

Hanna Järvenpää & Tanja Pohjola

PATHOS DELTA -PIKAKUDOSPROSESSORIN TOIMINNAN TESTAUS

PATHOS DELTA -PIKAKUDOSPROSESSORIN TOIMINNAN TESTAUS

Hanna Järvenpää & Tanja Pohjola
Opinnäytetyö
Syksy 2014
Bioanalytiikan koulutusohjelma
Oulun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tekijät: Hanna Järvenpää & Tanja Pohjola
Opinnäytetyön nimi: Pathos Delta -pikakudosprosessoriin toiminnan testaus
Työn ohjaajat: Markku Yli-Pyky, Timo Väisänen, Paula Reponen ja Outi Mäkitalo
Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2014
Sivumäärä: 35+2 liitesivua

Pathos Delta -pikakudosprosessori on maailman ensimmäinen hybridikudosprosessori, jossa on yhdistettynä perinteinen kudospesointi ja mikroaaltotekniikka. Mikroaaltotekniikan avulla pikakudosprosessori nopeuttaa prosessointiaikaa huomattavasti verrattuna konventionaaliseen eli perinteiseen menetelmään ja potilaat pystyvät saamaan vastauksia jopa saman päivän aikana. Pikakudosprosessori myös lisää työntekijöiden turvallisuutta, kun prosessointiin ei tarvitse käyttää haitallisia aineita, kuten ksyleeniä. Formaliininkin käyttöä voidaan vähentää.

Pathos Delta -pikakudosprosessori aiotaan ottaa käyttöön Oulun yliopistollisen sairaalan patologian osastolla, joka toimii opinnäytetyön toimeksiantajana. Opinnäytetyön tarkoituksena oli kartoittaa laitteen toimivuutta kudospaloilla suolesta, rinnasta, imusolmukkeesta ja eturauhasesta sekä pikakudosprosessoriin tiettyjen ohjelmien sopivuutta näille näytteille ja verrata näistä saatuja tuloksia konventionaaliseen menetelmään saatuihin tuloksiin. Tavoitteena oli antaa tietoa Pathos Delta -pikakudosprosessoriin toiminnasta, jotta se saataisiin kliniseen käyttöön Oulun yliopistollisen sairaalan patologian osastolla.

Näytteiksi kerättiin kolme erillistä potilastapausta jokaisesta näytetyypistä, joissa oli syöpäkudosta mukana. Lisäksi pikakudosprosessoriin toimivuutta testattiin myös kasvaimettomilla näytteillä. Jokainen näyte prosessoitiin sekä konventionaaliseen menetelmään että pikakudosprosessorilla ja tuloksia toisiinsa.

Tulokset olivat lupaavia. Pääpiirteittäin konventionaaliseen menetelmään prosessoidut näytteet olivat hieman parempia kuin pikakudosprosessorilla prosessoidut näytteet. Kuitenkin 12:sta kasvaimellisesta pikakudosprosessorilla prosessoidusta näytteestä ainoastaan yksi olisi pitänyt patologin mielestä tehdä kokonaan uudelleen. Muista näytteistä olisi saanut potilaan diagnoosin tehtyä. Näytemäärän vähäisyydestä johtuen Pathos Delta -pikakudosprosessorilla tarvitaan kuitenkin lisätestauksia ennen kuin sitä voidaan täysipainoisesti käyttää potilasnäytteiden prosessointiin. Näytepalan paksuuden kanssa on myös oltava erityisen tarkkana, jotta näyte prosessoituu kunnolla pikakudosprosessorilla. Erityisesti rasvakudosta sisältävät näytteet olivat haastavia.

Asiasanat:

kudospesointi, kudospäyte, mikroaaltotekniikka, Pathos Delta –pikakudosprosessori

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

Authors: Hanna Järvenpää & Tanja Pohjola

Title of thesis: Testing the Function of Pathos Delta Rapid Automatic Microwave Vacuum Tissue Processor

Supervisors: Markku Yli-Pyky, Timo Väisänen, Paula Reponen and Outi Mäkitalo

Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2014

Number of pages: 35+2 appendices

Pathos Delta Rapid Automatic Microwave Vacuum Tissue Processor is world's first hybrid tissue processor which combines the conventional processing and microwave technology. With the help of microwave technology, rapid tissue processor speeds up tissue processing time significantly compared to conventional processing. Because of the reduced processing time patient results can be finished the same day. It also increases the safety of employees, because during the rapid tissue processing harmful reagents such as xylene are not needed. The usage of formalin can be reduced as well.

Pathos Delta rapid tissue processor will be introduced in the Oulu University Hospital department of pathology, which is also the subscriber of our thesis. Purpose of this thesis was to investigate the functionality of rapid tissue processor with tissue pieces from intestine, breast, prostate and lymph node and to test the suitability of rapid tissue processor's programs for these tissue pieces and compare results to conventional method. Our aim was to give information about functionality of rapid tissue processor so the Oulu University Hospital department of pathology could bring it into clinical use.

We collected three separate samples of each tissue type, which contained cancerous tissue from several patients. In addition, we also tested the rapid tissue processor with the tissue samples that didn't contain cancerous tissue. We processed every sample with rapid tissue processor and by conventional method. Results were compared with each other.

The result were promising. Generally samples processed by conventional method were slightly better than the samples processed by rapid tissue processor. However, only one sample of total 12 samples should've been processed again. Rest of the samples could have been used in diagnosis purpose. Regardless, additional testing is needed before the rapid tissue processor can be fully used in processing patient samples. Most problems were with samples containing fat tissue. Fat cells sometimes lost their form and structure during rapid tissue processing. Thickness of the tissue piece must also be taken into account, so that the sample is processed properly.

Keywords:

Tissue processing, tissue sample, microwave technology, Pathos Delta

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	HISTOLOGISET MENETELMÄT PATOLOGIASSA	7
2.1	Näytteen saapuminen ja alkukäsittely laboratoriossa	7
2.2	Kudosprosessointi	8
2.3	Näytteen valaminen ja leikkely	9
2.4	Värijääminen	10
2.4.1	HE-värijäys	10
2.4.2	Immunohistokemialliset värjäykset.....	10
2.5	Mikroskopointi ja hyvän histologisen valmisteen kriteerit.....	11
3	PATHOS DELTA -PIKAKUDOSPROSESSORI	13
3.1	Toimintaperiaate.....	15
3.2	Ohjelmat	15
3.3	Pikakudosprosessorin vertaaminen konventionaaliseen menetelmään	16
4	TARCOITUS, TAVOITTEET, TUTKIMUSTEHTÄVÄT JA ORGANISAATIO	18
5	TYÖN TOTEUTUS	20
6	TULOKSET	23
6.1	Suolinäytteet.....	23
6.2	Rintänäytteet	24
6.3	Imusolmukenäytteet	25
6.4	Näytteet eturauhasesta.....	26
6.5	C-näytteet	28
6.6	Värjäytyminen.....	29
6.7	Yhteenveto	29
7	POHDINTA	31
	LÄHTEET	33
	LIITTEET	36

1 JOHDANTO

Mikroaaltoavusteista kudospesointia on tutkittu jo 1970-luvulta lähtien (Rohr, Layfield, Wallin & Hardy 2001, 703). Kuitenkin patologian laboratorioissa konventionaalinen menetelmä, jossa ensin suoritetaan formaliinifiksaatio ja sen jälkeen yön yli kestävä kuduskuljetus, on ollut käytössä jo lähes sata vuotta muuttumattomana. 1990-luvulla mikroaaltomenetelmä alkoi saada lisää hyväksyntää ja syyskuussa vuonna 1997 esiteltiin ensimmäisen kerran mikroaaltotekniikkaan perustuva manuaalinen menettelytapa. Vuonna 2001 esiteltiin automaattinen versio tästä. (Morales, Nassiri, Kanhoush, Vincek & Nadhi 2004, 528–529.)

Pathos Delta -pikakudosprosessori on maailman ensimmäinen hybridikudosprosessori, jossa on yhdistettynä mikroaaltotekniikka ja perinteinen kudospesointi. Pathos Delta -pikakudosprosessori otetaan käyttöön Oulun yliopistollisen sairaalan (OYS) patologian osastolla, joka toimii opinnäytetyömme toimeksiantajana. Opinnäytetyömme tarkoituksena on kartoittaa Pathos Delta -pikakudosprosessorin toimivuutta tietyn kokoisilla kudospaloilla suolesta, rinnasta, imusolmukkeesta ja eturauhasesta sekä kudospessorin ohjelmien sopivuutta näille näytteille ja verrata niistä saatuja tuloksia konventionaalisesta eli perinteisestä kudospessorista saatuihin tuloksiin. Tavoitteena on antaa tietoa Pathos Delta -pikakudosprosessorin toiminnasta OYS:n patologian osastolle, jotta pikakudosprosessori voidaan ottaa siellä kliniseen käyttöön.

Pathos Delta -pikakudosprosessori on jo tällä hetkellä käytössä Keski-Suomen keskussairaalsassa, Seinäjoen keskussairaalsassa, Turun yliopistollisessa keskussairaalsassa, Kuopion yliopistollisessa keskussairaalsassa ja Tampereen yliopistollisessa keskussairaalsassa. Pikakudosprosessorin käyttöönotto OYS:n patologian osastolla on siis ajankohtaista.

Pikakudosprosessorin avulla potilaan diagnoosin saamista voidaan nopeuttaa. Konventionaalisessa prosessissa tulosten saamiseen menee ainakin vuorokausi, koska kudospesointi tapahtuu yön aikana. Pikakudosprosessorilla mikroaaltojen avulla pesointi voidaan saada valmiiksi jopa kahdessa tunnissa, ja tulokset saman työpäivän aikana. Pikakudosprosessorin ohjelmien sopivuuden testaaminen erilaisille näytteille on myös tärkeää, jotta tulevaisuudessa potilaan diagnoosi ei vaarannu väärin ohjelmien vuoksi. Erilaiset näytteet vaativat eri liuokset. Näin näytteistä saadaan poistettua vesi ja imeytettyä parafiini tilalle mahdollisimman tehokkaasti.

2 HISTOLOGISET MENETELMÄT PATOLOGIASSA

Histopatologiassa tutkitaan taudin aiheuttamia muutoksia kudoksessa. Kudos ei sovellu sellaiseen mikroskooppiseen tutkimukseen, vaan ensin se fiksoidaan eli kiinnitetään sopivassa liuoksessa, valetaan parafiiniin ja jähmettyneestä parafiinistä leikataan ohuita, muutaman mikrometrin paksuisia leikkeitä näytelasille. Näytelasit värjätään ja sen jälkeen niitä voidaan tarkastella valomikroskoopilla. (Aho 1994, 5.) Näytteen kulku patologian laboratoriossa esitetään kuviossa 1.

Näytteen kulku patologian laboratoriossa

1. Näytteen vastaanotto
 2. Fiksointi
 3. Kasetointi
 4. Kuduskuljetus
 5. Valaminen
 6. Leikkaus
 7. Värjäys
 8. Mikroskopointi ja lausunnon antaminen
-

KUVIO 1. Histologisten näytteiden käsittely patologian laboratoriossa

2.1 Näytteen saapuminen ja alkukäsittely laboratoriossa

Patologian laboratorioon saapuvat histologiset näytteet voidaan jakaa kahteen pääkategoriaan: biopsioihin eli pieniin kudospäätteisiin ja suurempiin leikkausresekanteihin eli leikkauksella poistettuihin kokonaisiin elimiin tai osiin elimestä (Billings & Grizzle 2008, 75–76). Ensimmäinen näyte kirjataan saapuneeksi patologian laboratorion tietojärjestelmään ja tarkistetaan, että lähetetiedot ovat oikeat ja riittävät, sillä niiden perusteella määräytyvät näytteiden jatkokäsittelyt. Vastaanottaja tarkistaa myös näytteen fiksaation ja fiksaatioaineiden riittävyyden. Vastaanottovaiheessa näytteelle annetaan oma näytenumero, jonka avulla näyte identifioidaan kaikissa työvaiheissa. (Rantala 2014, 37.)

Näytteet saapuvat laboratorioon yleensä jo valmiiksi fiksatiivissa. Yleisin fiksatiivi on 10 % formaliini, joka on laimennettu formaldehydin vesiliuos. Formaldehydi on pistävän hajuinen, väritön kaasu, jota yleensä on formaldehydin vesiliuoksessa 37–50 %. (Työterveyslaitos 2013, hakupäivä 11.3.2014.) Formaliinifiksaatio perustuu siihen, että kudoksen proteiinien aminoryhmät reagoivat formaliinin aldehydiryhmiin kanssa ja muodostavat verkkorakenteen. Polypeptidiketjujen pääteryhmien välille muodostuu metyleenisilloja, jotka sitovat kudoksen rakenteen ja säilyttävät kudoksen morfologian. (Grizzle, Fredenburgh & Myers 2008, 56–58.)

Fiksaatio suoritetaan, jotta solujen toiminta saadaan pysäytettyä tasolle, jolla se oli leikkaushetkellä. Sen avulla myös kudoksen morfologia saadaan säilytettyä. Fiksaatio ehkäisee solukuolemaa ja bakteerien kasvua. Se tekee kudoksesta lujemman ja säilyttää kudoksen mahdollisimman elävän näköisenä. (Grizzle, Fredenburgh & Myers 2008, 53–54.)

Näytteen vastaanoton ja fiksoitumisen jälkeen näytteestä otetaan edustavat näytepalat kudospalasetteihin eli suoritetaan kasetointi. Patologit kasetoivat vaativimmat kudospalasetteet, kuten suolen ja rinnan. Bioanalytiikot kasetoivat yleensä pienimmät näytteet, kuten biopsiat ja ihonäytteet, mutta tämä riippuu työskentelypaikasta ja työpaikkakoulutuksesta. (Rantala 2014, 38.)

Aluksi näytettä tarkastellaan makroskooppisesti ja huomioidaan erikoiset kohdat, kuten värimuutokset, abskessit eli märkäpesäkkeet, kystat eli rakkulat, polyypit eli limakalvolta nousevat epänormaalit muodostumat ja tuumorit eli kasvaimet. Näytteen koko mitataan, se valokuvataan ja tarvittaessa sen paino punnitaan. Näytteeseen merkitään suunnat ja resektiopinnat maalaamalla ne eri väreillä. Isoista kudoksista otetaan näytekasetteihin tuumorit ja muut poikkeavat kohdat sekä tervettä kudosta ja resektiolinjat. Pienet näytteet kasetoidaan usein kokonaan. Näytteeksi otetut kudospalat siirretään kasetteihin, joihin on merkitty näytenumero ja kudospalan järjestysnumero. Näytteestä otettuun kuvaan merkitään vielä erikseen, mistä kohtaa mikäkin pala on otettu, jotta mikroskopoiva patologia osaa orientoitua oikeaan näytteenottokohtaan lausuntoa antaessaan. (Rantala 2014, 38.)

2.2 Kudospalasetointi

Kudospalojen kasetteihin leikkelyn jälkeen kudospalasetteet siirretään kudospalasetteeseen. Kudospalasetteiden tarkoituksena on kovettaa kudosta, jotta siitä saadaan leikattua ohuita leikkeitä. Kudospalasetteiden prosessointiaikaan vaikuttaa kudoksen laatu ja koko. Yleensä kudospalasetointi kestää yön yli,

mutta se voi kestää pidempäänkin. Näytteitä ei myöskään aina laiteta saman päivän aikana kuduskuljetukseen, sillä monesti kerätään samanlaiset näytteet yhteen ennen kuin ne prosessoidaan. Monet laboratoriot eivät pysty kustannussyistä ajamaan pieniä näytemääriä kerrallaan. (Muskett 2012a, 103.)

Nykyään on käytössä koneelliset kuduskuljettimet, jotka toimivat automaattisesti. Ensin kudossuorittimissa suoritetaan dehydointi eli näytteistä poistetaan vesi nousevalla alkoholisarjalla. Tavallisesti aloitetaan 50–70 %:sta etanolista ja liuoksen väkevyyttä nostetaan aina absoluuttiseen etanoliin asti. Absoluuttisen alkoholin jälkeen kudokset kirkastetaan, jolloin alkoholi saadaan poistettua kudoksesta. Alkoholi ja parafiini eivät liukene keskenään, joten niiden välissä on käytettävä väliainetta, joka liukenee molempien kanssa. Yleisesti käytössä oleva väliaine on ksyleeni. Se mahdollistaa parafiinin imeyttämisen kudokseen. Parafiini puolestaan kovettaa kudoksen, jonka jälkeen siitä voidaan leikata ohuita leikkeitä. (Evans & Robinson 2012, 12–13.)

2.3 Näytteen valaminen ja leikkely

Kudosprosessoinnin jälkeen kudospala valetaan leikkauspinta alaspäin valumuottiin, johon lisätään parafiiniä. Valamiseen käytetty vahamainen parafiini on mineraalipohjainen hiilivetyseos, jonka sulamispiste on 40–70 °C välillä. Valamisen ensimmäinen vaihe tapahtuu lämpölevyllä, jolloin kudospala ja sulaa parafiinia lisätään muottiin. Kudoksen täytyy olla aseteltu niin, että sen kaikki eri tasot näkyvät. Esimerkiksi ihosta täytyy poikkileikkauksen tapaan tulla esiin eri kerrokset. Tämän jälkeen kudospalan kasetti valetaan muotille kanneksi ja valumuotti siirretään kylmälevylle jäähdyttämään, josta syntyy valmis parafiiniblokki. (Aho 1994, 14.)

Valmiista parafiiniblokeista leikataan mikrotomin avulla ohuita leikkeitä näytelasille. Leikatessa voidaan käyttää joko liukumikrotomia tai rotaatiomikrotomia. Liukumikrotomissa veitsi liikkuu leikatun paikallaan pysyvän blokin vaakatasossa noin 40° kulmassa. Rotaatiomikrotomissa veitsi taas pysyy paikallaan, kun blokki liikkuu ylös ja alas. Veitsen ja blokin väliin jäävä kulma vaihtelee 4–13° välillä, johon vaikuttavat leikattava kudokset, valuaaine, mikrotomi ja veitsi. (Aho 1994, 15.)

Leikatessa saatavat leikkeet ovat läpikuultavia. Paksuudeltaan ne voivat vaihdella 0,1 µm:stä 50 µm:iin. Rutiinidiagnostiikassa käytettävä paksuus on noin 4 µm, koska se on suunnilleen yhden solun paksuus. (Muskett 2012a, 112–113.)

2.4 Värjääminen

Kudosleikkeet värjätään, jotta kudokset saadaan näkyviin. Värjäyksen avulla voidaan nähdä mahdolliset muutokset kudoksissa ja saadaan selville kudosten kemiallinen luonne. Ilman värjäystä kudokset sekoittuisivat toisiinsa ja yksityiskohtia nähtäisiin vain rajallisesti. (Elliot 2012, 35.) Väriaineita, joita käytetään parafiinileikkeiden värjäämiseen, tunnetaan satoja. Yleisin histologiassa käytetty värjäysmenetelmä on hematoksyliini-eosiini -värjäys eli HE-värjäys. (Naukkari 2000, 153.)

2.4.1 HE-värjäys

Hematoksyliini-eosiini -värjäyksellä saadaan tietoa kudosten morfologiasta ja kokonaisuudesta. Sen avulla voidaan tehdä 80–90 % diagnooseista. (Muskett 2012b, 127.) Eosiini värjää emäksisiä kudoksia, joita ovat esimerkiksi sidekudos, lihas ja eosinofiilit (Naukkari 2000, 153–154). Eosiini värjää kudokset punaiseksi tai vaaleanpunaiseksi (University of Leeds 2014, viitattu 4.9.2014). Hematoksyliini on tumaväri, joka värjää happamia kudoksia (Naukkari 2000, 153). Värjävä muoto hematoksyliinissä on hemateiini (Naukkari 2007, 6). Kudokset värjäytyvät hematoksyliinillä sinisestä melkein mustaan (Solunetti 2006, viitattu 4.9.2014).

2.4.2 Immunohistokemialliset värjäykset

Immunohistokemiallisia värjäyksiä käytetään patologiassa erilaisten kasvainten tunnistamiseen ja luokitteluun. Värjäykset perustuvat immunologisiin reaktioihin, jotka tapahtuvat objektilasilla olevissa näytteissä. Vasta-aineiden avulla voidaan osoittaa objektilaseilla olevista kudosleikkeistä antigeenit. Vasta-aine sitoutuu antigeenille tyypilliseen molekyyliin, jota kutsutaan epitopiksi eli determinantiksi. Vasta-aineen ja tämän sitoutumiskohtan molekyylin yhteensopivuus kertoo, kuinka spesifinen reaktio on ja kuinka voimakas sitoutuminen on. Merkkiaineen avulla vasta-aine-antigeenireaktio saadaan näkyväksi mikroskoopissa. (Rantala & Laaksonen 2000, 148.)

Vasta-aineet voivat olla joko polyklonaalisia tai monoklonaalisia. Polyklonaaliset vasta-aineet pystyvät tunnistamaan useita epitoppeja antigeenistä. Niitä tuotetaan koe-eläimissä. Vasta-aineet eristetään puhdistetulla antigeenillä immunisoidusta koe-eläimen seerumista. Monoklonaaliset vasta-aineet pystyvät tunnistamaan vain yhden antigeenin epitopin. Niitä valmistetaan *in vitro* eli soluviljelmässä hybridomatekniikalla. Siinä yhdistetään immunisoidun koe-eläimen plasmasolu

ja saman lajin luuydin-kasvainsolu, jonka jälkeen syntyneistä hybrideistä valitaan kloni viljeltäväksi ja tuottamaan haluttua vasta-ainetta. (Rantala & Laaksonen 2000, 148.)

Vasta-aineisiin voidaan liittää sekä erilaisia molekyyliä että merkkiaineita. Biotiini on ligandina käytetty molekyyli, joka sitoutuu voimakkaasti avidiiniin. Tätä voidaan hyödyntää merkkiaineiden liittämisen vastaa-aine-antigeenireaktiossa. Fluorokromit ja entsyymit ovat yleisimpiä merkkiaineita. Fluorokromit ovat pitkäaaltoista värillistä valoa lähettäviä väriainemolekyyliä. Valon saa aikaan lyhytaaltainen herätevalo, joka on esimerkiksi UV-valo tai laser. Fluorokromit saadaan näkyviin fluoresenssimikroskoopissa, kun herätevalon ja emittoituvan valon aallonpituus säädetään suodattimilla sopivaksi. Vihreänä fluoresoiva fluoreskeiini-isotiosyanaatti ja punaisena fluoresoiva tetrametyyli-rodamiini-isotiosyanaatti ovat yleisimmät käytössä olevat fluorokromeja. Entsyymien ollessa merkkiaineena saadaan värillinen saostuma näkyville tavallisessa mikroskoopissa entsyymien reagoitessa substraattinsa ja sopivan väriaineen kanssa. Tavallisin merkkientsyymeistä on piparjuuresta eristetty peroksidaasi, jonka substraattina toimii vetyperoksidi. (Rantala & Laaksonen 2000, 148–149.)

Immunohistokemiallisia värjäysmenetelmiä on erilaisia. Suorassa menetelmässä antigeenispesifiin primaarivasta-aineeseen on liitetty suoraan merkkiaine. Epäsuorassa menetelmässä leikkeiden annetaan inkuboitua leimaamattomassa primaarivasta-aineessa, jonka jälkeen toiseksi kerrokseksi tulee primaarivasta-aineelle spesifinen leimattu sekundaarivasta-aine. Muita yleisimpiä immunohistokemiallisia värjäysmenetelmiä ovat esimerkiksi leimattu avidiini-biotiinin menetelmä ja avidiini-biotiini-kompleksimenetelmä. (Rantala & Laaksonen 2000, 149–150.)

2.5 Mikroskopointi ja hyvän histologisen valmisteen kriteerit

Histologinen valmiste tarkastellaan mikroskoopilla. Valomikroskoopi on ehkä eniten käytetty väline lääketieteellisissä laboratorioissa. Mikroskoopin avulla voidaan nähdä, mitä näytteessä todella tapahtuu. (Crook & Sims 2012, 286–287.) Histopatologi tutkii näytteen ja varmistaa pyynnön ja näytteen vastaavuuden tunnistamalla näytetyypin. Tarkempi tutkiminen tapahtuu eri suurennoksia antavia objekteiveja käyttäen. (Evans & Robinson 2012, 19.)

Histologinen valmiste on hyvä, kun mikroskoopin kuvassa on selkeä kontrasti ja hyvä erotuskyky. Kontrastiin ja erotuskykyyn vaikuttavat paljolti mikroskoopin ominaisuudet ja säädöt, mutta niihin vaikuttavat myös näytteen laatu. Kontrasti saadaan värjäämällä leike useammalla kuin yhdellä

väriliuksella. Hyvä erotuskyky puolestaan saadaan ohuella leikepaksuudella. (Naukkarinen 1998, 16.)

Leikkeiden tulee näkyä kokonaisina lasilla eikä niistä saa puuttua palasia. Leikkeiden tulee olla aseteltuina samansuuntaisesti. Ne sijoitetaan niin, että ensin otettu leike on tekstipäässä ja muut leikkeet ovat siitä järjestyksessä alaspäin. Leikkeessä ei saa olla leikkaamisesta johtuvaa repeilyä, reikiä, ryppyjä, naarmuja tai paksuusvaihtelua. Leike ei saa olla liian kauan kuumassa vesihauteessa, jotta siihen ei tule hajoamisesta johtuvaa artefaktia ja se ei laajene liikaa. (OYS patologia 2006, laatukäsikirja.) Leikkeestä ei myöskään saa löytyä toisten leikkeiden kappaleita tai vierasmateriaalia. Leikkeiden tulee olla kunnolla kiinnittyneitä lasille, eikä leikkeen ja objektin välillä peiteaineeseen saa jäädä ilmakuplia (OYS Patologia 2006, laatukäsikirja; Naukkarinen 1998, 17).

3 PATHOS DELTA -PIKAKUDOSPROSESSORI

Milestone Pathos Delta on maailman ensimmäinen hybridikudosprosessori. Siinä on yhdistettynä mikroaaltotekniikka ja perinteinen kudosprosessointi. Se voi lämmittää näytteiden prosessointiliuoksia mikroaalloilla tai perinteisesti vastuksen avulla sekä niiden yhdistelmätekniikalla. Pathos Delta suorittaa automaattisesti seuraavat prosessit: fiksaatio ja jälkifiksaatio, dehydraatio ja kirkastus, kuivaus sekä parafiinin infiltraatio eli imeyttäminen. (Milestone 2011, 42.)

Pathos Delta on korkeudeltaan 150 cm, leveydeltään ja syvyydeltään 70 cm. Se tulee asettaa paikkaan, mistä sitä ei tarvitse myöhemmin liikuttaa. Se tarvitsee tyhjää tilaa ympärilleen korkeussuunnassa 200 cm, leveysuunnassa 110 cm ja syvyysuunnassa 100cm. (Milestone 2011, 10.) Pathos Delta -pikakudosprosessori on kuviossa 2.



KUVIO 2. Pathos Delta -pikakudosprosessori

Pathos Deltassa on kaksi kammiota. Ensimmäisessä kammiossa suoritetaan näytteiden dehydraatio ja kirkastus. Toisessa kammiossa näytteisiin imeytetään parafiini. Histologiseen käyttöön tarkoitettua parafiinia laitetaan toiseen kammioon noin neljä kilogrammaa. Kammiossa on sulaa vahaa varten maksimi- ja minimitasot, jotka ovat merkittävänä kammion seinään. Säilyttämällä su-

lan vahan taso näiden merkkien sisäpuolella varmistetaan, että telineen kaikki kolme kasettikerosta peittyvät vahaan. Pathos Deltan kasettelineen yhteen kerrokseen mahtuu 70 kasettia eli yhteensä koko telineeseen voi laittaa maksimissaan 210 kasettia (Milestone 2011, 27, 42).

Pathos Deltaa ohjataan kosketusohjauspäätteellä, joka on Windows CE 6.0 –pohjainen ”Touch screen” tietokone (Kuvio 3). Pathos Deltassa on yhdeksän reagenssisäiliötä ja yksi ylivuotosäiliö, jotka voidaan vaihtaa automaattisesti tai manuaalisesti. Pikakudosprosessorissa voidaan käyttää seuraavia reagensseja: formaliini, FineFIX®-liuos, etanoli, isopropanoli, Prowave®-liuos, huuhtelu-liuos, J.F.C®-liuos, ksyleeni ja parafiini. (Milestone 2011, 29, 42.)



KUVIO 3. Pathos Delta -pikakudosprosessorin kosketusohjauspäätte ja päävalikko

FineFIX-liuos ei sisällä ollenkaan formaliinia, mutta sitä voidaan käyttää formaliinin tilalla näytteiden fiksaatiossa. FineFIX-liuos on vesipohjainen tiiviste, jonka käyttöliuos valmistetaan lisäämällä yhteen osaan FineFIX-liuosta kolme osaa absoluuttista etanolia. Käyttöliuoksessa etanolipitoisuus on noin 70 %. Liuoksen avulla kudoksen antigeenit sekä tuman ja sytoplasman morfologia säilyvät hyvin. Se myös vähentää punasolujen hajoamista ja säilyttää solulimakalvon rakenteen. Prowave-liuosta puolestaan käytetään kudospesoinnissa vedenpoistoon ja kirkastukseen. Se ei sisällä ollenkaan ksyleeniä. (Milestone 2009, hakupäivä 20.3.2014.)

J.F.C-liuosta käytetään vedenpoistoon ja kirkastukseen kudospesoinnissa. Se on kaupallinen valmiste, jonka sisältö on liikesalaisuus. Tiedetään kuitenkin, että se sisältää absoluuttista etanolia, isopropanolia ja pitkiä hiilivetyketjuja. Mikroaallojen kanssa yhdessä käytettynä se on erittäin tehokas kudoksen rasvojen ja veden poistaja. (Leica Biosystem 2014, hakupäivä 20.3.2014.)

3.1 Toimintaperiaate

Pathos Delta -pikakudosprosessorin tarkoituksena on poistaa kudoksesta vesi sekä lipidit ja korvata ne parafiinilla. Poistamiseen ja kirkastamiseen laite käyttää ohjelmasta riippuen erilaisia alkoholeja sekä kaupallista J.F.C-valmistetta, joka on tarkoitettu erityisesti rasvaisille näytteille. Laite käyttää hyödyksi vakuumitekniikkaa ja mikroaalloja, jotka nopeuttavat histologisen kudoksen prosessointia. (Patshijew 13.2.2014, keskustelu.)

Histologisen kudoksen prosessoinnin ensimmäisessä vaiheessa lipidit poistetaan ja vesimolekyylit korvataan etanolilla (Patshijew 13.2.2014, keskustelu). Samanaikaisesti tapahtuu kudoksen kirkastaminen, johon voidaan käyttää pikakudosprosessoinnissa näytteestä riippuen isopropanolia, J.F.C- tai Prowave-liuosta sekä halutessa ksyleenia (Milestone 2011, 29). Prosessointia nopeuttavat mikroaallot sekä korkea 70 °C lämpötila. Koska alkoholit ovat polaarisia molekyylejä, mikroaalloilla voidaan lyhyessä ajassa vaikuttaa niiden viskositeettiin. Tämä nopeuttaa ja helpottaa kudosten läpäisevyyttä. (Patshijew 13.2.2014, keskustelu.)

Toinen vaihe tapahtuu vakuumissa mikroaallojen avulla, jolloin etanoli liukenee kudoksenäytteestä pois. Vakuumihaihdutus alentaa etanolin kiehumispistettä, minkä ansiosta vältetään näytteen kudovauriot. (Patshijew 13.2.2014, keskustelu.)

Viimeisessä vaiheessa kirkastukseen käytettävä reagenssi haihdutetaan pois ja tilalle imeytetään parafiinia. Vahan avulla reagenssi saadaan täysin poistettua kudoksista, koska kuuma vaha edistää reagenssin haihtumista. Lisäksi tässäkin vaiheessa käytetty vakuumi alentaa kirkastukseen käytettävän reagenssin kiehumispistettä. Esimerkiksi isopropanolia käytetään välivaiheen reagenssina. Sen kiehumispiste on 82 °C, mutta vakuumin avulla reagenssi saadaan haihdutettua jo parafiinin lämpötilan lähennellessä 67 °C. (Patshijew 13.2.2014, keskustelu.)

3.2 Ohjelmat

Pathos Delta -pikakudosprosessorissa on käytössä viisi erilaista ohjelmaa. Ohjelman valintaan vaikuttavat kudoksen laatu, koko ja fiksaatioaika. Standardiin rutiinikäyttöön sopii etanoli-isopropanoli-vaha -ohjelma, jota voidaan käyttää hyvin pienillä ja keskisuurilla biopsianäytteillä, kuten munuais-, vatsa- ja rintabiopsianäytteillä. Tämä ohjelma on todella kustannustehokas histologisten näytteiden yleiseen prosessointiin. (Milestone 2011, 85.)

Erityyppisille rasvaisille näytteille ja rasvaa sisältäville näytteille on kolme erilaista ohjelmaa. J.F.C-isopropanoli-vaha –ohjelma sopii hyvin käytettäväksi rasvaisten näytteiden kuten rinta- ja lipoomanäytteiden kanssa. Etanoli-J.F.C-vaha –ohjelma toimii yönyli-ohjelmana, kun näytteiden fiksaatioaikaa ei tiedetä tai ne ovat vain osittain fiksoituneet. J.F.C:n ansiosta ohjelma sopii todella rasvaisille kudoksille, joissa voi olla myös muuta kudosta. Kolmas rasvaisille näytteille tarkoitettu ohjelma on J.F.C-vaha –ohjelma, joka sopii sellaisille rasvaisille näytteille, joissa on mukana myös normaalia kudosta mukana. Tällaisia ovat esimerkiksi iho ja aivot. Näytteiden tulee olla fiksoitunut hyvin, yleensä vähintään yön yli, ennen tämän ohjelman käyttöä. (Milestone 2011, 85.)

Prowave-vaha –ohjelmaa voidaan käyttää silloin, kun fiksaatioaika on epävarma, koska prowave voi toimia toisena fiksatiivina. Ohjelma sopii parhaiten ei-rasvaisille kudoksenäytteille, jolloin kudospalan paksuus voi olla jopa 5 millimetriä tai kohtuullisesti rasvaa sisältäville näytteille, jolloin kudospalan paksuus ei saa ylittää 3 millimetriä. (Milestone 2011, 85.)

Kaikkia ohjelmia käyttäessä voi valita, mistä vaiheesta kudosprosessoinnin haluaa aloittaa. Esimerkiksi kosketusohjauspäätteen kautta voidaan valita sisällytetäänkö fiksaatio mukaan ohjelmaan vai ei. Jos näyte on valmiiksi hyvin fiksoitunut, fiksaatio voidaan ohittaa. Tuoreille tai melko tuoreille näytteille fiksaatio on suoritettava, jotta näytteistä saadaan laadukkaita. Fiksaatio kestää noin 30 minuuttia. (Milestone 2011, 44–48.)

3.3 Pikakudosprossessorin vertaaminen konventionaaliseen menetelmään

Konventionaalinen kudosprosessointi kestää vähintään 10 tuntia, mistä aiheutuu ainakin yhden päivän viive tuloksien saamiseen (Pegolo, Pandolfi & Loreto 2013, 362). Pikakudosprossessori nopeuttaa prosessointiaikaa huomattavasti ilman, että näytteiden laatu tai luotettavuus huononee (Rohr ym. 2001, 703). Pikakudosprossessorin nopeus perustuu siihen, että mikroaaltojen avulla haluttu fiksaatio tapahtuu nopeammin. Vedenpoisto voidaan suorittaa yhdessä vaiheessa, kun taas perinteisessä menetelmässä se vaihtelee kahdesta kuuteen vaiheeseen. Vedenpoiston kanssa suoritetaan myös yhtäaikaaisesti kirkastus. Parafiinin imeyttäminen tapahtuu korkeammas- lämpötilassa, mikä nopeuttaa imeytymistä ja koko prosessia. (Patshijew 13.2.2014, keskustelu.)

Nopeuden lisäksi henkilökunnalle on myös muita hyötyjä pikakudosprosessoinnin käytöstä. Pikakudosprosessoinnissa ei nimittäin tarvitse käyttää niin paljon haitallisia aineita kuin perinteisessä kudospoistossa. Ksyleeniä ei tarvita ollenkaan ja formaliininkin käyttöä voidaan vähentää. (Rohr ym. 2001, 707.) Ksyleenin tilalla käytetään vähemmän haitallisia aineita, kuten isopropanolia, J.F.C- tai Prowave-liuosta (Milestone 2011, 29). Pikakudosprosessointi parantaa myös työn jatkuvuutta ja tasoittaa työtaakkaa. Konventionaalisella menetelmällä makroleikkely suoritetaan päivän aikana ja näytteet laitetaan yön yli kestäväan kuduskuljetukseen. Pikakudosprosessoinnissa näytteet laitetaan kuduskuljetukseen heti makroleikkelyn jälkeen ja ne ovat valmiita samana päivänä. Tällöin näytteitä tulee tasaiseen tahtiin muihin työpisteisiin koko päivän ajan, eivätkä ne kasaannu aamupäivälle kuten konventionaalisessa kudospoistossa. (Morales ym. 2004, 535.)

Potilaat hyötyvät pikakudosprosessoinnista niin, että vastaukset saadaan saman päivän aikana, mikä helpottaa etenkin kauempaa matkustavien potilaiden hoitoa ja matkakustannuksia. Esimerkiksi potilas voi aamulla käydä toimenpiteessä ja jo iltapäivästä tavata lääkärin, jolla on vastaus valmiina, ja sopia jatkohoidoista. Potilaan ei tarvitse turhaan matkustaa edestakaisin tai tulla takaisin toisena päivänä. Saman päivän aikana saadut vastaukset vähentävät potilaiden stressiä ja tyytymättömyyttä. (Rohr ym. 2001, 704-707.)

Konventionaalisessa kudospoistossa näytteen koko ja paksuus eivät ole niin merkittäviä, mutta pikakudosprosessoria käytettäessä on tärkeää, että näytepaksuus on juuri oikea. Näytepaksuuden mukaan määräytyy ohjelman pituus ja siihen käytettävä mikroaaltosäteilyn määrä. Näytepaksuuden vakioimiseksi tulisi käyttää makroleikkelyyn tarkoitettuja välineitä, joiden avulla saadaan otettua kudoksesta tietyn kokoinen pala tutkittavaksi. (Morales ym. 2004, 535.) Liian paksu näyte voi esimerkiksi johtaa siihen, että näytteestä ei saada poistettua kunnolla vettä eikä kirkastus onnistu, jolloin parafiini ei pääse kunnolla imeytymään näytteeseen. Tällöin näyte ei kovetu tarpeeksi eikä sitä saada lainkaan leikattua. (Milestone 2011, 102–103.)

4 TARKOITUS, TAVOITTEET, TUTKIMUSTEHTÄVÄT JA ORGANISAATIO

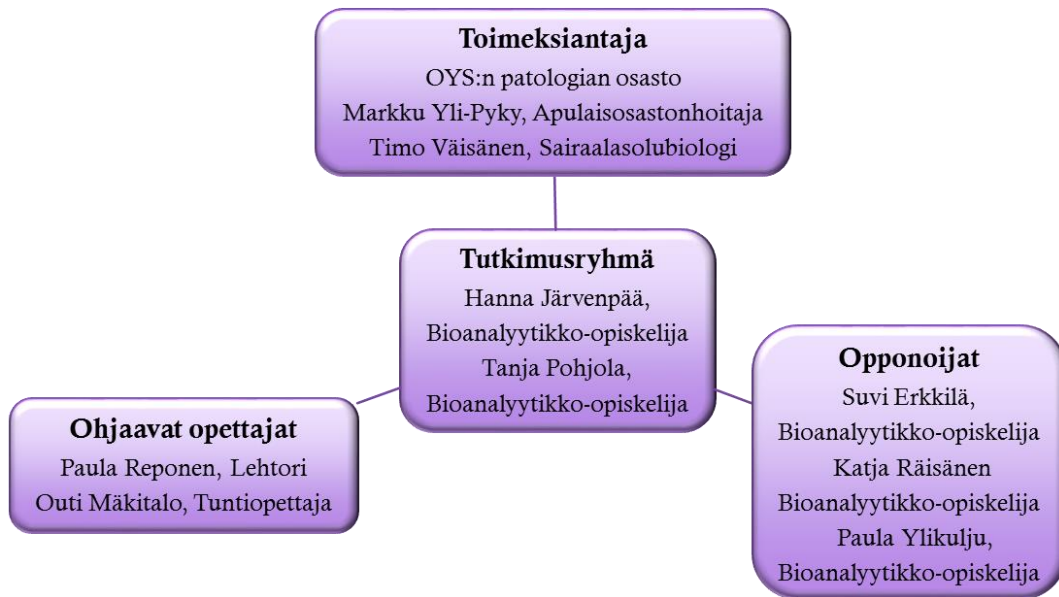
Opinnäytetyön tarkoituksena on kartoittaa pikakudosprossessorin toimivuutta normaalikokoisilla kuduskappaleilla ja simuloitulla rasvaisen kudoksen ”neulanäytteillä” sekä verrata pikakudosprossessorilla saatuja näytteitä konventionaalisesta kudossprossessorista saatuihin näytteisiin. Tutkimuksen tavoitteena on antaa tietoa Oulun yliopistollisen sairaalan patologian osastolle Pathos Delta -pikakudosprossessorin toiminnasta, jotta laite voidaan ottaa siellä kliniseen käyttöön. Työsämme testataan eri näytteitä eri ohjelmilla, jotta patologian osaston henkilökunta voi siirtyä helpommin käyttämään kyseistä prosessoria. Opinnäytetyömme avulla saadaan tietoa tiettyjen ohjelmien sopivuudesta eri näytetyypeille ja asioista, joita täytyy huomioida näytteiden prosessoinnissa.

Tutkimustehtävät:

- Vastaako Pathos Delta -pikakudosprossessorilla prosessoidut näytteet laadultaan konventionaalisella menetelmällä prosessoituja näytteitä?
- Toimiiko Pathos Delta -pikakudosprossessori valituilla näytteillä?

Tavoitteenamme on oppia työskentelemään osana moniammatillista työyhteisöä, päästä soveltamaan patologian kursseilla opittua teoretista tietoa käytäntöön ja kehittää omaa histopatologian osaamistamme. Pääsemme osallistumaan OYS:n patologian osaston kehittämiseen, sillä pikakudosprossessorit ovat melko uutta patologian laboratorioissa. Tärkeää tästä tekee se, että pikakudosprossessorien avulla on mahdollista nopeuttaa potilaiden diagnoosin saantia ja samalla tasoitaa patologian osaston henkilökunnan työtaakkaa.

Opinnäytetyön organisaatio koostuu tutkimusryhmästä, toimeksiantajasta, ohjaavista opettajista sekä opponooijista. Opinnäytetyön organisaatio esitetään kuviossa 4. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi OYS:n patologian osasto. Ohjaajina OYS:n patologian osastolla toimivat apulaisosastonhoitaja Markku Yli-Pyky ja sairaalalubiologi Timo Väisänen. Opinnäytetyön ohjaavina opettajina toimivat lehtori Paula Reponen ja tuntiopettaja Outi Mäkitalo. Opponooijat olivat bionalyttiko-opiskelijat Suvi Erkkilä, Katja Räisänen ja Paula Ylikulju.



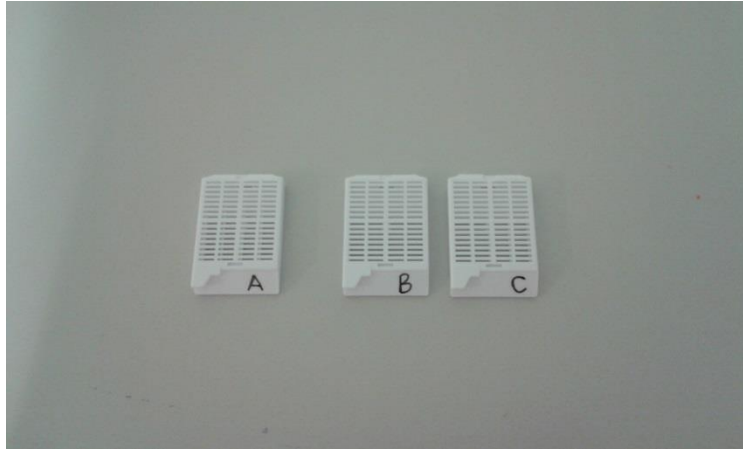
KUVIO 4. Opinnäytetyön organisaatio

5 TYÖN TOTEUTUS

Työ toteutettiin Oulun yliopistollisessa sairaalassa patologian osastolla, jossa Pathos Delta -pikakudosprossessorin käyttöönotto suoritettiin. Pikakudosprossessorista saatuja tuloksia verrattiin konventionaaliseen kudospalasta saatuihin tuloksiin. Tutkittavina näytteinä olivat kudospalat rinnoista, imusolmukkeista, suolista ja kokonaisina poistetuista eturauhasista. Tavoitteena oli saada näytteeksi ainakin kolme erillistä potilastapausta jokaisesta näytetyypistä, joissa on syöpäkudosta mukana. Käytännössä kasvainta sisältävien näytteiden saaminen oli kuitenkin hankalaa, joten pikakudosprossessorilla testattiin myös näytteitä, jotka eivät sisältäneet kasvainta. Mahdollisuuksien mukaan laitteen toimivuutta testattiin myös tuoreinäytteillä.

Patologit leikkasivat kaksi mahdollisimman samanlaista 3 mm:n paksuista kudospalaa jokaisesta työhön valitusta kudoksesta ja yhden simuloidun rasvaisen kudoksen neulanäytteen rinta- ja suolinäytteistä. Kudospalan paksuus pyrittiin varmistamaan käyttämällä kudoshaarukkaa, jolla saatiin haluttuja kolmen millimetrin paksuisia kudospaloja. Näytteet valittiin niin, ettei niiden käyttö häirinnyt potilaiden diagnoosien antamista. Käytännössä kasvaimen täytyi siis olla tarpeeksi iso, jotta se riitti sekä diagnoosin että tutkimuksen tekemiseen.

Patologioiden leikkaamat kudospalat siirrettiin näytekasetteihin, jotka merkittiin A-, B- ja C-kirjaimilla. Ensimmäinen näytekasetti, joka sisälsi kolmen millimetrin paksuisen kudospalan, merkittiin A:lla ja laitettiin konventionaaliseen kudospalaprossiin. Toinen vastaavan kudospalan sisältävä näytekasetti puolestaan merkittiin B:llä ja prosessoitiin Pathos Delta -pikakudosprossessorilla. Neulanäytekasetti merkittiin C-kirjaimella ja se prosessoitiin myös pikakudosprossessorilla. Kasettien sivuun kirjoitettiin, mistä kudoksesta näyte oli otettu ja monesko näyte se kyseisestä kudoksesta oli (Esim. Rinta II). Kasettien merkitseminen etupuolelta havainnollistetaan kuviossa 5.



KUVIO 5. Näytekasettien merkitseminen.

Pathos Delta -pikakudosprosessorissa rasvaisille näytteille käytettiin J.F.C-isopropanoli-vaha –ohjelmaa ja ei-rasvaiset näytteet puolestaan prosessoitiin etanoli-isopropanoli-vaha –ohjelmalla. Ohjelmiin lisättiin fiksaatio, jos näytteet eivät olleet fiksoituneet kunnolla tai ne olivat tuoreinäytteitä. Pikakudosprosessorista valittiin ohjelman lisäksi näytteen paksuus. Työssä käytettiin 3 mm:n paksuisille näytteille tarkoitettua ohjelman pituutta. 3 mm:n paksuisille näytteille tarkoitettujen ohjelmien kokonaispituudet fiksaation kanssa olivat etanoli-isopropanoli-vaha –ohjelmalla 3 tuntia 12 minuuttia 30 sekuntia ja J.F.C-isopropanoli-vaha –ohjelmalla 3 tuntia 2 minuuttia 30 sekuntia. Fiksaation poistaminen ohjelmasta vähensi ohjelman kokonaisaikaa noin 30 minuuttia.

Kudoskuljetuksen jälkeen kudospalat valettiin parafiiniblokeiksi ja leikattiin näytelaseille. Blokkien leikkautuvuutta arvioitiin asteikolla hyvä-kohtalainen-huono. Jos näytteen leikkautuvuus arvioitiin hyväksi, sen leikkaamisen kanssa ei ollut ongelmia. Leikkeessä sai kuitenkin olla pientä poimuilua. Kohtalaisesti leikkautuvan näytteen leikkaaminen oli vähän vaikeampaa. Näytteessä sai olla pientä repeilyä, reikiintymistä ja laskostumista. Leikkeen reunat saattoivat myös irrota parafiinistä, mutta itse näyte säilyi kohtalaisena. Huonosti leikkautuvan näytteen leikkaaminen oli todella vaikeaa. Leikkeessä oli paljon enemmän repeilyä, reikiintymistä ja laskostumista kuin kohtalaisesti leikkautuvassa näytteessä. Leikkeistä saattoi jopa puuttua palasia. Huonosti leikkautuvien näytteiden parafiiniblokkit olivat monesti epätasaisia.

Kaikki leikatut näytteet värjättiin HE-värjäyksellä ja esitarkastettiin mikroskoopilla sairaalaselubiologin kanssa. Esitarkastuksessa arvioitiin näytteiden yleisen morfologian säilymistä ja värjäytymisen onnistumista.

HE-värjäyksen arvioinnin jälkeen kasvainta sisältävät näytelasit värjättiin immunohistokemiallisilla värjäyksillä. Rintanäytteisiin käytettyjä immunohistokemiallisia värjäyksiä olivat ER, PR, c-ErB2, CK5/6, Ki67 ja HER2 ISH. Suolinäytteisiin käytettiin CK7-, CK20-, CDX-2-, Ki67-, synaptofysiini- ja kromogranini-immunohistokemiallisia värjäyksiä. Imusolmukenäytteet puolestaan värjättiin CD3-, CD5-, CD10-, CD20-, CD21-, CD23-, CD30-, CD43-, Ki67-, Bcl-2-, Bcl-6-, KP1-, MUM-1-, WT-1-, EMA- ja sykliini D1-immunovärjäyksillä. Eturauhasnäytteisiin käytettyjä immunohistokemiallisia värjäyksiä olivat CK-HMW, PSA ja AMARC. Kaikki immunohistokemiallisilla värjäyksillä värjätyt näytelasit mikroskoipoitiin sairaalaselubiologin kanssa, jolloin arvioitiin näytteiden värjäytymistä ja konventionaalisessa kudossprosessoinnissa olleen A-näytteen ja pikakudossprossoidun B-näytteen verrattavuutta.

Kaikki HE-värjäyksellä värjätyt näytelasit, jotka sisälsivät syöpäkasvainta, mikroskoipoitiin vielä patologin kanssa. Ennen näytelasien katsomista tehtiin valmiiksi taulukot arvioitavista asioista. Taulukot löytyvät Tulokset-osiosta. Konventionaalisessa kudossprosessoinnissa olleesta A-näytteestä ja pikakudossprossoinnin läpikäyneestä B-näytteestä arvioitiin kudoksen yleisen morfologian säilymistä, HE-värjäyksen onnistumista ja tumien rakenteiden erottumista asteikolla hyvä-kohtalainen-huono sekä A- ja B-näytteen verrattavuutta toisiinsa. C-näytteistä arvioitiin vain morfologian säilymistä ja värjäytyvyyden onnistumista.

Jokaisesta immunohistokemiallisesta värjäyksestä valittiin yksi potilastapaus eli A- ja B-näytelasi, jotka edustivat mahdollisimman hyvin keskimääräistä värjäyksen onnistuneisuutta. Patologi arvioi mikroskoipomalla immunohistokemiallisen värjäyksen onnistumista ja konventionaalisen kudossprossoinnin A-näytteen ja pikakudossprossoinnin B-näytteen verrattavuutta. Arviointitaulukko on liitteenä (Liite 1).

6 TULOKSET

Arvioimme patologin ja solubiologin kanssa kasvaimellisten näytteiden laadun ja onnistumisen mikroskoopilla katsottuna. Muiden näytteiden laatu ja onnistuminen puolestaan arvioitiin ainoastaan solubiologin kanssa. Suoritimme itsenäisesti näytteiden leikkaamisen näytelaseille, joten arvioimme itse, kuinka hyvin näytteet leikkautuivat.

6.1 Suolinäytteet

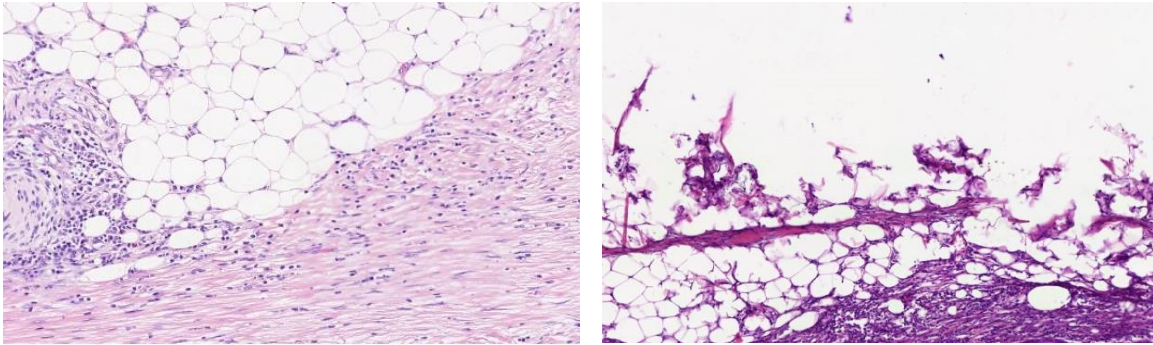
Näytteiden A-näyte toimii mallina, miltä B-näytteiden kuuluisi näyttää. Arvioimme kuitenkin näytteiden A-näytteitä samoilla kriteereillä kuin B-näytteitä, jotta tietäisimme, jos kyse on itse näytteessä olevasta ongelmasta eikä pikakudosprosessoinnista johtuvasta virheestä. Taulukossa 1 on kuvattuna kolmen kasvainta sisältävän suolinäytteen A- ja B-näytteen leikkautuvuus, yleisen morfologian säilyminen, värjäytyminen, tumien rakenteiden erottuminen sekä A- ja B-näytteen verrattavuus.

TAULUKKO 1. Kasvainta sisältävät suolinäytteet

Näyte	Leikkautuvuus			Yleisen morfologian säilyminen			Värjäytyminen			Tumien rakenteiden erottuminen			A ja B verrattavissa	
	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	kyllä	ei
Suoli I A		X		X			X			X				X
Suoli I B			X			X	X			X				
Suoli II A		X		X			X			X			X	
Suoli II B		X		X			X			X				
Suoli III A	X			X			X			X			X	
Suoli III B	X			X			X			X				

Ensimmäisen suolinäytteen B-näyte leikkautui huonosti, jonka takia myös morfologia kärsi. Huono leikkautuvuus johtui mahdollisesti riittämättömästä prosessoinnista, koska saman näytteen A-näyte kuitenkin leikkautui kohtalaisesti. A-näytteessä yleinen morfologia säilyi ja tumien rakenne erottui hyvin. B-näytteessä varsinainen suolen solukko ja kasvain oli tunnistettavaa. Rasvasolut olivat kuitenkin hajonneet, jolloin näytteestä ei pystynyt erottamaan, kuinka pitkälle kasvain ulot-

tuu. Diagnoosin saamiseksi B-näyte olisi siis pitänyt pyytää tekemään uudelleen. Ensimmäisen suolinäytteen A- ja B-näyte esitetään kuviossa 6.



KUVIO 6. Ensimmäisen suolinäytteen onnistunut A-näyte (vasen) ja repeytynyt B-näyte (oikea)

Kahden muun kasvainta sisältävän suolinäytteen A- ja B-näyte olivat verrattavissa keskenään. Molemmat leikkautuvat hyvin tai kohtalaisesti. Taulukossa olevien näytteiden lisäksi testasimme myös suolinäytteitä, jotka eivät sisältäneet kasvainta ja tuorenäytteitä suolesta. Pääpiirteittäin sekä kasvaimettomat suolinäytteet että tuorenäytteet suolesta leikkautuivat hyvin tai kohtalaisesti ilman suurempia ongelmia. Kasvaimettomissa suolinäytteissä ja tuorenäytteissä myös morfologia säilyi suurimmaksi osaksi hyvin.

6.2 Rintanäytteet

Rintanäytteiden B-näytteet eivät onnistuneet yhtä hyvin kuin suolinäytteet, mikä varmasti osittain johtui rintanäytteen suuresta rasvakudoksen määrästä. Kolmesta kasvaimellisesta rintanäytteestä ainoastaan yhdessä A- ja B-näyte olivat verrattavissa. Taulukossa 2 on esitettyä kolmen kasvainta sisältävän rintanäytteen A- ja B-näytteen leikkautuvuus, yleisen morfologian säilyminen, värjäytyminen, tumien rakenteiden erottuminen sekä A- ja B-näytteen verrattavuus.

TAULUKKO 2. Kasvainta sisältävät rintanäytteet

Näyte	Leikkautuvuus			Yleisen morfologian säilyminen			Värjäytymien			Tumien rakenteiden erottuminen			A ja B verrattavissa	
	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	kyllä	ei
Rinta I A	X			X			X			X			X	
Rinta I B	X			X			X			X				
Rinta II A	X			X			X			X				X
Rinta II B			X		X		X				X			
Rinta III A		X		X			X			X				X
Rinta III B			X			X	X					X		

Toisessa rintanäytteessä A- ja B-näyte eivät olleet verrattavissa ja B-näyte onkin ollut huono leikkata. B-näytteen huono leikkautuvuus ja huonompi laatu luultavasti johtuivat siitä, että kyseiset näytteet olivat liian paksuja kudospessoreihin laitettaessa. A-näytteessä se ei haittaa, koska konventionaalisella menetelmällä prosessointiaika on niin pitkä, että näyte ehtii prosessoitua kunnolla joka tapauksessa. Pikakudospessorissa prosessointiaika on lyhempi, jolloin kudospalan paksuudella on suuri merkitys. Jos kudospala prosessoidaan 3 mm:n ohjelmalla, kudospalan paksuus ei saa ylittää sitä tai kudospala ei ehdi prosessoitua tarpeeksi.

Kolmannen rintanäytteen B-näyte prosessoitiin vahingossa väärällä yönyli-ajoon tarkoitetulla Eta-noli-J.F.C-vaha –ohjelmalla, kun se olisi pitänyt prosessoida J.F.C-isopropanoli-vaha –ohjelmalla. Ei siis ole varmuutta, johtuiko näytteen huono laatu väärin valitusta ohjelmasta vai itse pikakudospessorista. Näyte oli yleiseltä morfologialtaan hajonnut ja kasassa, jolloin tumien rakenteiden eivätkään erottuneet hyvin.

Tuoreet rintanäytteet ja kasvaimettomat rintanäytteet puolestaan leikkautuivat pääpiirteittäin hyvin tai kohtalaisesti. Suurimmassa osassa tapauksista pikakudospessorilla prosessoitujen B-näytteiden yleinen morfologia ja tumien rakenne oli hieman huonommin säilynyt kuin vastaavien konventionaalisella menetelmällä prosessoitujen A-näytteiden. Kuitenkin B-näytteetkin olivat tulkittavissa.

6.3 Imusolmukenäytteet

Taulukossa 3 on esitetty kolmen kasvaimellisen imusolmukenäytteen onnistuminen. Kaikkien näytteiden A- ja B-näyte leikkautui yhtä hyvin. Toisen ja kolmannen imusolmukenäytteen A- ja B-

näyte olivat verrattavissa. Ensimmäisessä näytteessä B-näyte oli rakenteeltaan irtonaisempi, joka hieman häiritsee näytteen mikroskopoimista. Kaikista näytteistä olisi kuitenkin saanut tehtyä diagnoosin potilaalle. B-näytteen irtonainen rakenne voi johtua joko leikkausvaiheesta tai huonosta prosessoinnista. Fiksaatio on esimerkiksi saattanut jäädä liian lyhyeksi.

TAULUKKO 3. Kasvainta sisältävät imusolmukenäytteet

Näyte	Leikkautuvuus			Yleisen morfologian säilyminen			Värjäytyminen			Tumien rakenteiden erottuminen			A ja B verrattavissa	
	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	kyllä	ei
Imusolmuke I A		X		X			X			X				X
Imusolmuke I B		X			X		X			X				
Imusolmuke II A		X			X		X			X			X	
Imusolmuke II B		X			X		X			X				
Imusolmuke III A	X				X		X			X			X	
Imusolmuke III B	X				X		X			X				

Valitettavasti työhömmme sopivia imusolmukenäytteitä tuli harvoin, joten saimme ainoastaan kolmen kasvaimellisen imusolmukenäytteen lisäksi yhden tuoreen imusolmukenäytteen. B-näytteessä ei kuitenkaan ollut mukana varsinaista imukudosta, joten sen onnistumista ei voinut verrata A-näytteen kanssa.

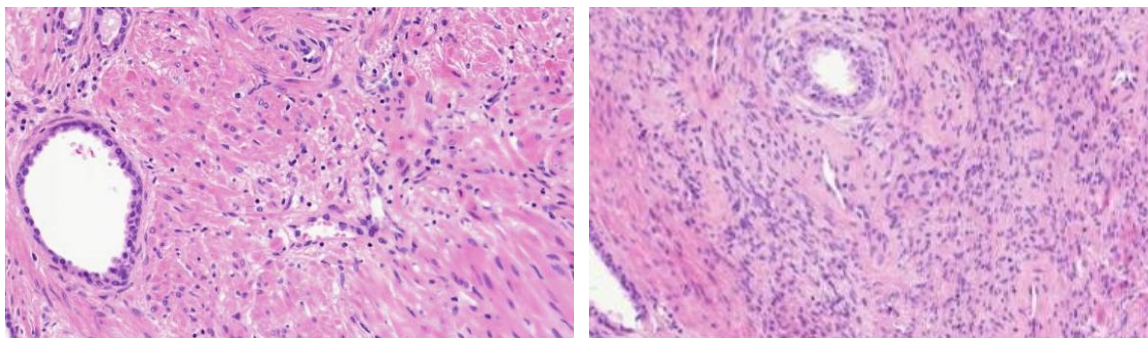
6.4 Näytteet eturauhasesta

Eturauhasesta otetuissa näytteissä emme tieneet, onko kasvainta mukana vai ei, koska niissä erillistä kasvainta ei voinut selkeästi erottaa. Yleensä koko näyte leikataan näytekasetteihin ja tarkastetaan mikroskoopilla. Taulukossa 4 on esitetty kolmen eturauhasnäytteen leikkautuvuus, yleisen morfologian säilyminen, värjäytyminen, tumien rakenteiden erottuminen sekä A- ja B-näytteen verrattavuus.

TAULUKKO 4. Eturauhasista otetut näytteet

Näyte	Leikkautuvuus			Yleisen morfologian säilyminen			Värjäytyminen			Tumien rakenteiden erottuminen			A ja B verrattavissa	
	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	kyllä	ei
Eturauhanen I A	X			X			X			X			X	
Eturauhanen IB		X		X			X			X				
Eturauhanen II A		X		X			X			X			X	
Eturauhanen II B	X			X			X			X				
Eturauhanen III A	X			X			X			X			X	
Eturauhanen III B	X			X			X			X				

Eturauhasesta otetut näytteet leikkautuivat hyvin tai kohtalaisesti. Yhdessä näytteessä B-näyte leikkautui jopa paremmin kuin A-näyte. Kaikki eturauhasesta otetut näytteet olivat prosessoituneet hyvin ja niiden A- ja B-näytteet olivat toistensa kanssa verrattavissa. Eturauhasesta otettujen näytteiden onnistumiseen vaikuttaa varmasti paljon se, että näytteissä ei ole mukana rasvakudosta. Kuviossa 7 on eturauhasesta otetun näytteen A- ja B-näyte, jotka ovat verrattavissa toisiinsa.



KUVIO 7. Eturauhasesta otettu A-näyte (vasen) ja B-näyte (oikea)

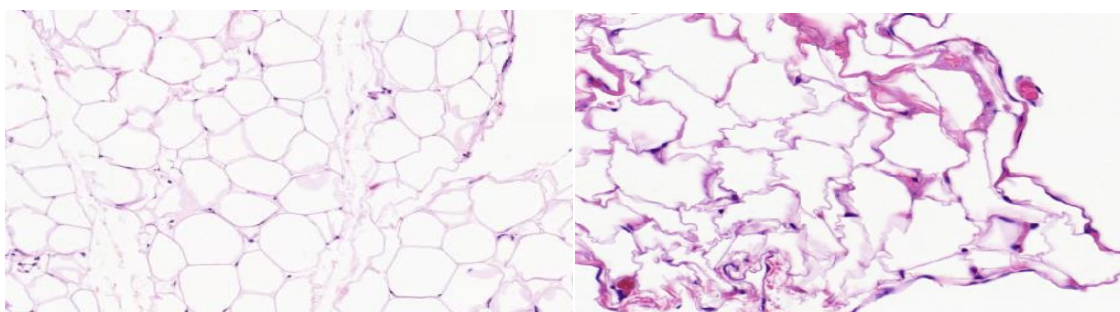
6.5 C-näytteet

C-näytteistä eli simuloituista rasvaisen kudoksen neulanäytteistä arvioitiin ainoastaan leikkautuvuutta, yleisen morfologian säilymistä ja värjäytymisen onnistumista. Taulukossa 5 on kuvattuna kasvaimellisten suoli- ja rintanäytteiden C-näytteet. Niissä ei ole mukana kasvainsolukkoa. Viisi C-näytettä oli leikkautunut mielestämme hyvin ja yksi kohtalaisesti. Patologin arvioinnissa yleinen morfologia oli C-näytteissä säilynyt kolmessa hyvin, kahdessa kohtalaisesti ja yhdessä huonosti.

TAULUKKO 5. C-näytteet

Näyte	Käytetty ohjelma	Leikkautuvuus			Yleisen morfologian säilyminen			Värjäytyminen		
		hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono	hyvä	koht.	huono
Suoli I C	etanoli-isopropanoli-vaha	X			X			X		
Suoli II C	etanoli-isopropanoli-vaha		X				X	X		
Suoli III C	etanoli-isopropanoli-vaha	X				X		X		
Rinta I C	J.F.C-isopropanoli-vaha	X				X		X		
Rinta II C	etanoli-isopropanoli-vaha	X			X			X		
Rinta III C	J.F.C-isopropanoli-vaha	X			X			X		

C-näytteitä prosessoitiin sekä etanoli-isopropanoli-vaha –ohjelmalla että J.F.C-isopropanoli-vaha –ohjelmalla. Näytteiden morfologian säilymisellä ja prosessointiin käytetyllä ohjelmalla ei kuitenkaan löydy yhteyttä. Toisissa C-näytteissä rasvakudos oli säilyttänyt hyvin muotonsa, mutta osassa se oli muodotonta ja menettänyt rakenteensa. Kuviossa 8 esitetään onnistunut ja epäonnistunut rasvakudos.



KUVIO 8. Onnistunut rasvakudosleike (vasen) ja epäonnistunut rasvakudosleike (oikea)

6.6 Värjäytyminen

Aiemmista taulukoista voidaan huomata, että HE-värjäytyvyyteen ei ole vaikuttanut käytettävä prosessointimenetelmä. Pikakudosprosessorilla prosessoidut näytteet ovat värjäytyneet yhtä hyvin kuin konventionaalisella menetelmällä prosessoidut. Vaikka morfologia olisi huono, värjäytymisen kanssa ei ole ollut ongelmia. Huonommin onnistuneet B-näytteet, jotka eivät ole olleet verrattavissa A-näytteiden kanssa, ovat usein värjäytyneet hieman tummemmiksi. Tummemman värjäytyvyyden taustalla on huonosti leikkautunut näyte, jolloin leikkeistä on tullut paksumpia. C-näytteiden värjäytyvyys oli noudattanut A- ja B-näytteiden linjaa onnistumalla hyvin, vaikka yleinen morfologia ei olisikaan säilynyt.

Immunohistokemiallisista värjäyksistä puolestaan arvioitiin ainoastaan värjäytymisen onnistumista sekä A- ja B-näytteen verrattavuutta (liite 1). Immunohistokemiallisten värjäyksien kanssa ei ollut ongelmia ja värjäytyminen onnistui suurimmaksi osaksi yhtä hyvin pikakudosprosessorilla prosessoiduilla ja konventionaalisella menetelmällä prosessoiduilla näytteillä. Kaikkien immunovärjäyksien onnistumista ei myöskään voitu täysin varmuudella arvioida, sillä kaikki näytteet eivät olleet positiivisia. Kuitenkin molemmat A- ja B-näytteet olivat negatiivisia ja verrattavissa. Patologi ja sairaalasolubiologi molemmat mainitsivat, että B-näytteissä oli välillä intensiivisempi värjäytyminen ja tausta värjäytyi enemmän eli pikakudosprosessorilla prosessoitujen näytteiden värjäysliuoksia täytyisi joissakin värjäyksissä laimentaa. EMA- ja sykliini D1 -värjäyksissä B-näytteen tausta värjäytyi häiritsevän paljon, jonka vuoksi A- ja B-näyte eivät olleet verrattavissa.

6.7 Yhteenveto

Kokonaisuudessaan pikakudosprosessorilla prosessoidut näytteet ovat onnistuneet lupaavasti. Ainoastaan yksi B-näyte oli hajonnut niin pahasti, että patologin olisi täytynyt pyytää uusi näyte. Muista B-näytteistä olisi saanut tehtyä diagnoosin, vaikka kaikki eivät laadultaan olleetkaan verrattavissa A-näytteeseen. Tuloksissa täytyy ottaa huomioon, että pikakudosprosessorilla ei yritetä saada parempaa tulosta kuin konventionaalisella prosessoinnilla. Pikakudosprosessoinnin vahvuutena on sen nopeus, joten riittää, että sen läpikäynyt näyte on laadultaan samantasoinen kuin konventionaalisesta kudosprosessoinnista saatu näyte tai riittävän selkeä varman diagnoosin tekemiseen. Pääpiirteittäin A-näytteet olivatkin hieman parempia kuin B-näytteet. Yksittäisissä tapauksissa B-näyte saattoi olla parempi kuin A-näyte, mikä luultavammin johtui kuitenkin leikkaamisesta tai muista tekijöistä kuin prosessoinnista.

Pikakudosprosessorilla prosessoidut rasvaista kudosta sisältävien näytteiden kanssa oli eniten ongelmia. Osassa näytteissä rasvainen osa oli muodoton ja kasassa rasvasolujen menetettyä muotonsa. Tämä näkyy selvästi näytteiden onnistumisessa. Esimerkiksi eturauhasnäytteet eivät sisällä rasvakudosta ollenkaan, joten näytteet ovat onnistuneet hyvin tai kohtalaisesti ja kaikki A- ja B-näytteet ovat verrattavissa toisiinsa.

Pikakudosprosessorilla prosessoitujen näytteiden onnistumiseen vaikutti paljon näytepalan paksuus. Näytepalan paksuus pyrittiin vakioimaan näytehaarukalla, mutta sen käyttö oli haastavaa etenkin rasvakudosta sisältävien näytteiden kanssa. Näytepalan paksuuteen vaikutti myös leikkaajan tarkkuus. Näistä tekijöistä johtuen jotkut kudospalat olivat hieman paksumpia kuin haluttu 3 mm. Konventionaalisen kudospalain tuloksiin se ei tietenkään vaikuta, mutta pikakudosprosessorilla prosessoiduissa näytteissä se kuitenkin näkyi, koska prosessointi aika on niin lyhyt. Pikakudosprosessorin kanssa on oltava hyvin tarkka kudospalan paksuuden kanssa. Näytteen paksuuden täytyy olla korkeintaan 3 mm käytettäessä 3 mm:n paksuisille näytteille tarkoitettua ohjelman kestoaikaa. Jos näytteen paksuus epäilyttää, on varmempi käyttää aina paksummalle näytteelle tarkoitettua ohjelman kestoaikaa. Näin näytteet saadaan pikakudosprosessorilla prosessoitua hyvin.

7 POHDINTA

Opinnäytetyömme tavoitteena oli antaa tietoa OYS:n patologian osastolle Pathos Delta - pikakudosprosessoinnin toiminnasta testaamalla erilaisia näytteitä suolesta, rinnasta, imusolmukkeesta ja eturauhasesta sekä vertaamalla saatuja tuloksia konventionaaliseen kudosprosessoinnista saatuihin tuloksiin. Kokeilimme JFC-isopropanoli-vaha -ohjelman sopivuutta rasvaisille näytteille ja etanoli-isopropanoli-vaha -ohjelman sopivuutta muille näytteille, jotta patologian osaston työntekijöiden olisi helpompi ottaa pikakudosprosessori kliniseen käyttöön.

Testasimme kolme syöpäkudosta sisältävää näytettä jokaisesta näytetyypistä ja lisäksi näytteitä, joissa ei ollut kasvainta mukana. Kokonaisuudessaan kasvainta sisältävien näytteiden määrä oli suhteellisen vähäinen, joten lisää testauksia on tehtävä ennen kuin laitetta voidaan käyttää täysipainoisesti potilasnäytteiden prosessointiin. Saadut tulokset antavat kuitenkin suuntaa pikakudosprosessoinnissa huomioitavista asioista, kuten kudospalan paksuudesta ja käytettävästä ohjelmasta. Näytepalan paksuus ei saa ylittää käytettävään ohjelmaan valittua näytepaksuutta. Jos näytepalan paksuudesta ei ole varmuutta, on parempi valita suurempi näytepaksuus ohjelmaan onnistuneen prosessoinnin varmistamiseksi.

Opinnäytetyössämme käytettiin potilasnäytteitä, joten tärkeimpänä eettisenä lähtökohta oli, että potilaan diagnoosi ei saanut vaarantua työmme takia. Patologit antoivat meille käyttöön vain näytteitä kudoksista, joissa kasvain oli niin iso, että näytettä riitti myös diagnoosin tekemiseen. Näimme opinnäytetyötä tehdessämme potilaiden lähetteet, joten oli tärkeä muistaa salassapito- ja vaitiolovelvollisuus. Emme saaneet kertoa näkemistämme ja kuulemistamme asioista sivullisille (Valvira 2014, hakupäivä 10.3.2014). Nimesimme näytteet näytenumeron sijaan roomalaisin numeroin, jotta mitään näytettä ei pystyttäisi yhdistämään tiettyyn henkilöön.

Opinnäytetyömme tutkimusosuuteen osallistui useita patologeja kasetointipisteessä ja heillä jokaisella oli omat työtapansa, mikä vaikutti näytteiden paksuuteen. Työskentelimme näytteiden kanssa kasetointipisteeltä mikroskopointiin, jolloin näytteissä näkyi myös meidän kädenjälkemme. Huomasimme taitojemme kehittyvän työn edetessä, jolloin esimerkiksi mikrotomilla leikatessa kudosloukkot paranivat laadultaan. Näiden tekijöiden takia oli välillä vaikea tietää, johtuiko näytteen rakenteen kärsiminen kudosprosessoinnista vai joistain muista työvaiheista. Työssämme kuitenkin

kin käytettiin konventionaalisen kudospesoinnin läpi käyntyä A-näytettä, jonka avulla näytteen muutokset voitiin paremmin sijoittaa johtumaan joko pesoinnista tai eri työvaiheista.

Pikakudosprosessori toimii hyvin konventionaalisen kudospesoinnin ja jääleikkeiden rinnalla. Sen avulla työpäivän työmäärää voidaan pyrkiä tasoittamaan pesoimalla lyhytkestoilla ohjelmilla useampia näyte-eriä päivässä. Tällöin näytteitä saadaan muihin työpisteisiin pitkin päivää ja ruuhkahuippuja ei pääse syntymään. Pikakudosprosessorilla saadaan myös parannettua työntekijöiden työturvallisuutta, koska laitteessa ei tarvitse käyttää ollenkaan ksyleeniä ja formaliinin käyttöä voidaan vähentää. OYS:n patologian osastolla pikakudosprosessorissa käytettiin ksyleenin tilalta isopropanolia ja J.F.C -liuosta. Fiksatiivina käytettiin edelleen formaliinia, mutta sen voisi korvata FineFIX-liuksella.

Opinnäytetyömme jälkeen Pathos Delta -pikakudosprosessorin käyttö patologian osastolla on päätetty aloittaa rasvakudosta sisältäville näytteille, vaikka ne olivatkin työssämme kaikkein haastavimpia. Rasvakudosta sisältäviä näytteitä tullaan jatkossa pesoimaan pidempi kestoilla ohjelmalla, joka kuitenkin nopeuttaa tulosten saamista huomattavasti verrattuna konventionaaliseen menetelmään.

LÄHTEET

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

Billings, B & Grizzle W. 2008. The Gross Room/ Surgical Cutup. Teoksessa J. Bancroft & M. Gamble (toim.) Theory and practice of histological techniques. London: Churchill Livingstone, 75–82.

Crook, D. & Sims, T. 2012. Light Microscopy. Teoksessa G.Orchard & B. Nation (toim.) Histopathology. New York: Oxford University Press, 286–309.

Elliott, H. 2012. Staining—principles and demonstration techniques. Teoksessa G. Orchard & B. Nation (toim.) Histopathology. New York: Oxford University Press, 34–78.

Evans, D. & Robinson, M. 2012. What is histopathology. Teoksessa G. Orchard & B. Nation (toim.) Histopathology. New York: Oxford University Press, 1–33.

Grizzle, W., Fredenburgh, J. & Myers, R. 2008. Fixation of tissues. Teoksessa J. Bancroft & M. Gamble (toim.) Theory and practice of histological techniques. London: Churchill Livingstone, 53–74.

Leica Biosystem. 2014. JFC solution. Hakupäivä 20.3.2014
<http://www.leicabiosystems.com/specimen-preparation/consumables/reagents-solutions/reagents/details/product/jfc-solution-1/>.

Morales, A., Nassiri, M., Kanhous, R., Vincek, V. & Nadji, M. 2004. Experience with an automated microwave-assisted rapid tissue processing method. Am J Clin Pathol 121, 528–536.

Muskett, D. 2012a. From specimen to slide. Teoksessa G.Orchard & B.Nation (toim.) Histopathology. New York: Oxford University Press, 79–126.

Muskett, D. 2012b. Stains in action. Teoksessa G.Orchard & B.Nation (toim.) Histopathology. New York: Oxford University Press, 127–167.

Milestone. 2009. Greenlaboratory. Hakupäivä 20.3.2014
<http://www.milestonemedsl.com/histopathology/products/innovative-green-solutions/mol-decal-10.html>.

Naukkarinen, A. 1998. Hyvän histologisen valmisteen kriteerit. Moodi 22 (1), 16–17.

Naukkarinen, A. 2000. Histologiset värjäykset. Moodi 24 (4–5), 153–158.

Naukkarinen, A. 2007. Histopatologian syventävä kurssi bioanalytikoille. KYS/Kliinisen patologian osasto.

OYS patologia. 2006. Laatukäsikirja.

Patshijew, T. 2014. Tuotespesialisti. Sairtec Oy. Keskustelu 13.2.2014. Oulu.

Pegolo, E., Pandolfi, M. & Loreto, C. 2013. Implementation of a microwave-assisted tissue-processing system and an automated embedding system for breast needle core biopsy samples: Morphology, immunohistochemistry, and FISH evaluation. Appl Immunohistochem Mol Morphol 21 (4), 362–370.

Rantala, I. & Laaksonen, A. 2000. Immunohistokemialliset värjäykset. Moodi 24 (4–5), 148–152.

Rantala, S. 2014. Histologisten näytteiden käsittely patologian laboratoriossa. Bioanalyttikko 1/2014, 37–39.

Rohr, L., Layfield, L., Wallin, D. & Hardy, D. 2001. A comparison of routine and rapid microwave tissue processing in a surgical pathology laboratory. Am J Clin Pathol 115, 703–708.

Solunetti. 2006. Hematoksyliini-eosiini, hematoxylin-eosin. Hakupäivä 4.9.2014
<http://www.solunetti.fi/fi/histologia/hematoxylin-eosin/>.

Työterveyslaitos. 2013. OVA-ohje: Formaldehydi. Hakupäivä 11.3.2014
<http://www.ttl.fi/ova/formalde.pdf>.

University of Leeds. 2014. What is H&E. Hakupäivä 4.9.2014 http://histology.leeds.ac.uk/what-is-histology/H_and_E.php.

Valvira. 2014. Salassapito- ja vaitiolovelvollisuus. Hakupäivä 10.3.2014
http://www.valvira.fi/ohjaus_ja_valvonta/terveydenhuolto/salassapito/salassapito_ ja_vaitiolovelvollisuus.

IMMUNOHISTOKEMIAALLISTEN VÄRJÄYSTEN ARVIOINTI

LIITE 1

Värjäys	Näyte	Värjäytyminen			A ja B verrattavissa	
		hyvä	kohtalainen	huono	kyllä	ei
ER	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
PR	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CK5/6	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
Ki67	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
PSA	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CK-HMW	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
AMARC	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD3	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD5	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD10	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD20	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD21	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD23	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD30	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CD43	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
Bcl-2	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
Bcl-6	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
MUM-1	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				

Värijäys	Näyte	Väriytyminen			A ja B verrattavissa	
		hyvä	kohtalainen	huono	kyllä	ei
KP1	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
EMA	Näyte A	X				X
	Näyte B		X			
WT1	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
Sykliini D1	Näyte A	X				X
	Näyte B		X			
CK7	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CK20	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
CDX-2	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
Synaptofysiini	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
Kromograniniini	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
c-Erb-2	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				
HER2 ISH	Näyte A	X			X	
	Näyte B	X				