

Emma Erkkilä, Hanna-Maija Jussila & Annina Räsänen

## **HISTOLOGISTEN VÄRJÄYSTEN LAATU JA KUSTANNUSTEHOKKUUS**

# HISTOLOGISTEN VÄRJÄYSTEN LAATU JA KUSTANNUSTEHOKKUUS

Emma Erkkilä  
Hanna-Maija Jussila  
Annina Räsänen  
Opinnäytetyö  
Kevät 2015  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

---

Tekijät: Emma Erkkilä, Hanna-Maija Jussila & Annina Räsänen  
Opinnäytetyön nimi: Histologisten värjäysten laatu ja kustannustehokkuus  
Työn ohjaajat: Markku Yli-Pyky, Outi Mäkitalo & Paula Reponen  
Työn valmistumislukukausi- ja vuosi: Kevät 2015  
Sivumäärä: 52 + 2 liitettä

---

Dako Artisan™ Link Special Stains System on automaatti, joka on suunniteltu tuottamaan laadukkaita sytologisten ja patologisten mikroskooppisten kudokset värjäksiä *in vitro*-diagnostiikkaa varten. Värjäysautomaatti on tarkoitettu ensisijaisesti ammattilaisten käyttöön patologian laboratorioon ja se sopii erinomaisesti yksiköille, jotka tekevät erikoisvärjäksiin perustuva diagnostiikkaa. Dako Artisan Link- värjäysautomaatti on yksikkö, joka sisältää leikeprosessorin, tietokonejärjestelmän ja tarratulostimen. Ohjelmistoon kuuluu 31 erilaista erikoisvärjäystä. Tarratulostimella näytelaseihin saadaan tulostettua koodatut tarrat, jotka kestävät värjäysliuokset ja lämpötilat. Tämä pienentää virhemarginaalia ja lisää näin luotettavuutta. Leikeprosessorin mahtuu kerrallaan 50 reagenssipakkausta ja 48 värjättävää näytelasia.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on arvioida eroja erikoisvärjyksissä verrattaessa käsinvärjystä ja automatisoitua värjäystä. Opinnäytetyö vastaa työelämästä nousseeseen tarpeeseen, jonka toimeksiantajana on Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio. Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa on suunnitteilla menetelmämuutos erikoisvärjäysten suhteen. Tavoitteena olisi, että patologian laboratorion bioanalyttikot pääsisivät siirtymään ergonomisempaan sekä laadukkaampaan menetelmään jokapäiväisessä laboratoriotyöskentelyssä. Siirtymiseen menetelmästä toiseen vaaditaan tiettyjen kriteerien täyttymistä. Näitä kriteerejä ovat värjäysten laatu, taloudellinen kannattavuus sekä työtehokkuus. Tällä projektilla selvitimme tuon siirtymän kannattavuutta vertailemalla laatua ja kustannustehokkuutta käsinvärjyksen sekä automatisoidun värjyksen välillä.

Opinnäytetyötä varten suoritimme yhdentoista erilaisen erikoisvärjyksen sisäänajot Dako Artisan- värjäysautomaatille. Värjykset olivat: Masson Trikrom, Colloidal Iron, Warthin-Starry, Feulgen, Gomor Blue, Gomor Green, Gram, Gram Yellow, Orcein, Acid Fast Bacteria, Acid Fast Bacteria sekä Acid Fast Bacteria Light Green. Jokaista värjäystä varten valmistimme kolme näytelasia Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa valikoiduista kudoksetäytteistä. Työssä käytimme tukena jo olemassa olevaa histoteknistä osaamistamme hyödyntäen patologian laboratorion henkilökuntaa ja heidän ammattitaitoaan. Kartutimme omaa tietoperustaamme koko projektin ajan käyttäen histologian tietokirjoja, histologisia tutkimuksia ja erikoisvärjäysten ohjeita. Työn lopuksi solubiologi ja patologi tarkistivat värjäysten laadun ja onnistumisen. Värjäysten lisäksi suoritimme kustannustehokkuuslaskelman, jota hyödyntäen Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorion talousvastaavat voivat päättää onko menetelmämuutos kannattava.

---

Asiasanat: Dako Artisan Link, erikoisvärjykset, menetelmämuutos, laatu, kustannustehokkuus, patologian osasto

## ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences  
Degree programme in Biomedical Laboratory Sciences

---

Authors: Emma Erkkilä, Hanna-Maija Jussila & Annina Räsänen

Title of thesis: Quality and cost-efficiency of special stains

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

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2015

Number of pages: 52 + 2 appendices

---

Dako Artisan™ Link Special Stains System is an automatic that is designed to produce an excellent staining quality of cytological and pathological microscopic tissue sections for *in vitro* diagnostics. This staining machine is designed primarily for use by professionals in pathological laboratory and it is ideal for units that make special staining-based diagnostics. Dako Artisan Link-staining machine is an unit which includes: a slide processor, a computer system and a labelprinter. The printed labels can be encoded and are resistant to staining solutions and temperatures. This reduces the margin of error and increases the reliability. The software includes 31 different types of special staining programme.

The purpose of this study is to evaluate the differences between manual staining and automated staining. This study was sponsored by the Oulu University Hospital, Department of Pathology. The Department of Pathology is considering changing the method of special staining protocol from manual to automatic. Changing to another method requires that certain criteria are met. These criteria are: the quality of staining, economic viability, as well as work efficiency. This project explored the profitability of that transition comparing the quality and cost-efficiency between manual staining and automated staining.

For this study we carried out the automatization of eleven different types of special stains. These were: Masson Trichrom, Colloidal Iron, Warthin-Starry, Feulgen, Gomor Blue, Gomor Green, Gram Yellow, Gram, Orcein, Acid Fast Bacteria, Acid Fast Bacteria and Acid Fast Bacteria Light Green. For each of these special stains three slides were made from tissue samples that had already been chosen by the Department of Pathology.

At work we used our already existing knowledge of histotechnique, taking advantage of the staff and their professional skills at Department of Pathology. We increased our own intelligence and data throughout the project using the books, studies, guides and manuals of histology and special stains. The success and quality of the stains were assessed by cell biologist and pathologist at the end of the work. In addition we carried out a cost benefit analysis of the staining methods which they can use at the Department of Pathology when they determine whether or not the method change is viable.

---

Keywords: Dako Artisan Link, special stains, method change, quality, cost efficiency, Department of Pathology

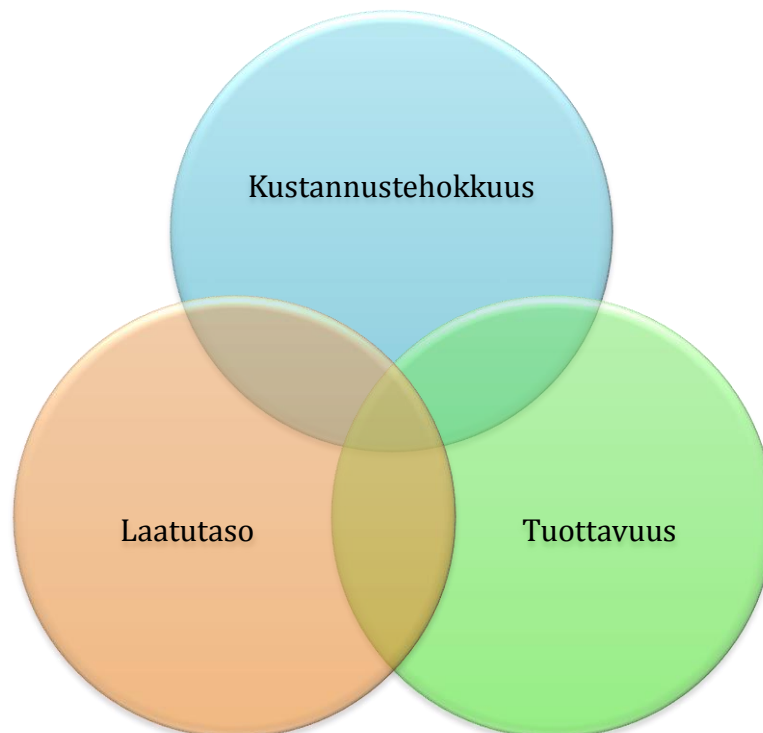
# SISÄLLYS

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 1   | LÄHTÖKOHDAT.....  | 6  |
| 1.1 | Projektin tausta ja tarve.....                                    | 6  |
| 1.2 | Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoitteet.....                        | 7  |
| 1.3 | Tutkimustehtävän kuvaus.....                                      | 7  |
| 1.4 | Opinnäytetyön toimeksiantaja.....                                 | 8  |
| 1.5 | Moniammatillinen yhteistyö ja työvaiheet.....                     | 9  |
| 2   | HISTOLOGIA JA HISTOTEKNIikka.....                                 | 11 |
| 2.1 | Histotekniikka.....   | 11 |
| 2.2 | Histotekninen prosessi.....                                       | 12 |
| 3   | HISTOLOGISET ERIKOISVÄRJÄYKSET.....                               | 14 |
| 3.1 | Erikoisvärjäysten käyttöindikaatiot.....                          | 14 |
| 3.2 | Värjäytymisen biokemiaa.....                                      | 15 |
| 3.3 | Projektissa käytetyt histologiset erikoisvärjäykset.....          | 16 |
| 4   | ERIKOISVÄRJÄYSTEN VIRHELÄHTEET.....                               | 21 |
| 5   | LAADUNTARKKAILU PATOLOGIAN LABORATORIOSSA.....                    | 23 |
| 5.1 | Laadunvalvonta ja laadunhallinnalliset menetelmät.....            | 23 |
| 5.2 | Laadunvalvonta Oulun patologian laboratoriossa.....               | 24 |
| 6   | MANUAALISET JA AUTOMATISOIDUT ERIKOISVÄRJÄYS-<br>PROTOKOLLAT..... | 26 |
| 7   | HISTOLOGISTEN VÄRJÄYSTEN LAATU JA KUSTANNUSTE-<br>HOKKUUS.....    | 27 |
| 7.1 | Erikoisvärjäysten kustannustehokkuus.....                         | 43 |
| 7.2 | Erikoisvärjäysten kustannusarvio.....                             | 44 |
| 8   | JOHTOPÄÄTÖKSET.....   | 46 |
| 9   | POHDINTA.....   | 47 |
|     | LÄHTEET.....  | 49 |
|     | LIITTEET.....   | 52 |

# 1 LÄHTÖKOHDAT

## 1.1 Projektin tausta ja tarve

Opinnäytetyömme vastaa työelämästä nousseeseen tarpeeseen, jonka Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio on tilaajana esittänyt. Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorion tämänhetkinen menetelmä sytologisten ja histologisten leikkeiden erikoisvärjäysten suorittamisessa on manuaalinen eli käsinvärjäys. Käsinvärjäys on sekä hidas että epäergonominen menetelmä, josta Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio on valmis luopumaan. Muutos halutaan toteuttaa siirtymällä automatisoituun värjäykseen. Menetelmämuutoksen suunnittelua varten teimme opinnäytetyön aiheesta, jonka nimesimme Artisan-projektiksi. Opinnäytetyötä toteuttaessamme meidän oli suoritettava erikoisvärjäysten sisäänajot Artisan- värjäysautomaatille siten, että leikkeiden laatu täytti vaaditut kriteerit. Laadulliset kriteerit ovat klinisen hoidon ja tutkimuksen kannalta ehdottoman tärkeitä, eikä siirtymää voida toteuttaa ennen kuin värjäystulos on automaattia käytettäessä tasalaatuinen ja luotettava. Laadullisten kriteerien täyttymisen lisäksi tällaisen menetelmämuutoksen on oltava taloudellisesti kannattava. Projektissa otettiin lisäksi huomioon kustannustehokkuus osana analyttistä kokonaisuutta oheisen kuvion mukaisesti (Kuvio 1).



KUVIO 1. Onnistuneen menetelmämuutoksen kriteerit.

## 1.2 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoitteet

Opinnäytetyön tarkoituksena on lisätä tietoa automatisoitujen värjäysten käyttömahdollisuuksista jokapäiväisessä laboratoriotyössä, sillä aiheesta on tehty melko vähän tutkimusta. Perinteisissä värjäysmenetelmissä niiden toimivuus ja laatu todetaan positiivisilla ja negatiivisilla kontrollinäytteillä. Jos näytteeseen ei sisälly vertailukudosta, kontrollinäytteitä tutkitaan säännöllisesti. (Labquality 2012, 34.) Tällä menetelmällä voidaan jatkuvasti seurata ja tutkia värjäysten laatua kudosleikkeissä. Tavoitteeksi asetettiin automatisoidun värjäysmenetelmän kokeellinen testaus käytännössä niin, että tarkastellaan tuloksia sekä taloudellisesta että laadullisesta näkökulmasta. Opinnäytetyömme tarkoituksena on myös kehittää bioanalytiikan alaa Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa kokeilemalla vaihtoehtoa, joka voisi helpottaa tulevaisuudessa henkilökunnan työtä vapauttamalla työaikaa muihin tehtäviin. Nykyisen menetelmän ollessa manuaalinen, on automatisaation koko ajan lisääntyessä täysin luonnollista kartoittaa mahdollisuutta hyödyntää tätä suuntausta. Kuten Opetushallituksen www-sivuilla todetaan, laboratoriot toimintaan kuuluvat oleellisesti laatu- ja ympäristöjärjestelmät sekä tulostavastuu. Tulostavastuu tarkoittaa sitä, että oman toiminnan sekä laadullinen että taloudellinen seuranta kuuluu kaikille. Tämä edellyttää laadullista ja taloudellista ajattelua sekä osaamista. (Opetushallitus 2015. Viitattu 22.4.2015.) Kiteytettynä opinnäytetyömme haasteena on selvittää, mikä on samaan aikaan sekä laadukas että kustannustehokas värjäysmenetelmä, jolla olisi myös bioanalyttikoiden työtä kehittävä vaikutus.

## 1.3 Tutkimustehtävän kuvaus

Opinnäytetyömme tutkimustehtävänä on laadun säilyttäminen ja kustannustehokkuuden optimointi ottaen samalla huomioon kestävä kehitys. Tutkimusmenetelmä opinnäytetyössämme on kvalitatiivinen ja metodina käytämme projektiluontoista kokeellista työskentelyä. Värjäystulosten laatu on ensisijaisena tarkastelun kohteena opinnäytetyössämme, mutta bioanalyttikon toimenkuvaan kuuluu myös kyky ajatella taloudellisesti ja pyrkiä toteuttamaan kestävä kehitys, mikä vuoksi otamme laadunhallinnallisen tarkastelun lisäksi työhömmme mukaan tuotosten kustannuslaskennan. Taloudellinen kestävä kehitys tarkoittaa ja edellyttää vastuullisesti ja eettisesti tehtyjä materiaali- ja laitehankintoja, huolellista taloudenpitoa sekä koko henkilökunnan vastuunottoa kulutuksessa.

Suuri perustavanlaatuinen merkitys patologian laboratorion laadunhallinnassa on ammattitaitoinen ja palvelualtis henkilökunta. Tämä vaatii henkilökunnan hyvää teoreettista ja käytännön tietoperustaa. Tämän ohella vaadittu laadunhallinnallinen toimenpide työntekijöiden piirissä on perehdytys työpisteisiin ja vaihtuneisiin työnkuviin, jotta ei-kvantitatiivinen reliabiliteetti ja validius kliinisen patologian diagnostiikassa saataisiin optimoitua. Patologisten näytteiden laadunhallinta on erilaista monin tavoin verrattuna kvantitatiivisiin ja kvalitatiivisiin analyysimenetelmiin useimmissa muissa laboratorioissa, kuten esimerkiksi kliinisen kemian laboratorioissa. Laadunhallinnalliset strategiat ja metodit ovat hyvin erilaisia ja viitekehyskellisesti teoreettiseen, mutta yhtä kokeellisesti saatuun tietoon nojaavaa käytännöllistä analyttistä toimintaa. Validiteettia arvioitaessa esimerkiksi virheiden analysoinnissa pohditaan, mikä tekijä on voinut saada aikaan virheen. Tutkimuksen luotettavuuteen vaikuttavia tekijöitä ovat esimerkiksi otoksen laadukkuus, tutkimuksen koejärjestelyt, inhimilliset epävarmuustekijät ja tutkimusmenetelmä.

Tutkimuksen luotettavuutta laboratorioissa arvioidaan yleisesti reliabiliteetin ja validiteetin avulla. Niissä tarkastellaan mittaukseen liittyviä asioita ja tarkkuutta tutkimuksen toteuttamisessa. Validius merkitsee kuvauksen ja siihen liitettyjen tulkintojen yhteensopivuutta. Tutkimus on siten validi silloin, kun sillä kyetään mittaamaan tutkittua asiaa. Reliaabelius merkitsee patologian kliinisessä diagnostiikassa tutkimustulosten toistettavuutta, siksi otamme projektissamme reliabiliteettia arvioitaessa huomioon otoksen koon ja edustavuuden. Meiltä vaaditaan tarkkuutta kerätyn tiedon funktionaaliseen dokumentointiin ja meidän tulee ottaa huomioon mahdolliset systeemivirheet. Patologian laboratorioissa epistemologinen pohja on asettanut lähtökohtia laadunhallinnan perustan luomiseen strategian ja metodien linjauksilla. Validiusongelma kun on kvantitatiivisten ja kvalitatiivisten mittausten ulkopuolella suuri. Laadullinen tutkimusstrategiamme on loppujen lopuksi kartoittava ja kuvaileva. Ei ole saavutettavissa yhteiskunnan ja kliinisten tutkimusprosessien suuressi käyttämiä ja hyödyntämiä matemaattisia suureita. Pyrimmekin projektissa, valittua tutkimusmenetelmää toteuttaessa pohtimaan ja ottamaan huomioon patologian alan tulosvastuullisuuden validius- ja reliabiliteettiongelmat.

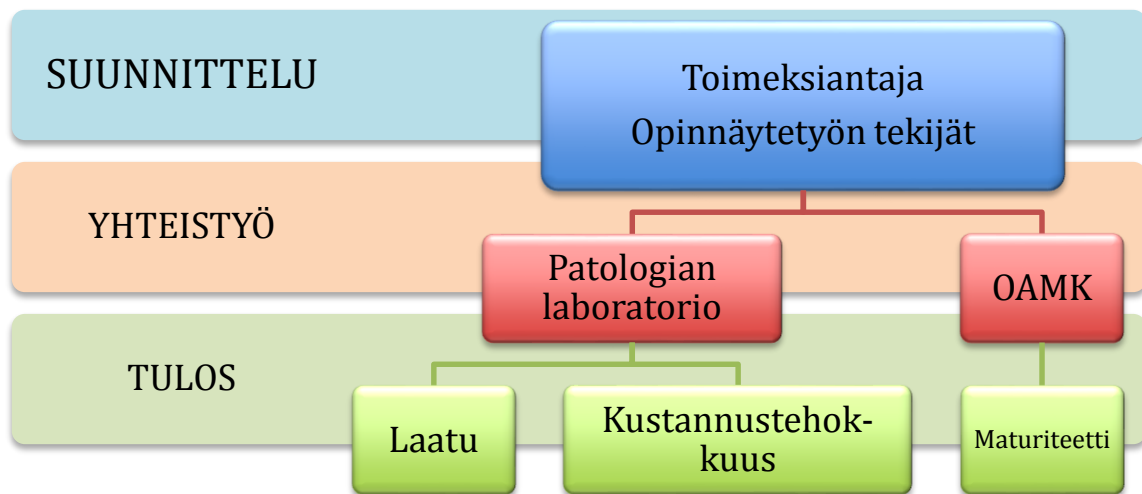
#### **1.4 Opinnäytetyön toimeksiantaja**

Opinnäytetyömme toimeksiantaja on Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin patologian laboratorio. Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin patologian laboratorioissa tehdään patologisanatomisia sekä sytologisia taudinmäärityksiä. Laboratorioissa on käytössä kattava valikoima histologisia,

immunohistologisia, sytologisia sekä muita patologian erikoismenetelmiä ja palveluja. Lisäksi siellä tehdään lääketieteellisiä ruumiinavauksia Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymän alueella. Patologian laboratoriossa on ISO 9000 standardien mukainen laatujärjestelmä ja laatukäsikirja, jossa on kuvattu toiminnan organisaatio, prosessit sekä käytettävät analyysimenetelmät. Yksikkö osallistuu myös Labqualityn ja NordiQCin laaduntarkkailukierroksiin. (Oyslab 2015. Viitattu 23.1.2015.) Toimeksiantaja kokee tärkeäksi Artisan-värjäysautomaatin sisäänajon laadullisuutta ja kustannustehokkuutta tutkivana tehtävänä. Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio haluaa tutkia menetelmämuutoksen mielellisyyttä, kliinistä hyötyä sekä kustannusvaikuttavuutta.

## **1.5 Moniammatillinen yhteistyö ja työvaiheet**

Opinnäytetyö toteutetaan Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa, jossa tiedonantajina toimivat apulaisosastonhoitaja sekä solubiologi. Oulun ammattikorkeakoulun puolella ohjaajina toimivat koulutusohjelmamme opettajat. Värjäysten sisäänajoja varten valitaan 11 erikoisvärjäystä: Masson Trikrom, Colloidal Iron, Warthin-Starry, Feulgen, Gomor Blue, Gomor Green, Gram, Gram Yellow, Orcein, Acid Fast Bacteria sekä Acid Fast Bacteria Light Green. Värjäyksiä varten valikoidaan patologian laboratorion biopsia-arkistosta sopivat kudoksenäyteblokit. Kudoksenäyteblokeista leikataan mikrotomilla kolmen mikrometrin paksuisia leikkeitä 10 kappaletta jokaista värjäystä kohden. Poikkeuksena paksuuden suhteen ovat jääleikkeet, joista leikataan 5 – 10 mikrometrin paksuisia näytteitä. Leikkeet kiinnitetään erikoisvärjäyksiä varten tarkoitetuille objektilaseille, joista valitaan optimaalisimmat kolme näytelasia kutakin värjäystä varten. Loput näyteleikkeet säästetään mahdollisia uusia värjäyskierroksia varten. Valmiit värjäykset mikroskopoidaan solubiologin toimesta, joka konsultoi myös Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorion patologeja laadun suhteen. Projektimme koskettaa työntekijöinä bioanalytikoita, solubiologia, osastonhoitajaa ja patologeja, jotka ovat viime kädessä vastuussa kliinisistä diagnooseista. Moniammatillinen yhteistyömme kiteytyy klinikkosten ja solubiologin laadulliseen lopparvioon. Projektimme yksi ammatillinen linjaus onkin hahmottaa tutkimusprosessi kokonaisvaltaisesti ja moniammatillisesti, sillä projekti toteutetaan yhteistyössä työelämän eri edustajien kanssa. Täten työmme kautta saamme kokemusta moniammatillisessa projektiryhmässä toimimisesta. Projekti toteutuu seuraavalla sivulla olevan kuvion mukaisesti (Kuvio 2).



KUVIO 2. Opinnäytetyön vaiheet projektikaaviona.

## 2 HISTOLOGIA JA HISTOTEKNIikka

Histologia on tieteenala, joka käsittelee solujen rakennetta sekä niiden koostumusta ja sijaintia niin kudoksissa kuin elimissä. (National Society of Histotechnology 2015, viitattu 12.2.2015.) Kudokset rakentuvat soluista ja niitä ympäröivästä soluväliaineesta. Kudoksissa on olemassa useimmiten useita erityyppisiä soluja, jotka toimivat yhdessä kudoksellisena kokonaisuutena. Samalla ne toimivat omissa erilaistuneissa erikoistehtävissään. (Solunetti 2006, viitattu 13.3.2015.) Histoteknologia keskittyykin kudosten epänormaaliuden tunnistamiseen sekä haitallisia poikkeavuuksia aiheuttavien sairauksien havaitsemiseen ja hoitoon. Histologian laboratorioissa tutkitaan kudoksenäytteitä, joita ovat erilaisten tähytysten yhteydessä otetut koepalat, leikkausten yhteydessä poistetut kasvaimet sekä muut kudoksenäytteet, kuten esimerkiksi luomet. Histologiassa käytetään paljon väriaineita sekä kemikaaleja ja on tärkeää tietää niiden tarkka koostumus, toimintatapa sekä niiden reagoiminen keskenään. Kudoksenäytteet käsitellään erilaisten kudokäsittely- ja värjäysprosessien avulla sellaiseen muotoon, että patologi voi antaa niistä lausunnon. Edellä mainittujen tietojen ja kudosten koostumuksen ymmärtämiseen pohjautuu histotekninen patologinen diagnoosi. (National Society of Histotechnology 2015, viitattu 12.2.2015.)

### 2.1 Histotekniikka

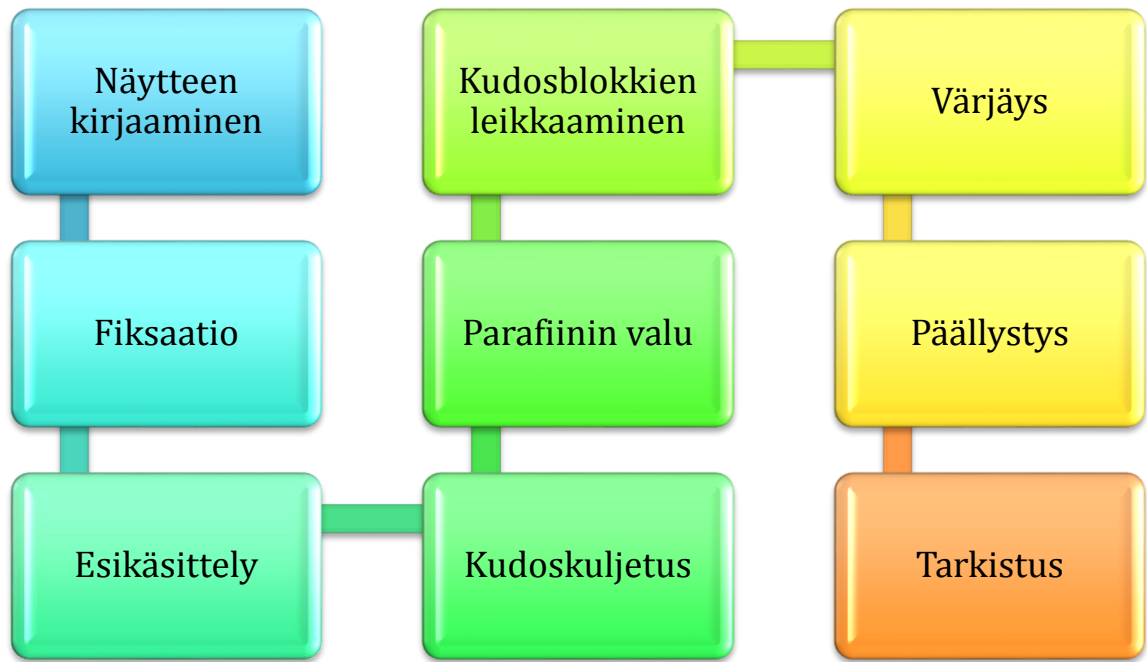
Keskeinen apuväline histologisen tiedon keräämisessä on mikroskooppi, jolla voidaan monipuolisesti kuvantaa kudosten hienorakennetta. Lisätietoa kudoksenäytteistä saadaan käyttämällä erilaisia spesifisiä värjäystekniikoita haluttujen rakenteiden osoittamiseksi. Jotta mikroskopointi on mahdollista ja näytteen rakenteesta saataisiin mahdollisimman hyvä kuva, täytyy näytepala leikata ohuiksi viipaleiksi. Rutiininomaisesti yleisimmät tavat valmistaa kudoksenäyte on tehdä parafiinileikkeitä tai jääleikkeitä riippuen kliinisestä tarpeesta. Parafiinileikkeissä kudoserakenteet säilyvät hyvin luonnollisen mukaisina. Säilyvyys on yksi suurimmista eduista parafiinileikkeiden käytössä. Jääleikkeitä käytetään lähinnä silloin, kun tarvitaan nopea tieto kudoksesta. Esimerkkinä voi olla tilanne, jossa syöpäpotilaalta saatu kudospala analysoidaan jo leikkauksen aikana, tai esimerkiksi kun immunohistologian tekniikoissa käytetty vasta-aine ei toimi kohteena olevissa parafiinileikkeissä. (Solunetti 2006, viitattu 2.3.2015.)

Tänä päivänä histologian laboratorion työ on osittain automatisoitua sekä kudosprosessoinnin että värjäysten osalta, mutta suurelta osin työ on siitäkin huolimatta vielä käsityötä. Kiinnityksen,

valamisen ja leikkaamisen jälkeen useimmat leikkeet ovat visuaalisesti täysin värittömiä. Sen vuoksi yksi tärkeimmistä vaiheista, eli leikkeen värjääminen, tekee mahdolliseksi kudoksen mikroskooppisen tarkastelun. (Solunetti 2006, viitattu 16.3.2015.)

## 2.2 Histotekninen prosessi

Kudosta tarkastellaan *in vitro* sekä histologisista että patologisista syistä. Samoista syistä kudosta valmistellaan ja prosessoidaan käyttäen useita reagensseja. Siten säilytetään sopivat kudokset mikroskooppista tarkastelua varten. (Ruchieka, Hitesh & Nirmala 2014, 16.) Jotta voidaan saavuttaa yksityiskohtainen morfologinen tutkimuslöydös kudoksenäytteestä, on välttämätöntä estää orgaanisten osien korvautuminen liukenemattomilla suoloilla. Lisäksi alkuperäisen topografian on säilyttävä niin, ettei autolyysiä pääse tapahtumaan. Nämä useat vaatimukset saavutetaan useilla kudosprosessoinnin vaiheilla. Kudosprosessointi sisältää kunnollisen fiksaation, dehydraation sekä kudoksen kyllästämisen petausaineella (Kuvio 3). Fiksaatioon käytetään useimmiten puskuroidua formaliinia sekä asteittaista etanolisarjaa. Fiksointi estää kudoksen autolyysiä, mikrobien aiheuttamaa mätänemistä ja näytteen kovettumista, minkä ansiosta kudosta pystytään jatkokäsittelemään helpommin. Tiedetyt fiksaatiivit joko edistävät tai estävät värin sisäänottoa muokkaamalla kudoksen proteiineja, mikä vaikuttaa värjäyksen diffuusion. Joskus myös reaktiivisia radikaaleja paljastetaan tai verhotaan proteiinien uudelleenjärjestäytymisellä eli denaturaatiolla. Esimerkiksi formaliini muodostaa ristisidoksia proteiinin kanssa ja sillä on taipumus verhota kationisen kudoksen sidosalueita anionisille väriaineille, jotta happaman värin sisäänotto estyy. Päinvastoin anioniset sidosalueet paljastetaan, jotta tumien basofiilisyyden parantuu. (Bancroft, Stevens & Turner 1996, 21.) Dehydraatiota seuraa kirkastus, jossa dehydroiva neste korvataan aineella, joka on liukoinen käytettävän petausaineen kanssa. Riippuen tilanteesta voidaan ksyleeniä, tolueniä sekä muita aineita käyttää kirkastusaineena. (Ruchieka ym. 2014, 14.) Kirkastaminen on muiden toimenpiteiden ohella välttämätön osa kudosprosessointia. Petausaine on aine, johon kudosta imeytetään leikkausta varten ja useimmiten se on parafiini. Hiilivetyliuottimet ovat yleensä liukoisia sekä dehydraatiokomponenttien kanssa että parafiinin kanssa. Niillä on yleensä sama taitekerroin kuin kudoksen proteiineilla. (Ruchieka ym. 2014, 16.) Kirkastuksen jälkeen kudosta kyllästetään ja pedataan parafiinilla, minkä jälkeen se on valmis leikkaukseen. (Ruchieka ym. 2014, 14.) Histoteknisen prosessin jälkeen suoritetaan näytteen värjäys ja päällystys, minkä jälkeen se on valmis kliiniseen mikroskooppiseen tarkasteluun (Kuvio 3).



KUVIO 3. Histotekninen prosessi patologian laboratoriossa.

### 3 HISTOLOGISET ERIKOISVÄRJÄYKSET

Erikoisvärjäykset terminä on epäselvä alkuperältään, mutta varmoja voidaan olla siitä, että sitä alettiin käyttää vuoden 1876 jälkeen jolloin hematoksyliini-eosiini- värjäykset esiteltiin. Erikoisvärjäykset poikkeavatkin muista värjäyksistä siinä, etteivät ne ole rutiinia. Ne on kohdistettu kudoksen erinäisiin osiin esimerkiksi hematoksyliiniin ja eosiiniin värjätessä osioita, jotka vastaavat hematoksyliini-eosiini- värjäyksen suorituksen antamiin vasteisiin kudoksessa sen morfologian mukaan. Erikoisvärjästerminologiaa käytetäänkin yleisimmin kliinisessä ympäristössä, kun tarkoitetaan jotain muuta värjäystekniikkaa kuin hematoksyliini-eosiini-värjäystä. (Kumar & Gill 2010, 1.) Kaikesta huolimatta hematoksyliini-eosiini- värjäys on kuitenkin edelleen suosituin värjäysmenetelmä histologiassa ja lääketieteellisissä laboratorioissa. (Kumar ym. 2010, 16.)

#### 3.1 Erikoisvärjäysten käyttöindikaatiot

Erikoisvärjäykset voivat vastata näihin kysymyksiin: Onko tietty molekyyli luokka läsnä kudoksessa vai ei? Minne molekyylit ovat valmisteessa asettuneet? Kuinka monta molekyyliä on läsnä? Erikoisvärjäyksissä onkin kaksi laajaa sovellusaluetta, tutkimuksellinen ja diagnostinen osa-alue. Tutkimuksessa erikoisvärjäyksiä käytetään ikään kuin koettimina tunnistamaan tietyt kemiallisia ainesosia normaaleissa ja poikkeavissa soluissa. Koottua tietoa käytetään perustana jatkotutkimuksiin ja myös tutkimuksellisella perustasolla, kun erikoisvärjäysten tuloksia verrataan erilaisiin diagnostisiin menetelmiin. (Kumar ym. 2010, 19.)

Erikoisvärjäyksiä voidaan soveltaa solubiologiaan ja histologiaan. Joitakin hyödyllisiä sovelluksia ovat DNA- ja RNA-pitoisuuden määrittäminen, lääkkeiden vaikutustavat, hormonit tai potentiaalisesti myrkylliset ruoan lisäaineet, metabolinen biokemia, sairausprosessien biokemia, metastaatisten tuumoreiden primääriset paikat, pigmentoitumattomien metastaatisten melanoomien identifikaatio, aikaisten invasiivisten tuumoreiden havaitseminen, marginaalien määrittäminen poistetuista tuumoreista, Barrin kappaleiden identifikaatio sekä soluvärjäys, jota voidaan käyttää perustana soluerottelulle sopivalla instrumentaatiolla. Lisäksi mikro-organismien identifikaatio on yksi yleinen sovellus. (Kumar ym. 2010, 19.)

### 3.2 Värjäytymisen biokemiaa

Värjäämisen luoman visuaalisen efektin vuoksi solukosta voidaan erottaa eri värein värjäytyneitä kudosten komponentteja. Tämä fakta pohjaa sitä, että histologiset värjäysmenetelmät ovat oleellisia tunnistettaessa eri sairauksia. Kemialliset reaktiot tuottavat kudokseen värejä, mikä mahdollistaa kudusrakenteiden erottamisen sitä mikroskoopilla tarkasteltaessa. Värjäys tapahtuu useimmiten selektiivisellä väriaineella, jossa väriaine sitoutuu leikkeeseen solukon kemiallisten ominaisuuksien mukaan. Näiden kemiallisten reaktioiden vuoksi erilaisilla värjäyksillä voidaan erottaa kudosten eri rakenteet toisistaan niiden värinsitomiskyvyn mukaan. (Solunetti 2006, viitattu 16.3.2015.) Eli värjäyksen intensiteetti sekä käytetyt menetelmät pohjautuvat biokemiallisiin mekanismeihin. Näiden mekanismien inhibitio tai eksitaatio vaikuttavat päätekijänä histologisten näytteiden värjäytymiseen ja lopulliseen laatuun, eli näin ollen myös kliiniseen diagnoosiin.

Kudos sitoo väriaineita seuraavilla mekanismeilla: elektrostaattinen voima, hydrogeeniset sidokset, Van der Waalsin voimat, kovalenttiset sidokset, fysikaalinen värjäytyminen ja luonnollinen affiniteetti. Useimmat kudovärjäysreaktiot sisältävät joitakin elektrostaattisen mekanismin muotoja. Kationinen väri sitoutuu anionisiin yhdisteisiin. Päinvastoin anioniset värit sitoutuvat kationisiin aineisiin, joita ovat muun muassa punasolujen pintaproteiinit. Amfolyttisistä reaktioista mainittakoon esimerkkinä lihasproteiini, joka käyttäytyy happaman värin läsnäollessa emäksenä ja päinvastoin. Myös värit voivat toimia amfolyytteinä, jolloin ne voivat toimia myös sopivasti puskuroituina joko emäksenä tai happona isoelektriseen pisteeseensä saakka. Vaikka vain harvat värjäysreaktiot perustuvat hydrogeenisiin sidoksiin, niillä on kaikkein käyttökelpoisimmat ja diagnostisesti merkittävimmät histologiset ohjelmavaliokimat; esimerkiksi Kongon punainen amyloideille ja karmiini glykogeenille. Viime vuosina on lisääntynyt tietoisuus Van der Waalsin voimien roolista värjäyssidoksissa. On käynyt ilmi, että suuret peittäusainekompleksit voivat sitoutua kudokseen Van der Waalsin voimilla. Lipidien värjäytyminen kollektiivisesti Sudan-värjäyksissä on ainoa merkittävä histologinen reaktio, joka kuuluu puhtaasti fysikaalisiin mekanismeihin. Nämä kuuluvat kromogeenisesti AZO-värien ryhmään. Ne omaavat ainutlaatuisen ominaisuuden värjäytyvyyteen niiden ollessa liukoisempia tietyn tyyppiin lipideihin enemmän kuin niiden liuottimiin. Siitä johtuen reversiibeli diffuusio vaihtaa paikkaa mediumista toiseen. Sudan- värjäykset yhtä lukuunottamatta eivät auksokromisen ryhmän puuttuessa ole värejä sanan todellisessa merkityksessä. Poikkeuksena on kuitenkin Sudan Black- värjäys, mikä omaa aminoryhmän auksokromin. Sen vuoksi sillä on paremmat värjäysominaisuudet verrattuna muihin Sudan-ryhmän värjäyksiin, jolloin sillä voidaankin värjätä laaja-alaisesti lipidejä. On muutamia esimerkkejä, missä elävällä ma-

teriaalilla on affiniteetti tiettyyn väriin. Merkittävin on Janus Green- värjäys mitokondrioille. (Bancroft ym. 1996, 20.)

### 3.3 Projektissa käytetyt histologiset erikoisvärjykset

*Masson Trikrom*- värjäystä käytetään lähinnä silloin, kun halutaan erottaa kollageenisäikeet lihaksesta sekä tunnistaa fibriini sekä punasolut kudokset. *Masson Trikrom*- värjäyksestä on apua muun muassa fibrioottisten muutosten, neuromuskulaaritautilien sekä lihasperäisten kasvainten diagnostiikassa. *Masson Trikrom*- värjäys on hyödyllinen myös lisääntyneen kollageenin kerrostumisen osoittamiseen, jossa toimiva kudos korvautuu arpikudoksella. Värjäyksestä on apua arvioitaessa maksaskleroosia, jossa paksuuntunut kollageeni korvaa normaalin kudoksen aiheuttaen maksan toimintahäiriötä. *Masson Trikrom*- värjäys on vaiheittainen menetelmä, jossa Weigertin rautahematoksyliini värjää nukleuksen mustaksi, Biebrich punainen värjää sytoplasman punaiseksi sekä aniliini-sininen tai aniliini-vaaleanvihreä värjää kollageenin joko siniseksi tai vihreäksi. Mikroskooppisesti värjäystulosta tarkasteltaessa lihas näkyy punaisena, kollageeni sinisenä tai vihreänä, fibriini vaaleanpunaisena, punasolut punaisina sekä tumat sinimustina. (Dako 2015, viitattu 24.5.2015.)

*Colloidal Iron*- värjäyksessä tarkoituksena on tunnistaa karboksyloituneet ja sulfatoituneet mukopolysakkaridit sekä glykoproteiini ja musiini kudokset. Kolloidaaliset rautaionit absorboituvat alhaisessa pH:ssa pääasiassa karboksyloituneisiin ja sulfatoituneisiin lima-aineksiin ja värjäytyvät tummansinisiksi. Tumat ja solulima värjäytyvät vaaleanpunaisiksi. (Dako 2015, viitattu 23.4.2015.)

*Warthin-Starry*- värjäystä käytetään *Helicobacter pylori*, *Bartonella henselae*, *Afpia felis*, spirokeettojen ja muiden pieneliöiden tunnistamiseen kudokset. *Warthin-Starry*- värjäys perustuu tiettyjen bakteerien kykyyn sitoa hopeaioneja liuoksesta. Menetelmän biokemiallisena spesifisenä periaatteena on hopeaimpregnaatio ja argyrofiilinen menetelmä. Spirokeetat sekä muut bakteerit voivat sitoa hopeaioneja värjäysliuoksesta, mutta ne eivät kykene rajoittamaan sitoutuneen hopean määrää. Värjäystä tehtäessä näytelasia inkuboidaan aluksi hopeanitraattiliuoksessa puolituntia, jonka jälkeen hydrokinonin avulla kehitetään näyteleikkeisiin sitoutunut hopea sellaiseen muotoon, jota pystytään tarkastelemaan mikroskopoiden. Helikobakteeri ja spi-

rokeetat värjäytyvät mustiksi tai tummanruskeiksi taustan värjäytyessä kullankeltaiseksi. (Dako 2015, viitattu 24.5.2015.)

*Feulgen-* värjäyksellä on tarkoituksena tunnistaa deoksiribonukleinihappo DNA kudosleikkeessä. DNA värjäytyy Schiffin reagenssilla magentan sävyiseksi. Näin värjäytynyt DNA näkyy vastaväri-lisenä kontrastina vihreää taustaa vasten. (Dako 2015, viitattu 4.3.2015.) Feulgen- värjäys on tehokas menetelmä, kun halutaan saada tietoa solujen kromosomaalisen materian määrästä näytteessä. (Gaub, Auer & Zetterberg 1, 2015.)

*Gomor Green- ja Blue-* värjäyksiä käytetään maksa- ja munuiskudosleikkeen kollageenisäikeiden tunnistamiseen kudosleikkeessä. Näillä värjäyksillä pystytään osoittamaan lisääntynyt kollageenin kertyminen, jossa se korvaa toiminnallisen kudoksen arpikudoksella. Värjäys on käytännöllinen ja hyödyllinen maksakirroosin arvioimisessa, jossa paksuuntunut kollageeni korvaa normaalin kudoksen ja aiheuttaa siten maksan toimintahäiriötä. *Gomor Green-* värjäyksessä kollageeni ja tumat värjäytyvät vihreiksi, sytoplasma, punasolut ja fibriini vaaleanpunaisiksi tai punertaviksi, kun taas *Gomor Blue-* värjäyksessä kollageeni ja lihassäikeet värjäytyvät sinisiksi. (Dako 2015, viitattu 4.3.2015.)

*Gram- ja Gram Yellow-* värjäyksiä käytetään yleisesti mikrobien tunnistamiseen infektioitaudeissa kuten meningiitti, pneumonia, tippuri sekä aivojen, keuhkojen, sisäelinten ja haavojen infektioiden diagnosoinneissa. Värjäyksiä käytetään kahden eri mikrobiryhmän, gram-positiivisten sekä gram-negatiivisten bakteerien tunnistamiseen kudosleikkeissä. *Gram-* värjäyksessä gram-positiiviset mikrobit värjäytyvät kristallivioletin sävyllä. Ne bakteerit, jotka menettävät ensisijaisen väriaineensa dehydraation aikana ovat gram-negatiivisia. Mekanismit, joilla gram-positiiviset organismit säilyttävät päävärinsä ja gram-negatiiviset organismit menettävät sen, ovat seurausta kemiallisista reaktioista organismin soluseinän rakenteissa. Taustan värjäytyminen vaihtelee sinisestä vihreään. *Gram Yellow-* värjäyksessä gram-positiiviset organismit värjäytyvät tummansinisiksi ja gram-negatiiviset organismit vaaleanpunaisiksi ja magentan sävyisiksi. Gram-positiivisia bakteereja ovat mm. *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus aureus* sekä *Corynebacterium diphtheriae*. Gram-negatiivisia taas ovat mm. *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* sekä *Pseudomonas aeruginosa*. (Dako 2015, viitattu 24.5.2015.)

*Orcein-* värjäysmetodia käytetään HBsAg:n eli hepatiitti B-viruksen pinta-antigeenin, elastisten säikeiden sekä kupariin sitoutuneen proteiinin tunnistamiseen kudosleikkeessä. Isäntäsolujen

sisällä olevia virushiukkasia kutsutaan virusinkluusiokappaleiksi. HBsAg voidaan havaita Orcein-värjäysmenetelmällä. Orseiini on luonnollinen väri, jota saadaan jäkälästä ja se värjää kuparisidonnaisia proteiineja, elastiinia sekä B-hepatiittiviruksen pinta-antigeeninin. Antigeeni näkyy hienona granulana joko hajanaisesti sytoplasmaan levinneenä, tai keskittyneesti sytoplasmassa perifeerisesti sinusoidaalitilaan. Hyvin patologista määrää kuparisidonnaisia proteiineja muodostavia sairauksia, kuten Wilsonin tautia ja joitakin kirrooseja voidaan havaita Orcein-värjäyksellä. HBsAG- elastiset säikeet värjäytyvät punertavan tummanruskeiksi, kuparisidonnainen proteiini tummanpunaiseksi tai violetiksi ja tausta vaaleanpunaiseksi. (Dako 2015, viitattu 24.5.2015.)

*Acid Fast Bacteria* ja *Acid Fast Bacteria Light Green*- värjäyksiä käytetään kun halutaan tunnistaa haponkestäviä bakteereja, kuten mykobakteereja. Mykobakteereihin kuuluvat mm. *Mycobacterium tuberculosis* ja *Mycobacterium leprae*, jotka aiheuttavat tuberkuloosin sekä lepran. Mykobakteerit muodostavat vahamaisia aineita, joita kutsutaan mykoolisiksi hapoiksi. Nämä aineet muodostavat kovalenttisen sidoksen bakteerin soluseinän peptidoglykaanin kanssa, mikä tekee värjäyksistä haastavaa. Acid Fast Bacteria- värjäyksessä kuuma carbol fuchsin-väri värjää haponkestävät bakteerit punaiseksi, mitä seuraa värin poistuminen kaikista muista kudosten osista lukuunottamatta haponkestäviä bakteereja. Metyleeninsineä käytetään antamaan sininen sävy kaikille kudoksen taustaelementeille. Käyttämällä Light Green-väriä vastavärinä, saadaan vihreä sävy muille kudoksen osille. (Dako 2015, viitattu 24.5.2015.)

TAULUKKO 1. Projektissa käytetyt erikoisvärjykset. (Kumar ym. 2010, 5-9. )

| Erikoisvärjäys              | Kliininen applikaatio  | Värjyksen spesifisyys                            |
|-----------------------------|--|--|
| <b>Masson Trikrom TRI</b>   | Solujen erottaminen ympäröivästä yhdistävästä kudoksesta   | Lihaskollageenisäikeet, fibrini ja erytrosyytit  |
| <b>Colloidal Iron</b>       | Karboksyloitunut ja sulfatoitunut mukopolysakkaridi, glykoproteiini ja musiini kudoksissa  | Musiini ja mukopolysakkaridit                    |
| <b>Warthin-Starry</b>       | <i>Alipia feles</i> , <i>Bartonella henselae</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Helikobacter pylori</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Treponema pallidum</i>  | Koko organismi                                   |
| <b>Feulgen</b>              | Kromosomaalisen materiaalin tai deoksiribonukleinihapon tunnistaminen DNA parafiinipadatusta kudoksessa tai solunäytteessä   | DNA  |
| <b>Gomori Trikrom Green</b> | Kollageenisäikeet maksassa ja munuaisissa, esim. maksakirroosi   | Kollageeni ja pehmeät lihas-säikeet              |
| <b>Gomori Trikrom Blue</b>  | Kollageenisäikeet maksassa ja munuaisissa, esim. maksakirroosi   | Kollageeni ja pehmeät lihas-säikeet              |
| <b>Gram</b>                 | Gram-positiivisten ja gram-negatiivisten bakteerien tunnistaminen: <i>Clostridium botulinum</i> , <i>C. tetani</i> , <i>St. aureus</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Actinomyces israelii</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Nocardia asteroides</i> | Koko organismi                                   |
| <b>Gram Yellow</b>          | Tunnistaa gram-positiiviset ja gram-negatiiviset bakteerit   | Gram-positiiviset ja gram-negatiiviset bakteerit |
| <b>Orcein</b>               | Virusinkluusiokappaleet: hepatiitti A- ja B, Wilsonin tauti  | Elastiset säikeet                                |

|                              |   |   |
|------------------------------|---|---|
| <b>Acid Fast</b>             | Tunnistaa <i>Nocardioform actinomyces</i> - ryhmän bakteerit, kuten <i>Mycobacterium Spp</i> , <i>Rhodococcus equi</i> ja <i>Nocardia Spp</i> | Haponkestävä basilli  |
| <b>Acid Fast Light Green</b> | Tunnistaa <i>Nocardioform actinomyces</i> - ryhmän bakteerit, kuten <i>Mycobacterium Spp</i> , <i>Rhodococcus equi</i> ja <i>Nocardia Spp</i> | Värjäytyminen kuten Acid Fast-värjäyksessä, mutta tausta värjäytyy vaaleanvihreäksi |

## 4 ERIKOISVÄRJÄYSTEN VIRHELÄHTEET

Tehdessämme opinnäytetyötä Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa saimme tuntumaa siihen, kuinka paljon näytteiden värjäyksen intensiteetti sekä histologiset menetelmät pohjautuvat biokemiallisiin mekanismeihin. Näiden mekanismien inhibointi tai eksitointi vaikuttavat päätekijöinä histologisten näytteiden värjäytymiseen. Virhelähteiden inhibointi työstön kaikissa vaiheissa on olennaisin osa laadukasta työskentelyä. Virhelähteiden luonne on patologian analyttisen perustan vuoksi omalaatuinen ja siihen tulee kiinnittää sen vuoksi asianmukainen huomio.

Mittausepävarmuus onkin tuloksena mittaustulokseen liittyvä parametri, joka kuvaa mittaussuureen arvojen odotettua vaihtelua. Standardi ISO/IEC 17025 määrää, että laboratoriolle tulee olla riittävä tulosten tarkkuus sekä siihen liittyvän mittausepävarmuuden arviointi. Sen vuoksi laboratorion mittausepävarmuuden osatekijät tulee tunnistaa. Lisäksi tulee arvioida niiden merkitys. Patologian laboratorion mittaustulos on harvoin numeroarvona esitettävissä oleva suure. Sen sijaan tulos on yleensä histo- tai sytopatologinen diagnoosilausunto, joka sisältää diagnoosin ja lisäksi muita näytteeseen liittyviä hoidon kannalta oleellisia tietoja. Patologian diagnostiikka onkin luonteeltaan sellaista, että tarkkaa metrologisesti ja tilastollisesti pätevää epävarmuuslaskelmaa ei voida laatia. Toisaalta yritetään tunnistaa kaikki epävarmuustekijät ja järkevällä tavalla arvioida sekä varmistaa, että tulosten esitystapa ei anna virheellistä kuvaa menetelmään liittyvästä epävarmuudesta. Näytekohtaisen epävarmuusarvon määrittäminen ei yleensä ole mahdollista, koska eri näytteisiin ja diagnooseihin liittyvät virhemahdollisuudet vaihtelevat ja ovat usein riippuvaisia myös näytteen tutkijasta. Patologiassa mittausepävarmuuden ajatellaan olevan väärien diagnoosien ja ennalta määriteltyjen laatuvaatimusten kannalta puutteellisten lausuntojen osuus laboratorion kaikista annetuista diagnooseista. (Söderström M. 2015, 19.)

Työskenneltäessä erikoisvärjäysten kanssa on otettava huomioon monia näkökohtia. Erikoisvärjäysten käyttö vaatii epätavanomaisten värjäysten ja reagenssien käyttöä, joita on saatavissa vain muutamasta lähteestä. Tieto näistä lähteistä on välttämätön, jotta välttyttäisiin teknisiltä ongelmilta. On oltava tietoinen erikoisvärjäyksistä, jotka sisältävät värillisiä tai värittömiä epäpuhtauksia kuten suoloja, koska nämä ainesosat voivat vaikuttaa värjäytyvyyteen. Erikoisvärjäykset vaativat hyvän teorian tiedon tutkimuksen kohteena olevista soluista ja kudoksista. Lisäksi työskenneltäessä erikoisvärjäysten kanssa täytyy olla huolellinen, jotta näyte on otettu, fiksoitu ja valmisteltu oikein.

Oikein meneteltäessä tutkittava molekyyli säilyy kudoksessa tai solussa. Esimerkkinä voidaan mainita jääleikkeet, joista halutaan ilmiä entsyymejä. Tunnistettaessa lipidejä on vältettävä rasvaliuottimia, joita ovat muun muassa etanoli ja ksyleeni. Tutkittaessa erikoisvärjäysten toimivuutta ja arvioitaessa epäspesifisen värjäytymisen astetta tarkastetaan onko jokin reagenssi yhä aktiivinen tai määritetään standardi värjäysoperaation asteittaisen laskun vuoksi. Kontrollivalmisteita on työstettävä yhtä aikaa vertailukappaleina kokeellisten valmisteiden kanssa. Ilman kontrollia suoritettussa värjäyksessä negatiivinen reaktio saattaa tarkoittaa, ettei etsitty ainesosa ole läsnä ja reaktio on epäluotettava, koska se ei toimi. Nimettyjen negatiivisten tai positiivisten kontrollien tulisi olla jotain seuraavista: kudoksia, joilla on korkea molekyyliainesosapitoisuus, näytteitä tietyistä molekyylipreparaateista puhdistettuina, näytteitä samasta lähteestä, joista on entsyymi- tai liuotinesikäsitellyllä poistettu jokin ei toivottu ainesosa, näytteitä samasta kudokskohteesta värjäysoperaation vaatimien reagenssien ja toimenpiteiden kera, tai duplikaattinäytteitä samoilla toimintatavoilla ilman yhtä välttämätöntä toimenpidettä. Erikoisvärjäyksen määrä kudoksessa edustaa värjäystulosta, joka on saavutettu joko värjäyksen aikana tai värjäyksen jälkeisessä huuhtelussa. (Gill 2013, 232, 239-241.) Nämä ovat progressiivinen ja regressiivinen värjäysmenetelmä.

Progressiivinen värjäys tarkoittaa sitä, että leikkeen annetaan olla väriliuoksessa, kunnes sopiva värikylläisyys saavutetaan. Regressiivisessä värjäyksessä näytettä sen sijaan värjätään ensin reilummin, jonka jälkeen väri pestään pois. Pesua tehdään siihen saakka, kunnes haluttu värjäystaso saavutetaan. Regressiivinen värjäys on käytännössä selvästi helpompi. Regressiivisessä värjäyksessä käytetään yleensä happoa poistamaan emäksistä väriä ja päinvastoin. (Solunetti 2006, viitattu 21.4.2015.) Se on progressiivista menetelmää yleisempi värjäysmenetelmä.

Jotta voitaisiin varmistaa optimaalinen värjäyksen määrä, on käyttäjän hallittava materiaalit ja menetelmät, jotta edistetään tai estetään värin sisäänottoa värjäyksen aikana ja sen jälkeen. Esimerkkinä voidaan mainita värin konsentraatio, sopiva liuotin, suositellun pH:n kontrollointi, tarvittaessa suolojen lisäys, ionikonsentraation kontrollointi, aika ja lämpötila. Jotta säilytetään erikoisvärjäyksen oikea määrä ja värisävy, on värjätty näyte kiinnitettävä mediumissa, joka ei edistä valkaisua eikä huuhtoutumista. Että varmistuttaisiin värjätyn näytteen laadukkaasta mikroskopisesta näkymästä, on käytettävä oikeaa määrää kiinnitysmediumia, oikean paksuista peitinlasia sekä puhdasta mikroskooppia, jonka valaistus on säädetty Köhlerin metodin mukaan. (Gill 2013, 241.)

## 5 LAADUNTARKKAILU PATOLOGIAN LABORATORIOSSA

Yksi tärkeimmistä kriteereistä suorittamassamme projektissa oli laatu. Patologian laboratoriossa tehtävien näytteiden täytyy olla tasalaatuisia ja täyttää yleiset värjäyksille asetetut kriteerit. Kuten Sinervo kertoo Finaksen luennossaan, laboratorion hyvään laatuun vaikuttavat myös henkilökunnan osaaminen, hyvä johtamiskäytäntö ja toimiva laadunhallintajärjestelmä. Akkreditointistandardi ISO 15189 kuvaa, miten voidaan varmistaa toiminnan hyvä laatu ja tutkimustulosten oikeellisuus. Standardia voidaan käyttää kliinisissä laboratorioissa. (Sinervo. Finas, luento. 11.2.2011.)

### 5.1 Laadunvalvonta ja laadunhallinnalliset menetelmät

Laadunvalvonta on järjestelmä, joka tarkastaa ja ylläpitää haluttua laatutasoa yksittäisessä kohteessa tai prosessissa. Laadunvalvontatoiminta pitää sisällään kokeellisen prosessin näytteenotosta sinne saakka, että lääkäri saa raportin. Laadunvarmistuksen tarkoituksena on havaita, kontrolloida sekä estää virheitä niin, että klinikolla on asianmukainen kyky hoitaa potilastaan. Se onkin järjestelmällisten toimintojen kokonaisuus, jonka tavoitteena on saavuttaa tuotteen laatuvaatimukset. Tällaisella käytännöllä varmistutaan oikeasta diagnoosista ja lausunnon käyttökelpoisuudesta. (Labquality 2012, 47.) Eräs tärkeä tavoite on potilastulosten oikeellisuuden varmistaminen, jota tarkkaillaan ja hallitaan validoinneilla, menetelmän soveltuvuuden arvioinnilla, oikeiden tulosten ja toistettavuuden valvonnalla, huomioimalla virhelähteet, sisäisellä laadunohjauksella, käyntiänpäällä, näytteen prosessoinnilla, arvioimalla lausuntoja sekä ulkoisella laadunarvioinnilla tarkkailemalla tulosten vertailukelpoisuutta. (Sinervo. Finas, luento. 11.2.2011.) Kaikki laadunvalvontaprosessit kuvataan ja dokumentoidaan laboratorion laadunvarmistusohjelmassa. (American Society of Cytopathology 2015, viitattu 21.4.2015.)

Laaduntarkkailuun ja näytteiden laatuun panostetaan patologian laboratoriossa koko ajan enemmän. Laboratorioiden työntekijät saavat laatukoulutusta ja he osallistuvat laatutyöhön. Laaduntarkkailukierroksia järjestetään säännöllisesti sekä laatukäsikirjoja ylläpidetään ja päivitetään. Hoitajia koulutetaan tekemään sisäisiä auditointeja ja niihin valmistautuminen sekä palautteen kirjaaminen järjestelmiin kuuluvat heidän tehtäviinsä. Vuosittain tehtävät akkreditoinnit ovat osa heidän työtään. Kaikissa työpisteissä niiden toimivuudesta ja näytteiden laadusta vastaavat tuotantopäälliköt, solubiologit ja työpistevastaavat. (Aakko 2015, 1.)

Diagnostiikan laadunvarmistusmenetelmät patologiassa ovat tutkimusten uudelleenarvioinnit, kaksoisluennat, ongelmatapaus- ja konsensuskokoukset, löydösten vertailut, esitarkastajan ja patologioiden arvioiden vertailut sytologiassa, pikaleikkeiden ja parafiinileikkeiden tulosten vertailut sekä ulkopuoliset asiantuntijakonsultaatiot. Niitä käytetään niin laajasti, että varmistutaan oikeista tuloksista ja niiden luotettavuudesta. Patologian laatutunnus edellyttää näytteiden uudelleenarviointia ja ongelmanäytteiden kaksoisluentaa. Uudelleenarviointi toteutetaan halutulla menetelmällä. Kaikkien tutkimusnimikkeiden tulee kuitenkin kuulua uudelleenarvioinnin piiriin. (Labquality 2012, 49.) Kaksoisluennalla tarkoitetaan moniluennan vähimmäismuotoa ja se onkin useimmiten riittävä menetelmä näytteen tutkimisessa. Kaksoisluenta tehdään aina myös selvissä tapauksissa. Niin sanottu täydellinen kaksoisluenta edellyttää jokaisen näytteen kaksoislukua, kun taas rajattuun kaksoisluentaan kuuluu vain osa näytteistä. Kaksoisluennan piiriin kuuluvat sekä histologiset että sytologiset näytteet. (Labquality 2012, 50. )

## **5.2 Laadunvalvonta Oulun patologian laboratoriossa**

Oulun patologian laboratorion, eli PPSHP:n patologian laboratorion laadunvalvonnasta on päävastuussa ylilääkäri. Käytännön laadunvalvonnasta vastaa osaston ylilääkäri ja laadulliset vastuhenkilöt ovat solubiologi, sytologian työpistevastaava sekä immunohistologian työpistevastaava. Käytännön työssä lähtökohtaiset laadulliset ohjeet ovat avainasemassa laaduntarkkailussa. Niitä päivitetään uusien menetelmien myötä sekä määräajoin tutkimuksesta riippuen. Työpistekohtaiset ohjeet luovat laatulinjauksen ja siten jäljitetään laadulliset virhelähteet. Jos työntekijä on noudattanut menetelmäkohtaisia ohjeita virheen sattuessa, on kyse systeemivirheestä. Muutoin vastuu on työntekijällä itsellään. Menetelmä- ja virhepoikkeamia arkistoidaan ohjelmaseurannalla patologian laadunhallintaohjelmaan Qbatiin. Sinne tehdään ilmoitus virheellisistä tuloksista aina syystä riippumatta missä tahansa työstämisen vaiheessa esikäsittelystä analysointiin. Viime kädessä patologit huomaavat mahdollisia virheitä kudoksen rakenteessa ja värjäyksessä. Tällöin virheen lähde jäljitetään ja ilmoitetaan Qbatiin.

Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio tekee sisäistä laadunvalvontaa spesifisillä kontrollinäytteillä, joita työstetään ja värjätään muiden kliinisten näytteiden ohella tavalliseen tapaan. Tällä menetelmällä voidaan poissulkea esimerkiksi värjäyksestä, kuten väriaineista johtuvat virheet. Lisäksi koeajetaan positiivisia kontrollinäytteitä potilasnäytteiden mukana säännöllisesti, kuten bakteerinäytteissä esimerkiksi tuberkuloosinäytteet. Muita yleisiä positiivisen kontrollin me-

netelmällä tehtyjä koeajoja ovat Colloidal Iron ja Kongo- värjäykset. Labquality Oy järjestää Suomessa histologisen diagnostiikan, sytologisen diagnostiikan ja histotekniikan laaduntarkkailukierroksia. Samanlaisia palveluja voidaan ostaa myös ulkomailta muun muassa immunohistokemiasa NordiQC:lta. (Labquality 2012, 53.) Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio osallistuu Labqualityn laadunhallintakierroksiin immuno- ja histokemiallisten näytteiden analysoinnilla kaksi kertaa vuodessa ja saman taajuuden laadunhallintakierrokset ovat myös toisen yhteistyökumppanin NordiQC:n piirissä.

## 6 MANUAALISET JA AUTOMATISOIDUT ERIKOISVÄRJÄYSPROTOKOLLAT

Automaatio on helpottanut laboratoriohenkilökunnan työtä ja johtanut yhä luotettavampiin tuloksiin. Lopputuloksena ovat olleet korkeampi tuottavuus, paremmin koulutettu ja organisoidumpi työvoima ja parantuneet potilaspalvelut. Monia tekijöitä täytyy ottaa huomioon, kun toteutetaan uutta teknologiaa, metodologiaa tai tehdään menetelmän vaihto, joka voi vaikuttaa perinteisiin prosesseihin. Joka tapauksessa vaikuttavalla muutosjohtamisella on suuri vaikutus meneillään olevien prosessien epäonnistumiseen tai onnistumiseen, kuten myös mahdollisten ei-toivottujen sivuvaikutusten laajuuteen. Nykypäivän laboratoriot kokevat valtavaa painetta parantaa palveluita ja alentaa kustannuksia tuottavuuden parannusten kera. Monet suuntaavat automaatioon saavuttaakseen nämä päämäärät. (Ajeneye 2014, 92.)

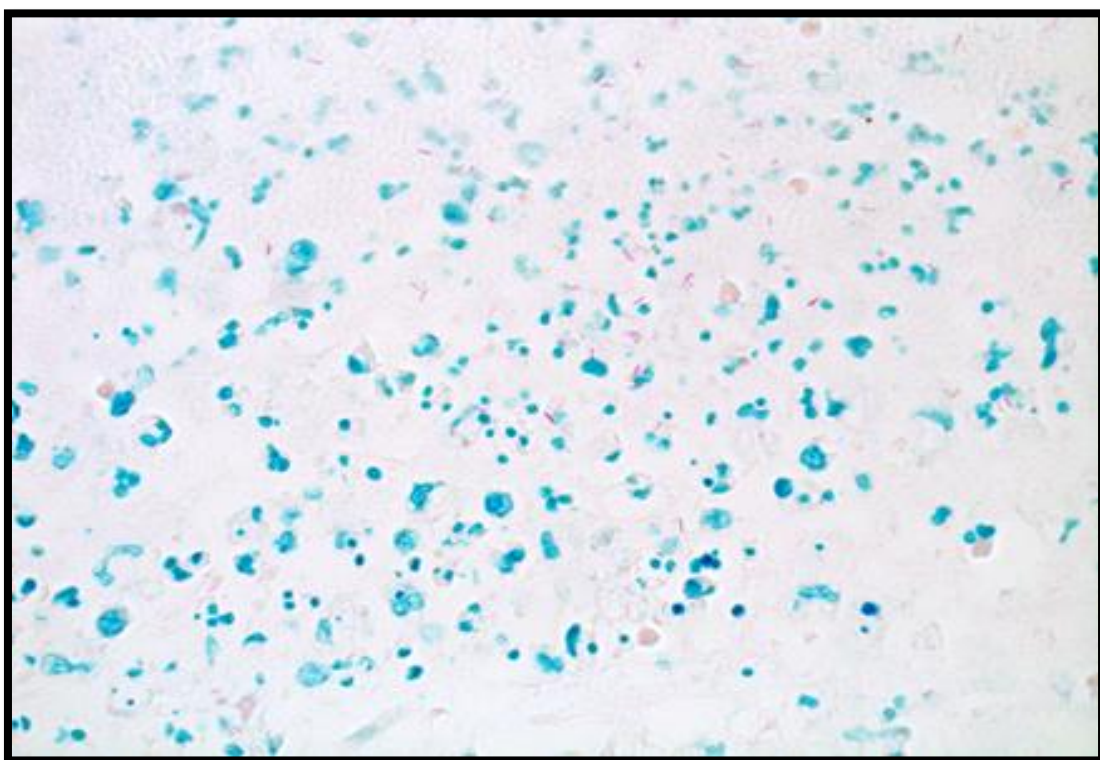
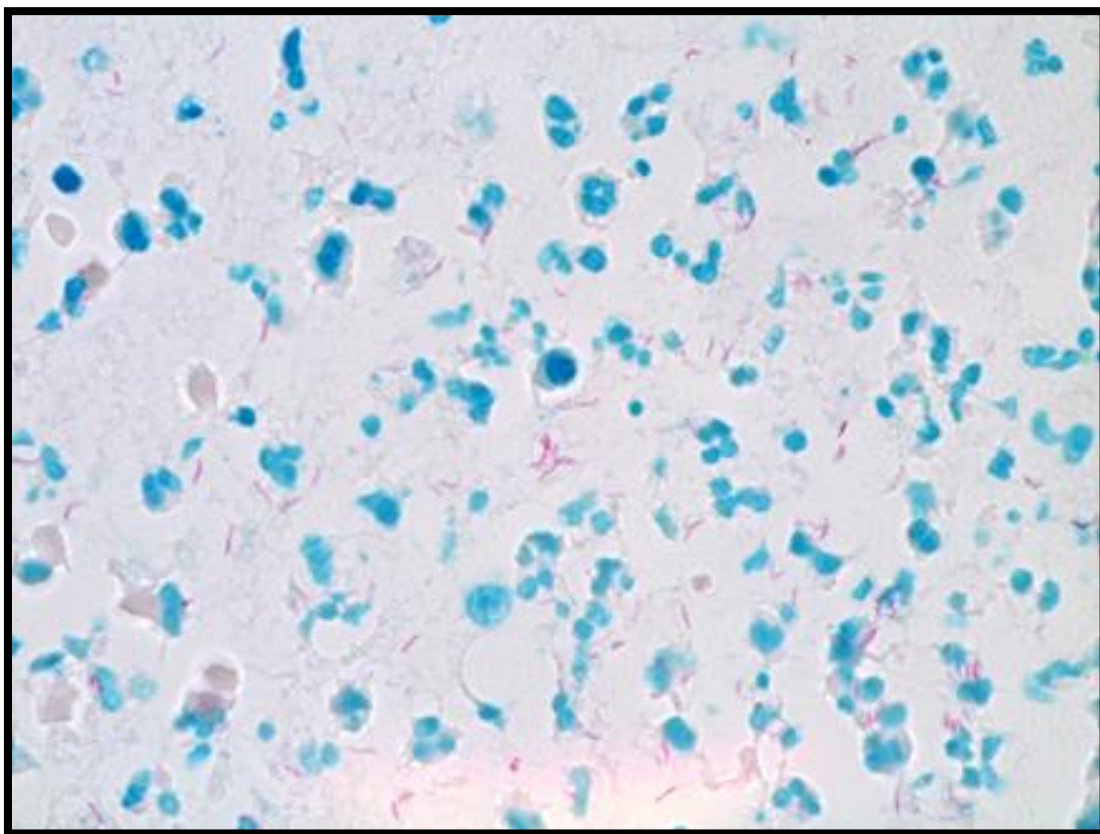
Riippuen laboratorion taloudellisesta tilanteesta, näytetyypin ja käytettävissä olevan henkilökunnan koosta, erikoisvärjäysprotokollat suoritetaan joko manuaalisesti tai käyttäen automatisoituja systeemejä. Manuaalinen värjäys toimii hyvin tutkimuksellisissa asetelmissa ja usein erityisesti silloin, kun prosessoitavia laseja on muutamia päivässä. Joka tapauksessa värjättävien näytelasioiden määrän noustessa manuaalinen metodi tulee virhealttiiksi johtaen vähentyneeseen joustavuuteen ja tuottavuuteen. Lääketieteellisen yhteisön vaatiessa nopeampia suoritusajkoja, lisääntyvää joustavuutta ja tuottavuutta, kuten myös suurempaa standardisaatiota, ovat automaattiset instrumentit ja laitteet korvanneet jotain manuaalisia värjäysmetodeja tullen olennaiseksi osaksi laboratoriota. (Kumar ym. 2010, 5.)

Projektissa käytämme manuaalisten ja automatisoitujen värjäysprotokollien luonteen vuoksi useita näytteitä jokaisessa värjäysajossa, minkä on tarkoitus optimoida niiden vertailukelpoisuutta.

## 7 HISTOLOGISTEN VÄRJÄYSTEN LAATU JA KUSTANNUSTEHOKKUUS

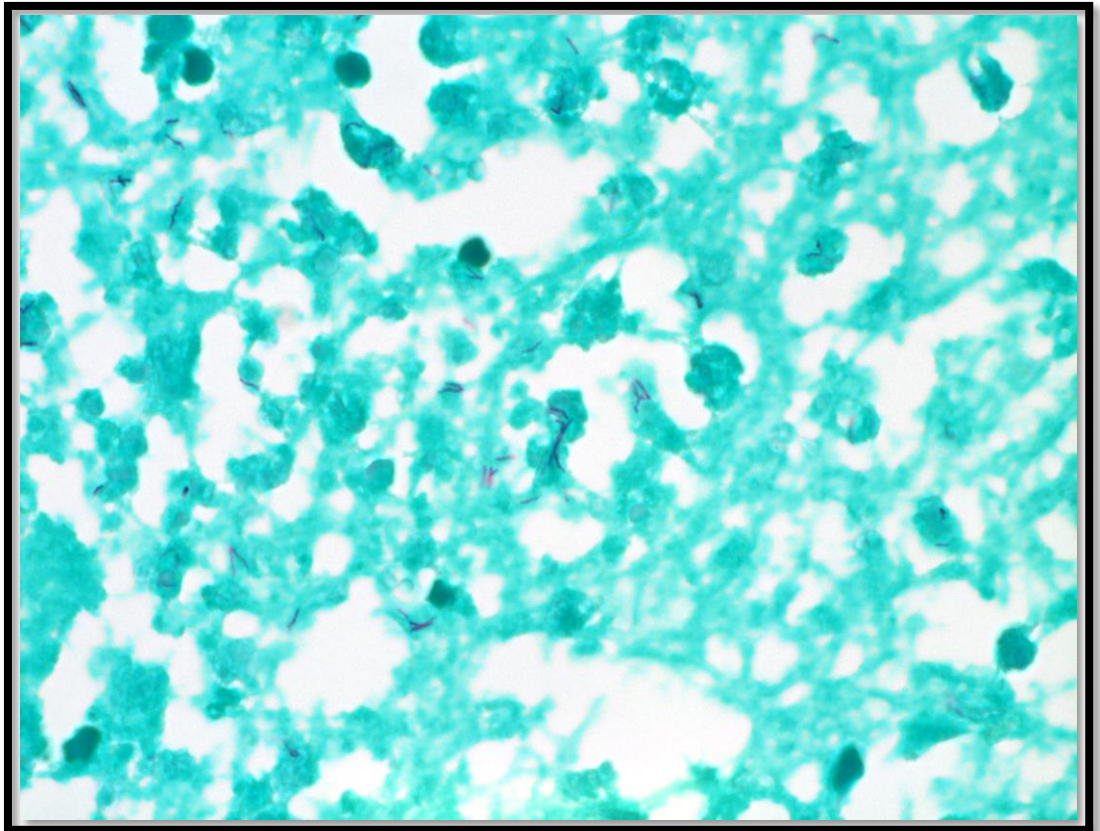
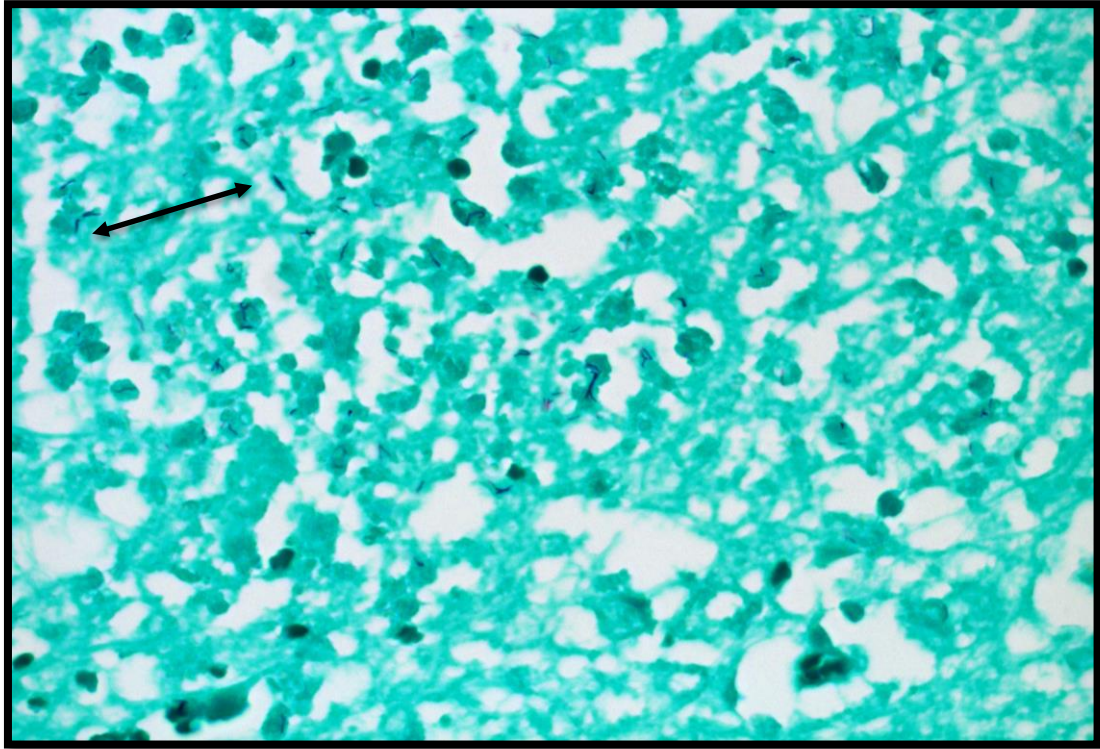
*Acid Fast Bacteria.* Acid Fast Bacteria- värjäysmenetelmän spesifinen biokemiallinen periaate on, että karbolifuksiinilla värjätään kaikki kudoksen osat mukaan lukien tuberkuloosibasillit. Tämän jälkeen muista kudoksen osista poistetaan väri happoalkoholilla. Koska tuberkuloosibasilleissa ja muissa haponkestävissä basilleissa on lipidikapseli, ne säilyttävät karbolifuksiinin värin. Spesifisenä virhelähteenä tässä värjäyksessä voi olla se, ettei näytettä ole diffattu tarpeeksi ja punaista väriä jää kudoksiin. Toinen mahdollinen virhelähde voi olla se, ettei karbolifuksiinia ole suodatettu, minkä vuoksi siitä jää leikkeisiin sakkaa. Taustavärjäyksen tulee olla vaaleanpinkki tai vaaleansininen, jotta harvalukuisetkin basillit erottuisivat paremmin. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastuualueen laatukäsikirja.)

Acid Fast Bacteria- värjäyksessämme kudokset oli Ziehl-Neelsen-kontrollinäyte. Kyseessä on tällöin keuhkohistologinen positiivinen tuberkuloosinäyte. Värjäyksen lopputulosta mikroskopisesti tarkasteltaessa taustaelementit ovat hailakan vaaleansinisiä, ja tämä vastaakin odotettua lopputulosta. Myös bakteerit erottuvat hyvin muista kudoksen komponenteista punertavalla värillään. Tuberkuloosibakteerien punaisuuden olisi suotavaa olla väkevämpi ja siten hieman paremmin erotettavissa. Kuvissa on nuolella osoitettuna keuhkokudokseen pesiytyneitä *Mycobacterium tuberculosis*- bakteereja. Värjäys Artisan- värjäysautomaatilla on kaiken kaikkiaan hyvin onnistunut.



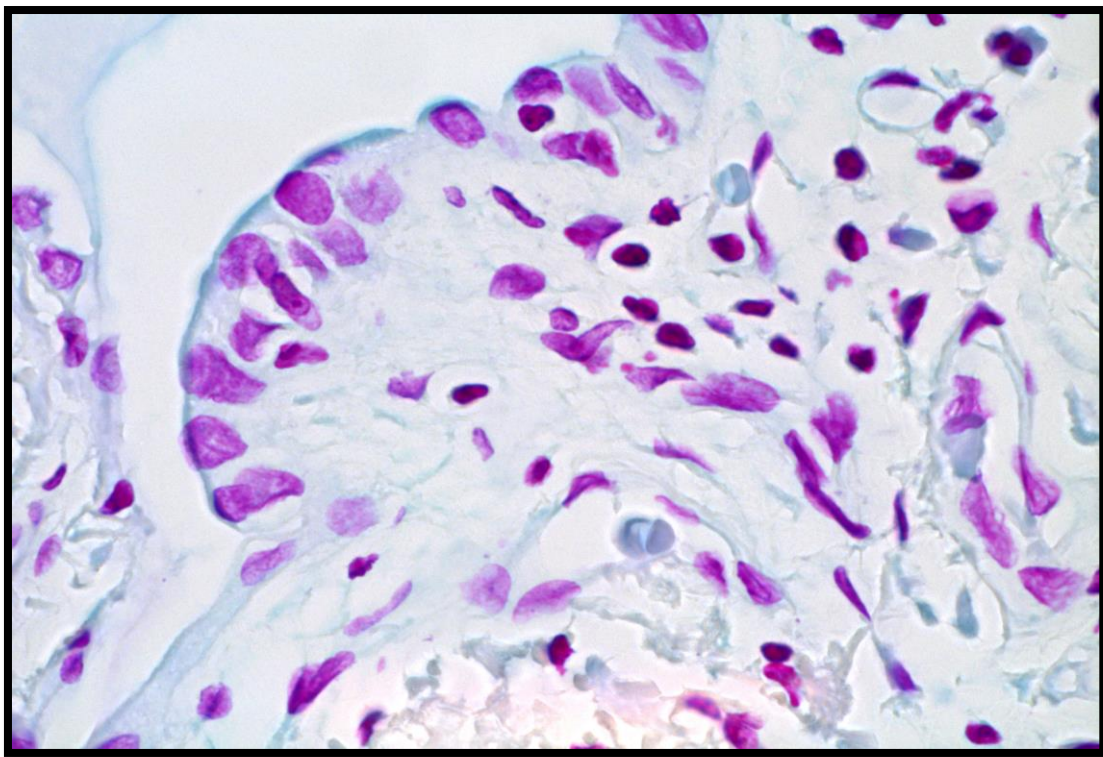
*Kuvio 1 ja 2. Acid Fast Bacteria- värjäys. Bakteerit erottuvat hyvin muista kudoksen komponenteista punertavalla värillään.*

*Acid Fast Bacteria Green.* Acid Fast Bacteria Green- värjäys on tavallisen Acid Fast Bacteria-värjäyksen alalaji. Kudosnäytteenä värjäyksessämme oli aivokudosta. Tässäkin värjäyksessä tarkoituksena on erottaa haponkestäviä bakteereja kudisleikkeessä. Mikroskooppisesti kudisleikettä tarkasteltaessa tausta on hyvin kirkkaanvihreä, minkä vuoksi se korostaa selkeämmin punaiseksi värjäytyneitä tuberkuloosibakteereja vihreän ollessa punaisen vastaväri väriopillisesti. Sen vuoksi kudoksen eri komponentit erottuvat hyvin toisistaan. Kliinikon mielipidekysymykseksi jää, miten on helpompi tunnistaa komponentteja värin puolesta, eli toisin sanoen kontrasti voisi joskus olla eri kudusrakenteiden välillä vieläkin suurempi. Lopputuloksellisesti värjäys Artisan-värjäysautomaatilla on kliinisesti todella hyvin onnistunut.

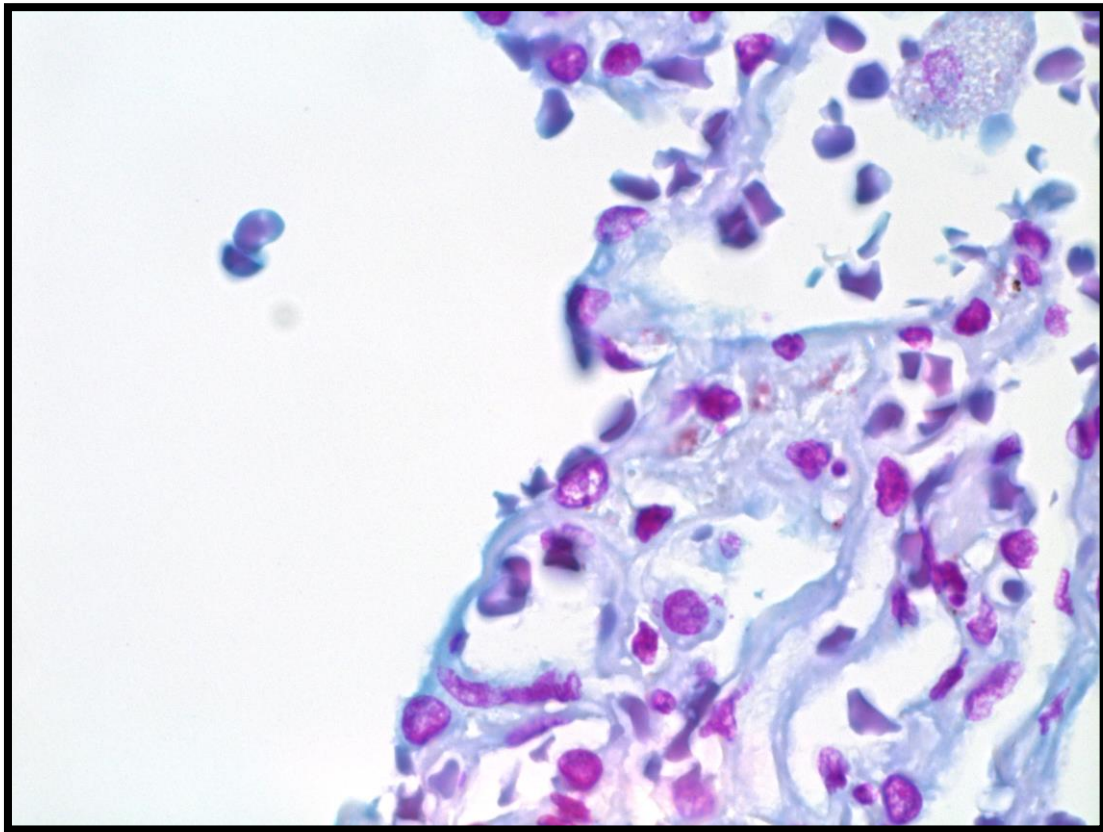


Kuvio 3 ja 4 Acid Fast Bacteria Light Green. Kuvissa on nuolella osoitettuna *Mycobacterium tuberculosis*- bakteereja.

*Feulgen*. Feulgen- värjäysmenetelmän spesifisenä biokemiallisena periaatteena on deoksiribosin osoittaminen nukleinihappomolekyyleistä. Happohydrolyysi rikkoo puriindeoksiriboosisidoksen, jolloin muodostuu reaktiokykyisiä aldehydejä. Aldehydit osoitetaan Schiffin reagenssilla. Riboosipuriinisidos jää pääosin ehyeksi. Riboosi ei sisällä deoksiryhmää eikä se näin ollen reagoi Schiffin reagenssin kanssa, vaikka hydrolyysia jonkin verran tapahtuisikin. Spesifisiä virhelähteitä voi luoda se seikka, että hydrolysointiaika on tarkka. Reaktion intensiteetti voimistuu, kun optimi-hydrolyysiaikaa lähestytään. Kun optimaika ylitetään, reaktio heikentyy, ja jos hydrolyysia jatketaan, reaktio häviää täydellisesti. HCl tulee esilämmittää, jotta edellämainitut hydrolyysiajat pitävät paikkansa. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastuualueen laatukäsikirja.)



*Kuvio 5 Feulgen- värjäys. Kudosleike on keuhkosityöpöpotilaan levyepiteelikarsinomanäyte, jossa on havaittavissa keuhkosityöpään viittaavia muutoksia.*

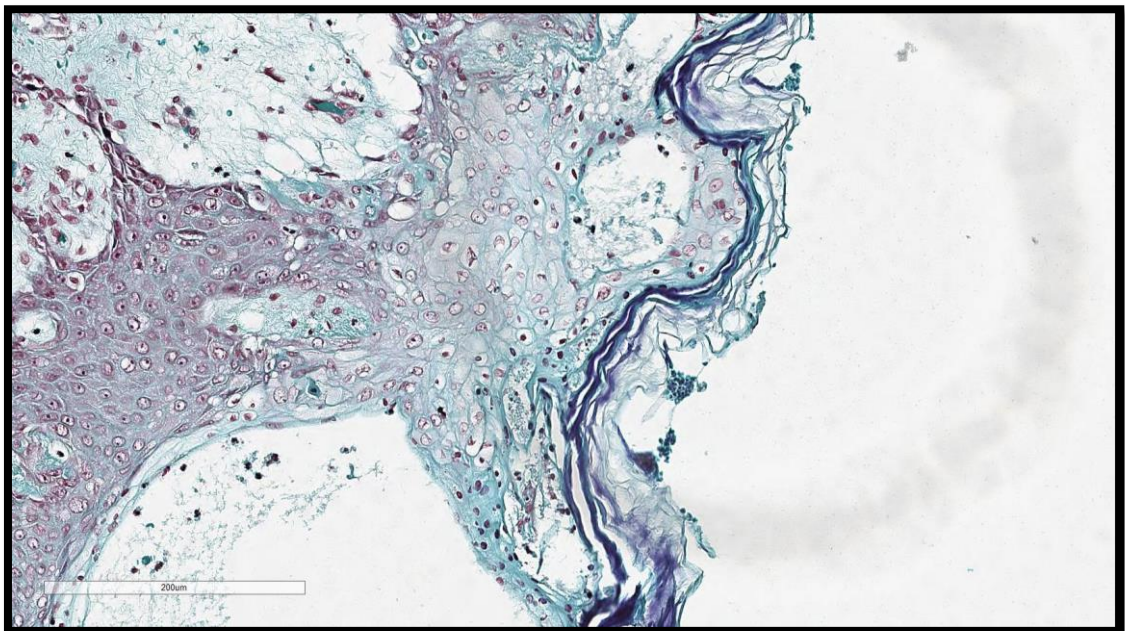
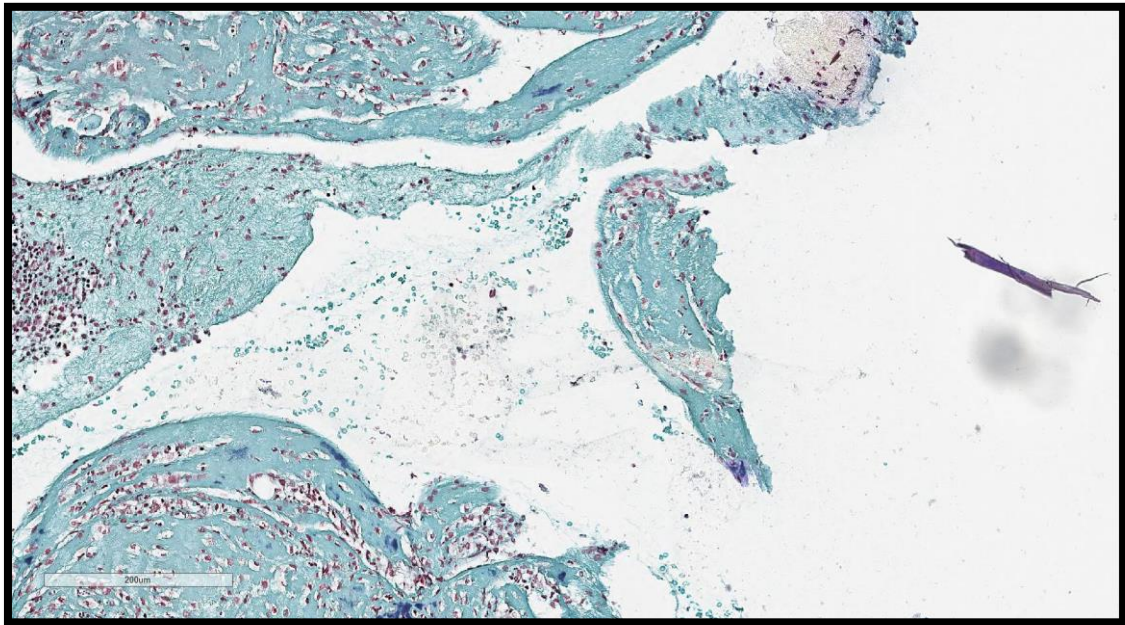


Kuvio 6 Feulgen- värjäys.

Feulgen- värjäyksessämme kudisleikkeenä oli keuhkokudosta. Kudisleike on keuhkocyöpäpotilaan levyepiteelikarsinoomanäyte, jossa on havaittavissa keuhkocyöpään viittaavia muutoksia. Tällainen kudos ilmentää usein kookkaita tumia. Kookkaat tumat erottuvatkin taustasta hyvin. Värjäys on vähän käytetty. Sitä käytettiin tässä kokeellisessa värjäyksessämme toisen yleisen indikaation eli kromosomaalisen materiaalin, DNA:n tunnistamiseen. Värjäys on onnistunut Artisan- värjäysautomaatilla hyvin.

*Gram.* Gram- värjäysmenetelmän biokemiallisena periaatteena on monivaiheinen värjäys, jossa kaikki bakteerit värjäytyvät ensin kristallivioletilla sinivioleteiksi. Huuhtelun aikana gram-negatiivisista bakteereista huuhtoutuu kristallivioletti pois, mutta gram-positiiviset bakteerit säilyttävät sinivioletin värin. Virhelähteitä päinvastaisiin värjäystuloksiin on useita. Jos gram-positiivinen bakteeri värjäytyy gram-negatiiviseksi, voi syynä olla liian ohut valmiste, bakteerin stationaarinen kasvuvaihe, näytteen alhainen pH, antibiootit potilaan kehossa, bakteerien vaurioituminen esimerkiksi liiallisesta hankaamisesta näytelasille tai bakteerien kuoleminen. Värjäyksessä tätä voi aiheuttaa liian kuumassa tehty kiinnitys objektilasille, liian pitkät vesipesut, vanhentunut jodiliuos, veden läsnäolo värinpoistoliuoksessa, liian pitkä vastavärjäys tai nouseva etanoli-

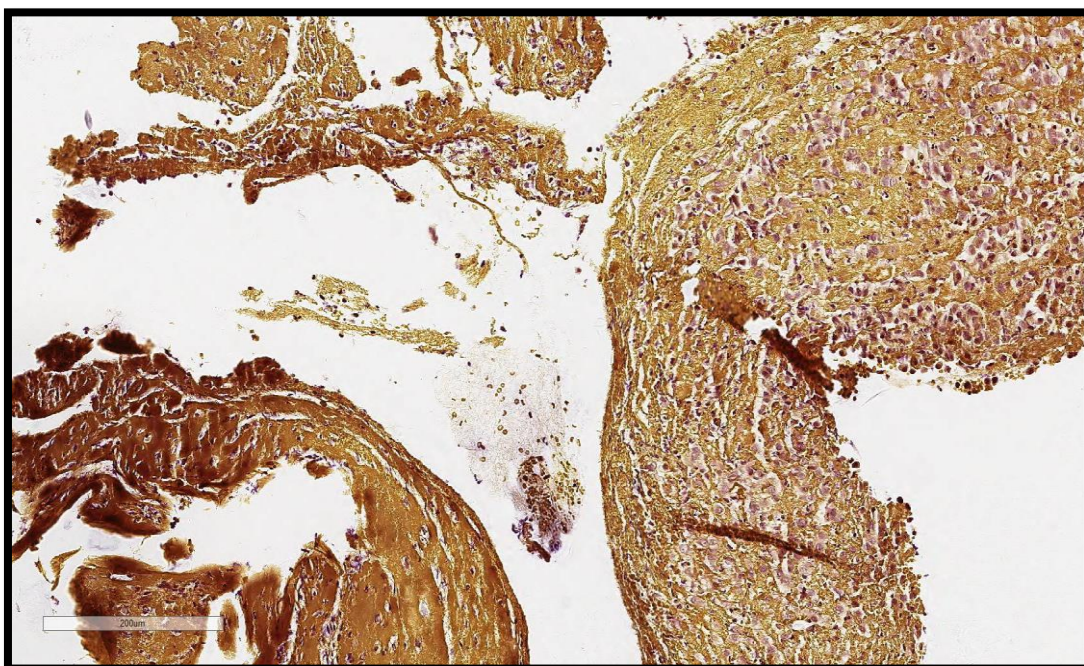
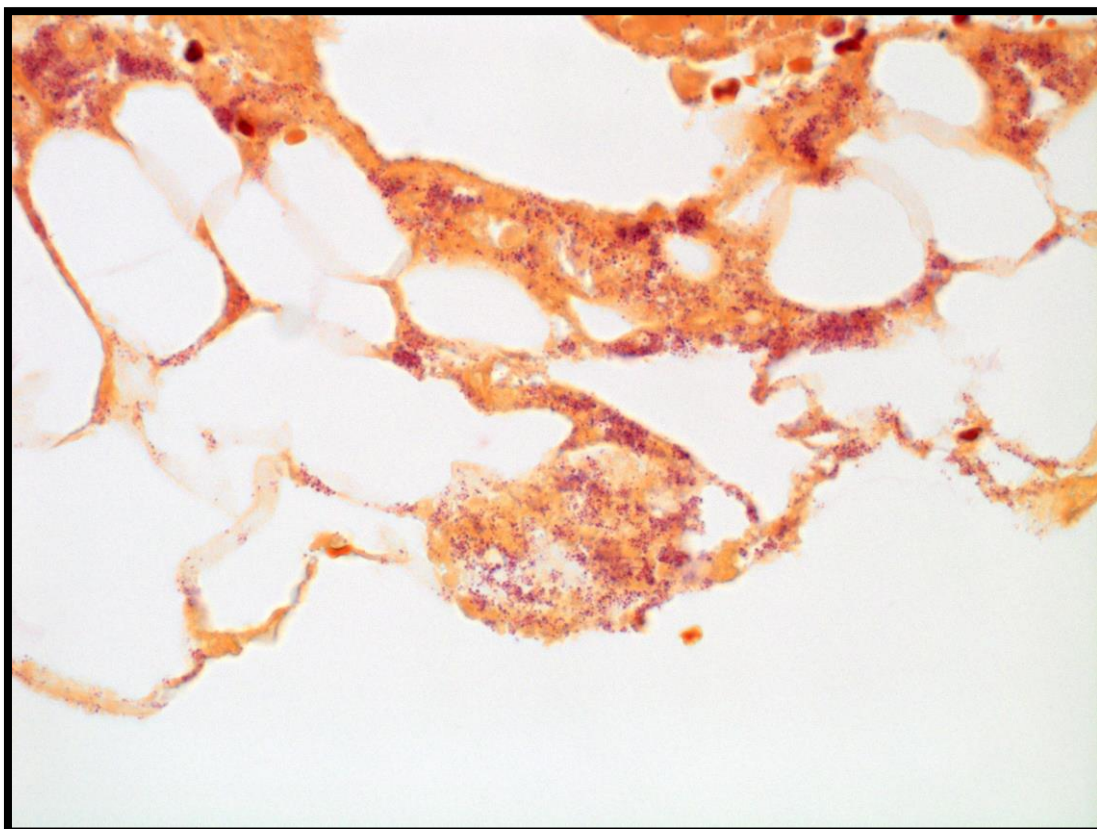
sarja ja ksyleenit. Jos taas gram-negatiivinen bakteeri värjäytyy gram-positiiviseksi, voi virhelähteitä tuottavana tekijänä olla liian paksun valmisteen luominen tai käytetyn detergentin huonontuneet ominaisuudet. Värjäyksessä virhelähteitä gram-negatiivisen bakteerin gram-positiiviseen värjäystulokseen voivat olla liian kuiva objektilasi ennen värinpoistoa, sekä kristallivioletti- tai jodi-kontaminaatio värinpoistossa. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastualueen laatukäsikirja.)



*Kuvio 7 ja 8 Gram- värjäys. Kudosleikkeenä oli epiteelikutosta, jossa on havaittavissa autolyysiä.*

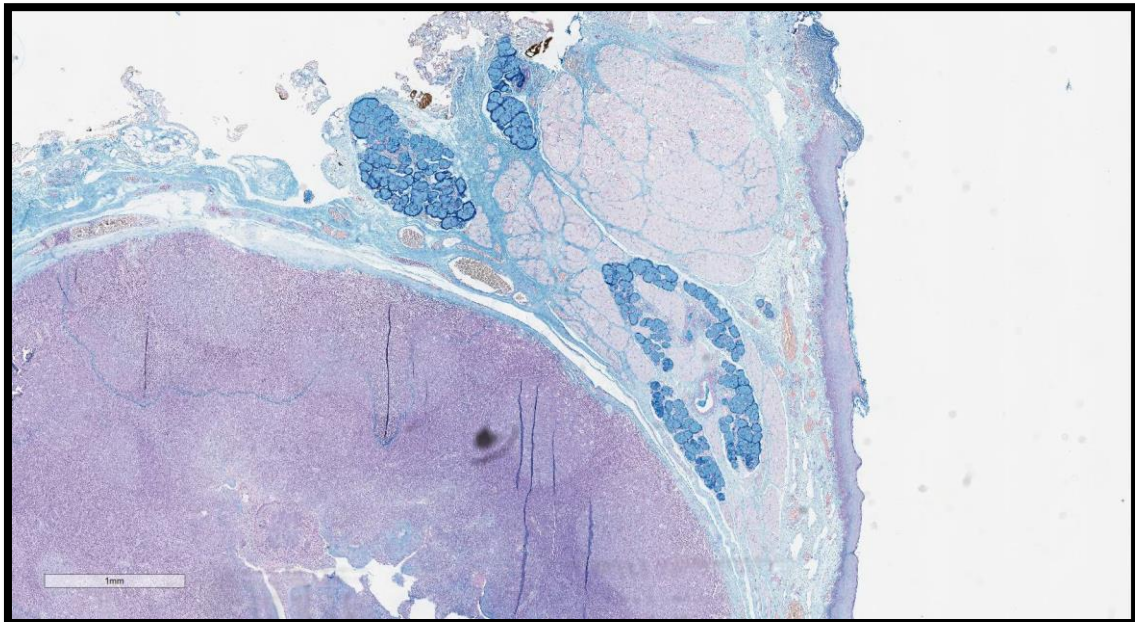
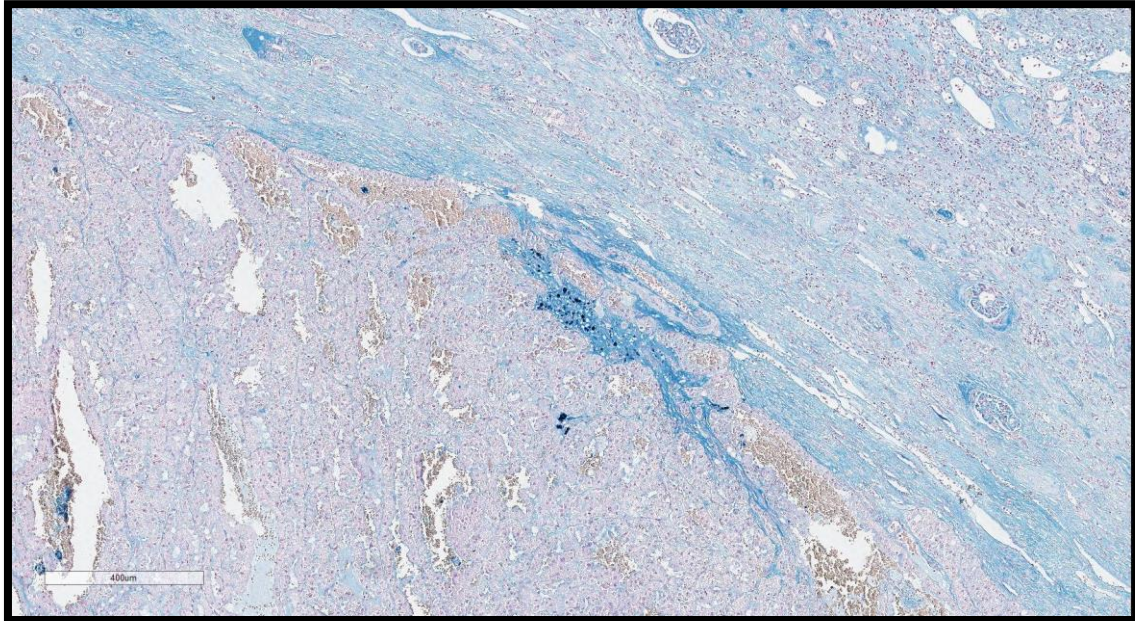
Gram- värjäyksessämme kudisleikkeenä oli epiteelikudosta, jossa on haavan pinnan eritettä. Kudos ei ole kuitenkaan hyvin säilynyttä ja siinä on havaittavissa autolyysiä. Gram- värjäykset ovat yleisesti vaikeita tulkittavia ja ne ovatkin yleensä mikrobiologin arvioitavissa. Tässä leikkeessä on havaittavissa läiskäisyyttä sytoplasmassa, mikä voi kertoa parafiiniin liittyvistä ongelmista. Gram-negatiivisia diplokokkeja on havaittavissa vain harvalukuisesti. Granuloosi-ilmiotä on myöskin sinisen värin keskittymisenä epidermiksessä. Oheinen kuva on yleiskuva Artisan- värjäysautomaatin tuottamasta epävarmasta värjäystuloksesta.

*Gram Yellow.* Gram Yellow- värjäyksessä spesifinen menetelmä ja biokemia ovat keltaista taustaväriä lukuunottamatta samat kuin perinteisessä Gram- värjäyksessä. Kudisleikkeenä värjäyksessämme oli epiteelikudosta, jossa on haavan pinnan eritettä. Leikkeessä on havaittavissa magentan sävyllä värjäytyneitä gram-negatiivisia kokkibakteereja. Artisan- värjäysautomaatin tuottama tulos on optimaalinen.



*Kuvio 9 ja 10 Gram Yellow- värjäys. Tässäkin värjäyksessä kudoksenleikkienä oli epiteelikutosta.*

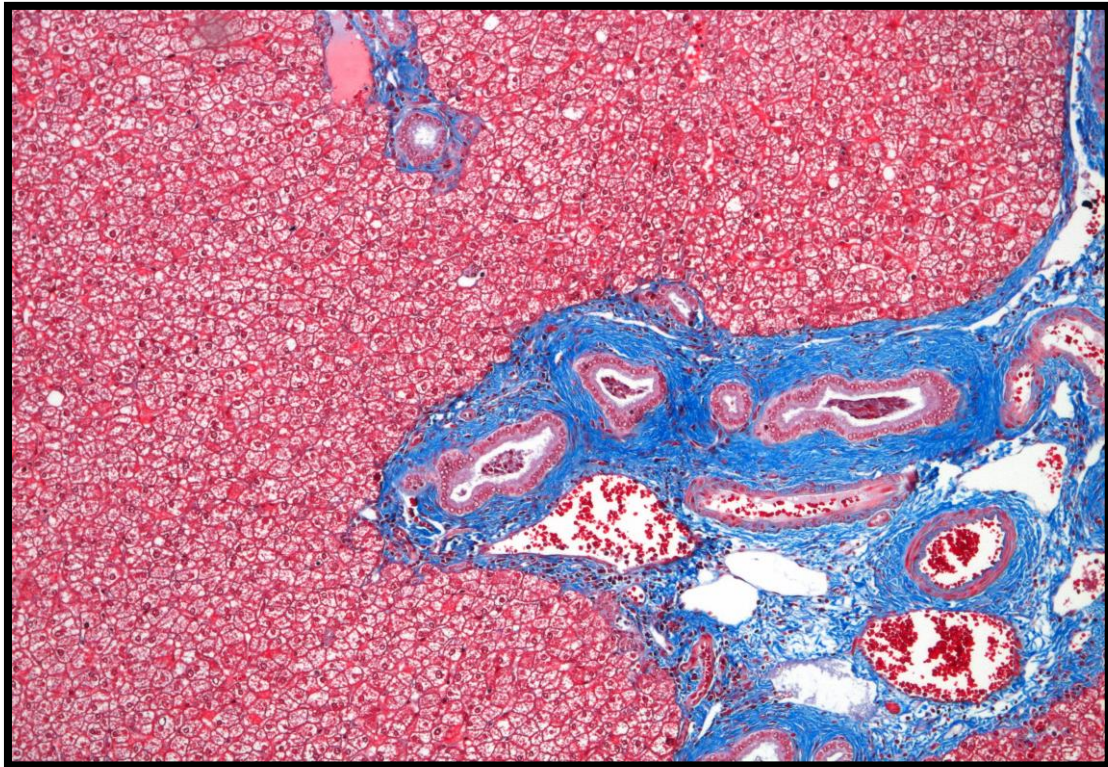
*Colloidal Iron*. Colloidal Iron- värjäysmenetelmän biokemiallisena periaatteena on se, että rautaionit Fe II ja Fe III sitoutuvat selektiivisesti kudoksen amino- ja guanidyyliryhmiin. Menetelmä on epäspesifinen, mutta muun muassa kromofobinen munuaissolukarsinoma värjäytyy positiivisesti. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastualueen laatukäsikirja.) Spesifisiä virhelähteitä ei ole luokiteltu, eli systeemivirhe on päälinjaisesti mahdollinen virhelähteiden tuottaja. Colloidal Iron- värjäyksessämme kudოსleikkeenä oli onkosytoomaleike, ja toisena kudოსleikkeenä tonsillakontrolli. Näissä kudoksissa värjäytyminen on hieman liian voimakasta. Lima-aines on värjäytynyt tummansiniseksi ja tumat sekä solulima vaaleanpunaiseksi. Artisan- värjäysautomaatin tuottamana lopputuloksena on kudoksen ylivärjäytyminen, vaikka muuten värjäystulos onkin suhteellisen spesifinen.



*Kuvio 11 ja 12 Colloidal Iron- värjäys. Kudosleikkeenä oli onkosytoomaleike, ja toisena kudosleikkeenä tonsillakontrolli.*

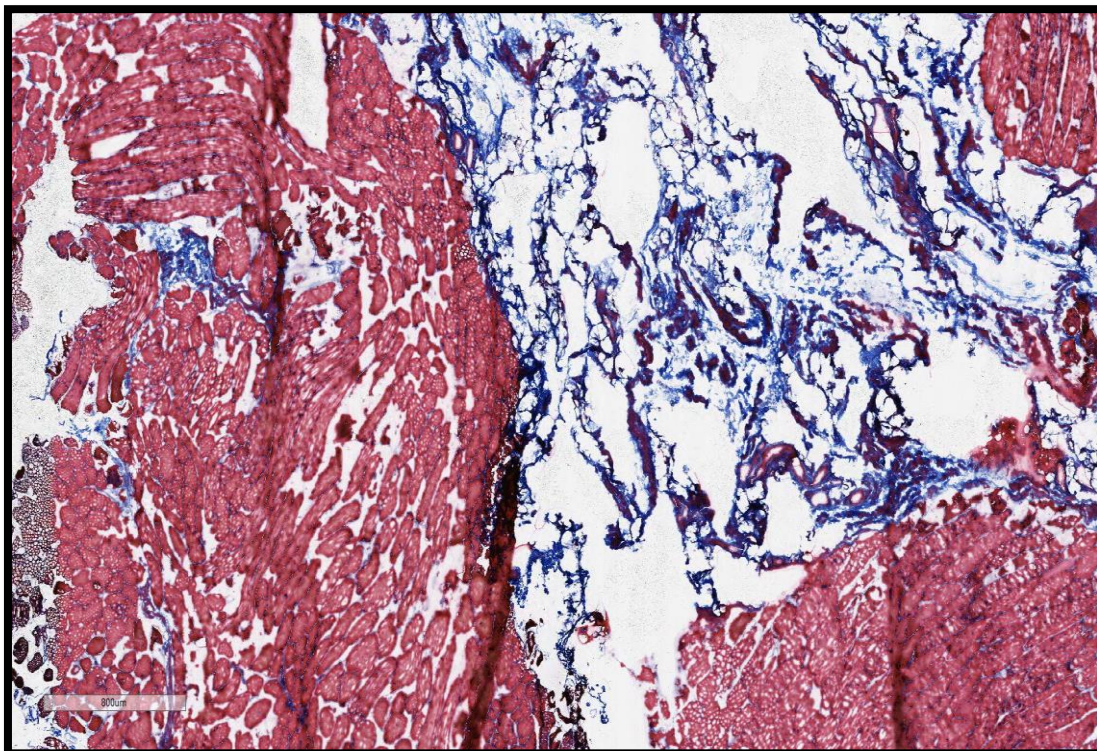
*Masson Trikrom.* Masson Trikrom- värjäysmenetelmän biokemiallisena periaatteena on, että Weigertin hematoksyliinillä värjätään tumat. Lihaksen sekä fibriinin ja väri poistetaan löyhästä sidekudoksesta differentoimalla fosfomolybdeenihappo-oranssilla. Yleensä sidekudoksen haalistamiseen riittää muutama minuutti. Sarveiskalvot vaativat 15 minuutin differentaation. Haalistamisen jälkeen sidekudos vastavärjätään vaaleanvihreäksi. Yleisimmin virhelähteisiin voi johtaa se, jos Masson-Azophlozin- liuosta ei ole valmistettu jokaista värjäystä varten uudelleen. (PPSHP

2015. OYS. Patologian vastuualueen laatukäsikirja.) Värjäyksessämme histologisena kudosleikkeenä oli maksa- ja maksakirroosikudosta. Mikroskooppisesti on havaittavissa, että sytoplasma on punertava ja sidekudos sininen, kuten niiden kuuluukin olla. Tumat ovat värjäytyneet sinimustaksi. Punasolut ovat erittäin punaisia, ja nekin erottuvat muista kudoksen osista hyvin. Kaikki kudoksen eri komponentit ovat helposti havaittavissa tässä leikkeessä. Artisan- värjäysautomaatti on tuottanut suhteellisen optimaalisen tuloksen myös tässä värjäyksessä.



*Kuvio 13 Masson Trikrom- värjäys. Kudosleikkeenä oli maksa- ja maksakirroosikudosta.*

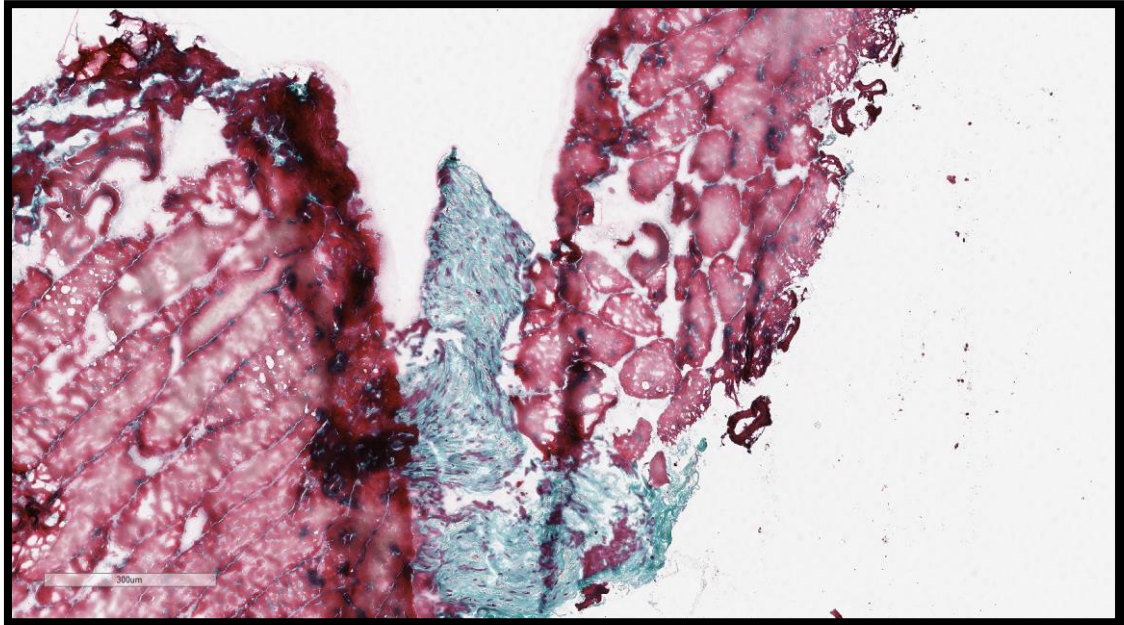
*Gomor Trikrom Blue ja Green.* Molempien erikoisvärjäysten värjäysmenetelmän periaate pohjautuu Gomor- väriliuoksen modifikaatioihin ja sen yhteiskäyttöön Colen hematoksyliinin kanssa. Virhelähteitä voi luoda esimerkiksi se, että Gomor- väriliuoksen teho heikkenee sen viikon käyttöiän mukana. Tämä tulee ottaa huomioon värjäysajassa. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastuualueen laatukäsikirja.)



*Kuvio 14 Gomori Trikrom Blue- värjäys, jossa kudoksenleikkänä oli lihasjääleike.*

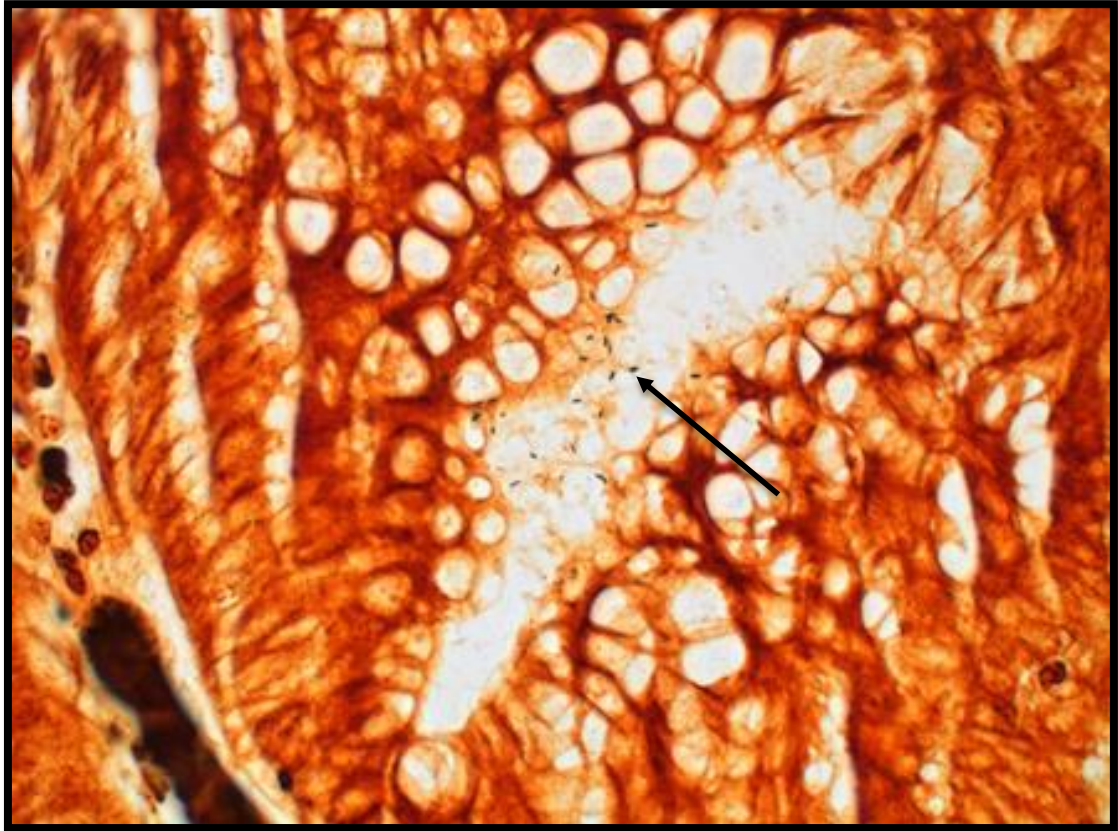
Gomori Trikrom Blue- värjäyksessämme kudoksenleikkänä oli lihasjääleike. Sidekudos on värjäytynyt siniseksi, lihassytt ja niiden sytoplasma punaisiksi. Rakenteellisia artefakteja on havaittavissa lihassyissä, joita ei saisi olla näytteessä. Tällaisia artefakteja voi kuitenkin tulla kudokseen työkenneltäessä nopeita tuloksia vaativien jääleikkeiden kanssa. Artisan- värjäysautomaatilla lopputulos on kuitenkin hyvä.

*Gomori Trikrom Green- värjäyksessämme kudoksenleikkänä oli lihasjääleike. Sidekudos ja tumat ovat värjäytyneet vihreäksi. Lihassytt sekä sytoplasma ovat värjäytyneet punaiseksi kuten Gomori Blue- värjäyksessä. Tässäkin kudoksessa on havaittavissa rakenteellisia artefakteja. Artisan- värjäysautomaatti on tuottanut kuitenkin suhteellisen onnistuneen lopputuloksen.*

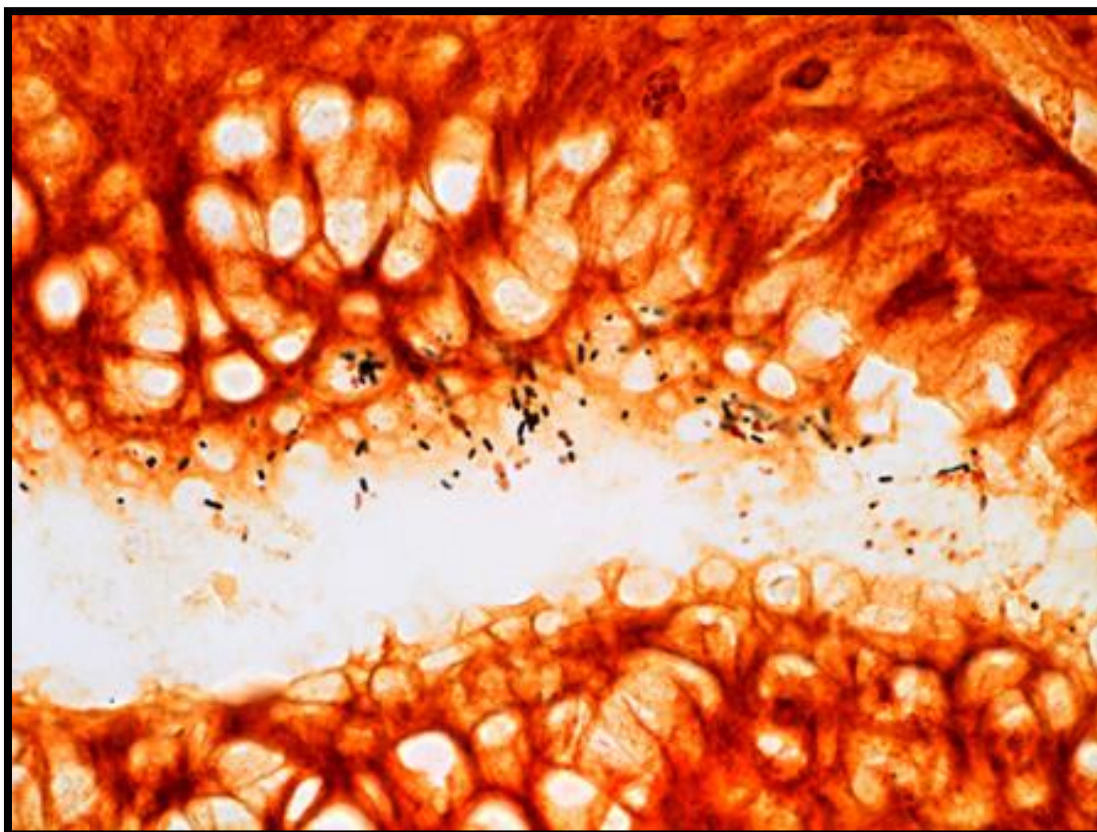


*Kuvio 15 Gomori Trichrom Green- värjäys, jossa kudosteikkeenä oli lihasjäälleike.*

*Warthin-Starry.* Warthin-Starry- värjäysmenetelmän biokemiallisena spesifisenä periaatteena on hopeaimpregnaatio ja argyrofiilinen menetelmä. Virhelähteenä voi olla esimerkiksi ylikehittäminen, jonka jälkeen leikkeet ovat liian ruskeita ja spirokeetat eivät erotu taustasta. Alikehittyneissä näytteissä spirokeetat eivät värjäydy selkeään tummiksi. Jos hopeaa on tarttunut leikkeeseen epäspesifisesti, sitä voi yrittää poistaa kastelemalla lasia 1%:ssa kaliumferrosyanidin vesiliuoksessa. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastualueen laatukäsikirja.)



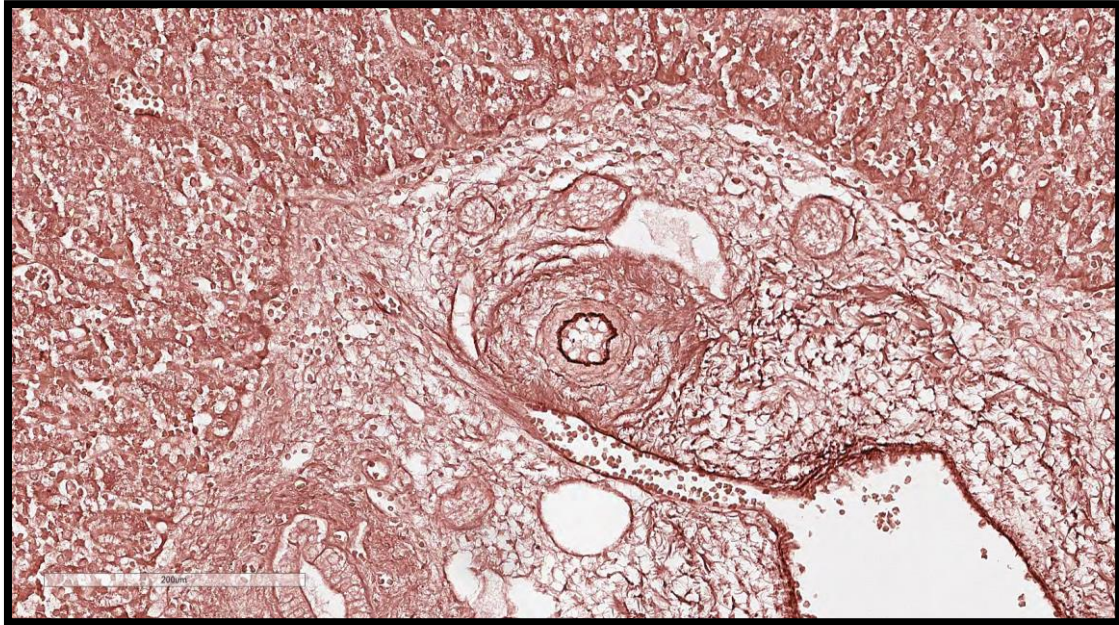
*Kuvio 16 Warthin-Starry- värjäys, jossa kudosleikkeenä oli gastrointestinaalista epiteelikudosta. Kuviossa on nuolella osoitettuna helikobakteereja.*



*Kuvio 17 Warthin-Starry- värjäys. Suoliston kryptoissa sekä villusten väleissä on nähtävissä sensitiivisesti sekä hyvin spesifisesti värjäytynyttä bakteerikasvustoa.*

Warthin-Starry- värjäyksessämme kudosleikkeenä oli gastrointestinaalista epiteelikudosta. Mikro- villus sitoo jonkin verran spesifistä väriainetta. Suoliston kryptoissa sekä villusten väleissä on kuitenkin nähtävissä sensitiivisesti sekä hyvin spesifisesti värjäytynyttä bakteerikasvustoa. *Helicobacter pylori*- bakteerit erottuvat hyvin muusta taustasta, mikä onkin tässä värjäyksessä olennaisinta. Artisan- värjäysautomaatti ei tuottanut pettymystä tässä värjäyksessä.

*Orcein*. Orcein- värjäysmenetelmän periaatteena on se, että värin avulla voidaan osoittaa soluis- sa oleva hepatiitti B-viruksen kuoriosa. Orseiini on aluperin kasveista valmistettu väriaine, joka tosin nykyisin valmistetaan synteettisesti. (PPSHP 2015. OYS. Patologian vastuualueen laatukä- sikirja.) Kudosleikkeenä värjäyksessämme oli maksan kuparikontrolli. Kudoksessa ei ole havait- tavissa hepatiittiviruksen antigeenia, mutta kuvassa olevan isomman verisuonen seinämässä näkyy tummaksi värjäytyneitä elastiinisäikeitä. Elastiinisäikeissä on kuparia, mikä aiheuttaa puna- ruskeaa värjäytymistä. Taustaväri on punainen, tosin värjäytyminen taustassa olisi voinut olla hieman vaaleampi. Muilta osin värjäys on Artisan- värjäysautomaatilla hyvin onnistunut.



*Kuvio 18 Orcein- värjäys. Kudosleikkeenä värjäyksessämme oli maksan kuparikontrolli. Kuvassa olevan isomman verisuonen seinämässä näkyy tummaksi värjäytyneitä elastiinisäikeitä.*

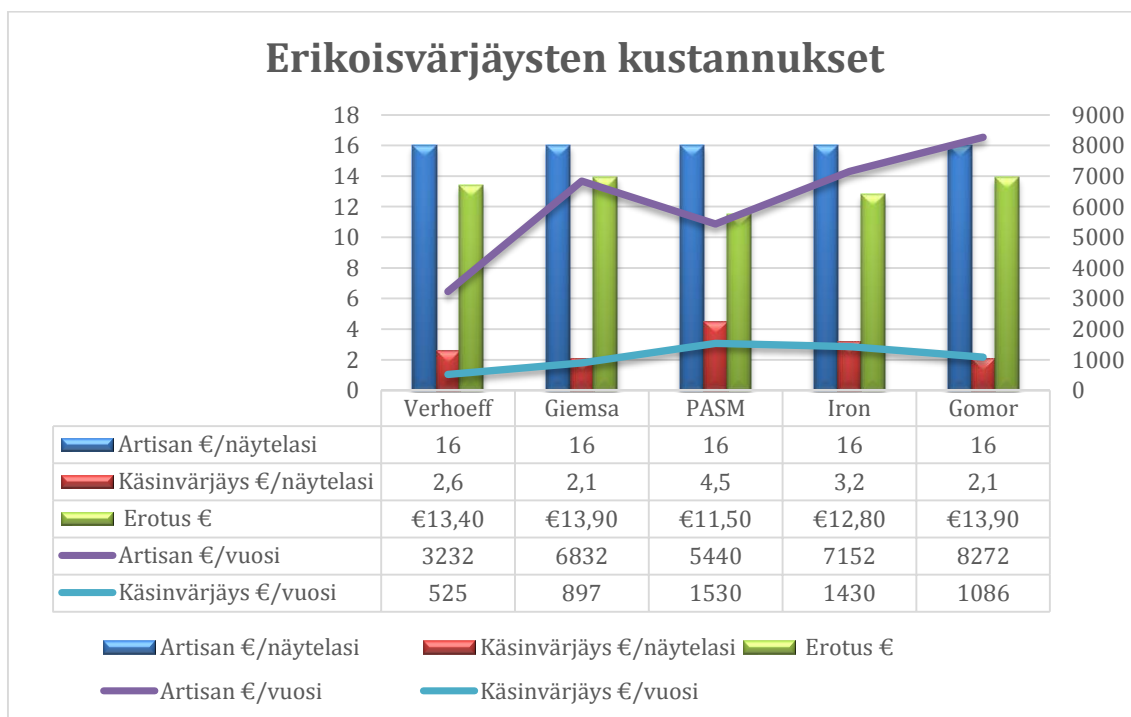
## **7.1 Erikoisvärjäysten kustannustehokkuus**

Kustannustehokkuutta arvioitaessa tällaisen menetelmämuutoksen suhteen on otettava huomioon monia muuttujia, kuten reagenssien hinnat ja menekki, työntekijäkustannukset, värjäysmenetelmien limittäminen sekä värjäysautomaatin huolto- ja ylläpitokustannukset. Värjäyksiä voi tehdä tarvittaessa rajattomasti limittäin. Rajoitteena toimii ainoastaan koneen kapasiteetti lasi- ja reagenssipaikkojen suhteen. Toki on niin, että yksittäisen värjäyksen ajoaika pitenee verrattuna yksittäin tehtävään manuaaliseen värjäykseen. Toistaiseksi pidennys ei ole kokemusten mukaan ollut kovin merkittävä. Lisäksi on muistettava, että konetta voi ajaa yöajonakin, jolloin pitkään pidennys ei haittaa. Tätä ei ole vielä tehty rutiinisti patologian laboratoriossa. Ihan suoraan pidennyksen kestoa ei voi arvioida, sillä se riippuu värjäyskombinaatiosta yhdessä ajossa. Ainakin toistaiseksi päiväkohtaiset Artisan- värjäysautomaatin lasien määrät ovat olleet sen verran pieniä patologian laboratoriossa, että monia värjäyksiä on ajan puolesta voitu ajaa yhdessäkin koneessa. Lisäksi osastolla on kaksi konetta, joten tarvittaessa esimerkiksi aikataulun ollessa tiukka, on kahden koneen käyttö mahdollista. Toisaalta toinen kone toimittaa tyhjää näytemäärän ollessa pieni. Joka tapauksessa monen värjäyksen ajo ei kuluta sen enempää reagensseja kuin yhden värjäyksen ajo.

## 7.2 Erikoisvärjäysten kustannusarvio

Kustannusarvio toteutettiin käyttämällä hintoja sekä määriä, jotka solubiologi ja apulaisosastonhoitaja toimittivat. Arvio tehtiin laskemalla erikoisvärjäysten hinnat per näytelasi sekä käsinvärjäykselle (liite 1) että käyttäen Artisan- värjäysautomaattia (Liite 2). Värjäysten hinnat laskettiin toimitetuista reagenssien hinnoista, jotka jaettiin saataviin värjäyseriin. Näytelasien hintoihin lisättiin vielä työntekijäkustannukset, jotka laskettiin käyttämällä bioanalytikoille ilmoitettua keskipalkiansiota, josta johdettiin keskituntiansio. Tuntimäärinä käytettiin värjäysohjeista saatuja aikoja sekä koneen käyttöön menevää aikaa.

Kustannusarviosta johdetusta taulukosta käy selkeästi ilmi se tosiasia, ettei Artisan- värjäysautomaatti todennäköisesti pysty tuottamaan säästöä tai sitä voittoa, joka laitteen hinnan kuoletusta varten tarvitaan. Automaatin hintana on ilmoitettu 39 000 € ja esimerkiksi kuuden vuoden aikana tuottoa pitäisi tulla 6500 € vuodessa laskematta huolto- ja ylläpitokuluja (Kuvio 19).



KUVIO 19. Erikoisvärjäysten kustannukset graafisesti esitettynä.

Onnistuneiden värjäystulosten lisäksi menetelmän täytyy olla myös taloudellisesti kannattava. Artisan- värjäysautomaatin käyttöönottoa voidaan perustella varmasti laadullisilla syillä, sillä laatu on laboratoriotyöskentelyn sekä tulosten tärkein kulmakivi, mutta taloudellisesti automaatin käyttö oheisissa värjäyksissä on arveluttavaa. Limittäisvärjäystä käyttäen kustannuksia saadaan toki pienennettyä, mutta silloin luonnollisesti näytelasien laatukin vaihtelee osan ollessa automaattilla tuotettuja ja osan käsinvärjäyksellä. Limittäisyys kannattaa mahdollisesti sellaisissa tilanteissa, joissa tulee paljon värjäyksiä tai on kiire. Koska Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorioon tulevien erikoisvärjäysten määrät ovat hyvin vaihtelevia, ei ole järkevää siirtyä Artisan- värjäysautomaatin käyttöön niissä värjäysmenetelmissä, joissa näytelasimäärät jäävät niin pieniksi, että reagenssihävikkiä syntyy jokaisella värjäyskierröksellä. Tämä tarkoittaa käytännössä sitä, että vaikka automaattia käyttäen näytelasien laatu olisi tasalaatuisempaa kuin käsinvärjäyksessä ei kustannussyistä johtuen voida siirtyä menetelmästä toiseen.

## 8 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tuloksellisina kvalitatiivisina johtopäätöksinä voimme todeta, että Artisan- värjäysautomaatti tuotti laadullisesti keskimäärin kiitettäviä histologisia värjäystuloksia, jotka tuovat varmuutta kliinisen diagnoosin luomiseen. Artisan- värjäysautomaatin luomat vikatilanteet johtivat kuitenkin joissain erikoisvärjäyksissä ylivärjäytyvyyteen tai värin sakkautumiseen värjäytyissä näyteleikkeissä. Kyse oli automaatin värjäysohjelmien liian pitkistä säätöajoista tai liian puutteellisesta regressiivisestä värjäysoperaatiosta. Johtopäätöksenä voimme todeta Artisan- värjäysautomaatin tuottavan kuitenkin pienten säätöjen saattamana optimaalisia värjäystuloksia ja automaation ollessa kyseessä on työntekijöiden työajan vapauttaminen vähintäänkin huomattava. Erikoisvärjäyksestä riippuen näytteiden koneellinen käsittely ja värjäys vie työntekijöiden ja Artisan- värjäysautomaatin mukaan keskimäärin kolme tuntia, mikä kaikesta kontrolloivasta ja tarkkailevasta toiminnasta huolimatta vapauttaa työaikaa. Kustannustehokkuuden voimakkuus on Artisan- värjäysautomaattia käytettäessä selkeästi pienehkö manuaaliin menetelmään verrattuna. Kustannukset ovat merkittävästi korkeammat verrattuna käsinvärjäyksen kustannuksiin (Liite 1).

Tulosten hyödynnettävyys riippuu paljon siitä, halutaanko asiaa tarkastella laadun vai taloudellisuuden näkökulmasta. Laadullisesti Artisan- värjäysautomaatin käyttöönotto on perusteltua, mutta taloudellisesti käsinvärjäys voittaa tarkastelun suurimmassa osassa värjäyksiä. Tämä johtuu siitä, että lasimäärien jäädessä vähäisiksi syntyy värjäysautomaattia käytettäessä reagenssihävikkiä niin paljon, että menetelmä ei ole pitkällä aikavälillä kannattava. Bioanalytiikan opiskelijoina koemme, että nimenomaan tasalaatuiset ja värjäyksille asetetut kriteerit täyttävät näytteet ovat diagnostiikkaa, sekä omaa ammattiympeyttä ajatellen ensiarvoisen tärkeitä. Tällainen laadun ja kustannusten vastakkainasettelu tekeekin tulosten arvioinnista haastavaa. Lopullisen päätöksen laadun ja kustannustehokkuuden yhtälön optimointiin ja siihen tarvittaviin toimenpiteisiin tekee jokainen kliinisiä histopatologisia näytteitä käsittelevä taho itsenäisesti.

## 9 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena ja päälinjauksena oli pyrkiä kehittämään bioanalytiikan alaa patologian osa-alueella. Projektin aikana teimme histologisia erikoisvärjäyksiä Artisan- värjäysautomaattilla. Projekti toteutettiin tarkan aikataulun mukaisesti. Jokaiselle työvaiheelle olimme asettaneet tavoitteet sekä laatineet suunnitelman, kuinka niihin päästään. Tavoitteenamme oli histologisten erikoisvärjäysten oikeaoppinen suorittaminen, jotta saavuttaisimme laadukkaita ja vertailukelpoisia tuloksia Artisan- värjäysautomaattia käyttäen samalla analysoiden menetelmän kustannustehokkuutta (Liite 1).

Laboratoriotyöskentelyn aloitimme Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratoriossa tammiukuun 2015 alussa. Opinnäytetyötä oli suunniteltu edellisestä syksystä lähtien, jolloin kävimme ensimmäisen kerran keskustelemassa aiheesta solubiologin ja apulaisosastonhoitajan kanssa, jotka painottivat tällaisen kokeellisen menetelmämuutoksen tärkeyttä. Valmistauduimme projektin käynnistymiseen perehtymällä erikoisvärjäysten teoriaan sekä kertaamalla että kasvattamalla histologista ja histoteknistä osaamistamme. Lisäksi luonnollisena osana projektiin kuului tutustuminen Artisan- värjäysautomaattiin (Liite 2). Valmistautumisen yhteydessä koemme oppineemme runsaasti itse aiheesta, mutta myös tiedon analyttisestä ja monimuotoisesta etsimisestä sekä julkaisujen kriittisestä lukemisesta. Tämän lisäksi laadimme tietysti huolellisen tutkimussuunnitelman. Laboratoriotyöskentelyn alkaessa meillä olikin selkeä näkemys siitä, miten aiomme projektin toteuttaa. Osana suunnitelmaa valmistauduimme myös mahdollisiin ongelmatilanteisiin tekemällä SWOT-analyysin.

Opinnäytetyön tekeminen oli mielenkiintoista ja haastavaa. Patologian ala opinnäytetyön toteuttamisen kohteena on sen kliinisen ja laadunhallinnallisen erilaisuuden vuoksi mielenkiintoinen. Patologian laadullisuutta täytyy operationaalistaa erityisen paljon. Totesimme, että laadunhallinnallisessa patologiassa on jouduttu tavallista monipuolisemmin selvittämään, miten käsitteitä ja asioita voidaan mitata. Olemme tyytyväisiä, että saimme toteuttaa näin monitahoisen projektin. Monipuolisuutta siihen toi erityisesti laadun ja kustannustehokkuuden yhteensovitus. Koemme, että tämä projekti valmisti meidän tulevaa ammattitaitoamme kehittämällä kykyämme nähdä suuret kokonaisuudet laboratoriotyön rakenteissa. Hahmotimme, kuinka paljon taloudelliset ja laadunhallinnalliset ratkaisut vaikuttavat koko laboratorion toimintaan työntekijöistä lähtien klinisiin hoitotuloksiin saakka.

Käytännön työn organisoimiseen ja toteuttamiseen saimme neuvoja niin ohjaajilta, kuin myös patologian henkilökunnalta. Myös patologian laboratoriotyöntekijät olivat aina valmiita neuvomaan meitä ja monet olivat kiinnostuneita työstämme. Saimme heiltä tukea ja ohjeita pyytämättäkin, mikä korosti yhteistyön merkitystä sekä toi ammatillista vahvuutta ja uskoa oman oppimisen monitahoiseen kehittämiseen. Laboratoriotyöskentelyn eri vaiheissa saamamme apu osaston bioanalytikoilta toi näkökulmaa siihen, miten menetelmämuutos on vaikuttanut ja mahdollisesti tulee vaikuttamaan patologian laboratorion työntekijöiden jokapäiväisiin rutiineihin. Työskentely herätti myös ajatuksia siitä, mitä kaikkea tällainen menetelmämuutos käytännössä vaatii koko osastolta. Työskentelyn eri vaiheissa kuulummekin henkilökunnan näkemyksiä Artisan- värjäysautomaatista sekä siitä, miten he kokevat mahdollisen menetelmämuutoksen. Keskusteluista inspiroituneina päätimme ottaa nimenomaan työntekijöiden näkökulman aiheeksemme työn alla olevaan artikkeliin, jonka kirjoitamme työmme tuloksista alan lehteä varten. Kokonaisuutena projekti kehitti tekijöiden yhteistoiminnallista oppimista sekä vuorovaikutustaitoja, joita tulemme tarvitsemaan tulevaisuudessa työyhteisöissä toimimisessa.

Käytännön laboratoriotyöskentely onnistui hyvin muutamia pieniä takapakkeja lukuun ottamatta. Laboratorioissa jo aiemmin työskennelleinä osasimme kuitenkin varautua suunnitelmien muutoksiin ja erilaisiin pulmiin, ja siten saimme työmme suoritettua ongelmatilanteista huolimatta. Artisan- värjäysautomaattia oli vaivatonta käyttää ja värjäyskittien ohjeet olivat erittäin selkeitä. Samalla opimme laboratorion toimintatavoista uusia asioita ja esimerkiksi kemialliset ainesosaluettelot, värjäysmenetelmät, jätehuolto ja turvallisuustekijät tulivat lähemmäksi käytännön tietotaitoamme.

Loppuvaiheessa onnistuimme vastaamaan tutkimuskysymyksiimme ja opinnäytetyö edistyi pitkälti siinä aikataulussa, jonka olimme sille asettaneet. Projekti toteutettiin konkreettisen suunnitelmallisesti ja huolellisesti. Projektissa noudatimme oletettuja ja vaadittuja hyviä laboratoriotointaperiaatteita eli Good Laboratory Practice- periaatteita. Käytännötyössä sekä tulosten käsittelyssä noudatimme huolellisuutta, tarkkuutta ja toiston tuomaa varmuutta. Histologisia näytteitä koeajoimme tarvittaessa monta kertaa optimaalisen lopputuloksen aikaansaamiseksi.

## LÄHTEET

Ajeneye, F. 2014. Changing face of pathology: a biomedical scientist's view. *The biomedical scientist* 58 (2), 92.

American Society of Cytopathology. 2015. Viitattu 21.4.2015, <http://www.cytopathology.org/quality-control-and-quality-assurance-practices/>.

Bancroft, J., Stevens, A. & Turner D. 1996. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 7th Edition. New York: Churchill Livingstone.

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 2.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p224456/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p224456/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 22.4.2015, [http://www.dako.com/fi/ar54/p235754/prod\\_products.htm?setCountry=true&purl=ar54/p235754/prod\\_products.htm?undefined&submit=Accept%20country](http://www.dako.com/fi/ar54/p235754/prod_products.htm?setCountry=true&purl=ar54/p235754/prod_products.htm?undefined&submit=Accept%20country).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 2.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p224462/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p224462/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 4.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p224448/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p224448/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 4.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p224451/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p224451/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 4.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p234914/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p234914/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 4.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p224452/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p224452/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 4.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p235744/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p235744/prod_products.htm).

Dako 2015. Products. Artisan special stains. Viitattu 4.3.2015, [http://www.dako.com/fi/ar41/p240480/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p240480/prod_products.htm).

Gaub, J. & Auer, G. & Zetterberg, A. Sciencedirect. 2015. Viitattu 24.5.2015, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014482775903869>.

Gill, G. 2013. Cytopreparation Principles & Practice. Toim. D. Rosenthal. Indianapolis, IN, USA: Springer.

Kaila, K. 2015. OYS. Perinteiset värjäysmenetelmät. Patologian vastualueen laatukäsikirja. 7.3.1.

Kumar, G. & Gill, G. 2010. Introduction to Special Stains. Teoksessa G. Kumar & J. Kiernan (toim.) Educational Guide; Special stains and H&E. Second edition. Carpenteria, California, USA: Dako North America. 1, 4, 5-9, 16,19.

Labquality, Aakko S. 2015. Viitattu 21.4.2015, [http://www.labquality.fi/@Bin/2791475/Sanna+Aakko\\_Abstrakti\\_Labquality+Days+2015.pdf](http://www.labquality.fi/@Bin/2791475/Sanna+Aakko_Abstrakti_Labquality+Days+2015.pdf).

Labquality 2012. Patologian laboratorion toimintajärjestelmä. Viitattu 21.4.2015, <http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3&path=Qualitor/laplkohj%202014%20424.pdf>.

National Society of Histotechnology. 2015. Viitattu 12.2.2015, <http://www.nsh.org/what-histotechnology>.

Opetushallitus 2015. Viitattu 22.4.2015, <http://www03.edu.fi/aineistot/keke/kehitys/laboratorio-ala.htm>.

Oyslab 2015. Patologia. Viitattu 23.1.2014, [http://oyslab.fi/ohjekirjan\\_liitteet/s\\_patologia.html](http://oyslab.fi/ohjekirjan_liitteet/s_patologia.html).

Ruchieka, V., Hitesh, V. & Nirmala N. 2014. Modified technique for soft tissue processing and staining. *The Journal of Histotechnology* 37 (1),14,16.

Sinervo; T. 2011. Finas, Labquality. Luento 11.2.2011. Tekijän hallussa.

Solunetti. 2006. Suomen virtuaaliyliopisto. Viitattu 21.4.2015, <http://www.solunetti.fi/fi/histologia/>.

Söderström, M. 2015. Preanalyttiset virhelähteet patologian diagnostiikassa. *Moodi* 38 (1),19.

## LIITTEET

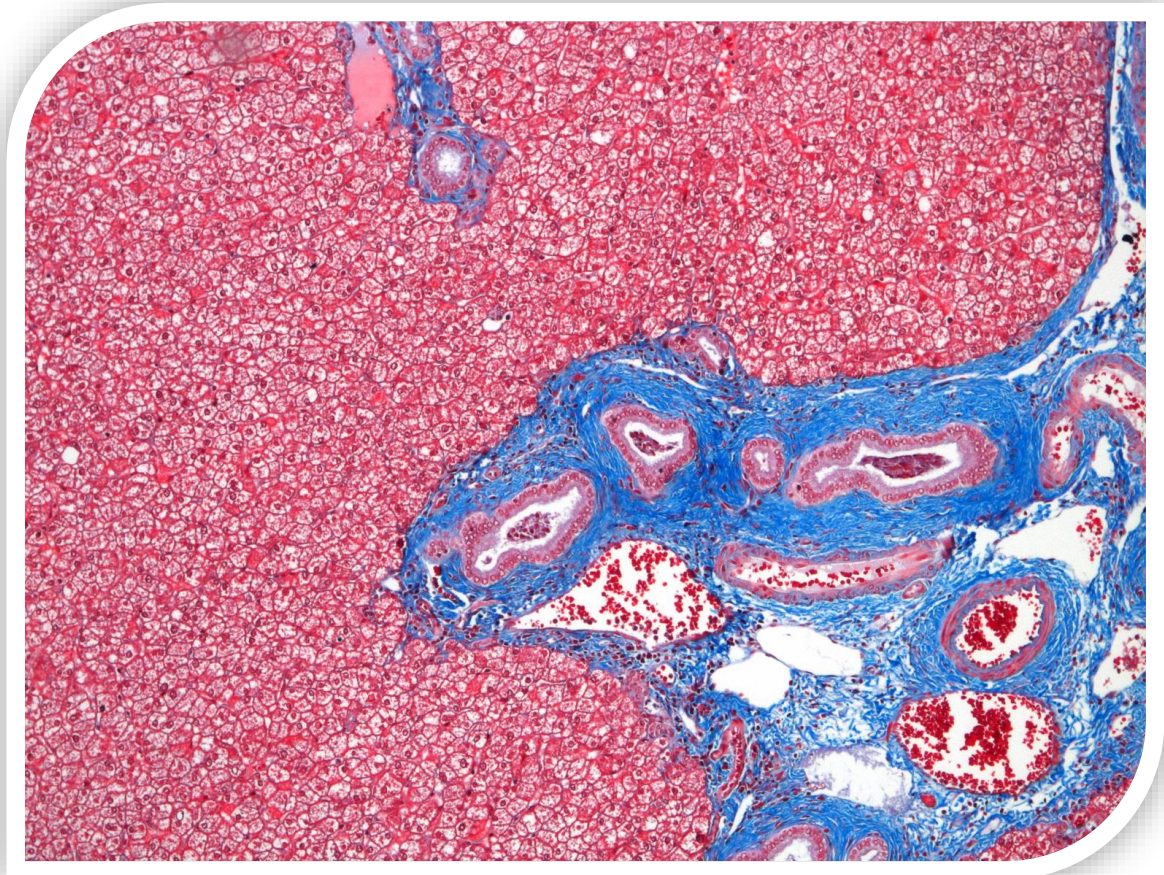
Kustannustehokkuus (Liite 1)

Dako Artisan Link Special Staining System, Artisan- värjäysautomaatti (Liite 2)

# Kustannustehokkuus

---

## ERIKOISVÄRJÄYKSET



Emma Erkkilä, Hanna-Maija Jussila, Annina Räsänen | 2015

## Toimeksianto

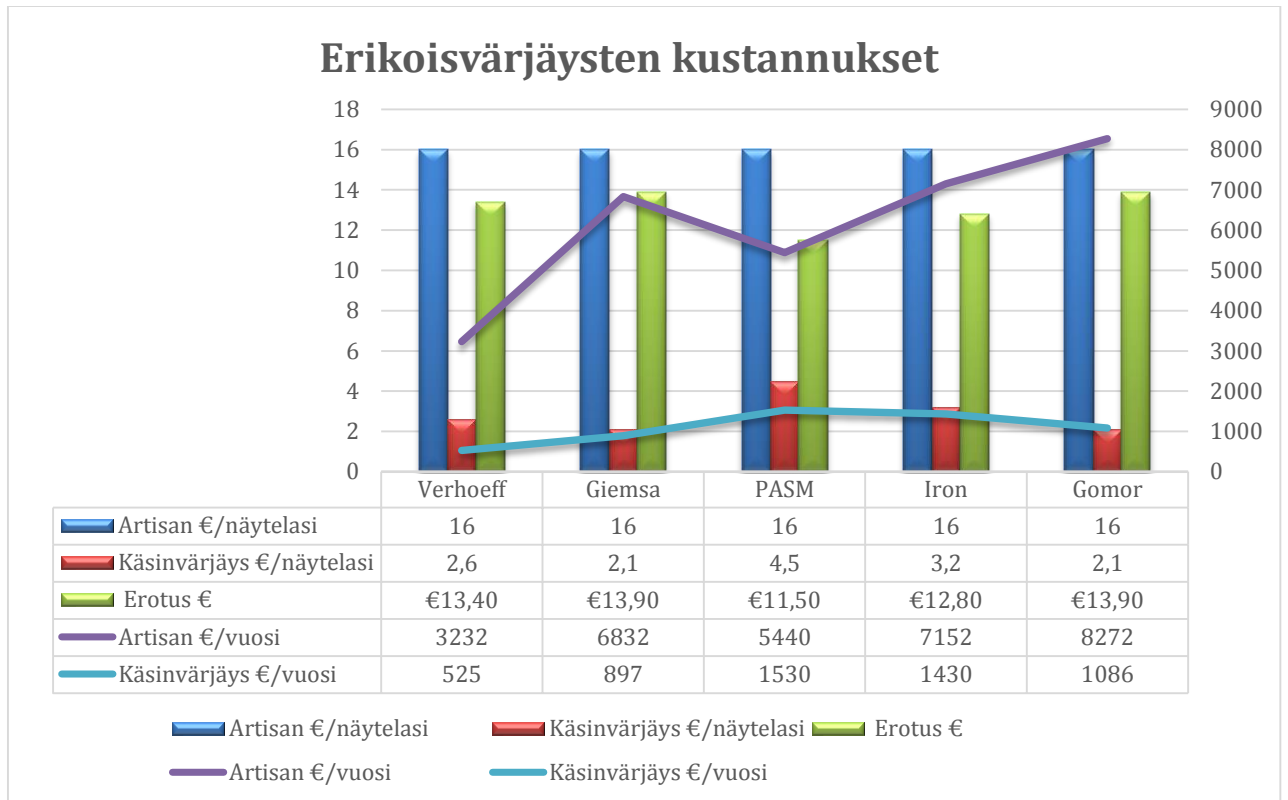
Tämä kustannusarvio on toteutettu osana opinnäytetyötä, jonka tilaajana on Oulun yliopistollisen sairaalan patologian laboratorio. Opinnäytetyön aiheena oli *Histologisten värjäysten laatu ja kustannustehokkuus*. Toimeksianto tuli erityistoiveena tilaajan puolelta ja tämä arvio onkin lähinnä suuntaa antava. Kustannusarvion tarkoitus on tuoda yksi tarkastelukulma lisää verrattaessa manuaalista ja automatisoitua värjäystä. Tässä tapauksessa vertailevan tutkimuksen kohteena on Artisan-värjäysautomaatti.

Kustannusarvio on laskettu käyttämällä hintoja sekä määriä, jotka solubiologi ja apulaisosastonhoitaja ovat meille toimittaneet. Arvio on tehty laskemalla erikoisvärjäysten hinnat yhtä näytelasia kohden sekä käsinvärjäykselle että käyttäen Artisan-värjäysautomaattia.

Artisan- värjäyskittien hinnaksi ilmoitettiin 679 €/kpl. Tämä luku on jaettu 48:lla, joka on kierrokselle mahtuva lasimäärä. Lasien hintaan on vielä lisätty työntekijäkustannukset, jotka on laskettu keskipalkasta johdettua keskituntiansiota käyttäen. Tuntimäärät perustuvat värjäysautomaatissa ohjelman keston per värjäys.

Käsinvärjäysten hinnat laskettiin toimitetuista reagenssien hinnoista, jotka jaettiin saataviin värjäyseriin. Jokaisesta erästä arvioitiin saatavaksi 10 lasia. Lasien hintoihin lisättiin vielä työntekijäkustannukset, jotka laskettiin samaa keskituntiansiota käyttäen, kuin Artisan-värjäysautomaatin kustannuksissa. Tuntimäärinä käytettiin värjäys-

ohjeista saatuja aikoja. Verrattaessa näitä lukuja syntyy ohessa oleva taulukko, jossa kuvataan hintaeroja näiden kahden menetelmän välillä sekä yksittäishintoina että vuositasolla.



*Yllä olevassa taulukossa näkyy erikoisvärjäysten kustannukset graafisesti esitettynä.*

## Artisan- värjäysautomaatti vs. käsinvärjäys

Kustannusarviosta johdetusta taulukosta käy selkeästi ilmi se tosiasia, ettei Artisan- värjäysautomaatti todennäköisesti pysty tuottamaan säästöä tai voittoa, joka laitteen hinnan kuoletusta varten tarvitaan. Artisan- värjäysautomaatin hintana on ilmoitettu 39 000 € ja esimerkiksi kuuden vuoden aikana tuottoa pitäisi tulla 6500€/vuosi laske-  
matta\_huolto- ja ylläpitokuluja.

Artisan- värjäysautomaatin käyttöönottoa voidaan perustella varmasti laadullisilla syillä ja laatu onkin laboratoriotyöskentelyn sekä tulosten tärkein kulmakivi, mutta taloudellisesti automaatin käyttö oheisissa värjäyksissä on arvelluttavaa.

Limittäisvärjäystä käyttäen kustannuksia saadaan toki pienennettyä, mutta silloin luonnollisesti näytelasien laatukin vaihtelee limittäin tehtävien värjäysten vuoksi. Limittäisyys kannattaakin mahdollisesti sellaisissa tilanteissa, joissa tulee paljon värjäyksiä tai on kiire.



## Artisan- värjäysautomaatti

*Dako Artisan™ Link Special Staining System* on ohjelmistokokonaisuus, jolla voidaan tuottaa laadukkaita sytologisten ja patologisten mikroskooppisten kudokseteiden värjäyksiä *in vitro*-diagnostiikkaa varten. Artisan- värjäysautomaatti on tarkoitettu ammattilaisten käyttöön patologiiseen laboratorioon ja sopii erinomaisesti yksiköille, jotka tekevät erikoisvärjäyksiin perustuvaa diagnostiikkaa. (Dako 2015, viitattu 1.5.2015.)

## Ominaisuudet

*Dako Artisan Link*- yksikkö sisältää leikeprosessorin, tietokonejärjestelmän ja tarratulostimen.

## Leikeprosessori

Leikeprosessoriin mahtuu kerrallaan 50 reagenssipakkausta ja 48 värjättävää näytelasia. Reagenssit, jotka on pakattu patentoituihin käyttöastioihin, takaavat tarkkuuden ja annostelun, jolla saadaan aikaan optimaalinen värjäystulos. *Artisan™ Clearing Solution*- liuoksen ansiosta koko värjäysprosessi, mukaan lukien lämmitys ja parafiininpoisto, voidaan automatisoida. Tästä johtuen näytelasit voidaan ladata automaattiin suoraan mikrotomista eli heti leikkaamisen jälkeen. (Dako 2015, viitattu 1.5.2015.)

## Tietokone

Tietokoneeseen kuuluvat kosketusnäyttö sekä näppäimistö kirjoitusta varten. Yhteen tietokoneyksikköön voidaan liittää yhteensä kolme leikeprosessoria tarvittaessa. Ohjelmistoon kuuluu myös 31 erilaista erikoisvärjäystä sekä runsaasti immunohistokemiallisia värjäyksiä. (Dako 2015, viitattu 1.5.2015.)

## Tarratulostin

Tarratulostimella näytelaseihin saadaan tulostettua koodatut tarrat, jotka kestävät voimakkaat värjäysliuokset ja kuumat lämpötilat. Koodatut tarrat pienentävät virhemarginaalia lisäen luotettavuutta, standardointia ja nopeutta näytelasien käsittelyssä ja siten ne parantavat laboratorion tuottavuutta. (Dako 2015, viitattu 1.5.2015.)

## Special Stain System toimii yhdistettynä koko patologian laboratorioon

*Artisan™ Link Special Staining System*- tietokonetta voidaan käyttää kytkettynä jopa kolmeen erilliseen värjäysautomaattiin. Se sisältää myös *stand-alone*- järjestelmän. Se toimii joko yhden tai verkotetun kokoonpanojärjestelmän avulla lähiverkossa (*DakoLink™* ohjelmisto) tai laboratorion tietojärjestelmässä (LIS). Jokaiselta työasemalta on täysi käyttöoikeus tietokantaan, joka sisältää kaiken tarvittavan informaation sekä näytelasien värjäyshistorian. Ohjelmiston avulla voi hallita ja valvoa kaikkia *Dako Link*- systeemiin yhdistettyjä värjäysautomaatteja verkossa. (Dako 2015, viitattu 2015.)

## Laboratorioprosessien yksinkertaistaminen ja tuottavuuden parantaminen

Reagenssit ovat suoraan pakkauksista käyttöön otettavia, mikä yksinkertaistaa ja nopeuttaa värjäysprosessia. Jätteiden erottelu neljään säiliöön helpottaa uusien ja tiukempien turvallisuus- ja riskienhallinnan vaatimusten noudattamista. *Artisan™ Link Special Staining System*- laitesuunnittelussa pyrittiin parantamaan tuottavuutta laboratorioissa ja laite sisältääkin 2D-matriisiteknologiaa reagenssien ja näytelasien lukua varten. (Dako 2015, viitattu 1.5.2015.)

## Laitteiston tekniset tiedot

Mitat: korkeus 52 cm x syvyys 67 cm x leveys 80 cm

Paino 68 kg

Näytekapasiteetti: 48 näytelasia per värjäyskierron

Reagenssikapasiteetti: 50 / 100 testipakkausta

Bulk Fluid- kapasiteetti: kuusi 1 L pulloa

Reagenssijätteiden lajittelu: Kaksi 2 L pulloa, kaksi 4 L pulloa

Ionivaihdettu vesi: 10 L säiliö

Yksittäisien näytelasien lämpötilan säätö: Ympäristön lämpötila → 65 ° C

Ympäristön lämpötila: 15-35 ° C 15-75% suhteellinen kosteus

Varastointi: 5-50 ° C 15-95% suhteellinen kosteus (ei tiivistymistä)

Komponentit mukana Artisan™ Link Special Staining System- laitteistossa:

Tietokone: All-in-one, lääkelaatuluokan kosketusnäyttö tietokone, 2,2 GHz Intel® Core™ 2 Duo tai vastaava

Näyttö: 17 "litteä LCD

Tulostin: HP Deskjet® tai vastaava

Liitännät ja kaapelit: Kaksi Ethernet-kaapelia, AC-johto

(Dako 2015, viitattu 1.5.2015.)

## LÄHTEET

Dako 2015. Products. Artisan Link Pro Special Staining System. Viitattu 1.5.2015.

[http://www.dako.com/fi/ar41/p235760/prod\\_products.htm](http://www.dako.com/fi/ar41/p235760/prod_products.htm).