

SAVONIA

ammattikorkeakoulu

OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

IMMUNOHISTOKEMIAALLISTEN VÄRJÄYSTEN LAATU LYMFOOMA- DIAGNOSTIIKASSA

Kuvallinen opas bioanalytikoille patologian laboratorioon

TEKIJÄT Eini Tiainen
Antti Seppänen
Atte Santala

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Tutkinto-ohjelma Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma	
Työn tekijä(t) Antti Seppänen, Atte Santala, Eini Tiainen	
Työn nimi Immunohistokemiallisten värjäysten laatu lymfoomadiagnostiikassa—Kuvallinen opas bioanalytikoille patologian laboratorioon	
Päiväys	10.11.2023.
Sivumäärä/Liitteet	82/1
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskus, Patologian osasto	
Tiivistelmä	
<p>Lymfooma luokitellaan suureksi joukoksi pahanlaatuisia neoplastisia muutoksia, eli kasvaimia, jotka saavat alkunsa ihmisen imukudoksissa. Lymfoomadiagnostiikassa keskeisessä roolissa ovat patologian laboratorioissa suoritettavat immunohistokemialliset värjäykset, joita suorittavat pääasiassa bioanalytikot. Immunohistokemiallisten värjäysten laatuun vaikuttavat monet tekijät histologisen prosessin aikana ja potilaan oikean diagnoosin saamiseksi on tärkeää varmistua värjäysten korkeasta laadusta.</p> <p>Opinnäytetyö toteutettiin kehittämistyönä, jossa suunniteltiin ja toteutettiin Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskuksen patologian osastolle kuvallinen opas laaduntarkkailun vahvistamiseksi. Kehittämistyön tarkoituksena oli tehdä kuvallinen opas immunohistokemiallisista värjäyksistä lymfooman merkkiaineille. Tavoitteena oli kehittää bioanalytikoiden perehdytystä immunohistokemiallisten värjäysten laaduntarkkailuun niin, että bioanalytikot oppivat tunnistamaan ja vertaamaan hyväksyttävän värjäystuloksen kontrollinäytteistä.</p> <p>Kehittämistyön tuloksena syntyneessä kuvallisessa oppaassa käsiteltiin teoriaosuudessa lymfooman merkkiaineiden yleistä tietoperustaa, vasta-aineiden kliinistä käyttöä, käytössä olevia kontrollikudoksia sekä spesifin positiivisuuden ilmenemistä kudoksissa. Oppaan rakenne piti sisällään myös vasta-ainekohtaisesti kuvat onnistuneista värjäyksistä, käytetyistä kontrollikudoksista ja lopuksi esimerkkikuvia virhelähteistä. Kehittämistyöhön kuului myös loppuraportti, jossa käsiteltiin aihetta immunohistokemiallisten värjäysten, laboratorion laaduntarkkailun ja hyvän oppaan kriteerien näkökulmista.</p> <p>Kehittämistyön tuotoksena syntynyt kuvallinen opas vastaa työelämän tarpeita, helpottaen työskentelyä immunohistokemian värjäysten parissa. Jatkokehityskohteina tuotokselle on saada tulevaisuudessa kuvalliset oppaat kaikille immunohistokemian laboratorioissa käytössä oleville merkkiaineille ja mahdollisesti koota ne yhteen hyödyntäen tämän oppaan rakennetta. Tulevaisuudessa oppaan voi muuttaa sähköiseen muotoon, jolloin vasta-aineiden, protokollien ja kuvien päivittäminen on helpompaa.</p>	
Avainsanat Kliininen patologia, Lymfooma, Immunohistokemia, Laadunvarmistus	

Field of Study Social Services, Health and Sports	
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science	
Author(s) Antti Seppänen, Atte Santala, Eini Tiainen	
Title of Thesis Quality of immunohistochemical staining's in lymphoma Diagnosis— Visual guide for biomedical laboratory scientists in the Pathology laboratory	
Date 10.11.2023.	Pages/Appendices 82/1
Client Organisation /Partners Kuopio University Hospital- Imaging Center, Department of Clinical Pathology	
<p>Abstract</p> <p>Lymphoma is classified as a large group of malignant neoplastic changes, also known as tumors, that originate in human lymphatic tissues. Immunohistochemical staining performed in the pathology laboratory, which are mainly performed by biomedical laboratory scientists, plays a crucial role in lymphoma diagnostics. The quality of immunohistochemical staining is affected by many factors during the histological process, and it is important to ensure the high quality of the staining to obtain the correct diagnosis of the patient.</p> <p>The thesis was done as a development work, in which we designed and implemented a visual guide for the pathology department of Kuopio University Hospital's -imaging center to improve the quality control in immunohistochemical staining. The purpose of the development work was to produce a visual guide of immunohistochemical staining for lymphoma markers. Our aim was to develop the introduction with the quality control of immunohistochemical staining, so that the biomedical laboratory scientists can learn to recognize and compare acceptable staining results of the control samples.</p> <p>In the visual guide resulting from the development work, the theoretical part consisted of the general knowledge of lymphoma markers, clinical use of antibodies, mostly used control tissues and expression of specific positivity in tissues. The guide also contained images of successful staining and used control tissues for each antibody, as well as example pictures for troubleshooting. The final report, which was part of the development work, consisted of discussion of the subject from the perspective of immunohistochemical staining, laboratory quality control and the criteria of a good guide.</p> <p>The visual guide is meeting the needs of working life in pathology laboratory, making it easier to work with immunohistochemical staining procedure. In the further development there are plans to use this guide's structure to produce visual guides for all the markers that are in use in the immunochemistry laboratory and form a collective guidebook with all common markers included. In the future, these visual guides can be changed to a digital format, making it easier to update images, antibodies, and protocols.</p>	
<p>Keywords Clinical Pathology, Lymphoma, Immunohistochemistry, Quality control</p>	

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	5
2	IMMUNOHISTOKEMIAN HYÖDYNTÄMINEN LYMFOOMADIAGNOSTIIKASSA	7
2.1	Immunohistokemiallisen menetelmän periaate ja kliininen käyttö	7
2.2	Näyteprosessi immunohistokemian laboratoriossa	9
2.3	Lymfooman luokittelu ja erotusdiagnostiikka	11
2.4	Lymfoomadiagnostiikan antigeenit ja vasta-aineet	11
3	LAADUNVARMISTUS LABORATORIODIAGNOSTIIKASSA	16
3.1	Laaduntarkkailu laboratoriodiagnostiikassa	16
3.2	Immunohistokemiallisten värjäysten laatuun vaikuttavat tekijät	16
4	LAADUKKAAN KUVALLISEN OPPAAN KRITEERIT	19
5	KEHITTÄMISTYÖN TARKOITUS JA TAVOITE	21
6	KEHITTÄMISTYÖN TOTEUTUS	22
6.1	Kehittämistyön menetelmä	22
6.2	Kehittämistarpeen tunnistaminen ja ideointivaihe	22
6.3	Kehittämistyön suunnittelu	23
6.4	Toteutus ja tuotos	25
6.5	Arviointi	27
6.6	Päätös, implementointi ja tulosten levittäminen	28
7	POHDINTA	29
7.1	Kehittämistyön toteutus ja tuotos	29
7.2	Eettisyys ja luotettavuus	30
7.3	Ammatillinen kasvu	31
7.4	Tuotoksen hyödynnettävyys ja kehittämisideat	33
	LÄHTEET	35
	LIITE 1: OPAS IMMUNOHISTOKEMIALLISIIN VÄRJÄYKSIIN – LYMFOOMAKERKKIAINEILLE	42

1 JOHDANTO

Lymfooma on ihmisen imukudoksessa alkunsa saava pahanlaatuinen neoplastinen muutos eli kasvain, joka voi muodostua valkosoluihin kuuluvista B-, tai T-lymfosyyteistä (imusolut) tai luonnollisista tappajasoluista. Valkosoluista kehittyvät lymfoomat ovat imukudoksissa tavallisimpia primaarisia kasvaimia. Lymfooma pitää sisällään suuren joukon neoplastisia muutoksia, jotka eroavat ilmaantuvuuden, taudinaiheuttamiskyvyn ja taudin syntymisen osalta sekä patologisten ominaisuuksien ja kliinisen lopputuloksen myötä. Ne luokitellaan yleisesti Hodgkinin (HL), tai non-Hodgkinin (NHL) lymfoomaksi. Epäiltäessä lymfoomaa tutkitaan imusolmukenäyte, jonka edustavuus tarkistetaan patologian laboratoriossa. (Thaína A. ym. 2017; Karjalainen-Lindsberg, Kauppila & Franssila 2021ab; Lehto & Pohjanen 2022.)

Kliinisellä patologialla tarkoitetaan sairauksiin liittyviä kudosis-, solu- ja elimistön rakenteellisia ja toiminnallisia muutoksia tutkivaa tautioppia. Immunohistokemia on osa patologiaa ja tieteenala, jonka rooli diagnostiikassa on kasvanut teknologian ja menetelmien kehittyessä ja sitä käytetään erityisesti apuna kasvainten diagnoosissa, alkuperän varmistamisessa sekä luokittelussa. Lymfooman luokitus perustuu suurimmaksi osaksi immunohistokemian menetelmiin ja erikoistutkimuksiin. Immunohistokemiallinen menetelmä perustuu spesifiin antigeeni-vasta-ainetunnistukseen. Vasta-aine eli immunoglobuliini on proteiini, mitä muodostuu B-lymfosyyteissä elimistön kohdatessa vieraita rakenteita eli antigeenejä. Antigeeni on kohderakenne tai molekyyli, jonka vasta-aine tunnistaa ja mikä saa aikaan spesifisen immuunivasteen eli elimistön immuunipuolustuksen reagoimaan vierasta ainetta vastaan. Vasta-aine sitoutuu solun pinnalla olevan antigeenin epitooppiin, joka tarkoittaa spesifistä sitoutumiskohtaa. Vasta-aineet voidaan jakaa monoklonaalisiin tai polyklonaalisiin. Näistä monoklonaaliset vasta-aineet ovat spesifisempiä tunnistuen ja sitoutuen vain tietynlaiseen antigeenin epitooppiin, kun taas polyklonaaliset vasta-aineet voivat sitoutua useampaan erilaiseen epitooppiin. (Jokiranta & Seppälä 2011; Abbas, Lichtman & Pillai 2012, 1, 89; Taylor & Shi 2014, 1; Karjalainen-Lindsberg, Kauppila & Franssila 2021b; Mäkinen & Suikkanen 2021abcd; Mäkinen & Lehto 2022.)

Immunohistokemiallisilla tutkimuksilla on nykyään merkittävä rooli diagnostiikassa ja ne voivat suoraan vaikuttaa potilaan hoitopolkuun, joten on tärkeää varmistua värjäysten korkeasta laadusta. Laboratoriodiagnostiikassa laadulla tarkoitetaan sitä, kuinka hyvin laite tai menetelmä suoriutuu työstä, johon se on suunniteltu. Laadunhallintamenetelmillä voidaan varmistua, että asiakkaat ja potilaat saavat laadukkainta mahdollista palvelua. Immunohistokemiallisten värjäysten laatuun voivat vaikuttaa histologisen prosessin aikana monet tekijät, kuten kudospalan käsittely, kudospalan kiinnitys eli fiksaatio ja prosessointi sekä värjäysautomaattien toiminta. Kontrollien käyttämisellä pyritään havaitsemaan poikkeamat värjäysten laadussa, jotta ne voidaan korjata. (Colley & Stead 2013, 21–27; Dunk 2013, 5–6; Sanderson & Zardin 2013, 435–439; Finas-akkreditointipalvelu, 2015. Suikkanen 2023.)

Immunohistokemiallisissa värjäyksissä laatuun vaikuttavina tekijöinä ovat myös erilaiset ohjeistukset ja kuvalliset aineistot, sekä työntekijöiden perehdytys niiden käyttämiseen. Kun menetelmässä kyse on tuloksen visuaalisesta tarkastelusta, kuvallisen oppaan käyttäminen on tärkeää oikean lopputuloksen varmistamiseksi. Oppaan laatimisessa aihe täytyy rajata tarkoituksen mukaisesti niin, että siinä on vain aiheeseen liittyvät tarpeelliset asiat ja kuvamateriaalit ilmaistuna johdonmukaisessa järjestyksessä (Kankaanpää & Piehl 2011, 295–296). Uuden kuvallisen oppaan tai muun materiaalin päivittämiseen liittyy myös opasta

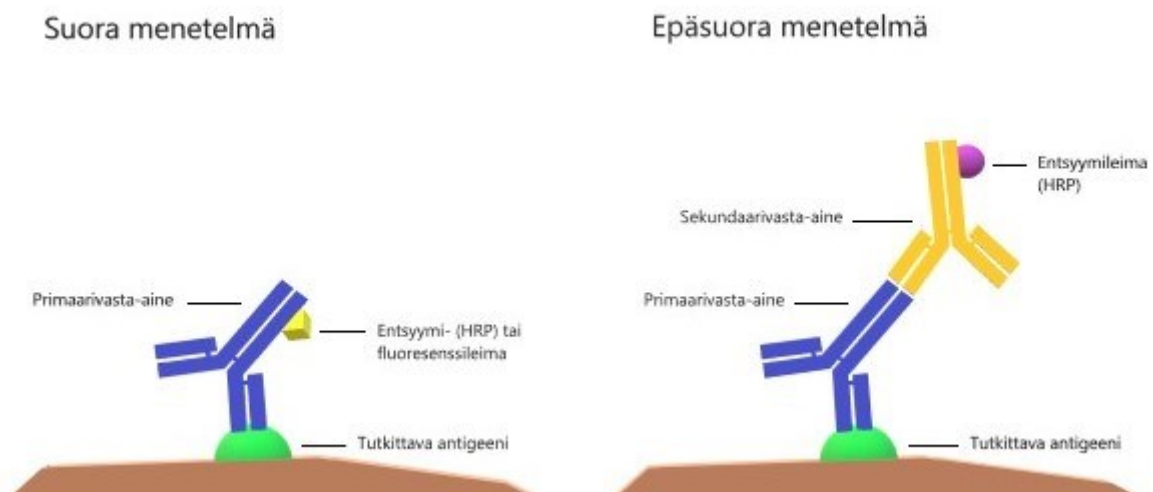
käyttävien työntekijöiden perehdytys. Perehdyttämisen tavoitteena on saada työntekijät ymmärtämään oppaaseen liittyvät toimintatavat ja periaatteet, joilla voidaan vaikuttaa työntekijän kehittymiseen, sitoutumiseen ja työhyvinvointiin. Tasalaatuisuuden varmistamiseksi perehdytysprosessi on suoritettava suunnitelmallisesti vain kokeneen, ja perehdytysmateriaalin omaksuneen henkilön toimesta. (Eklund 2018, 25–26, 34–36.)

Toimeksiantajana opinnäytetyössä on Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskuksen patologian osasto. Opinnäytetyö toteutetaan kehittämistyönä ja se pitää sisällään loppuraportin ja konkreettisen tuotoksen tilaajalle. Kehittämistyön tarkoituksena on tehdä kuvallinen opas immunohistokemiallisista värjäyksistä lymfooman merkkiaineille. Tavoitteena on kehittää bioanalyytikoiden perehdytystä immunohistokemiallisten värjäysten laaduntarkkailuun niin, että bioanalyytikot oppivat tunnistamaan ja vertaamaan hyväksyttävän värjäystuloksen kontrollinäytteistä. Oppaalle immunohistokemiallisiin värjäyksiin lymfooman merkkiaineille on tarvetta, sillä käytetyistä vasta-aineista ei ole ollut aiemmin saatavilla perehdytysmateriaalia, jonka avulla bioanalyytikot voivat tarkastaa värjäämistään näytteistä onnistuneen värjäyksen kriteerit.

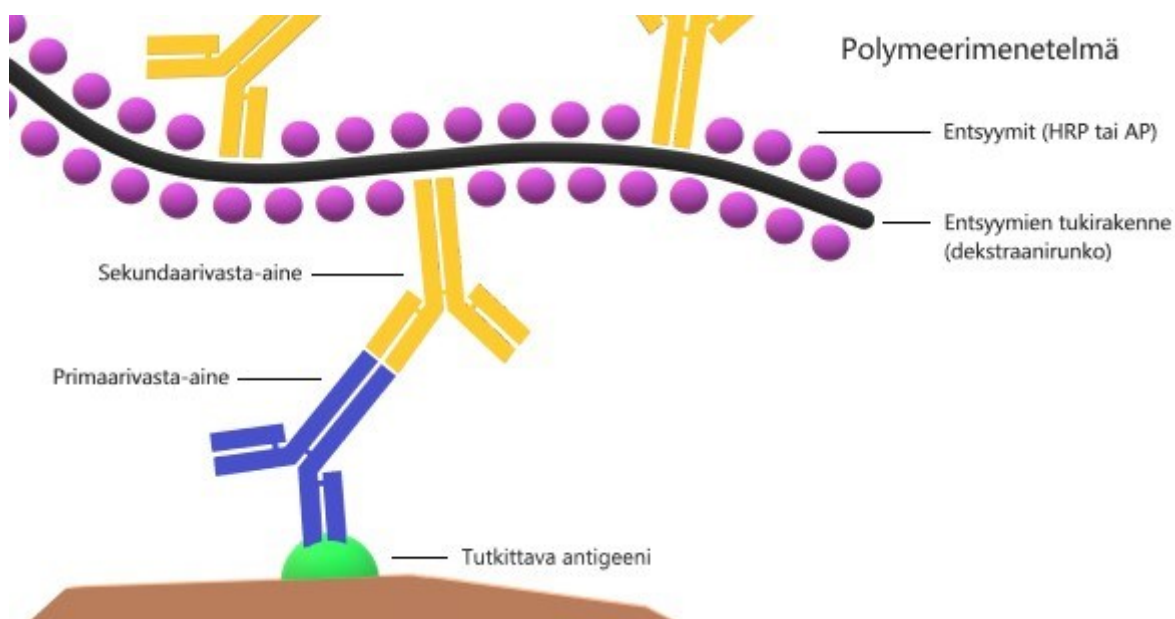
2 IMMUNOHISTOKEMIAN HYÖDYNTÄMINEN LYMFOMADIAGNOSTIIKASSA

2.1 Immunohistokemiallisen menetelmän periaate ja kliininen käyttö

Immunohistokemia on menetelmä, joka perustuu tiettyjen antigeenien tunnistamiseen kudoksista ja/ tai soluista hyödyntäen antigeenin ja vasta-aineen spesifistä sitoutumista toisiinsa. Menetelmissä pyritään siis osoittamaan antigeenin olemassaolo tai sen puuttuminen solu- tai kudoksenäytteessä fluoresenssi- tai pigmenttileimattujen vasta-aineiden avulla. Käytössä on suoria ja epäsuoria menetelmiä. Suorassa menetelmässä primaarivasta-aine on leimattu joko entsyymillä tai fluoresoivalla leimalla (Kuva 1). Nykyisin immunohistokemialliset värjäykset tehdään pääsääntöisesti epäsuoralla menetelmällä, jossa käytetään entsyymileimattujen sekundääristen vasta-aineiden ja kohdeantigeeniin sitoutuneen primäärivasta-aineen yhdistelmää (Kuva 1). Polymeerimenetelmässä polymeerirunkoon, joka voi olla esimerkiksi dekstraanirunko, on kiinnitetty sekundaarivasta-aineita ja entsyymejä kuten piparjuuriperoksidaaseja (HRP) tai alkalista fosfataasia (AP) (Kuva 2). Kyseinen menetelmä on syrjäyttänyt aiemmin käytetyt entsyymireaktioon perustuvat menetelmät, kuten peroksidaasi-anti-peroksidaasimenetelmät sekä biotiinin sitoutumiseen perustuvat avidiini-biotiinin menetelmät. Vasta-aineen ja antigeenin sitoutumisen tapahtuessa näyte visualisoidaan värillisellä reaktiolla, jota voidaan tarkastella käyttämällä valo- tai fluoresenssimikroskooppia. Immunohistokemiallisessa värjäyksessä reaktio visualisoidaan käyttämällä substraattia ja väriainetta eli kromogeenia, jolloin vasta-aineen sitoutumiskohtaan muodostuu mikroskoopilla helposti havaittava värillinen sakka. Entsyymi-reaktiossa väriaine ei sijoitu tarkasti antigeenien päälle, vaan se sakkautuu entsyymien lähelle. Värjäyksen intensiteetin mittaaminen ei tuo tarkkaa tulosta, mutta värjäyksen voimakkuutta voidaan arvioida semikvantitatiivisesti suuntaa antavalla asteikolla. Suurin osa immunohistokemian testeistä on kvalitatiivisia eli laadullisia, jolloin värjäystulos tulkitaan vain positiiviseksi tai negatiiviseksi. Tämän tyyppiset värjäykset voivat jossain määrin sisältää kvalifioinnin positiivisen raja-arvon muodossa. Esimerkiksi yli 10 prosenttia värjäytyneistä soluista on osoitus positiivisesta tuloksesta. Semikvantitatiiviset testit tulkitaan pisteytysalueen avulla esimerkiksi 0-3+, joka kuvaa antigeenin ilmentymistä värjäytymisintensiteetin, -jakauman ja positiivisten solujen prosenttiosuuden avulla. Optimaalisessa tapauksessa testit on optimoitu ja kalibroitu vertailukontrollien avulla, joissa antigeenien ilmeneminen tunnetaan. Näin potilaan värjäytymistulos voidaan sovittaa pisteytysalueelle. (Meri 2011; Jokiranta & Seppälä 2011; Abbas, Lichtman & Pillai 2012, 89; Jacobsen, Nielsen, Månsson & Rudbeck 2013, 61; Taylor 2013; Mäkinen & Suikkanen 2021c; Ventana 2021.)



KUVA 1. Suora- ja epäsuora menetelmä (Taylor 2013 luonnosta mukailten)



KUVA 2. Polymeerimenetelmä (Taylor 2013 luonnosta mukailten)

Immunohistokemiallisten menetelmien hyviä puolia ovat positiivisen reaktion säilyminen vuosien ajan ja menetelmän pitkälle kehitetty automatisaatio. Rajoitteena menetelmässä on ollut se, että voidaan leimata vain yksi merkkiaine kudosteikkettä kohti, mikä on ongelmallista pienten näyttemäärien käsittelyssä. Multiplex-tekniikka eli kaksois- tai monivärjäyksen hyödyntäminen immunohistokemian menetelmissä on kehitetty ratkaisemaan ongelmaa ja erityisesti immunohistokemian ja immunofluoresenssin yhteiskäyttö on tuonut lupaavia tuloksia mahdollistaen useiden merkkiaineiden samanaikaisen havaitsemisen kudosteikkeestä. Näin saadaan kattavampi tutkimus solujen koostumuksesta, toiminnasta ja vuorovaikutuksesta. Myös tulosten tulkinnassa on paljon variaatiota eri tulkitsi-

joiden välillä. Immunohistokemiallisiin menetelmiin on tullut parannuksia vuosien varrella, mutta vaikeudet arvioida kvantitatiivisesti ja objektiivisesti värjäyksiä hankaloittavat laboratorioiden välistä standardointia. Käytettäessä samoja reagensseja ja automaatiota, jotka on valmistettu nykyisten standardien mukaan, osoittavat testit toistettavuutta immunohistokemian laboratorioiden välillä. Vertaillessa eri valmistajien reagensseja korostuivat niiden erot analyttisessä herkkyudessa. Pätevyyden testausta varten kvantitatiivinen analysointi vastekäyrien avulla toimii paremmin kuin subjektiivinen arviointi. (Taylor & Shi 2014, 8; Sompuram, Vani, Schaedle, Balasubramanian & Bogen 2018; Tan ym. 2020; Mäkinen & Suikkanen 2021c.)

Immunohistokemian keskeisin käyttöalue on ollut kasvaindiagnoosissa kasvainten luokittelussa ja erotusdiagnoosissa. Sen avulla voidaan arvioida kasvaimien alkuperää ja rajata mahdollista metastaattisen kasvaimen eli etäpesäkkeen lähtöaluetta. Immunohistokemian käyttöalue on kasvanut ja nykyisin tutkitaan kasvaindiagnoosissa vasta-aineiden avulla stabiilien antigeenien, kuten solujen rakenneproteiinien lisäksi erilaisia ennustemerkkiaineita. Niiden avulla saadaan tietoa kasvainsolujen biologisista ominaisuuksista kuten syöpä- eli onkogeneenien tai kasvunrajoitegeenien mutaatioista ja solujen proliferaatiosta eli solumäärän kasvusta sekä tutkitaan hoitoihin liittyviä merkkiaineita. Hyvät ennustemerkkiaineet voidaan tulkita negatiiviseksi tai positiiviseksi ja stabiilien ennustemarkkereiden esiintyvyys pysyy samana huonoissa ja hyvissä muutoksissa, joten kasvaimen erilaistuminen ei vaikuta ratkaisevasti värjäystulokseen. (Mäkinen & Suikkanen 2021abd.)

Eri-laistumattoman kasvaimen diagnoosiin voidaan käyttää porrastetusti vasta-aineita, kun halutaan saada spesifisempi tulos. Ensimmäisen vaiheen erotusdiagnoosissa tehdään karkea jaottelu kasvaimista. Nykyisin löytyy paljon tunnettuja vasta-aineita tutkittaville antigeeneille. Vasta-aineista osa on pan-vasta-aineita, jotka tunnistavat esimerkiksi sytokeratiineja eli saman luokan antigeenejä. Näiden pansytokeratiinien avulla voidaan erotella erilaistumattomat karsinomat esimerkiksi tukikudossyövistä eli sarkoomista, imukudossyövästä eli lymfoomasta ja tummasolusyövästä eli melanoomasta. Toisen vaiheen erotusdiagnoosissa käytetään jo kohdennettuja vasta-aineita epäillyn kasvaimen mukaan. Näin saadaan lopulta tarkempi luokitus ja spesifisempi diagnoosi kasvaimiin, kuin pelkästään morfologisen arvioinnin perusteella. (Mäkinen & Suikkanen 2021bd.)

2.2 Näyteprosessi immunohistokemian laboratoriossa

Immunohistokemian prosessi alkaa jo koepala- ja leikkausvaiheessa, jolloin kudokset siirretään fiksaatioon eli kiinnitysaineeseen. Yleisin fiksaatio on formaliini, jota käytetään säilyttämään kudosten alkuperäinen hienorakenne ja muoto samalla estäen solujen omien lyyttisten eli hajottavien entsyymien aiheuttama kudosten hajoaminen. Laboratoriossa näytteet vastaanotetaan ja luodaan näytenumero, jolloin voidaan varmistaa näytteen seuranta ja jäljittäminen. Kudosta tarkistaessa ja leikatessa otetaan halutuista kohdista palat kuduskasetteihin ja suoritetaan kuduskuljetus, jossa vesi poistetaan ja näyte valetaan parafiiniin. Parafiiniin valaminen mahdollistaa näyteblokin leikkaamisen seuraavassa vaiheessa hyvin ohueksi näytelasille, jolloin näytettä voidaan tutkia tarkasti mikroskooppilla. Ennen värjäystä parafiini tulee poistaa, jotta vasta-aineet, molekyylikoettimet ja reagenssit pääsevät kudokseen. Parafiinin poistamiseen käytetään esimerkiksi ksyleeniä. Tämän jälkeen näytelasit käsi-

tellään laskevalla alkoholisarjalla eli absoluuttisesta etanolista lasketaan lopulta veteen. Parafiinipoisto ja immunohistokemialliset värjäykset voidaan automatisoida, mikä lisää huomattavasti näyteprosessin nopeutta. (Taylor 2013, 10–11; Colley & Stead 2013, 21–27; Suikkanen 2023.)

Ennen värjäyksen aloittamista näytteelle on suoritettava lämpökäsittely, jossa erotetaan formaliinin ja aminohappojen aiheuttamia sidoksia kuumentamalla näytettä yli +100 celsiusasteeseen. Menetelmää kutsutaan epitoooppien paljastamiseksi, eli AR-menetelmäksi (Antigen retrieval). AR-menetelmässä näytettä lämmitetään puskuriliuoksessa tietyn ajan joko mikroaaltouunissa, vesihauteessa, painekattilassa, autoklaavissa tai värjäysautomaatissa. Laadukkaan värjäytymisen edellytyksenä lämpökäsittelyssä on otettava huomioon lämmityksen voimakkuus, lämmitysaika, sekä puskuriliuoksen pH ja kemiallinen koostumus. Edellä mainitut tekijät vaikuttavat näytteen värjäyksen intensiteettiin, ja ne sovelletaan aina tutkimuksessa käytettävän vasta-aineen mukaiseksi. (Colley & Stead 2013, 21; Shi & Taylor 2013, 31–32.)

Epäspesifistä taustavärjäytymistä kudosis- ja solunäytteissä voi aiheuttaa niissä valmiina olevien entsyymien aktiivinen toiminta. Immunohistokemiassa käytetyt piparjuuriperoksidaasi ja alkalinen fosfaasi ovat aktiivisia useissa solu- ja kudosisnäytteissä, joten näiden entsyymien toiminta täytyy estää ennen värjäystä, jotta estetään väärin positiivisten signaalien muodostumista. Tähän käytetään entsyymiblokkaajia eli salpaajia. Entsyymien blokkaukseen voi tapahtua ennen primäärin vasta-aineen lisäämistä tai tämän jälkeen, kuitenkin ennen sekundaari vasta-aineen lisäämistä, sillä se estää myös siinä mukana olevien entsyymien toiminnan ja saa siten aikaan taas väärä negatiivisia signaaleja. (Pace 2013, 105; Taylor & Shi 2014, 4.)

Primäärinen vasta-aine valitaan tutkittavan antigeenin mukaan. Vasta-aineen inkubointiin eli hauduttamiseen käytetty aika riippuu primäärin vasta-aineen herkkyyydestä ja konsentraatiosta sekä tutkittavan kudoksen laadusta. Vasta-aineiden inkubointien välissä pestään sitoutumattomat vasta-aineet TBS eli Tris-buffered-saline tai PBS eli phosphate-buffered-saline pesupuskurilla, johon voi olla lisättyä detergenttiä eli saippua-ainetta. Tämä auttaa estämään epäspesifistä sitoutumista, tehostaa pesua ja edistää reagenssien leviämistä vähentäen pintajännitystä. Pesut siis ovat tärkeitä, sillä ne ehkäisevät taustavärjäytymistä eli, ei-spesifisten antigeeni-vasta-aine kompleksien saostumista kudosisleikkeelle. Seuraavassa vaiheessa lisätään sekundaarivasta-aine, joka tunnistaa ja kiinnittyy primäärivasta-aineeseen. Vasta-aineita ei nähdä mikroskoopilla ilman, että menetelmässä on mukana leima, jolla visuaalinen tarkastus onnistuu. Leimat yhdistetään primääri- tai sekundaarivasta-aineeseen, jotta antigeeni-vasta-aine kompleksin sijainti kudosisissa saadaan näkyville. Käytössä on fluoresenssiyhdisteitä ja aktiivisia entsyymejä, jotka voidaan visualisoida niiden ominaisuuden ansiosta saada aikaan värillinen reaktiotuote sopivan substraattijärjestelmän ollessa mukana. (Jackson & Blythe 2013, 405–406; Taylor 2013, 12; Taylor & Shi 2014, 5, 23; Suikkanen 2023.)

Värjäysmenetelmässä väriaine eli kromogeeni valitaan käytetyn entsyymin mukaan. Käytetyimmät väriaineet ovat 3,3'-diaminobentsidiini (DAB) ja 3-amino-9-etyylikarbatsoli (AEC), kun käytettävä entsyymi on piparjuuriperoksidaasi (HRP) sekä Fast red- ja Fast blue-väriaineet, kun käytetään alkalista fosfaasia (AP). Vastavärjäyksellä pyritään saamaan yleiskuva kudosisrakenteesta ja soluista ja sen avulla onnistuu solujen tumien visuaalinen tarkastelu. Immunohistokemiassa vastavärjäykseen,

eli kontrastia vahvistavaan toiseen värjäykseen, jossa aiemmin värjäytymättömät kohteet värjäytyvät, käytetään yleensä hematoksyliiniä. Leikkeestä poistetaan vesi nousevalla alkoholisarjalla 90-prosenttisessa etanolissa sekä absoluuttisessa etanolissa ja leike kirkastetaan tämän jälkeen ksyleenissä. Värjäyksen viimeisessä vaiheessa peitinlasi laitetaan kudokset päälle ja varmistetaan ettei ilmakuplia jää väliin. (Taylor 2013, 12; Taylor & Shi 2014, 24–25; Lim ym. 2018; Mäkinen & Suikkanen 2021c.)

2.3 Lymfooman luokittelu ja erotusdiagnostiikka

WHO:n luokittelun mukaan lymfoomat jaetaan kolmeen pääryhmään: B-solujen non-Hodgkinin-lymfoomiin, T-solujen ja NK-solujen eli tappajasolujen non-Hodgkinin-lymfoomiin ja Hodgkinin lymfoomiin. Näiden pääryhmien lisäksi lymfoomat jaetaan vielä useisiin alatyyppeihin. Lymfooman luokittelu perustuu pääasiassa morfologiseen ja immunohistokemialliseen diagnostikkaan. Joissain tapauksissa lisänä käytetään sytogeneettisiä ja/tai molekyylogeneettisiä menetelmiä. Hodgkinin lymfooman diagnoosi saadaan usein rutiinivärjäysten avulla, mutta uusien lymfoomatyyppien kasvava määrä ja morfologian päällekkäisyys tarvitsee immunohistokemian menetelmiä luotettavien diagnoosien varmistamiseksi. (Bhargava & Kadin 2014, 145; Karjalainen-Lindsberg, Kauppila & Franssila 2021a.)

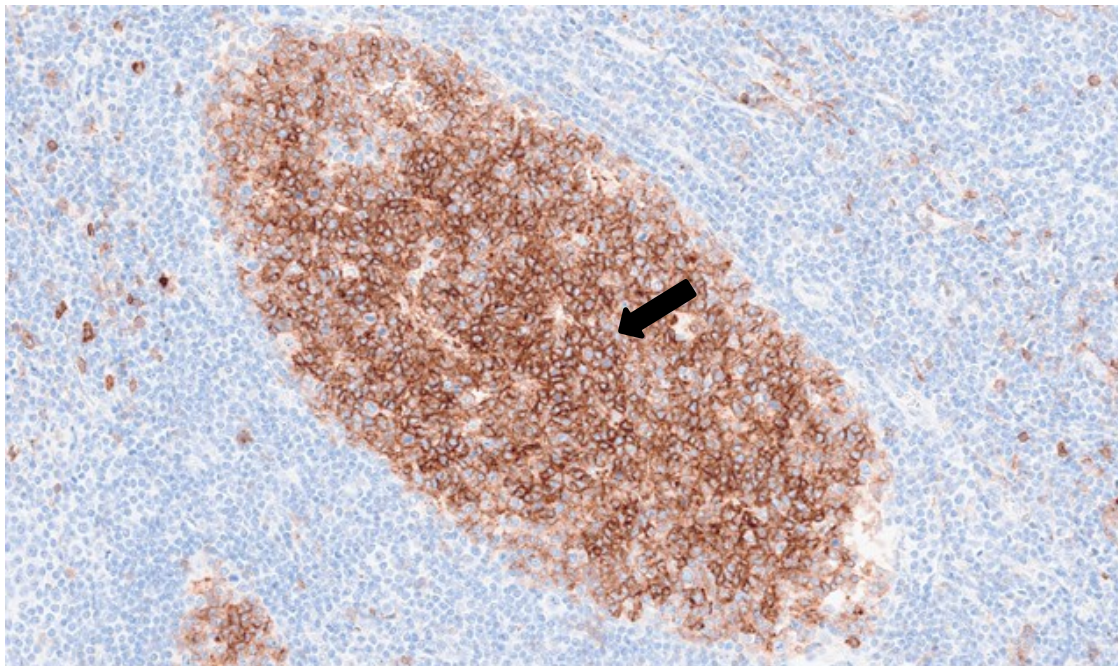
Immunohistokemian erotusdiagnostiikassa lymfoomat luokitellaan menetelmissä käytettävien vasta-aineiden mukaisesti niin kutsutuilla vasta-ainemerkkiaineilla. Vasta-ainemerkkiaineita käytetään kasvainten erotus- ja luokitteludiagnostiikassa, mutta niiden avulla saadaan myös tärkeää tietoa kohdesolujen biologisista ominaisuuksista. CD-merkkiaineilla (cluster of differentiation) tarkoitetaan leukosyyttien eli valkosolujen pinnalla olevia molekyyliä, jotka ilmenevät varsinkin immuunipuolustuksen kannalta merkityksellisissä soluissa. CD-nimikkeistö on maailmanlaajuisesti tiedeyhteisöjen ja WHO:n hyväksymä tunnistusjärjestelmä, johon on lueteltu jo ainakin 400 erilaista pintamolekyyliä. CD-merkkiaineita käytetään laajasti leukosyyttipopulaatioiden ja niiden alaryhmien muutosten tunnistamiseen esimerkiksi pahanlaatuisten kasvainten yhteydessä. (Engel ym. 2015; Tháina A. ym. 2017; Karjalainen-Lindsberg, Kauppila & Franssila 2021a; Mäkinen & Suikkanen 2021b; Tariq ym. 2021.)

2.4 Lymfoomadiagnostiikan antigeenit ja vasta-aineet

Kehittämistyössä käsitellään tarkemmin CD3, CD10, CD15, CD20, CD23, CD30 ja CD45 vasta-aineet. Käsittelemme vasta-aineiden käyttöä diagnostiikassa ja spesifiä värjäytymistä solutasolla sekä yleisimpiä ja kliinisessä käytössä olevia kontrollikudoksia. CD-vasta-aineilla yleisin suositeltu positiivinen kontrolli on tonsilla eli nielurisä.

CD3-antigeeni on yhteydessä T-solujen pinnalla olevaan T-solureseptoriin ja se välittää aktivaatio-signaalin soluun. Se muodostuu solun ulkoisesta, solukalvon läpäisevästä ja solun sisäisestä osasta. CD3-antigeenia tavataan ainoastaan T-soluissa, poikkeuksena sitä löytyy myös aktivoituista NK- eli tappajasoluista ja Purkinje-soluista. **CD3**-vasta-ainetta käytetään diagnostiikassa T- ja NK-solulymfoomien tunnistamiseen. Reaktio tapahtuu solukalvolla ja solulimassa. Solukalvo värjäytyy voimakkaasti ja solulima hillitymmän. (Dako 2008, 27; NordiQC 2013b; He ym. 2015.)

CD10 on yksiketjuinen glykoproteiini, jota esiintyy useiden solujen pinnalla. **CD10**-vasta-ainetta käytetään Burkittin lymfooman ja leukemian, follikulaarisen lymfooman, B-solun lymfoblastisen leukemian ja lymfooman esiasteiden tunnistuksessa. Väireaktio tapahtuu solukalvolla (Kuva 3). Kontrollikudoksina tonsillan lisäksi suositellaan käytettävän maksaa. Vasta-ainetta käytetään hyväksi erottaessa diagnostiikassa follikulaarinen lymfooma muista matala-asteisista/pienistä ja keskikokoisista B-solu lymfoomista, kuten manttelisolulymfooma ja MALT-lymfooma. (Dako 2008, 32; NordiQC 2013a.)



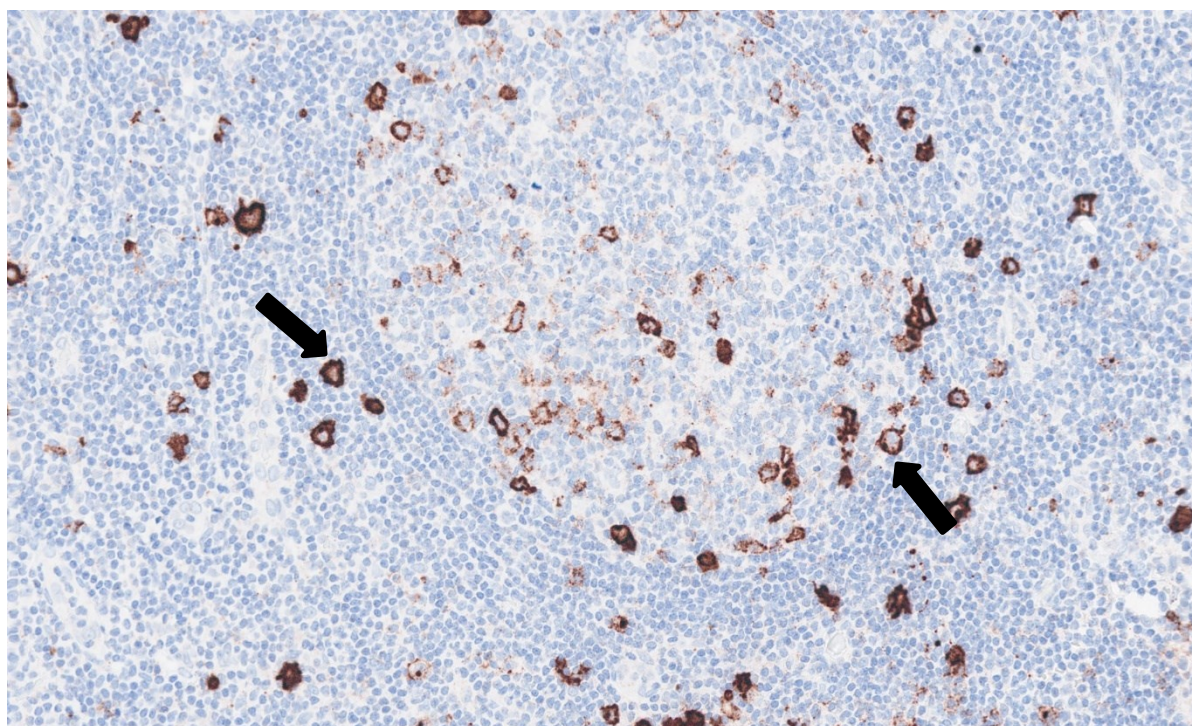
KUVA 3. CD10 positiivinen kontrolli, itukeskuksen B-solut värjäytyvät solukalvolta (musta nuoli) (Tiainen, Seppänen, Santala 2023).

CD15 on solun pinnan glykolipideistä ja glykoproteiineista koostuva monimutkainen ryhmä. Lymfocyteistä suurin osa on CD15-negatiivisia, mutta aktivoituneet lymfocytyt, erityisesti T4 voivat olla CD15-positiivisia. CD15-vasta-ainetta käytetään yksitumaisten Hodgkinin-solujen ja Reed-Sternberg-solujen tunnistamiseen Hodgkinin-lymfoomassa. Väriäinen reaktio tapahtuu solukalvolla ja soluliimassa. Suositellut kontrollit tonsillan lisäksi ovat munuainen sekä Hodgkinin-lymfoomaa sisältävä imusolmuke. Erotusdiagnoosissa sitä käytetään Hodgkinin-lymfooman ja tymooman, sekä Hodgkinin ja T-solurikkaan B-solulymfooman erottamiseen. (Dako 2008, 33; NordicQC 2014b.)

CD20 antigeeni on solukalvon läpäisevä, glykosyloimaton fosfoproteiini ja se on mukana B-solujen aktivoimisessa, säätelyssä, ja jakaantumisessa. CD20 on yksi tärkeimmistä markkereista B-solukasvainten tunnistamisessa ja se ilmenee suurimmassa osassa B-soluleukemia- ja lymfoomatapauksissa. CD20-vasta-ainetta käytetään kliinisessä työssä B-solulinjan ja eri B-solulymfoomien kuten manttelisolulymfooman eli vaippasolulymfooman tunnistamiseen. Vasta-aine-antigeeni kompleksi muodostuu solukalvon pinnalla. Vasta-ainetta käytetään maha-suolikanavan lymfooman ja karsinooman, B-solun ja T-solun lymfooman sekä suuren B-solulymfooman ja melanooman erotukseen. (Dako 2008, 35; NordiQC 2012a; Dako 2020, 35.)

CD23-vasta-ainetta käytetään tunnistamaan CD23-antigeeni, joka on B-solujen solukalvon läpäisevä glykoproteiini. Vasta-aine tuottaa positiivisen värjäystuloksen normaaleista B-soluista sekä B-solulymfoomista, kun taas manttelisolulymfoomassa värjäystulos on negatiivinen. Värireaktio tapahtuu solukalvolla. **CD23**-vasta-ainetta käytetään erotusdiagnostiikassa pienen lymfosyyttisen lymfooman erottamiseen manttelisolulymfoomasta. (Dako 2008, 37; Ventana 2009; NordiQC 2012b.)

CD30 proteiinia esiintyy useimpien solujen pinnalla, kuten esimerkiksi aktivoituissa B- ja T-lymfosyyteissa, plasmasoluissa, NK-soluissa, monosyyteissä ja imusolmukkeen suurissa lymfoidisoluissa. CD30-vasta-ainetta käytetään Reed-Sternberg-solujen tunnistamiseen Hodgkinin lymfoomassa ja anaplastisessa suurisolulymfoomassa. Reaktio tapahtuu solukalvolla ja solulimassa (Kuva 4). Erotusdiagnoosissa käytetään Hodgkinin lymfooman ja tymooman, Hodgkinin lymfooman ja T-solurikkaan B-solulymfooman, sekä alkion karsinooman ja kivessyövän eli seminooman erottamisessa toisistaan. (Dako 2008, 38; NordicQC 2015.)



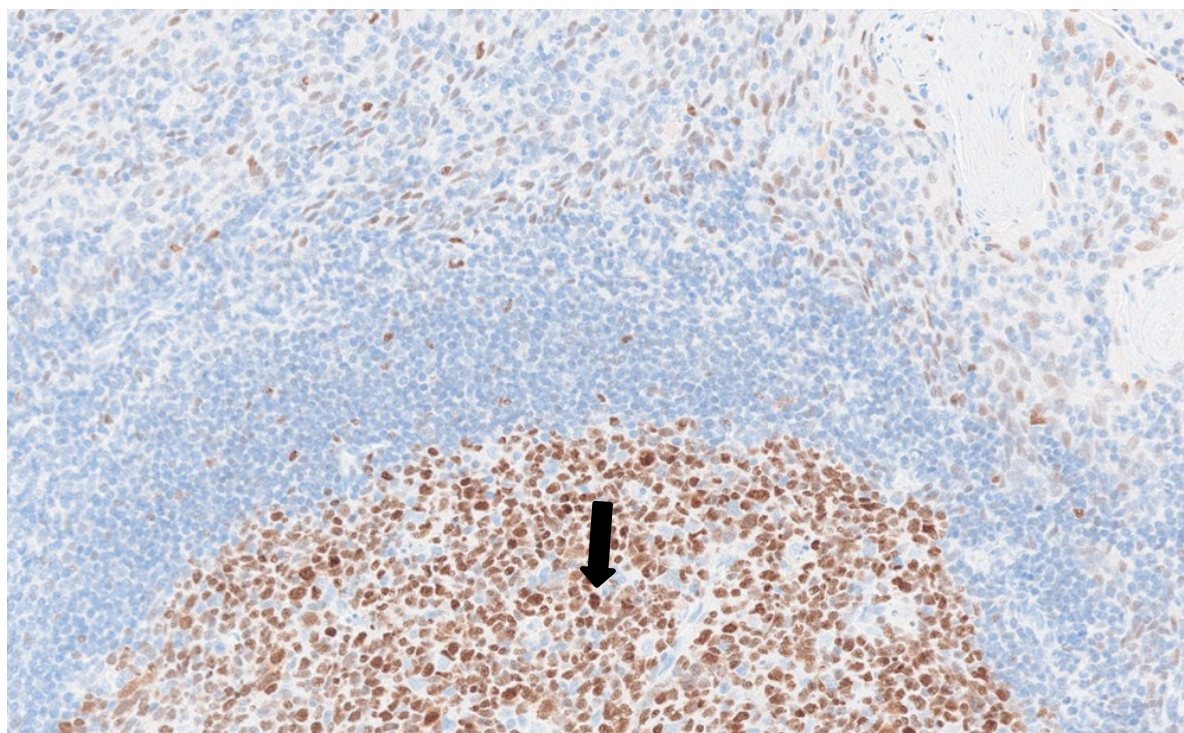
KUVA 4. CD30 Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Aktivoitunut T- ja B-solut follikulaarisella alueella ja aktivoitunut B-solut itukeskuksen reunalla värjäytyvät solukalvolla (Tiainen, Seppänen, Santala 2023).

CD45-antigeenia tavataan kaikissa hematopoieettista alkuperää olevissa soluissa (verisoluissa), lukuun ottamatta kypsiä punasoluja. Sitä käytetään lymfooman yleismerkkiaineena. CD45-vasta-ainetta käytetään tunnistamaan imukudosperäisiä kasvaimia. Värireaktio tapahtuu solukalvolla. Suositellut kudokset kontrollit tonsillan lisäksi ovat aivo ja luuydin. 90 % prosenttia maligneista eli pahanlaatuisista lymfoomista on CD45-positiivisia ja diagnostiikassa vasta-ainetta käytetään erottamaan ne muista syövistä. (Dako 2008, 42; NordiQC 2023.)

CD-vasta-aineiden lisäksi lymfoomadiagnostiikan merkkiaineina voidaan käyttää myös muita vasta-aineita. Kehittämistyössä niistä käsitellään BCL2-, BCL6-, CYCD1-, CMYC- ja MUM1-vasta-aineet, koska ne kuuluvat yleisesti lymfoomapaneelissa käytettyihin vasta-aineisiin. Myös niissä suurimassa osassa suositellaan käytettäväksi kudokset kontrollina tonsillaa.

BCL2-proteiinit sijaitsevat mitokondrioiden kalvolla ja ne säätelevät apoptoosia eli ohjelmoitua solukuolemaa. **BCL2**-vasta-ainetta käytetään follikulaarisen lymfooman tunnistamiseen, minkä lisäksi jotkin T- ja B-lymfoomat ovat BCL2-positiivisia. Sitä voidaan käyttää erotusdiagnostiikassa follikulaarisen ja diffuusi suurisoluisen B-solulymfooman erottamiseen Burkittin lymfoomasta ja leukemiasta. Reaktiossa solulima värjäytyy. (Dako 2008, 16; NordiQC 2010; Tsuyama ym. 2017.)

BCL6-proteiinia tavataan pääasiassa B-soluissa, joissa se toimii transkription rajoittajana. BCL6-vasta-ainetta käytetään diagnostiikassa diffuusin suurisoluisen B-solulymfoomien, follikulaaristen lymfoomien ja Burkittin lymfooman tunnistamisessa. Erotusdiagnostiikka perustuu manttelisolulymfooman, sekä MALT-lymfooman erottamisessa B-solulymfoomasta ja follikulaarisesta lymfoomasta. Värireaktio tapahtuu tumassa (Kuva 5). (Dako 2008, 17; NordiQC 2014a.)



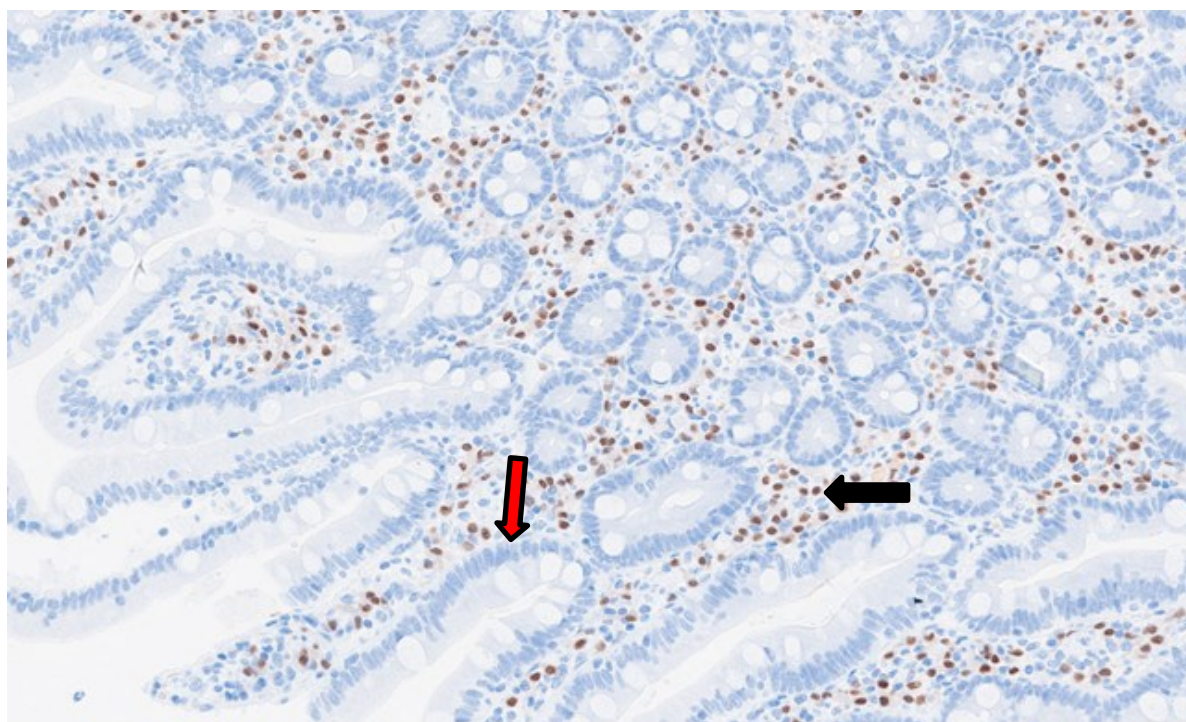
KUVA 5. Bcl6 Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Nuolella osoitettu B-solun tumen värjäytyminen itukeskuksessa (Tiainen, Seppänen, Santala 2023).

Cyclin D1 eli Sykliini D1 on 295 aminohapon muodostama proteiini, jota ilmenee pääasiassa epiteelikudosten, endoteelin ja joidenkin fibroblastien proliferatiivisella vyöhykkeellä. Sykliini D1 osallistuu solusyklin mitoottisen vaiheen ajalliseen säätelyyn. **CYCD1**-vasta-ainetta käytetään pääasiassa manttelisolulymfooman ja pahanlaatuisten B-lymfosyyttien tunnistamisessa, mutta myös karvasolu-leukemian ja CD20-positiivisen multippelin myelooman alatyypin määrittämisessä. Värireaktio tapahtuu tumassa. Erotusdiagnostiikassa sitä käytetään manttelisolulymfooman ja kroonisen lymfaattisen leukemian erotuksessa. (Dako 2008, 54; NordicQC 2011a.)

C-MYC-Proto-onkogeeni koodaa tumen fosfoproteiinia, joka toimii kasvun edistäjänä ja transkriptiotekijänä säädellen erilaisia solutoimintoja, kuten solujen kasvua, erilaistumista ja apoptoosia eli solukuolemaa. C-MYC on välttämätön B-solujen varhaiselle kehitykselle luuytimessä, ja c-MYC:n säätelemätön ilmentyminen itukeskuksen B-soluissa lisää riskiä B-solulymfoomien kehittymiseen. C-

MYC-vasta-ainetta käytetään havaitsemaan aggressiivisista B-solulymfoomista MYC-proteiinia ja positiiviseksi värjäytyneiden kasvaintumien lukumäärän mukaan se auttaa kasvaimen alaluokituksessa. Tonsillan lisäksi paksusuoli on suositeltu kontrollikudos. (Kluk ym. 2016; NordiQC 2019.)

MUM1 eli Multipple myeloma onkogeneeni 1 kuuluu IRF-geeniperheeseen eli interferonin säätelytekijöihin ja ne osallistuvat solujen kasvun säätelyyn, transformaatioon, apoptoosin induktioon sekä T-solujen immuunivasteen kehittämiseen. MUM1 toimii tumen transkriptiotekijänä ja on välttämätön B-lymfosyyttien kehitykselle ja aktivaatiolle. MUM1-vasta-ainetta käytetään pahanlaatuisten lymfaattisten kasvainten alaluokitukseen. Reaktio tapahtuu tumassa ja solulimassa (Kuva 6). Kudokset suositellaan käytettäväksi tonsillan lisäksi umpilisäkettä ja paksusuolta. Erotusdiagnostiikassa saadaan alatyypitys diffuusin suurten B-solujen lymfoomalle. (Dako 2008, 90; NordiQC 2011b; Dako 2020, 94.)



KUVA 6. MUM1 paksusuoli 20x. Limakalvon plasmalut värjäytyvät tumasta (musta nuoli). Epiteeli jää negatiiviseksi (punainen nuoli) (Tiainen, Seppänen, Santala 2023).

3 LAADUNVARMISTUS LABORATORIODIAGNOSTIIKASSA

3.1 Laaduntarkkailu laboratoriodiagnostiikassa

Laboratoriodiagnostiikassa laadulla tarkoitetaan sitä, kuinka hyvin laite tai menetelmä suoriutuu työstä, johon se on suunniteltu. Laadunhallintamenetelmillä varmistetaan, että asiakkaat ja potilaat saavat laadukkainta mahdollista palvelua. Tärkeä osa patologian laboratoriodien laadunhallintaa on akkreditointi, jolla todennetaan, että laboratorio kohtaa käyttäjien ja asiakkaiden sekä lainsäädännön vaatimukset. Suomessa akkreditoinnista vastaa FINAS (Finnish Accreditation Service), jonka toiminta pohjautuu International Organization of Standardizationin eli ISO:n määrittämiin standardeihin. Akkreditoitudulla laboratoriolle tulee olla toimiva laaduntarkkailujärjestelmä, mitä valvotaan tarkastuskäynnein. Tarkastuksissa mahdollisesti havaitut poikkeamat tulee korjata määräajan kuluessa. (Dunk 2013, 5–6; Finas-akkreditointipalvelu, 2015.)

Sisäiseen laadunvarmistukseen kuuluvat toimet, joiden avulla laboratoriossa tehtävien määritysten toimivuus ja tulosten täsmävyys saadaan varmistettua jokaisella mittauskerralla. Oikean tulostason varmistukseen käytetään vakioita ja referenssivalmisteita sekä kolmannen osapuolen valmistamia kontrolleja jatkuvaan sisäiseen laadunarviointiin. Säännöllistä ulkoista laadunvarmistusta tarvitaan tutkimustulosten laadun ja eri laboratoriodien välisen tulosten yhteneväisyyden varmistamiseksi. Laboratoriodien toimiluvat edellyttävät yleensä ulkoiseen laaduntarkastukseen osallistumista. Ulkoisia laadunarviointikierroksia tarjoava taho kuten Labquality tai NordiQC lähettää laadunarviointikierrokselle osallistuvalla laboratoriolle näytteitä, jotka ne analysoivat ja lähettävät tulokset takaisin. Laboratorio saa palautteen omista tuloksistaan sekä yleisen palautteen kierroksen tulostasosta. Validointi tarkoittaa menetelmän sopivuuden ja riittävän suorituskyvyn osoittamista aiottuun käyttötarkoitukseen. Käyttöön otettavan menetelmän tuloksia verrataan menetelmään, jonka tulostasoa tunnetaan ja validoinnin tulokset tallennetaan. (Sanderson & Zardin 2013, 441–442; Labquality julkaisuaika tuntematon(a); Labquality julkaisuaika tuntematon(b).)

Laaduntarkkailulla patologian laboratoriossa varmistetaan, että työnjälki on laatuvaatimuksien mukaista ennen näytteiden etenemistä diagnosoitavaksi. Laaduntarkkailu kattaa koko histologisen prosessin ja siinä tulee olla selkeät kriteerit, joiden täyttymättä jättäminen johtaa työn uusimiseen. Laboratoriossa on yleensä nimetyt työntekijät, joiden vastuulla laaduntarkastus on, mutta lopullinen päätös näytteen soveltumisesta diagnosoitavaksi on patologilla. Jokaisella työntekijällä on kuitenkin vastuu laaduntarkkailusta. Havaituista laatu-poikkeamista pidetään kirjaa ja ne raportoidaan, jotta mahdolliset puutteet laadunhallinnassa ja osaamisessa voidaan huomata ja korjata. (Dunk 2013, 6.)

3.2 Immunohistokemiallisten värjäysten laatuun vaikuttavat tekijät

Immunohistokemiallisilla tutkimuksilla on nykyään merkittävä rooli diagnostiikassa ja ne voivat suoraan vaikuttaa potilaan hoitopolkuun, joten on tärkeää varmistua tutkimusten korkeasta laadusta. Immunohistokemian laboratoriossa tulee olla toimiva laaduntarkkailujärjestelmä, jonka lisäksi työntekijöillä on oltava hyvä käsitys värjäyksistä sekä niiden suorittamiseen käytettävästä tekniikasta. Immunohistokemiallisissa tutkimuksissa on useita tekijöitä, jotka vaikuttavat värjäyksen lopputulokseen ja sen myötä oikean diagnoosin saamiseen. (Sanderson & Zardin 2013, 435–439.)

Värjäystuloksen laadun ja diagnostisen herkkyyden kannalta oikean primaarisen vasta-aineen valinnalla on merkittävä vaikutus testin lopputulokseen. Immunohistokemiallisissa menetelmissä käytettävät vasta-aineet tulee olla validoitu ennen käyttöönottoa. Yleensä vasta-aineiden mukana tulee valmistajan suositukset menetelmän suorittamiseen, joiden pohjalta laboratorio validoi menetelmän omaan käyttöönsä toimivaksi. Monoklonaalisten vasta-aineiden käyttö immunohistokemiassa on yleistynyt muun muassa niiden saatavuuden, puhtauden ja spesifisyyden vuoksi. Vasta-aineen korkea spesifisyys voi toisinaan alentaa vasta-aineen ja antigeenin välistä reaktiota. Polyklonaalisten vasta-aineiden käyttö puolestaan vähentää menetelmän spesifisyyttä, mutta mahdollistaa samalla korkeamman herkkyyden useamman vasta-aineen sitoutuessa antigeeneihin. Menetelmässä käytettävän vasta-aineen valinta tulisi optimoida esikäsittelyn vaiheiden, sekä kohdeantigeenin vaatiman herkkyyden ja spesifisyyden mukaan. (Stonard & Stonard 2012, 190, 195; Nielsen 2013, 47–56; Sanderson & Zardin 2013, 439–440.)

Esivalmistelut kudoksen rakenteiden degeneraation välttämiseksi alkavat heti, kun kudospala poistetaan potilaasta. Kudoksen irrottaminen verenkierrosta käynnistää autolyysin eli prosessin, jossa kudoksen sisältämien solujen entsyymit alkavat tuhoamaan näytepalan kudosta. Kudospalan kehosta poistamisen ja sen kiinnitysaineeseen saamisen välistä aikaa kutsutaan kylmäskemia-ajaksi. Tämä on kriittinen vaihe, jonka tulisi olla mahdollisimman lyhyt (<1 tunti). Liian pitkä kylmäskemia-aika heikentää solujen epitooppien rakenteita sekä solukalvojen immunoreaktiivisuutta aiheuttaen solukalvojen yli- tai alivärjäytymistä, joka taas vaikeuttaa näytteen morfologista tutkimista. Tärkeää on myös välttää kudospalan kuivumista missään esikäsittelyn vaiheessa. Kuivuminen aiheuttaa muutoksia varsinkin näytteen pintojen rakenteissa, mikä voi heikentää ligandin eli näytteeseen sitoutuvan molekyylin sitoutumista. Kuivunut kudos on myös adsorboivampaa eli eri aineet tarttuvat siihen helpommin, mikä voi aiheuttaa tulosten tulkintaa vaikeuttavaa reagenssien tarkoituksetonta adsorptiota. (Colley & Stead 2013, 21–22.)

Yleensä immunohistokemiallisessa värjäyksessä näytteet kiinnitetään formaliinissa ja valetaan parafiiniin. Fiksaatiolla, eli kiinnittämisellä on suuri vaikutus kudoksen näytteen morfologiaan ja värjäytyvyyteen. Oikeaoppisen kiinnittämisen avulla näytteen kudoksen rakenteet pysyvät ehjinä, sekä mahdolliset artefaktit eli tutkittavasta kohteesta riippumattomat löydökset saadaan näkyville. Tämän FFPE -menetelmän (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) suurin haittapuoli on formaliinin aiheuttama muutos, jossa formaliinin ja näytteen sisältämien aminohappojen välille muodostuu sidoksia, jotka peittävät epitooppeja. Tämä vaikuttaa haitallisesti vasta-aineen ja antigeenin kykyyn reagoida keskenään. Ongelmien ratkaisemiseksi laboratorioissa saattaa olla käytössä erilaisia fiksatiiveja, jotka säilyttävät antigeenisyyden formaliinia paremmin. Antigeenin paljastustekniikoilla voidaan palauttaa näytteen antigeenisyyttä purkamalla fiksaation vaikutusta. Liian pitkä fiksaatioaika saattaa hävittää näytteen antigeenejä. Liian lyhyt fiksaatioaika tai liian suuri kudoksen näytepala voi aiheuttaa poikkeamia laatuun, kun kudos fiksoituu etanolilla prosessoinnin aikana. Viivästyneessä fiksaatiossa kylmäskemia-aika on liian pitkä, jolloin hienorakenteiden muutokset saavat aikaan antigeenisyyden vähenemisen. Näytteen huono prosessointi voi heikentää immunohistokemiallisten värjäysten tuloksia. Liian korkeat lämpötilat kuduskuljetuksessa tai parafiiniin valussa voivat tuhota lämpöherkkiä antigeenejä. Muita tärkeitä leikkeen laatuun vaikuttavia tekijöitä ovat veden kunnollinen poistaminen leikkeestä, mikä

yhdessä ryppyjen ja repeämisen välttämisen kanssa vaikuttaa leikkeen kiinnittymiseen objektilasiin. Näytteen paksuus vaikuttaa laatuun, sillä liian ohut leike värjäytyy heikosti, kun taas liian paksu leike irttoilee helposti, kerää helposti värjäystaustaa ja on vaikea tarkentaa mikroskoopissa. Lisäksi näytteen laatuun vaikuttavat ilmakuplat näytteen alla, repeily, veitsiviirut ja reuna-artefaktit. (Colley & Stead 2013, 21; Sanderson & Zardin 2013, 435–439; Shi & Taylor 2013, 31–32; Suikkanen 2023.)

Laaduntarkkailussa immunohistokemiallisissa värjäyksissä käytetään kontrolleja, joilla käytetyt menetelmät voidaan validoida ja varmistaa niiden toimivuus ja soveltuvuus diagnoosien tekemiseen. Kontrollit tuovat tietoa reagenssien toimivuudesta sekä päivittäisistä operaattoreiden ja instrumenttien välisistä vaihteluista. Samalla kontrollit osoittavat, että värjäysohjeita on noudatettu asianmukaisesti. Histologisissa värjäyksissä, joissa diagnostiikka perustuu värin läsnäolon tai sen puuttumisen toteamiseen, on värjäyksen laadun varmistamiseksi värjättävä kontrollikudos pala samoissa värjäysolosuhteissa kuin potilasnäyte. Perinteisesti kontrolleina käytetään kudoksia, joissa etsityn antigenin ilmeneminen tunnetaan. Värjäysmenetelmän toimiessa oikein, tulisi kudoksen värjäytyä positiivisessa kontrollissa ja vastaavasti jäädä värjäytymättä negatiivisessa kontrollissa. Immunohistokemiallisissa värjäyksissä tulee käyttää aina vähintään positiivista kontrollia, joka antaa luotettavimman tuloksen ollessa samalla lasilla näytteen kanssa. Negatiivisen kontrollin käyttö on suositeltua, mikäli aika, tila ja kustannukset sen sallivat. Vasta-aineiden valmistajalla on yleensä suositus käytettävästä kontrollimateriaalista. Monesti tiettyä kontrollikudostyyppiä voidaan käyttää useille vasta-aineille, minkä lisäksi voidaan tehdä kontrolleiksi multi- eli monikudosblokkeja, jotka sisältävät useampia kudostyyppisiä. Yleensä patologian laboratoriot keräävät omasta näytemateriaalistaan edustavasti värjäytyviä näytteitä kontrolleiksi. Tiedetyt antigeenit huononevat nopeasti, joten ne vaativat tuoreet kontrollit. Positiivisen tuloksen lisäksi kontrollit ilmaisevat myös menetelmän herkkyyttä, kun matalat kontrollit värjäytyvät, ja spesifisyyttä, kun negatiiviset kontrollit eivät värjäydy ja taustavärjäytymistä ei tapahdu. (Stonard & Stonard 2012, 190, 195; Colley & Stead 2013, 27; Rasmussen & Jørgensen 2013, 161; Sanderson & Zardin 2013, 438–442.)

Värjäyksiin käytetyt reagenssit tulee laadukkaan lopputuloksen takaamiseksi säilyttää asianmukaisesti ja käyttää ennen annettua vanhenemisajankohtaa. Väärät säilytysolosuhteet voivat vaikuttaa esimerkiksi reagenssien entsyymiaktiivisuuteen. Värjäysautomaatit, jotka lukevat viivakoodit reagenssipullojen kyljistä, hälyttävät yleensä automaattisesti vanhentuneista reagensseista. Valmiiksi laseille leikatut kontrollit säästävät aikaa, mutta niiden vääränlaiset säilytysolosuhteet saattavat olla virhelähde. (Stonard & Stonard 2012, 190, 195; Sanderson & Zardin 2013, 439–440.)

4 LAADUKKAAN KUVALLISEN OPPAAN KRITEERIT

Oppaita laaditaan monen eri asian yhteyteen ja ne voivat koostua pelkästään tekstistä tai kuvitusta tekstistä, riippuen oppaan aiheesta. Ne voivat koostua myös pelkistä kuvista. Opas voi olla joko tarkasti rajattu tiettyyn aiheeseen, tai luonteeltaan yleisemmän aiheen ohjeistukseen, jossa lukija joutuu miettimään enemmän oppaan soveltamista sen hetkiseen tapaukseensa. Oppaaseen voi sisältyä myös johdanto, jossa avataan oppaan tarkoitusta ja asioita, joita pitää ottaa huomioon, jotta haluttuun tulokseen päästään. Siinä voi olla myös tarpeen kertoa oppaassa esiintyvistä käsitteistä. Oppaan sisältämät ohjeistukset ovat suositeltavaa jakaa erillisiksi kohdiksi ja esittää ne luettelmana eri vaiheet numeroituna. Tämä tekee ohjeesta helpommin seurattavan. Oppaan selkeyttämiseksi eri osioilla tulee olla otsikoinnit, jotka helpottavat käsiteltävien aiheiden jäsentämistä. Visuaalisen materiaalin tarkoituksena on havainnollistaa oppaan sisältämän tekstin merkitys. Kuvan yhteyteen tulee liittää jokin selitys, josta lukija voi selvästi ymmärtää kuvan tarkoituksen tai tapahtuman. Koska yleensä ohjeen lukija huomaa ensin kuvan, kannattaa sitä selittävä teksti kirjoittaa kuin kuvaa täydentäen. Kuvallista opasta laativien kannalta selvä työjärjestys on suunnitella ensin ohje kokonaisuutena, päättää visuaalisen aineiston määrä, hankkia siinä käytettävät kuvat sekä muu aineisto ja vasta viimeisenä kirjoittaa ohjetekstit, kriteerit sekä muut mahdolliset merkinnät. (Kankaanpää & Piehl 2011, 295–297; Torppa 2014, 184.)

Oppaiden tarkoituksena on kertoa lukijalle, kuinka menetellä, jotta haluttuun lopputulokseen päästään. Hyvän ohjeistuksen kirjoittamisessa ja kuvittamisessa täytyy huomioida, että tarpeelliset asiat esitetään selkeästi ilman turhaa asiaankuulumatonta sisältöä, sekä parhaiten oppaan tarkoitusta palvelevassa järjestyksessä. Ohjeistuksissa tulee välttää termejä, joita tuleva lukijakunta ei välttämättä tunne. Jos jokin termi on ohjeen kokonaisuutta ajatellen välttämätön, tulee käsitteen sisältö tulla kirjoituksesta selvästi ilmi. Ohjeessa voidaan puhutella ohjeen lukijaa joko suoraan tai epäsuoran ilmaisutavan avulla. Konkreettisissa käyttöohjeissa on tavallista sinutella ohjeen käyttäjää käskymuodolla, kuten ”lisää, pipetoi”. Käskymuodolla pyritään käyttäjän onnistumiseen. Epäsuorassa ohjeistuksessa lukijaa ei puhutella suoraan, vaan ohjeet esitetään asioiden tilana, jonka vallitessa lukijan tavoite toteutuu: ”oppilas, joka haluaa osallistua harjoitteluun, on ilmoittauduttava kirjallisesti”. Ohjeessa voidaan käyttää myös sekä suoraa puhuttelua että epäsuoraa lähestymistä. Se on luontevaa niissä tapauksissa, joissa ensin halutaan kuvailla mitä onnistumiselta vaaditaan, jonka jälkeen lukijaa ohjeistetaan suoralla käskytyksellä. Oppaan kirjoittajan on hyvä huomioida se, mikä siinä tapauksessa parhaiten ohjaa lukijan toimimaan siten, että ohjeistuksen tarkoittamaan tavoitteeseen päästään. (Kankaanpää & Piehl 2011, 295–299.)

Digitalisoituvassa maailmassa on hyvä ajatella kuvaoppaassa käytettävän materiaalin arkistointia tulevaisuudessa myös sähköiseen muotoon. Patologia on digitalisoitumassa muun maailman mukana, ja tälläkin hetkellä on jo käytössä histologisten näytteiden skannaaminen ja digitointi, eli whole slide imaging (WSI). WSI tarkoittaa lasilla olevan kudoksen näytteen arkistointia digitaaliseen muotoon. Jatkossa skannatut näytteet ovat helposti saatavilla erittäin isolla resoluutiolla tietokoneen arkistoista. (Pallua, Brunner, Zelger, Schirmer & Haybaeck 2020.) Tulevaisuudessa kuvaoppaiden ja erilaisten perehdytysmateriaalien sijainti voisi olla myös digitaalisessa muodossa. Digitaalisessa muodossa oleva materiaali on helposti muokattavissa ja vaihdettavissa esimerkiksi immunohistokemian

värjäyksissä käytettävien vasta-ainestandardien vaihtuessa. Värjäysten kriteerejä olisi myös helppo tulkita ison näytön sekä selkeiden kuvien avulla.

Uuden työohjeen tai -oppaan käyttöön ottamiseen liittyy aina työntekijän perehdytys. Perehdytystä tehdään usein uusille työntekijöille, mutta myös vakituisen työntekijän tehtäväkuvan vaihtuessa tai opasmateriaalin päivittyessä. Perehdytystä voidaan ajatella käsitteenä, jonka tavoitteena työntekijä oppii hallitsemaan työnkuvaan liittyvät toimintatavat ja menetelmät, sekä sopeutumaan työyhteisöön. Työntekijän vastuulla on monien uusien taitojen ja yhteisten toimintatapojen omaksuminen, jotta työtehtävistä suoriutuminen onnistuu mallikkaasti. Perehdyttävän näkökulmasta perehdyttämisellä tarkoitetaan uuden oppimista ja olemassa olevan tiedon soveltamista. Organisaation puolelta perehdyttämiseen täytyy osallistua vastaanottamalla uutta tietoa, päivittää olemassa olevia toimintatapoja, sekä muovautua uusien työntekijöiden tai ohjeistusten tuomiin muutoksiin. Jokaisella uudella työntekijällä on oikeus saada laadukas ja riittävä perehdytys työtehtäviinsä. Työntekijän oikeudesta saada riittävä perehdytys on säädetty myös työturvallisuuslaissa. Työturvallisuuslaissa määritellään niin, että ”työntekijä perehdytetään riittävästi työhön, työpaikan olosuhteisiin, työ- ja tuotantomenetelmiin, työssä käytettäviin työvälineisiin ja niiden oikeaan käyttöön sekä turvallisiin työtapoihin erityisesti ennen uuden työn tai tehtävän aloittamista tai työtehtävien muuttuessa, sekä ennen uusien työvälineiden ja työ- tai tuotantomenetelmien käyttöön ottamista”. (Työturvallisuuslaki 738/2002, 14 §; Eklund 2018, 25–26.)

Perehdyttämisellä on todettu olevan huomattava vaikutus työntekijän sitoutumiseen. Laadukkaan perehdytyksen ja ohjeistuksen ansiosta työntekijä saa onnistumisen kokemuksia työtehtävässään, joka vaikuttaa edelleen työn mielekkyyteen. Perehdytyksen tasalaatuisuus voidaan jokaisessa organisaation työtehtävissä varmistaa suunnitelmallisen perehdytysprosessin laatimisella. Suunnitelmallinen toimintatapa mahdollistaa virheiden havaitsemisen ja korjaamisen, sen sijaan, että samoja virheitä toistettaisiin aina uudelleen. Laadukkaan perehdytyksen onnistuminen määräytyy usein lopulta perehdyttäjän kokemuksen ja taitojen perusteella. Olennaisena asiana organisaatiolla on varmistaa perehdyttäjien valmiudet perehdytystehtäviin. Perehdyttäjän tulee huomioida omat toimintatavat ja suhtautua kriittisesti omiin rutiineihinsa. Joidenkin toimintamallien ja pinttyneiden rutiinien siirtäminen uudelle työntekijälle on haitallista uuden oppimisen kannalta. Varsinkin perehdytysmateriaalien ja työohjeiden päivittämisessä tämä tulee ottaa huomioon. Laadukkaan perehdytyksen onnistumiseksi perehdyttäjän tulee omaksua perehdyttävän materiaalin sisältö ennen sen opastamista uusille työntekijöille. Perehdytysprosessin tarkoituksena on tarjota perehdyttävälle mahdollisuudet kehittyä työntekijänä. (Eklund 2018, 34–37, 58.)

5 KEHITTÄMISTYÖN TARKOITUS JA TAVOITE

Kehittämistyön tarkoituksena on tehdä Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseen, patologian osastolle kuvallinen opas immunohistokemiallisista värjäyksistä lymfooman merkkiaineille. Tavoitteena on kehittää bioanalyttikoiden perehdytystä immunohistokemiallisten värjäysten laaduntarkkailuun niin, että bioanalyttikot oppivat tunnistamaan ja vertaamaan hyväksyttävän värjäyksen kriteerit kontrollinäytteistä.

Opasta immunohistokemiallisiin värjäyksiin lymfooman merkkiaineille on työpisteellä tarvetta, sillä käytetyistä vasta-aineista ei ole ollut saatavilla aiempaa perehdytysmateriaalia, jonka avulla bioanalyttikot voivat tarkastaa värjäämistään näytteistä onnistuneen värjäytymisen kriteerit. Solubiologit tarkistavat pääsääntöisesti immunohistokemiallisten värjäyksen laadun ja päättävät milloin värjäykset tulee tehdä uudestaan. Solubiologia tarvitaan laaduntarkkailussa aktiivisesti mukana, koska bioanalyttikoiden perehdytys ei riitä värjäysten itsenäiseen tarkasteluun. Työn tavoitteena on myös näin vähentää solubiologien kuormitusta näytteiden tarkistamisessa, kehittämällä bioanalyttikkojen osaamista immunohistokemiallisten värjäysten laaduntarkkailuun. Näin voidaan nopeuttaa värjäysten tarkistamista ja tulosten saamista, kun laaduntarkkailu voidaan suorittaa suoraan värjäyksen jälkeen, ilman useamman ammattiryhmän konsultointia.

Kehittämistyössä kuvataan valmiiden kontrolli- ja validointinäytteiden avulla, kuinka immunohistokemiallisten värjäysten tulisi ilmetä vasta-ainekohtaisesti eri kudoksissa. Oppaassa avataan oikean värjäytymisen kriteerejä ja luetellaan vasta-ainekohtaisesti hyvät kontrollikudokset sekä käsitellään yleisesti diagnostiikkaa. Kehittämistyössä käsitellään myös mahdollisia virhelähteitä sekä niiden vaikutuksia värjäystulokseen. Kuvallisen oppaan avulla selkeytetään hyväksyttävän värjäystuloksen kriteerejä, mistä on hyötyä eri ammattiryhmille. Lisäksi selkeä ja helposti luettavassa muodossa oleva kuvamateriaali yhdenmukaistaa laadunvalvontaa. Oppaalla varmistetaan, että perehtyvillä työntekijöillä on mahdollisuus kerrata hyväksyttävien värjäystulosten kriteerit aina, kun siihen on tarvetta.

6 KEHITTÄMISTYÖN TOTEUTUS

6.1 Kehittämistyön menetelmä

Kehittämistyön käytännön työskentely voidaan jakaa seitsemään eri vaiheeseen, jotka ovat kehittämistarpeen tunnistaminen, ideointivaihe, suunnitteluvaihe, toteutusvaihe, tulos ja/tai tuotos, arviointivaihe ja päätös sekä implementointi ja tulosten levittäminen. Linearisessa mallissa vaiheet seuraavat toisiaan aiemmin laaditun suunnitelman mukaan, mutta malli ei ota huomioon inhimillisiä, kulttuurisia tai sosiaalisia tekijöitä, jotka vaikuttavat käytännössä työn tekemiseen ja valmistumiseen. Vaiheet ovat harvoin näin lineaarisessa järjestyksessä, vaan usein käytännössä ne limittyvät ja ovat samanaikaisia. Kehittämistyön voi nähdä myös spiraalisena mallina, jossa kehittäminen etenee syklisti. Vaiheet muodostavat kehiä, jotka jatkuvat kehillä, joissa edellisen vaiheen tulos arvioidaan uudelleen ja opitaan toiminnasta. Malli korostaa reflektiota, arviointia ja vuorovaikutusta sekä ottaa huomioon sosiaaliset, inhimilliset ja kulttuuriset piirteet, jotka vaikuttavat kehittämistoimintaan. Työskentelyssä tapahtuu jatkuvasti sisältöjen ja toimenpiteiden arviointia, uudelleensuuntaamista ja tarkentamista. Konstruktivisessa mallissa molemmat lineaarinen ja syklinen malli ilmenevät eri vaiheissa. Työskentelyn vaiheet ja niiden sisällöt ovat vastaavia kuin lineaarisessa mallissa, minkä lisäksi malli ottaa tulosten arvioinnin ja inhimillisten tekijöiden huomioon spiraalimallista. Mallin perusajatuksena on, että kehittäminen perustuu yhdessä tekemiseen ja osallisuuteen, toiminnassa oppimiseen ja jatkuvaan reflektioon sekä menetelmäosaamiseen. Käytännön työskentely vaatii työntekijöiltä pysähtymistä, arviointia, suuntautumista eteenpäin sekä tasavertaista keskustelua. Tasavertaisen vuorovaikutuksen avulla saavutetaan moniäänisyys, erilaisten näkökulmien esilletuonti ja asiantuntijuuden jakaminen. Kehittämistyön toteutuksessa arviointi on jatkuvasti läsnä ohjaten toteutuksen uudelleen suuntaamista tehtyjen havaintojen ja reflektion pohjalta. (Salonen 2013, 13–16; Salonen, Eloranta, Hautala & Kinos 2017, 51–54.)

Kehittämistyö eteni konstruktivisen mallin mukaan. Alkuun työn vaiheet seurasivat toisiaan järjestyksessä, mutta työn toteutusvaiheessa suoritettiin jatkuvaa arviointia työn sisällöstä, ulkoasusta, aiherajauksesta ja käytettävyydestä. Itsereflektion ja työn tilaajilta saadun palautteen pohjalta opasta muokattiin ja kehitettiin, jotta se palvelisi mahdollisimman hyvin tilaajan tarpeita. Ryhmässä työskentely toi mukaan moniäänisyyttä ja erilaisten näkökulmien huomiointia, kun työn toteutuksen suuntaamisesta keskusteltiin yhdessä.

6.2 Kehittämistarpeen tunnistaminen ja ideointivaihe

Kehittämistyö lähtee liikkeelle kehittämistarpeen tunnistamisesta. Käytännön työelämässä havaitaan jokin muutostarve, jota varten kehittämistyötä aletaan valmistella. Työntekijät muodostavat yhteisen ymmärryksen kohteesta, jota kehitetään, sekä rajaavat aluetta alustavasti. Eri tahojen näkemykset kehittämistarpeesta otetaan huomioon. Kehittämistyö voi olla ongelmaperustainen eli pyritään ratkaisemaan käytännössä huomattu haaste tai ongelma, tai uudistamisperustainen eli etsitään uusia ratkaisuja esimerkiksi palveluun tai toimintaprosessiin. (Salonen 2013, 17; Salonen ym. 2017, 56; Ojasalo, Moilanen & Ritalahti 2021, 21.)

Ideointivaiheessa ideoidaan sitä, mitä muutettavaa nykytilanteessa on, ja kuinka haluttu muutos saavutetaan. Työn etenemisestä sovitaan alustava suunnitelma, jossa on väljät tavoitteet. Ideoinnissa on hyvä kuulla laajasti kehittämistyöhön liittyviä henkilöitä ja heidän näkemyksiään, jotta erilaiset näkökulmat tulevat huomioiduksi. Omien näkemysten ja käsitteiden esilletuominen lisää työhön osallistuvien henkilöiden motivaatiota ja osallisuutta. (Salonen ym. 2017, 58.)

Kehittämistyön suunnittelu aloitettiin keväällä 2022, jolloin valittiin valmiista aiheista immunohistokemiallisten värjäysten kuva-aineiston kerääminen lymfooman merkkiaineille. Työn tilaajana toimi Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseen kuuluva patologian osasto ja kohderyhmänä oli patologian laboratoriossa työskentelevät bioanalyytikot. Aihekuvausessa työ määriteltiin kehittämistyöksi, sillä aihe oli työelämälähtöinen ja sisälsi muutostarpeen käytännön työssä (Salonen ym. 2017, 56). Immunohistokemian laboratoriossa tulee olla toimiva laaduntarkkailujärjestelmä ja myös työntekijöillä on vastuu sen toteutuksesta. Työntekijöillä on siis oltava hyvä käsitys värjäyksistä sekä niiden suorittamiseen käytettävästä tekniikasta. (Dunk 2013, 6; Sanderson & Zardin 2013, 435–439.) Laboratoriossa immunohistokemiallisten värjäysten laadusta ja tulkinnasta vastaavat pääsääntöisesti solubiologit ja heidän työtaakkansa keventämiseksi värjäysten laatua ja kontroleja halutaan tulkittavaksi myös bioanalyytikoille.

Tulosten tulkinnassa ei saisi olla eroja tulkitsijoiden välillä. Näitä pyritään välttämään sisäiseen ja ulkoiseen laadunvarmistukseen kuuluvilla toimilla, joiden avulla laboratoriossa tehtävien määritysten toimivuus ja tulosten täsmävyys saadaan varmistettua jokaisella mittauskerralla. Sisäiseen laadunvalvontaan kuuluu esimerkiksi kontrollien käyttö (Sanderson & Zardin 2013, 441–442; Labquality julkaisuaika tuntematon(a); Labquality julkaisuaika tuntematon(b).) Kehittämistyön tuotoksena syntyvän kuvallisen oppaan avulla pyritään perehdyttämään bioanalytikoita immunohistokemiallisten värjäysten laaduntarkkailuun vasta-ainekohtaisesti lymfoomadiagnostiikassa, hyödyntäen esimerkiksi käytössä olevista kontrollikudoksista. Oppaan avulla pyritään tunnistamaan värjäysten mahdolliset virhelähteet ja tuomaan keinoja niiden välttämiseksi.

Aihekuvausessa käsiteltiin myös työn alustava tarkoitus ja tavoite sekä aihetta rajattiin sisältämään pääteemat immunohistokemia, lymfooma ja eri värjäysmenetelmät. Tässä vaiheessa työn tilaajan kanssa pidettiin alkupalaveri, jossa suunniteltiin alustava aikataulu kehittämistyön etenemiselle ja tuotoksen valmistumiselle sekä käytiin läpi työn tilaajan toiveita oppaan sisällöstä ja rakenteesta.

6.3 Kehittämistyön suunnittelu

Kehittämistyön suunnitteluvaiheessa tarkennetaan mitä kehittämistyöllä voidaan realistisesti tavoitella ja mitä vaaditaan tavoitteiden saavuttamiseksi. Suunnitelmassa tulisi ilmetä tavoitteet kehittämistyölle, käytetyt kehittämismenetelmät ja työn etenemisvaiheet, kehittämistyön toimijat ja mahdolliset sidosryhmät sekä näiden tehtävät ja vastuut. Suunnitteluvaiheessa selvitetään työhön varatut resurssit ja kehittämistyön dokumentointi, arviointi sekä työn julkaisemistavat. Tässä vaiheessa kartoitetaan aiheen taustatietoja tutkimalla kirjallisuutta ja tutkimustuloksia ja tehdään rajauksia kehittämisen kohteeseen. Kehittämistyön suunnitelma harvoin pysyy täysin muuttumattomana, sillä

toteutusvaiheessa voi tulla yllättäviä asioita ilmi, joihin ei ole pystytty varautumaan, mutta on kuitenkin tärkeää pyrkiä mahdollisimman huolellisesti tehtyyn alkusuunnitelmaan. (Salonen ym. 2017, 59–60.)

Kehittämistyöstä tulisi laatia mahdollisimman huolellinen kirjallinen kehittämissuunnitelma (Salonen ym. 2017, 59–60.) Tässä kehittämistyössä tehtiin hyväksytyin aihekuvauksen jälkeen tutkimussuunnitelma, johon työn tarkoitus ja tavoite selkeytyivät. Suunnitteluvaiheessa tutustuttiin tarkemmin työn tilaajaan ja patologian laboratorioon. Immunohistokemian työpisteeseen perehdyttiin myös käytännössä tutustumalla käytettyihin menetelmiin ja laitteiden ominaisuuksiin. Työn tilaajien kanssa suunniteltiin tarkemmin työn sisältöä ja etenemisestä ja sovittiin laboratorion resurssien hyödyntämisestä, kuten valmiiden materiaalien käytöstä ja mahdollisesti itse värjäyksen toteutuksesta käytännössä. Kehittämisen aihetta rajattiin lopulliseen muotoon sisältämään pääteemat immunohistokemia, laadunvarmistus laboriodiagnostiikassa sekä hyvän työohjeen ja oppaan kriteerit. Rajauksen perusteena oli ilmenneet tarkemmat tiedot immunohistokemiallisen värjäyksen toteutuksesta sekä oppaan halutusta rakenteesta.

Kehittämistyön tulisi perustua tutkittuun tietoon ja/tai näyttöön (Salonen ym. 2017, 59–60). Suunnitteluvaiheessa kerättiin taustatietoa kehittämistyötä varten immunohistokemian värjäyksen perusteista, kriteereistä, mahdollisista virhelähteistä, vasta-aineiden ominaisuuksista ja käytöstä immunohistokemiassa, kontrollien käytöstä ja niiden merkityksestä sekä oppaaseen valittujen vasta-aineiden roolista lymfomadiagnostiikassa. Tietoa etsittiin myös hyvän oppaan kriteereistä ja työohjeen vaatimuksista. Kehittämistyön tiedonhaussa käytettiin hyväksi kotimaisia ja kansainvälisiä tietokantoja kuten terveystieteisiin pohjautuva PubMed, Medic, ja Terveysportti sekä monitieteelliset ScienceDirect, ja EBSCO. Käytettävät lähteet pyrittiin rajaamaan julkaisuvuoden mukaan enintään kymmenen vuotta vanhoihin julkaisuihin, minkä lisäksi pyrittiin välttämään kaupallisia lähteitä. Lähdekirjallisuutta etsittiin myös Savonia Finnan kautta ja työssä hyödynnettiin alan kirjallisuutta, jota oli saatavilla työn tilaajan omasta kirjastosta sekä verkkosivuilta. Hakusanoina käytettiin esimerkiksi pathology, immunohistochemistry, patologia, immunohistokemia, immunologia, vasta-aineet, antigenit, antigen, antibody, työohje, kehittämissuunnitelma, menetelmä, opas, kuva-aineisto, työohje, perehdytysmateriaali tai näiden yhdistelmiä. Tutkittaessa taustatietoa aiheen laajuutta piti vielä tarkentaa ja rajata, jotta työ pysyisi selkeänä ja tarkoituksenmukaisena. Aihetta rajattiin näin käsittelemään vain histologisten näytteiden immunohistokemiallista värjäystä ja jätimme sytologiset näytteet eli neste-mäiset solunäytteet pois. Rajauksen perusteena oli työn laajuus.

Immunohistokemian erotusdiagnostiikassa lymfoomat luokitellaan menetelmissä käytettävien vasta-aineiden eli niin sanottujen vasta-ainemerkkiaineiden avulla (Mäkinen & Suikkanen 2021b). Työ rajattiin sisältämään Kuopion yliopistollisen sairaalassa, patologian osastolla käytetyimpiin ja tärkeimpiin vasta-aineisiin lymfomadiagnostiikassa, jolloin oppaaseen päätettiin ottaa mukaan kaksitoista vasta-ainetta, jotka olivat BCL2, BCL6, CD3, CD10, CD15, CD20, CD23, CD30, CD45, CYCD1, C-MYC, MUM1. Rajaamisen perusteena oli myös kehittämistyön laajuus.

Visuaalisen materiaalin tarkoituksena on havainnollistaa oppaan sisältämän tekstin merkitys. Kuvan yhteyteen tulee liittää jokin selitys, josta lukija voi selvästi ymmärtää kuvan tarkoituksen tai tapahtuman. Koska yleensä ohjeen lukija huomaa ensin kuvan, kannattaa sitä selittävä teksti kirjoittaa kuin kuvaa täydentäen (Kankaanpää & Piehl 2011, 295–297, Torppa 2014, 184). Suunnitteluvaiheessa sovittiin alustavasti kuvien suurennokset kattamaan yleisnäkymän kudoksesta ja tarkemmat suurennokset värjäysreaktiosta. Tarvittavan isoa yleisnäkymää kudovärjäyksestä ei ole ollut saatavilla, joten tarkoituksena oli kerätä näitä joka vasta-aineen kohdalta sekä yleisesti selkeitä kuvia värjäysreaktion lokalisaatiosta. Antigeenit voivat esiintyä muun muassa solun pinnalla tai solukalvolla ja tumassa. Esimerkiksi CD23-antigeeni sijaitsee solukalvolla, kun taas MUM1-antigeeni on tumassa (NordiqC 2011a; NordiqC 2012b).

Oppaan rakenne suunniteltiin sisältämään tekstiosuuden vasta-aineista ja niiden käytöstä sekä kuvat kontrollikudoksista eri suurennoksilla. Suunnitelmavaiheessa sovittiin myös työn tilaajan kanssa, että oppaaseen otetaan mukaan esimerkkikuvia myös epäonnistuneista immunohistokemian värjäyksistä edellä mainituista vasta-aineista, jotta bioanalyttikoiden kyky huomata mahdolliset virhelähteet paranevat. Suunnitelmassa sovittiin myös kehittämistyön toteutus, viimeistely ja valmistumisajankohta. Kehittämistyö hyväksyttiin, jonka jälkeen tehtiin ohjaus- ja hankkeistamissopimus työn tilaajan ja ohjaavan opettajan kanssa. Myös tutkimuslupa Kuopion yliopistollisessa sairaalassa tehtävää opinnäytetyötä varten haettiin kuvantamiskeskuksen ylihoitajalta ennen työn toteutusta.

6.4 Toteutus ja tuotos

Toteutusvaiheeseen siirrytään, kun työsuunnitelma on valmistunut ja saanut hyväksynnän organisaatiolta. Työn toteuttaminen vaatii työn tekijöiltä suunnitelmallisuutta, vastuullisuutta, itsenäisyyttä, epävarmuuden sietoa sekä sitkeyttä ja itsensä kehittämistä. Toteutusvaiheen onnistumisen ja ammatillisen kasvun kannalta ohjaus ja työstä saatu palaute ovat tärkeitä. Toteutus etenee suunnitelman mukaisesti. Suunnitelma kuitenkin tarkentuu työskentelyn edetessä, kun syklisen mallin mukaisesti uutta toimintatapaa/tietoa kokeillaan käytännössä. (Salonen ym. 2017, 62.)

Kehittämistyön tulokset ja/tai tuotokset kertovat saadusta hyödystä ja toiminnan muutoksesta kohteessa ja niiden tulisi tuottaa lisäarvoa työyhteisölle. Kehittämistyön tuotos voi olla materiaallinen tai immateriaalinen. Materiaalisia tuotoksia ovat esimerkiksi opas, perehdytyskansio tai uusi tuote, immateriaalisia taas työntekijöiden osaamistason nostaminen, työhyvinvoinnin lisääminen tai työskentelyn järjeistäminen. (Salonen ym. 2017, 63.)

Kehittämistyön toteutus aloitettiin suunnitelman hyväksymisen jälkeen keräämällä kuvia oppaaseen kontrolli- ja validointimateriaaleista, jotka olivat tallennettuina laboratorion laaduntarkkailun kovalevyihin. Kuvat kerättiin aiemmin sovitusta vasta-aineista värjäysten perusteella. Käytössä olevaan kuvankäsittelyohjelmaan ja mikroskooppilasiens skannaukseen perehdyttiin työn tilaajan kanssa ja kerättiin valmiit kuvat itsenäisesti. Suurin osa kuvista saatiin kovalevyiltä, mutta osa piti skannata uudelleen lasilta. Valmiit kuvat kerättiin muistitikulle ja niiden sopivuus työhön varmistettiin solubiologilta. Työn tilaajan palautteen perusteella hyväksyttiin suurin osa materiaaleista, mutta osaan kuvista tarvittiin enemmän suurennoksia sekä osa kuvista tuli ottaa uudestaan, sillä ne olivat epäselviä

tai sopivia kuvia ei löytynyt ollenkaan kovalevyiltä. Puuttuvista vasta-ainekuvista tarkistettiin ja valittiin ensin mikroskoopilla sopivat kontrollilasit ja suoritettiin skannaus uudestaan. Kuvien suurennokset valittiin työelämän tarpeeseen sopivaksi, jolloin suurennoksia tuli vasta-ainekohtaisesti kaksi tai kolme kappaletta. Suurennoksien valinta perustui aiempien käytössä olevien materiaaleihin ja niiden puutteisiin. Pienin käytetty suurennos oli viisinkertainen ja suurin 20-kertainen, jolloin kuvat pysyivät tarpeeksi selkeinä ja kuitenkin tarkemmat kuvan solujen ja kudosten värjäytyvyydestä tuli esille. Kuviiin lisättiin myös nuolia helpottamaan värjäysreaktion lokalisaation ja onnistumisen tunnistamista.

Hyvän ohjeistuksen kirjoittamisessa ja kuvittamisessa täytyy huomioida, että tarpeelliset asiat esitetään selkeästi ilman turhaa asiaankuulumatonta sisältöä, sekä parhaiten oppaan tarkoitusta palvelevassa järjestyksessä (Kankaanpää & Piehl 2011, 295–299). Oppaan rakenteeseen tarkennettiin tarvittavia taustatietoja ja sovittiin tekstin sisällön kattavan vasta-ainekohtaisesti yleistä tietoa tutkittavasta antigeneistä, joihin vasta-ainetta käytetään diagnostiikassa, sopivat kontrollikudokset sekä antigeeni-vasta-aine reaktion lokalisaatio ja värjäytyvyys. Alkuperäisessä suunnitelmassa varattiin yhdelle vasta-aineelle A4-sivun verran tilaa, johon tarvittavat tekstit ja kuvat sisältyisivät, mutta kuvien asettelussa kävi ilmi, että kuvat jäävät liian pieneksi ja epäselväksi. Esimerkkisivu tehtiin CD3-vasta-aineesta, josta varmistettiin tekstin asiasisältö ja kuvien asettelu sopivuus. Palautteen perusteella päätettiin yhteisymmärryksessä, että aukeama on parempi vaihtoehto, jotta kuvat säilyvät selkeämpinä ja kaikki halutut suurennokset mahtuvat mukaan. Tekstiosio hyväksyttiin suurimmaksi osin sellaisenaan, ainoastaan tarkennettiin reaktion lokalisaatiota spesifiin positiiviseen reaktioon vasta-ainekohtaisesti. Oppaaseen lisättiin tietoa myös tilaajan käyttämistä kontrollikudoksista ja niiden merkityksestä. Kontrollikudoksien ominaisuuksia pyrittiin käsittelemään siinä laajuudessa, missä niitä immunohistokemian työpisteellä käytetään. Vasta-ainekohtaisesti ne jakautuivat lymfomadiagnostiikan merkkiaineiden tutkimuksissa hyödyllisiin monikudosblokkeihin tai omaan kontrollikudokseen.

Immunohistokemiallisissa tutkimuksissa on useita tekijöitä, jotka vaikuttavat värjäyksen lopputulokseen ja sen myötä oikean diagnoosin saamiseen. (Sanderson & Zardin 2013, 435–439.) Epäonnistuneista värjäyksistä ei ollut valmiita kuvia sähköisessä muodossa, joten immunohistokemian arkistoa käytiin läpi vielä vasta-ainekohtaisesti ja valittiin kaikki lasit mitä oli tarjolla paremmin tarkasteltavaksi. Hylätyt värjäykset ja niiden syyt varmistettiin laaduntarkkailun aineistoista ja lopuksi mikroskoopilla. Oppaassa pyrittiin käsittelemään yleisimpiä virhelähteitä immunohistokemiallisissa värjäyksissä. Liian pitkä fiksaatioaika saattaa hävittää näytteen antigeenejä, kun taas liian lyhyt fiksaatioaika voi aiheuttaa poikkeamia laatuun, jos kudokset ei ehdi fiksoitua kunnolla. Näytteen huono prosessointi voi heikentää immunohistokemiallisten värjäysten tuloksia, kuten liian korkeat lämpötilat kudosten kuljetuksessa tai parafiiniin valussa tuhoten lämpöherkkiä antigeenejä. Muita tärkeitä leikkeen laatuun vaikuttavia tekijöitä ovat veden kunnollinen poistaminen leikkeestä, mikä yhdessä rypäyksen ja repeämisen välttämisen kanssa vaikuttaa leikkeen kiinnittymiseen objektilasiin. (Colley & Stead 2013, 21; Sanderson & Zardin 2013, 435–439; Shi & Taylor 2013, 31–32.) Epäonnistuneet värjäykset rajattiin taustatiedon perusteella niihin, joissa oli ilmennyt automaatiossa jotain vikaa, morfologia oli epäselvä tai kontrolli oli negatiivinen tai näiden yhdistelmiä.

Oppaan sisältämät ohjeistukset ovat suositeltavaa jakaa erillisiksi kohdiksi ja esittää ne luettelmana eri vaiheet numeroituna. Tämä tekee ohjeesta helpommin seurattavan. Oppaan selkeyttämiseksi eri

osioilla tulee olla myös otsikoinnit, jotka helpottavat käsiteltävien aiheiden jäsentämistä (Kankaanpää & Piehl 2011, 295–297, Torppa 2014, 184). Kuvaoppaan lopullinen rakenne muodostettiin sisältämään kansilehden, johdannon, omat kappaleet vasta-aineille sekä epäonnistuneille värjäyksille ja lopuksi lähdeluettelon. Epäonnistuneet värjäykset jaettiin laitevian, negatiivisten kontrollien ja epäselvän morfologian aiheuttamiin. Kehittämistyön loppuraporttiin lisättiin käytettyjä menetelmiä, pohdintaa kehittämistyön menetelmistä ja eettisyydestä ja arviointia työn onnistumisesta sekä kuvia selkeyttämään immunohistokemiassa käytettäviä menetelmiä.

6.5 Arviointi

Kehittämistyön kuudes vaihe on arviointi, vaikka arviointia tapahtuu myös aikaisemmissa vaiheissa. Pääasiallinen tehtävä väliarvioinnissa on suunnata kehittämistyötä eteenpäin ja antaa palautetta osallistujille. Arviointi pitää sisällään suunnitelmallisen tiedonkeruun ja kyseisen tiedon analysoinnin. Tulosten pohjalta arvioidaan kehittämistoimien vaikutuksia ja sen etenemistä määritettyjen kriteerien avulla. Kriteereinä voidaan käyttää esimerkiksi lopputuloksen merkittävyyttä, helppokäyttöisyyttä, yksinkertaisuutta ja sovellusmahdollisuuksia tai neutraalisuutta. (Ojasalo ym. 2021. 47–48.)

Arvioinnin voi ajatella sisältävän itsearvioinnin, ulkoisen arvioinnin ja vertaisarvioinnin muotoja. On tärkeää kyetä kriittisesti tarkastelemaan omaa toimintaa sekä tunnistaa omat vahvuudet ja heikkoudet. Arvioinnissa pohditaan kehittämistyön toteutusta suhteessa sille asetettuihin tavoitteisiin. Arviotavia kysymyksiä voivat esimerkiksi olla: Saavuttiko työ halutut muutokset ja mitkä olivat sen vaikutukset kohderyhmälle? Missä työ onnistui? Missä työ epäonnistui? Arviointivaiheessa tehdään kehittämistyöstä kirjallinen raportti, joka kirjoitetaan suhteessa kehittämissuunnitelmaan. Raportti on kokonaisvaltainen kuvaus opituista asioista ja siinä esitellään työskentelyn kaikki vaiheet. (Salonen ym. 2017, 64–65.)

Työn tilaajina toimivat immunohistokemian vastuuhenkilöt laboratorioissa. Palautetta kerättiin haastatteleamalla kyseisiä alan asiantuntijoita suullisesti ja viestimällä sähköpostien välityksellä. Palautetta haettiin esimerkiksi kuvien sopivasta suurennoksista ja niiden määristä sekä kontrollikudoksien rajaamisesta. Myös kuvien laatua varmistettiin ohjaajilta ja palautteen perusteella päädyttiin skannaamaan osa vasta-aineista uudestaan, jotta saatiin sopivat kuvat värjäyksistä. CD3-vasta-aineesta tehtiin esimerkkiuukeama ja haettiin palautetta työn tilaajalta tekstin asiasisällöstä ja selkeydestä sekä oppaan rakenteesta. Palautteen pohjalta tehtiin korjauksia asiasisältöön ja oppaan rakenteeseen. Epäonnistuneiden värjäysten aiheet rajattiin ja kuvat valittiin palautteen ja muistiinpanojen perusteella.

Arvioinnin apuna voidaan käyttää havainnointia, kyselyjä, haastatteluja ja dokumenttianalyysejä. Kohderyhmältä hakiessa palautetta rehellisen ja todellisen mielipiteen saa erityisesti silloin, jos hyödynnetään anonyymia vastaamista. Näin turvataan ja taataan yksityisyyden suoja, joka tulee antaa ilmi vastaajille. Kohderyhmän on myös ymmärrettävä oma roolinsa tutkimuksessa tai kehittämistyössä ja kyettävä tekemään arvioinnit tämän perusteella tietyllä kypsytydellä ja järkevästi. Työyhteisössä tulee miettiä kehittäjänä tai tutkijana suostuttelun ja pakottamisen rajaa. Usein kehittämistyössä on oletamus, että yrityksen työntekijät osallistuvat toimintojensa kehittämiseen, kun taas tieteellisessä tutkimuksessa kohderyhmältä kysytään suostumus tutkimukseen osallistumisesta. (Ojasalo ym. 2021,

48–49.) Opas tulostettiin immunohistokemian työpisteelle ja bioanalytikoita pyydettiin kirjoittamaan oppaaseen huomioita ja mahdollisia kehitysehdotuksia. Vastaaminen oli vapaaehtoista ja anonymia, koska pyrimme saamaan mahdollisimman rehellisen ja kehittämistyötä palvelevan mielipiteen. Palautetta pyrittiin keräämään kuvien selkeydestä, havainnollisuudesta ja niiden määrästä. Tietoa haluttiin myös tekstin ymmärrettävyydestä ja laajuudesta. Havaintojen perusteella selvitettiin myös oppaan käyttömahdollisuuksista käytännön työssä immunohistokemian työpisteellä ja sitä palveleeko opas käytännön tarvetta. Työntekijöiltä saadussa palautteessa kuvien määrää, laatua ja kokoa pidettiin hyvinä, selkeinä ja sopivan kokoisina, minkä lisäksi kuvatekstejä pidettiin sopivan mittaisina ja informatiivisina. Oppaan tekstiä pidettiin loogisena ja helppolukuisena ja sen termejä ymmärrettävinä. Oppaan käytettävyys sai kerätyssä palautteessa kiitosta loogisesta järjestyksestä, josta tiedon etsiminen on helppoa. Palautteen perusteella työntekijät pitivät opasta työskentelyä helpottavana ja sujuvoittavana tekijänä. Työn tilaajilta saadun palautteen perusteella joitain oppaan kuvatekstejä muokattiin kuvaamaan tarkemmin värjäyksen kriteereitä. Lisäksi kiinnitettiin huomiota käytettyjen termien yhtenäisyyteen ja selkeyteen. Oppaan kuvien nuolia muokattiin ilmaisemaan selkeämmin onnistuneen värjäytymisen kriteereitä, kuten osoittamalla esimerkkikuvista alueita, joilla ei saa olla värjäytymistä.

6.6 Päätös, implementointi ja tulosten levittäminen

Kehittämistyö on päätöksessä, kun tuotos ja loppuraportti ovat valmiit sekä työn tavoitteet ja tulokset saavutettu. Päätösvaiheeseen kuuluu keskeisesti sen suunnittelu, mitä työskentelyn tuloksille/tuotokselle tapahtuu tulevaisuudessa. Miten niitä tullaan hyödyntämään ja kuinka laajasti tulokset levitetään? Työn tulosten levittäminen ja implementointi eli juurruttaminen voi olla käytännössä haasteellista. (Salonen ym. 2017, 66.) Tuotos ja loppuraportti ovat valmiita ja kehittämistyö on päätöksessä. Valmis tuotos esitellään Savonia-ammattikorkeakoulun sosiaali- ja terveysalan Hyvinvointikonferenssissa loppuvuodesta 2023.

Konkreettisen tuotoksen hyödyntäminen ja sen ottaminen mukaan rutiinityöskentelyyn jää työn tilaajan vastuulle. Työ on tarkoitus implementoida tilaajan käyttöön laboratorioon, mutta ei laajemmalle. Suunnitelmissa on, että valmis kuvaopas jää immunohistokemian työpisteellä työskentelevien bioanalytikoiden päivittäiseen käyttöön värjäysten tueksi. Työn tavoite saavutetaan, kun se auttaa bioanalytikoita onnistuneiden värjäysten tulkinnessa, mikä taas vähentää solubiologien työtaakkaa. Kuvaopasta voidaan hyödyntää myös erikoistuvien solubiologien ja patologioiden perehdytyksessä aiheeseen. Oppaan ulkoasua ja rakennetta tullaan hyödyntämään tulevaisuudessa valmistettaessa kuvallisia oppaita muille syöpämerkkiaineille. Tavoitteena on saada tulevaisuudessa kuvalliset oppaat kaikille immunohistokemian laboratoriossa käytössä oleville merkkiaineille ja koota ne yhteen yhdeksi oppaaksi hyödyntäen tämän kehittämistyön rakennetta.

7 POHDINTA

7.1 Kehittämistyön toteutus ja tuotos

Arvioinnissa kehittämistoimintaa pohditaan kriittisesti asetettujen tavoitteiden mukaan. Loppuarvioinnilla pyritään osoittamaan, kuinka kehittämistyössä lopulta onnistuttiin. Tulosten avulla voidaan arvioida kehittämistyön etenemistä ja sen vaikutuksia hyödyntämällä määritettyjä kriteerejä, kuten esimerkiksi lopputuloksen merkittävyyttä, helppokäyttöisyyttä, neutraalisuutta, toistettavuutta ja sovellettavuutta muihin yhteyksiin. (Ojasalo 2021, 47; Salonen ym. 2017, 65–66.)

Kehittämistyön tarkoituksena oli luoda Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseksi, patologian osastolle kuvallinen opas immunohistokemiallisista värjäyksistä lymfooman merkkiaineille. Tarkoitus oli alusta asti selvä, mutta olennaista tavoitetta pohdittiin pidemmän aikaa ennen kuin se selkeytyi. Tämä hidasti oppaan lopullisen rakenteen ja tietoperustan rajaamista sekä työn toteutuksen aloittamista. Kehittämistyön suunnittelussa pyrittiin selvittämään kohderyhmää ja kohderyhmän tietotaitoa sekä sitä, mitä oppaassa halutaan ensisijaisesti tuoda esille. Kävimme useita palavereita työn tilaajan kanssa sähköpostien välityksellä ja laboratoriossa, kunnes tavoite selkeytyi. Työelämän kehittämistyössä hankaluuksia toivat myös aikataulun sovittaminen kiireiden keskellä. Kehittämistyön tarkoitus täyttyi ja sen tuloksena syntyi kuvallinen opas immunohistokemiallisista värjäyksistä lymfoomamerkkiaineille, joka tukee bioanalyttikoiden työskentelyä immunohistokemian työpisteellä.

Immunohistokemiallisilla tutkimuksilla on nykyään merkittävä rooli diagnostiikassa ja ne voivat suoraan vaikuttaa potilaan hoitopolkuun, joten on tärkeää varmistua tutkimusten korkeasta laadusta. Jokaisella työntekijällä on myös vastuu laaduntarkkailusta. (Dunk 2013, 6; Sanderson & Zardin 2013, 435–439.) Kehittämistyön tavoitteena oli kehittää bioanalyttikoiden perehdytystä immunohistokemiallisten värjäysten laaduntarkkailuun niin, että bioanalyttikot oppivat tunnistamaan ja vertaamaan hyväksyttävän värjäyksen kriteerit kontrollinäytteistä. Kuvallinen opas immunohistokemiallisista värjäyksistä lymfooman merkkiaineille auttaa parantamaan tutkimuksien laatua ja onnistumista, kun onnistuneen värjäyksen voi kätevästi tarkistaa ja mahdolliset virhelähteet tulevat myös tutuksi värjäyksiä käytännössä tekeville bioanalyttikoille.

Immunohistokemiallisen värjäyksen laatuun vaikuttaa esimerkiksi liian pitkä tai lyhyt fiksaatioaika tai pitkittynyt kylmäskemia-aika. Myös näytteen huono prosessointi, kuten liian korkeat lämpötilat kuduskuljetuksessa tai parafiiniin valussa, sekä leikkeessä olevat rypyt ja repeämät vaikuttavat värjäysten laatuun. (Colley & Stead 2013, 21–22; Sanderson & Zardin 2013, 435–439; Shi & Taylor 2013, 31–32.) Bioanalyttikot vaikuttavat paljon immunohistokemiallisten värjäysten laatuun histologisen prosessin aikana kudosten käsittelyssä ja värjäysten teknisessä suorituksessa, joten parempi käsitys värjäyksen taustoista ja onnistuneen värjäyksen kriteereistä on tärkeää ja hyödyllistä työn laadun varmistamiseksi.

Laaduntarkkailulla patologian laboratoriossa varmistetaan, että työnjälki on laatuvaatimuksien mukaista ennen näytteiden etenemistä diagnosoitavaksi. Laaduntarkkailu kattaa koko histologisen prosessin ja siinä tulee olla selkeät kriteerit, joiden täyttymättä jättäminen johtaa työn uusimiseen. (Dunk 2013, 6.) Solubiologit vastaavat pääsääntöisesti värjäysten laaduntarkkailusta, mikä työllistää

heitä muiden tehtävien ohella paljon. Bioanalytiikot eivät ole voineet täysin itsenäisesti tarkastaa värjäyksiä, sillä perehdytystä ei ole ollut. Kehittämistyön tavoitteena oli ottaa bioanalytiikot mukaan värjäysten ja kontrollien tarkistukseen ja tulkintaan, jolloin saadaan solubiologien kuormitusta vähennettyä. Oppaan avulla bioanalytiikot voivat tulkita värjäysten onnistumista itsenäisemmin, varsinkin silloin kun solubiologeja ei ole paikalla. Kuvallinen opas palvelee työelämän tarvetta ja sitä voivat hyödyntää perehdytysmateriaalina laboratorioissa immunohistokemiallisten värjäysten tulkinnaissa niin kohderyhmänä olevat bioanalytiikot, kuin erikoistuvat solubiologit ja patologit. Näin saadaan kehitettyä ymmärrystä ja osaamista hyväksyttävän värjäyksen kriteereistä ja onnistuneesta värjäyksestä. Tämä tuo lisää luotettavuutta menetelmään ja nopeuttaa tulosten saamista myös potilaalle.

Organisaatio ja asiakkaat muodostavat omat määritelmät asiakaslähtöiselle toiminnalle. Organisaatiotasolla asiakaslähtöinen toiminta pitää sisällään perustehtävän mukaisen tavoitteellisen toiminnan ja yksilötasolla se tarkoittaa palvelun vastaamista asiakkaan tarpeeseen. (Salonen ym. 2017, 17.) Työn tilaajan kanssa työskentely sujui hyvin prosessin eri vaiheissa ja saimme hyvää palautetta asiakkaan eli työn tilaajan kohtaamisesta, yhteistyötaidoista sekä oma-aloitteisuudesta kehittämistyön toteutuksessa. Kuvallinen opas onnistui hyvin ja tavoitteiden mukaan, sillä se voidaan ottaa käyttöön laboratorion päivittäiseen toimintaan sellaisenaan ja sitä hyödynnetään pohjarakenteena jo muille tekeillä oleville kuvallisille oppaille.

7.2 Eettisyys ja luotettavuus

Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu, että tiedon hankkiminen pohjautuu tuntemukseen oman alan tieteellisestä kirjallisuudesta, muista tietolähteistä sekä havainnoista ja oman tutkimuksen analysoinnista. Rehelliseen työhön kuuluu, että tutkijoiden saavutukset samasta aiheesta otetaan huomioon tekstissä tarkasti lähdeviittein. Työhön haetaan tutkimuslupa ja suoritetaan tarvittaessa eettinen ennakoarviointi. Tutkimushankkeessa sovitaan ennen sen aloittamista eri osapuolten väliset vastuut ja velvollisuudet sekä aineiston säilyttämisestä ja käytöstä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta TENK, julkaisuaika tuntematon; Vilka 2021, 41–42.)

Työhön haettiin tietoa tieteellisistä tietokannoista PubMed, Medic, Terveysportti, ScienceDirect ja EBSCO sekä alan oppikirjoista. Raportissa käytetyt lähteet merkittiin tekstiin ja lähdeluetteloon Savonia-ammattikorkeakoulun kirjallista ohjetta noudattaen. Lähteitä pyrittiin käyttämään monipuolisesti ja varmistamaan mahdollisuuksien mukaan työhön tulleet tiedot useammasta kuin yhdestä lähteestä. Osa tiedosta oli helppoa löytää, kun taas osa vaati enemmän ajankäyttöä tiedonhakuun. Esimerkiksi C-MYC-antigeeni oli muista antigeeneistä poikkeava ja tietoa siitä hankalasti löydettävissä. Useat lähteet olivat englanninkielisiä ja tieteellisten termien kääntäminen saattoi viedä paljon aikaa ja lähdemerkintöjen teko oli välillä työlästä. Työn luotettavuutta lisää se, että työn kuvia ja tekstejä ovat koko ajan arvioineet alan asiantuntijat eli laboratorion solubiologit. Kuvalliseen oppaaseen tulevat tekstit tarkistutettiin työn tilaajina toimineilta solubiologeilla ja kommenttien pohjalta tehtiin tarvittavat korjaukset ennen oppaan valmistumista. Oppaan tekstien lähteenä käytettiin solubiologien suosituksesta pääasiassa Agilent Dakon oppaita immunohistokemiallisista värjäyksistä ja NordiQC-

sivustoa, sillä ne ovat käytössä laboratorion immunohistokemian työpisteellä päivittäisessä laadunvalvonnassa. Lisäksi hyödynnettiin myös alan kirjallisuutta ja tutkimuslähteitä pyrkien pitämään lähteet alle kymmenen vuoden vanhoissa. Tietoa immunohistokemiasta löytyi paljon ja aihetta käsittelevän materiaalin rajaaminen oli aluksi haastavaa. Rajaamisen seurauksena sopivia lähteitä jouduttiin etsimään kauemmin ja osasta oli saatavilla vain vanhempaa tuotantoa.

Työ tarkastettiin aihekuvaus-, suunnitelma- ja loppuraporttivaiheissa Turnit-plagioinnin tunnistustyökalulla. Ennen kehittämistyön toteutuksen aloittamista sitä varten haettiin tutkimuslupa Kuvantamiskeskuksen ylihoitajalta. Työtä varten ei tarvinnut suorittaa eettistä ennakoarviointia, eikä sitä tehdessä käsitelty henkilötietoja. Jotkin kuvallisen oppaan esimerkkikuvista olivat potilasnäytteistä, mutta ne olivat arkistoitu koodattuina, jolloin potilaan henkilötiedot eivät olleet näkyvissä.

Ennen työn toteutusta allekirjoitettiin kehittämistyön tekijöiden, työn tilaajan sekä työn ohjaajan kesken Savonia-ammattikorkeakoulun opinnäytetyösopimus, jossa määriteltiin työn tilaajan saavan omistusoikeuden julkaistaviin tai ei-julkaistaviin tuloksiin omistusoikeuden. Lisäksi sopimuksessa sovittiin julkaisutavaksi avoin kokoelma, eli kehittämistyön tuloksena syntyvä kuvallinen opas sekä opinnäytetyön raportti julkaistaan internetissä Theseus-palvelussa.

Kehittämistyö voi olla ongelmaperustainen eli pyritään ratkaisemaan käytännössä huomattu haaste tai ongelma, tai uudistamisperustainen eli etsitään uusia ratkaisuja esimerkiksi palveluun tai toimintaprosessiin (Ojasalo, Moilanen & Ritalahti 2021, 21). Kehittämistyö valikoitui opinnäytetyön toteutustavaksi, koska laboratorion toimintaprosessiin kaivattiin uudistamista. Kehittämistyön tuotokselle oli selkeä tarve, jonka kuvallinen opas täyttää. Työn toteutuksessa käytetyt dialogiset keskustelut työn tekijöiden ja tilaajien kesken, asiantuntijoiden haastattelut ja palautteen kerääminen laboratorion työntekijöiltä auttoivat työn toteutuksen suuntauksessa ja työn kannalta olennaisten asioiden hahmottamisessa. Kehittämistyön konstruktivistisen mallin perusajatuksena on, että kehittäminen perustuu yhdessä tekemiseen ja osallisuuteen, toiminnassa oppimiseen ja jatkuvaan reflektioon sekä menetelmäosaamiseen (Salonen ym. 2017, 53). Kehittämistyö sopi myös hyvin ryhmässä tehtävään työskentelyyn, sillä se sisälsi paljon yhdessä tekemistä ja toiminnassa oppimista, kun opasta työstettiin saadun palautteen ja itsereflektion pohjalta. Ryhmätyöskentelyssä työnjako sujui hyvin, mutta työskentelyn aikataulutuksessa oli ajoittaisia haasteita.

7.3 Ammatillinen kasvu

Bioanalytikkokoulutuksesta valmistuvalla bioanalytikolla tulisi olla laaja-alainen ja vahva osaaminen kliiniseen laborioryöskentelyyn ja tiedon soveltamiseen, arviointiin ja kehittämiseen. Osaa-mistavoitteisiin kuuluu myös kyky kansainväliseen toimintaan ja jatkuvaan oppimiseen. Bioanalyti-kon kompetensseihin kuuluu yleisellä tasolla kyky arvioida ja kehittää toimintaa, sekä kyky ottaa vastuuta omasta toiminnastaan ja mahdollisista seurauksista. Tähän kuuluu myös ammattieettisten periaatteiden noudattaminen. Bioanalytikon on myös tärkeä osata arvioida, hankkia ja käsitellä kriittisesti saatavilla olevaa tietoa. Bioanalytikon on myös tärkeä olla mukana alansa kehityksessä osallistuen kehittämishankkeisiin ja projekteihin hyödyntäen moniammatillista yhteistyötä. (Savonia-ammattikorkeakoulu julkaisuaika tuntematon a.)

Bioanalytiikan opinnoissa immunohistokemiallisia menetelmiä käsitellään immunologian opintojaksossa. Kyseessä on erikoisosaamisala, joka kuitenkin tulee vastaan patologian laboratorion päivittäisessä analytiikassa. Histologian opintojaksolla läpikäydyn histologisen näyteprosessin ymmärtäminen on hyvin olennaista, koska sillä on merkittävä vaikutus immunohistokemiallisten värjäysten onnistumiseen. Kehittämistyön toteutus kehitti ymmärrystä immunohistokemian periaatteista ja värjäysten laatuun vaikuttavista tekijöistä kliinisessä laboratoriossa niin lisääntyneen teoretiedon, kuin käytännön osaamisella. Immunohistokemia oli meille alkuun melko vieras aihe, sillä olimme käyneet bioanalyttikon tutkinto-ohjelmassa vain immunologian syventävällä jaksolla yleisesti asiaa läpi. Emme päässeet myöskään kliinisen patologian harjoittelussa näkemään käytännössä kyseistä erikoisalaa, joten teoretietoon perehtyminen vei aikaa ennen työn toteutusta. Suurin osa saatavilla olevista lähdemateriaaleista oli englanniksi, joten kehityimme lukemaan kansainvälisiä julkaisuja ja ammattisastaston ymmärrys kasvoi suuresti työn aikana.

Bioanalyttikon perustutkinnossa viimeisenä eli neljäntenä vuotena asiantuntijuutta mitataan kliinisen laboratoriotyön osaamisen soveltamisena käytännön tehtävissä. Opiskelija osoittaa osaamisen opin-
nätetyöprosessissa hallitsemalla tutkimuksellista työtettä ja kykyä yhdistää käytäntö teoretietoon kehittämistyön muodossa. (Savonia ammattikorkeakoulu julkaisuaika tuntematon b.) Kehittämistyö toteutettiin hyvin omatoimisesti alusta alkaen ja otimme vastuun heti alussa oppaan rakenteen ja sisällön suunnittelusta ja toteutuksen onnistumisesta. Ymmärrys kehittämistyön tarkoituksesta ja tavoitteesta muovautui lopulliseksi suunnitelmavaiheessa, jolloin saimme paremman kuvan käytännön työstä ja toteutuksesta immunohistokemian laboratoriossa. Kuvien valitseminen ja histologisten näytteiden tulkitseminen tuotti alkuun hankaluuksia ja teimme tiivistä yhteistyötä työn tilaajan kanssa, jotta tulkinat saatiin onnistumaan ja oppaaseen valitut kuvat olivat mahdollisimman laadukkaita. Kehittämistyötä toteuttaessa kehityimme tarkkailemaan kontrollikudoksia siten, että kudosten rakenteet ja niistä käytettävät termit tulivat tutummaksi. Myös värjäysten onnistumisen arviointi oli loppuvaiheessa paljon selkeämpää ja onnistuimme siinä itsenäisemmin. Aihe syvensi myös immunologian ymmärrystä entisestään.

Kehittämistyössä yhteistyö sujui hyvin ryhmän jäsenten sekä työelämän edustajien kanssa ja kehittimme valtavasti ryhmätyöskentelytaitoja. Työt onnistuttiin jakamaan tasapuolisesti ja välillä paikattiin toisen paikkaa, mikäli tämä ei päässyt paikan päälle työskentelemään tai tällä oli hankaluuksia oman osuutensa kanssa. Työ jakaantui hyvin omien vahvuuksien mukaan, mutta kuitenkin siten, että kaikki osallistuivat käytännön toteutukseen ja kirjoittamiseen. Erilaiset oppimistyyli- ja työskentelytavat tuli näin huomioida. Kaikilla oli samankaltaiset tavoitteet työn toteutuksesta, mikä helpotti huomattavasti työskentelyä. Kuitenkin kolmen henkilön ryhmässä oli vaikeuksia välillä sopia tapauksia ja työskennellä yhdessä, mutta yhteydenpito onnistui siitä huolimatta eikä pahoja viivästyksiä tullut vastaan. Kehittämistyö kehitti myös työelämän taitoja eri ammattiryhmien välillä, sillä työskentelimme solubiologien ja bioanalyttikkojen kanssa. Kehittämistyön yksi haastavimmista puolista oli-
kin sovittaa kiulu eri ammattiryhmien välillä, siten että opas on tarpeeksi informatiivinen, mutta käytännönläheinen. Tässä onnistuttiin hyvän vuorovaikutuksen, palaverien määrällä ja rehellisen palautteen avulla.

Työelämässä asiantuntijuuteen vaaditaan tekijältä monenlaisia kykyjä ja valmiuksia eli kvalifikaatioita, sekä pätevyys- ja ammattitaitovaatimuksia ja ominaisuuksia. Ammattilaisella tulee olla kyky kehittää ja muuttaa omia valmiuksia muuttuvan yhteiskunnan ja työelämässä nopeasti kehittyvien tutkimus- ja kehitysosaamisen vuoksi. (Vilkkä 2015, 17.) Bioanalyytikolta vaaditaan laboratoriotutkimusprosessin hallitsemista, teknistä osaamista, tarkkuutta ja järjestelmällisyyttä sekä jatkuvaa halua uuden oppimiseen ja ammatissa kehittymiseen (Suomen Bioanalyyttikoliitto, julkaisuaika tuntematon). Työskentely opetti paljon kehittämistyön prosessista ja menetelmien soveltamisesta työyhteisöön. Sopimuksien teko, resurssien hyödyntäminen ja niiden puute sekä palautteen hakeminen kohderyhmältä tulivat tutuiksi, minkä lisäksi kehityimme tutkimuksellisen työn teossa. Työn tilaaja ja kohderyhmä olivat motivoituneita olemaan mukana kehittämistyössä ja saimme palautetta, kun sitä tarvittiin. Tämä auttoi kehittämistyön muodostumista ja paransi sen käyttömahdollisuuksia. Uusien työhjeiden ja menetelmien opettelu kuuluu työelämään, kuten myös erilaiset jatkokoulutukset, joten on eduksi, mikäli ymmärtää omat valmiudet ja on valmis kehittämään niitä. Kehittämistyön avulla kehitimme työelämässä tarvittavia taitoja, kuten esimerkiksi miten näytteitä skannataan käytännössä mikroskooppilasilta ja kuvataan halutuista kohdista. Tämä palvelee työelämään siirtymistä, missä digitaalinen patologia on vahvasti läsnä myös bioanalyttikon työnkuvassa tänä päivänä.

7.4 Tuotoksen hyödynnettävyys ja kehittämisideat

Immunohistokemian työpisteelle kehitettyä kuvallista opasta voi hyödyntää ennen kaikkea onnistuneen värjäytymisen kriteerien tarkastamiseen, mutta myös aihiona tuleville ja kehityksen alla oleville merkkiainekohtaisille kuvallisille oppaille. Ensisijaisesti oppaasta hyötyvät työpisteellä työskentelevät bioanalyytikot ja immunohistokemian asiantuntijat eli solubiologit. Opas on suunniteltu käytännölläheisyyttä ajatellen, joten se mahdollistaa työntekijöille helpon ja täsmällisen keinon tarkastaa immunohistokemiallisen värjäytymisen onnistumisen tai mahdolliset virhelähteet. Oppaan suunnittelussa hyödynsimme laadukkaan kuvaoppaan kriteereitä, esimerkiksi tekstin rakenteen ja kuvien asettelun, sekä kuvatekstien suhteen. Valitsimme siihen laadukkaita ja tarkan resoluution omaavia kuvia riittävällä tarkennuksella, jotta värjäysreaktiot erottuisivat mahdollisimman hyvin. Tuotos toimii osana laadunvalvontaa ja sitä voidaan hyödyntää perehdytysmateriaalina uusien ja erikoistuvien bioanalyttikoiden, solubiologioiden ja patologioiden kohdalla. Perehdyttämisen on todettu vaikuttavan positiivisesti työntekijöiden sitoutumiseen ja motivaatioon (Eklund 2018, 34–37). Kuvallisen oppaan hyödyntäminen lisää työntekijän ymmärrystä immunohistokemiallisista värjäyksistä, sekä vahvistaa työn merkityksellisyyttä. Opas lisää myös bioanalyttikoiden kontrollia omaan työhönsä, varsinkin silloin kun solubiologit eivät ole paikan päällä.

Lymfoomadiagnostiikassa apuna käytettävät immunohistokemialliset menetelmät ovat jatkuvassa kehityksessä, ja niissä käytettävien merkkiaineiden määrä kasvaa koko ajan tieteellisten julkaisujen ja valmistajien kehittelyn kautta. Menetelmien optimoinnin, validoinnin ja laadukkaan perehdyttämisen varmistamiseksi myös oppaiden täytyy pysyä kehityksessä mukana. (Nielsen 2013, 47–48.) Kuopion yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa on tarve lymfoomamerkkiaineiden lisäksi vastaavalle kuva-aineistolle myös muiden immunohistokemian merkkiaineiden osalta. Kehittämistyön tuloksena syntynyt kuvaopasta voi käyttää jatkossa mallina tulevien oppaiden ulkoasun ja sisällön yhtenäistämiseksi. Käytännöllisyyttä ajatellen kuvaoppaiden kansilehdille on suunniteltu värikoodit,

jotka helpottavat merkkiainekohtaisten oppaiden erottamista toisistaan. Jatkokehityksenä opas olisi mahdollista muuntaa myös sähköiseen muotoon, joka helpottaisi työn sujuvuutta ja mahdollistaisi onnistuneeseen värjäytymiseen vaadittavien kriteerien ja kuvien muokkauksen tai päivittämisen.

Tulevaisuudessa lisääntyvän digitaalisen patologian oheen tietokoneella selattava kuvallinen opas tai siihen käyttöön kehitetty tietokoneohjelma helpottaisi värjäysreaktioiden tulkintaa. Digitaalinen patologia tarkoittaa patologisia menetelmiä, joissa diagnostiikan apuna käytetään tekoälyä ja tietokoneella ohjattavaa virtuaalista mikroskooppia. Digitaalisessa muodossa opas voisi mahdollistaa kokonaisten skannattujen näytelasien tutkimisen helposti ja nopeasti millä tahansa suurennoksella. Haasteena siinä on patologian tutkimuksissa käytettävien järjestelmien korkeat vaatimukset monimutkaisten menetelmien ja näytelasien suurten tiedostokokojen osalta. (Pallua ym. 2020.)

LÄHTEET

- Abbas, K., Abul, Lichtman, H., Andrew, Pillai, Shiv 2012. Cellular and molecular immunology. Seventh Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Agilent Dako 2020. FLEX Ready-to-Use Atlas of Controls. 1. Painos. Yhdysvallat: Agilent Technologies, Inc.
- Bhargava, Parul & Kadin, E., Marshall 2014. Immunohistology of Hodgkin Lymphoma. Teoksessa David J. Dabbs (toim.) Diagnostic immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications. Fourth Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 130—147.
- Colley, E, C & Stead, R, H 2013. Fixation and Other Pre-Analytical Factors. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 20—29. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.
- Dako 2008. FLEX Ready-to-Use. Atlas of Stains. 3. Painos.
- Dunk, Louise 2013. Managing the laboratory. Teoksessa S. Kim Suvarna, Christopher Layton & John D. Bancroft (toim.) Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Seventh edition. Churchill Livingstone Elsevier, 1-10.
- Eklund, Annina 2018. Tervetuloa meille! – Uuden työntekijän perehdytys. Espoo: J-Impact Oy.
- Engel, Pablo, Boumsell, Laurence, Balderas, Robert, Bensussan, Armand, Gattei, Valter, Horejsi, Vaclav, Jin, Bo-Quan, Malavasi, Fabio, Mortari, Frank, Schwartz-Albiez, Reinhard, Stockinger, Hannes, C., van, Zelm, Menno, Zola, Heddy & Clark, Georgina 2015. CD Nomenclature 2015: Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops as a Driving Force in Immunology. *The Journal of Immunology* 195 (10), 4555–4563. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502033>. Viitattu 15.3.2023
- Finas-akkreditointipalvelu 2015. Varsinainen akkreditointikäynti. Akkreditointiprosessi. Verkojulkaisu. <https://www.finas.fi/akkreditointi/Akkreditointiprosessi/Sivut/Varsinainen-arviointit%C3%A4ynti.aspx>. Viitattu 10.2.2023.
- He, Yanan, Rangarajan, Sneha, Kerzic, Melissa, Luo, Ming, Chen, Yihong, Wang, Qian, Yin, Yiyuan, Workman, Creg J., Vignali, Kate M., Vignali, Dario A.A., Mariuzza, Roy A. & Orban, John 2015. Identification of the Docking Site for CD3 on the T Cell Receptor β Chain by Solution NMR*. *Journal of Biological Chemistry* 290 (32), 19796-19805. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.663799>. Viitattu 22.12.2022.
- Jackson, Peter & Blythe, David 2013. Immunohistochemical techniques. Teoksessa S. Kim, Suvarna, Christopher, Layton & John, D., Bancroft (toim.) Bancroft's theory and practice of histological techniques. Seventh edition. Churchill Livingstone Elsevier, 402—406.
- Jacobsen, Lars, Nielsen, Majken, Månsson, Sofie & Rudbeck, Lars 2013. Staining Protocol Optimization. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. Sixth

Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 60—77.

https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 25.10.2023.

Jokiranta, Sakari & Seppälä, J. T. Ilkka 2011. Johdanto. Teoksessa Klaus, Hedman, Terho, Heikkinen, Pentti, Huovinen, Asko, Järvinen, Seppo, Meri & Martti, Vaara (toim.) Immunologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Kankaanpää, Salli & Piehl, Aino, 2011. Tekstintekijän käsikirja. Helsinki: Suomen Yrityskirjat Oy.

Karjalainen-Lindberg, Marja-Liisa, Kauppila, Saila, Franssila, Kaarle 2021a. Imukudoksen pahanlaatuiset kasvaimet. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Elinpatologia. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiporssi.fi/op/pat00273/do>. Viitattu 7.12.2022.

Karjalainen-Lindberg, Marja-Liisa, Kauppila, Saila, Franssila, Kaarle 2021b. Imusolmukenyte. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Elinpatologia. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiporssi.fi/op/pat00265/do>. Viitattu 24.10.2023.

Kluk, Michael J, Ho, Caleb, Yu, Hongbo, Chen, Benjamin J, Neuberg, Donna S, Cin, Paola Dal, Woda, Bruce A, Pinkus, Geraldine S, Rodig & Scott, J. 2016. MYC Immunohistochemistry to Identify MYC-Driven B-Cell Lymphomas in Clinical Practice. American Journal of Clinical Pathology. 145 (2), 166–179. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqv028>. Viitattu 15.12.2022.

Labquality julkaisuaika tuntematon(a). Sisäinen laadunvarmistus. Verkkojulkaisu.

<https://www.labquality.fi/kliinisille-laboratorioille/sisaiset-kontrollit/laboratorioiden-sisainen-laadunvarmistus/>. Viitattu 10.2.2023.

Labquality julkaisuaika tuntematon(b). Validointi ja verifiointi. Verkkojulkaisu

https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas_vieritutkimus/validointi_verifiointi/. Viitattu 9.2.2023.

Lehto, Veli-Pekka & Pohjanen, Vesa-Matti 2022. Kasvainpatologia oppialana. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Yleinen patologia. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiporssi.fi/op/pat00816/do>. Viitattu 1.1.2023.

Lim, Jeffrey, Chun, Tatt, Yeong, Joe, Poh, Sheng, Lim, Chun, Jye, Ong, Clara, Chong, Hui, Wong, Siew, Cheng, Chew, Valerie, Suk, Peng, Ahmed, Syed, Salahuddin, Tan, Puay, Hoon & Iqbal, Javed 2018. An automated staining protocol for seven-color immunofluorescence of human tissue sections for diagnostic and prognostic use. Pathology. 50 (3), 333–341. <https://doi-org.ezproxy.savonia.fi/10.1016/j.pathol.2017.11.087>. Viitattu 8.12.2022.

Meri, Seppo 2011. Johdanto Immunologiaan. Teoksessa Klaus, Hedman, Terho, Heikkinen, Pentti, Huovinen, Asko, Järvinen, Seppo, Meri & Martti, Vaara (toim.) Immunologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Mäkinen, Markus & Lehto, Veli-Pekka 2022. Patologian varhaisvaiheet. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Patologia-Kliinisen lääketieteen perusta. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00880/do>. Viitattu 5.10.2023.

Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021a. Immunohistokemia diagnostiikan apuvälineenä. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Verkkokirja. 2., Uudistettu paino. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00860/do>. Viitattu 7.12.2022.

Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021b. Immunohistokemiallinen diagnostiikka. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00857/do>. Viitattu 7.12.2022.

Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021c. Immunohistokemialliset menetelmät. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00859/do> Viitattu 7.12.2022.

Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021d. Vasta-aineet. Teoksessa Markus Mäkinen, Johanna Arola, Ilmo Leivo, Timo Paavonen, Ari Ristimäki, Reijo Sironen, Ivana Kholova, Pauliina Kronqvist, Mikko Mäyränpää, Vesa-Matti Pohjanen & Tuomas Rauramaa (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Verkkokirja. 2., Uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00858/do>. Viitattu 7.12.2022.

Nielsen, Søren 2013. Selection of the Primary Antibody. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 46—59. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.

NordiQC 2010. BCL-2. Verkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=16>. Viitattu 14.10.2023.

NordiQC 2011a. CyD1 (Cyclin D1). Verkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=41>. Viitattu 19.10.2023.

NordiQC 2011b. MUM1. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=55>. Viitattu 22.12.2022.

NordiQC 2012a. CD20. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=27>. Viitattu 14.10.2023.

NordiQC 2012b. CD23. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=28>. Viitattu 14.10.2023.

NordiQC 2013a. CD10. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=23>. Viitattu 14.10.2023.

NordiQC 2013b. CD3. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=3>. Viitattu 22.12.2022.

NordiQC 2014a. BCL-6. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=17>. Viitattu 14.10.2023.

NordiQC 2014b. CD15. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=25>. Viitattu 19.10.2023.

NordiQC 2015. CD30. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=5>. Viitattu 19.10.2023.

NordiQC 2019. C-MYC. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=104>. Viitattu 15.12.2022.

NordiQC 2023. CD45. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=31>. Viitattu 14.10.2023.

Ojasalo, Katri, Moilanen, Teemu & Ritalahti, Jarmo 2021. Kehittämisen menetelmät. Uudenlaista osaamista liiketoimintaan. 3.—7 Painos. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Pace, E., Gale 2013. Optimization of immunohistochemical reactions. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 102—109. Viitattu 2.10.2023

Pallua, J. D, Brunner, A, Zelger, B, Schirmer & Haybaeck, J. 2020. The future of pathology is digital. Pathology – Research and Practice 216 (9), 153040. <https://doi-org.ezproxy.savonia.fi/10.1016/j.prp.2020.153040>. Viitattu 12.10.2023

Rasmussen, Ole, Feldballe & Jørgensen, Rikke 2013. Controls. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 160—169. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 22.2.2023.

Salonen, Kari 2013. Näkökulmia tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Opas opiskelijoille, opettajille ja TKI-henkilöstölle. Turun ammattikorkeakoulu. Verkkojulkaisu. <https://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522163738.pdf>. Viitattu 15.9.2023.

Salonen, Kari, Eloranta, Sini, Hautala, Tiina & Kinos, Sirppa 2017. Kehittämistoiminta ja kehittämisen menetelmiä ammatillisessa korkeakoulutuksessa. Turun ammattikorkeakoulu. Verkkojulkaisu. <https://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522166494.pdf>. Viitattu 15.9.2023.

Sanderson, Tracy & Zardin, Gregory 2013. Immunohistochemistry quality control. Teoksessa S. Kim Suvarna, Christopher Layton & John D. Bancroft (toim.) *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Seventh edition. Churchill Livingstone Elsevier, 435—454.

Savonia-ammattikorkeakoulu julkaisuaika tuntematon a. TB20SP Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma. Osaamisen tavoitteet. Verkkojulkaisu. <https://www.savonia.fi/opiskele-tutkinto/tutkinnot-ja-hakeminen/opetussuunnitelmat/?yks=KS&krtid=1343&tab=2>. Viitattu 1.1.2023.

Savonia-ammattikorkeakoulu julkaisuaika tuntematon b. TB20SP Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma. Asiantuntijuuden kehittyminen. Verkkojulkaisu. <https://www.savonia.fi/opiskele-tutkinto/tutkinnot-ja-hakeminen/opetussuunnitelmat/?yks=KS&krtid=1343&tab=4>. Viitattu 1.1.2023.

Shi, S, R & Taylor C, R 2013. Antigen Retrieval. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) *Immunohistochemical Staining Methods*. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 30—44. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.

Sompuram, Seshi, R, Vani, Kodela, Schaedle, Anika, K., Balasubramanian, Anuradha, & Bogen, Steven, A 2018. Quantitative Assessment of Immunohistochemistry Laboratory Performance by Measuring Analytic Response Curves and Limits of Detection. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 142(7), 851–862. <https://doi-org.ezproxy.savonia.fi/10.5858/arpa.2017-0330-OA>. Viitattu 12.12.2022.

Stonard, Christopher & Stonard, Jennifer 2012. Cellular pathology. Teoksessa Ray K. Iles & Suzanne M. Docherty (toim.) *Biomedical Sciences. Essential Laboratory Medicine*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. 139-204

Suikkanen, Sanna 2023. Solubiologi. Patologian osasto. Kuopion yliopistollinen sairaala. Haastattelu 26.10.2023.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry, julkaisuaika tuntematon. Mikä ihmeen bioanalyttikko? Verkkojulkaisu. <https://www.bioanalytikkoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalyttikko/>. Viitattu 1.11.2023.

Tan, Wei, Chang, Colin, Nerurkar, Sanjna, Nilesh, Cai, Hai, Yun, Ng, Harry, Ho, Man, Wu, Duoduo, Wee, Yu, Ting, Felicia, Lim, Jeffrey, Chun, Tatt, Yeong, Joe, & Lim, Tony, Kiat, Hon, Lim 2020. Overview of multiplex immunohistochemistry/immunofluorescence techniques in the era of cancer immunotherapy. *Cancer communications*. England. 40 (4), 135–153. <https://doi-org.ezproxy.savonia.fi/10.1002/cac2.12023>. Viitattu 7.12.2022.

Tariq N., Aladily, Wiam, Khreisat, Omar, Ashukhaibi, Sohaib M., Alkhatib, Hassan, Annab, Musleh S., Tarawneh, Thaher S., Salman, Hussam, Abu, Farsakh, Randa, Mahgoub, Nadwa, Bustami, Ahmad T., Mansour, Saif, Aldeen, AlRyalat, Abdalla S., Abbadi, Feras, Al-Fararjeh, Maher, Sughayer & Omar, Jaber 2021. The epidemiology of lymphoma in Jordan: A nationwide population study of 4189 cases according to World Health Organization classification system. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*. 14 (4), 336-342. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2020.10.002>. Viitattu 7.12.2022.

Taylor, C. R 2013. Introduction to immunohistochemistry. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) *Immunohistochemical Staining Methods*. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company, 10—19. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.

Taylor, C. R 2013. Polymeerimenetelmä. Luonnos. Valokuva. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 2.11.2023

Taylor, C. R 2013. Suora- ja epäsuora menetelmä. Luonnos. Valokuva. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 2.11.2023

Taylor, R. Clive & Shi, Shang-Rong 2014. Techniques on immunohistochemistry: Principles, Pitfalls and Standardization. Teoksessa David J. Dabbs (toim.) *Diagnostic immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications*. Fourth edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 1—38.

Thaína A., Azevedo, Tosta, Leandro A., Neves, Marcelo, Z., & Do, Nascimento 2017. Segmentation methods of H&E-stained histological images of lymphoma: A review. *Informatics in Medicine Unlocked*. (9), 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2017.05.009>. Viitattu 7.12.2022

Tiainen, Eini, Seppänen Antti, Santala, Atte 2023. Bcl6 Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Nuolella osoitettu B-solun tuman värjäytyminen itukeskuksessa. Valokuva. 2023. Kuopio: Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseen patologian osasto. Viitattu 2.11.2023

Tiainen, Eini, Seppänen Antti, Santala, Atte 2023. CD10 positiivinen kontrolli, itukeskuksen B-solut värjäytyvät solukalvolta (musta nuoli). Valokuva. 2023. Kuopio: Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseen patologian osasto. Viitattu 2.11.2023

Tiainen, Eini, Seppänen Antti, Santala, Atte 2023. CD30 Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Aktivoidut T- ja B-solut follikulaarisella alueella ja aktivoidut B-solut itukeskuksen reunalla värjäytyvät solukalvolta. Valokuva. 2023. Kuopio: Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseen patologian osasto. Viitattu 2.11.2023

Tiainen, Eini, Seppänen Antti, Santala, Atte 2023. MUM1 paksusuoli 20x. Limakalvon plasmakalvat värjäytyvät tumasta (musta nuoli). Epiteeli jää negatiiviseksi (punainen nuoli). Valokuva. 2023. Kuopio: Kuopion yliopistollisen sairaalan kuvantamiskeskukseen patologian osasto. Viitattu 2.11.2023

Torppa, Tiina 2014. Työssään kirjoittavan opas. Helsinki: Talentum Media Oy.

Tsuyama, Naoko, Sakata, Seiji, Baba, Satoko, Mishima, Yuko, Nishimura, Noriko, Ueda, Kyoko, Yokoyama, Masahiro, Terui, Yasuhito, Hatake, Kiyohiko, Kitagawa, Masanobu, Ishizuka, Naoki, Tomita,

Naoto & Takeuchi, Kengo 2017. BCL2 expression in DLBCL: reappraisal of immunohistochemistry with new criteria for therapeutic biomarker evaluation. *Blood* 130 (4), 489–500.
<https://doi.org/10.1182/blood-2016-12-759621>. Viitattu 13.12.2022.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta (TENK) 2021. Hyvä tieteellinen käytäntö (HTK). Verkkojulkaisu.
<https://tenk.fi/fi/tiedevilppi/hyva-tieteellinen-kaytanto-htk>. Viitattu 12.10.2023.

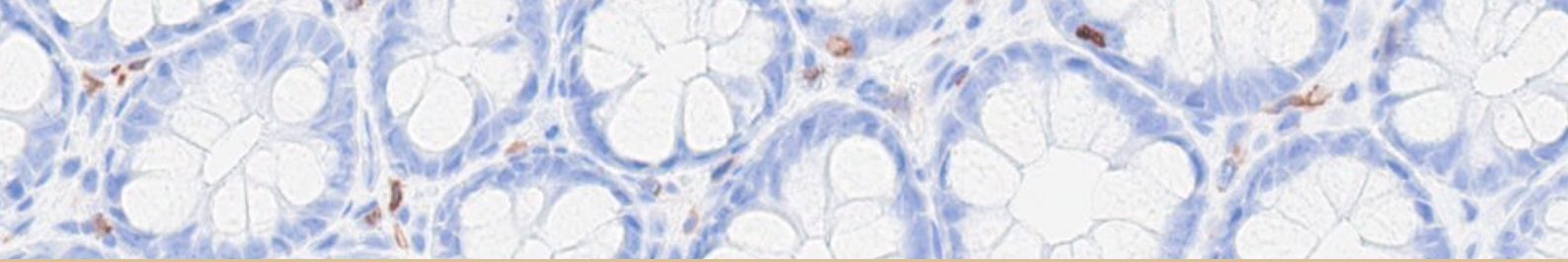
Työturvallisuuslaki 738/2002. <https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2002/20020738>. Viitattu 27.9.2023

Ventana 2009. Confirm anti-CD23 (SP23) Rabbit Monoclonal Primary Antibody. Viitattu 2.11.2023.

Ventana 2021. OptiView DAB IHC Detection Kit. Viitattu 19.12.2022

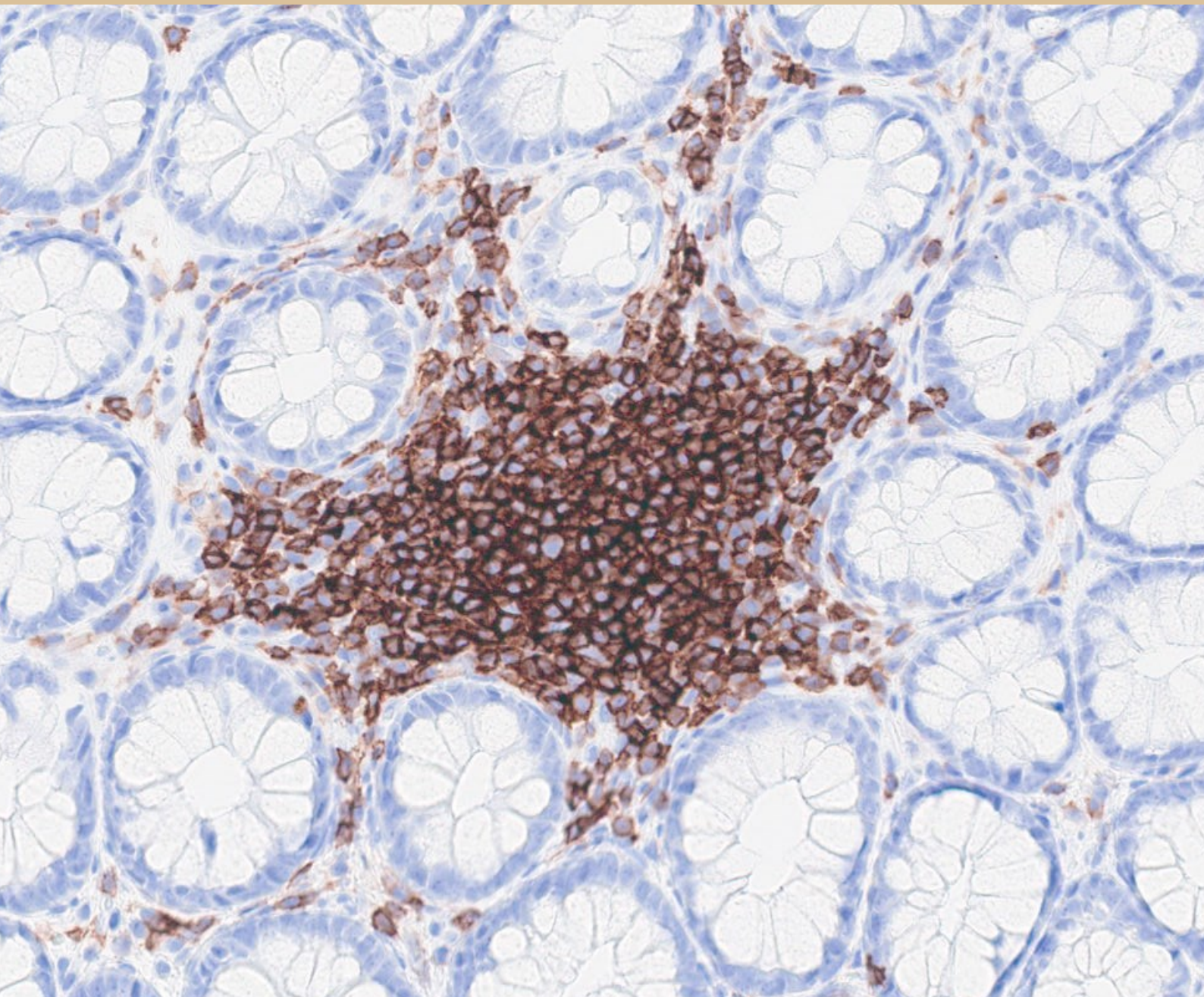
Vilka, Hanna 2021. Tutki ja kehitä. 5., päivitetty painos. Jyväskylä: PS-kustannus.

LIITE 1: OPAS IMMUNOHISTOKEMIALLISTIIN VÄRJÄYKSIIN – LYMFOOMAKERKKIAINEILLE



Opas immunohistokemiallisista värjäyksistä

Lymfoomamerkkiaineille



SISÄLTÖ

JOHDANTO.....	2
BCL2.....	3
BCL6.....	5
CD3.....	7
CD10.....	9
CD15.....	11
CD20.....	13
CD23.....	15
CD30.....	17
CD45.....	19
C-MYC.....	21
CYCD1.....	23
MUM1.....	25
VIRHELÄHTEET.....	27
LÄHTEET.....	37

JOHDANTO

Immunohistokemia on menetelmä, joka perustuu tiettyjen antigeenien tunnistamiseen kudoksista ja/ tai soluista hyödyntäen antigeenin ja vasta-aineen spesifistä sitoutumista toisiinsa. Vasta-aineen ja antigeenin spesifistä sitoutumista tarkastellaan mikroskooppitasolla fluoresenssi- tai pigmenttileimattujen vasta-aineiden avulla. Immunohistokemian menetelmissä pyritään osoittamaan antigeenin olemassaolo tai sen puuttuminen solu- tai kudoksenäytteessä. Käytössä on suoria ja epäsuoria menetelmiä, joista epäsuorat menetelmät ovat nykyisin yleisimmin kliinisessä käytössä. Immunohistokemiassa fluoresenssin sijaan käytetään sekundaarivasta-aineita ja niihin liitetyjä entsyymejä ja reaktio saadaan näkyviin substraatin läsnä ollessa kromogeenin eli väriaineen avulla.

Immunohistokemian rooli diagnostisessa patologiassa on kasvanut teknologian ja menetelmän kehityessä ja sitä käytetään erityisesti apuna tuumorien diagnoosissa ja luokittelussa. Nykyisin käytetäänkin yhtä tai useampaa immunohistokemian värjäystä rutiinina patologian laboratoriossa. Immunohistokemiaa on mukautettu tunnistamaan ja demonstroimaan prognostisia sekä ennustavia markkereita ja vastaamaan tulokset semikvantitatiivisesti.

Kontrollien avulla voidaan havaita mahdolliset poikkeamat ja vaihtelut tuloksissa, jolloin ne voidaan korjata. Asianmukaisten kontrollien käyttö on välttämätöntä laadun, menetelmän johdonmukaisuuden ja tulosten toistettavuuden varmistamiseksi. Positiivisessa kontrollissa tiedetään tutkittavan antigeenin ilmeneminen, mikä tuo tietoa testin herkkyydestä. Negatiivista kontrollia käytetään varmistamaan menetelmän spesifisyys ja sulkemaan pois epäspesifisen värjäyksen mahdollisuus. Käytettyjen kontrollien tulee käydä läpi mahdollisimman samanlainen värjäysprosessi kuin näytteen, jotta laadukkaasta prosessista voidaan varmistua. Monissa IHK-värjäyksessä kontrollina käytetään samalla lasilla näytteen kanssa multiblokkia, jossa on mukana useampi kudos. Käytössä esimerkiksi lymfooman merkkiaineille on multiblokki, jossa ovat mukana tonsilla, maksa ja suoli. Jotkut antigeenit vaativat omat kontrollit, koska terve kudokset eivät ilmennä tiettyä antigeeniä.

Immunohistokemiallisten värjäysten laatuun voivat vaikuttaa esimerkiksi kudoksenäytteen liian pitkä tai lyhyt fiksaatioaika, liian korkeat lämpötilat kudosten prosessoinnissa ja erilaiset käsittelystä johtuvat ongelmat kudostenleikkäessä, kuten sen liika paksuus tai rypyisyys sekä ilmakuplat näytelasilla. Yleisiä ongelmia immunohistokemiallisissa värjäyksissä on myös väärät negatiiviset tulokset ja automaation virheistä, kuten laimennus- ja pesu virheistä, johtuvat ongelmat.

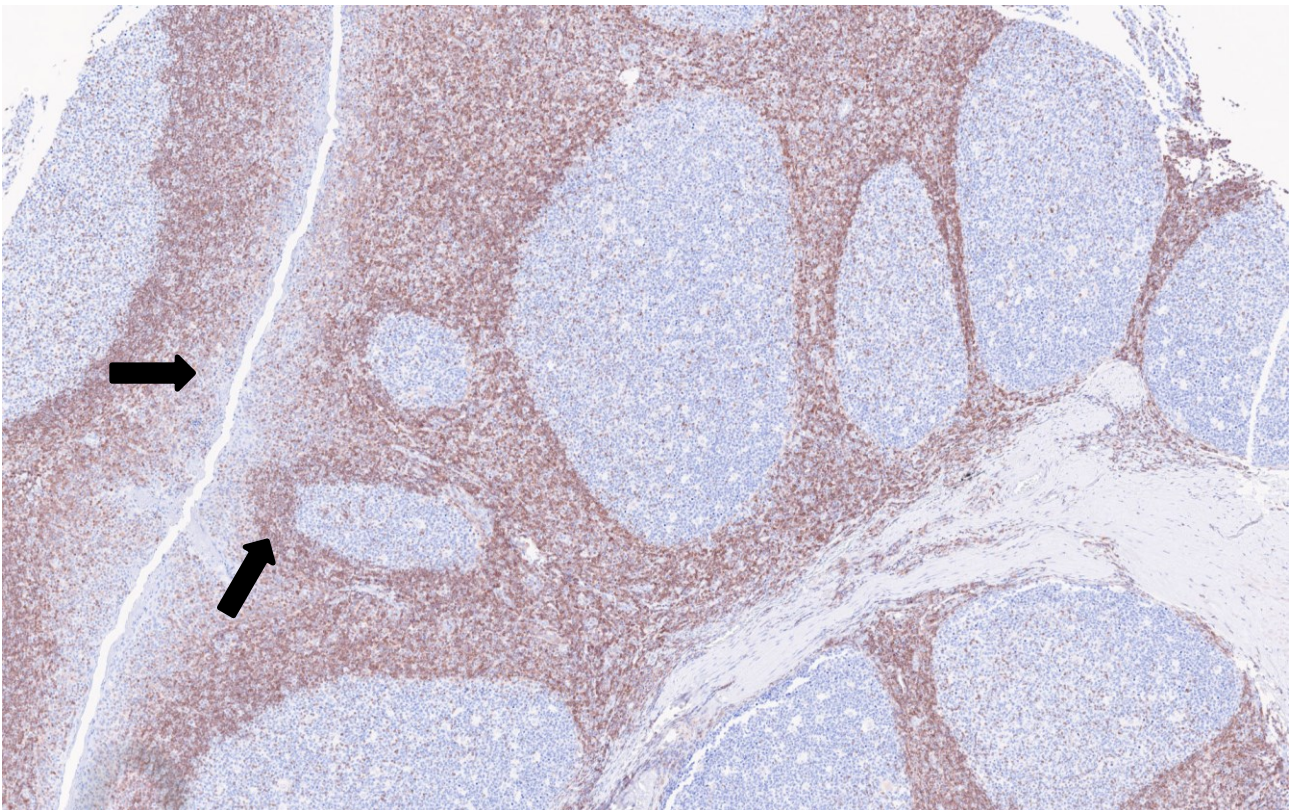
BCL2

Yleistä: BCL2 proteiinit sijaitsevat pääasiassa mitokondrioiden ulkokalvolla ja ne säätelevät apoptoosia. Pro- ja antiapoptoosisten BCL2 proteiinien epätasapaino voi johtaa ennenaikaiseen solukuolemaan tai neoplastiseen kasvuun. Proteiinien liikailmentyminen (over expression) on yleistä monissa syövässä.

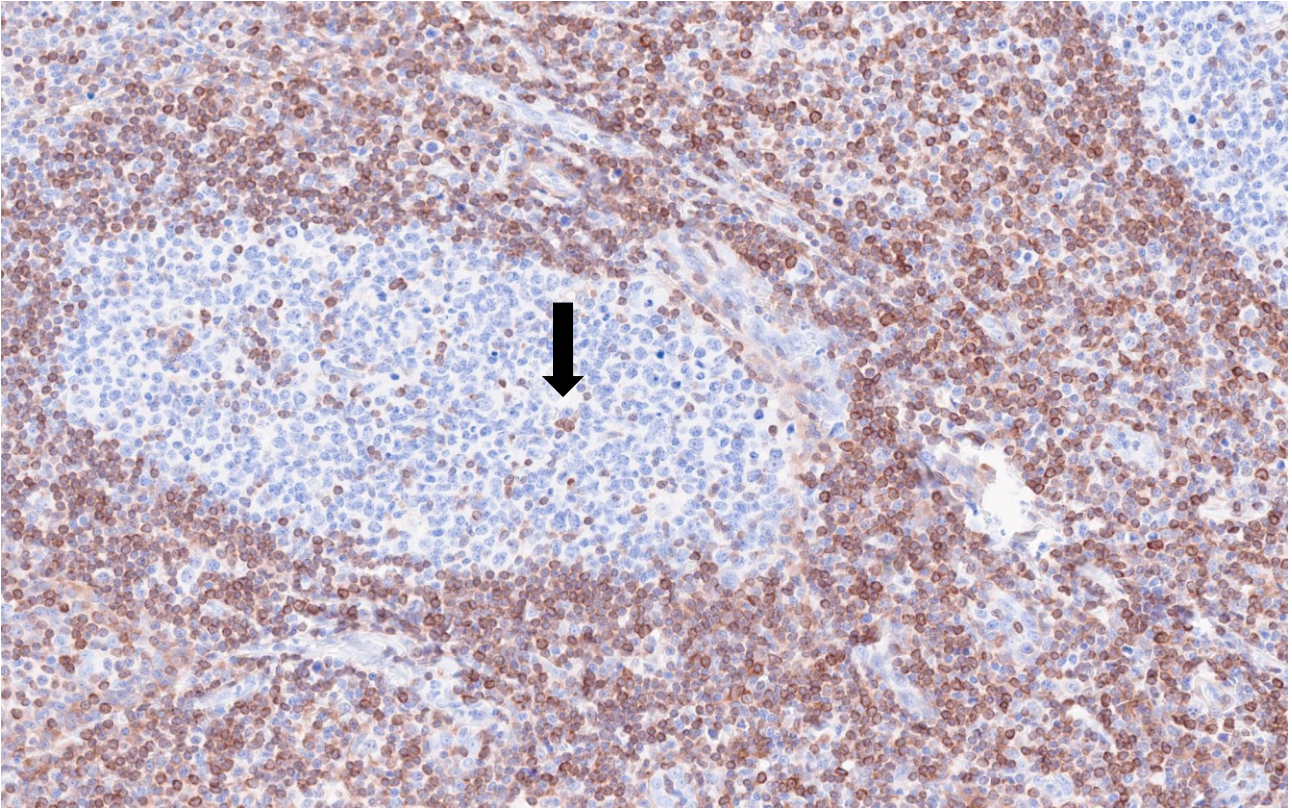
Kliininen käyttö: BCL2 liikailmentymistä tavataan esimerkiksi Non-Hodkinin lymfoomassa, leukemioissa, adenokarsinoomissa, levyepiteelikarsinoomassa, pienisoluisessa karsinoomassa, neuroblastoomassa sekä eri sarkoomissa. Burkittin leukemia/lymfooma on BCL2-negatiivinen. BCL2 on käytännöllinen erotettaessa follikulaarinen lymfooma reaktiivisesta follikulaarisesta hyperplasiasta.

Kontrollit: Tonsilla on suositeltava kudokset kontrolli BCL2:lle. (Dako; NordiQc.) Immunohistokemian työpisteellä kontrollina BCL2:lle on käytössä multiblokki, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

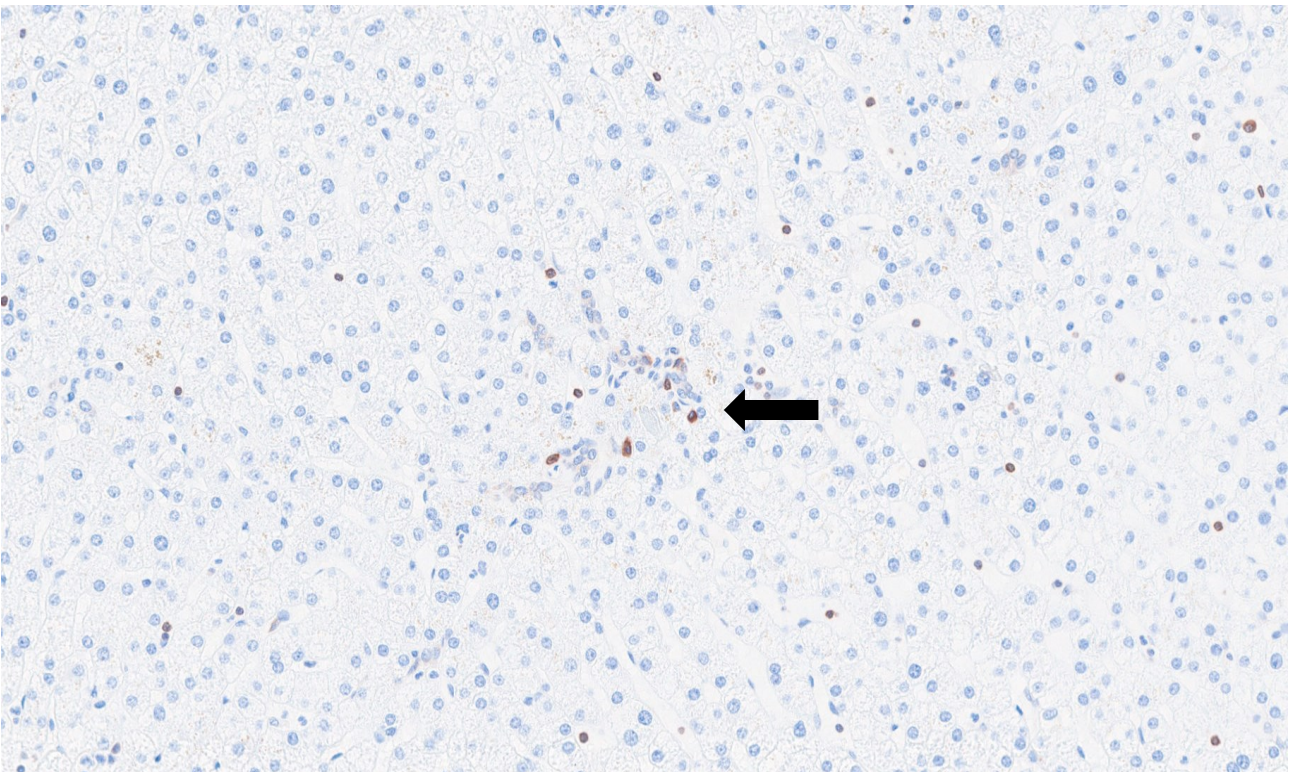
Spesifi positiivisuus: Vahva tai kohtalainen värireaktio on nähtävissä **solulimassa** kaikissa reaktiivisten follikkeleiden **vaippavyöhykkeiden T- ja B-soluissa**. Valtaosan kryptien lieriöepiteelistä täytyy ilmentää vähintään heikkoa värjäytymistä. Itukekusten T-solut värjäytyvät, kun taas B-solut ovat negatiivisia.



Tonsilla 5x, positiivinen kontrolli. Vaippavyöhykkeiden B- ja T-solut värjäytyvät voimakkaasti. Levyepiteeli värjäytyy tyviosasta kohtalaisesti



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Itukeskuksessa yksittäisiä positiivisia T-soluja.



Maksa 20x, negatiivinen kontrolli, yksittäisiä BCL2-positiivisia soluja (Nuoli). Maksasolut negatiivisia.

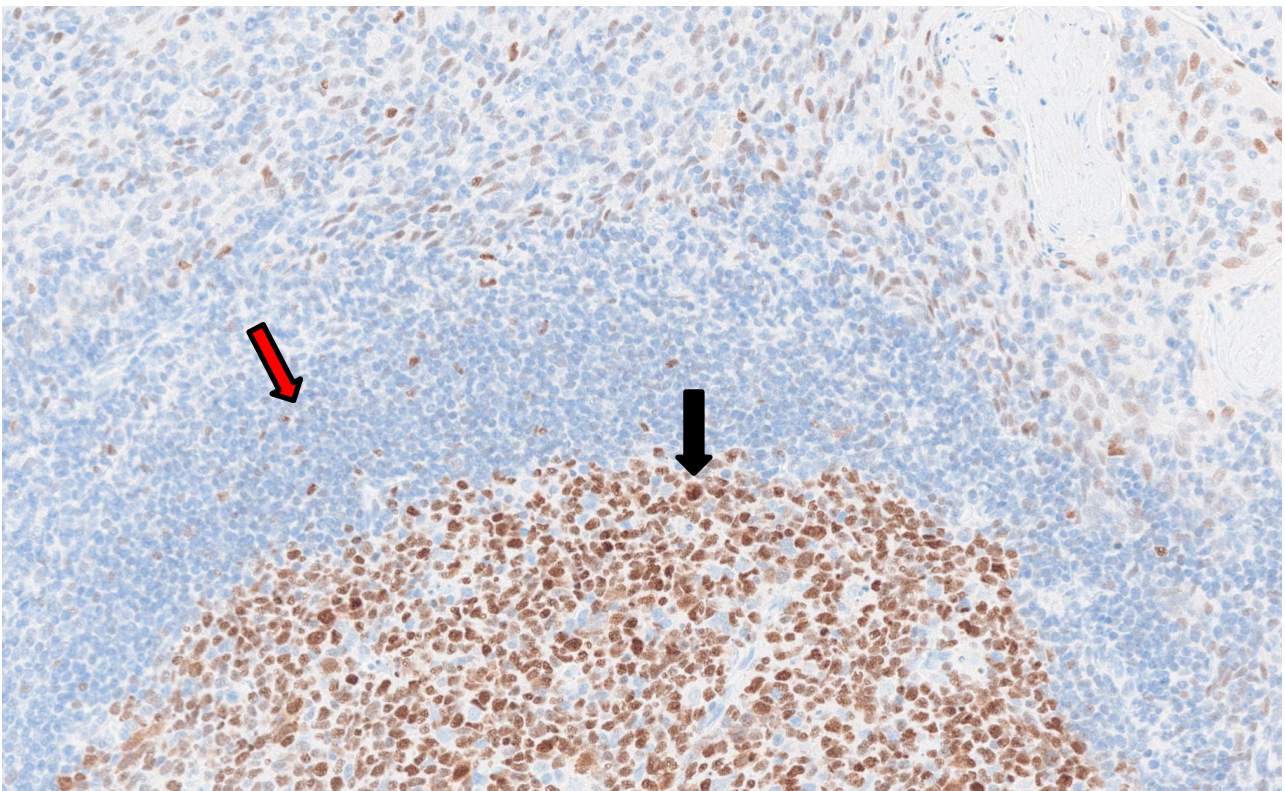
BCL6

Yleistä: BCL6 proteiini toimii transkription rajoittajana ja on välttämätön itukeskuksen muodostumiselle. Se vaimentaa p53 geenin ilmentymistä ja muuntaa DNA-vaurion aiheuttamaa apoptista vastetta itukeskuksen B-soluissa. Sitä tavataan itukeskusten B-soluissa, minkä lisäksi sitä voidaan havaita harvoissa CD-4 positiivisissa T-soluissa, CD30 positiivisissa lymfoidisissa soluissa sekä lisäksi kateenkorvan lymfosyyteissa.

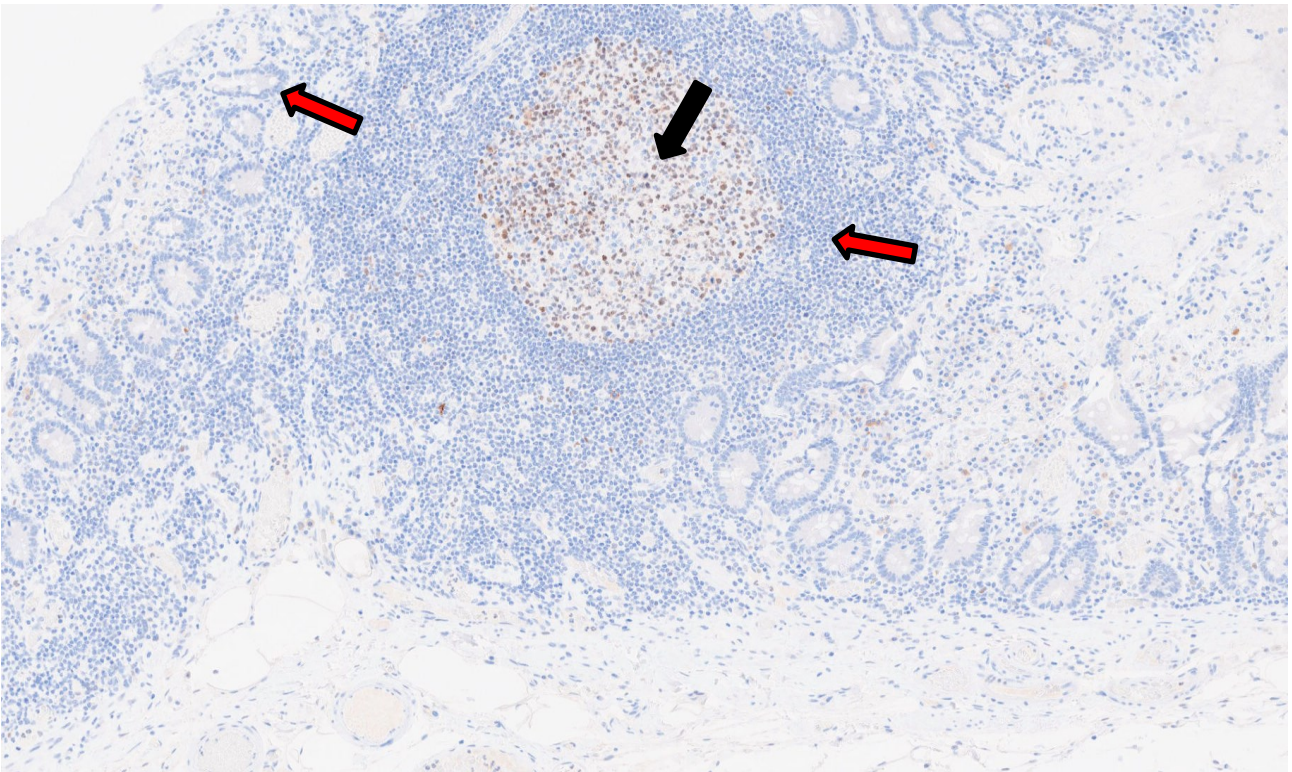
Kliininen käyttö: BCL6 käytetään pääasiassa B-solulymfoomien luokittelussa. Sitä tavataan mm. follikulaarisessa lymfoomassa, Burkittin lymfoomassa, diffuusissa suurisoluisessa B-solulymfoomassa.

Kontrollit: Tonsilla on suositeltava kudoksetrolli BCL6:lle. (Dako, NordiQc.) Immunohistokemian työpisteellä kontrollina BCL6:lle on käytössä multiblokki, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

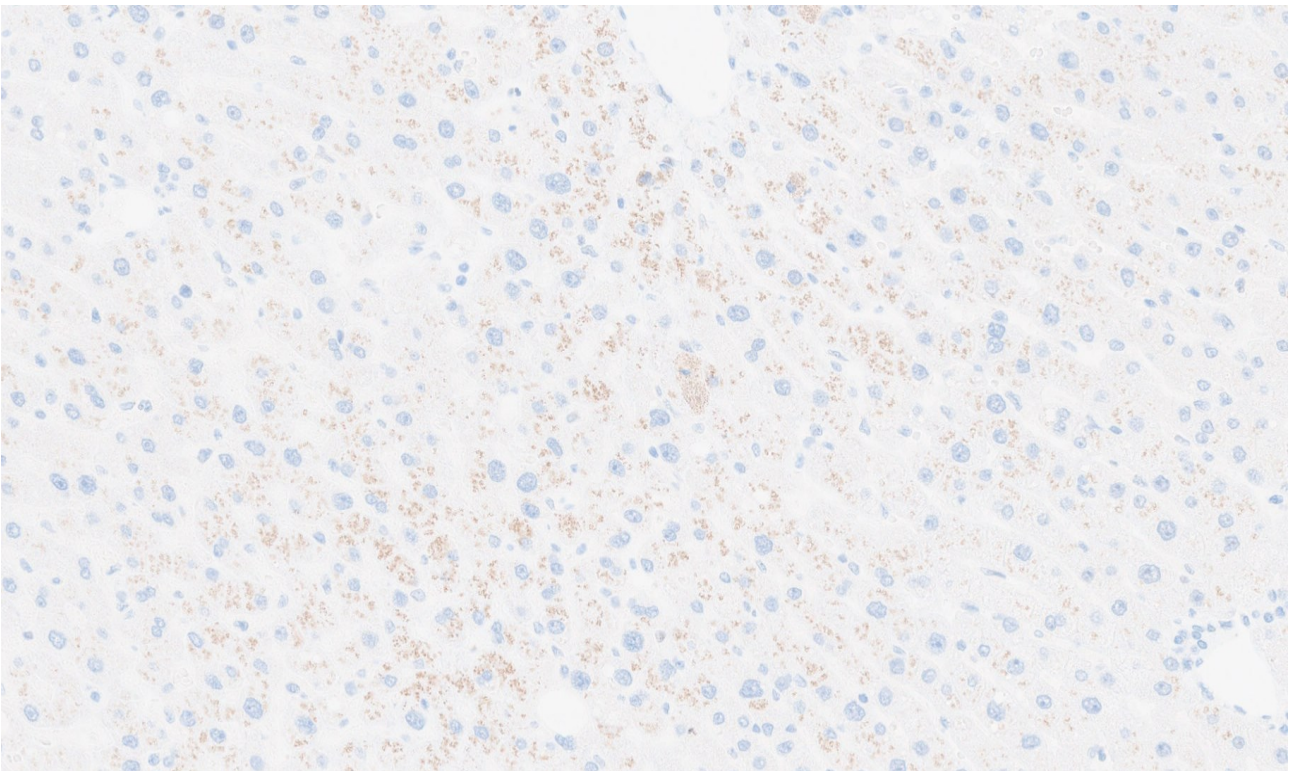
Spesifi positiivisuus: Kaikki **itukeskuksen B-solut** ilmentävät **kohtalaisesta voimakkaaseen värjäysreaktiota tumassa**. Epiteelisoluisissa ilmenee heikosta kohtalaiseen oleva värjäysreaktio. Vaippavyöhykkeellä ja itukeskusten välisellä alueella ainoastaan hajanaiset solut värjäytyvät.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Nuolella osoitettu B-solun tumman värjäytyminen itukeskuksessa sekä vaippavyöhykkeen negatiiviset B-solut (punainen nuoli).



Appendix 10x, negatiivinen kontrolli. Itukeskuksessa positiivisia soluja, vaippavyöhyke negatiivinen ja suolen epiteeli negatiivinen (punainen nuoli).



Maksa 20x, Detektiosysteemin aiheuttama tausta.

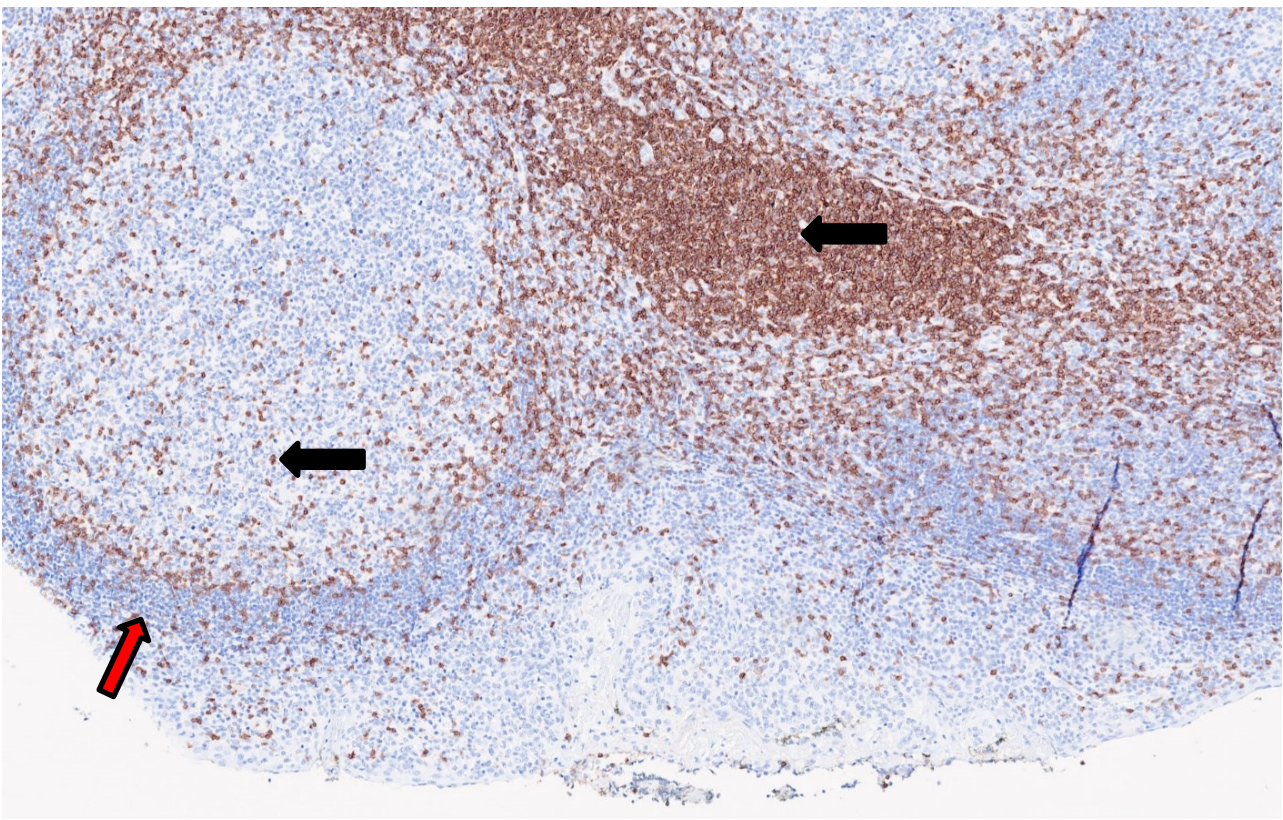
CD3

Yleistä: CD3- proteiini on T-solumerkkiaine mikä on tärkeä pahanlaatuisten lymfoomien ja lymfoidisten leukemioiden luokittelussa. CD3-antigeeni on yhteydessä T-solujen pinnalla olevaan T-solureseptoriin ja se välittää aktivaatiosignaalin soluun. Se muodostuu extrasellulaarisesta, transmembraanisesta ja intrasellulaarisesta osasta. Lukuun ottamatta heikkoa ekspressiota Purkinje-soluissa ja aktivoituissa NK-soluissa (natural killer-solut), CD3:a löytyy vain T-soluista.

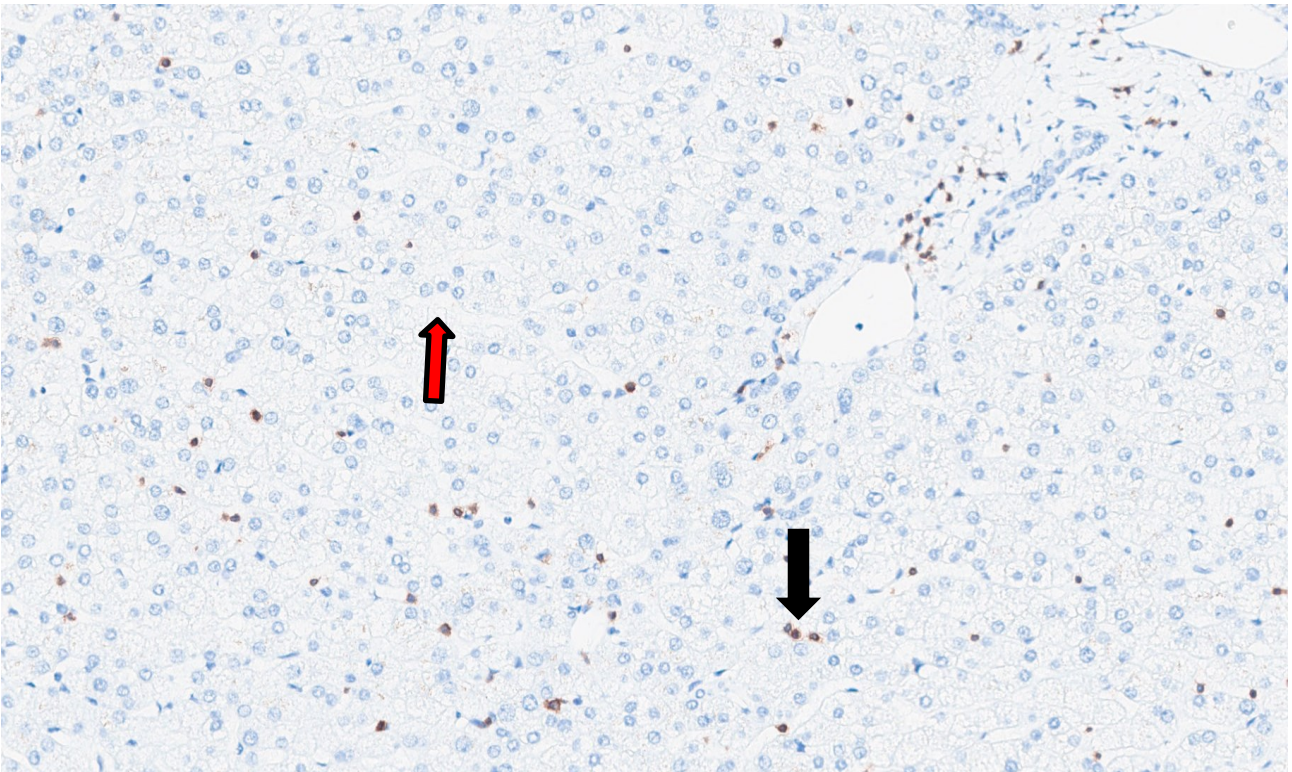
Kliininen käyttö: CD3-vasta-ainetta käytetään diagnostiikassa T- ja NK-solulymfoomien tunnistamiseen. Merkkiaine on myös käyttökelpoinen T-solujen tunnistamiseen esim. keliakiassa, lymfosyyttisessä paksusuolitulehduksessa ja kolorektaalisisä karsinoomissa, jotka liittyvät yhteensopimattomuuden korjaavan proteiinin puuttumiseen.

Kontrollit: Tonsilla ja umpilisäke ovat suositeltavat kudokset CD3:lle. (Dako, NordiQc.) Immunohistokemian työpisteellä käytössä kontrollina multiblokki CD3:lle, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

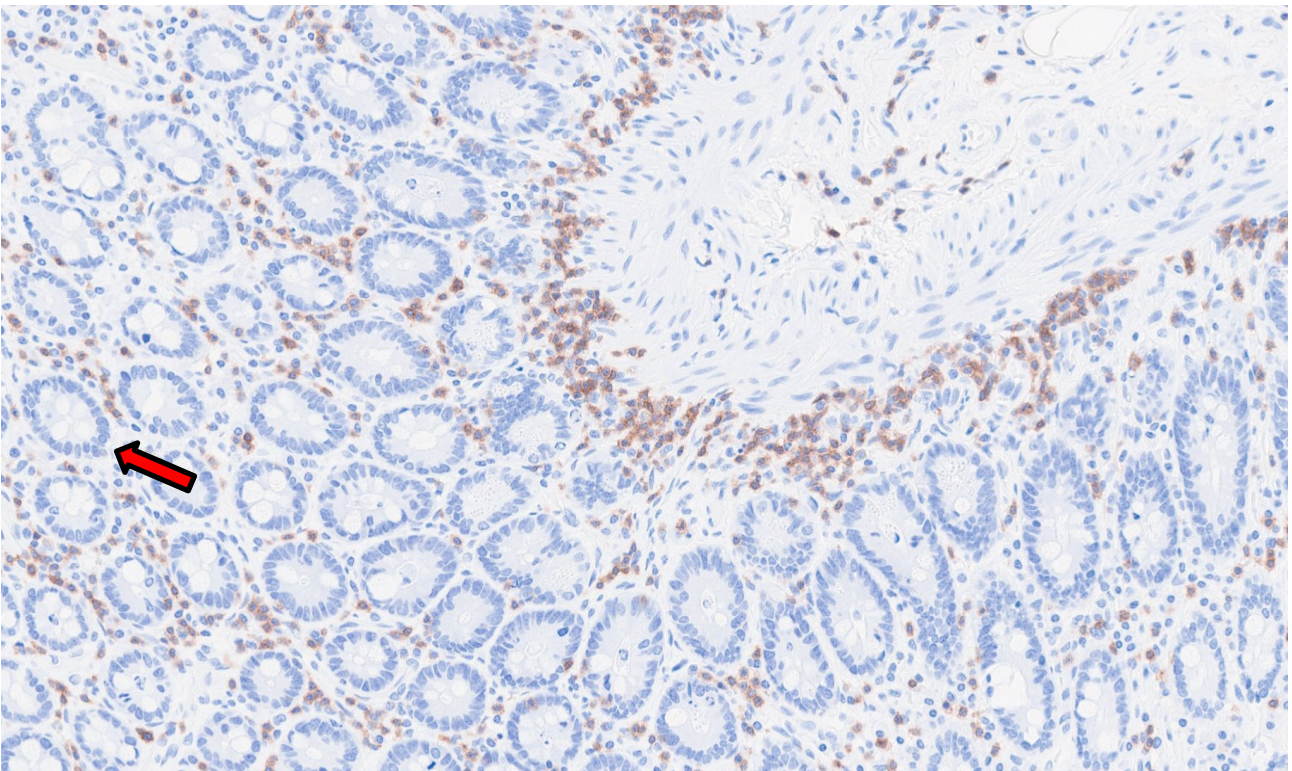
Spesifi positiivisuus: Reaktio tapahtuu solukalvolla ja sytoplasmassa. **Solukalvo värjäytyy voimakkaasti ja solulima hillitymmiin.** Itukeskusten välissä olevat **T-solut** sekä yksittäiset T-solut itukeskuksen sisällä **positiivisia. Vaippavyöhykkeen B-solut ovat negatiivisia.**



Tonsilla 10x, positiivinen kontrolli. T-solut värjäytyvät itukeskuksessa ja itukeskusten välissä. Vaippavyöhykkeen B-solut negatiivisia (punainen nuoli).



Maksa 20x, Negatiivinen kontrolli, yksittäisiä CD3-positiivisia soluja (musta nuoli). Maksasolut negatiivisia (punainen nuoli).



Suoli 20x, positiivinen kontrolli. Limakalvon epiteelisolujen välissä positiivisia CD3-soluja, Epiteelit ja Muscular mu- cosa negatiivinen.

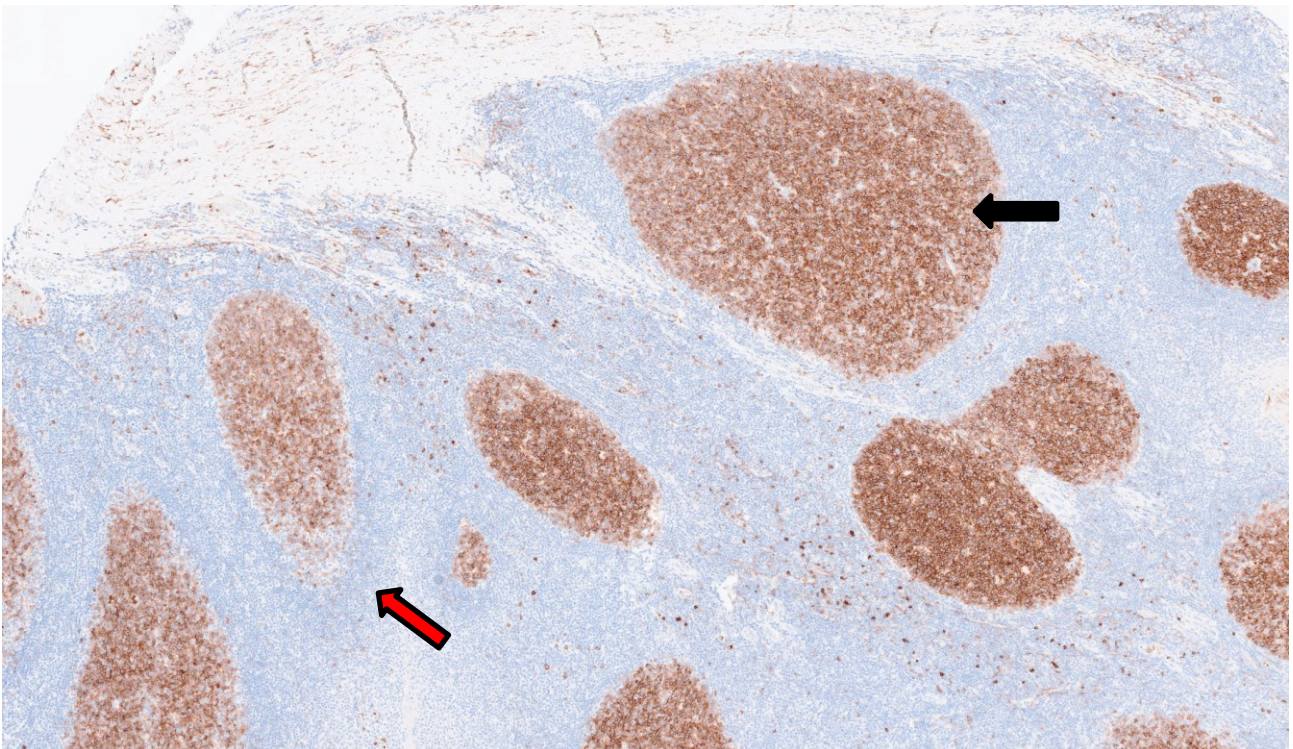
CD10

Yleistä: Yksiketjuinen solupinnan glykoproteiini. Se on sinkistä riippuvainen peptidaasi, joka hajottaa lukuisia bioaktiivisia peptidejä ja säätelee solujen vastetta peptidisubstraatteihin. CD10 tavataan useiden solujen pinnalla, kuten luuytimen kantasoluissa ja myelooisissa soluissa.

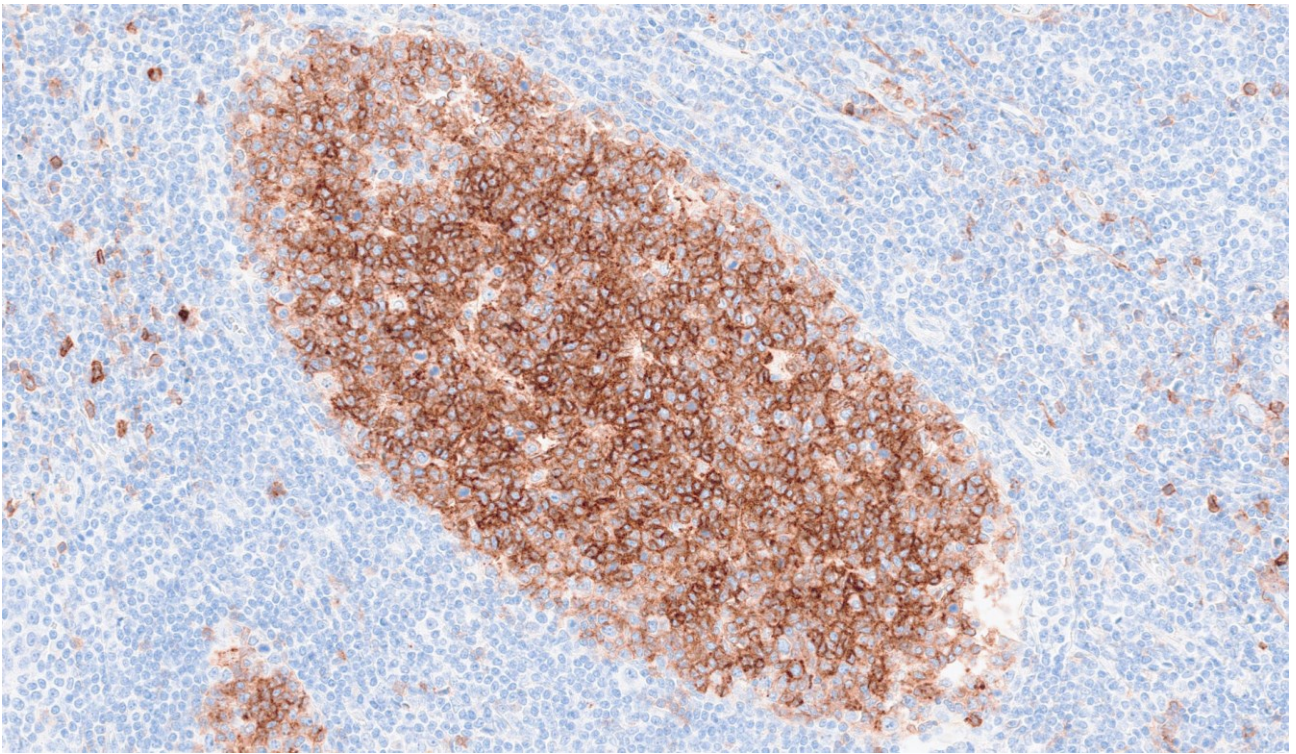
Kliininen käyttö: CD10 havaitaan suurimmassa osassa esiasteisessa B lymfoblastisessa leukemiassa ja lymfoomassa sekä follikulaarisessa lymfoomassa. Sitä käytetään B-soluleukemioiden/lymfoomien ja lymfoomien sekä karsinoomien, kuten maksa- ja rakkosyöpä, luokittelussa. Voidaan käyttää myös erilaisten rintasyöpien luokitteluun.

Kontrollit: Tonsilla on suositeltava kudoksetrolli CD10:lle. (Dako, NordiQC.) Immunohistokemian työpisteellä kontrollina CD10:lle on käytössä multiblokki, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

Spesifi positiivisuus: Käytännössä kaikki **itukeskuksien B-solut värjäytyvät vähintään kohtuullisesti solukalvolta**. Solujen solukalvon ääriviivat ovat selkeästi hahmotettavissa, eikä niissä ole levinnyttä värjäytymistä. Vaippavyöhykkeen B-solut ja levyepiteeli ovat negatiivisia. Hajanaiset neutrofiilit/granylosyytit osoittavat vähintään heikkoa värireaktiota.



Tonsilla 5x, positiivinen kontrolli. Itukeskuksen B-solut värjäytyvät (musta nuoli). Vaippavyöhyke negatiivinen (punainen nuoli).



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli.

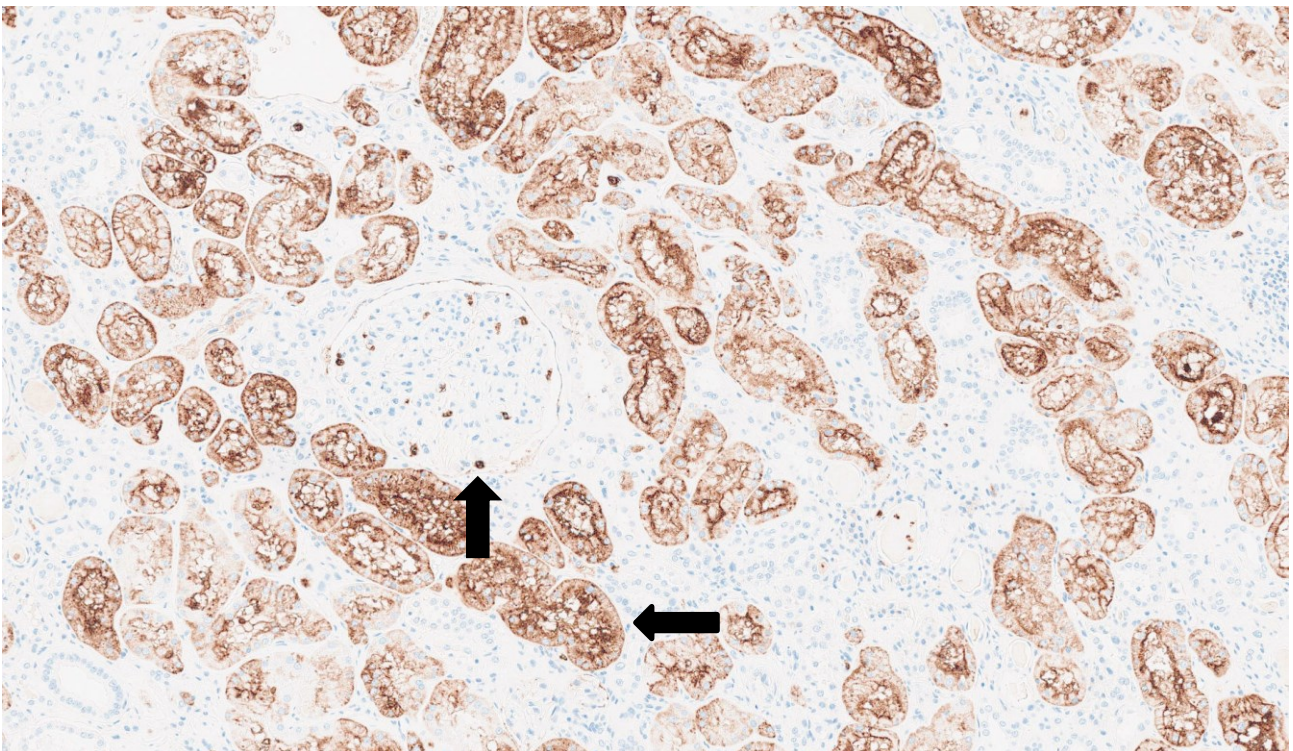
CD15

Yleistä: CD15 on solun pinnan glykolipideistä ja glykoproteiineista koostuva monimutkainen ryhmä, joilla on yhteinen terminaalinen pentasakkaridi nimeltään Lewisx -antigeeni. Niitä tavataan useimmissa terminaalisesti erilaistuneissa myeloidisoluissa kuten granulocyteissa, eosinofiileissa, monosyyteissa, makrofageissa, syötösoluissa ja Lagerhansin soluissa. Lymfocyteistä suurin osa on CD15-negatiivisia, mutta aktivoituneet lymfocyteit (erityisesti T4) voivat olla CD15-positiivisia.

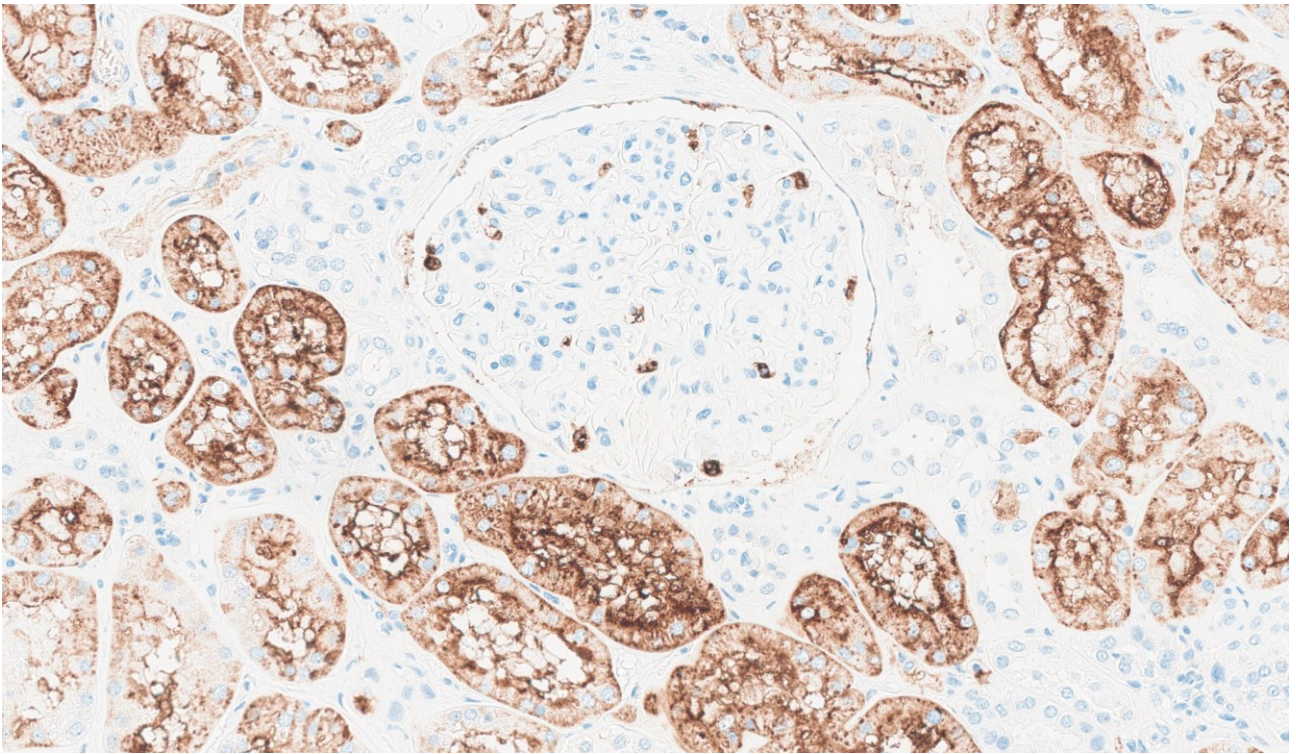
Kliininen käyttö: CD15-positiivisuus on tyypillistä Hodgkinin soluille klassisessa Hodgkinin taudissa. Käytetään pääasiassa Hodgkinin ja Reed-Sternbergin solujen tunnistamisessa Hodgkinin lymfoomassa. CD15 esiintyy myös vaihtelevasti epiteelisövän, kuten adenokarsinoomien (erityisesti rinta-, keuhko ja paksusuoli), munuaissolukarsinooman, ihon apokriinisen karsinooman, kilpirauhasen papillaarisen ja follikulaarisen karsinooman, sekä munasarjojen seroosisyövän yhteydessä.

Kontrollit: Suositeltavat kontrollit ovat munuainen ja tonsilla. (Dako, NordiQC.) CD15 kontrollina on käytössä munuainen ja keuhko.

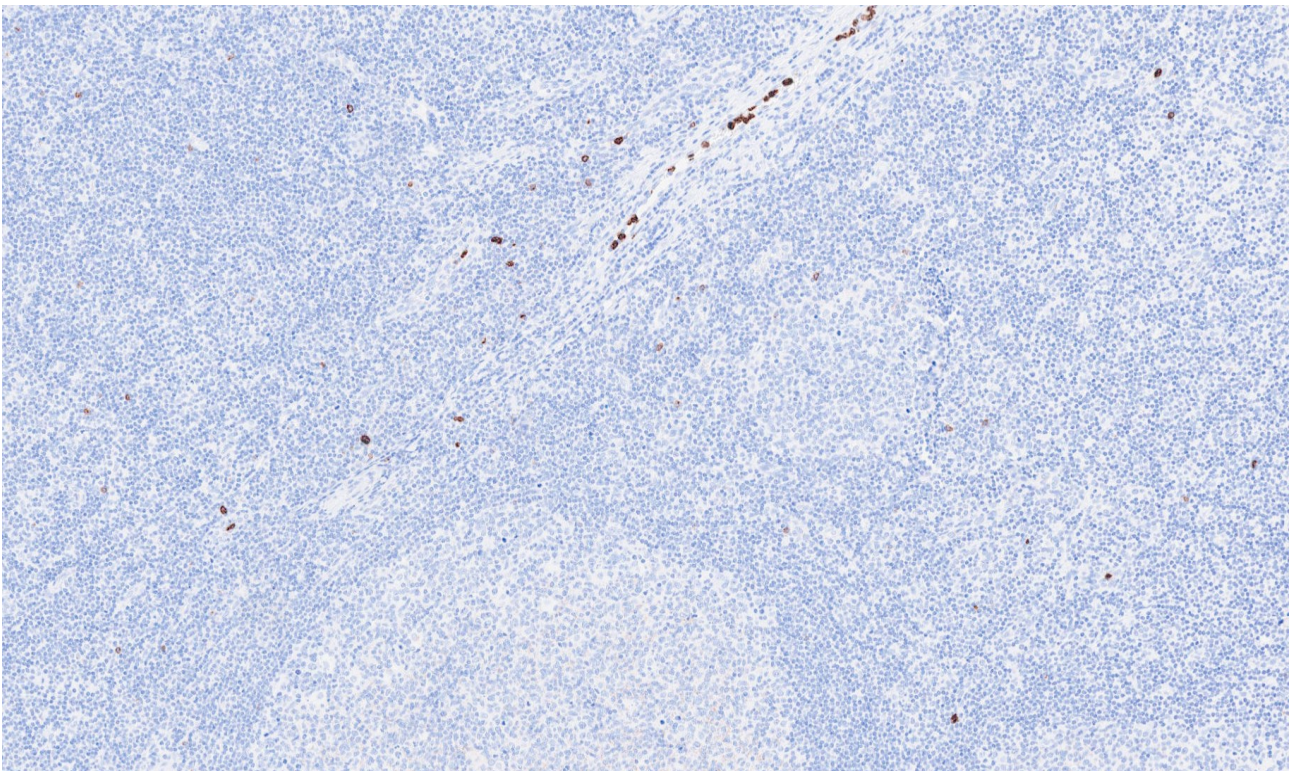
Spesifi positiivisuus: Reaktio tapahtuu pääasiassa **solukalvolla ja solulimassa**. **Hodgkinin solujen ja Reed-Sternbergin solujen solulimassa** sekä **solukalvolla** on nähtävissä selvästi erottuva värjäytyminen. Munuaisen **proksimaalisissa** sekä **distaalisissa tubuluksissa** solukalvon ja sytoplasman värjäytyminen ilmenee heikosta vahvaan. **Tonsillassa neutrofiilien, makrofaagien ja eosinofiilien granulaarisen soluliman** värjäytyminen ilmenee kohtalaisesta vahvaan.



Munuainen 10x, positiivinen kontrolli. Tubulukset värjäytyvät. Glomeruluksissa neutrofiiliset granulocyteit CD15-positiivisia.



Munuainen 20x, positiivinen kontrolli



Tonsilla 10x, positiivinen kontrolli. Lymfocytyt negatiivisia ja neutrofiiliset granulocytyt positiivisia.

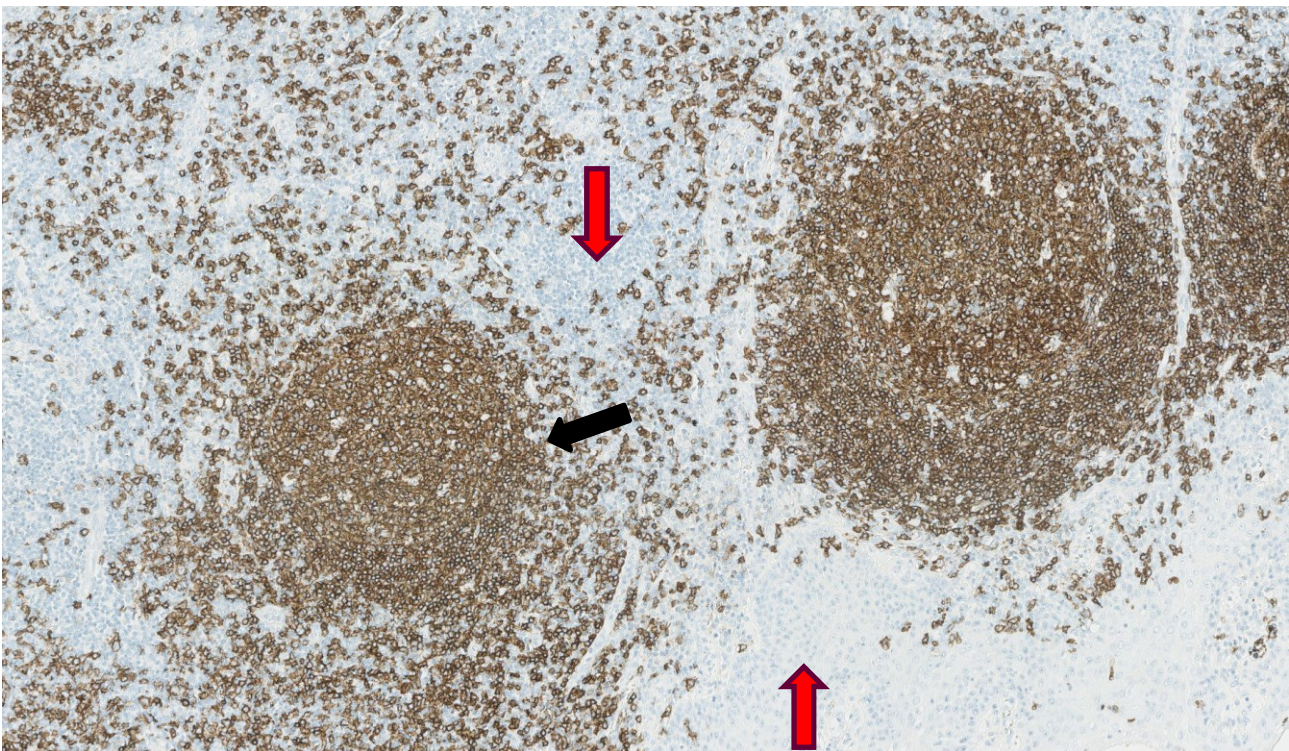
CD20

Yleistä: CD20 antigeeni on solukalvon läpäisevä, glykosyloimaton fosfoproteiini. CD20 toimii Ca²⁺ läpäisevänä kationikanavana ja on mukana B-solujen aktivoimisessa, säätelyssä, ja jakaantumisessa. CD20 antigeeni esiintyy B-lymfosyytin esiasteen pinnalla kevyen ketjun uudelleenjärjestelyn ja koskemattoman pinnan immunoglobuliinin ilmentymisen välillä ja katoaa juuri ennen lopullista B-solujen erilaistumista plasmasuoluiksi. CD20:n pintaekspressio aktivoituilla B-soluilla on noin neljä kertaa suurempi kuin lepäävillä B-soluilla.

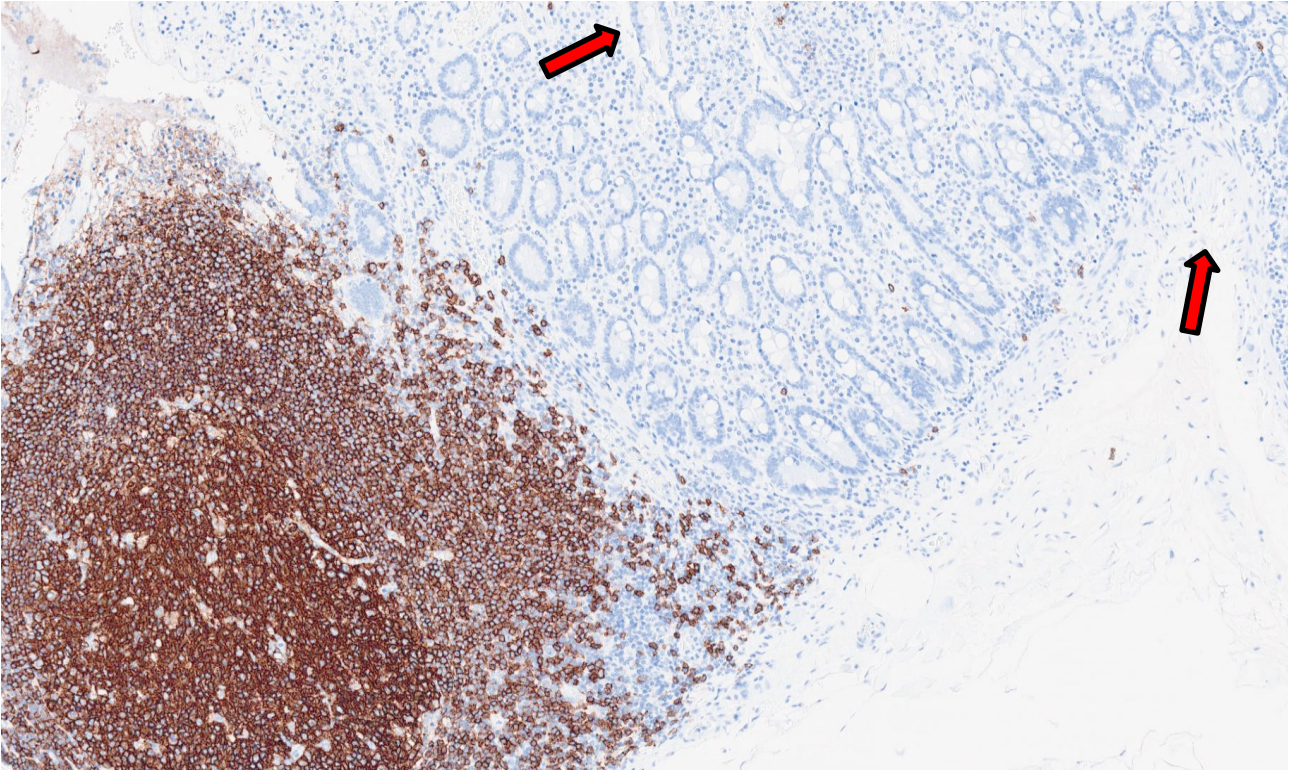
Kliininen käyttö: Yhdessä CD79a:n kanssa CD20 on yksi tärkeimmistä markkereista B-solukasvainten tunnistamisessa. CD20 ilmentyy suurimmassa osassa B-soluleukemia- ja lymfoomatapauksia. Varhaisen vaiheen esiaste B-lymfoblastinen leukemia ja lymfooma voi olla negatiivinen CD20 suhteen, mutta krooninen lymfocyttinen leukemia sekä pienisolulymfooma voi osoittaa heikkoa värjäytymistä. Plasmasuolukasvaimet ovat yleensä CD20-negatiivisia.

Kontrollit: Kontrolleina suositellaan käytettäväksi tonsillaa ja umpilisäkettä. (Dako, NordiQC.) Käytössä on multiblokki, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

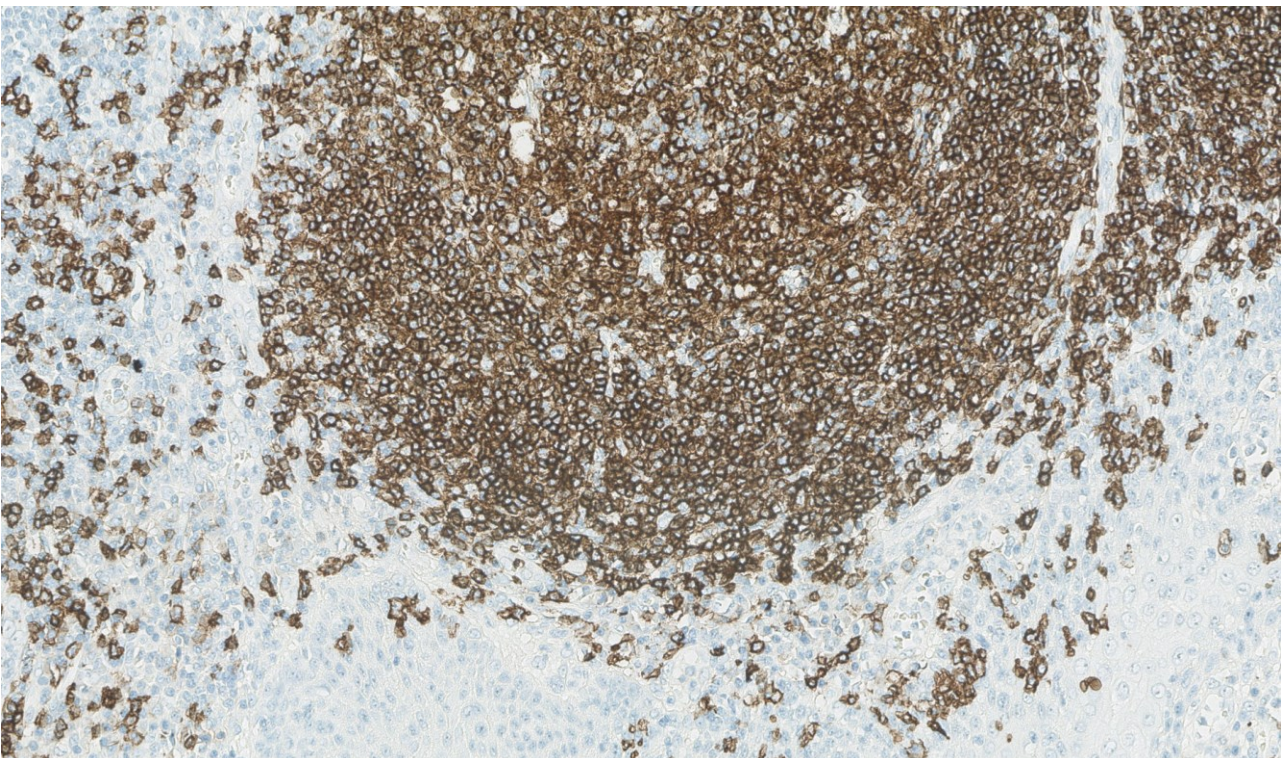
Spesifi positiivisuus: CD20 on käytännössä spesifinen **normaaleille B-soluille**. Reaktio tapahtuu **solukalvolla**. Heikko ilmentyminen on osoitettu T-solujen alapopulaatioissa, mutta ei missään muussa solutyypissä. **Tonsillan** vaippavyöhykkeen **B-solujen ja itukeskuksen B-solujen** tulee osoittaa erittäin voimakasta värjäytymisreaktiota ja **epiteelisolut eivät saa värjäytyä**. Maksassa hajallaan olevissa **B-soluissa** ilmenee heikkoa tai keskivoimakasta värjäytymistä.



Tonsilla 10x, positiivinen kontrolli. B-solut värjättyvät (musta nuoli). Välitilassa T-lymfosyytit ja epiteelit negatiivisia (punainen nuoli).



Suoli 10x, positiivinen kontrolli, Limakalvon epiteeli ja Lihas negatiivinen (punainen nuoli). Ei taustavärjäytymistä.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli

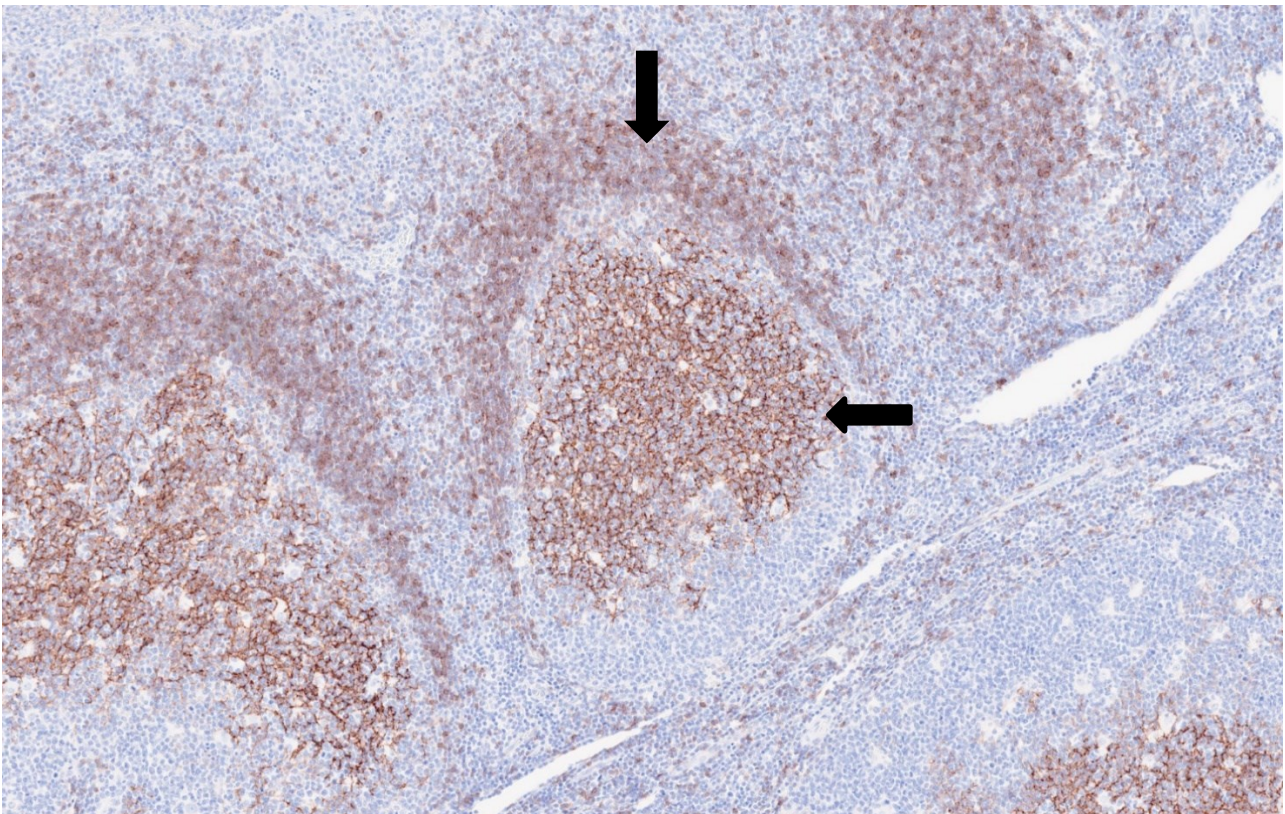
CD23

Yleistä: CD23 on B-soluille spesifi antigeeni, jolla on rooli IgE-luokan vasta-aineiden tuotannossa ja B-solujen erilaistumisessa. Sitä tavataan ihmisellä B-lymfosyyttien lisäksi mm. monosyyteissä ja follikulaarisissa dendriittisolussa.

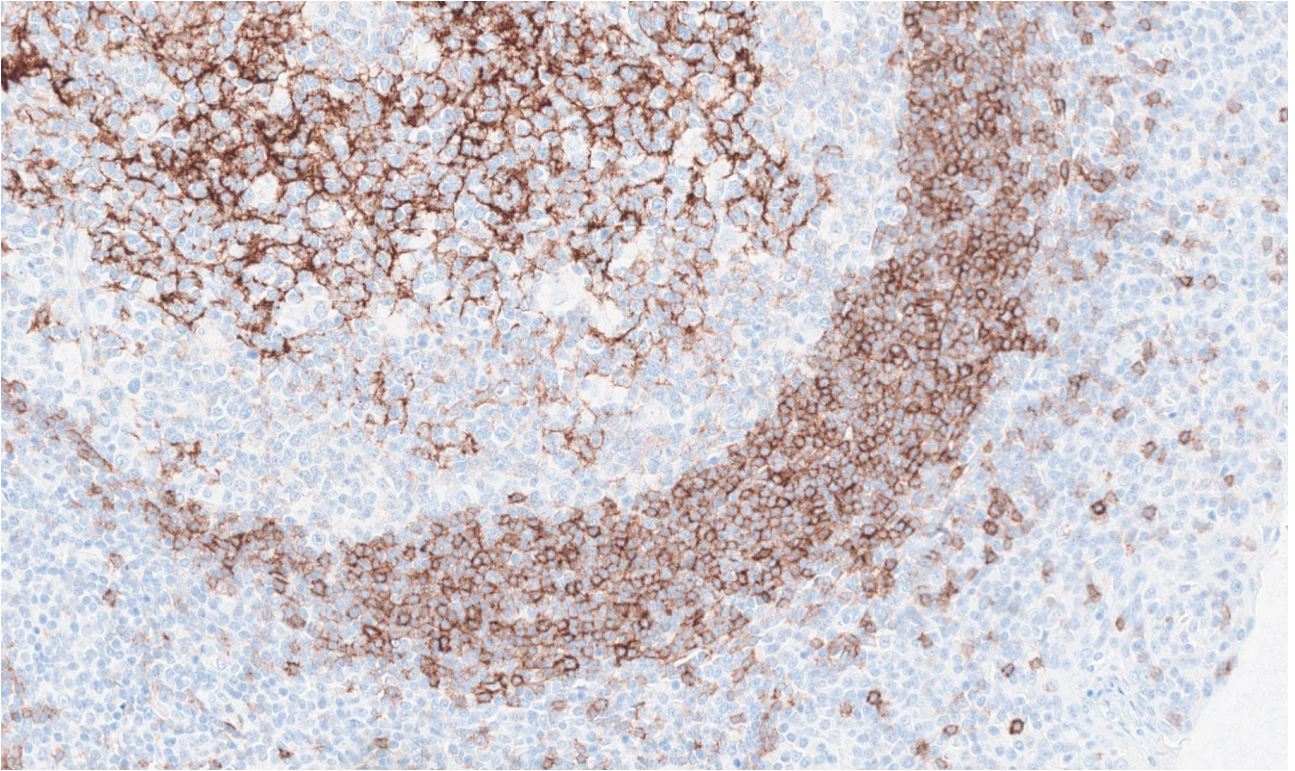
Kliininen käyttö: CD23 ilmenee tyypillisesti kroonisessa lymfaattisessa leukemiassa sekä joskus follikulaarisessa lymfoomassa, mutta sitä ei esiinny vaippasolulymfoomassa. Sitä käytetään pieni B-solu lymfoproliferatiivisten häiriöiden paneeleissa.

Kontrollit: Tonsilla on suositeltava kudoksetrolli CD23:lle. (Dako, NordiQC.) Immunohistokemian työpisteellä kontrollina CD23:lle on käytössä multiblokki, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

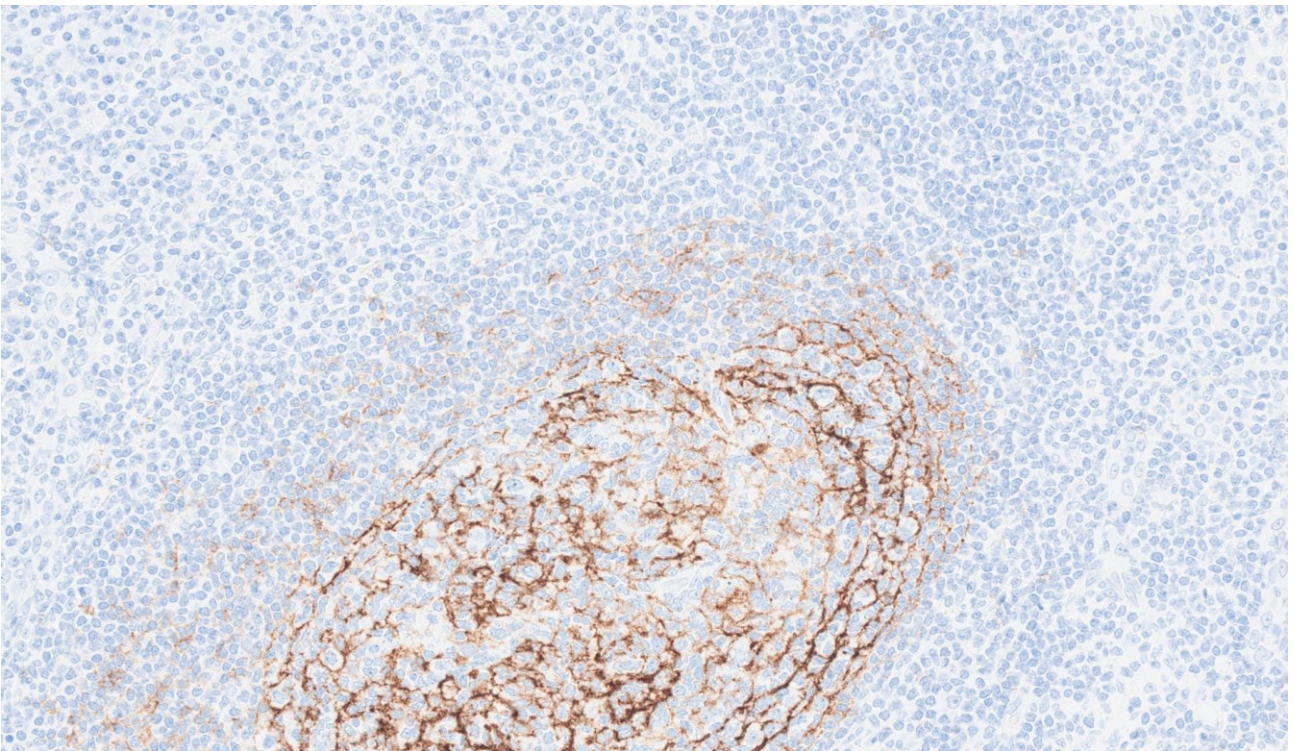
Spesifi positiivisuus: Follikulaariset dendriittisolut itukeskuksessa värjäytyvät ja follikkeleiden **vaippavyöhykkeellä** valtaosan aktivoituneista **B-soluista** tulee ilmentää vahvuudeltaan heikosta kohtalaiseen olevaa **värireaktiota solukalvolla. Epiteelisoluissa ja T-soluissa ei esiinny värireaktiota** itukeskusten välisellä alueella.



Tonsilla 10x, Positiivinen kontrolli. Follikulaariset solut ja vaippavyöhykkeen B-solut positiivisia.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli, optimaalinen.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli, vielä hyväksyttävän rajoissa (leikkeen paksuus/värjäysvaihtelut vaikuttaa). Suboptimaalinen/heikko.

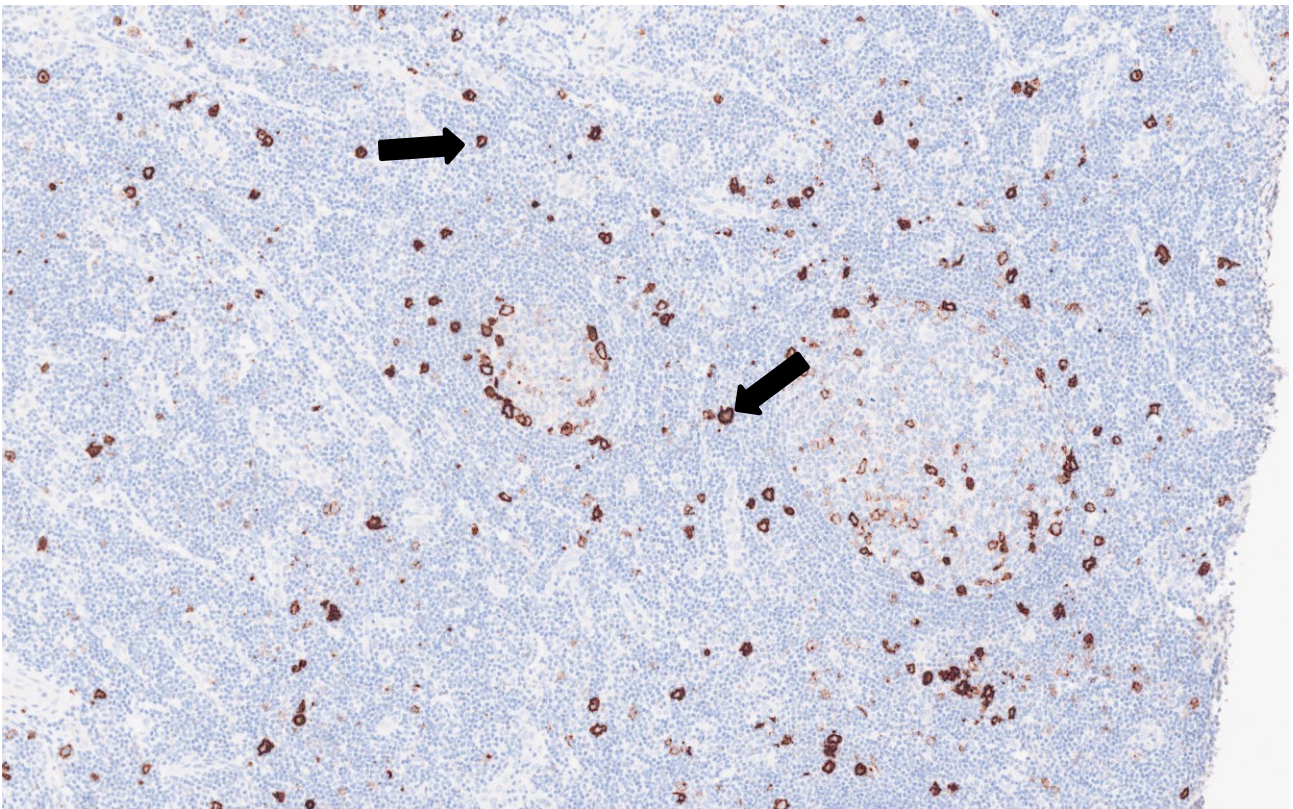
CD30

Yleistä: CD30 kuuluu tuumorinekroosireseptoritekijän (TNF-R) superperheeseen, joka käsittää yli 10 eri jäsentä. Sillä on ekstrasytoplasmisen domeeni, transmembraanialue, sekä sytoplasmisen domeeni. Ihmisen CD30:n vastaisista vasta-aineista suurin osa tunnistaa epitoopit ekstrasytoplasmisessa domeenissa. CD30-proteiinia esiintyy useimpien solujen pinnalla, kuten esimerkiksi aktivoituissa B- ja T-lymfosyyteissa, plasmak soluissa, NK-soluissa, monosyyteissa ja imusolmukkeen suurissa lymfoidisoluissa.

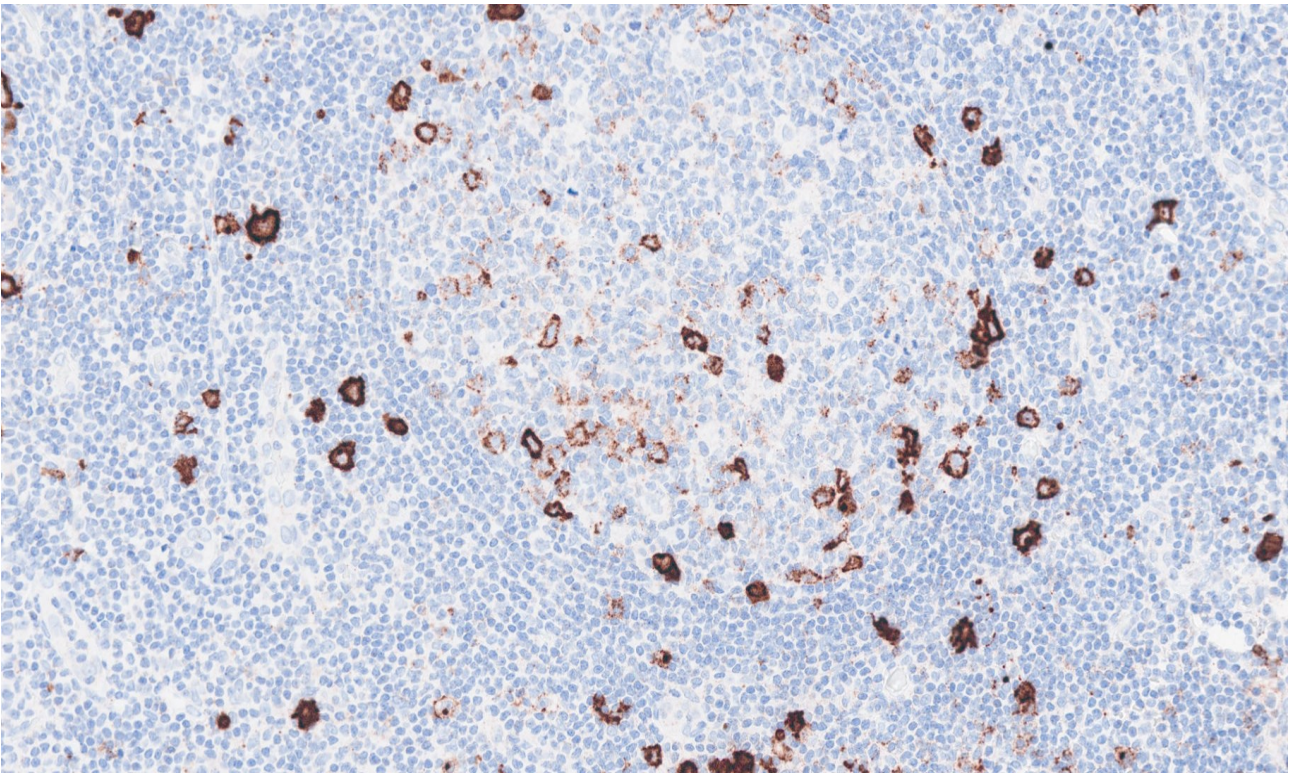
Kliininen käyttö: Käytetään Hodgkinin lymfoomassa esiintyvien Reed-Sternberg solujen tunnistamisessa ja anaplastisen suurisoluisen lymfooman, diffuusin suurisoluisen B-solulymfooman anaplastisen variantin (av-DLBCL, sekä CD30-positiivisen ihon proliferatiivisen häiriön diagnostiikassa. CD30 ilmentymistä on havaittu myös alkioleesiin ja joissakin seminoomissa.

Kontrollit: Tonsillaa suositellaan sekä positiiviseksi että negatiiviseksi kontrolliksi. (Dako, NordiQC.) CD30 kontrollina käytetään multiblokkia, joka sisältää tonsillan, maksan ja suolen.

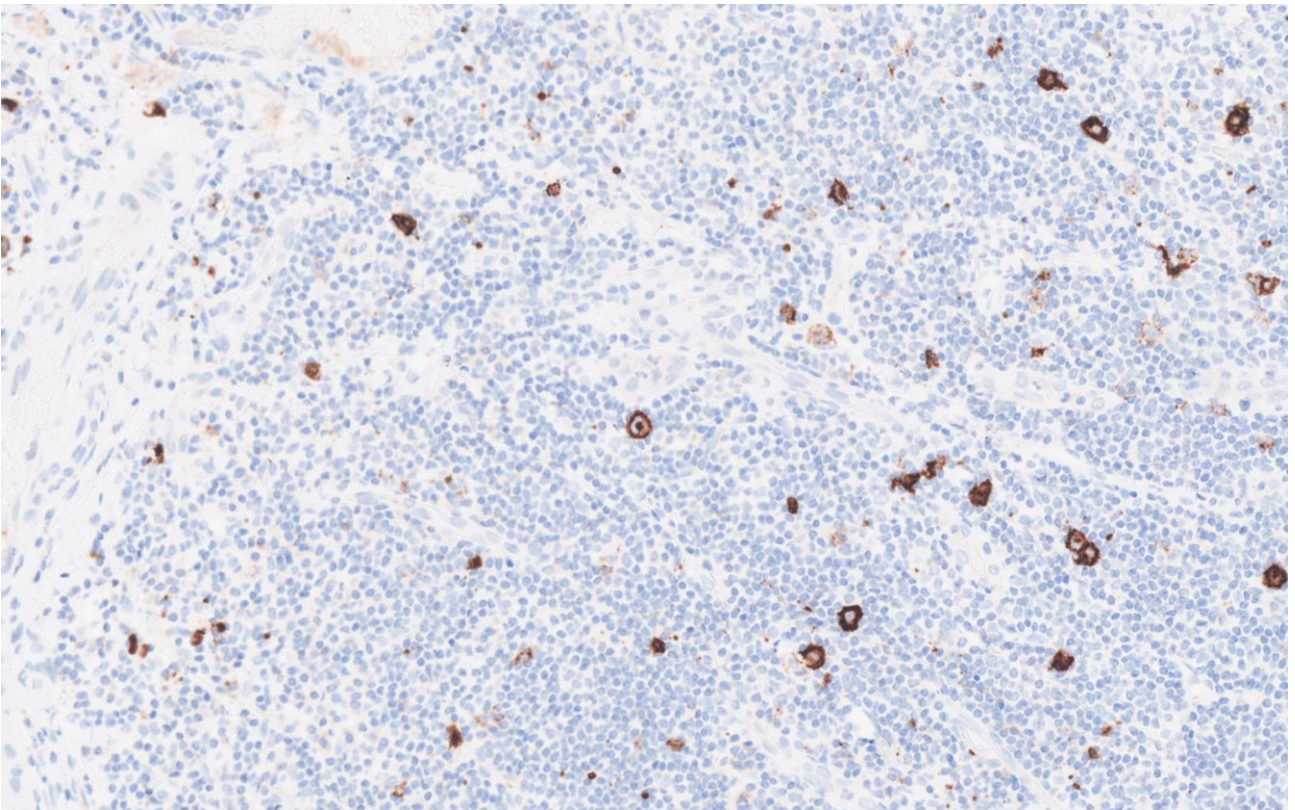
Spesifi positiivisuus: Aktivoituissa follikulaarisissa T- ja B-soluissa, sekä itukeskusten reunalla olevissa aktivoituissa B-soluissa tulisi ilmetä heikkoa tai kohtalaista, mutta erottuvaa solukalvon värjäytymistä. Käytännössä kaikkien **muiden solujen on oltava negatiivisia**. Käytettäessä Ber-H2 vasta-ainekloonina, voi plasmak soluissa ilmetä pistemäistä paranukleaarista värjäytymistä. **JCM182 vasta-ainekloonin** voi ilmentää positiivista värjäytymistä **makrofageissa sekä endoteelisoluissa**.



Tonsilla 10x, Positiivinen näyte. Aktivoitunut T- ja B-solut follikulaarisella alueella ja aktivoitunut B-solut itukeskuksen reunalla värjäytyvät solukalvolta.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Aktivoidut T- ja B-solut follikulaarisella alueella ja aktivoidut B-solut itukeskuksen reunalla värjäytyvät solukalvolta.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli.

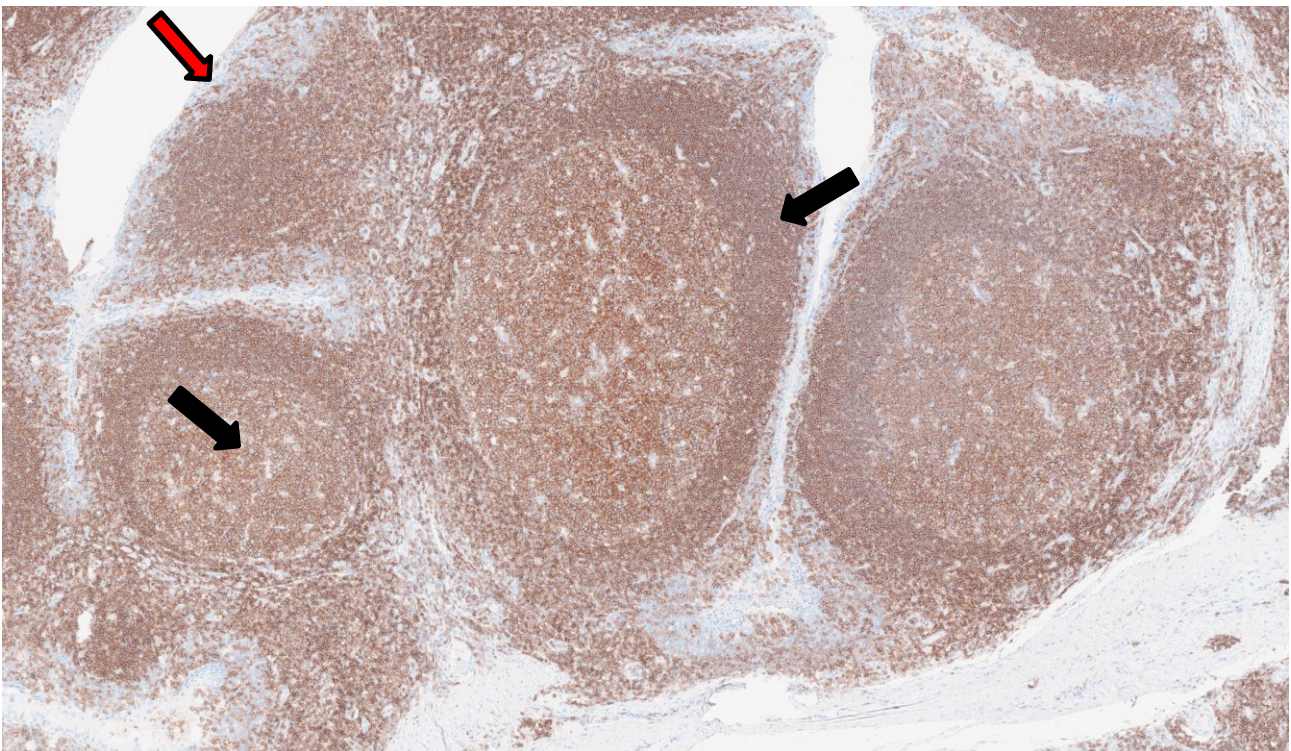
CD45

Yleistä: CD45 antigeenit ovat yksiketjuisia transmembraanisia glykoproteiineja, jotka osallistuvat signaalien välitykseen ja immunologisten toimintojen säätelyyn. Niitä tavataan kaikissa hematopoieettisissa soluissa lukuun ottamatta kypsiä punasoluja.

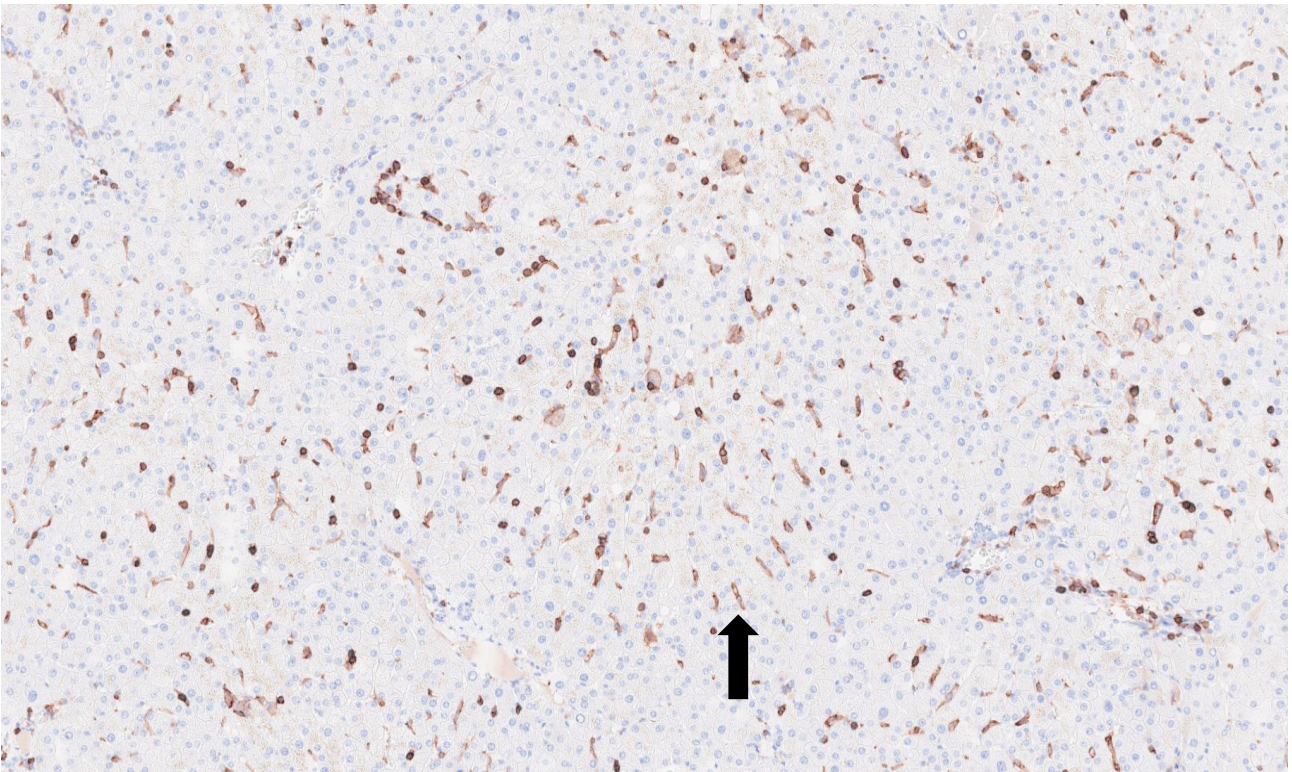
Kliininen käyttö: CD45- vasta-ainetta käytetään lymfooman yleismarkkerina. CD45 havaitaan suurimmassa osassa lymfoidisissa neoplasioissa kuten leukemoissa ja lymfoomissa. Noin 90 % maligneista lymfoomista on CD45-positiivisia. Se on tärkeä primaareissa kasvainpaneeleissa, joissa sitä käytetään tunnistamaan lymfoidista erilaistumista.

Kontrollit: Tonsilla ja maksa ovat suositeltavia kudokset kontroleja CD45:lle. (Dako, NordiQC.) Immunohistokemian työpisteellä kontrollina CD45:lle on käytössä multiblokki, joka sisältää tonsillan, suolen ja maksan.

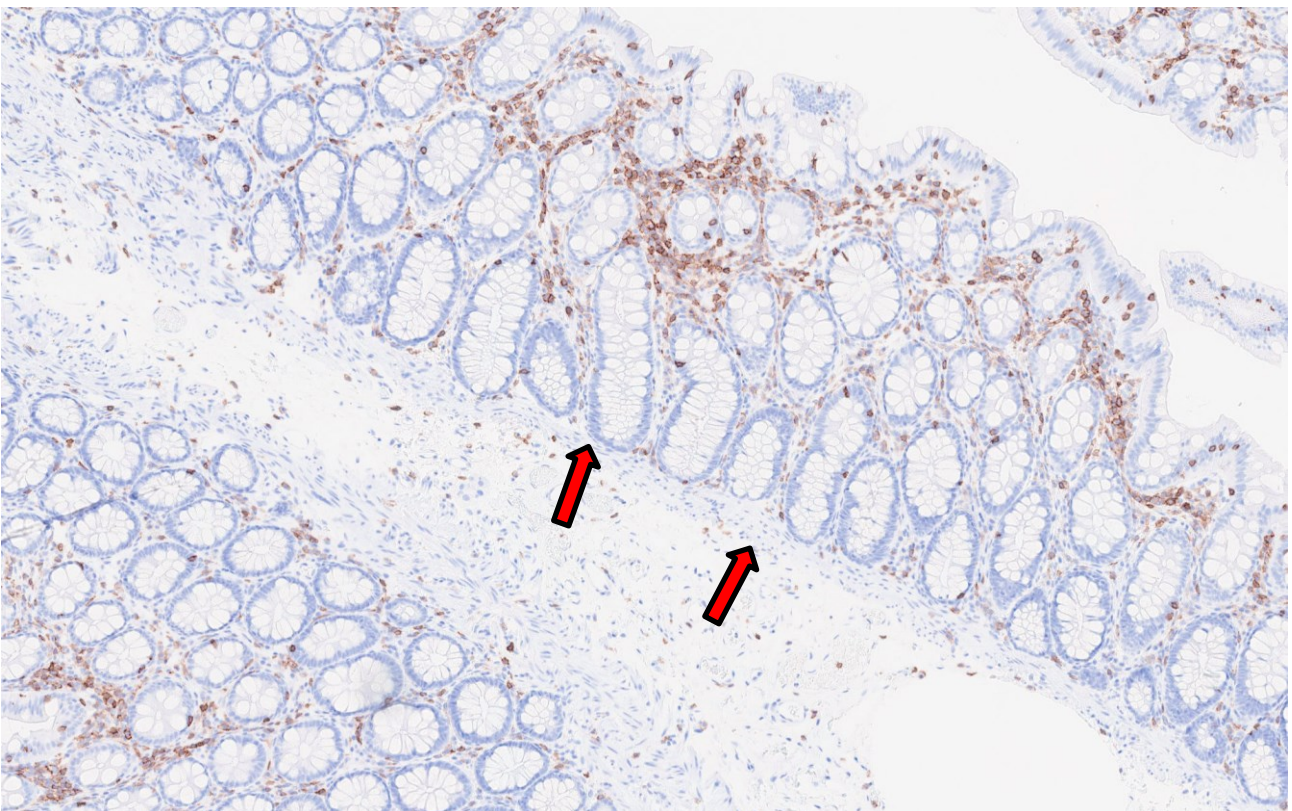
Spesifi positiivisuus: Tonsillassa kaikki B- ja T-solut sekä histiosyytit värjäytyvät voimakkaasti solukalvolta. Levyepiteelisolut eivät värjäydy. **Maksassa Kupferin soluissa** voidaan havaita **heikosta kohtalaiseen oleva värjäysreaktio**, kun taas **hepatosyytit jäävät negatiiviseksi.** **Maksassa** voidaan havaita hajanaisia **lymfosyyttejä**, joiden **solukalvot värjäytyvät** voimakkaasti. **Suolessa hajanaiset lymfosyytit värjäytyvät voimakkaasti.**



Tonsilla 5x, positiivinen kontrolli. Kaikki B- ja T-solut värjäytyvät. Levyepiteelisolut negatiivisia (punainen nuoli).



Maksa 10x, Positiivinen kontrolli. Kupferin solut positiivisia (Histiosyytti-linja), Maksasolut negatiivisia.



Suoli 10x, Positiivinen kontrolli. Limakalvon välitilassa positiivisia lymfosittejä. Epiteeli jää negatiiviseksi ja Muscularis mucosa (punainen nuoli).

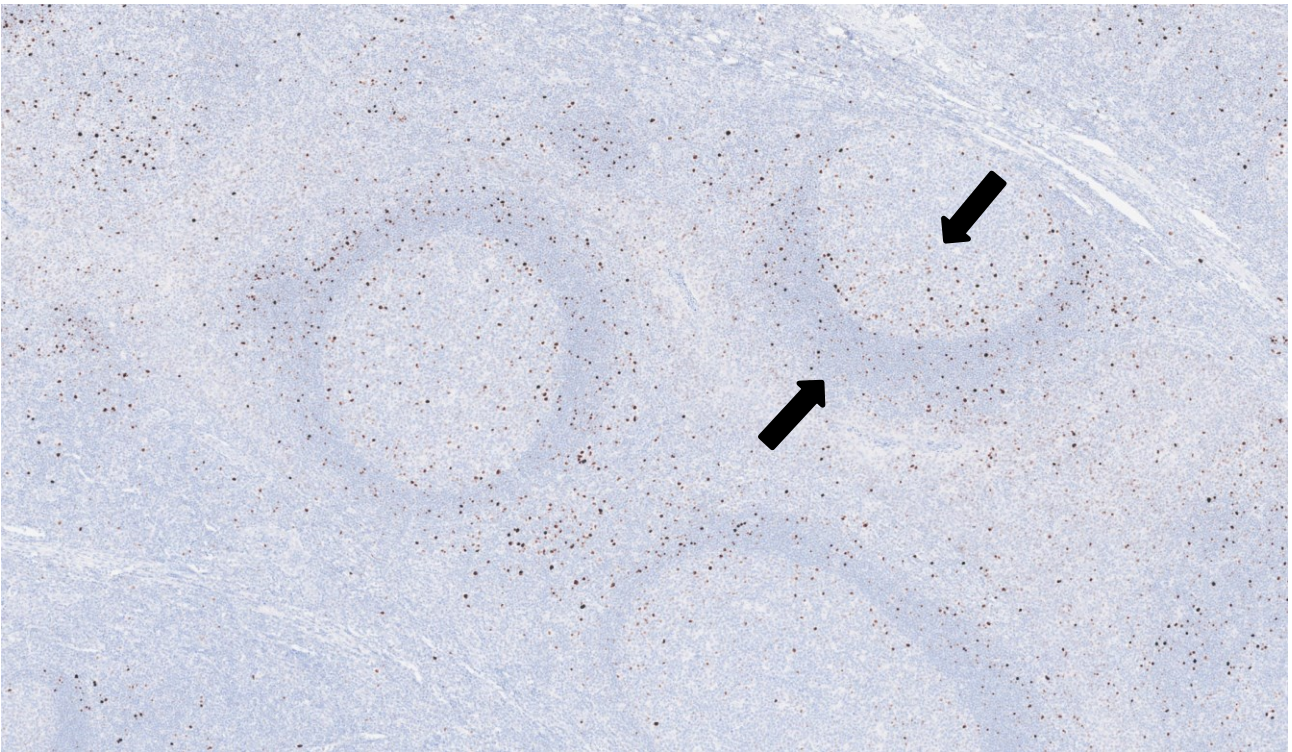
C-MYC

Yleistä: Proto-onkogeneeni c-MYC koodaa tuman fosfoproteiinia, joka toimii kasvun edistäjänä ja transkriptiotekijänä säädellen erilaisia solutoimintoja, kuten solujen kasvua, erilaistumista ja apoptoosia. C-MYC osallistuu kaikista ihmisen geeneistä 10–15 prosentin säätelyyn ja sen arvioidaan olevan osallisena 20 prosentissa kaikista ihmisen syövästä. C-MYC on välttämätön B-solujen varhaiselle kehitykselle luuytimessä, ja c-MYC:n säätelemätön ilmentyminen itukeskuksen B-soluissa lisää onkogeenisten tapahtumien mahdollisuuksia B-solulymfoomien kehittymiselle. c-Myc-geenin mutaatiot, monistuminen, uudelleenjärjestely ja translokaatio on liitetty erilaisiin hematopoieettisiin kasvaimiin, leukemioihin ja lymfoomiin sekä joukkoon erilaisia karsinomia, kuten kilpirauhasen, rintojen ja endometriumien karsinomiin sekä glioomiin.

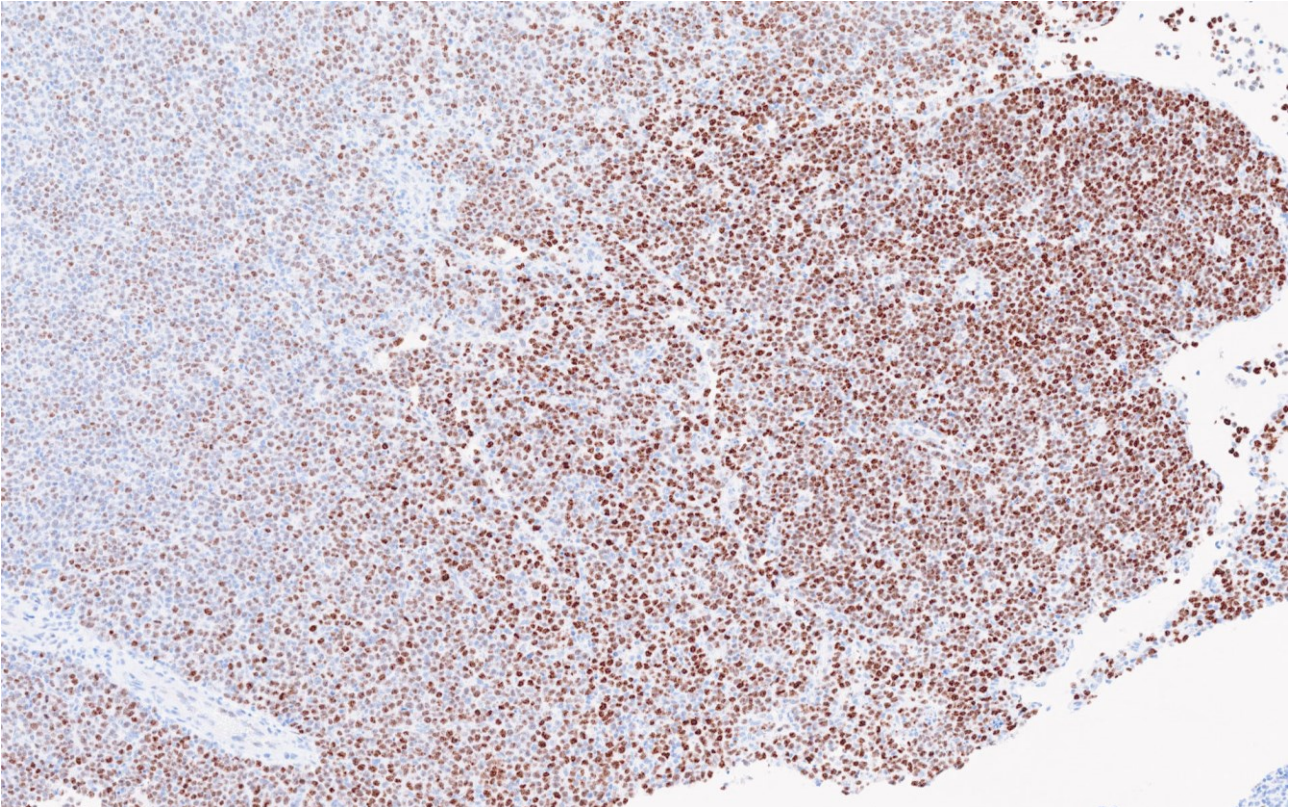
Kliininen käyttö: Immunohistokemiassa c-MYC:in yli-ilmentymisen rajaa (>40 %) käytetään seulomaan ja ennustamaan c-MYC:n uudelleenjärjestelyä ja diffuusin suuren B-solulymfooman (DLBCL) erottamiseen korkeasteisesta B-solulymfoomasta, jossa on c-MYC:n, BCL2 ja/ tai BCL6 uudelleenjärjestelyä tai havaitsemaan niin sanottuja kaksois- ja kolmoislymfoomia, jotka ovat luonteeltaan aggressiivisia. c-MYC-proteiini yliekspressoituu 90 prosentissa Burkitt-lymfoomista, ja sen aiheuttaa c-Myc-geenin translokaatio.

Kontrollit: Tonsillaa ja paksusuolta suositellaan c-MYC:n positiiviseksi ja negatiiviseksi kontrolliksi. (Dako, NordiQC.) C-MYC:ille on käytössä oma kontrolli, joka keskittyy translokaatioon tonsillassa.

Spesifi positiivisuus: Tonsillassa vaippavyöhykkeen B-solujen heikko ja selkeä **tuman värjäytymisreaktio** pitäisi nähdä noin **10–20 prosentissa soluja**. **Paksusuoleessa** heikko tai kohtalainen **tuman värjäytymisreaktio** tulisi näkyä hajallaan olevissa **epiteelisoluissa basaalikryptoissa**, kun taas **luminaalisten epiteelisolujen** ja **lihaskerroksen sileän lihassolujen** tulisi olla värjäytymättömiä.



Tonsilla 10x, positiivinen kontrolli. Vaippavyöhykkeen ja reaktiivisen itukeskuksen B-solut positiivisia. Tuman värjäytymisreaktio pitäisi nähdä noin 10–20 prosentissa soluja.



Lymfooma 10x, positiivinen kontrolli. Kudoksessa on MYC-translokaatio, joka aiheuttaa yliekspression.

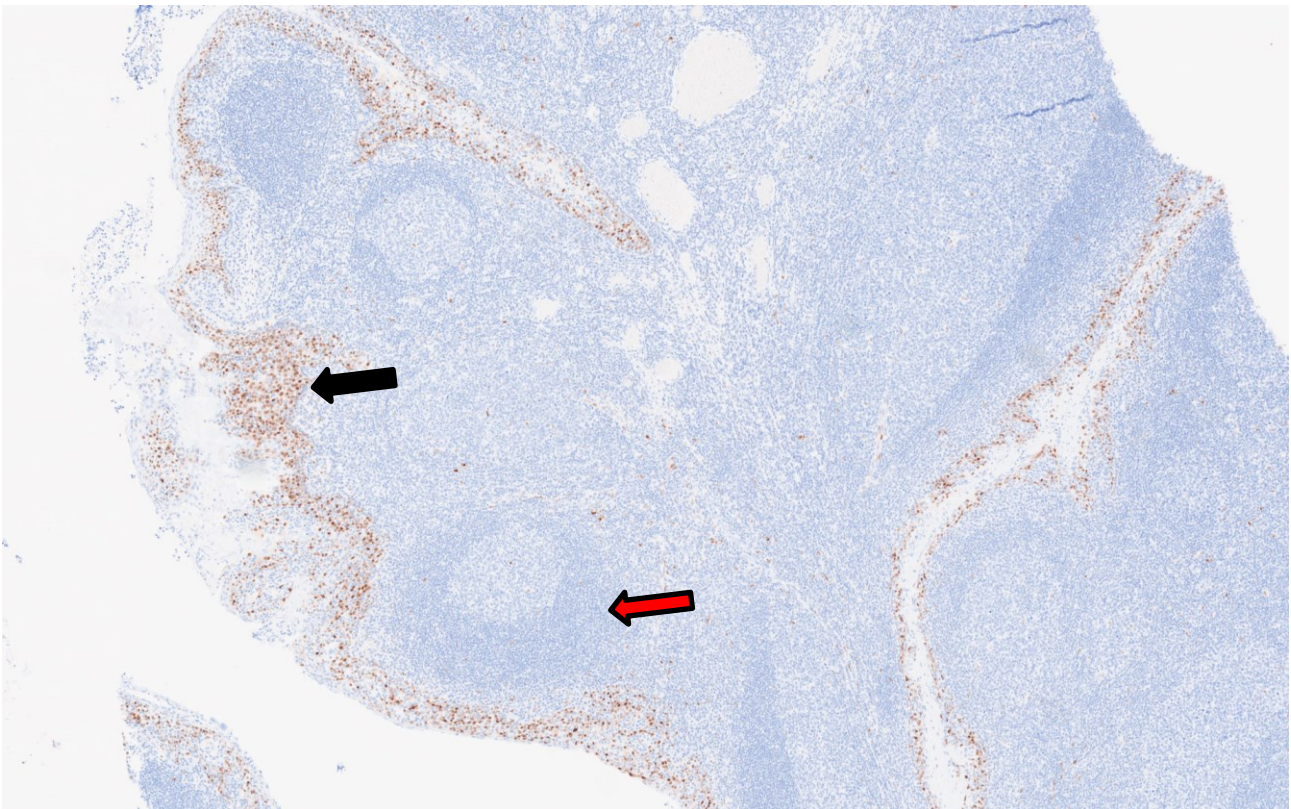
CYCD1

Yleistä: Cyclin D1, eli sykliini D1 on 295 aminohapon muodostama proteiini, jolle ominaista on proteiinien runsauden jaksollisuus koko solusyklin ajan. CYCD1:n geeni sijaitsee kromosomissa 11q13. Sykliinit toimivat sykliiniriippuvaisen kinaasin (CDK) säätelijöinä. Eri sykliineillä on erilaiset ilmentymis- sekä hajoamismallit, jotka vaikuttavat mitoottisten tapahtumien ajalliseen koordinaatioon. Sykliini D1 muodostaa kompleksin yhdessä sen säätelyalaksikon (CDK4 tai CDK6), jonka aktiivisuutta solusyklin G1/S-siirtymiseen tarvitaan. Normaaleissa kudoksissa Cyclin D1 ilmentyminen tapahtuu pääasiassa epiteelikudosten, endoteelin ja joidenkin fibroblastien proliferatiivisella vyöhykkeellä. Imukudoksissa CYCD1 ilmentymistä ei tapahdu.

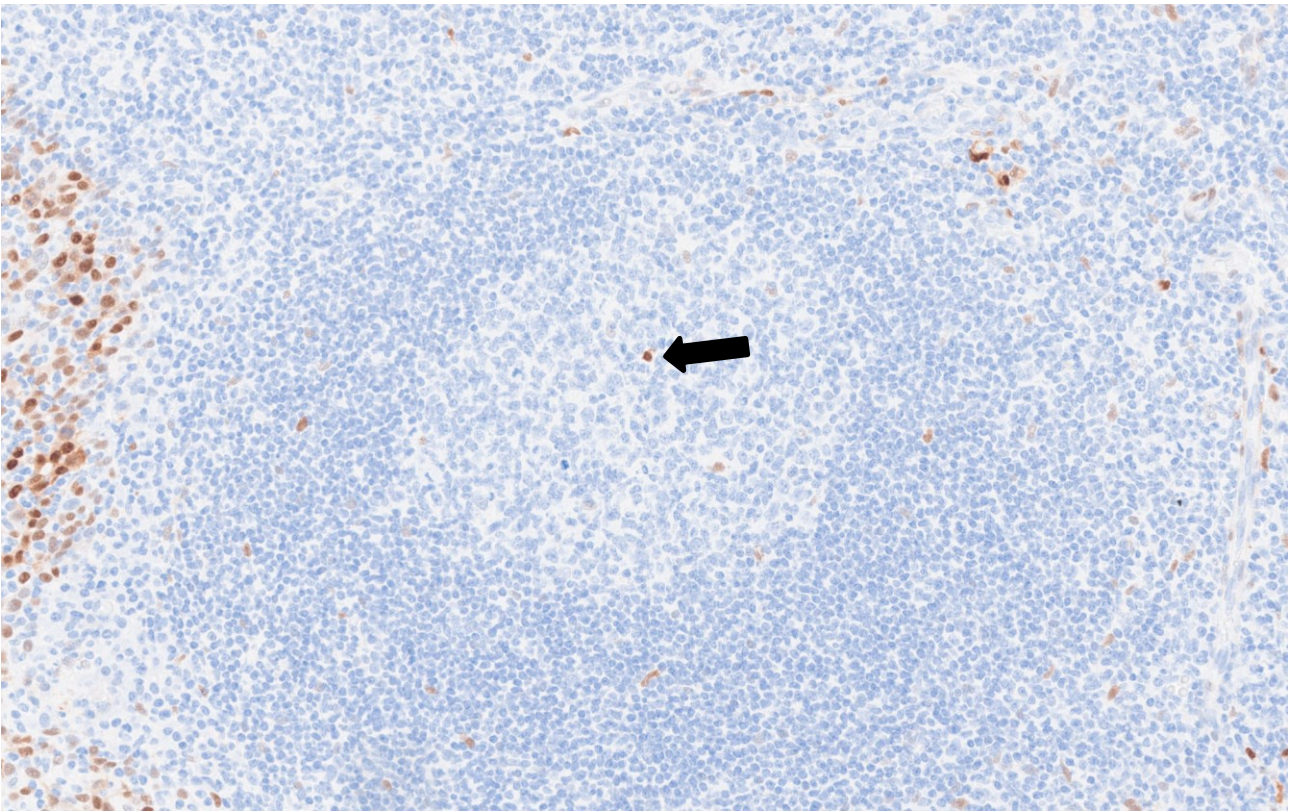
Kliininen käyttö: Cyclin D1 ilmenee pahanlaatuisten B-lymfosyyttien yhteydessä, erityisesti manttelisolulymfoomassa, mutta myös karvasoluleukemiassa ja CD20-positiivisen multippelin myelooman alatyyppissä. CYCD1 voidaan osoittaa myös monista karsinoomatyypeistä, kuten rinta-, paksuolen-, virtsarakon ja kilpirauhasen karsinoomista, sekä spitz-nevus- ja pahanlaatuisesta melanoomasta.

Kontrollit: Tonsillaa suositellaan käytettäväksi sekä negatiiviseen että positiiviseen kontrolliin. (Dako, NordicIQ.) CYCD1 kontrollina on käytössä multiblokki, joka sisältää tonsillan, maksan ja suolen.

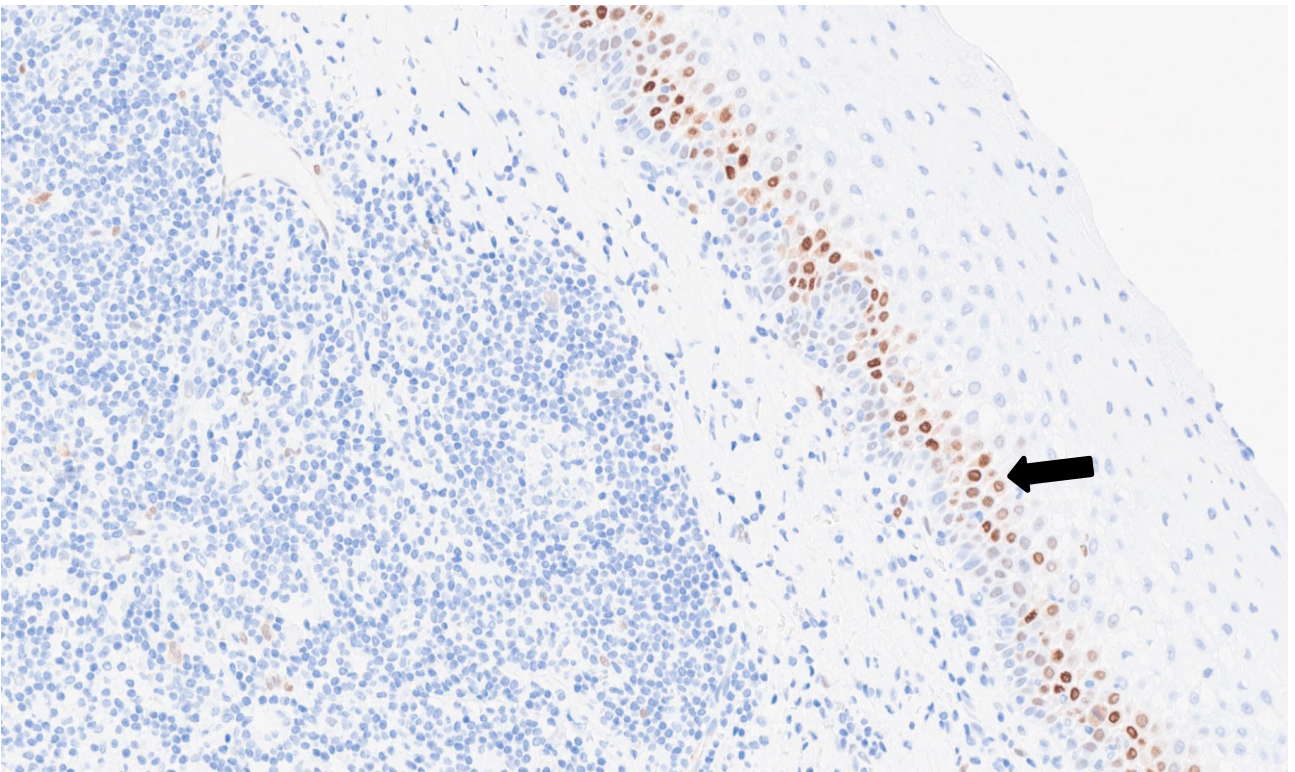
Spesifi positiivisuus: Käytännössä kaikkien **suprabasaalisten levyepiteelisolujen**, erillään olevien **lymfosyyttien** ja **endoteelisolujen** tumien tulee osoittaa **kohtalaista tai voimakasta, erottuvaa tuman värjäytymistä**. Itukeskusten **makrofageissa** tulisi nähdä **heikkoa tuman värjäytymistä**, sekä mahdollista **heikkoa värjäysreaktiota solulimassa**. Vaippavyöhykkeellä, sekä itukeskuksissa olevien **B-solujen** tulisi olla **negatiivisia**.



Tonsilla 5x, Positiivinen kontrolli. Levyepiteelisolut värjäytyvät tumasta, Vaippavyöhyke negatiivinen.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Hajasirotteisia positiivisia lymfositteja.



Tonsilla 20x, positiivinen kontrolli. Levyepiteelin basaalin positiivisuus.

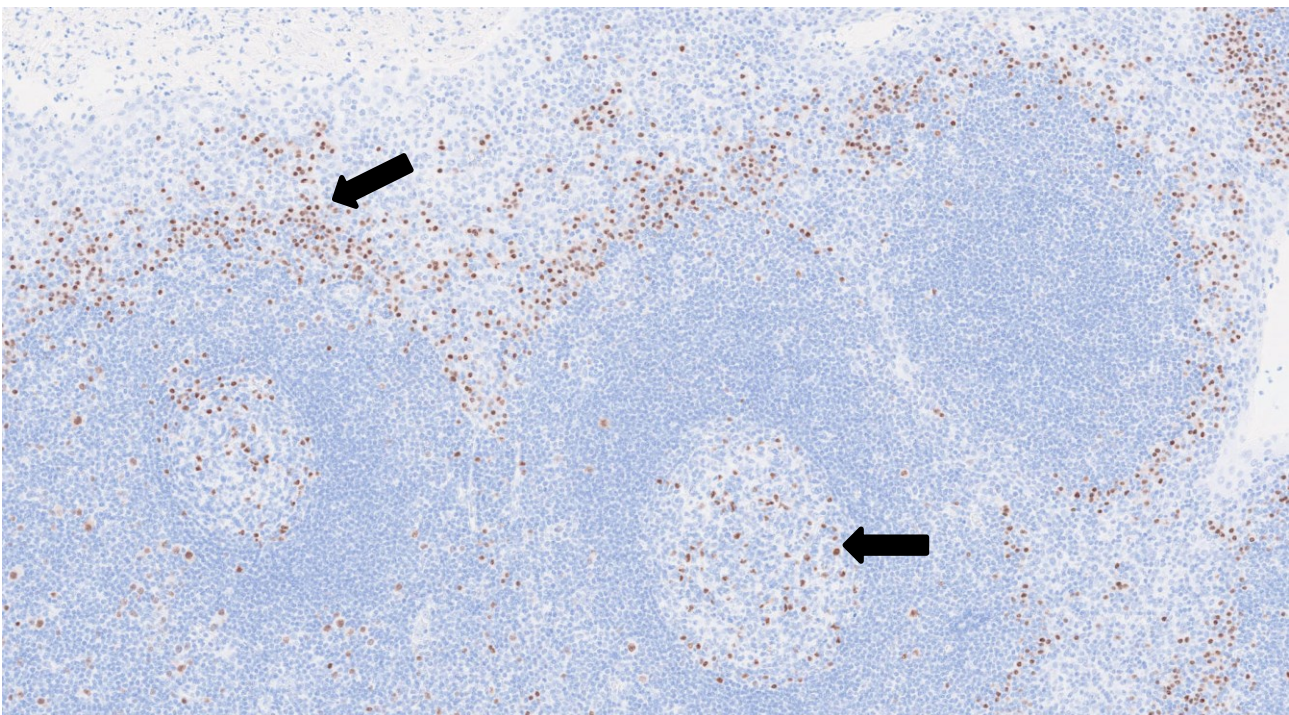
MUM1

Yleistä: Multipple myelooma onkogeneeni 1 (MUM1) kuuluu IRF-geeniperheeseen (interferon regulate factor), ja ne osallistuvat solujen kasvun säätelyyn, transformaatioon, apoptoosin induktioon sekä T-solujen immuunivasteen kehittämiseen. MUM1 toimii tuman transkriptiotekijänä ja on välttämätön B-lymfosyyttien kehitykselle ja aktivaatiolle. MUM1:llä on tärkeä rooli geenien ekspression säätelyssä vasteena interferonille ja muille sytokiineille.

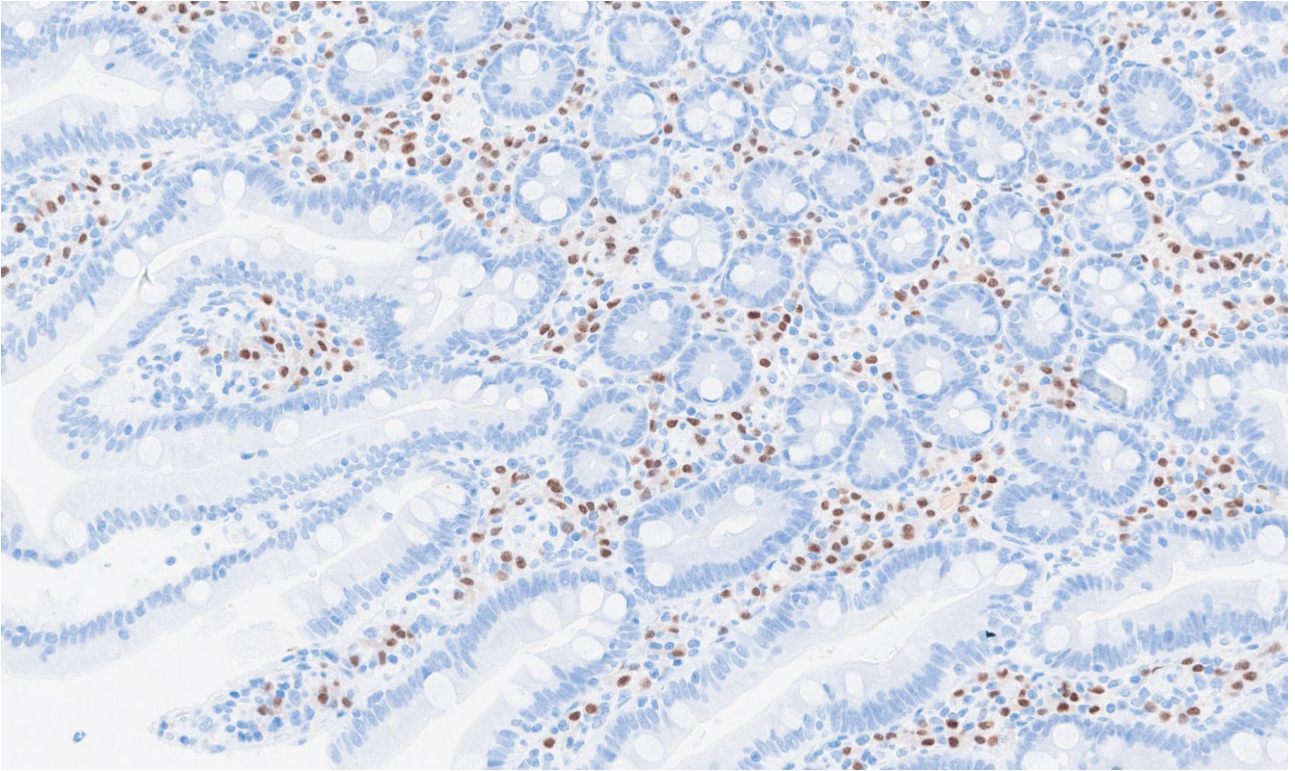
Kliininen käyttö: MUM1 esiintyy pääasiassa B-solulymfoomassa ja melanosyyttisissä leesioissa. Positiivisuudessa havaitaan merkittävää vaihtelua, joka johtuu pääasiassa kromosomaalisista translokaatioista, joihin liittyy MUM1-geeni T-solulymfoomien joukossa. Muiden kuin lymfosyyttisten ja melanosyyttisten linjojen kasvaimet ja proliferatiot ovat negatiivisia. MUM1-vasta-ainetta on hyödyllistä käyttää paneelissa, jossa on mukana muita markkereita pahanlaatuisten lymfoomien alaluokitukseen ja plasmisolujen erilaistumisen tunnistamiseen. Erityisesti MUM1 voi olla hyödyllinen plasmisolujen erilaistumisen tunnistamisessa, kun morfologiset todisteet puuttuvat ja Ig-kevytketjuja on vaikea tulkita.

Kontrollit: Tonsillaa suositellaan positiiviseksi kontrolliksi ja paksusuolta negatiiviseksi kontrolliksi. (Dako, NordiQC.) MUM1 kontrollina käytetään multiblokkia, jossa on mukana tonsilla, suoli ja maksa.

Spesifi positiivisuus: Reaktio tapahtuu tumassa ja solulimassa. Tonsillassa **myöhäisen vaiheen itukeskusten B-soluissa** on oltava kohtalainen tai voimakas erottuva **tumavärjäytyminen**. **Plasmasolut** värjäytyvät voimakkaasti ja heikko värjäytyminen solulimassa on hyväksyttävää. Erittäin herkkien protokollien mukaan heikko tumavärjäytyminen voidaan nähdä **osassa B-soluja**, jotka sijaitsevat vaippavyöhykkeellä. **Epiteelisolut** tonsillassa ovat **negatiivisia**. Paksusuolen **epiteelisolujen ja sileälihassolujen** (lamina muscularis propria) tulee olla **negatiivisia**, ja vain **limakalvolla** (lamina propria) sijaitsevilla **plasmasoluissa** tulisi olla voimakas **tumareaktio**.



Tonsilla 10x, positiivinen kontrolli. Myöhäisen vaiheen B-solut sekä plasmasolut värjäytyvät. Manttelisolut jäävät negatiiviseksi.



Colon 20x, Positiivinen kontrolli, Epiteeli jää negatiiviseksi.

VIRHELÄHTEET

Vasta-aineiden toimivuuden kannalta on tärkeää huomioida fiksaation vaikutukset. Esimerkiksi liian pitkä fiksaatioaika heikentää reaktiota ja voi peittää solukalvoon liittyviä antigenejä. Voimakkaamalla esikäsitelyllä liian pitkän fiksaation vaikutuksia voidaan palauttaa. Liian lyhyt formaliinifiksatio tuottaa pysyviä ongelmia, koska kudoksen keskiosa fiksoituu kudosprosessissa etanoliilla. Vasta-aineet reagoivat eri tavalla näytteen keskellä etanolifiksaation vuoksi, kuin sen reunoiilla, missä formaliinifiksatio on vaikuttanut. Liian pitkä kylmä-iskeeminen aika voi pilata näytteen, koska autolyttiset entsyymit tuhoavat kudosta.

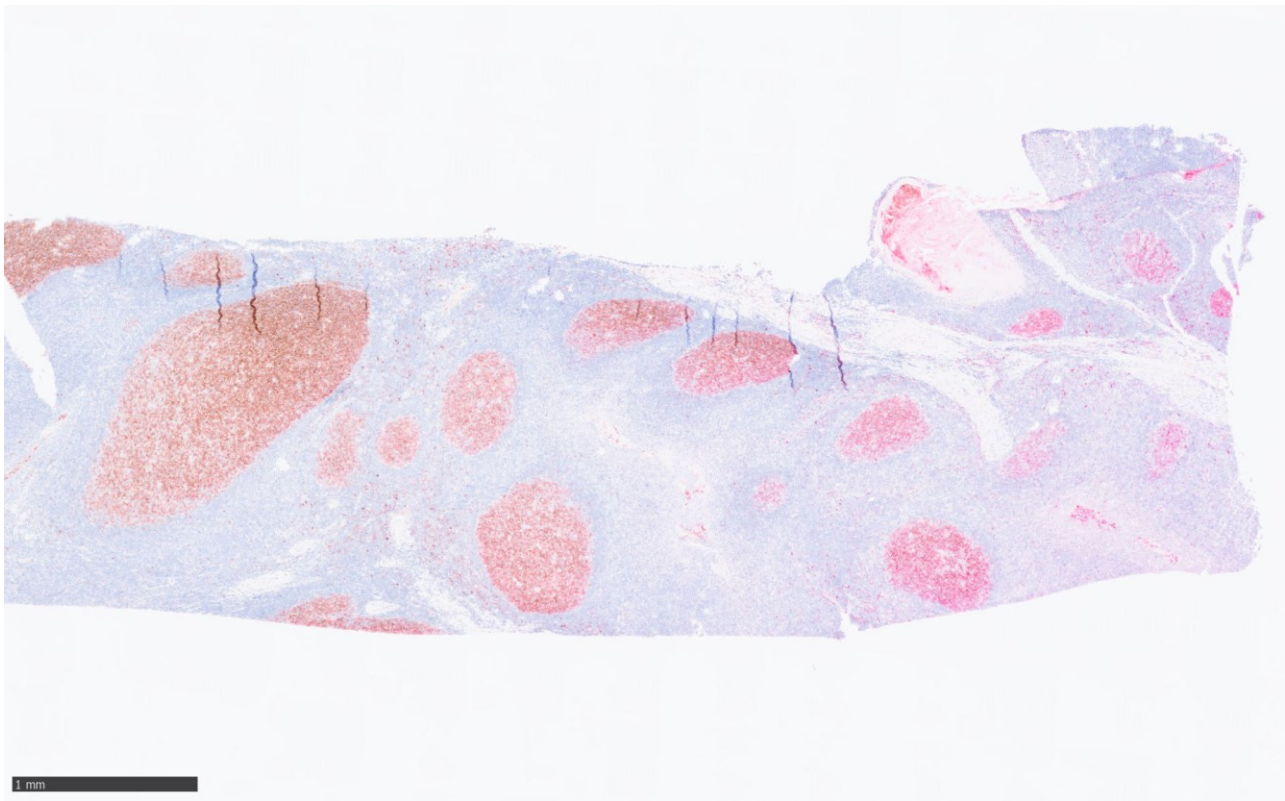
Immunohistokemiallisessa värjäyksessä leikkeiden paksuudet ovat yleensä 3–5 µm, ellei protokolla toisin määrää. Paksummat leikkeet voivat tuoda ongelmia värjäyksen aikana ja ne vaikeuttavat näytteiden tulkintaa solujen monikerroksisuuden vuoksi. Kudosleikkeen paksuus on myös tärkeä protokollien optimoinnissa, sillä paksummat leikkeet värjäytyvät voimakkaammin kuin ohuet leikkeet, koska kudosta, antigenejä ja ”tilaa” on enemmän mihin DAB-lopputuote voi saostua ja paksummat kestävät huonommin lasilla. Kudosleikkeet siirretään veden kautta objektilasille. Valmistajan mukaan suositellaan tiettyjen objektilasien käyttöä optimaalisen tuloksen saavuttamiseksi. Leikkeet tulisi siirtää tasaisesti lasia vasten siten, että värjäyksen aikana leike ei pääse nousemaan, eikä lasin ja leikkeen väliin muodostu ilmakuplia, jotka estävät värjäysreagenssien pääsyn näytteeseen tai aiheuttavat kromogeenikertymiä. Myös repeämät näyteleikkeissä voivat aiheuttaa artefaktia, kun taas liian suuri lämpö leikkeitä käsitellessä aiheuttaa kuivumista.

Antigeenin värjäytyminen voi olla puutteellinen kudoksessa, jossa sen pitäisi olla läsnä aiheuttaen väriä negatiivisia tuloksia. Helpoiten sen tunnistaa, kun positiivinen kontrollikudos ja potilasnäyte ovat molemmat negatiivisia. Tässä tapauksessa tarkistetaan ensin, että on käytetty oikeaa kontrollia ja jos kontrolli on oikea, tulee ongelman syyt selvittää ja kirjata ylös ennen uudelleenvärjäystä. Toisessa esimerkissä positiivinen kontrolli on negatiivinen, mutta potilasnäytteessä on positiivista värjäytymistä joko alueella mitä halutaan tutkia tai jossain kudoksen sisäisessä komponentissa, joka toimii positiivisena kontrollina. Jos tämä sisäinen kontrolli värjäytyy odotetulla tavalla, ei ole välttämättä tarve uusaa värjäystä, mutta kontrollin vika tulee dokumentoida. Kolmannessa esimerkissä positiivinen kontrolli toimii, mutta näyte on negatiivinen. Tässä tyyppissä alkuun voidaan olettaa, että näyte on negatiivinen ja siksi se on vaikea havaita. Kuitenkin tässä vaiheessa olisi hyvä tarkastella, onko mitään kudoksen sisäistä positiivista komponenttia värjäytynyt ja jos tämä ilmenee negatiivisena, tulisi värjäys toistaa.

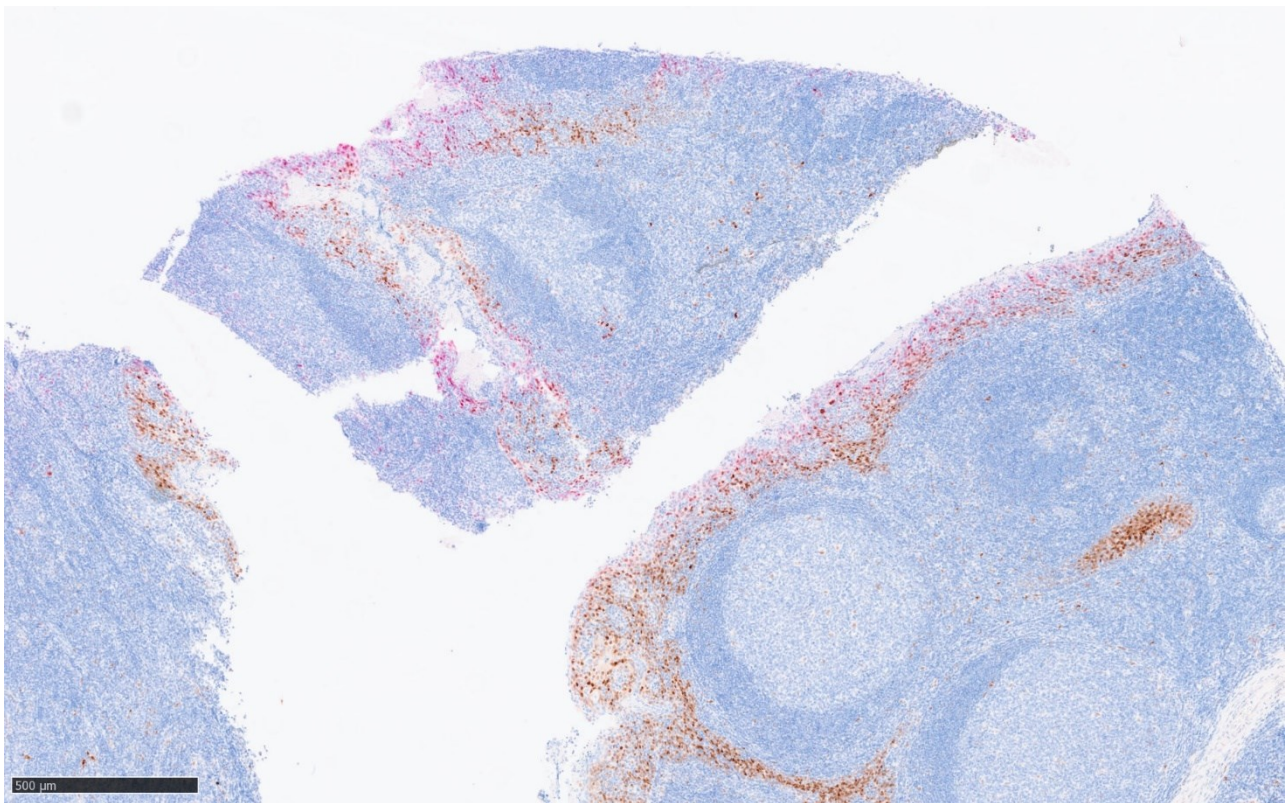
Automaatiota hyödynnettäessä ongelmat voivat olla ihmisen aiheuttamia tai mekaanisia. Ihmisen aiheuttamista virheistä yleisimpiä ovat protokollasta poikkeaminen, kuten jonkun vaiheen unohtaminen tai sen suorittaminen väärässä kohtaa, reagenssien virheellinen käsittely tai väärän mittaiset inkubointiajat. Automaatio on parantanut reagenssien käsittelyä ja näytteiden tunnistamista viivakoodien ja kaupallisten reagenssien ansiosta. Riippuen käytettävästä instrumentista, huono pesu voi tuottaa ongelmia, mikä korostuu kromogeenin käytön aikana epäspesifisenä sakkana ja taustavärjäytymisenä. Yleinen artefaktia aiheuttava tekijä värjäyksessä on myös leikkeen epätasainen vär-

jäytyvyys, jonka aiheuttaa epätäydellinen peitto yhdellä tai useammalla reagenssilla. Laitteen ongelmat voi johtua myös pumpun viasta, tukkeutuneista tai vaurioituneista antureista tai sähkökomponenttien kulumisesta. Viallinen anturi voi esimerkiksi aiheuttaa osittaisen tai tyhjän reagenssin imeytymisen, jolloin näytteen päälle voi tulla ilmakuplia. Myös käyttöjärjestelmän tai internet-yhteyden aiheuttamia ongelmia voi ilmetä analysaattoreilla, jotka on kytketty laboratorion tai sairaalan järjestelmään.

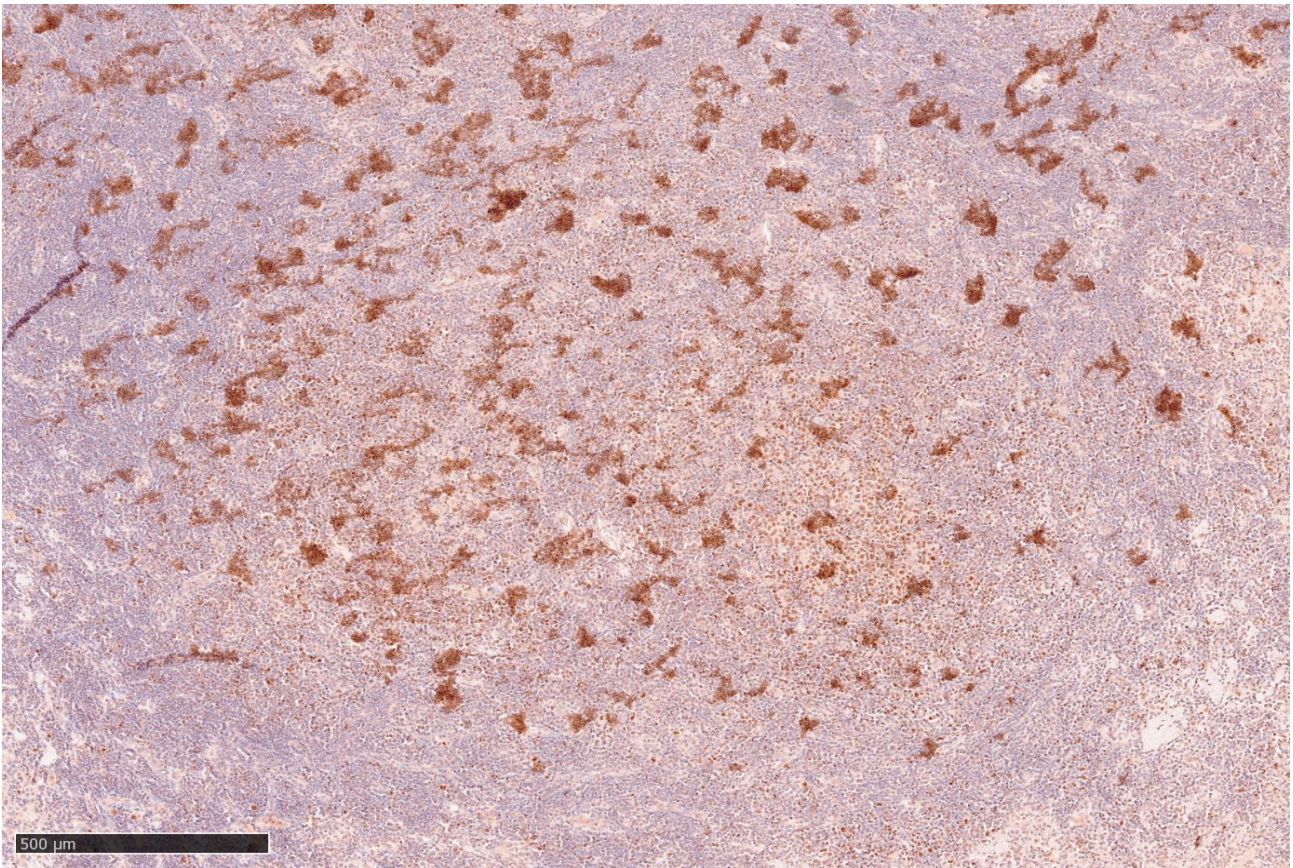
LAITEVIAT



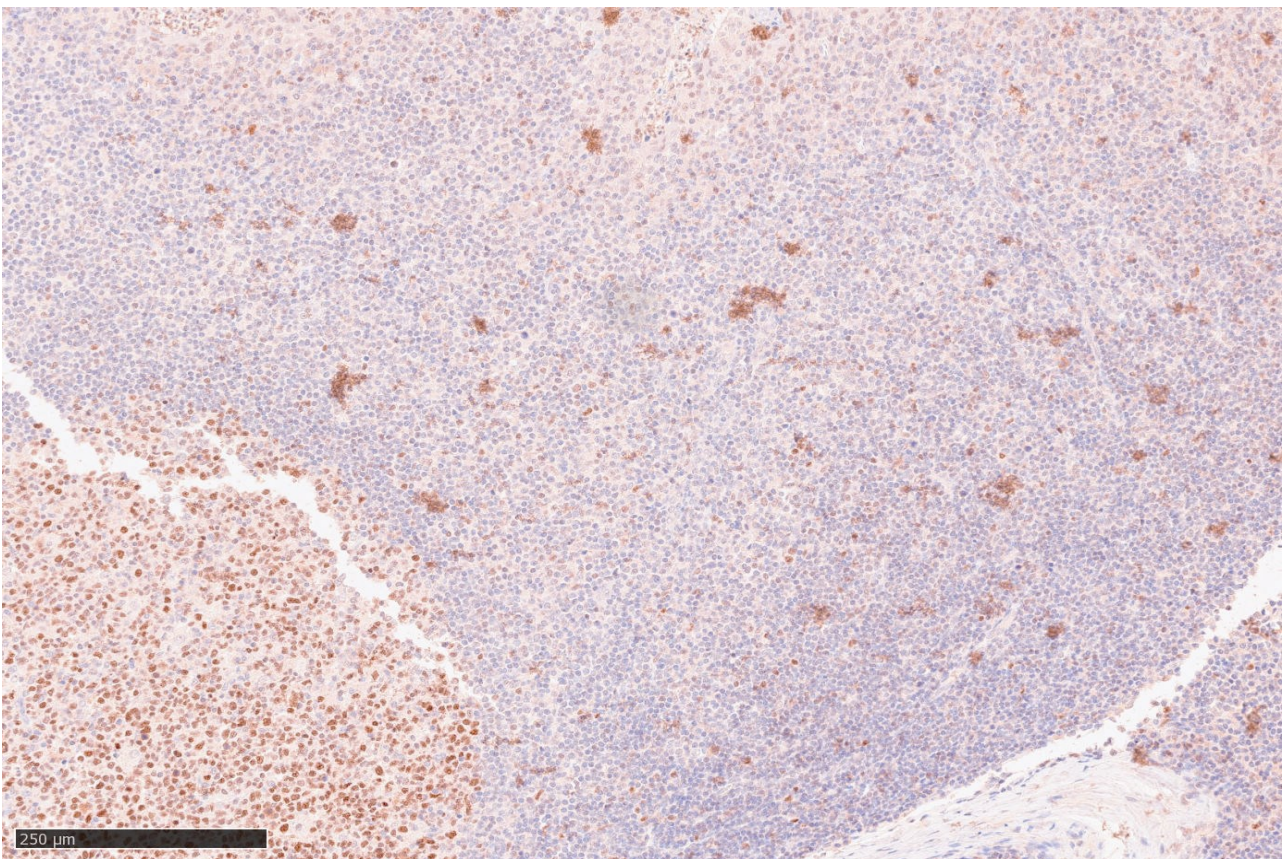
CD10, tonsillakontrolli. Laitevika. kaksi kromogeeniä.



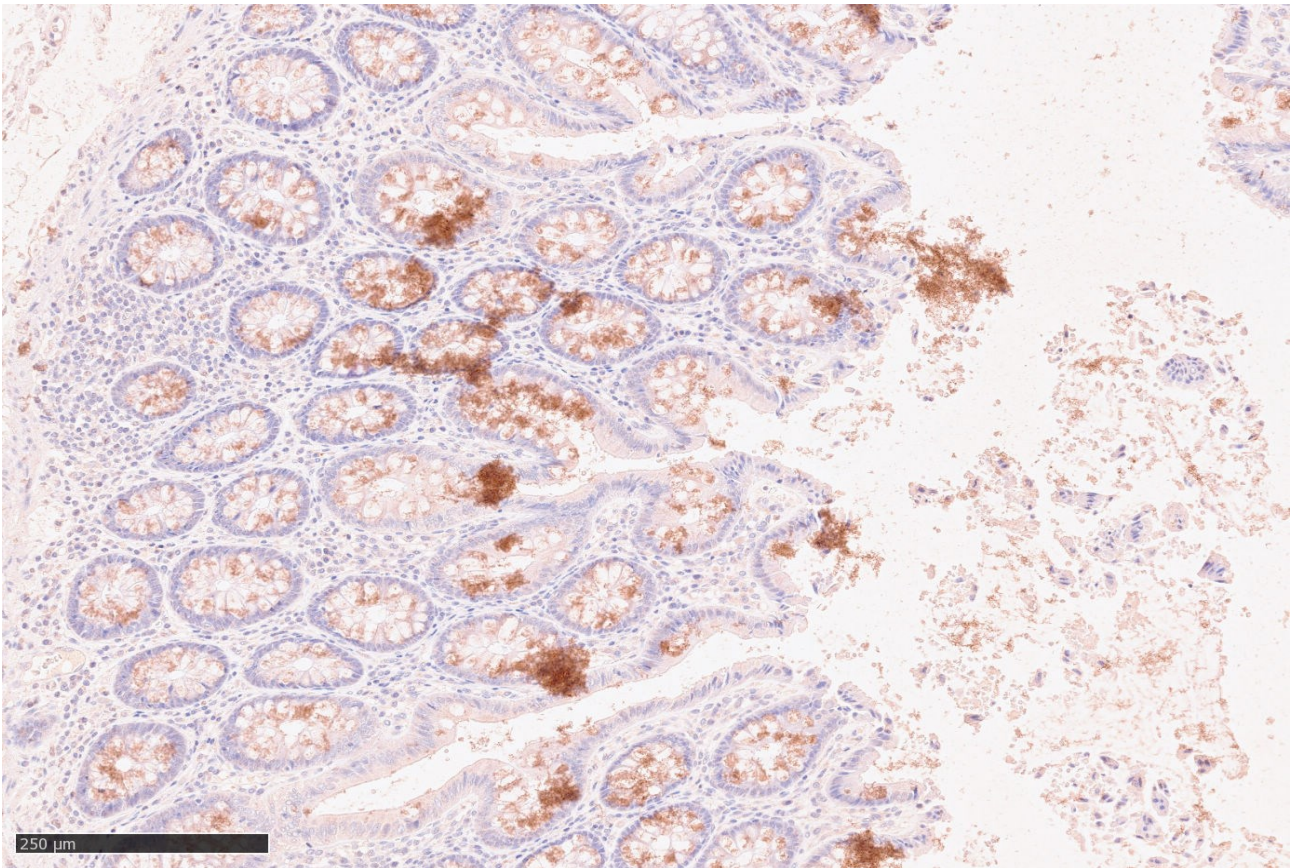
CYCD1, tonsillakontrolli. Laitevika, kaksi kromogeeniä.



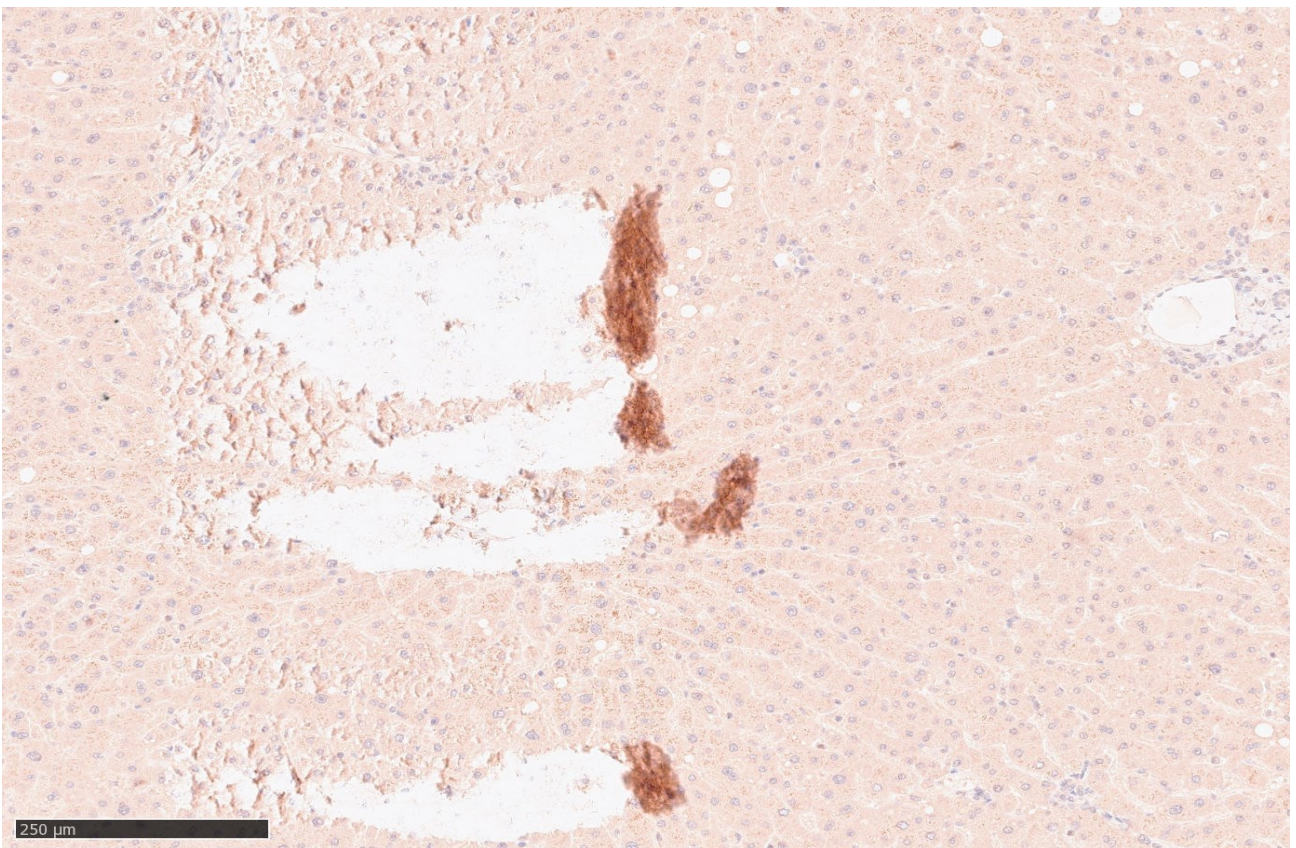
BCL6, tonsillanäyte. DAB sakkaa jäänyt huonon pesun vuoksi.



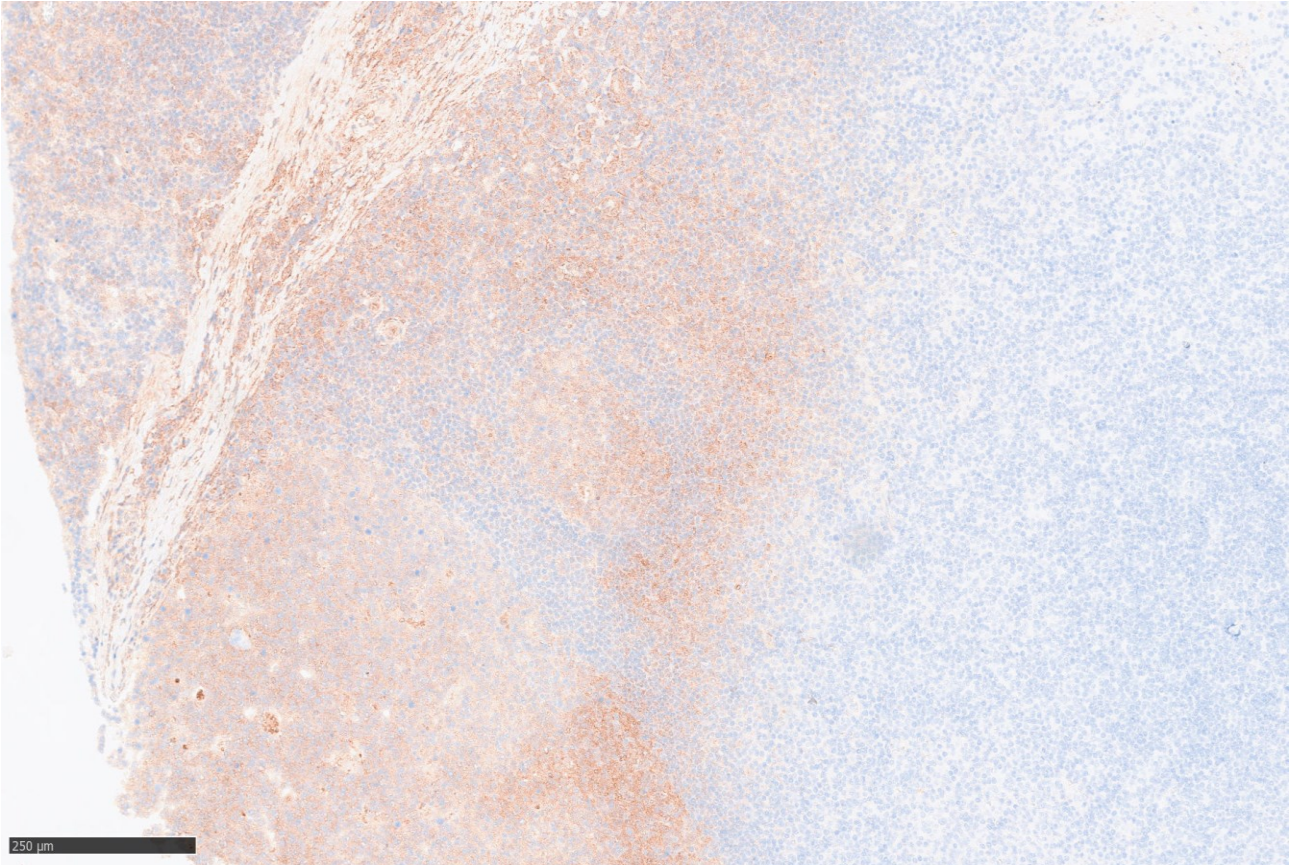
BCL6, tonsillanäyte. DAB sakkaa jäänyt huonon pesun tai laitevian vuoksi.



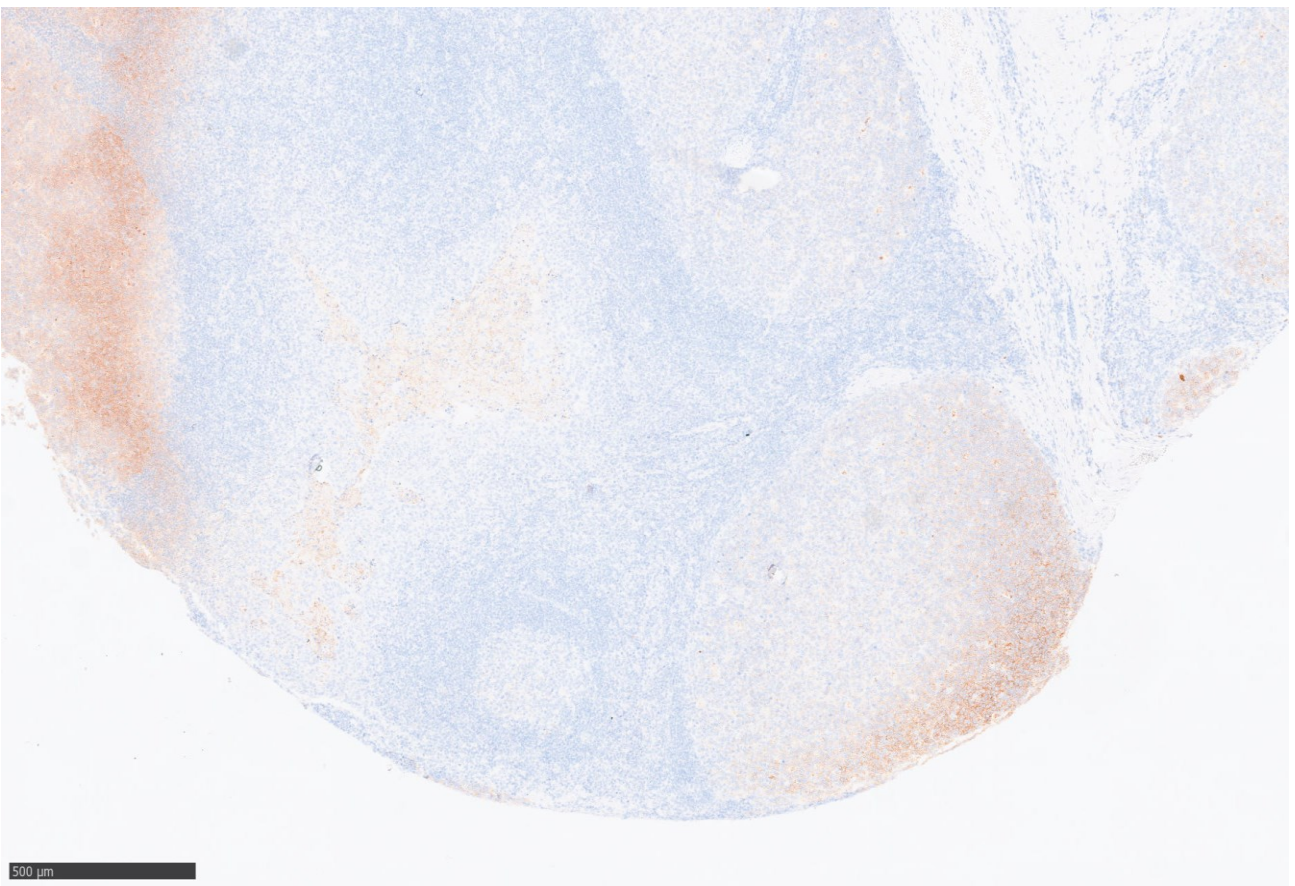
BCL6, suolikontrolli. DAB sakkautunut huonon pesun tai laitevian vuoksi.



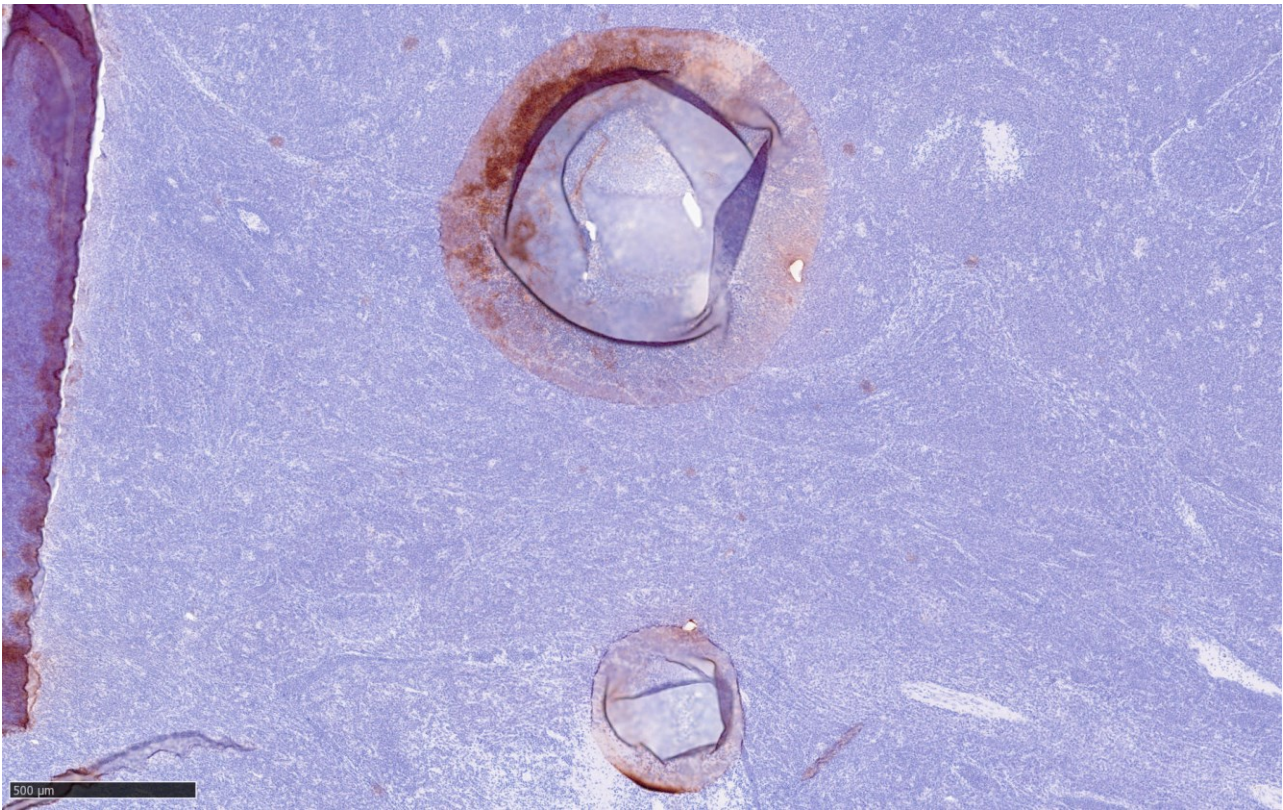
BCL 6, maksakontrolli. DAB sakkautunut lasilta irtoilevaan kudokseen.



CD10, tonsillakontrolli. Reagenssin leviämisongelma tai fiksaatiosta johtuva ongelma.

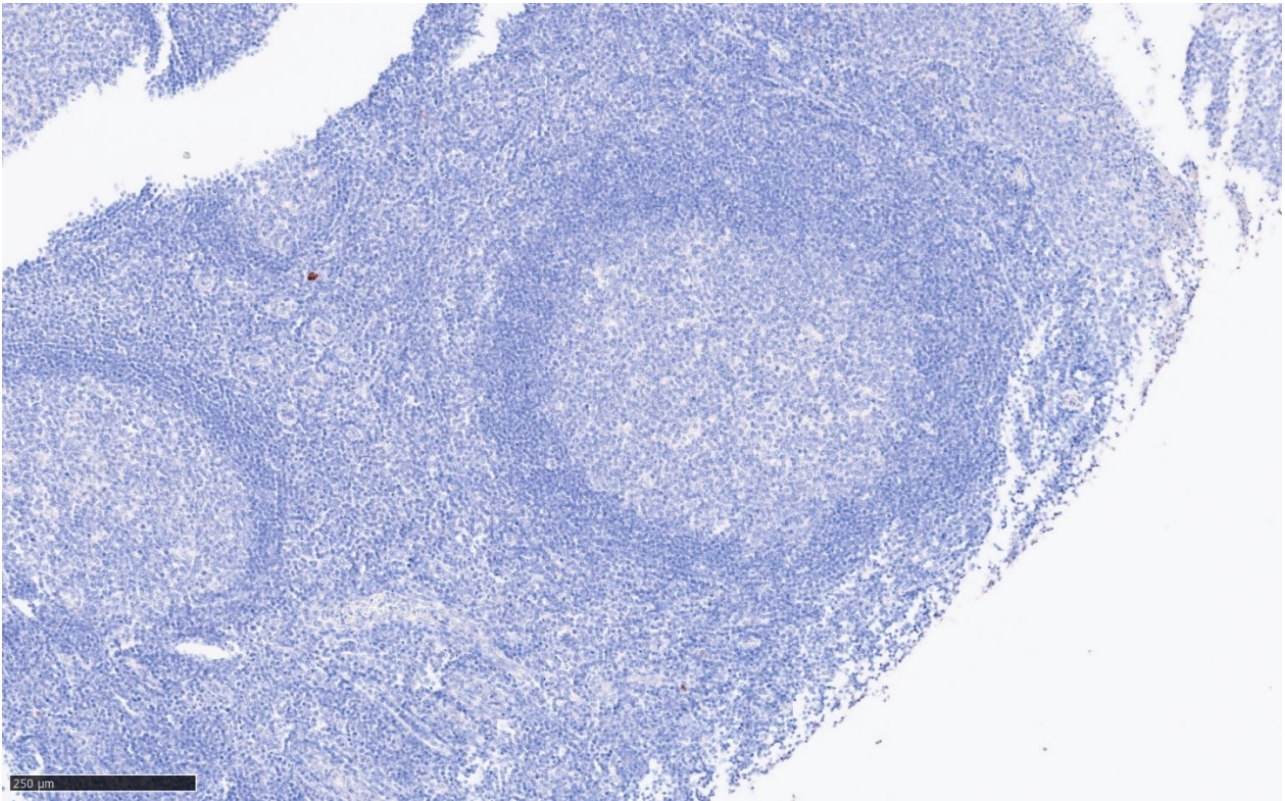


CD 10, tonsillakontrolli. Reagenssin leviämisongelma tai fiksaatiosta johtuva ongelma.

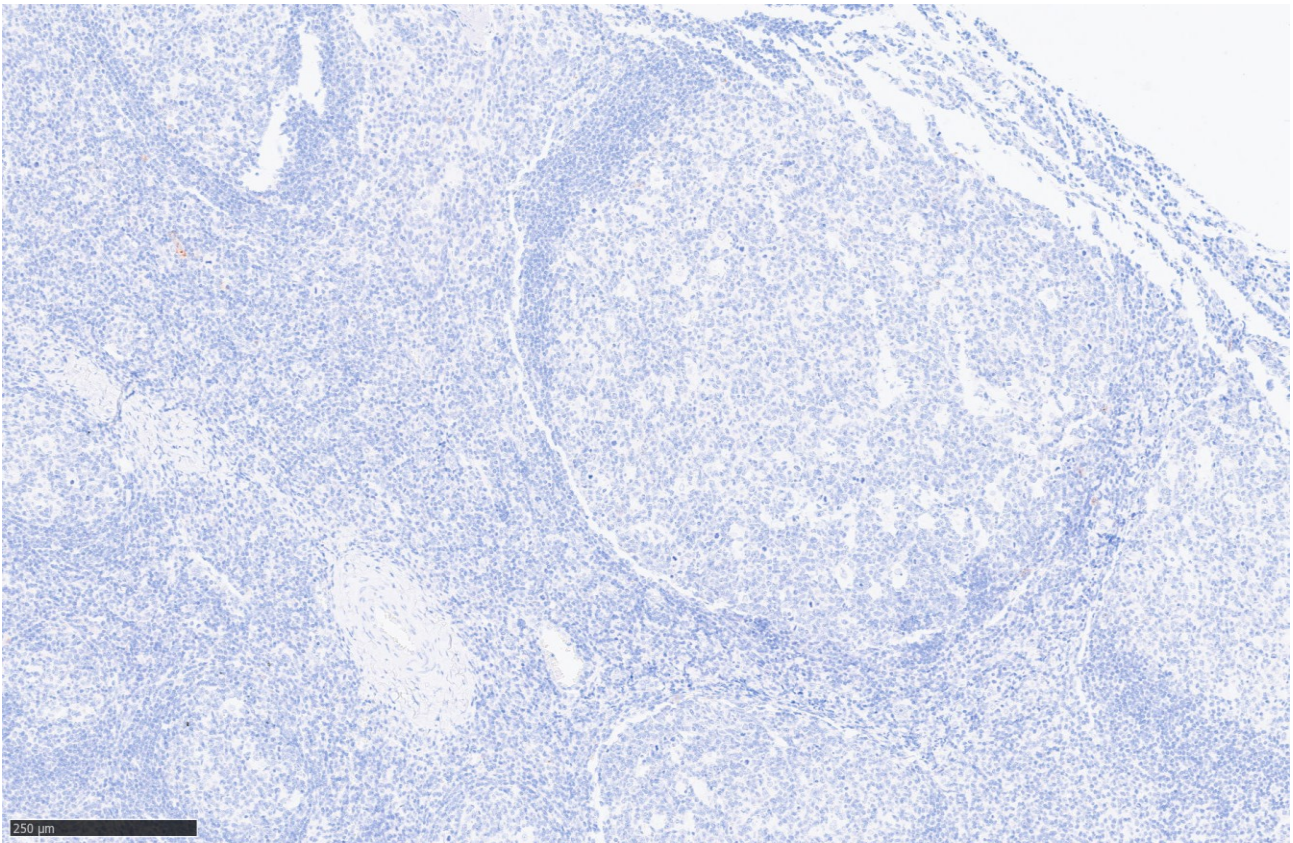


CD30, tonsilla. Näyte ei ole värjäytynyt keskeltä leikkeen paksuuden vuoksi. Kuvassa näkyy ryppyjä/ ilmakuplia (aiheuttaa kromogeenikertymän).

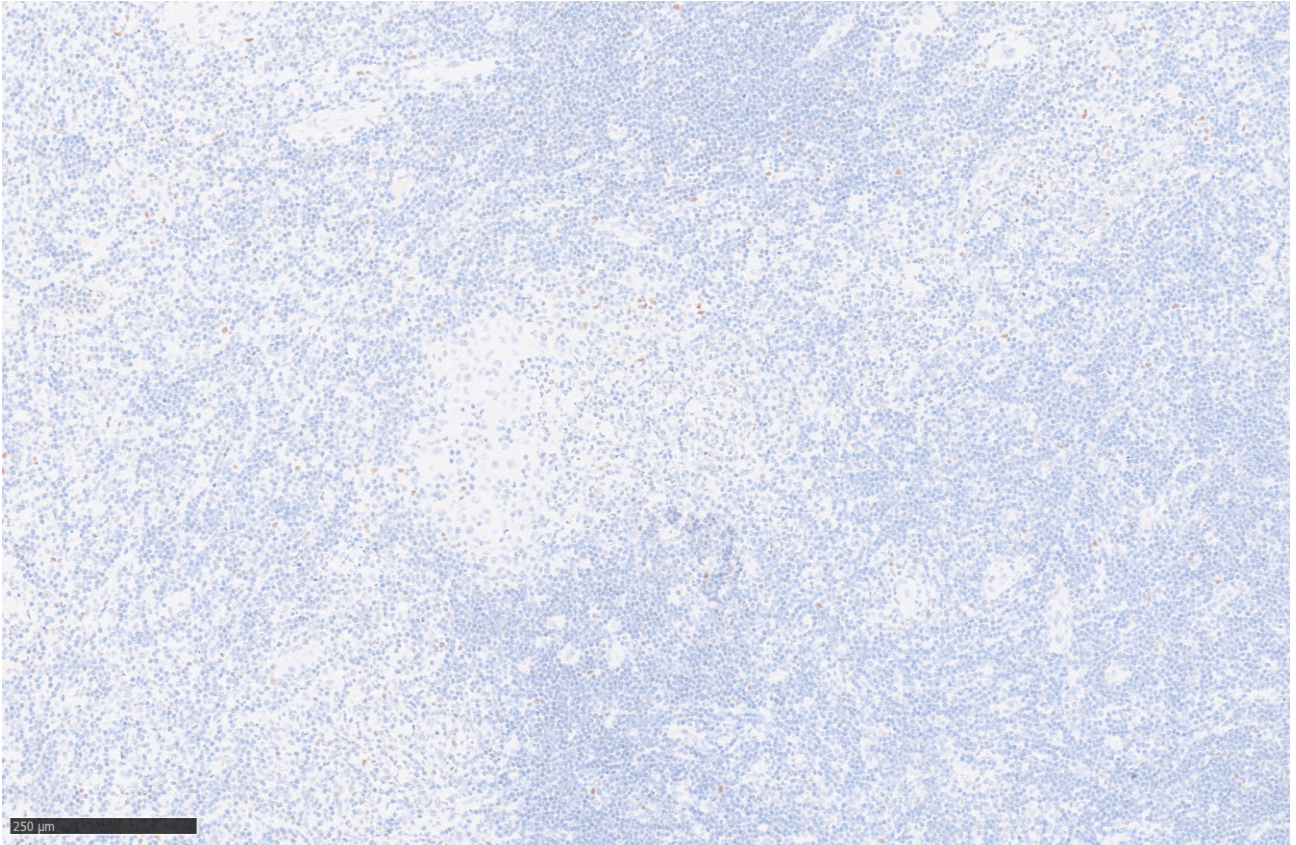
VÄÄRÄT NEGATIIVISET (BLANKO)



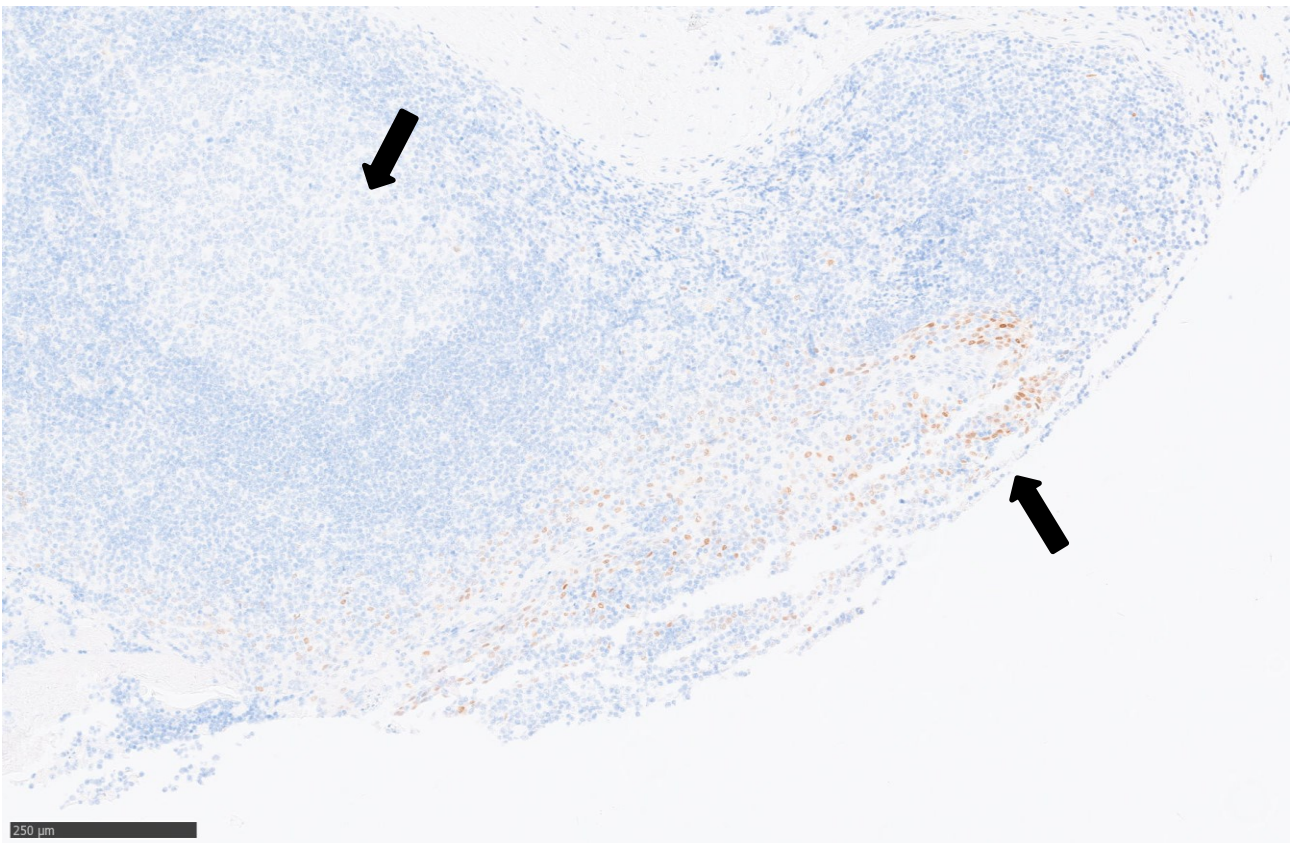
CD30, tonsillakontrolli. Negatiivinen.



CD30, tonsillakontrolli. Negatiivinen.

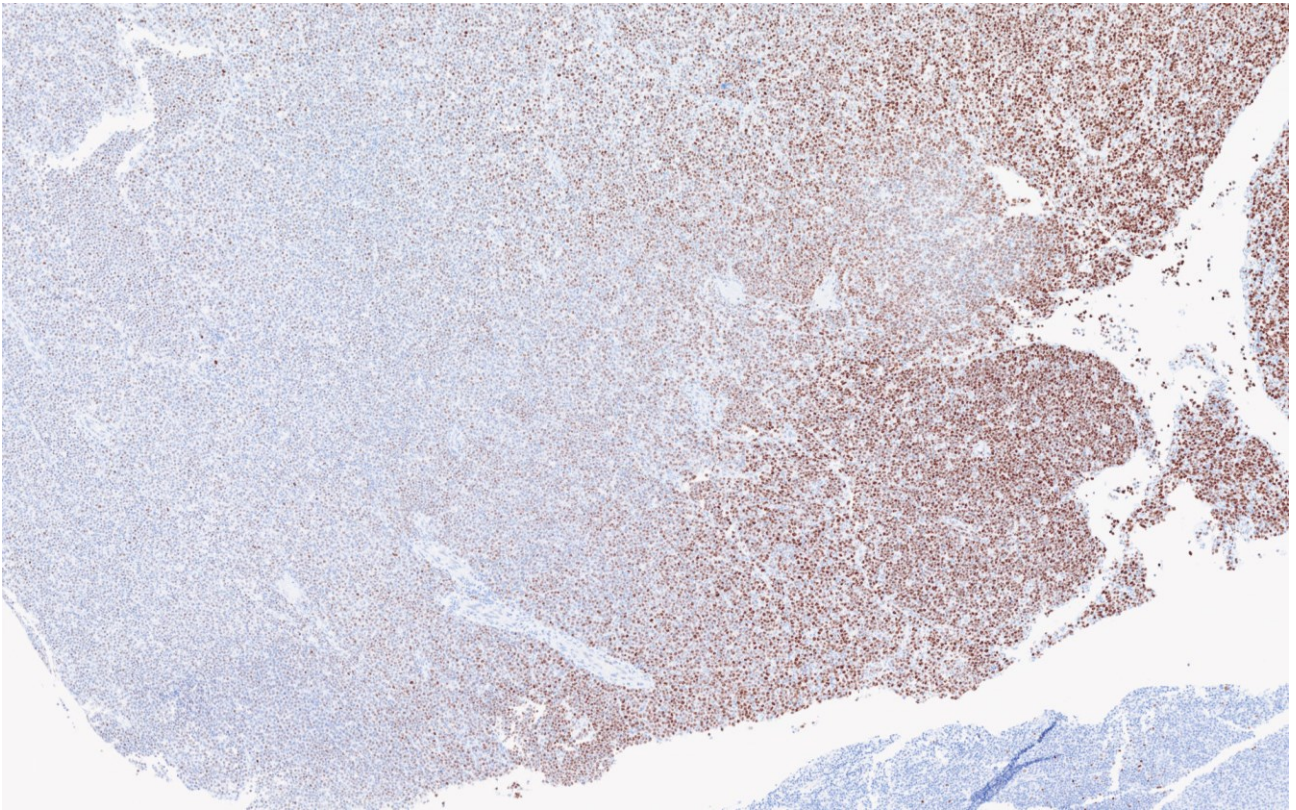


BCL6, tonsillanäyte. Liian heikko värjäytyminen, värjäys uusittava. Yksittäisiä positiivisia soluja.



CYCD1, tonsillakontrolli. Lähes negatiivinen, Värjäys uusittava. Itukeskuksen lymfosyytit jäävät negatiiviseksi.

EPÄSELVÄ MORFOLOGIA



CMYC, lymfooma. Fiksaation epätasainen vaikutus.

LÄHTEET

- Agilent Dako 2020. FLEX Ready-to-Use Atlas of Controls. 1. Painos. Yhdysvallat: Agilent Technologies, Inc.
- Colley, E, C & Stead, R, H 2013. Fixation and Other Pre-Analytical Factors. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. 6. Painos. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company. 21—29. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.
- Dako 2008. FLEX Ready-to-Use. Atlas of Stains. 3. painos.
- He, Yanan, Rangarajan, Sneha, Kerzic, Melissa, Luo, Ming, Chen, Yihong, Wang, Qian, Yin, Yiyuan, Workman, Creg J., Vignali, Kate M., Vignali, Dario A.A., Mariuzza, Roy A. & Orban, John 2015. Identification of the Docking Site for CD3 on the T Cell Receptor β Chain by Solution NMR*. *Journal of Biological Chemistry* 290(32), 19796-19805. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.663799>. Viitattu 22.12.2022.
- Jackson, Peter & Blythe, David 2013. Immunohistochemical techniques. Teoksessa S. Kim, Suvarna, Christopher, Layton & John, D., Bancroft (toim.) Bancroft's theory and practise of histological techniques. 7. Painos. Churchill Livingstone Elsevier. 402—406. Viitattu 12.10.2023.
- Jacobsen, Lars, Nielsen, Majken, Månsson, Sofie, Rudbeck, Lars 2013. Staining Protocol Optimization. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company. 60—77. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 25.10.2023.
- Kluk, Michael J, Ho, Caleb, Yu, Hongbo, Chen, Benjamin J, Neuberg, Donna S, Cin, Paola Dal, Woda, Bruce A, Pinkus, Geraldine S, Rodig, Scott J 2016. MYC Immunohistochemistry to Identify MYC-Driven B-Cell Lymphomas in Clinical Practice. *American Journal of Clinical Pathology*. 145(2), 166—179. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqv028>. Viitattu 15.12.2022.
- Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021a. Immunohistokemia diagnostiikan apuvälineenä. Teoksessa Markus Mäkinen (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Immunohistokemia. Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00860/do>. Viitattu 7.12.2022.
- Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021b. Immunohistokemiallinen diagnostiikka. Teoksessa Markus Mäkinen (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Immunohistokemia. Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00857/do>. Viitattu 7.12.2022.
- Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021c. Immunohistokemialliset menetelmät. Teoksessa Markus Mäkinen (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Immunohistokemia. Kustannus Oy Duodecim <https://www.oppiportti.fi/op/pat00859/do> Viitattu 7.12.2022.

Mäkinen, Markus & Suikkanen, Sanna 2021d. Vasta-aineet. Teoksessa Markus Mäkinen (toim.) Patologia. Diagnostiset menetelmät. Immunohistokemia. Kustannus Oy Duodecim. <https://www.oppiportti.fi/op/pat00858/do>. Viitattu 7.12.2022

Nordiqc 2014. CD15. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=25>. Viitattu 12.10.2023

Nordiqc 2015. CD30. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=5>. Viitattu 12.10.2023

Nordiqc 2010. Bcl-2. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=16>. Viitattu 14.10.2023.

Nordiqc 2011. CyD1 (Cyclin D1). Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=41>. Viitattu 12.10.2023.

Nordiqc 2011. MUM1. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=55>. Viitattu 12.10.2023.

Nordiqc 2012. CD20. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=27>. Viitattu 12.10.2023.

Nordiqc 2012. CD23. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=28>. Viitattu 14.10.2023.

Nordiqc 2013. CD10. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=23>. Viitattu 14.10.2023.

Nordiqc 2013. CD3. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=3>. Viitattu 22.12.2022.

Nordiqc 2014. Bcl-6. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=17>. Viitattu 14.10.2023.

Nordiqc 2014. CD15. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=25>. Viitattu 12.10.2023.

Nordiqc 2015. CD30. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=5>. Viitattu 12.10.2023

Nordiqc 2019. C-MYC. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://www.nordiqc.org/epitope.php?id=104>. Viitattu 15.12.2022.

Nordiqc 2023. CD45. Verkkojulkaisu. Department of Pathology. Aalborg University Hospital. Denmark. <https://nordiqc.org/epitope.php?id=31>. Viitattu 14.10.2023.

Remes, Satu 2023. KYS:n Patologian osaston solubiologi. Haastattelu. 26.10.2023.

- Sanderson, Tracy & Zardin, Gregory 2013. Immunohistochemistry quality control. Teoksessa S. Kim Suvarna, Christopher Layton & John D. Bancroft (toim.) Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 7. Painos. Churchill Livingstone Elsevier. 435—454. Viitattu 12.10.2023
- Shi, S, R & Taylor C, R 2013. Antigen Retrieval. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. 6. Painos. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company. 31—42. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.
- Suikkanen, Sanna 2023. KYS:n Patologian osaston solubiologi. Haastattelu. 20.10.2023.
- Taylor, C. R. 2013. Introduction to immunohistochemistry. Teoksessa Clive R Taylor & Lars Rudbeck (toim.) Immunohistochemical Staining Methods. 6. Painos. Education guide. Dako Denmark A/S. An Agilent Technologies Company. 11—18. https://www.akoyabio.com/wp-content/uploads/2020/04/08002_ihc_staining_methods.pdf. Viitattu 19.12.2022.
- Taylor, R. Clive & Shi, Shang-Rong 2014. Techniques on immunohistochemistry: Principles, Pitfalls and Standardization. Teoksessa David J. Dabbs (toim.) Diagnostic immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications. 4. painos. Philadelphia: Elsevier Saunders. 1—38. Viitattu 12.10.2023.
- Tsuyama, Naoko, Sakata, Seiji, Baba, Satoko, Mishima, Yuko, Nishimura, Noriko, Ueda, Kyoko, Yokoyama, Masahiro, Terui, Yasuhito, Hatake, Kiyohiko, Kitagawa, Masanobu, Ishizuka, Naoki, Tomita, Naoto & Takeuchi, Kengo 2017. BCL2 expression in DLBCL: reappraisal of immunohistochemistry with new criteria for therapeutic biomarker evaluation. *Blood* 130 (4), 489–500. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-12-759621>. Viitattu 13.12.2022.