



Petra Vartiainen

# Histologisen leikkeen optimointi digitaaliseen patologiaan

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

16.11.2023

Tekijä	Petra Vartiainen
Otsikko	Histologisen leikkeen optimointi digitaaliseen patologiaan
Sivumäärä	32 sivua
Aika	16.11.2023
Tutkinto	Sosiaali- ja terveystieteiden ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Yliopettaja Riitta Lumme Prosessivastaava Olayinka Raheem Laboratoriohoitaja Jenni Winter
<p>Digitaalista patologiaa ollaan ottamassa käyttöön laboratorioissa maailmanlaajuisesti. Digitaalissa patologiassa eli virtuaalimikroskopiassa histologinen näyte skannataan digitaaliseen muotoon ja sen diagnosoiminen tapahtuu tietokoneen näytöltä. Digitalisointi tuottaa laatuvaatimuksia laboratorioille. Leikkeen huono tekninen laatu vaikeuttaa skannaamisen onnistumista tai hidastaa prosessia.</p> <p>Opinnäytetyö suoritettiin yhteistyössä HUS Diagnostiikkakeskuksen Meilahden patologian yksikön kanssa, ja se on osa vastuualueen näytteenkäsittelyprosessin validoimista näytelasien digitalisaatiota varten. Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa tietoa histologisen näytteen laboratoriosprosessin laatuvirheistä, jotta työprosessia voidaan kehittää. Kohderyhmänä olivat histologisia näytteitä valmistava henkilökunta. Tarkoituksena oli optimoida kudosten leikkeen laboratoriosprosessia skannaamiseen soveltuvaksi käyntiinpanon, valun ja leikkaamisen vaiheissa. Työvaiheet valikoituivat, koska ne tehdään käsin ja niissä on kirjallisuuden perusteella esiintynyt eniten laadullisia virheitä.</p> <p>Aineistoksi valmistettiin 54 kudosten blokkia, joista leikattiin yhteensä 66 lasia. Skannaamiseen käytettiin Leica Aperio GT 450 DX -skanneria. Tulokset analysoitiin laadullisesti teemittellen niitä eri kategorioihin huomattujen laatuvirheiden mukaan. Tässä opinnäytetyössä ilmi tulleita laatuvirheitä ovat kudosten näytteen koko, leikkeiden määrä ja sijoittelu blokkissa sekä objektilasilla, leikepaksuus sekä leikkeen ryppyisyys, reikäisyys, ilmakuplat ja tahrat. Nämä laatuvirheet vaikuttavat digitaalisen kuvan laatuun; ne estävät kudoksen skannaantumista tai aiheuttavat epäfokusta alueille. Laatuvirheet vaikuttavat myös skannausaikaan pidentävästi.</p> <p>Histologisten leikkeiden valmistelussa laatuun täytyy kiinnittää huomiota. Kudosten valmistusprosessi on edelleen suurilta osin käsityötä, jolloin tämä laatu on jokaisen prosessiin osallistuvan laboratorion henkilökunnan jäsenen vastuulla. Skannerit vaativat laadukkaita leikkeitä, jotta skannaaminen sujuu optimaalisesti ja digitaalisen patologian käyttöönotto olisi tehokasta. Tulevaisuudessa valmistetut fyysiset näytelasit eivät enää ole diagnosoimisessa mukana ja digitaalisesta kuvasta tulee pystyä tekemään diagnoosi. Myös tulevaisuudessa mukaan tuleva tekoäly tarvitsee laadukkaita kuvia analyysien tekemiseen.</p>	
Avainsanat	histologinen leike, laatu, digitaalinen patologia

Author	Petra Vartiainen
Title	Optimization of Histological Section for Digital Pathology
Number of Pages	32 pages
Date	16th November 2023
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Riitta Lumme, Principal Lecturer Olayinka Raheem, Process Manager Jenni Winter, Biomedical Laboratory Scientist
<p>Digital pathology is being implemented in laboratories worldwide. In digital pathology, also known as virtual microscopy, a histological sample is scanned into digital format, and the diagnosis is done via computer screen. Digitalization imposes quality requirements on laboratories. Poor quality of the specimen complicates successful scanning or slows down the diagnostic process.</p> <p>The thesis was conducted in collaboration with Meilahti Pathology laboratory of HUS Diagnostic Center, Helsinki, Finland, and is part of the validation of the sample preparation process for the digitalization of specimen slides. The aim of the thesis was to provide information about quality errors in the laboratory process of histological samples, so that the process could be improved. The target group was the laboratory personnel involved in preparing histological samples. The purpose was to optimize the laboratory process of tissue sections for scanning in stages of grossing, embedding, and sectioning. These stages were selected because they are performed manually, and they have been reported to have the most qualitative errors.</p> <p>A total of 54 tissue blocks were prepared, from which 66 slides were cut. Leica Aperio GT 450 DX scanner was used for scanning. The results were analyzed using thematic analysis, according to the quality errors that were observed. The quality errors identified in this thesis include the size of the tissue sample, the number and placement of sections in the block and on the slide, thickness of the section, wrinkles, holes, air bubbles, and stains on the section. These quality errors affect the quality of the digital image; they prevent the tissue from being scanned or cause areas to go out of focus. Quality errors also influence scanning time.</p> <p>Attention must be given to technical quality in the preparation of histological sections, and each member of personnel involved in the process is responsible for the quality. Scanners require high-quality sections for optimal scanning and effective implementation of digital pathology. In the future, physical specimen slides will no longer be part of the diagnostics, and a diagnose must be made from digital images. Also, artificial intelligence that will be introduced in the future will require high-quality images for analysis.</p>	
Keywords	histological section, quality, digital pathology

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Histologisen näytteen laboratorioprosessi	2
2.1	Histologinen näyte	2
2.2	Näytteiden vastaanotto laboratorioon ja fiksaatio	3
2.3	Käyntiinpano ja kuduskuljetus	4
2.4	Valu, leikkaus ja värjäys	5
2.5	Haasteet leikkeiden laadussa	6
3	Digitaalinen patologia	6
3.1	Digitaalisen patologian edut	6
3.2	Digitaalisen patologian laatuvaatimukset	7
3.3	Leica Aperio GT 450 DX -skannerin toiminta	9
4	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	11
5	Opinnäytetyön toteutus ja menetelmät	11
5.1	Menetelmälliset lähtökohdat	11
5.2	Aineiston keruu ja valmistaminen	12
5.3	Aineiston analysointimenetelmä	14
6	Tulokset	14
6.1	Käynnistettyjen kudosten määrä ja koko	14
6.2	Kudospalojen sijoittelu parafiiniblokkiin	17
6.3	Leikkeiden määrä, sijoittelu ja leikepaksuus lasilla	19
6.4	Rypyt, repeämät, kuplat ja tahrat	22
7	Pohdinta	25
7.1	Tulosten tarkastelu	25
7.2	Luotettavuus	26
7.3	Eettisyys	27
7.4	Ammatillinen kasvu	28
7.5	Johtopäätökset ja kehittämissuhteet	28
	Lähteet	30

# 1 Johdanto

Maailmanlaajuisesti, ja myös Suomessa, digitaalista patologiaa ollaan ottamassa käyttöön laboratorioissa. Digitaalisessa patologiassa eli virtuaalimikroskopiassa värjätty histologinen leike skannataan digitaaliseen muotoon ja sen diagnosoiminen tapahtuu tietokoneen näytöltä. Digitalisoituminen tuottaa monia hyötyjä laboratorioon, kuten työnkulun, potilasturvallisuuden sekä diagnostiikan laadun parantuminen. (Tolonen & Näpänkangas & Isola 2021.)

Histologisen näytteen valmistaminen tutkittavaksi preparaatiksi on pääosin käsityötä ja laadukkaiden leikkeiden valmistelu vaatii kokemusta ja taitoa. Digitalisointi tuottaa laatuvaatimuksia laboratorioille; leikkeen huono tekninen laatu vaikeuttaa skannaamisen onnistumista ja hidastaa prosessia. Huonon laadun seurauksena lasien kuvaamisajat pitenevät, potilaan vastaukset viivästyvät, tietokoneavusteinen analyysi vaikeutuu tai se voi jopa aiheuttaa virhediagnooseja. Alussa havaituista haasteista huolimatta on aiemmissa tutkimuksissa lopulta todettu digitaalisen patologian nostaneen tehokkuutta ja jopa diagnosointinopeutta. (Montezuma ym. 2022; Retamero & Aneiros-Fernandez, & Del Moral 2020.) Hyvällä esivalmistelulla ja laatuun huomion kiinnittämisellä histologisten näytteiden digitalisaatiota voidaan parantaa. Näytteiden tasalaatuisuus on tärkeää, koska se mahdollistaa häiriöttömän ja automaattisen skannausprosessin patologian laboratoriossa. (Näpänkangas 2019; Tolonen ym. 2021.)

Tässä opinnäytetyössä tarkastellaan histologisten näytteiden valmistelua skannattavaksi digitaaliseen muotoon. Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa tietoa histologisen näytteen laboratorioprosessin laaturvirheistä, jotta työprosessia voidaan kehittää. Kohderyhmänä ovat histologisia näytteitä valmistava henkilökunta. Tarkoituksena on optimoida kudosleikkeen laboratorioprosessia skannaamiseen soveltuvaksi. Työvaiheiksi valikoitiin käyntiinpano, valu ja leikkaaminen, koska nämä työvaiheet tehdään käsin ja näissä vaiheissa on kirjallisuuden perusteella esiintynyt eniten laadullisia virheitä.

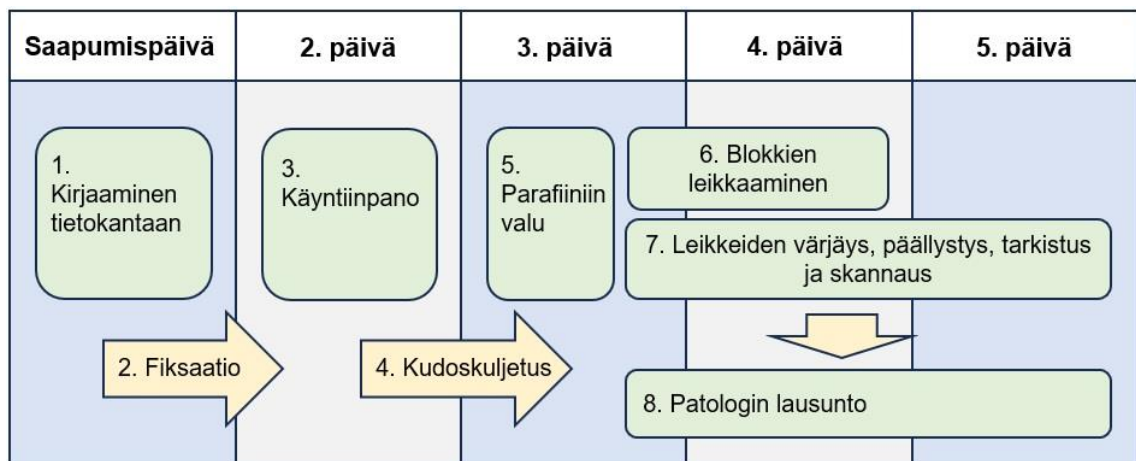
Saadut digitaaliset kuvat analysoidaan laadullisesti, ja ne jaetaan teemoihin havaittujen laaturvirheiden mukaan. Työ suoritetaan HUS Diagnostiikkakeskuksen Patologian laboratoriossa Meilahdessa, jossa digitaalista patologiaa ollaan ottamassa käyttöön. Myöhemmin organisaation nimestä käytetään lyhennettä HUS Patologian laboratorio.

## 2 Histologisen näytteen laborioprosessi

### 2.1 Histologinen näyte

Patologia eli tautioppi tutkii sairauksiin liittyviä muutoksia solu-, kudus- ja elimistötasolla (Mäkinen & Lehto 2022). Histologia on tieteenala, joka tutkii kudosten rakennetta ja toimintaa mikroskooppisella tasolla. Se keskittyy soluihin ja soluväliaineeseen, eli siihen, miten erilaiset solut järjestäytyvät muodostaen erilaisia kudoksia ja miten nämä kudokset muodostavat elimiä. (Solunetti 2006.)

Patologian laboratoriossa tutkitaan kudoksenäytteitä, jotka ovat peräisin erilaisista tähtystutkimuksista otetuista koepaloista, leikkauksissa poistetuista kasvaimista tai muista kudoksenäytteistä, kuten esimerkiksi luomista. Jotta patologi voi antaa niistä lausunnon, näytteet käyvät läpi erilaisia kuduskäsittely- ja värjäysprosesseja. Perusmenetelmät, joissa kudoksenäytteistä tehdään tutkittavia preparaatteja, ovat pysyneet samoina 1900-luvun alusta alkaen. Histologiset näytteet ovat ainutkertaisia, joten niiden käsittely on nykyisinkin vielä pääosin käsityötä. Jokaisen työvaiheen tulee onnistua hyvin, sillä huonosti tehty työvaihe voi jopa estää seuraavan työvaiheen tekemisen. Näytteen saapumisesta laboratorioon sen valmistaminen kestää 3–5 päivää. (Mäkinen 2021; Rantala 2014: 37.) Näytteen kulku laboratoriossa havainnollistetaan kuviossa 1.



Kuvio 1. Kudoksenäytteen kulku patologian laboratoriossa (Mäkinen 2021 mukailleen)

## 2.2 Näytteiden vastaanotto laboratorioon ja fiksaatio

Prosessi laboratoriossa alkaa näytteen kirjaamisella laboratorion tietojärjestelmään ja yksilöllisen näytenumeron luomisella. Näytteen henkilö- ja esitiedot tarkastetaan ja siihen liittyvän lähetteen avulla näytteelle määrätään mm. oikeanlaiset värjäykset ja kiireellisyysaste. Patologian laboratorioihin lähetetään erikokoisia näytteitä histopatologista diagnostiikkaa varten. Pienimmät näytteet, joilla on 1–2 mm läpimitta, sisältävät muutamia milligrammoja kudosta, kun taas suuremmista kirurgisista resektionäytteistä otetaan näytteitä kudosplokkeihin, joiden paino voi vaihdella muutamista grammoista muutama kymmeneen grammiin. On tärkeää, että lähettävä lääkäri toimittaa tarkat esitiedot ja merkitsee näytteen selvästi, koska vaikka suuristakin leikkausnäytteistä otetaan runsaasti näytteitä mikroskooppiseen tutkimukseen, nämä näytteet muodostavat kuitenkin vain pienen osan kokonaislähetetystä materiaalista. (Mäkinen 2021.)

Solujen ja kudospaleiden säilöntä on näytteiden valmistelun tärkein tavoite, ja sen tarkoituksena on pitää kudoksen rakenne mahdollisimman muuttumattomana. Kiinnitys stabiloi proteiinit sekä estää solujen ja kudoksen omien entsyymien hajotustoimintaa. Tämä vaihe myös valmistelee kudosta seuraavia käsittelyn vaiheita varten kovettamalla kudosta, mikä helpottaa leikkaamista. Näytteen koko ja tyyppi vaikuttavat kiinnityksen valmistumiseen kuluvaan aikaan, joka tavallisesti on noin yksi vuorokausi. Eri kokoiset kudospaleet tulisi prosessoida erikseen erilaisilla aikatauluilla. (Spencer & Bancroft 2013a: 106.)

Fiksointi voidaan toteuttaa kemiallisilla tai fysikaalisilla menetelmillä. Fysikaalisia menetelmiä, kuten kuumentamista ja mikroaaltoja, käytetään yleensä muiden fiksatiivien vaikutuksen nopeuttamiseen. Nestemäiset fiksatiivit ovat yleisimpiä kemiallisista menetelmistä. Yleisin kiinnitykseen käytetty fiksointiaine on neutraaliksi puskuroitu 10-prosenttinen formaliini. Tämä formaliiniliuos koostuu normaaliolosuhteissa höyrymuotoisesta formaldehydistä, joka on liotettu veteen 37–40 % väkevyyteen. Lopullisessa formaliiniliuoksessa on formaldehydiä 4 %:n väkevyydessä. Formaldehydi reagoi lukuisilla ja monimutkaisilla tavoilla makromolekyylien kanssa, mutta erityisesti melko lyhyissä reaktioajoissa (korkeintaan päiviä) pääasialliseksi ja tunnusomaisimmaksi reaktioksi on tunnistettu hydroksymetyyliryhmien muodostuminen proteiinien sivuketjujen kanssa. (Rhodes 2013: 73; Spencer & Bancroft 2013a: 106.)

### 2.3 Käyntiinpano ja kuduskuljetus

Käyntiinpano tarkoittaa näytteeseen orientoitumista. Lähetteen tiedot ja sitä vastaava kudus tarkistetaan. Näytteen muoto, koko ja erityispiirteet kuvaillaan valokuvaamalla tai piirtämällä, jolloin näytteeseen palaaminen onnistuu myöhemminkin. Edustavat viipaleet leikataan eli dissekoidaan kasetteihin. (Mäkinen 2021; Suvarna & Layton 2013: 98.) Eri kudoksille on omat dissekointiohjeensa, mutta tärkeää on huomioida normaalia poikkeavat kohdat. Sellaisia voisi olla esimerkiksi näytteessä oleva epänormaali väri, abskessit tai tuumorit. Dissekoinnin voi suorittaa patologi tai bioanalyytikko. Patologi dissekoi vaativimmat kudokset, kuten suolet ja rinnat, kun taas bioanalyytikko dissekoi mm. biopsiat ja erillisen työpaikkakoulutuksen myötä vaativampiakin kudostyyppisiä. (Rantala 2014: 38.)

Dissekoidut viipaleet siirretään kuduskaseteissa kuduskuljetukseen. Kuduskuljettimet ovat automatisoituja laitteita, joiden tarkoitus on poistaa näytteestä vesi ja rasva, jolloin näytteet säilyvät paremmin ja kudusrakenteet kovettuvat. Kuduskuljetuksen voi jakaa vaiheisiin, joita ovat dehydraatio, kirkastus ja parafiini-infiltraatio. (Mäkinen 2021; Spencer & Bancroft 2013a: 106.)

Dehydraation tarkoituksena on poistaa kudoksesta vesi ja vesiliukoiset fiksaatiivit nousevalla alkoholisarjalla. Vedenpoistossa käytettävät aineet ovat hydrofiilisiä, niissä on vahva polaarisuus ja ne reagoivat veden kanssa muodostaen vetysidoksia. Nesteenpoisto suoritetaan hitaasti, jottei pitoisuusero nouse liian suureksi, jolloin diffuusiovirrat voivat aiheuttaa solujen vääristymiä. Tämän takia näytteet käsitellään nousevien pitoisuuksien sarjassa. Liiallinen vedenpoisto voi saada kudoksen kovettumaan ja kutistumaan sekä muuttumaan hauraaksi. Osittainen tai vajaaksi jäänyt vedenpoisto jättää kudoksen liian pehmeäksi, heikentää liuottimen imeytymistä ja estää parafiinin pääsyn kudokseen. (Spencer & Bancroft 2013a: 107.)

Vedenpoiston jälkeen alkoholi täytyy poistaa kudoksesta, koska parafiini ei liukene alkoholiin. Yleinen tähän käytetty aine on ksyleeni. Kirkastusvaiheen jälkeen kudoksesta tulee läpikuultava, ja se on valmis vastaanottamaan tukiaineen. (Spencer & Bancroft 2013a: 108.)

Kuduskuljetuksen loppuksi näyte uutetaan parafiiniin, joka on käytetyin aine kudoksen tukiaineena. Sen sulamispiste on 47–64 °C, joten se läpäisee kudoksen nestemäisessä

muodossaan ja jähmettyy nopeasti jäähtyessään. Kovettuessaan se ehkäisee kudoksen hajoamista ja se mahdollistaa ohuiden 2–5 µm paksuisten leikkeiden leikkaamisen näytelasille mikrotomilla. (Mäkinen 2021; Spencer & Bancroft 2013a: 109.)

## 2.4 Valu, leikkaus ja värjäys

Valussa parafiinilla kyllästetyt näytteet valmistellaan blokeiksi, jotka antavat ulkoista tukea leikkaamisen aikana. Useimmissa laboratorioissa on tähän tarkoitukseen käytössä modulaarinen valukeskus, joka sisältää parafiiniannostelijan, erillisen kylmätilan ja kylmälevyn, sekä lämmitettyä varastotilaa valumuoteille ja kudoskopeteille. (Spencer & Bancroft 2013a: 110.)

Mikrotomi on väline, jota käytetään parafiiniblokin leikkaamisessa. Mikrotomissa etenevä mekanismi liikuttaa kudusblokkia ennalta määrätyn matkan pystysuunnassa, kunnes se koskettaa leikkaavaa terää. Kertakäyttöisiä teriä käytetään tyypillisesti mikrotomissa, koska ne mahdollistavat tarkan leikkausjäljen ja voivat tuottaa 2–5 µm leikkeitä. Hyvä tekniikka saavutetaan jatkuvalla harjoittelulla. Mikrotomeja on useita erilaisia, joista jokainen on suunniteltu tiettyyn tarkoitukseen, vaikka monilla on myös monitoimirooleja. Leikkaamisen jälkeen kudospelke liukuu tai se laitetaan erilliseen lämminvesihauteeseen, jonka vaikutuksesta pelke suoristuu. Veden lämpötilan tulee olla 10 astetta parafiinin sulamispisteen alapuolella, jotta parafiini pysyy kiinteässä muodossa. Leikkeen käsittelyssä voidaan apuna käyttää esimerkiksi harjoja tai pinsettejä, joilla saadaan poistettua mahdollisia taitoksia tai ryppyjä, joita leikkeeseen on tullut. Niitä voidaan käyttää myös apuna leikkeen näytelasille poimimisessa. (Spencer & Bancroft 2013b: 126–129.) Näytelasilla olevat leikkeet kiinnitetään lasille lämmön avulla, esimerkiksi lämpölevyllä (Rantala 2014: 39).

Kiinnitetyt näytelasit värjätään. Yleisesti käytössä oleva perusvärjäys on hematoksyliini-eosiinivärjäys. Hematoksyliini värjää pääasiassa tumia, joka on avuksi tuma-atypian astetta arvioitaessa. Eosiini värjää solun sisäiset ja ulkoiset proteiinit. Lisäksi on olemassa lukuisia erikoisvärjäyksiä, joita käytetään esimerkiksi varmistamaan perusvärjäyksillä havaittuja löydöksiä. Värjäys suoritetaan yleisimmin värjäysautomaateilla, mikä mahdollistaa tarkan ja tasalaatuisen värjäystuloksen. (Mäkinen 2021; Bancroft & Layton 2013: 174, 184.) Harvinaisimmat värjäykset tehdään kuitenkin vielä nykyäänkin käsityönä (Rantala 2014: 39).

## 2.5 Haasteet leikkeiden laadussa

Histologisen leikkeen käsittely on pääosin käsityötä ja laadukkaiden leikkeiden valmistelu vaatii kokemusta ja taitoa. Usein patologeille tulee vastaan leikkeitä, joiden valmisteluprosessissa kaikki ei ole mennyt kohdalleen, ja kudoksen yksityiskohdissa on havaittavissa muutoksia. Tällaisia muutoksia kutsutaan artefaktoiksi, ja ne voivat vaikeuttaa diagnosointityötä merkittäväksi. (Taqi & Sami & Sami & Zaki 2018.)

On useita erilaisia artefaktoja, joiden on tunnistettu tulleen histologisen kudoksen laborioprosessissa käsittelyn eri vaiheissa. Viiltoja tai repeämiä leikkeeseen voi aiheuttaa leikkaavan terän tylsyys tai kudoksen kovempi kohta, kuten kalkkeuma. Leikkeeseen voi myös tulla reikiä, jos kudosplokkia on trimmattu liian karkeasti. Näitä voi ehkäistä terän vaihtamisella tai käyttämällä terän eri osaa. Terän huono kiinnitys mikrotomin pidikkeeseen voi aiheuttaa värinää tai värähtelyä, joka saa aikaan kudospelteen epätasaista leikkuupaksuutta. (Taqi ym. 2018.)

Taitokset ja rypyt näkyvät tummina raitoina näytelasilla. Niitä voidaan poistaa vesihauhteessa siveltimien avulla leikettä lasille siirtäessä. Liian pitkä aika vedessä voi aiheuttaa kudoksen turpoamista tai vääristymiä. Vesihauhteessa ollessaan leikkeisiin voi myös tulla mukaan pölyä, kuituja tai toisten siivujen kudoksen jäänteitä tai leikkeen alle voi jäädä ilmakuplia. Kuivumisvaiheessa luhistuneen ilmakuplan kohta ei kiinnity lasiin samalla tavalla kuin muu kudos, ja tämä näkyy vääristyneen värisenä kohtana. Ilmakuplia voi myös muodostua peitelevyn alle, kun leike on liian ohut ja kuivuessaan ilma imeytyy reunojen alle. (Taqi ym. 2018.)

## 3 Digitaalinen patologia

### 3.1 Digitaalisen patologian edut

Digitaalinen patologia sisältää virtuaalimikroskopian eli histologisen näytteen skannaamisen digitaaliseen muotoon ja sen katsomisen tietokoneen kuvaruudulta valomikroskoopin sijaan. Digitalisoituminen tuottaa monia hyötyjä laboratorioon, kuten työnkulun, potilasturvallisuuden sekä diagnostiikan laadun parantuminen. (Tolonen ym. 2021.)

Digitaalinen diagnostiikka on osoittautunut yhtä tarkaksi kuin perinteinen mikroskoopiointi. Tulevaisuudessa kehittyneet työkalut tehostavat diagnostista prosessia ja alentavat kustannuksia. Vaikka näyte pitää joka tapauksessa valmistaa samalla tavalla kuin valomikroskopiaakin varten, tuo digitaaliseen työnkulkuun siirtyminen aikasäästöjä pääasiassa digitoinnin jälkeisiin työvaiheisiin. (Mirtti & Näpänkangas 2020.) Muun muassa Grenada-yliopiston sairaaloissa Espanjassa digitaalisen patologian käyttöönoton jälkeen on pystytty käsittelemään tapauksia vuosittain keskimäärin 21 % enemmän kuin ennen digitaalisen patologian käyttöönottoa (Retamero ym. 2020).

Skannaaminen tuo uuden työvaiheen lisää laboratorion työnkulkuun. Skannattavat kuvat ovat kooltaan suuria, vähintään 1–2 Gt, ja pienikin laboratorio voi tuottaa vuosittain 100 000 näytettä. Tämä vaatii tiettyjä alkuinvestointeja digitaalisen järjestelmän käyttöönotolle. Digitaaliset näytelasit ovat kuitenkin aina helposti saatavilla ja niiden sisältö säilyy ennallaan, kun taas perinteiset värjäykset voivat haalistua säilytyksen aikana. Tämä vähentää tarvetta uusille leikkauksille ja värjäyksille. Virtuaaliset lasiarkistot, erityisesti biopankkeihin liitetyt, tuovat selkeitä etuja lääketieteen ja patologioiden koulutuksessa. Lisäksi ne myös mahdollistavat perinteisten lasiarkistojen hylkäämisen tulevaisuudessa, mikä säästää fyysistä tilaa. (Näpänkangas & Tolonen 2019.)

Vaikka digitaalisen patologian käyttöönotto sisältää myös haasteita, laboratorio lopulta hyötyy digitaalisen patologian turvallisuuteen ja laatuun liittyvistä ominaisuuksista. Digitaalinen patologia antaa mahdollisuuden myös keinoälyn käyttämiselle, joka tulee lopulta parantamaan osaltaan potilaan hoitoa. Digitaalinen patologia mahdollistaa etätyöskentelyn ja -konsultaation, sekä digitaalisten työkalujen käyttöönoton, joka helpottaa useita diagnostisia tehtäviä. Digitaalisen patologian potentiaali potilasturvallisuuden sekä työn laadun ja tehokkuuden parantamiseen on jo itsessään riittävästi sen käyttöönottoa puoltava. (Montezuma ym. 2022.)

### 3.2 Digitaalisen patologian laatuvaatimukset

Digitalisointi tuottaa laatuvaatimuksia laboratorioille ja sen onnistumiseen liittyy useita tekijöitä. Nykyiset lasiskannerit vaativat korkeatasoisia näytelaseja toimiakseen optimaalisesti. Leikkeen huono laatu vaikeuttaa skannaamisen onnistumista tai hidastaa prosessia. (Tolonen ym. 2021.)

Hyvällä esivalmistelulla leikkeiden laatua voidaan parantaa. Paremman materiaalin taakamiseksi jo käyntiinpanovaiheessa kudoksen kokoon kannattaa kiinnittää huomiota. Leikatessa kannattaa huomioida, että ohuet leikkeet digitoituvat laadukkaammin. Liian ohut tai liian paksu leike vaikeuttaa leikkeen tunnistusta lasilta ja voi vaikeuttaa kuvan fokuointia. Myös leikkeiden määrä tulee pitää kohtuullisena, jotta ne mahtuvat hyvin lasille. Jos tarvitaan runsaasti leiketasoja, ne kannattaa valmistaa useammalle näytteläksille. Liian reunaan sijoitettu leike saattaa jäädä skannerilta tunnistamatta. (Näpänkangas 2019.)

Leikkaus- tai värjäysvaiheessa leikkeeseen tulleet rypyt, reiät tai ilmakuplat vaativat useamman fokuksipisteen, mikä lisää kuvaamisaikaa tai aiheuttaa näyttöeseen epäfokusta. Lasien tulee olla kuivia sekä peitinlasin suorassa ja liiman täysin kuivunut ennen kuin ne voidaan laittaa skanneriin, muuten riskinä on, että lasit juuttuvat skannerin telineisiin. Lasilevyjen puhtauteen tulee myös kiinnittää enemmän huomiota, jolloin skanneri ei erehdy käsittelemään levyllä olevaa tahraa kudoksenäytteenä, ja käyttämään siihen aikaa ja tallennustilaa. (Näpänkangas 2019; Thorstenson & Molin & Lundström 2014.) Näitä esivalmisteluja on havainnollistettu kuviossa 2.

<b>Käyntiinpano</b>	<b>Valu</b>	<b>Leikkaaminen</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kudospalojen koko</li> <li>• Kudospalojen määrä</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Palojen orientaatio</li> <li>• Palojen sijoittelu lähelle toisiaan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leikepaksuus</li> <li>• Ei samalle lasille eri paksuisia leikkeiden määrä lasilla</li> <li>• Leikkeiden sijoittelu lasin keskelle</li> <li>• Ei rypyjä, reikiä ja ilmakuplia</li> <li>• Puhtaus</li> </ul>

Kuvio 2. Skannauksen laatuun vaikuttavat tekijät leikkeen valmistelussa

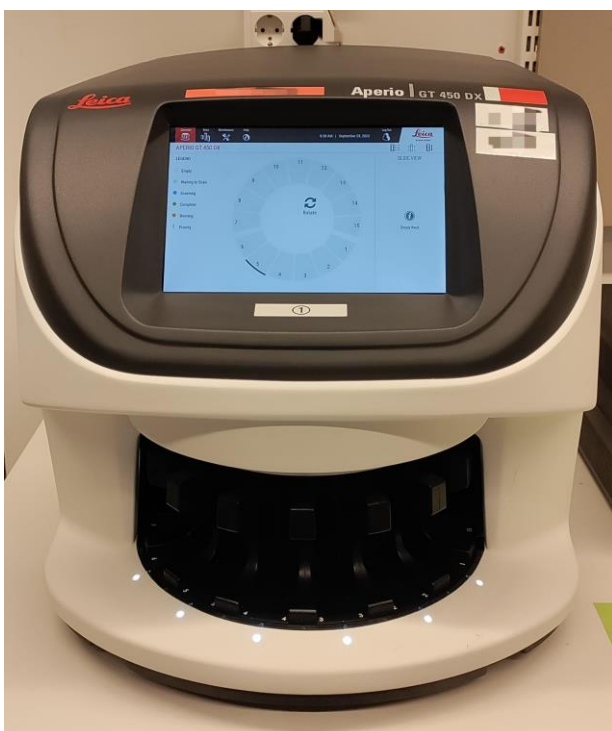
IMP Diagnostics laboratoriossa Portugalissa tehdyssä tutkimuksessa yleisimpiä virheitä, joita skannerit havaitsivat, olivat kyvyttömyys lukea QR-koodi näytelasissa, kuvanlaadun ongelmat ja vinot näytelasit telineissä, sekä se ettei skanneri löydä kudosta lasilta. (Montezuma ym. 2022.) Useimmat kuvaamisongelmat johtuvat skannerin kameran fokuointiongelmasta. Huonon laadun seurauksena lasien kuvaamisajat pitenevät, potilaan vastaukset viivästyvät, tietokoneavusteinen analyysi vaikeutuu tai se jopa aiheuttaa virhediagnooseja. (Randén-Brady & Winter 2022.)

Automaattinen värjäys ja peitelevyn asetus tuovat prosessiin tasalaatuisuutta, ja uudelleenvärjäämistä ja skannausasetusten säätämistä tarvitaan paljon vähemmän. Tulevaisuudessa myös valu ja leikkaaminen voidaan automatisoida, mikä edelleen tulee tasalaatuistamaan työnkulkua. Kuitenkin tällä hetkellä nämä jälkimmäisenä mainitut vaiheet tehdään vielä käsin, ja niiden laatuun on kiinnitettävä huomiota. (Fraggetta ym. 2021.)

### 3.3 Leica Aperio GT 450 DX -skannerin toiminta

Aperio GT 450 DX on laite (kuva 1), jonka avulla voidaan luoda digitaalisia kuvia skannatuista näytelaseista. Laite on tarkoitettu käytettäväksi keskikokoisissa ja suurissa kliinisen patologian laboratorion yksiköissä. Näytteiksi soveltuvat formaliinilla fiksoidut ja parafiiniin valetut kudoksenäytteet, jotka sopisivat myös perinteisellä valomikroskoopilla tarkasteluun. Aperio GT 450 DX on validoitu käytettäväksi in vitro -diagnostiikkakäyttöön yhteensopivan näyttöohjelmiston ja näytön kanssa. (Leica 2022: 13.)

Aperio GT 450 DX kirkaskenttäskannerin kapasiteetti on 450 näytelasia jaettuna 15 telineeseen, joita voi jatkuvasti ladata laitteeseen. Sen ominaisuuksiin kuuluu myös telineiden skannaus tärkeysjärjestyksessä ja automatisoitu kuvanlaadun tarkistus. Skannausnopeus 40-kertaisella kuvasuurennoksella 1,5 cm x 1,5 cm kokoiselle alueelle on 32 sekuntia. (Leica 2022: 13.)



Kuva 1. Leica Aperio GT 450 DX -skanneri (Petra Vartiainen 2023).

Skanneri siirtää näytelasit automaattisesti skannausalustalle käyttäjän kuljetinkaruseliin lataamista näytelasitelineistä. Kuvantamisprosessi alkaa makrokuvan ottamisella, josta kudoksen tunnustetaan automaattisesti. Laite asettaa automaattisesti tarkennuskohdat, joten käyttäjän ei tarvitse käsitellä prosessoitavia näytelaseja. Aperio GT 450DX kuvaa näytelasin raitoina liikkuvan alajärjestelmän liikuttaessa lasia köhlerin ja optisen reitin läpi. Valmiit näytelasit laite palauttaa näytelasitelineisiin, josta käyttäjä voi ne poistaa. (Leica 2022: 20.)

Skannauksen onnistumisessa ratkaisevan tärkeää on, että näytteet on valmisteltu huolellisesti. Ennen skannausta on varmistettava, että lasit ovat puhtaita ja niissä ei ole mm. likaa, sormenjälkiä ja kirjoitusta, eikä lasi ole rikki tai lohjennut. Näytelasit eivät myöskään saa olla märkiä tai lasin reunoilla kiinnitysainetta, koska silloin skanneri saattaa vahingoittua, tai lasi voi jäädä kiinni alustalleen. Skannerin käyttäminen edellyttää, että näytelaseissa on peitinlasit tai peitinkalvot. Peitinlasin/-kalvon kunto vaikuttaa skannaustulokseen, niissä ei saa olla likaa tai merkintöjä tai ilmakuplia. Kiinnittämiseen tulee käyttää mahdollisimman vähän kiinnitysainetta, koska liiallinen kiinnitysaine vaikeuttaa kudoksen tunnustamista lasilta. (Leica 2022: 27–28.)

## 4 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön aiheen toimeksiantajan HUS patologian laboratoriossa kudosleikkeiden skannausprosessiin siirtyminen on vielä alkuvaiheessa. Näytelasien skannausta on vuoden 2023 aikana aloitettu tekemään, mutta objektilasit perinteisen valomikroskopian kanssa ovat vielä kulkeneet diagnosoimisessa mukana. Opinnäytetyö oli osa HUS Diagnostiikkakeskuksen, patologian vastuualueen näytteenkäsittelyprosessin validoinnista näytelasien digitalisaatiota varten. Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa tietoa histologisten näytteiden laboratoriossa laatuvirheistä, jotta työprosessia voidaan kehittää.

Tarkoituksena oli optimoida kudosleikkeen laboratoriossa sen käyntiinpanon, valun ja leikkaamisen työvaiheissa. Nämä vaiheet valikoituivat, koska ne tehdään käsin ja niissä on kirjallisuuden perusteella esiintynyt eniten laadullisia virheitä. Skannaamiseen käytettiin Leica Aperio GT 450 DX -skanneria. Tutkimuskysymykset muodostettiin kirjallisuuden perusteella leikkeiden laatuun vaikuttaneista asioista.

Opinnäytetyön tutkimuskysymyksinä olivat:

1. Miten kasettiin käynnistettyjen kudosten määrä ja koko vaikuttavat skannaamiseen?
2. Miten kudospalojen sijoittelu parafiiniblokkiin vaikuttaa skannaamiseen?
3. Miten leikkeiden määrä, sijoittelu ja leikepaksuus lasilla vaikuttavat skannaamiseen?
4. Miten leikkeiden rypyisyys, reikäisyys, kuplat ja tahrat vaikuttavat skannaamiseen?

## 5 Opinnäytetyön toteutus ja menetelmät

### 5.1 Menetelmälliset lähtökohdat

Tutkimuksellisen opinnäytetyön tuloksena syntyy uutta tietoa tutkimusraportin muodossa ja sen keskeinen toimija on opiskelija, kun taas toiminnallisessa opinnäytetyössä opiskelija tekee tuotoksen ja se edellyttää eri vaiheissa mukana olevia toimijoita (Salonen 2013: 5–6). Tämä opinnäytetyö on tutkimuksellinen opinnäytetyö, jonka lopputuloksena tuotetaan tietoa HUS Patologian laboratorion henkilökunnan käyttöön tutkimusraportin muodossa ja tiedon tuottamisen keskeisenä toimijana on opiskelija.

Tutkimusmenetelmänä käytettiin kokeellista tutkimusmenetelmää ja tuloksia tarkasteltiin kvalitatiivisesti. Kokeellisessa tutkimusmenetelmässä on tavanomaista tutkia käsiteltävän muuttujan vaikutusta toiseen muuttujaan systemaattisesti havainnoiden. Kvalitatiivisessa tutkimuksessa suositaan ihmistä tiedon keruussa ja pyritään ymmärtämään kohteen laatua ja ominaisuuksia. (Hirsjärvi & Remes & Sajavaara 2008: 130,160.)

Skannatun kuvan laatua ei voi saada numeerisena, joten tiedon keruussa luotetaan patologian laboratoriossa työskentelevien asiantuntijoiden antamiin havainnoiteihin ja palautteeseen.

## 5.2 Aineiston keruu ja valmistaminen

Tässä opinnäytetyössä näytemateriaalina käytettiin HUS Patologian laboratoriossa jo diagnosoituja ja hävitettäväksi meneviä anonymisoituja formaliinissa fiksoituja kudoksenäytteitä. Kudosmateriaaliksi valikoitui mahdollisimman monipuolisesti erilaisia saatavilla olevia kudoksia, esimerkiksi kohtua, maksaa, suolta, keuhkoa ja ihoa. Aineisto valmisteltiin histologisen näytteen laboratorioprosessin mukaan tehden tarkoituksella laadullisesti erilaisia leikkeitä.

Opinnäytetyötä varten valmistettiin yhteensä 54 kudosblokkia. Normaalikokoisia kasetteja valmistettiin 43, monilokerokasetteja seitsemän kappaletta ja makrokasetteja neljä kappaletta. Osaan kaseteista dissekoitiin kudosta ylitäyteen, joihinkin paloja laitettiin liikaa ja osa kaseteista tehtiin laadullisesti hyvin. Paloja tehtiin myös eri kokoisia. Kasetit numeroitiin numeroilla 1–50, ja makrokasetit 1–4.

Kasetit vietiin automatisoituun kuduskuljettimeen, mistä normaalikokoiset kasetit valmistuivat seuraavaksi päiväksi, ja makrokasettien valmistumiseen meni kaksi vuorokautta. Tämän jälkeen näytteet valettiin parafiiniblokeiksi käyttäen valukonetta. Valmistetut blokit ovat esitetty kuvassa 2. Jotkut näytteet, joissa oli useampi pala, valettiin tarkoituksella liian kauaksi toisistaan.



Kuva 2. Valmistetut normaalikokoiset kudusblokit

Valetut näytteet leikattiin käyttäen Thermo Scientific HM355S -vesiliukumikrotomia. Leikkaamiseen saatiin apua HUS Patologian laboratorion henkilökunnalta. Leikkeitä leikatessa keskityttiin ottamaan laadullisesti erilaisia leikkeitä. Joihinkin leikkeisiin tehtiin tarkoituksella ryppejä ja reikiä. Leikkeiden sijoittelussa tehtiin erilaisia variaatioita sijoittaen ne objektilasille liian lähelle reunoja tai eri asemoinneilla vinoon tai useamman leikkeen sisältävissä lasissa liian kauas toisistaan. Joistain leikkeistä tehtiin myös liian paksuja leikkeitä. Useampi leike leikattiin myös laadullisesti hyvin. Jokaisesta blokista leikattiin vähintään yksi leike, joistakin blokeista kaksi. Objektilasit numeroitiin samoilla numeroilla kuin blokit 1-50. Jos blokista tehtiin kaksi leikettä, ne nimettiin a- ja b-kirjaimilla. Yhteensä leikattiin 66 lasia.

Lasien värjäykset suoritettiin Roche Ventana HE 600 -värjäysautomaatilla HUS Patologian laboratorion normaalin hematoksyliini-eosiini värjäysprotokollan mukaan. Laite myös automaattisesti päällystää lasit peitinkalvolla, joten sen jälkeen ne olivat suoraan valmiita skannaukseen.

Lasien kuvaus digitaaliseen muotoon tehtiin Leica Aperio GT 450 DX -skannerilla. Makroleikkeiden kuvaamiseen käytettiin 3DHistec P1000 -skanneria, koska Leican skanne-

rilla ei voi kuvata makroleikkeitä. Näytteille tulostettiin datamatriisikoodit, jotka kiinnitettiin objektilasin hiospäihin. Koodien avulla skanneri siirsi valmiit kuvat tietokoneen failed-kansioon, josta kuvia pystyi tarkastelemaan ilman potilastietojärjestelmää. Kuvat saatiin auki 40-kertaisella suurennoksella tarkoitukseen suunnitellulla Aperio ImageScope kuvantarkasteluohjelmalla. Skannatut alkuperäiset näytetiedostot olivat niin suuria, jopa 1–3 Gt, joten opinnäytetyön raporttiin tarvittavat kuvat otettiin kuvakaappauksilla.

### 5.3 Aineiston analysointimenetelmä

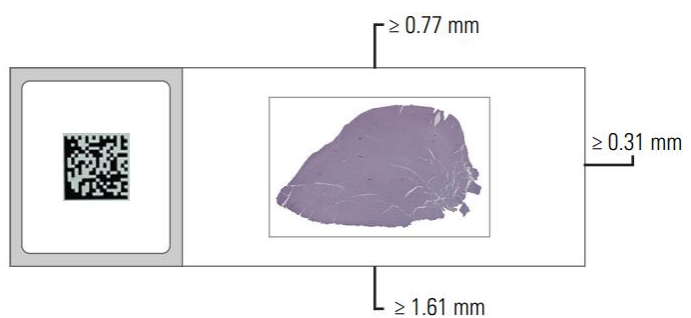
Aineistoa haluttiin valmistaa mahdollisimman paljon, jotta myös laadullisia virheitä saadaan riittävästi esille. Opinnäytetyössä käsiteltiin vain histologisia näytteitä, joten esimerkiksi sytologiset näytteet oli rajattu pois. Kaikkien kudoksenäytteiden värjäysmenetelmänä käytettiin hematoksyliini-eosiinivärjäystä, mikä on yleisin menetelmä ja tehdään muutenkin aina kaikille näytteille.

Skannauksen suoritusta ja digitaalisia kuvia arvioitiin digihoitaja Jenni Winterin kanssa keskustelemalla ja suullisella palautteella. Kuvien analysointimenetelmänä käytettiin teemoittelua. Kunkin leikkeen kohdalla sen valmisteluvirheitä verrattiin skannerin skannaamaan kuvaan, ja apuna käytettiin taulukointia. Skannauksessa esiintyvistä virheistä koottiin yhdistäviä tekijöitä teemoiksi ja jokainen tekijä esiteltiin opinnäytetyön raportissa. Kuvat raporttiin valittiin niin, että jokaisesta laadullisesta ongelmasta otettiin vähintään yksi esimerkki. Kuvakaappaukset ovat joko pieniä kuvia kokonaisesta kudoksesta lasilla, tai zoomattuja kuvia tietystä laatuvirheestä.

## 6 Tulokset

### 6.1 Käynnistettyjen kudosten määrä ja koko

Tutkimuskysymyksenä oli: ”Miten kasettiin käynnistettyjen kudosten määrä ja koko vaikuttavat skannaamiseen?” Liian suuri käynnistetty kudospala, tai samaan kasettiin liian paljon käynnistettyjä kudoksia ei mahdu lopulta lasilla skannerin skannaamaan kuvaan. Kudoksen puuttuminen kuvasta voi estää diagnoosin tekemisen. Kuvassa 3 näkyy Leica Aperio GT 450 DX -skannerin käyttöoppaan mukaiset vähimmäisetäisyydet 26 mm x 76 mm:n kokoisella näytelasilla (Leica 2022: 28).

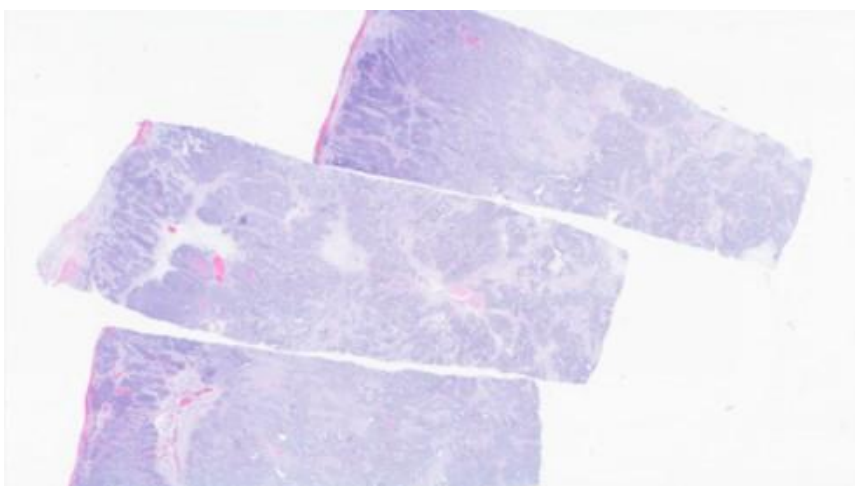


Kuva 3. Vähimmäisetäisyydet näytelasilla (Leica 2022: 28)

Kuvassa 4 näkyy, että kudoksen käynnistyksen aikana on samaan kasettiin käynnistetty liian monta palaa. Vaikka kudoks näyttäisi mahtuvan kokonaan objektilasille, skannatussa kuvassa (kuva 5) kudoksen molemmista reunoista jää alueita kokonaan pois. Käynnistäessä kudosta, nämä palat on parempi käynnistää eri kasetteihin.

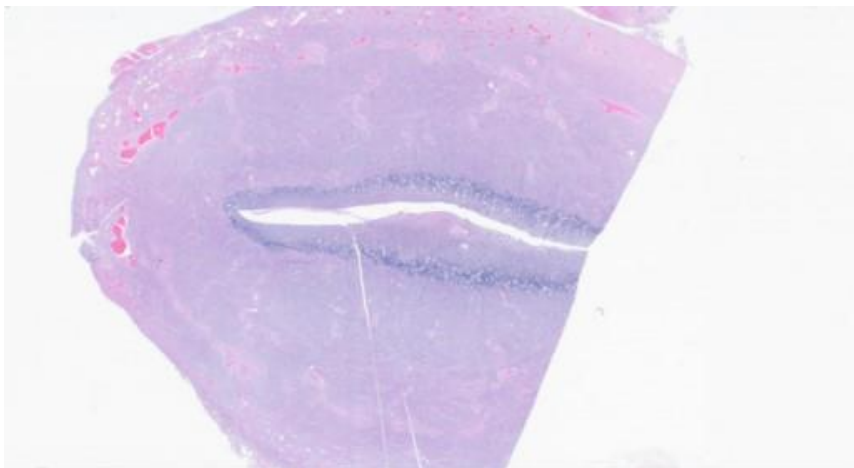


Kuva 4. Liikaa käynnistettyjä paloja objektilasilla



Kuva 5. Liikaa kudosta lasilla

Myös liian suuri pala ei mahdu lasille, ja kudoksen reunat jäävät skannaamatta. Liian suuri pala näkyy kuvassa 6. Myös makroleikkeet (kuva 7) eivät voi olla liian suuria, koska kudosta jää silloin skannaamatta. Kudosta dissekoidessa palan kokoon tulee kiinnittää huomiota ja objektilasin vähimmäisetäisyydet pitää mielessä.



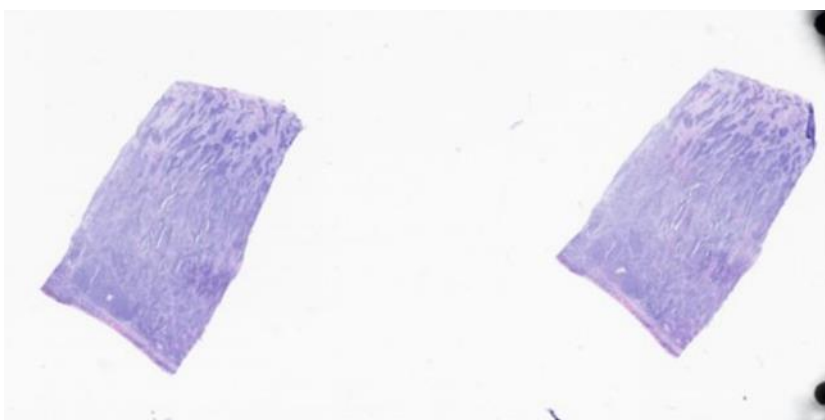
Kuva 6. Liian suuri pala



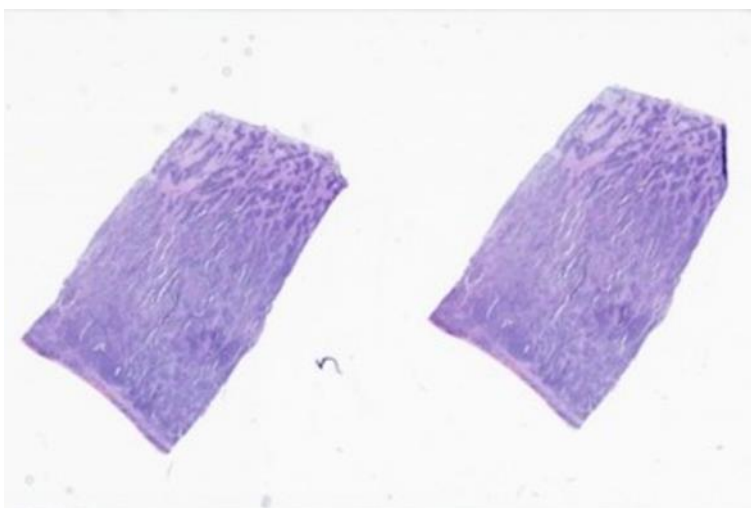
Kuva 7. Makroleike ei mahdu skannattuun kuvaan

## 6.2 Kudospalojen sijoittelu parafiiniblokkiin

Tutkimuskysymyksenä oli ”Miten kudospalojen sijoittelu parafiiniblokkiin vaikuttaa skannaamiseen?” Skanneri skannaa lasit rajaten tunnistamansa kudoksen, jolloin tyhjän tilan skannaamisessa menee turhaa aikaa. Leikkeiden sijoittelu valun tai leikkaamisen aikana liian kauaksi toisistaan aiheuttaa skannausajan pidentymistä ja turhaa kuvakoon suurenemista. Kuvassa 8 näkyy liian kauas toisistaan sijoitellut leikkeet, ja väliin jäävä tyhjä tila eli ”non-scan” alue. Jos leikkeet valetaan ja leikataan lähelle toisiaan, kuten kuvassa 9, skannattu pinta-ala on pienempi, ja näin ollen skannaamiseen kuluu vähemmän aikaa.



Kuva 8. Leikkeet liian kaukana toisistaan aiheuttaa ”non-scan” alueen



Kuva 9. Leikkeet lähellä toisiaan

Kudoksen valaminen ja leikkeiden sijoittelu lasille kuvassa 10 näkyvään suoraan linjaan helpottaa kuvan tarkastelua näytöllä. Suoraan linjaan sijoittelulla voi myös helpottaa tulevaisuudessa keinoälyn tekemiä mittauksia. Kuvassa 11 on huono sijoittelu, joka aiheuttaa myös skannausajan pidentymistä ja kuvakoon suurenemista, koska leikkeen tunnistaminen lasilla hidastuu ja skannattu pinta-ala suurenee.



Kuva 10. Hyvä asettelu



Kuva 11. Leikkeiden sijoittelu lasilla väärä

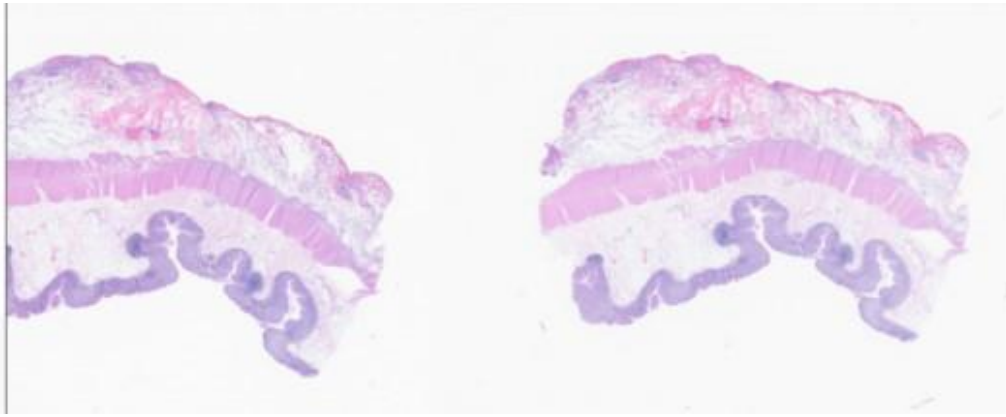
### 6.3 Leikkeiden määrä, sijoittelu ja leikepaksuus lasilla

Tutkimuskysymyksenä oli: ”Miten leikkeiden määrä, sijoittelu ja leikepaksuus lasilla vaikuttavat skannaamiseen?” Useampia leikkeitä samalle lasille sijoittaessa tulee huomioida, että molemmat leikkeet mahtuvat lasille hyvin. Jos leikkeet jäävät liian reunaan, jää kudosta pois skannatusta kuvasta, ja se voi estää diagnosoimista. Kuvassa 12 on 7A lasille yritetty maahuttaa kaksi leikettä, jolloin alempi leike on jäänyt liian alas lasia, eikä skannaudu kokonaan. 7B lasilla on optimaalisemmin vain yksi leike.

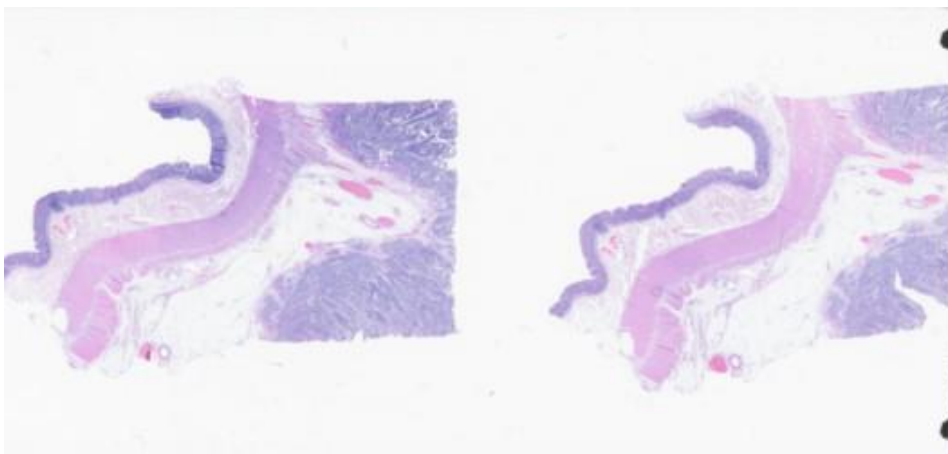


Kuva 12. Kaksi leiketasa ei mahdu hyvin samalle lasille. Toinen leike jäänyt liian alas lasia.

Kuvassa 13 ja 14 leikkeet on sijoitettu liian lähelle näytelasin hiospäättä tai alareunaa, jolloin kudosta jää skannatusta kuvasta pois. Kudoksen jääminen pois lasilta estää diagnoosin tekemistä. Jos on epäily, että useampi leiketaso ei mahdu samalle lasille, tulisi leikkeet laittaa eri laseille.

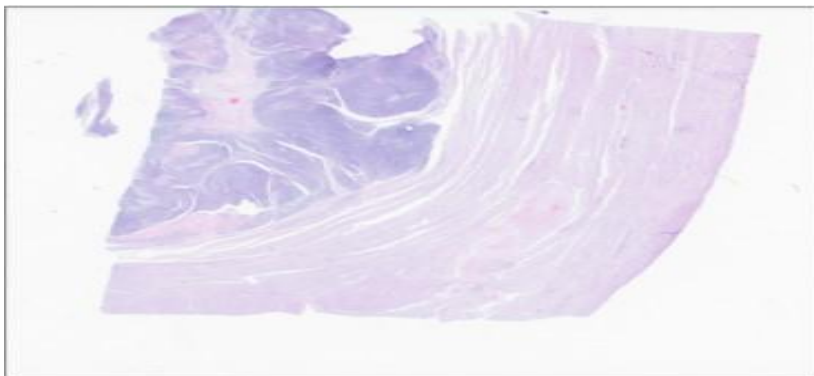


Kuva 13. Leike liian lähellä hiospäätä



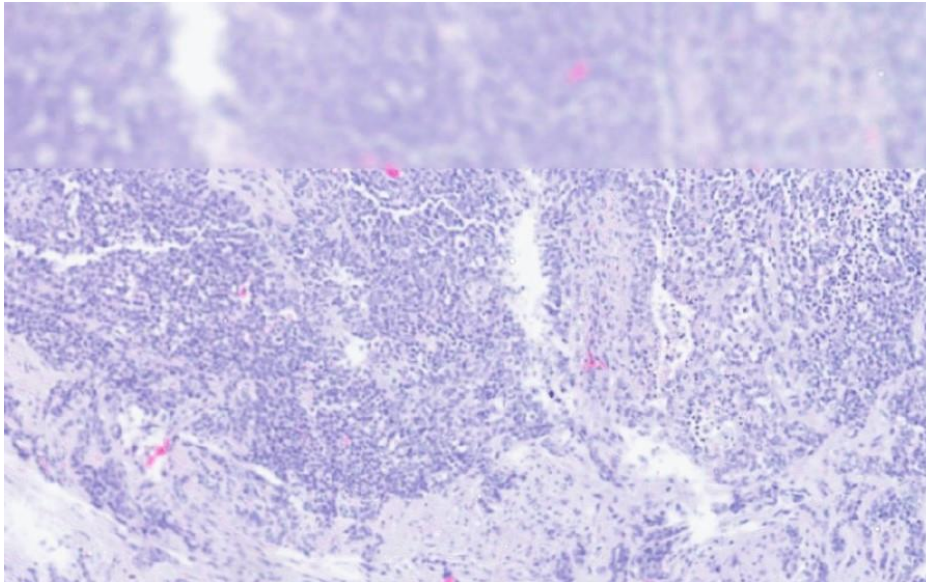
Kuva 14. Leike liian lähellä lasin reunaa

Yksittäinenkin leike tulee asemoida mahdollisimman keskelle objektilasia. Jos leike jää liian reunaan, se ei välttämättä tule skannatuksi kokonaan. Kuvassa 15 leike on asemoitu liian reunaan.



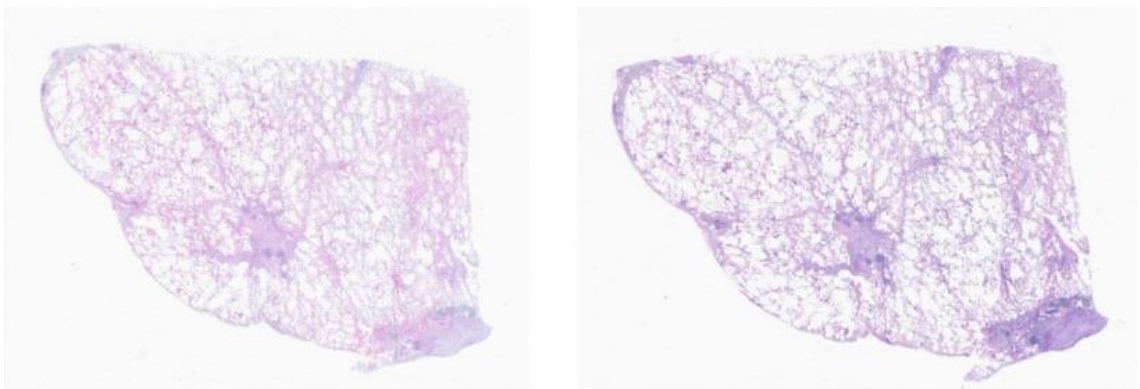
Kuva 15. Leike liian lähellä lasin reunaa

Liian reunaan asetetun leikkeen reuna-alueelle voi muodostua epäfokusraja. Kuvassa 16 näkyy, että skanneri ei ole pystynyt tarkentamaan kudoksen reunaa, vaan on muodostunut epäfokusraja. Leikettä lasille sijoittaessa, tulee muistaa vähimmäisetäisyydet näytelasin reunoista.



Kuva 16. Liian reunassa olevan kudoksen aiheuttama epäfokusraja

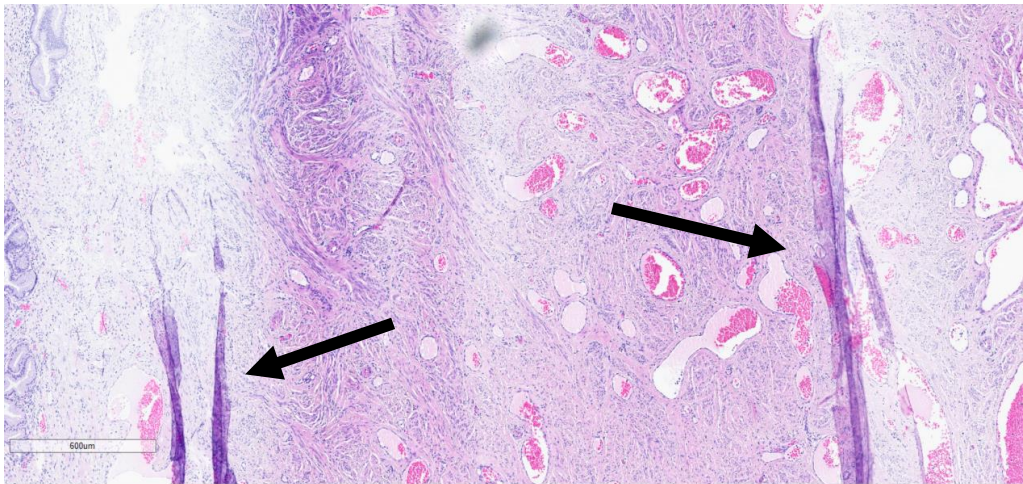
Liian paksu tai ohut leike voi vaikuttaa kudoksen tunnistukseen lasilta. Eri paksuiset leikkeet samalla lasilla aiheuttavat epäfokusta tai vaativat useamman fokuspuolelta lisä-ten kuvausaikaa. Tasainen paksuus varmistaa, että koko leikkeestä saadaan tarkka kuva skannauksen aikana. Kuvassa 17 näkyy eri paksuiset leikkeet samasta kudoksesta.



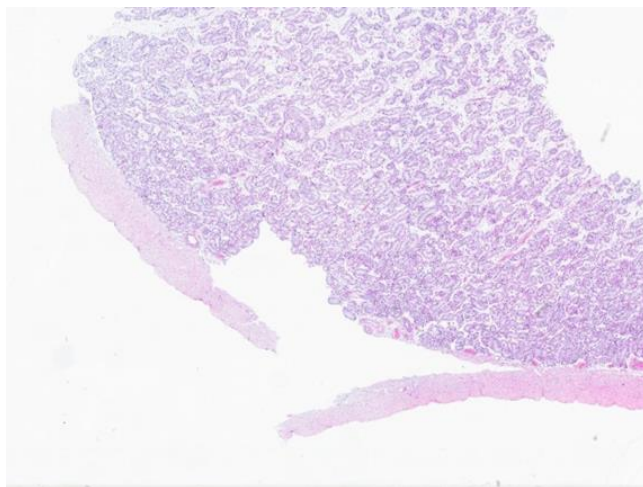
Kuva 17. 3 µm ja 6 µm leikepaksuudet vierekkäin

## 6.4 Rypyt, repeämät, kuplat ja tahrat

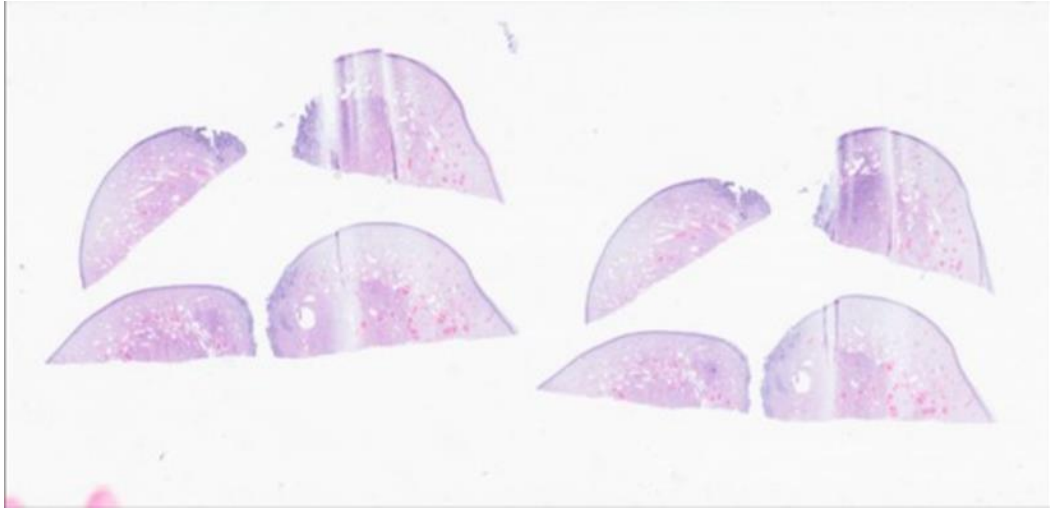
Tutkimuskysymyksenä oli: ”Miten leikkeiden rypyisyys, reikäisyys, kuplat ja tahrat vaikuttavat skannaamiseen?” Kuvassa 18 näkyvät leikkeeseen tulleet taitokset tai rypyt vaativat skannerin kameralta useamman fokusointipisteen, mikä lisää kuvausaikaa. Rypyt voivat aiheuttaa myös epäfokusta. Rypyjien alle jäänyt kudoks ei välttämättä näy kuvassa, joten jos rypy on diagnostisesti tärkeässä kohdassa, täytyy blokki leikata uudelleen. Tämä osaltaan viivästyttää potilaan vastausaikaa. Myöskään leikkeen repeytymää (kuva 19) ei jälkeinpäin voi enää pelastaa, vaan on leikattava uusi leike. Revennyt kudosa ei näy lasilla, jolloin diagnosoiminen vaikeutuu. Kuvassa 20 näkyy mikrotomin terän tekemät viillot, jotka voivat johtua terän tylsyydestä.



Kuva 18. Rypyjä leikkeessä

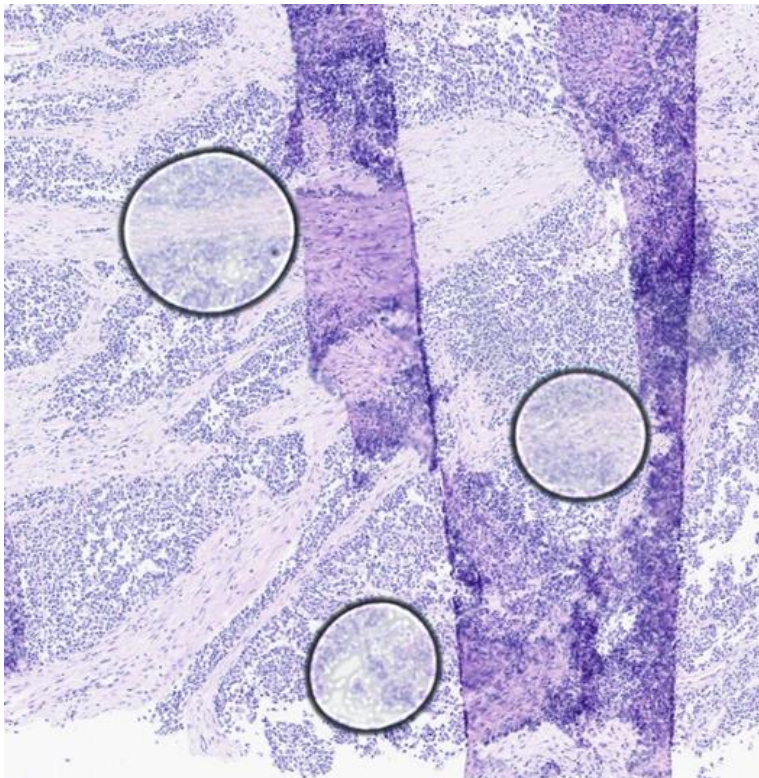


Kuva 19. Repeytymä leikkeessä



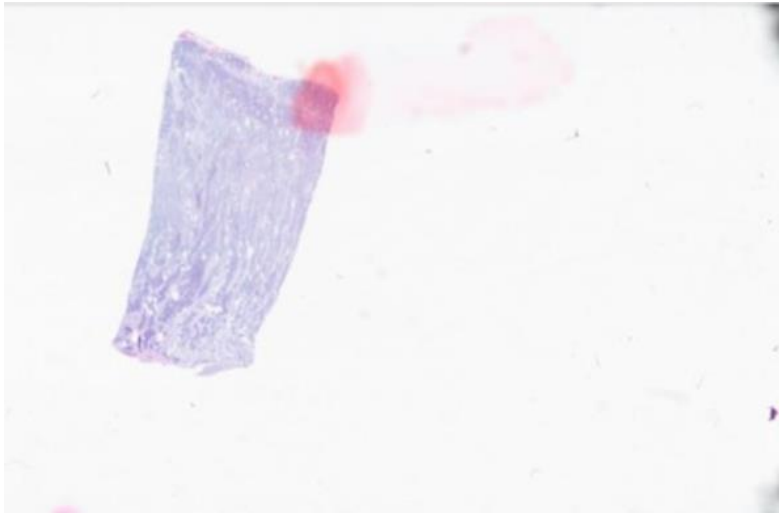
Kuva 20. Leikatessa mikrotomin terä rikkonut kudosta

Näytelasilla olevat ilmakuplat kuvassa 21 aiheuttavat epäfokusta. Tämän leikkeen ilmakuplat ovat todennäköisesti aiheutuneet leikkeessä olleista rypyistä. Epäfokus aiheuttaa sen, ettei kudosta näy tarkkana ilmakuplan kohdalta. Makrolasien peitinkalvo kiinnitetään käsin, jolloin ilmakuplia voi jäädä herkemmin kalvon väliin. Myös leikkeen epätasainen leikepaksuus aiheuttaa herkemmin ilmakuplia.

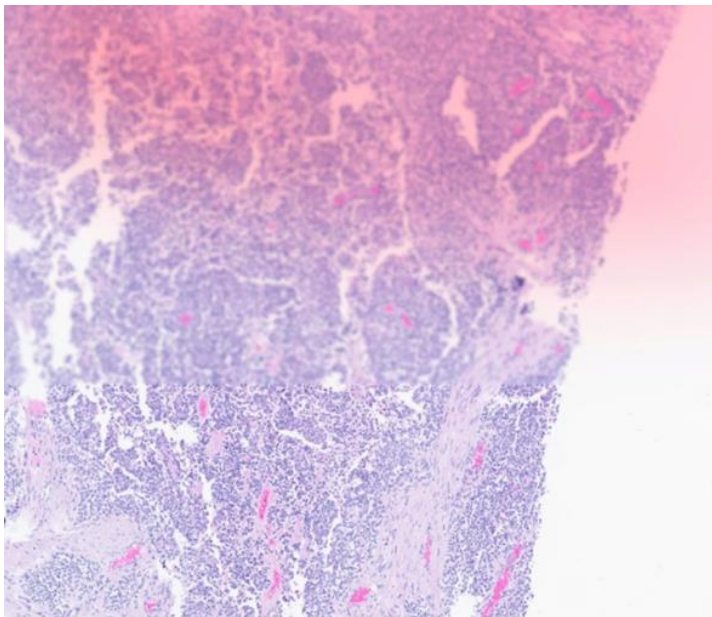


Kuva 21. Ilmakuplia peitinkalvon alla

Myös tahrat, sormenjäljet, merkinnät tai peitinlasin liima estävät näkyvyyttä kudokseen, jolloin diagnoosin tekeminen vaikeutuu. Skanneri myös skannaa tahrat kudoksen lisäksi, jolloin kuvakoko turhaan suurenee ja skannausaika pitenee. Ne voivat myös liata skannerin tai osua optiikkaan rikkoen sen. Kuvassa 22 näkyy värjäyksen aiheuttama tahra. Kuvassa 23 skanneri on fokusoinut tahraan, jolloin suuri osa kudoksesta on epäfokuksessa. Skannaukseen menevät lasit tulee pitää puhtaina, ja mahdolliset tahrat ja sormenjäljet kannattaa pyyhkiä ennen skanneriin laittamista. Peitinlasin kiinnitykseen tulee käyttää mahdollisimman vähän liimaa ja liiman tulee olla kuivunut hyvin.



Kuva 22. Värjäyksen aiheuttama tahra



Kuva 23. Värjäyksen aiheuttaman tahran epäfokusraja

## 7 Pohdinta

### 7.1 Tulosten tarkastelu

Tässä opinnäytetyössä valmisteltiin laadullisesti erilaisia histologisia leikkeitä, ja tarkasteltiin näiden laatuvirheiden vaikutusta leikkeen digitaaliseksi skannautumiseen. Tämän opinnäytetyön tulokset vahvistavat, että histologisen näytteen laboratoriossessissa leikkeen laatuun tulee kiinnittää huomiota.

Opinnäytetyöhön valmistettuja leikkeiden laadullisia virheitä olivat käynnistettyjen kudoksien määrä ja koko, leikkeiden määrä, sijoittelu ja paksuus lasilla sekä siihen syntyneet rypyt ja repeämät, ilmakuplat ja tahrat. Nämä laatuvirheet valikoituivat histologisten leikkeiden laadusta kertovasta kirjallisuudesta (Näpänkangas 2019; Taqi ym. 2018; Thorstenson ym. 2014).

Opinnäytetyössä esiintyvät teknisistä syistä johtuvat laadulliset ongelmat estävät kudoksen näkymistä skannatussa kuvassa, haittaavat skannerin fokuoimista, aiheuttavat sumeita kohtia ja pidentävät skannaamisaikaa. Tavoitteena näytteiden digitoimiseen on selkeä ja laadukas kuva, jotta diagnosoiminen on mahdollista ja luotettavaa. Nopea skannaus ja mahdollisimman pieni kuvatiedoston koko on tärkeää, koska patologian laboratorioissa käsitellään suuria määriä näytteitä, ja tämän prosessin on oltava tehokasta. Myös potilaan vastausajat tulee pitää mahdollisimman lyhyinä.

Opinnäytetyön tutkimuskysymyksiin tulokset toivat hyvin vastauksia. Histologisen laboratoriossessin käsin tehtävien vaiheiden aikana skannaamiseen vaikuttavia laatuvirheitä on monenlaisia. Nämä samat digitaalisen patologian laatuvirheet leikkeen käsittelyssä haittaavat diagnosoimista myös valomikroskopiassa. Kuitenkin valomikroskoopilla heikkotasoisien leikkeiden kuvan tarkkuutta voi säädellä vielä samaan aikaan kudosta tarkastellessa, jolloin esimerkiksi leikkeen epätasaisuus ei välttämättä haittaa niin paljon. Digitaaliselle kuvalle ei voi samaa enää tehdä, vaan näyte joudutaan leikkaamaan uudelleen ja vastausaika viivästyy.

## 7.2 Luotettavuus

Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu luotettavuus, rehellisyys, arvostus ja vastuunkanto. Siihen kuuluu mm. avoimuus koko tieteellisen prosessin ajan aina ideasta julkaisemiseen, muiden työn ja saavutuksien huomioiminen asianmukaisin lähdeviittein ja tarvittavien tutkimuslupien hankkiminen. Opinnäytetyön tulee olla suunniteltu ja toteutettu tieteellisen tutkimuksen peruskriteerien mukaan huolellisesti ja johdonmukaisesti, jotta sen tulokset voivat olla luotettavia. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2023: 11–14.) Opinnäytetyöntekijä oli perehtynyt TENK:n laatimiin ohjeisiin hyvästä tieteellisestä käytännöstä ja sitoutunut noudattamaan niitä.

Tätä opinnäytetyötä varten laadittiin suunnitelma, johon oli kirjattu toteutukseen, eettisyyteen ja luotettavuuteen vaikuttavat asiat. Opinnäytetyö tarvitsi myös tutkimusluvan, jota haettiin Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiriltä ennen opinnäytetyön aloitusta. Lupa tarvittiin, koska opinnäytetyössä käytettiin ihmisperäisiä kudospaloja, HUS:n Patologian laboratorion laitteita ja henkilökuntaa. Myös opinnäytetyösopimus laadittiin opinnäytetyöntekijän, Metropolia Ammattikorkeakoulun ja HUS:n Patologian laboratorion kanssa.

Opinnäytetyön luotettavuutta lisäsi aineiston runsaus, kudoksia oli runsaasti saatavilla ja blokkeja sekä laseja valmistettiin paljon. Tulosten syntyyn toi kuitenkin osin haasteita opinnäytetyöntekijän vähäinen kokemus histologisten leikkeiden valmistelusta, jolloin laadullisesti erilaisia leikkeitä oli vaikea saada, varsinkin blokkien leikkausvaihe aiheutti haasteita. Opinnäytetyöhön ei mahdollisesti saatu mukaan kaikkia laadullisia virheitä mitä oikeassa työelämässä voi leikkeisiin tulla. HUS:n Patologian laboratorion henkilökunta kuitenkin auttoi leikkausvaiheessa, mikä osaltaan lisäsi luotettavuutta.

Digitaalisten kuvien laadun arvioimisessa auttoi tätä paljon työssään tekevä digihoitaja, mikä lisäsi luotettavuutta tuloksien tarkastelussa. Laadullisessa tutkimuksessa kuitenkin tuloksien saamisessa käytetään ihmisen omakohtaista tulkintaa ja näkemyksiä, jolloin tuloksiin voi tulla vaihtelevuutta työtä toistettaessa. Tuloksissa mainittu skannausajan piteneminen perustuu skannatun kuvan koon suurenemisesta tehtyyn päätelmään. Leica Aperio GT 450 DX -skanneri ei anna yksittäiselle lasille kuvausaikaa.

Opinnäytetyön tiedon hakemiseen on käytetty alan suomen- ja englanninkielistä kirjallisuutta ja tietokantoja käyttäen hakemiseen Metcat Finnaa. Käytettyjä tietokantoja ovat

olleet Medic, PubMed ja ProQuest Central. Käytetyt lähdemateriaalit on pyritty löytämään ajankohtaisista ja vertaisarvioiduista lähteistä. Digitaalinen patologia on ajankohdainen aihe, joten kirjallisuutta tästä löytyi paljon lähivuosilta. Histologisten leikkeiden valmistelun perusmenetelmät taas ovat pysyneet melko muuttumattomina jo pitkään, joten myös vanhemmista lähteistä löytyi tähän luotettavaa tietoa. Lähteenä on myös käytetty digitaaliseen patologiaan liittyviä lehtiartikkeleita, jotka on julkaistu tieteellisissä julkaisuissa tai ammattilehdissä. Opinnäytetyön lähteet on viitattu asiaankuuluvasti ja plagioinnin estämiseksi opinnäytetyö tarkastettiin Turnitin-plagiaatintunnistusjärjestelmässä.

### 7.3 Eettisyys

Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ihmiseen kohdistuvan tutkimuksen eettisten periaatteiden mukaisesti opinnäytetyöntekijä toteuttaa tutkimuksensa siten, että tutkimuksesta ei aiheudu tutkittavina oleville ihmisille, yhteisöille tai muille tutkimuskohteille merkittäviä riskejä, vahinkoja tai haittoja (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2019: 7).

Bioanalyttikoiden eettisten ohjeiden mukaan on tärkeää käsitellä näytteitä kunnioittaen niiden luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia. Tämä edellyttää salassapitovelvollisuuden noudattamista, jotta näytteenantajan henkilökohtaiset tiedot säilyvät luottamuksellisina. (Suomen bioanalyttikoliitto 2017.) Opinnäytetyön eettisyys varmistettiin käyttämällä anonyymejä sekä jo diagnosoituja kudospaloja. Tietosuojakysymykset oli otettu huomioon jo suunnitteluvaiheessa, joten kudospalojen henkilötiedot oltiin aikaisemmin HUS:n henkilökunnan toimesta poistettu. Näytettä ja henkilötietoja ei pystytty missään vaiheessa yhdistämään toisiinsa. Näytteistä oli jo tutkittu lääkärin pyytämät tutkimukset, ja ne olivat muuten menossa jätteenä hävitettäväksi. Näytteiden käsittely ja muistiinpanot tapahtuivat numerotunnisteiden avulla. Skannatut digitaaliset kuvat menivät tietokoneen failed-kansioon, eikä potilastietojärjestelmiä tarvittu. Valmistetut kudospalot ja objektilasit hävitetään opinnäytetyön hyväksymisen jälkeen.

Koska opinnäytetyö tehtiin yhteistyössä HUS Diagnostiikkakeskuksen kanssa, HUS:n ulkopuoliset toimijat, eli opinnäytetyöntekijä sekä ohjaava opettaja allekirjoittivat salassapito- ja tietoturvasitoumuksen. Opinnäytetyön valmistuttua kaikki oikeudet tuloksiin annettiin HUS Diagnostiikkakeskukselle.

## 7.4 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessi oli monella tapaa merkityksellinen. Se syvensi ammatillista osaamista bioanalytiikan työssä ja erityisesti patologian osaamisalalla. Sen aikana opin hahmottamaan koko opinnäytetyöprojektin eri vaiheet kokonaisuutena alkaen suunnittelusta, ja päättyen toteutukseen ja raportoimiseen.

Haasteita toi pääasiassa vähäinen kokemukseni patologiasta ja histologisten leikkeiden valmistelusta, sekä koulussa käydyn teoriaopintojakson lyhyys. Histologisten leikkeiden valmistelu on harjoitusta vaativaa käsityötä, joten eri laatuisten leikkeiden saaminen laskille oli yllättävän vaikeaa. Opinnäytetyön tekeminen kuitenkin kehitti näitä kädentaitoja merkittävästi.

Keskeinen osa prosessia oli myös ajanhallinnan ja stressinsietokyvyn kehittyminen. Opinnäytetyö vaatii aikaa ja omistautumista. Motivaation ylläpitämisessä tärkeintä oli laaditun aikataulun noudattaminen ja työjaksojen sopiva tauottaminen. Tieteellisen tekstin kirjoitustaidot, lähdekriittisen tiedonhankinnan osaamiseni, ja varsinkin englanninkielisten artikkelien lukemistaidot kehittyivät. Opinnäytetyöprosessi kannusti syventymään teoreettiseen taustaan ja soveltamaan sitä käytännön työn toteutuksessa. Opinnäytetyö kokonaisuutena oli minulle merkityksellinen ja projektin suorittamisesta on varmasti hyötyä tulevaisuuden työtehtävissä.

## 7.5 Johtopäätökset ja kehittämisehdotukset

Kun kuvat skannataan, leikkeitä valmistettaessa laatuun tulee kiinnittää entistä enemmän huomiota. Skannerit vaativat laadukkaita leikkeitä, jotta skannaaminen sujuu tehokkaasti ja kuvista saadaan laadukkaita. Valmistetut fyysiset näytelasit eivät ole tulevaisuudessa enää diagnosoimisessa mukana, ja digitaalisesta kuvasta tulee pystyä tekemään diagnoosi. Histologisia laseja on säilytetty 20 vuotta arkistoissa diagnoosin jälkeen, mutta onnistuneen skannauksen jälkeen ne voidaan lainsäädännön muuttuessa hävittää.

Laatuun on kiinnitettävä huomiota, koska koko histologisen näytteen laboratorioprosessi ei ole vielä automatisoitu ja käsin tehtävä työ voi aiheuttaa virheitä. Myös yhä enenevässä määrin mukaan tuleva tekoäly tarvitsee laadukkaita kuvia. Laadukkaat kuvat

mahdollistavat tekoälysovellusten kuva-analyysit ja niihin tarvittavat mittaukset, jolloin patologioiden työaika siirtyy rutiinitehtävistä vaativampiin töihin.

Kehittämisehdotuksena olisi ollut kiinnostavaa vertailla skannaamiseen käytettyä aikaa luvuin, mutta Leica Aperio DX 450 -skanneri ei anna yksittäiselle objektilasille skannaamiseen kulunutta aikaa. Aiheesta olisi myös voinut saada hyvinkin laajan ottamalla mukaan esimerkiksi värjäyksien optimoinnin lasiskannereille. Kuitenkin tämä opinnäytetyö käsitteli histologisen leikkeen laboratorioprosessissa käsin tehtävän työn laatuvirheitä, kun taas värjäykset suoritetaan pääosin automaateilla. Värjäyksistä saisi tehtyä ihan erillisen opinnäytetyön.

Skannaamisen tullessa mukaan histologisen näytteen laboratorioprosessiin, tarvitaan patologian laboratorioon uusi työvaihe, jossa tarkastetaan näytelasien laatu ennen skanneriin laittamista. Tarkistamattomien ja laadultaan vaihtelevien leikkeiden vieminen skannattavaksi vain hidastaa prosessia ja vaikeuttaa digitalisoitumisen etuja. Uusien työntekijöiden perehdytyksessä tulee heti tehdä selväksi, että leikkeiden laatu on keskeistä digitaalisessa patologiassa. Digitaalinen patologia yleistyy maailmalla kovaa vauhtia, kiinnittämällä huomion tässä työssä esitettyihin laatuvirheisiin voidaan parantaa oleellisesti näytteenkäsittelyprosessia digitaalista patologiaa varten.

## Lähteet

Bancroft, John D. & Layton, Christopher 2013. The hematoxylin and eosin. Teoksessa Suvarna, S. Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John D. 2013. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 7. painos. Lontoo: Churchill Livingstone. 173–186.

Fraggetta, Filippo & L'Imperio, Vincenzo & Ameisen, David & Carvalho, Rita & Leh, Sabine & Kiehl Tim-Rasmus & Serbanescu, Mircea & Racoceanu, Daniel & Della Mea, Vincenzo & Polonia, Antonio & Zerbe, Norman & Eloy, Catarina 2021. Best Practice Recommendations for the Implementation of a Digital Pathology Workflow in the Anatomic Pathology Laboratory by the European Society of Digital and Integrative Pathology (ESDIP). *Diagnostics* 11 (11). 2167. <<https://www.mdpi.com/2075-4418/11/11/2167>>. Viitattu 15.10.2023.

Hirsjärvi, Sirkka & Remes, Pirkko & Sajavaara, Paula 2008. Tutki ja kirjoita. 13.–14. osin uudistettu painos. Helsinki: Tammi 2008.

Leica 2022. Aperio GT 450 DX -käyttöopas. Versio B. <[https://www.leicabiosystems.com/sites/default/files/media\\_product-download/2022-07/Aperio\\_GT\\_450\\_DX\\_User\\_Guide\\_Finnish\\_MAN-0475-fi\\_Rev\\_B.pdf](https://www.leicabiosystems.com/sites/default/files/media_product-download/2022-07/Aperio_GT_450_DX_User_Guide_Finnish_MAN-0475-fi_Rev_B.pdf)>. Viitattu 11.10.2023.

Mirtti, Tuomas & Näpänkangas, Juha 2020. Tekoäly patologian kudosleikkeiden tulkinassa. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 2020. 136 (17): 1949–1955. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo15745>>. Viitattu 11.10.2023.

Montezuma, Diana & Monteiro, Ana & Fraga, João & Ribeiro, Liliana & Gonçalves, Sofia & Tavares, André & Monteiro, João & Macedo-Pinto, Isabel 2022. Digital Pathology Implementation in Private Practice: Specific Challenges and Opportunities. *Diagnostics* 12 (529). <<https://doi.org/10.3390/diagnostics12020529>>. Viitattu 11.10.2023.

Mäkinen, Markus 2021. *Histologia*. Teoksessa Mäkinen, Markus & Leivo, Ilmo & Arola, Johanna & Paavonen, Timo & Sironen, Reijo & Ristimäki, Ari (toim.). *Patologia*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Mäkinen, Markus & Lehto, Veli-Pekka 2022. *Patologian varhaisvaiheet*. Teoksessa Mäkinen, Markus & Leivo, Ilmo & Arola, Johanna & Paavonen, Timo & Sironen, Reijo & Ristimäki, Ari (toim.). *Patologia*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Näpänkangas, Juha 2019. Digitaalipatologia Diagnostiikassa. *Moodi* 2–3. 20–22. <[https://digiplus.fi/www/Moodi/2019\\_Moodi\\_2-3/page\\_21.html](https://digiplus.fi/www/Moodi/2019_Moodi_2-3/page_21.html)>. Viitattu 11.10.2023.

Näpänkangas, Juha & Tolonen, Teemu 2019. Adoption of diagnostic digital pathology in Finland. *Finnish Journal of eHealth and eWelfare*, 11(4). 320–325. <<https://doi.org/10.23996/fjhw.82550>>. Viitattu 11.10.2023.

Randén-Brady, Reija & Winter, Jenni 2022. Näytteiden digitalisaation vaatimukset laboratoriolle. Powerpoint -esitys 19.2.2023. HUS Diagnostiikkakeskus.

Rantala, Satu 2014. Histologisten näytteiden käsittely patologian laboratoriossa. Bioanalytiikka 1. 37–39.

Retamero, Juan Antonio & Aneiros-Fernandez, Jose & Del Moral, Raimundo G 2020. Complete digital pathology for routine histopathology diagnosis in a multicenter hospital network. Arch Pathol Lab Med 144 (2). 221–228. <<https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0541-OA>>. Viitattu 11.10.2023.

Rhodes, Anthony 2013. Fixation of tissues. Teoksessa Suvarna, S. Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John D. 2013. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 7. painos. Lontoo: Churchill Livingstone. 69–93.

Salonen, Kari 2013. Näkökulma tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Turun ammattikorkeakoulun puheenvuoroja 72. <<https://julkaisut.turkuamk.fi/isbn9789522163738.pdf>>. Viitattu 11.10.2023.

Solunetti 2006. Histologia. <<https://www.solunetti.fi/fi/histologia/etusivu/>>. Viitattu 3.10.2023.

Spencer, Lena T. & Bancroft, John D. 2013a. Tissue processing. Teoksessa Suvarna, S. Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John D. 2013. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 7. painos. Lontoo: Churchill Livingstone. 105–123.

Spencer, Lena T. & Bancroft, John D. 2013b. Microtomy: Paraffin and frozen. Teoksessa Suvarna, S. Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John D. 2013. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 7. painos. Lontoo: Churchill Livingstone. 125–138.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2017. Bioanalytiikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. <[https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2017.pdf](https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf)> Viitattu 2.11.2023.

Taqi, Syed & Sami, Syed & Sami, Lateef & Zaki, Syed 2018. A review of artifacts in histopathology. J Oral Maxillofac Pathol 22(2). 279. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6097380/>>. Viitattu 15.10.2023.

Thorstenson, Sten & Molin, Jesper & Lundström, Claes 2014. Implementation of large-scale routine diagnostics using whole slide imaging in Sweden: Digital pathology experiences 2006–2013. J Pathol Inform 5 (14). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4023034/>>. Viitattu 11.10.2023.

Tolonen, Teemu & Näpänkangas, Juha & Isola, Jorma 2021. Digitaalinen patologia. Teoksessa Mäkinen, Markus & Leivo, Ilmo & Arola, Johanna & Paavonen, Timo & Siironen, Reijo & Ristimäki, Ari (toim.). Patologia. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2023. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan julkaisuja

2/2023. <[https://tenk.fi/sites/default/files/2023-03/HTK-ohje\\_2023.pdf](https://tenk.fi/sites/default/files/2023-03/HTK-ohje_2023.pdf)>. Viitattu 11.10.2023.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2019. Ihmiseen kohdistuvan tutkimuksen eettiset periaatteet ja ihmistieteiden eettinen ennakoarviointi Suomessa. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan julkaisuja 3. <[https://tenk.fi/sites/default/files/2021-01/Ihmistieteiden\\_eettisen\\_ennakoarvioinnin\\_ohje\\_2020.pdf](https://tenk.fi/sites/default/files/2021-01/Ihmistieteiden_eettisen_ennakoarvioinnin_ohje_2020.pdf)>. Viitattu 11.10.2023.