system its commissioning could be profitable.

The purpose of this thesis was to clarify the function and suitability of MileWATCH -surveillance system in TYKS Pathology laboratory. Proper investigation would require further testing of the surveillance system for example through Batch software.

Keywords:

pathology, histology, quality control, tissue, laboratory

SISÄLTÖ

KESKEINEN SANASTO	6
1 JOHDANTO	7
2 HISTOLOGINEN LABORATORIOPROSESSI	8
2.1 Näytteiden saapuminen laboratorioon	8
2.2 Dissektointi ja kasetointi	8
2.3 Kudoskuljetus	9
2.4 Valu	10
2.5 Leikkaus	10
2.6 Värjäys	11
3 KUDOSKULJETTIMEN TOIMINTA JA KÄYTTÖ	12
3.1 Logos -kudoskujetusautomaatin toimintaperiaate	12
3.2 Kudoskuljetusautomaatin osat ja käyttö	12
4 LAADUNHALLINTA	16
4.1 Laadunvarmistus	16
4.2 Riskienhallinta patologian laboratoriossa	16
4.3 MileWATCH –järjestelmän toiminta	18
5 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS	20
6 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	21
6.1 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	21
6.2 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	21
6.3 Opinnäytetyön käytännön toteutus	22
7 POHDINTA	25
LÄHTEET	27

Kuvat

Kuva 1. Logos -kudoskuljetusautomaatti.	13
Kuva 2. Reagenssit.....	13
Kuva 3. Split rack. (Milestone 2012.)	14
Kuva 4. Ohjelman kulku. (Milestone 2012.)	15
Kuva 5. Näytekammion sensorit	23
Kuva 6. MileWATCHin lähettämät hälytysviestit.....	24

KESKEINEN SANASTO

Histologia	Kudosoppi, tarkoittaa kudoksen rakenteen ja toiminnan tutkimista (Duodecim 2007).
Ksyleeni	Yksinkertainen aromaattinen hiilivety, väritön ja myrkyllinen neste, voidaan käyttää muun muassa rasvaliuottimena (Duodecim 2007).
Kudos	Tietyntyypisten solujen muodostama kokonaisuus, erilaisilla kokonaisuuksilla on erilaisia ominaisuuksia, kuten rakenne, toiminta, ulkonäkö (Duodecim 2007).
Kudoskuljetus	Kudoskuljetuksen prosessi käsittelee fiksoidun kudoksen niin, että se mahdollistaa kudosten leikkaamisen ohuiksi leikkeiksi. Kudoskuljetus on automatisoitu. (Leica Biosystems.)
Kudosnäyte	Kudoksesta otettu näyte eli koepala mikroskooppista tutkimusta varten (Duodecim, 2007).
Laadunvarmistus	Laadunvarmistuksen avulla pyritään saavuttamaan riittävä laatutaso, ja estämään laatuvaatimuksien poikkeavuudet (Duodecim 2007; Labquality 2020).
PAD	Patologisanatominen diagnoosi (Mäkinen ym. 2012).

1 JOHDANTO

Patologia eli tautioppi on lääketieteen erikoisala, jonka tarkoitus on tutkia tautien syitä ja kehittymistä sekä niiden vaikutuksia ihmisen terveyteen. Patologialla on keskeinen merkitys erilaisten sairauksien, esimerkiksi syöpien diagnostiikassa ja hoidossa. (Mäkinen ym. 2012.)

Histologialla tarkoitetaan kudosten ja niiden ominaisuuksien, rakenteen, sekä muutoksien tutkimista. Histologian laboratoriossa kudospäätteet (PAN) käsitellään ja valmistellaan tutkimuksia varten. Histologinen diagnostiikka toteutetaan valomikroskooppisin tutkimuksin, jonka perusteella annetaan patologisanatomisen diagnoosi (PAD). (Mäkinen ym. 2012.)

Kuduskuljetus on fiksaation ohella yksi ja tärkein osa histologista laboratorioprosessia. Jos fiksaatio tai kuduskuljetus epäonnistuu, näytteen jatkokäsittely, kuten leikkaus ja värjäys ja siten myös tarkastelu voi olla mahdotonta. Näytteenkäsittelyn vajavaisuus voi vaikuttaa merkittävästi potilaan saamaan hoitoon, esimerkiksi jatkotutkimukset ja syövän hoitotavan tai lääkityksen määritys voi vaikeutua huomattavasti. (Lerch ym. 2019.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää Milestone-kuduskäsittelyautomaatin MileWATCH-seurantajärjestelmän soveltuvuutta, sekä sen hyötyjä TYKS Patologian toiminnassa. Opinnäytetyössä tarkastellaan MileWATCH-seurantajärjestelmän vaikutusta riskien hallintaan ja niiden minimoimiseen. Opinnäytetyön tavoitteena on saada parannettua kuduskäsittelyprosessin riskienhallintaa histologisessa laboratorioprosessissa.

2 HISTOLOGINEN LABORATORIOPROSESSI

Histologisessa laboratorioprosessissa näytteet käsitellään mikroskooppista tarkastelua varten. Tutkimuksiin käytettäviä mahdollisia kudostyypppejä on useita, ja niiden koko on vaihtelevaa, tutkittavan kudoksen paino voi vaihdella milligrammoista kymmeniin grammoihin. Tavallisimpiin näytemateriaaleihin kuuluvat ihomuutokset, kuten luomet, tähystyksessä otetut biopsiat eli koepalat ja erilaiset kasvaimet. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2021.)

Näytteelle tulee olla lääkärin lähete, josta löytyy tarvittavat tiedot, joita ovat nimi, henkilötunnus, näytteenoton päivämäärä, näytetyyppi, lähetävä ja vastaanottava yksikkö, esitiedot kuten syy näytteenottoon, ja mitä näytteestä halutaan selvittää, purkkien lukumäärä ja niiden sisältö (Karttunen ym. 2005).

2.1 Näytteiden saapuminen laboratorioon

Näytteet tulevat laboratorioon fiksoituna 10 % formaliiniin. Fiksointi kovettaa kudosta sekä pysäyttää solujen hajoamisen ja kudoksen säilyy sellaisena, kuin se on ollut näytteenottohetkellä. Fiksatiivia tulisi olla 1:10 suhteessa näytteeseen. (Thavarajah ym. 2012.)

Näytteitä voi saapua myös tuoreena ilman fiksatiivia, tuoreinäytteet tulee säilyttää jääkaappilämpötilassa näytteen käsittelyyn asti. Patologian laboratorioon tulevat näytteet sisäänkirjataan, jolloin niille annetaan myös juokseva näytenumero, jonka avulla näyte tunnistetaan koko laboratorioprosessin ajan. (Mäkinen ym. 2012.)

2.2 Dissektointi ja kasetointi

Näytteet kasetoidaan niille tarkoitettuihin näytekasetteihin kuduskuljetusta varten. Suurimmat näytteet tarvitsevat käyntiinan, jossa ne kuvataan ja dissekoidaan ennen kasetointia. Dissektiossa näytteestä leikataan

makroskooppisesti edustavat palat kasetteihin, muussa tapauksessa kasetoidaan koko näytemateriaali. Blokkeja yhdestä näytteestä voi tulla yksi tai useampia. Kasetoinnissa pienet näytteet, etenkin ihonäytteet, tulisi asetella kasettiin niin, että näytteestä saataisiin kaikki ihon kerrokset näkyviin lasille leikatessa. (Mäkinen ym. 2012.)

2.3 Kudoskuljetus

Kasetoinnin jälkeen näytepalat ovat valmiita kudoskuljetukseen. Kudoskuljetus on automatisoitu, ja näytteet käyvät läpi liuossarjan erilaisia kemikaaleja, jonka tavoitteena on prosessoida kudosta kovettamalla näytteet sellaisiksi, että niitä pystytään leikkaamaan ohuiksi 3-5µm leikkeiksi. Tuoreesta prosessoimattomasta kudoksesta ei saa leikattua tarpeeksi ohuita leikkeitä. (Morales & Nassiri 2007.)

Kudoskuljetuksessa on kolme keskeistä vaihetta. Ensimmäisenä vaiheena suoritetaan näytteen dehydraatio, jonka aikana kudoksesta poistetaan vesi nousevalla alkoholisarjalla, yleensä aloittaen 70 % etanolista siirtyen absoluuttiseen alkoholiin. Nousevalla alkoholisarjalla varmistutaan siitä, että kudoksesta ei menetä muotoaan. (Leica 2021.)

Dehydraation jälkeen alkoholi täytyy edelleen poistaa näytteistä, sillä parafiini ei liukene alkoholiin. Tätä vaihetta kutsutaan kirkastukseksi ja se suoritetaan ksyleenin avulla. Ksyleeni liukenee sekä alkoholiin, että parafiiniin. Kudoksessa oleva etanoli korvautuu kirkastuksen aikana ksyleenillä, jonka jälkeen voidaan suorittaa kudoksesta viimeinen vaihe eli parafiini-infiltraatio. (Slaoui & Fiette 2011.)

Parafiini toimii tukiaineena ja kovettaa kudoksen, jotta se voidaan valaa blokkeihin ja leikata objektilasille tarpeeksi ohuiksi leikkeiksi mikroskooppista tarkastelua varten. Parafiinin sulamispiste on 50–60°C, joten lämmitettynä se saadaan infiltroitua kudokseen. Huoneenlämmössä parafiini jähmettyy kiinteäksi. (Slaoui & Fiette 2011.)

2.4 Valu

Valussa kudospalat valmistellaan valumuottien avulla näyteblokeiksi. Ennen kudospalojen siirtoa, metalliseen muottiin valutetaan hieman sulaa parafiinia, jonka jälkeen näytteet asetellaan kasetista valumuottiin leikkauspinta alaspäin lämpölevyn päällä. Kudospalat tulisi pyrkiä siirtämään kasetista samassa asennossa valumuottiin, ellei kasetissa ole erityismerkintöjä näytteen valamista varten. Iho ja limakalvonäytteet tulisi pystyä leikkaamaan niin, että niiden kaikki eri kudosterrokset tulevat näkyviin. Kudospalat, jotka ovat putkimaisia, tulee valaa niin, että leikatessa niistä tulee esiin niiden poikkileikkaus. (Aho 1994.)

Tämän jälkeen valumuotti siirretään kylmälevyn päälle ja samalla kudospalaa painetaan varovasti valumuotin pohjaan, jotta näyte kiinnittyisi mahdollisimman lähelle parafiiniblokin leikkauspintaa. Lopuksi kasetin pohja asetetaan valumuotin päälle ja se kiinnitetään blokkiin valuttamalla lisää sulaa parafiinia, jonka jälkeen blokki muotteineen siirretään kylmälevylle jähmettymään. Kun parafiiniblokki lähtee helposti irti valumuotista, on blokki valmis leikattavaksi. (Aho 1994.)

2.5 Leikkaus

Leikkeet leikataan vesiliukumikrotomilla 3-5µm paksuisiksi leikkeiksi. Vesiliukumikrotomi on rotaatiomikrotomi, jossa näyteblokki liikkuu istukassaan ylös alas leikkausveitsen pysyessä paikallaan. Leikkauksessa käytetään kertakäyttöveitsiä. Veitsiä on erilaisia ja ne valitaan usein sen mukaan, onko näyte kova tai kovin rasvainen. Leikkeet liukuvat lämminvesihauteeseen, jossa leikkeet suoristuvat hieman ennen objektilasille poimimista. Jos yhdelle lasille tulee useampi leike, tulee ne poimia objektilasille järjestykseen niin, että viimeinen leike tulee kauimmaksi lasin hiospäästä. Laseista valutetaan ensin ylimääräinen vesi pois, jonka jälkeen ne laitetaan 60°C lämpölevylle kiinnittymään. (Aho 1994.; Mäkinen ym. 2012.)

2.6 Värjäys

Värjäystä varten leikkeistä poistetaan parafiini ksyleenillä ja laskevalla alkoholisarjalla eli ne hydroidaan. Yleisin perusvärjäys on HE- eli hematoksyliini-eosiini-värjäys. Kyseinen värjäys koostuu kahdesta eri väriaineesta. Hematoksyliini värjää tumia ja vain vähän sytoplasmassa esiintyvää RNA:ta. Eosiini värjää solun sisäisiä ja ulkoisia proteiineja, kuten sidekudosta. (Sampias & Rolls 2021.)

HE-värjäys säilyy pitkään ja se värjää hyvin ja selkeästi tumat, mikä on eduksi tuma-atypian diagnostiikassa. Perusvärjäyksenä pidetään myös van Gieson -värjäystä, jossa kollageeni värjäytyy punaiseksi ja muut kudokset kellanruskeiksi. Gieson -värjäyksestä on apua invaasion eli syöpäsolujen tunkeutumisen arvioinnissa kudokseen sekä strooman, eli elintä tukevan sidekudoskalvon arvioinnissa. (Mäkinen ym. 2012.)

Erilaisia erikoisvärjäyksiä käytetään muun muassa maksa-, munuais- ja luuydinnäytteiden diagnostiikassa. Erikoisvärjäyksiä voidaan käyttää perusvärjäyksistä esiin tulleiden löydöksien varmistamiseen tai sellaisiin kudoksiin, joiden tiedetään näkyvän heikosti perusvärjäyksissä. Yleisimpiä käytössä olevia erikoisvärjäyksiä on PAS-värjäys ja Alcian Blue, jotka molemmat osoittavat lima-aineita. Kongonpunaa käytetään amyloidikertymien eli elimiin kertyneiden muuttuneiden proteiinien osoittamisessa. Helikobakteerin osoittamiseen käytetään Giemsa -värjäystä. (Mäkinen ym. 2012.)

3 KUDOSKULJETTIMEN TOIMINTA JA KÄYTTÖ

TYKS Patologian laboratoriossa on käytössä kaksi erilaista Milestonen kuduskuljetusautomaattimallia. Pathos Delta kuduskuljettimia käytetään rasvaisten makronäytteiden ajamiseen ja Logos kuduskuljettimia kaikkien muiden näytteiden ajoon. Tässä opinnäytetyössä käsittelemme vain Logos kuduskuljetinta, johon MileWATCH-seurantajärjestelmä asennetaan.

3.1 Logos -kuduskuljetusautomaatin toimintaperiaate

Kuduskuljetusautomaatissa käytetään mikroaalto-hybridijärjestelmää. Hybridijärjestelmä mahdollistaa näytteiden lämmittämisen mikroaalloilla, perinteisellä vastuslämmityksellä tai näiden kahden yhdistelmällä. Dehydraatio- ja kirkastusvaiheissa käytetään mikroaaltolämmitystekniikkaa, jonka avulla nämä vaiheet nopeutuvat. Automaatissa on kaksi kammiota, toinen kammio vahalle ja toinen näytteille. Kaikki reagenssit ja vaha kulkeutuvat automaattisesti näytekammioon (Milestone 2021.)

3.2 Kuduskuljetusautomaatin osat ja käyttö

Näyte- ja vahakammiot täytetään automaatin päältä olevista luukuista (kuva 1). Reagenssit sijaitsevat laitteen alaosassa olevassa vetolaatikossa omissa kanistereissaan. Jokaiseen kanisteriin on kiinnitetty letkut, joita pitkin reagenssit kulkeutuvat näytekammioon (kuva 2). Näytteet asetetaan automaattiin jaetussa telineessä (split rack), johon on mahdollista asettaa näytteitä jopa kolmeen tasoon (kuva 3). Yhteen tasoon mahtuu 70 kasettia, eli yhteensä yhteen ajoon saadaan maksimissaan 210 näytekasettia. Näytetelineen päälle asetetaan kansi ennen ajoa, jotta näytteet pysyisivät telineessään ajon ajan (Milestone 2012.)



Kuva 1. Logos -kudoskuljetusautomaatti.



Kuva 2. Reagenssit.



Kuva 3. Split rack. (Milestone 2012.)

Pienille ja keskikokoisille näytteille on asennettu laitteeseen omat ohjelmat. Ennen ohjelman käynnistämistä valitaan koneen valikosta oikea kasettiteline sekä kirjataan ajoon menevien kasettien lukumäärä. Seuraavaksi valitaan ohjelma, jolla näytteet on tarkoitus ajaa. Ennen ajoa on tarkistettava, että vahaa on kammiossa tarpeeksi. Vahasäiliössä on sensorit, jotka tunnistavat vahan määrän. Näytteet asetetaan telineessään näytekammioon. (Milestone 2012.)

Ohjelman valinnan jälkeen voidaan valita vielä, sisällytetäänkö formaliinifiksaatiovaihe ajoon vai ei. Esimerkiksi pikaohjelmassa fiksaatiovaihe on automaattisesti pois käytöstä. Ohjelmat ovat oletuksena automaattisia, mutta koneessa on myös mahdollista valita kaksoistila eli manuaalinen ajo, jolloin näytteet pitäisi siirtää käsin vahakammioon. Automaattisessa ajossa vaha siirtyy omasta kammioista näytekammioon parafiini-infiltraatiovaiheessa. Ohjelmien ajon voi myös laittaa ajastuksella myöhemmin alkavaksi, esimerkiksi viikonloppuisin voidaan asettaa ajo alkamaan vasta sunnuntaina, jolloin se on maanantaina aamulla valmis. (Milestone 2012.)

Näytöllä näkyy ajon aikana ohjelman eri vaiheet (kuva 4), lämpötila, paine, sisällä olevien kasettien määrä, käynnissä oleva ohjelma ja ohjelman valmistumisaika.

Laite huomauttaa, että on varmistettava ensimmäisen vaiheen käynnistyminen ennen laitteen luota poistumista. (Milestone 2012.)



Kuva 4. Ohjelman kulku. (Milestone 2012.)

4 LAADUNHALLINTA

4.1 Laadunvarmistus

Laadunvarmistuksella tarkoitetaan laadun mittaamista ja todettujen puutteiden korjaamista. Laadunvarmistukseen kuuluu sellaiset toimenpiteet, joilla saavutetaan riittävä varmuus siitä, että tuotteet tai palvelut saavuttavat vaatimukset. Laadunvarmistus sisältää toimenpiteisiin tarvittavien toimenpiteiden lisäksi laadunvalvonnan. (Kaste & Konttinen 1995.)

Laatuongelmien huomioiminen on tärkeää, jotta laadunvarmistusmenetelmät voidaan suunnata oikein. Laatuvirheitä voi tapahtua missä osassa laboratorioprosessia tahansa, mutta suurin osa virheistä tapahtuu preanalyttisessä vaiheessa, ennen näytteen varsinaista analysointia. (Aho & Lintunen 2018.)

4.2 Riskienhallinta patologian laboratoriossa

Riskienhallinnan kannalta täytyy erityisesti olla huolellinen ja asiantunteva. Näytteenottajalla on näytteen laatuun vaikuttamisessa tärkeä rooli. Näytteenottajan tulee ottaa huomioon oikeaoppinen näytteenotto ja näytteenottokohta on valittava huolellisesti. Huomioitavaa on myös näytteen asianmukainen fiksointi, jotta näytteestä saadaan mahdollisimman edustava. Lisäksi tärkeää on näytteiden oikeanlainen ja tarkka merkitseminen, jotteivät näytteet mene keskenään sekaisin. (Karttunen ym. 2005.)

Analyysivaiheessa voi tapahtua myös merkittäviä virheitä. Patologi saattaa tulkita näytteen väärin tai olla muuten huolimaton tai kokematon. Näytteet ja näytelasit voivat mennä sekaisin, jolloin potilas saa väärän diagnoosin. (Aho & Lintunen 2018.) Riskienhallinta tulee ottaa huomioon jokaisessa näytteenkäsittelyvaiheessa, kuten myös analyysivaiheessa sekä patologin lausunnossa. Patologin tulee sanella tai kirjoittaa lausunto selkeästi

ymmärrettävään muotoon. (Karttunen ym. 2005.) Yksi suurimmista virhelähteistä on väärin ymmärretty patologin lausunto hoitavan lääkärin toimesta (Aho & Lintunen 2018).

Comanescu ym. 2012 kertovat tärkeimmistä näytteenkäsittelyvaiheista, kuten fiksaatiosta, kuduskuljetuksesta ja valusta histologisessa laboratoriossa. Artikkelissa on esitetty kudosnäytteen kriittisiä vaiheita laboratorioprosessissa. Kriittisimmäksi vaiheeksi osoittautui kudosnäytteen formaliinifiksatio ja kuljettaminen potilasosastolta tai toimenpiteestä patologian laboratorioon.

Riskienhallintaa on pyritty minimoimaan patologian laboratorioissa myös digipatologian, eli kudosnäytteiden automatisoidun tarkastelun avulla. Näytelaseista skannataan kuvat, joita voidaan tarkastella digitaalisesti, esimerkiksi tietokoneelta mikroskoopin sijaan. Näytelasit on tähän asti jaettu paperiläheteiden kanssa patologeille. (2M-IT 2021.) McCann ym. 2014 tutkimus keskittyy HE-värjättyjen histologisten näytteiden automaattiseen mikroskooppiseen tarkasteluun ja sen ongelmiin. Tutkimuksessa on esitetty kattava kuvaus histologisesta laboratorioprosessista ja sen eri vaiheiden vaikutuksista näytteiden tutkittavuuteen. Eniten vaihtelevuutta esiintyi fiksaation, leikkauksen ja värjäyksen aikana, jotka vaikeuttivat näytteiden tarkastelua.

Kuduskuljetukseen liittyvät riskit

Kuduskuljetus on ensimmäisiä automatisoituja vaiheita histologisessa laboratorioprosessissa. Kuduskuljetuksen riskit liittyvät automaatin toimintaan, sekä sen käyttöön ja huoltoon. Esimerkiksi parafiini-infiltraatio voi olla puutteellinen tai epäonnistunut, myös virtalähteestä johtuvat virheet ovat mahdollisia. (Morales & Nassiri 2007.)

Ennen kuin kuduskuljetusautomaattiin laitetaan näytteitä, tulee tarkistaa kemikaalien säilyvyys, sekä että parafiinia ja tarvittavia liuoksia, kuten etanoleja, isopropanolia ja ksyleeniä on tarpeeksi, jotta ne riittävät koko ajon ajaksi. Laitteesta tulee valita oikea ohjelma, ja tarkistaa että liuokset varmasti peittävät

kaikki kammiossa olevat näytetasot. Kun kuduskuljetuksen ohjelman käynnistää, täytyy vielä tarkistaa, että ohjelma on lähtenyt käyntiin eikä tässä vaiheessa ole esimerkiksi tullut virheilmoituksia. Kuduskuljetus laitetaan usein yön yli ajoon, joten yöaikana tulleet virheilmoitukset huomataan vasta seuraavana aamuna. (Mäkinen ym. 2012.)

Kuduskuljetuksen aikana mahdollisesti tapahtuvia virheitä voivat olla esimerkiksi riittämätön dehydraatio ja fiksointi. Puutteellinen dehydraatio voi johtua liian lyhyestä prosessointiajasta, tai nousevan alkoholisarjan epäonnistumisesta. (Milestone 2012.) Riittämätön dehydraatio heikentää kuduskuljetuksen seuraavia vaiheita eli kirkastusta ja parafiini-infiltraatiota. Tämän seurauksena kudoksen leikkaaminen on vaikeaa, sillä kudokse ei saa tarpeeksi tukea parafiinista ja siihen tulee repeytymiä. (Rolls 2016.) Huonosti fiksoitu näyte vaikuttaa kudoksen koostumukseen ja prosessointi on vaikeampaa. Tummat voivat olla pyknoottisia ja sytoplasman rakenne vääristynyt. (Milestone 2012.) Mikroskooppinäkyvässä voi esiintyä artefakteja ja solumorfologiaa voi olla haastavaa tulkita (Rolls 2016).

Rao ym. 2016 tutkimus koskee laaduntarkkailua histologisen laboratoriosessin eri vaiheissa vuosina 2007–2009. Esimerkiksi kuduskuljetuksen aikana eniten virheitä havaittiin, kun parafiini-infiltraatio oli epäonnistunut (14 tapausta), dekalsifointi oli riittämätön (6 tapausta), teknisiä ongelmia ilmeni kuduskuljetusautomaatissa (6 tapausta), sekä kun dehydraatio ja kirkastus eivät olleet riittäviä (3 tapausta).

4.3 MileWATCH-järjestelmän toiminta

MileWATCH on ohjelma, joka yhdistää Milestonen yksiköt vuorokauden ympäri. MileWATCH toimii tietoturvalisesti terveydenhuollon yksikön omassa lähiverkossa, eikä tarvitse välttämättä yhteyttä ulkoiseen internetiin. MileWATCH-järjestelmässä voidaan seurata näytteen eteneminen näytteenottohetkestä patologian laboratorioon. MileWATCH-järjestelmä koostuu kolmesta ohjelmistosta: Server, Viewer ja Batch. (Milestone 2021.)

Server -ohjelmisto kerää tiedon Milestone -yksiköstä, joka on yhteydessä MileWATCH tietokantaan ja siirtää sen laboratorion informaatiojärjestelmään. Ohjelman asetukset voidaan määrittää siten, että se lähettää ilmoituksia halutuille henkilöille sähköpostilla, tekstiviestillä tai puhelimitse. (Milestone 2021.)

Viewer -ohjelmiston avulla pystytään tarkkailemaan jokaista lähiverkon palvelimeen liitettyä yksikköä, prosessien kulkua ja seuraamaan tapahtumalokia. Tästä syystä ei ole tarvetta ladata tietoja Milestone -laitteelta muistitikulle ja siitä edelleen tietokoneelle. (Milestone 2021.)

Batch -ohjelmiston avulla henkilöstö pystyy toteuttamaan kaikki näytteen hallinnoimiseen liittyvät tehtävät. Näytekasetit skannataan kuuluvaksi johonkin tiettyyn kasettitelineeseen kuduskuljetusta varten, jolloin näytekokonaisuudesta muodostetaan yksi ajoerä. Jokainen lukukoodin sisältävä kasetti luetaan skannaamalla Batch -ohjelmistoon ennen kuduskuljetusta. Batch -ohjelmiston avulla pystytään seuraamaan näytteiden etenemistä kuduskuljetuksessa. Kuduskuljetuksen valmistuttua MileWATCH-ohjelma lähettää vastuuhenkilölle ilmoituksen, kun näytteet ovat valmiit seuraavaan vaiheeseen. (Milestone 2021.)

MileWATCH mahdollistaa yksittäisten näytteiden käsittelyketjujen muodostamisen ja seuraamisen sekä näytteen jäljittämisen yksilöllisen tunnisteiden avulla. Yksilölliseen näytteeseen liitetään myös tarkkoja tietoja näytteiden valmistelun olosuhteista, kuten lämpötilat, käytetyt formaliinimäärät sekä kuljetuksiin kulunut aika. MileWATCH ryhmittelee näytteiden tiedot palvelimelle näytteen tunnisteiden perusteella eri kansioihin. Laboratorion informaatiojärjestelmä (LIS) noutaa tarvittavat tiedot näistä kansioista tietoja muokkaamatta. (Milestone 2021.)

5 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää patologian laboratoriossa käytössä olevan laitevalmistaja Milestonen kuduskäsittelyautomaatin uuden MileWATCH-seurantajärjestelmän toimivuutta, sekä soveltuvuutta TYKS Patologian toiminnassa.

Opinnäytetyössä tarkastellaan MileWATCH-seurantajärjestelmän vaikutusta laadunvalvontaan ja kuduskuljetuksen riskien hallintaan ja niiden minimoimiseen.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on saada seurantajärjestelmän avulla parannettua kuduskäsittelyyn liittyvää laadunhallintaa histologisessa laboratorioprosessissa.

6 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

Tämä opinnäytetyö on bioanalytikkokoulutuksen käynnissä olevan Turku CRC:n tutkimusluvan saaneen hankkeen, Työelämäyhteistyön ja opetusmenetelmien kehittäminen bioanalytikkokoulutuksessa (TurkuCRC T12/022/19) osatutkimus. Hanke tukee bioanalytikko-opiskelijoiden innovaatiopedagogiikan opetusmenetelmiä, sekä työelämälähtöistä osaamista yhdistämällä soveltava tutkimus- ja kehitystoiminta oppimiseen.

6.1 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Merkittävä ero toiminnallisessa opinnäytetyössä tutkimukselliseen opinnäytetyöhön on se, että toiminnallisessa opinnäytetyössä syntyy jonkin tuotos, kuten työohje tai uusi toimintamalli. Tutkimuksellisen opinnäytetyön lopputuloksena syntyy uutta informaatiota kaikille osapuolille niin opiskelijoille, kuin opinnäytetyön toimeksiantajallekin. Uudesta saadusta tiedosta tehdään usein raportti. (Salonen 2013.)

Tämän opinnäytetyön tyyppi on toiminnallinen kehitystehtävä, jonka tuloksena tavoitellaan konkreettista kehitystä laboratorion laadunhallintaan. Opinnäytetyössämme on mukana opiskelijoiden lisäksi eri toimijoita, TYKS Patologia ja Milestone, mikä viittaa toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Työn sitoutuvuus sekä aikaan että paikkaan viittaa myös toiminnalliseen malliin (Salonen 2013). Tämä työ on ollut mahdollista toteuttaa vain TYKS Patologian tiloissa demojakson aikana. Opinnäytetyön sisällöistä on sovittu yhdessä eri toimijoiden välillä.

6.2 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Tässä opinnäytetyössä oli tarkoituksena tutkia, onko MileWATCH-seurantajärjestelmästä hyötyä patologian laboratoriolle. Jotta tutkimus on toteutettu eettisesti oikein, ja jotta se on suoritettu hyvien tieteellisten käytäntöjen

mukaisesti, tulee sen täyttää tietyt kriteerit. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan mukaan hyviä tieteellisiä käytäntöjä ovat rehellisyys, eettiset tiedonhankinta- ja tutkimus, menetelmät, asianmukaiset lähdeviittaukset, suunnitelmallisuus ja tulosten raportointi, dokumentointi, tutkimusluvan alla toimiminen sekä tietosuojasta huolehtiminen. Tutkimustuloksia voidaan pitää luotettavana ja uskottavana vain silloin kun tutkimuksen toteutuksessa on käytetty hyviä tieteellisiä käytäntöjä sekä otettu ne huomioon tutkimusta tehtäessä. Hyvä tieteellinen käytäntö kuuluu jokaisen tutkimusorganisaation laatujärjestelmään. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012.)

Tutkimus toteutettiin hyvien tieteellisten käytäntöjen mukaisesti, jotta tehtyä työtä ja sen tuloksia voidaan pitää luotettavina ja hyväksyttävänä. Koska opinnäytetyön toteutuksessa ei käytetty varsinaisia potilasnäytteitä, olivat kaikki hälytykset seurantajärjestelmässä tahallisesti aiheutettuja. Kudoskuljetusautomaattien ja niiden seurantajärjestelmän valmistajalta Milestonelta on saatu lupa tehdä tästä aiheesta opinnäytetyö.

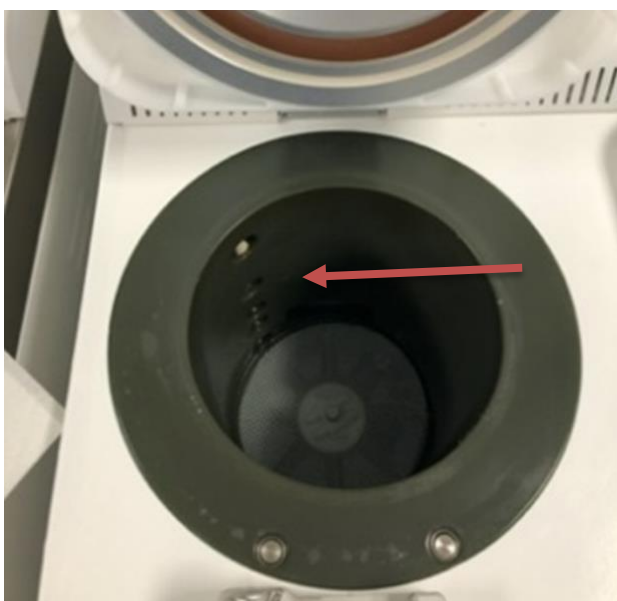
6.3 Opinnäytetyön käytännön toteutus

Tämän opinnäytetyön käytännön toteutus tapahtui TYKS Patologian laboratorion tiloissa. Laboratorion Milestone kudoskuljetusautomaattiin asennettiin Milestonen oma MileWATCH-seurantajärjestelmä kokeilujaksolle. Tämän kokeilujakson aikana tutkittiin seurantajärjestelmän toimintaa käytännössä, sekä sen soveltuvuutta laboratorion toimintaan, ja selvitettiin, onko siitä apua kudaskäsittelyyn liittyvien riskien hallinnassa.

Testiajot tehtiin patologian laboratoriossa Logos kudoskuljettimella. Testiajoilla testattiin, millaisia hälytyksiä laite tekee, kun se havaitsee jonkin ongelman. Ensimmäinen ajo aloitettiin ottamalla kokonaan ensimmäisen kudoskuljetuksen reagenssin, eli 70 % etanolin pois koneesta. Ajoja toistettiin samalla tavalla ja jätettiin pois kuljetuksen keskivaiheilla olevan absoluuttisen etanolin sekä viimeisen reagenssin, isopropanolin. Kun kudoskuljetusautomaatti havaitsi näytekammiossa sijaitsevien sensorien avulla reagenssin puuttumisen (kuva 5),

se antoi virheilmoituksen, jonka jälkeen keskeytettiin (abort) käynnissä olevat ohjelmat käsin.

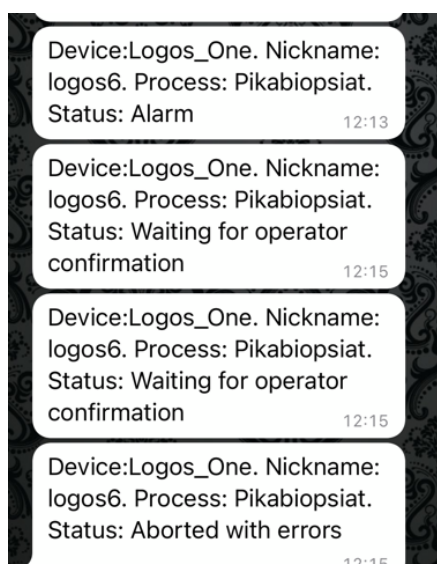
Kaikissa ajoissa käytettiin pikabiopsia ohjelmaa, joka on kaikista nopein. 70 % etanolin puuttumisen havaitsemiseen kului aikaa muutama minuutti, absoluuttisen alkoholin 20 minuuttia ja isopropanolin kohdalla noin tunti. Muita seurantajärjestelmän reagoimia ongelmia kuduskuljetuksen aikana olisi ollut haastavaa aiheuttaa tahallisesti.



Kuva 5. Näytekammion sensorit

Kuduskuljetusautomaatin havaitsemat ongelmat, ja täten hälytysjärjestelmän kautta saatavat ilmoitukset ovat rajallisia. Laite ei esimerkiksi pysty havaitsemaan, jos reagenssit ovat väärässä järjestyksessä tai näytekasettien määrä on merkitty väärin. Reagenssit vaihdetaan koneeseen käsin, joten virheen vara on olemassa. Näytekammion täyttymisaste määrytyy merkittyjen kasettien mukaan. Jos näytteitä on koneessa olevassa telineessä kolmessa tasossa, mutta kasetteja on ilmoitettu olevan vähemmän, reagenssien nestepinta näytekammiossa peittää ainoastaan alemmat tasot, jolloin kuduskuljetus ei toteudu ylimmän tason näytteille.

Hälytykset ohjattiin MileWATCH-ohjelman kautta omiin matkapuhelimiimme WhatsApp –viestillä. Seurantaohjelmassa olisi mahdollista ohjata hälytykset sähköpostiin, tekstiviestillä ja WhatsApp -viestillä. Ainoastaan WhatsApp -viesteillä onnistuttiin saamaan hälytykset matkapuhelimiin, sillä ohjelmat alueasetukset eivät hyväksyneet tekstiviestiin suomalaista suuntanumeroa, mikä mahdollisesti johtuu siitä, että lähetävä numero sijaitsee Yhdysvalloissa. Myös sähköpostiviestit estyivät TYKS:n omien it-suojusten ja palomuurien vuoksi. Sähköpostiviestit olisivat vaatineet, että niiden lähetys ja vastaanotto tapahtuisi vain sairaalan oman verkon sisällä. WhatsApp viestit tulivat perille ongelmitta ja nopeasti (kuva 6).



Kuva 6. MileWATCH:in lähettämät hälytysviestit

Huomasimme kuitenkin, että puuttuvien reagenssien kohdalla viestit kertoivat vain, että kuduskuljetusautomaatti on antanut jonkin hälytyksen, mutta viestistä ei käynyt ilmi tarkemmin, mistä hälytyksessä oli kyse. Kun hälytys avattiin kuduskuljettimen näytöltä, myös siitä tuli viesti-ilmoitus, joka kertoi, että hälytys on huomioitu. Viesti-ilmoitus tuli myös, kun ohjelma keskeytettiin manuaalisesti (aborted).

7 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön toimeksianto on saatu TYKS Patologialta. Kudoskuljetusprosessin riskienhallinta ja MileWATCH-seurantajärjestelmän testaus valikoitui opinnäytetyön aiheeksi, koska aihe tuntui kiinnostavalta ja tärkeältä laboratorion toiminnan kannalta. Aihe oli myös ajankohtainen, sillä seurantajärjestelmä on uusi ja Milestone tarjosi sitä testijaksolle patologian laboratorioon. Histologiset näytteet ovat ainutkertaisia, joten laboratorioprosessin laadunvalvonta ja riskien minimointi on erityisen tärkeää. Tavoitteena työssä oli saada parannettua kudoskäsittelyprosessin riskinhallintaa.

Ensin ajatuksena oli toteuttaa testijakso jo heti syksyn alussa, mutta aikatauluun tuli viivästyksiä järjestelmän asennuksen haastavuuden takia. Seurantajärjestelmää päästiin testaamaan lopulta lokakuun puolessa välissä. Kaikki testiajot tehtiin saman päivän aikana, koska käytettiin pikaohjelmaa, joka on huomattavasti lyhyempi kuin muut ohjelmat, joten hälytykset tulivat nopeammin. MileWATCH-järjestelmä olisi kokonaisuudessaan mahdollista asentaa laboratorioprosessin kaikkiin eri työvaiheisiin, mutta tässä opinnäytetyössä käytössä ollut seurantajärjestelmän osuus kattaa ainoastaan kudoskuljetuksessa tapahtuvien virheiden ja hälytysten ilmoitukset käyttäjälle.

Nämä pelkät ilmoitukset ovat niin pieni osa koko laboratorioprosessia, että niistä ei yksittäisenä ole merkittävää hyötyä laboratorion laadunhallinnan kannalta. Kriittisimmät vaiheet histologisessa laboratoriossa ovat fiksaatio ja kudoskuljetus. Laboratorion toiminnan kannalta merkittävämpiä seurantakohteita olisi näytteiden yhdistäminen tiettyyn kudoskuljetusautomaatin ajoin Batch -toiminnolla, sekä esimerkiksi fiksaatioajan seuranta. Tässä vaiheessa Batch -toimintoa ei kuitenkaan vielä saatu käyttöön. Tällä hetkellä ei pysty kudoskuljetusohjelmaa keskeyttämättä tarkistamaan, mitkä kasetit ovat todellisuudessa Logoksen kuljetuksessa.

Testiajoja olisi voinut tehdä enemmänkin, sillä nyt niitä tehtiin vain yksi, jokaisen puuttuvan reagenssin kohdalla. Ilmoitusviestit olivat kuitenkin kaikkien hälytysten

kohdalla samanlaisia, eli niistä ei tullut ilmi, mistä hälytyksestä on kyse. Oletuksena oli, että viestissä olisi lukenut myös hälytyksen syy, joka näkyy kuljetusautomaatin näytöllä. Useampi testiajo olisi kuitenkin antanut tietoa hälytysten toistettavuudesta, jos ajot olisi toistettu samalla tavalla useamman kerran. Testiajokerrat jäivät vähäisiksi myös sen takia, että reagensseja olisi mennyt paljon hukkaan niiden käyttökertojen tullessa täyteen. Tämä ei ollut toivottavaa, joten pyrittiin tekemään mahdollisimman monta ajoa ilman, että moni reagenssi menisi hukkaan. Testiajoja olisi voinut tehdä myös eri ohjelmilla, esimerkiksi keskikokoisten näytteiden ohjelmalla, joka kestää pidempään ja ajetaan yön yli. Todennäköisesti hälytysviestit olisivat kuitenkin olleet samanlaisia, sillä hälytykset ovat samat kaikissa ohjelmissa.

Tulevaisuudessa hyviä jatkotutkimusaiheita voisivat olla järjestelmän laajempi testaaminen, esimerkiksi mahdollisuus jäljittää näytteet, ja niiden laboratorioprosessin kulun seuranta kokonaisuudessaan näytteenotosta ja fiksoinnista lähtien aina näytteelle annettavaan lausuntoon asti.

LÄHTEET

2M-IT. 2021. Digipatologia mullistaa patologiien työn. Viitattu 3.11.2021 <https://2m-it.fi/digipatologia-mullistaa-patologiien-tyon/>

Aho, H & Lintunen M. 2018. Laatuongelmien tunnistusseminaari. Labquality Days. Viitattu 17.5.2021 https://www.labqualitydays.fi/wp-content/uploads/sites/2/2018/01/LQD18_Abstrakti_Aho_Lintunen.pdf

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

Comanescu M., Annaratone L., D'Armento G., Cardos G., Sapino A. & Bussolati G. Recent Patents on DNA & Gene Sequences 2012, 6, 22–32, Critical Steps in Tissue Processing in Histopathology.

Duodecim terveyskirjasto. Viitattu 23.5.2021 https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt02523

Duodecim. 2007. Lääketieteen termit. 5., uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Karttunen, T.; Soini, Y. & Huopala, K. 2005. Tautioppi. 1. painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

Kaste, M. & Kontinen, M. Duodecim aikakauskirja. 1995;111(1):56. Laadunvarmistus.

Labquality. 2021. Viitattu 9.3.2021 https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/luotettava_vieritesti/laadunvarmistus/

Leica Biosystems. 2021. Viitattu 24.9.2021 <https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/an-introduction-to-specimen-processing/>

Lerch M. L.; Bauer, D. R.; Theiss, A.; Chafin, D.; Otter, M. & Baird, G. S. 2019; Biopreservation and Biobanking. Mary Ann Liebert, Inc., 303–311.

LOGOS Mikroaalto-hybridi kudosten prosessointilaitte MM082-002 Käyttöopas. 6/2012.

McCann ym. 2014. Automated Histology Analysis: Opportunities for Signal Processing

Milestone. 2021. Simultaneous microwave and resistance heating mode. Viitattu 20.10.2021 <http://www.milestonemedsrl.com/product/logos/>

Milestone. 2021. Track, Monitor and Manage the Workflow in your Lab. Viitattu 21.10.2021 <https://www.milestonemedsrl.com/product/milewatch/>

Morales, A. R. & Nassiri, M. 2007; Automation of the histology laboratory. *Laboratory Medicine*, 38(7), 405–410.

Mäkinen, M.; Carpén, O.; Kosma, V-M.; Lehto, V-P.; Paavonen, T. & Stenbäck, F. 2012. *Patologia. 1. painos*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Rao ym. 2016. Quality Measures in Pre-Analytical Phase of Tissue Processing: Understanding Its Value in Histopathology Viitattu 20.5.2021
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4740598/>

Rolls, G. 2016. Difficult Blocks and Reprocessing. Viitattu 3.11.2021.
https://www.leicabiosystems.com/fileadmin/biosystems/PDF/95.9890_Rev_C_Difficult_Blocks_and_Reprocessing.pdf

Rolls, G. 2021. An Introduction to Specimen Processing. Viitattu 15.5.2021
<https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/an-introduction-to-specimen-processing/>

Salonen, K. 2013. Näkökulma tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Viitattu 19.5.2021 <https://docplayer.fi/1986011-Nakokulmia-tutkimukselliseen-ja-toiminnalliseen-opinnaytetyohon.html>

Sampias, C.; Rolls, G. 2021. H&E Staining Overview: A Guide to Best Practices. Viitattu 20.5.2021 <https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/he-staining-overview-a-guide-to-best-practices/>

Slaoui M. & Fiette L. 2011. Drug Safety Evaluation: Methods and Protocols, *Methods in Molecular Biology*, vol. 691. Histopathology Procedures: From Tissue Sampling to Histopathological Evaluation.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2021. Kliininen histologia ja sytologia. Viitattu 10.5.2021
<https://www.bioanalytikkoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalyttikko/bioanalyttikon-koulutus/erikoisalut/kliininen-histologia-ja-sytologi/>

Thavarajah, R.; Mudimbaimannar, V.K.; Elizabeth, J.; Rao, U. K. & Ranganathan, K. J. Oral Maxillofac Pathol. 2012; 16(3): 400–405. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation Viitattu 10.5.2021
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3519217/>

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. 2012. Viitattu 20.5.2021
http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf