



Tiina Nenonen

## Laadukkaat histologiset värjäykset

Digitaalinen kuvakansio HUS Diagnostiikkakeskus  
Etelä-Karjalan patologian laboratorion  
opetuskäyttöön

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikko (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

20.4.2022

Tekijä	Tiina Nenonen
Otsikko	Laadukkaat histologiset värjäykset -Digitaalinen kuvakansio HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian laboratorion opetuskäyttöön
Sivumäärä	49 sivua
Aika	20.4.2022
Tutkinto	Bioanalyttikko
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Laboratoriohoitaja Hanna Turunen Lehtori Heidi Malava
<p>Histologia eli kudospoppi tutkii kudoksia ja niiden rakenteita. Histologian laboratorioon saapuu erilaisia ja eri kokoisia kudospäytteitä. Ennen kuin patologi saa kudospäryraatin mikrokooppiseen tarkasteluun, näyte on työstetty monivaiheisen kudospäryraatin kautta värjäytyksi leikkeiksi. Jokainen kudospäryraatin vaihe vaatii erityisosaamista ja huolellisuutta, ja vaikuttaa valmiin leikkeen laatuun. Laboratoriossa työskentelevien tulee tunnistaa laadukas värjäystulos.</p> <p>Opinnäytetyö on tehty HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian laboratorioille. Patologian laboratoriossa on käytössä kirjalliset työohjeet, mutta oli koettu, etteivät ne aina riittäneet kertomaan opiskelijoille tai aloitteleville työntekijöille miltä onnistuneen värjäyksen tulee näyttää. Oli syntynyt tarve kuvallisesta perehdytysmateriaalista.</p> <p>Työn kirjallisessa osuudessa käsitellään eri värjäysmenetelmiä ja kuvataan värjäysten laatuun vaikuttavia tekijöitä. Työssä on etsitty myös vastauksia, millaista on hyvä digitaalinen oppimateriaali ja miten digipatologia tulee tulevaisuudessa muuttamaan histopatologista työskentelyä. Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tuotoksena syntyi digitaalinen PowerPoint-muotoinen kuvakansio. Kuvakansioon on koottu kuvat kaikista Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa tehtävistä värjäyksistä ja muutamasta Meilahden laboratoriossa tehtävistä rinnakkaisvärjäyksestä. Lasit skannattiin ja kuvattiin digitaaliseen muotoon lasiskannerilla. Kuvien yhteyteen on kirjoitettu kuhunkin värjäykseen liittyviä olennaisia laatuun vaikuttavia tekijöitä sekä värjäytymistuloksia. Kuvakansio toimii kirjallisten työohjeiden rinnalla opiskelijoiden ja laboratorion uusien työntekijöiden perehdytyksessä.</p> <p>Värjäysten laadun tulee säilyä patologian laboratoriossa tasaisena ja laatua seurataan päivittäin värjäystuloksia tarkastelemalla. Tulevaisuudessa digitaalinen patologia tulee muuttamaan ja nopeuttamaan diagnosointia, mutta histologisten näytteiden valmistaminen tulee pysymään edelleen käsityövoittoisena. Työntekijöiden tieto, taito ja kokemus ovat merkittäviä laadukkaiden histologisten värjäysten laatuun vaikuttavia tekijöitä. Digitaaliset perehdytysmateriaalit toimivat hyvänä apuna uusien tekijöiden perehdytyksessä. Visuaalisesti hyvin suunniteltu materiaali tukee oppimista. Lisäksi ne ovat helposti saatavilla ja päivitettävissä.</p>	
Avainsanat	Värjäysmenetelmät, histopatologinen työskentely, digipatologia

Author	Tiina Nenonen
Title	High Quality Histological Stains -Digital Image Folder for the Educational Use in the Pathology laboratory of the HUS Diagnostic Center in South Karelia
Number of Pages	49 pages
Date	20 April 2022
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Hanna Turunen, Laboratory Scientist Heidi Malava, Senior Lecturer
<p>The purpose of this thesis was to compile a digital image folder of histological stains for the use of the HUS Diagnostic Center of the South Karelian Pathology Laboratory. The aim was to make clear pictorial material alongside the work instructions. The digital image folder helps the learner to understand what a successful histological stain should look like.</p> <p>The method of this thesis was functional. For the folder I scanned thirteen different stains that are used in the pathology laboratory of South Karelia. The pictures were accompanied by texts on the main factors influencing the staining and how the stain should be interpreted. In the written part of thesis, I presented different staining methods and described the factors influencing the quality of staining. I also looked for answers to what a good digital learning material is and how digital pathology will change histopathological work in the future.</p> <p>The quality of the stains in pathology laboratory should be kept constant and the quality should be maintained by daily review of the staining results. Quality is affected by all stages of the histological laboratory process. In the future, digital pathology will change and speed up the work of pathologist, but the production of histological preparations will remain mainly handcrafted. The knowledge, skills and experience are significant factors influencing the quality of high-quality histological stains. Digital orientation materials are a good aid in orienting new employees. Visually well-designed material supports learning. In addition, digital materials are easily accessible and upgradeable.</p>	
Keywords	staining methods, histopathological work, digipathology

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja kehittämistehtävä	2
3	Histologinen laboratoriotutkimusprosessi	3
4	Histologiset värjäykset	5
4.1	Hematoksyliini-eosiini (HE)	6
4.2	Trikromi-värjäykset	8
4.2.1	Weigert van Gieson (WvG)	9
4.2.2	Herovici-värjäys	10
4.3	Elastiset säikeet (Resorsiini-fuksiini-värjäys)	11
4.4	Retikuliinivärjäys (RET)	12
4.5	Hiilihydraattivärjäykset	13
4.5.1	Periodic Acid-Schiff (PAS)	14
4.5.2	Diastaasi-PAS (D-PAS)	15
4.5.3	Alcian Blue-Periodic Acid Schiff (AB-PAS)	16
4.6	Giemsa-värjäykset	17
4.6.1	Helico giemsa -värjäys (modifioitu giemsa)	17
4.6.2	Hematologinen mast solu -värjäys	18
4.7	Toluidiininsini	19
4.8	Berliininsini (rautavärjäys)	20
4.9	Ziehl-Nielsen	21
5	Värjäysten laatuun vaikuttavia tekijöitä	22
6	Virtuaalimikroskopia digitaalisessa patologiassa	24
6.1	Virtuaalikuvaustekniikka	25
6.2	Digitaalinen patologia Suomessa ja maailmalla	26
7	Digitaalinen oppimateriaali	27
8	Toiminnallinen opinnäytetyö menetelmänä	30
9	Digitaalisen kuvakansion toteutusprosessi	32
10	Tuotoksen kuvaus	34
11	Pohdinta	36

11.1 Työn luotettavuus ja eettisyys	38
11.2 Ammatillinen kasvu	39
11.3 Päätelmiä	39
Lähteet	41

# 1 Johdanto

Monilinsisen mikroskoopin kehittäminen 1580-luvulla mahdollisti sairauksien aiheuttamien silmin näkemättömien muutoksen havainnoinnin. Seitsemänkymmentä vuotta myöhemmin löydettiin mikroskoopin avulla solut ja 1700-luvun loppupuolella Ranskalainen Marie Bichat esitti elinten koostuvan kudoksista ja patologian alalle syntyi termi, histologia. 1800-luvun puolivälissä ymmärrettiin, että solutason ilmiöt selvittämällä löydetään syyt sairauksien syntyyn. (Mäkinen & Lehto 2012).

Vaikka valomikroskoopilla tehtävän kudostutkimuksen menetelmät kehitettiin jo 1800-luvun lopulla ja 1900-luvun alussa, perusmenetelmät, joiden avulla kudoksista valmistetaan säilyviä ja mikroskoopin avulla tutkittavia preparaatteja, ovat pysyneet samoina. Laboratorioala on kehittynyt välineistön osalta viime vuosikymmeninä voimakkaasti, mutta histopatologinen työskentely ja diagnostiikka vaativat kuitenkin edelleen useamman ihmisen työpanosta. Tulevaisuudessa virtuaalimikroskopia ja digipatologia tulevat muun muassa nopeuttamaan patologin työskentelyä. (Mäkinen 2021a; Tolonen & Näpänkangas & Isola 2021c.)

Kaikki patologian laboratorioon läheteellä tulleet näytteet ohjautuvat patologin mikroskooppiseen tarkasteluun ja niistä annetaan patologisanatominen diagnoosi (PAD) (Mäkinen 2021a). Ennen kuin näytteet voidaan diagnosoida, on ne työstettävä monivaiheisella kudospesoinnilla värjätyiksi preparaateiksi. Näytteiden värjäyksen tarkoituksena on erotella kudoksen eri komponentit toisistaan niiden selektiivisen värinsitomiskyvyn mukaan (Solunetti 2006e). Värjäyksellä voidaan myös osoittaa mm. kudoksessa esiintyvät bakteerit (Carson & Hladik 2009: 226). Kudoksenäytteet ja niistä tehtävät leikkeet ovat ainutlaatuisia ja onkin erittäin tärkeää, että työ tehdään huolella ja virheettömästi. Jokainen kudospesoinnin työvaihe vaatii erityisosaamista ja tarkkuutta.

Tämän opinnäytetyön tuotoksena syntyi HUS (Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri) Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian laboratorioille digitaalinen kuvakansio laboratorioissa käytössä olevista värjäyksistä. Digitaaliseen kuvakansioon etsittiin laadullisesti onnistuneita värjäyksiä kaikista Etelä-Karjan patologian laboratorioissa tehtävistä värjäyksistä. Tarve kuvallisesta opetusmateriaalista syntyi, koska opiskelijoille ja aloittaville työntekijöille ei aina ole täysin selvää, miltä onnistuneen värjäyksen tulee

näyttää. Visuaalinen materiaali tukee työohjeiden kirjoitettua ohjetta. Työssä käsitellään eri värjäysmenetelmiä ja paneudutaan laatuun niin näytteiden valmistuksen kuin myös laadukkaan opetusmateriaalin tekemisen kannalta. Työssä tutustutaan myös virtuaalimikroskoopin tuomiin mahdollisuuksiin osana digitaalista patologiaa.

Työ on toiminnallinen opinnäytetyö ja raportti etenee topiikkimallin mukaan (Vuorijärvi 2013: 75). Aluksi keskeisiä käsitteitä kuvataan aihe kerrallaan. Patologian laboratorion työprosessin kuvaamisesta edetään värjäykseen ensin yleisellä tasolla, ja sitten pureudutaan yksityiskohtaisemmin kuhunkin työn värjäykseen. Värjäysten laatuun vaikuttavia tekijöitä käsitellään kappaleessa 5. Virtuaalimikroskopia digitaalisessa patologiassa ja digitaalinen opetusmateriaali ovat saaneet omat kappaleensa. Työssä käytetty menetelmä, toteutusprosessi ja työn tuotos kuvataan raportin loppupuolella. Pohdinnassa tarkastellaan työn toteutumista kokonaisuudessaan.

## **2 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja kehittämistehtävä**

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa digitaalinen oppimateriaali histologisista värjäyksistä HUS Diagnostiikkakeskuksen Etelä-Karjalan patologian laboratoriolle. Kyseisessä laboratoriossa ei ole aikaisemmin ollut käytössä digitaalista kuvakansiota. Työohjeissa on kerrottu, miten näyte värjäytyy kullakin värjäystavalla, mutta se ei aina riitä havainnollistamaan sitä, miltä onnistuneen värjäyksen tulee näyttää. Vastuu värjäyksen onnistumisesta patologian laboratoriossa on henkilöllä, joka tarkastaa värjäysten lopputuloksen ja jakaa näytteet patologeille diagnosointia varten.

Digitaalinen kuvamateriaalin tavoitteena on tukea oppimista kirjoitetun tiedon rinnalla ja auttaa näin opiskelijaa tai työhön perehtyvää hahmottamaan miltä laadukkaan värjäyksen tulee näyttää. Etelä-Karjalan patologian laboratorio liittyi osaksi HUS Diagnostiikkakeskusta vuoden 2020 alussa. Osa osoitusvärjäyksistä tehdään Etelä-Karjalassa vielä eri värjäyprotokollalla kuin Meilahden patologian laboratoriossa. Jotta rinnakkaisvärjäyksen erot hahmotettaisiin, kansioon tuli kuvat myös näistä värjäyksistä.

Työtä ohjaavat kysymykset olivat:

Mitä histologisella laboratoriotutkimusprosessilla tarkoitetaan?

Mitä ovat histologiset värjäykset?

Mitkä ovat laadukkaan värjäyksen kriteerit?

Mikä merkitys värjäysten laadulla on digitaalisessa patologiassa?

Millainen on hyvä digitaalinen opetusmateriaali?

### **3 Histologinen laborioriotutkimusprosessi**

Patologia, eli tautioppi tulee kreikan kielen sanoista pathos (kipu, kärsimys) ja logos (oppi). Patologia pyrkii selvittämään solujen, kudosten ja elinten rakenteita ja niiden muutoksia sairauksissa. (Solunetti 2006c.) Patologian laboratorio jakautuu histologian ja sytologian osa-alueisiin. Sytologian laboratoriossa tutkitaan kehon soluja ja niistä valmistetaan objektilasille preparaatteja. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry.) Histologia eli kudostutkimus tutkii puolestaan kudoksia, niiden rakennetta ja sitä miten kudokset ovat järjestäytyneet muodostuakseen eri elimiksi. Eri solutyyppejä on lukuisia ja yhdessä kudoksessa on useimmiten erityyppisiä soluja. (Solunetti 2006b.)

Patologian laboratorioon saapuu erilaisia ja eri kokoisia kudostutkimusnäytteitä. Nämä voivat olla suurten leikkausten yhteydessä otettavista kokonaisista elimistä pieniin operatiivisiin näytteisiin, kuten luomiin tai koepaloja, joita otetaan epäiltäessä jotakin sairautta. (Mäkinen 2021b.) Laborioriotutkimusprosessi alkaa näytteen saavuttua patologian laboratorioon kirjaamisella ja etenee useiden eri vaiheiden jälkeen preparaatiksi patologin arvioitavaksi noin 3–5 vuorokauden kuluessa (Mäkinen 2021c). Työvaiheita kutsutaan kudostutkimusprosessiksi, jonka tarkoituksena on säilyttää kudoksen rakenne mahdollisimman alkuperäisen kaltaisena. (Naukarinen 2000: 153).

PAD-tutkimukset ovat merkityksellisiä monien sairauksien diagnostiikassa ja koepalaa tutkimalla sairaus voidaan usein todeta jo varhaisessa vaiheessa. Esimerkiksi Suomen kolmanneksi yleisimmän syövän, kolorektaalisyövän kehittyminen voidaan parhaassa tapauksessa ehkäistä seulonnan ja varhaisessa vaiheessa kolonoskopian yhteydessä otetun näytteen tutkimisen avulla. (Heinävaara ym. 2019.)

Näytteen saavuttua fiksoituna patologian laboratorioon, se yksilöidään näyttenumerolla. Näyttenumero kertoo mikä laboratorio on kyseessä, näytetyypin ja vuosiluvun. Juokse-



van näytenumeron ja alanumeron tai kirjaimen yhdistelmä kertovat montako näyteblokkia yhdestä näytteestä tehdään, tai on tehty. Näytenumero pitää sisällään myös potilaan henkilötiedon. (Mäkinen 2021c.)

Pienimmät näytteet, kuten koepalat ja biopsiat voidaan siirtää kokonaisina näytekasettiin, eivätkä ne tarvitse erillistä käyntiinpanoa. Käyntiinpano tai toiselta nimeltään dissekointi, tarkoittaa isompien näytteiden makroskooppista tutkimista ja näytteen piirtämistä tai kuvaamista ennen kuin siitä otetaan kiinnostavimmat näyteviipaleet kasetteihin. Näyte piirretään ja kuvaillaan niin tarkasti, että patologi pystyy myöhemmin orientoitumaan näytteeseen ja pystytään tarkastamaan mistä kohdasta kudospalaa näyteviipaleet on otettu. (Mäkinen 2021c.)

Näytekasetit siirretään dissekoinnin jälkeen automatisoituun kuduskuljettimeen. Kuduskuljetuksen tarkoituksena on poistaa kudoksista vesi ja rasva ja kiinnittää kudokset. Kuduskuljetuksen jälkeen kovettunut kudosteikka uutetaan parafiiniin, joka jäähtyessään kovettuu leikkeen ympärille ja sisään. Jäähtyneestä parafiiniblokista leikataan mikrotomilla ohuita, yleensä 2–5 µm:n paksuisia leikkeitä. Leikkeet siirretään näytelaseille ja kiinnitetään lämmön avulla ennen värjäystä. (Mäkinen 2021c.)

Toinen tapa ohuiden leikkeiden saamiseksi, on tuoreen kudospalan nopea jäädytys heti sen irrottamisen jälkeen. Jäädytetystä leikkeestä leikataan jääleikkeitä kylmämikrotomilla eli kryostaatilla. (Naukkarinen 2000: 153.) Jääleikenäytteen valmistus kestää yleensä 15–25 minuuttia näytteen saapumisesta laboratorioon, jonka jälkeen patologi tulkitsee näytteen. Tällaista pikatutkimusta voidaan käyttää kirurgisen operaation aikana, kun on tarve saada alustava kasvaindiagnoosi ja määrittää leikkauksen laajuus sen mukaan. (Mäkinen 2021b.)

Useimmat värjäykset tehdään patologian laboratorioissa värjäysautomaateilla. Värjäysautomaatti suorittaa kaikki työvaiheet parafiinin poistosta lasin peittelyyn. Harvemmin tehtävät erikois-/osoitusvärjäykset värjätään Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa manuaalisesti eli käsinvärjäyksenä.

## 4 Histologiset värjäykset

Jotta kudoksenäytteitä pystytään tarkastelemaan yksityiskohtaisesti mikroskoopissa, prosessoinnissa lasille otetut ohuet näytteet värjätään. Histologisiin värjäämiseen tarkoitettuja värejä tunnetaan satoja ja monet värjäysmenetelmät kehittyivät jo 1800-luvulla tai 1900-luvun alussa. Histologisiin värjäyksiin käytettävien värien tulee absorboida valoa ja niiden tulee sitoutua värjättävään kudokseen. (Naukkari 2000: 153.)

Kudosten värjäämiseen käytetään yleensä ns. selektiivisiä väriaineita. Väriaine sitoutuu kudosten kemiallisten ominaisuuksien mukaan. Selektiivisellä värjäyksellä eri rakenteet erotetaan siis niiden värinsitomiskyvyn mukaan. Värjäystapana voidaan käyttää joko progressiivista tai regressiivistä värjäystä. Progressiivisessä värjäyksessä leikettä värjätään siihen asti, kunnes on saavutettu sopiva värikylläisyys. Regressiivisessä värjäyksessä puolestaan leike ensin ylivärjätään ja sen jälkeen väriä differoidaan, eli huuhdellaan pois, kunnes värjäysaste on sopiva. (Solunetti 2006e.)

Kudoksen värjäytyvyyteen vaikuttavat useat eri tekijät. Väriin imeytymiseen vaikuttaa väriaineen ja kudoksen välinen affiniteetti, eli väriaineen pyrkimys siirtyä väriliuoksesta kudokseen. Affiniteetin suuruuteen vaikuttaa väriin ja kudoksen välinen vuorovaikutus. Coulombin voima on yksi näistä vaikuttavista tekijöistä. Se perustuu erivarausten molekyyliväliseen vuorovaikutukseen. Emäksisen väriin positiivisesti varautuneet kationit värjäävät happamat kudokset ollessaan neutraalissa tai happamassa liuoksessa. Vastaavasti happaman väriin anionit värjäävät emäksiset kudokset neutraalissa tai emäksisessä liuoksessa. Muita väriin ja kudoksen välisiä tekijöitä ovat Van der Waalin voimat, aineiden väliset sidokset sekä eri liuottimien ja värien väliset vuorovaikutukset. (Horobin 2019: 128–129; Naukkari 2006c: 33–36.)

Värjäysajalla on myös merkitys värjäytymisen selektiivisyyteen. Esimerkkinä lima-värjäys Alciansini, jossa lyhyellä värjäysajalla värjättyy vain limat. Jos värjäysaika pidennetään, värjättyisi myös muu basofiilinen aine (tummat ja RNA-pitoinen sytoplasma). Värjäytyvyysaika vaihtelee kudostyyppien mukaan. Kollageenisäikeet värjättyvät nopeasti, punasolut hitaasti ja lihassolut siltä väliltä. Regressiivinen värjäys perustuu tietoon väriin poistumisnopeudesta kudoksesta. (Naukkari 2006c: 35.)

Jotta kudoksenkomponentin voi värjätä, sen tulee olla kiinnittyneenä kudokseen. Huonosti fiksoitunut kudoksenkomponentti voi liueta kudoksen käsittelyssä käytettäviin aineisiin. Lisäksi huono fiksaatio alentaa kudoksen värjäytyvyyttä. Myös leikepaksuus vaikuttaa värjäytyvyyteen. Ohuet leikkeet värjäytyvät nopeammin kuin paksut ja paksuudeltaan epätasaiset leikkeet nopeammin kuin tasaiset leikkeet. Leikkauksessa tullut artefakta, jossa leikkeessä on vaihtelevasti eri paksuisia kohtia, leike värjäytyy epätasaisesti tai eri paikoista jopa eri värisiksi. (Naukkarinen 2006c: 36–37.)

Opinnäytetyöni käsittelee Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa käytettäviä värjäyksiä ja paria Meilahden patologian laboratoriossa tehtävää rinnakkaisvärjäystä. Opetusmateriaalissa ovat seuraavat värjäykset: Hematoksyliini-eosiini (HE), Weigert van Gieson (WvG) ja Meilahdessa tehtävä Herovici, Resorsiini-fuksiinivärjäys ja Meilahden Elastiini, Retikuliinivärjäys (RET), Periodic Acid-Schiff (PAS), Diastaasi-PAS (D-PAS), Alcian Blue – Periodic Acid Schiff (AB-PAS), Giemsa (Helico giemsa ja Hematologinen Mast solu -värjäys), Toluidiininsini, Berliininsini ja Ziehl-Nielsen. Näistä HE-, WvG-, PAS-, AB-PAS- ja Helico Giemsa -värjäykset tehdään Etelä-Karjalassa Sakura Tissue-Tek® Prisma värjäysautomaatilla. Muut Etelä-Karjan patologian laboratoriossa tehtävät värjäykset tehdään joko osittain tai kokonaan käsinvärjäyksenä.

#### 4.1 Hematoksyliini-eosiini (HE)

Hematoksyliini-eosiini (HE) on yleisin laboratorioissa käytetty värjäysmenetelmä. Histologisissa kuva-atlaksissa kudokset on usein esitetty juuri HE-värjättynä. Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa HE-värjäys tehdään kaikista formaliiniin fiksoiduista näytteistä (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021c). HE-värjäyksellä saadaan käsitys näytteen morfologiasta eli yleisrakenteesta. Värjäys perustuu kudoksenkomponenttien happamuuteen ja emäksisyyteen. Hematoksyliini värjää happamat kudokset, kuten tumien nukleinihapot sinisiksi tai lähes mustiksi. Eosiini värjää puolestaan emäksiset kudokset punaisen eri sävyillä. Näitä ovat mm. sytoplasma, sidekudos, lihakset ja eosinofiilit. (Naukkarinen 2000: 153–154; Reagenia 2020.)

Hematoksyliini on luonnonväri, jota uutetaan *Haematoxylon campechianum* -puun ytimestä. Värjäävä muoto on hematoksyliinin hapettumistuote hemateiini. Hapettuminen tapahtuu joko luonnollisesti, hitaasti ilman happea tai kemiallisesti hapettimen avulla. Hemateiinilla on itsessään huono kudosaaffiniteetti, joten se tarvitsee värjäyksen tehostamiseen mordanttia, eli peitta-ainetta. Peitta-aineena käytetään alumiinin, raudan ja

volframmin suoloja. Metallikationia sisältävä peittaus antaa väriaineelle positiivisen varauksen ja mahdollistaa sen sitoutumisen anionisiin kudiskohtiin kuten kromatiiniin. (Bancroft & Layton 2019b: 127; Naukkarinen 2006a: 38.) Peitta-aine saa tumat muuttamaan ensin punaisiksi, jotka sitten heikosti emäksisellä liuoksella huudeltaessa muuttuvat sinisiksi. Vesijohtovesi on usein riittävän emäksinen tähän ns. sinistämiseen. (Sampias & Rolls 2021). Rutiini HE-värjäyksessä käytetyimpiä hematoksyliineja ovat Ehrlichin, Mayerin, Harrisin, Gillin, Colen ja Delafieldin alumiinihematoksyliinit (Bancroft & Layton 2019b: 141).

Eosiini on kaupallisesti saatava fluoresoiva ksantaaniväri. Eosiinia on saatavana eri tyyppisinä, mutta hematoksyliinin vastavärinä käytetyin on veteen ja alkoholiin liuke-neva Eosin Y. Ylimääräinen väri poistetaan diffuamalla, eli huuhtelemalla useimmiten juoksevan vesijohtoveden alla. Eosiinivärin voimakkuudessa on laboratorikohtaisia eroja ja tätä säädetään värjäys- ja diffausajan pituudella. (Bancroft & Layton 2019b: 140; Naukkarinen 2006b:41.) Eosiinin pH:lla on suuri merkitys värjäytymisen voimakkuuteen. Paras värjäystulos saadaan pH:n ollessa 4–5. (Braun 2012.) Jäätikka terävöittää eosinin sävyä (Bancroft & Layton 2019b: 140). Floksiinin lisääminen parantaa värjäyksen punaisuutta (Sampias & Rolls 2021).

HE-värjäys tehdään rutiininomaisesti konevärjäyksenä, mutta värjäysten tekijän tulee ymmärtää värjäyksen perustekniikka, jotta hän pystyy havaitsemaan mahdolliset laatu-poikkeamat ja muokkaamaan menetelmää tarvittaessa (Bancroft & Layton 2019b: 140). Laadukkaassa HE-värjäyksessä useimpien kehonalueiden leikkeissä tulisi näkyä sinisiä tumia erilaisilla kromatiinikuviolla ja tumakalvon tulee näkyä terävänä. Lymfosyyteillä kromatiini on tiheintä ja epiteelisoluilla avoimempaa. Eosiinin värjäämisessä kudososissa tulee näkyä kolmea eri eosinisävyä. (Carson & Hladik 2009: 116.) Tämä auttaa patologia havaitsemaan ja tulkitsemaan sairauksiin liittyviä morfologisia muutoksia (Sampias & Rolls 2021). Eri kudososien värjäytyvyyttä on kuvattu taulukossa 1.

Taulukko 1. HE-värjäyksen tulkinta (HUS-Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021c).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Tumat	sinivioletti
Sytoplasma	vaaleanpunaisen eri sävyt
Erytrosyytit	punainen
Limat	vaalean sininen
Kollageenisäikeet	kalpean vaaleanpunainen
Fibriini	syvän vaaleanpunainen
kalkki	violetti
Lihaskuitu	syvän vaaleanpunainen
Eosinofiilit	punainen

Värjäystuloksen laadun arviointi on tärkeää. Tasaisten ja laadukkaiden HE-värjäysten ylläpito on histopatologisen laboratorion perusedellytys. (Sampias & Rolls 2021.) Jotta HE-värjäyksen laatu säilyy hyvänä, on hyödyllistä värjätä kontrollilasi ennen kuin varsinaiset lasit värjätään. Ohutsuolileike on tähän tarkoitukseen hyvä valinta. On myös hyvä tarkastaa mikroskoopilla yksi lasi kustakin värjäyserästä. Vaikka vesijohtovesi on todettu hyväksi hematoksyliinin sinistäjäksi, joillakin alueilla voi veden klooripitoisuus vaihdella vuodenaikojen mukaan ja aiheuttaa vaihtelua värjäytymiseen. Erittäin emäksinen ja kova vesi voivat olla erinomaisia sinistäjiä, mutta tämä voi aiheuttaa myös tummien liian tummaa värjäytymistä ja taustavärjäytymistä. (Carson & Hladik 2009: 116–117.)

#### 4.2 Trikromi-värjäykset

Trikromi-värjäys on yleisnimitys erilaisille kolmen värin värjäyksille, joilla pyritään erottamaan lihas, kollageenisäikeet, fibriini ja punasolut. Yksi väreistä värjää tummat. (Bancroft & Layton 2019a: 176.) Elimistössä sidekudosta esiintyy useissa eri muodoissa. Useimmissa elimissä löyhä sidekudos toimii solujen ja kudoksien sidonta-aineena. Tiivis sidekudos antaa tukea ja muodostaa vahvoja kotelaita elimille, kuten maksalle. Ligamentit ja jänteet saavat suuren vetolujuuden juuri tiiviistä sidekudoksesta. Sidekudos muodostuu soluista ja soluväliaineesta. Elastiset säikeet, joita on soluväliaineessa,

ovat pääasiassa kollageenia. (Solunetti 2006d.) Muutokset kollageenin määrässä voivat johtua eri sairauksista (Pihlajaniemi 2013).

Trikromi -värjäytymiseen vaikuttaa kudosten läpäisevyys ja väriaineen molekyylikoko. Pieni molekyylliset värit värjäävät kaikenlaiset kudostyyppit. Keskikokoiset tunkeutuvat lihakseen ja kollageeniin, muttei punasoluihin. Suuret väriainemolekyylit tunkeutuvat vain kollageeniin, jättäen lihaksen ja punasolut värjäytymättä. Eli jos suurempi molekyylinen väri pääsee pienimolekyylisen väriaineen värjäämään kudokseen, se korvaa edellisen. (Bancroft & Layton 2019a: 176–177.)

Weigert van Gieson ja Herovici värjäykset ovat histologisia yleisvärjäyksiä tumien ja sytoplasman osoittamiseen, mutta niitä käytetään myös sidekudoskomponenttien, kuten lihas- ja kollageenisäikeiden erottelemiseen (Naukkarinen 2006a: 38; Reagenia; Salgado 2012).

#### 4.2.1 Weigert van Gieson (WvG)

WvG-värjäyksessä on kolme eri väriainetta; Weigertin rautahematoksyliini tumavärinä ja vastavärinä pikrofuksiini, joka koostuu kyllästetystä pikriinihaposta ja happofuksiinista (Naukkarinen 2006a: 41). Tumat värjäytyvät tummanruskeiksi hematoksyliinin peitta-aineena käytettävän ferrikloridin vuoksi. Pikriinihappo pienimolekyylisenä pystyy tunkeutumaan myös huonosti läpäiseviin kudoksiin, joita ovat punasolut ja lihas. Nämä värjäytyvät keltaisiksi. Koska sidekudos on suhteellisen löyhärakenteista ja hyvin läpäisevää, suuri molekyylinen hapan fuksiini pääsee tunkeutumaan siihen värjäten sen punaiseksi. Weigert van Gieson -värjäyksellä voidaankin hyvin erottaa toisistaan sidekudos (punainen) ja lihas (keltainen). (Naukkarinen 2006a: 41.) Taulukko 2. kuvaa WvG-värjäyksen kudiskohtaista värjäytyvyyttä.

Taulukko 2. WvG-värjäyksen tulkinta (HUS-Diagnostiikkakeskus, Patologia, Etelä-Karjala 2021f).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Tumat	mustanruskea
Sytoplasma	keltainen
Erytrosyytit	keltainen
Kollageeni	punainen
Fibriini	keltainen
Vanha fibriini I. arpikudos	keltainen
Lihäs	keltainen
Keratiini	keltainen
Lima-aine	vihreä
Parenkymikudos	ruskea
Rauhaskudos	ruskea

Matala pH on erittäin tärkeä van Gieson värjäyksessä, sillä kollageeni värjäytyy vain matalilla pH-tasoilla. Pikriinihappoliuoksen tulee olla tyydyttynyt. Jos liuos ei ole kyllästynyt, kollageeni voi värjäytyä vaaleanpunaisesta vaalean oranssiin ja sytoplasma ja lihas voivat värjäytyä saman värisiksi. Suolahapon lisääminen voi auttaa terävöittämään kollageenin ja lihaksen välistä eroa. (Carson & Hladik 2009: 166.)

Värjäykselle ei välttämättä tarvita kontrollia, sillä jokainen kudos sisältää käytännössä sisäisen kontrollin. Jos kuitenkin halutaan kontrollikudos, kohtu, ohutsuoli, umpilisäke tai munanjohdin ovat hyvää materiaalia tähän. (Carson & Hladik 2009: 167.)

#### 4.2.2 Herovici-värjäys

Herovici-värjäystä käytetään Hus Diagnostiikkakeskuksen Meilahden patologian laboratoriossa. Värjäys otettiin tähän työhön tarkasteltavaksi WvG-värjäyksen rinnalle. Herovici on pikropolykrominen värjäys, jossa käytetään useita väriaineita; selestiinin sininen, metanyylikeltainen, happofuksiini ja metyyliisininen. Rautahematoksyliinin peitta-aineena

käytetään ferrikloridia ja näin ollen kationinen hemateiini sitoutuu happamiin kudskomponentteihin. Kudokset värjäytyvät eri värisiksi tiheyden mukaan. Sytoplasma värjäytyy keltavihreäksi, keratiini, lihas ja punasolut keltaisiksi ja hyaliinikudos sinivihreäksi. Tämän värjäyksen avulla voidaan tunnistaa kollageenin tyyppejä niiden tiheyden mukaan kudosten korjautuessa. (Salgado 2012.) Nuori kollageeni ja retikuliini värjäytyvät sinisiksi ja kypsä kollageeni punaiseksi (American MasterTech 2018). Taulukossa 3. on kuvattu eri kudosten värjäytymistä Herovici-värjäyksellä.

Taulukko 3. Herovici-värjäyksen tulkinta (HUSLAB, patologia, Meilahden patologia 2020b).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Tumat	lähes mustat
Sytoplasma	keltaiset
Lihassäikeet	keltaiset
Punasolut	keltaiset
Fibriini	keltaiset
Kollageenisäikeet	punaiset

### 4.3 Elastiset säikeet (Resorsiini-fuksiini-värjäys)

Elastiinisäikeitä esiintyy kaikkialla kehossa, mutta erityisesti hengitys-, verenkierto- ja sisäelimestä (Bancroft & Layton 2019a: 169). Elastiset säikeet mahdollistavat kudosten reagoinnin venymiseen (Ross & Pawlina 2011: 171). Elastiinisäe eli kimmosäe koostuu kahdesta proteiinista. Säikeen ydin muodostuu elastiinista ja tätä ympäröi mikrofibrilliini (Bancroft & Layton 2019a: 169). Elastiini lisää kudoksen kimmoisuutta ja siinä vuorottelevat rasvaliukoinen ja runsaasti alaniinia ja lysiniä sisältävä jakso. Rasvaliukoinen osa antaa elastiinille kimmoiset ominaisuudet ja alaniini/lysiiniosa muodostaa runsaasti ristiksidoksia muiden elastiinimolekyylien kanssa. (Solunetti 2006a.) Tämä sallii elastisten kuitujen liukumisen toistensa yli, venymisen ja sitten taas palautumisen alkuperäiseen tilaan. Säikeet ovat kutoutuneet yhteen kollageenisäikeillä, joka rajoittaa venymistä ja repeytymistä. Elastiinimolekyylin elastisuus liittyy sen epätavalliseen polypeptiinirunkoon, joka kiertyy satunnaisesti. Elastiset säikeet ovat lankamaisia ja paljon ohuempia kuin kollageenisäikeet. Elastiset säikeet värjäytyvät HE-värjäyksessä



eosiinillä, mutta huonosti ja ne voi olla hankalaa erottaa kollageenisäikeistä. Niiden erottamiseksi voidaan tehdä resorsiini-fuksiinivärjäys. (Ross & Pawlina 2011: 171–172.)

Elastiset säikeet ovat voimakkaasti happamia ja emäksinen resorsiini-fuksiiniväri sitoutuu näin ollen niihin. Värjäystapa on regressiivinen, ja koska väriaine sitoutuu kudoksen muihinkin rakenteisiin, leikkeet differentoidaan selektiivisen elastiinivärjäyksen aikaansaamiseksi. (Sigma-Aldrich 2021; HUSLAB, patologia, Meilahden patologia 2020a.) Kuvakansioon otettiin Etelä-Karjalan patologian resorsiini-fuksiini-värjäyksen rinnalle myös Meilahden elastiset säikeet -värjäys. Näiden kahden värjäyksen välillä on sävyeroja, koska käytössä on eri reagenssit. Meilahdessa värjäyksessä käytetään aina myös Van Gieson -liuosta, joka värjää taustan kudostyyppin mukaan. Etelä-Karjalassa Weigert van Gieson -värjäys lisätään vain pyydettyessä. (HUSLAB, patologia, Meilahden patologia 2020a; HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020c.) Elastiset säikeet näkyvät värjäyksessä tummina viivoina (taulukko 4.).

Taulukko 4. Elastiset säikeet -värjäyksen tulkinta (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020c).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Elastiset säikeet	sinimustat/ tummansiniset tai syvänruskeat/ mustat

#### 4.4 Retikuliinivärjäys (RET)

Retikuliinisäikeet muodostavat tukikehyksen eri kudosten ja elinten solukomponenteille verkkomaisella rakenteella. Retikuliinisäikeet muodostuvat kollageenifibrilleistä, tarkemmin III-typin kollageenista. Retikuliinisäikeillä on merkittävä rooli haavan paranemisen ja arpikudoksen muodostumisen alkuvaiheessa. Ne näkyvät valomikroskoopissa lankamaisina erikoisvärjäyksen, kuten hopeakäsittelyn jälkeen. (Ross & Pawlina 2011: 171.) Retikuliinisäikeiden verkosto on erityisen tiheä maksassa. Maksasolujen vaurioitaessa, nekroosi saa retikuliinisäikeet romahtamaan ja tilalle jää tyhjää. Retikuliini-värjäyksellä pystytäänkin hyvin tarkastelemaan maksan kuntoa. (Saxena 2010.)

Retikuliinivärjäys tehdään ns. hopealla kyllästämällä. Hopeavärjäykset perustuvat hopeanitraatin eli hopean suolan pelkistämiseen metalliseksi hopeaksi haluttuihin kudoksiin (Naukkarinen 2000: 155). Värjäysmenetelmä on moni vaiheinen ja se suoritetaan Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa käsivärjäyksenä (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020d). Kyllästämiseen käytetään hopeasuoloja, joka on liuksena emäksistä. Retikuliinisäikeillä on alhainen affiniteetti hopeasuoloihin. Siksi kudokset tarvitsee sopivan esikäsittelyn kyllästämisen selektiivisyyden parantamiseksi. Usein käytetään raskasmetallisuolaliuoksia, kuten ferriammoniumsulfaattia. Hopealla kyllästämässä huomattava määrä pelkistymättömiä hopeakationeja sitoutuu löyhästi ja epäspesifisesti kudoksen eri kohtiin. Pelkistymättömässä muodossa kudokseen tullut hopea pelkistetään metallihopeaksi, joka kerääntyy retikuliinisäikeisiin. Reagoimaton hopea poistetaan ja jäljelle jäänyt hopea käsitellään kultakloridiliuoksella pysyvämpään muotoon ja tuomaan näytteeseen kontrastia. (Bancroft & Layton 2019b: 184–185.) Värjäystulos on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 5. Retikuliini-värjäyksen tulkinta (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020d).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Retikuliinisäikeet	musta
Tumat	harmaa

Hopeavärjäyksissä on tärkeää välineiden puhtaus. Värjäys vaatii happopestyt astiat, muoviset pinsetit ja vetenä käytetään tislattua vettä, sillä hopea voi pelkistyä metalliin tai epäpuhtauksiin. (Naukkarinen 2000: 156.) Laseja ei myöskään merkitä lyijykynällä. Retikuliinivärjäys tehdään HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa rutiinisti maksanäytteistä. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020d.)

#### 4.5 Hiilihydraattivärjäykset

Hiilihydraatteja ovat glykogeeni, glykokonjugaatit ja glykolipidit. Myös proteiinia sisältävä amyloidi, joka on hiilihydraattijohdannainen, kuuluu tähän ryhmään. Glykogeeni on polysakkaridi. Se on glukoosin varastomuoto, jota esiintyy aikuisilla erityisesti maksan

solujen sytoplasmassa. Pieniä määriä löytyy myös sydän- ja luustolihaksissa. Glykogeeni hajoaa nopeasti näytteenoton jälkeen, joten näyte vaatii nopean fiksoinnin. (Naukkarinen 2006b: 46.)

Glykokonjugaatit eli lima-aineet ovat heksosamiinia eli aminosokeria sisältäviä polysakkarideja. Niihin on kovalenttisesti sitoutunut vaihteleva määrä proteiineja. Lima-aineita erittäviä soluja esiintyy mm. mahasuolikanavassa ja hengitysteissä. Myös monet kasvatimet erittävät lima-aineita. Limat värjäytyvät hyvin emäksisillä väriaineilla. Neutraalit limat ovat PAS-positiivisia ja happamat limat, joita esiintyy pääasiassa sidekudoksessa, ovat PAS-negatiivisia. (Naukkarinen 2006b: 46–47.) PAS-värjäyksestä kerrotaan tarkemmin seuraavassa luvussa.

Glykolipidit ovat sokeriosia sisältäviä rasva-aineita ja ne ovat PAS-positiivisia. Amyloidi on mukopolysakkaridikomplekseja sisältävää proteiinia. Se on hennosti PAS-positiivinen ja alciansini-positiivinen. Amyloidia esiintyy sekundaariamyloidoosissa lähinnä munuaiskeräsissä ja verisuonten seinämissä. Primaarissa amyloidoosissa lähes missä elimessä tahansa. Amyloidoosi voi liittyä myös myeloomaan. (Naukkarinen 2006b: 47.)

#### 4.5.1 Periodic Acid-Schiff (PAS)

PAS-värjäys on yleisin ja monipuolinen hiilihydraattivärjäys. Värjäyksellä pyritään osoittamaan kudokset glykogeeni, neutraalit lima-aineet, tyvikalvot ja sienet. Tyvikalvot ja sienet värjäytyvät niiden sisältämän hiilihydraatti-osan takia. (Naukkarinen 2000: 154–155.) Värjäystä käytetään myös kasvainten erotusdiagnostiikassa (Layton & Bancroft 2019: 195). Perijodihappo, jolla näyte aluksi käsitellään, hapettaa auki kahden vierekäisen OH-ryhmän sisältävän hiiliatomin sidokset. Syntyy kaksi aldehydyryhmää, jotka reagoivat Schiffin reagenssin kanssa ja reagenssin väriaine värjää hiilihydraatin purppuran punaiseksi. (Naukkarinen 2000: 155.) HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa tumat vastavärjätään Mayerin hematoksyliinillä (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021e). PAS-värjäyksessä hyvä kontrollikudos on munuainen (Carson & Hladik 2009: 137). Taulukko 6. kertoo PAS-värjäyksen tulkinnasta.

Taulukko 6. PAS-värjäyksen tulkinta (HUS-Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021e).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Neutraalit polysakkaridit (esim. glykogeeni)	aniliininpunainen
Sienet, varsinainen soluosa	punainen - purppura
Sienet, limainen kapseli	sininen
Tumat	tummansininen - musta

#### 4.5.2 Diastaasi-PAS (D-PAS)

Diastaasi-PAS värjäystä käytetään mm. maksasairauksien erotusdiagnostiikassa. Useat entsyymipuutostilat saadaan esille analysoimalla maksan glykogeeni-esiintymiä. (Mäkinen 1996.) D-PAS-värjäystä ja PAS-värjäystä rinnakkain käyttämällä saadaan eroteltua kudoksen sisältämä glykogeeni ja neutraalit limat toisistaan. D-PAS-värjäyksessä parafiinin poiston jälkeen kudos käsitellään amylaasilla. Tämän tarkoituksena on pilkkoa glykogeeni pois, joka on PAS-positiivinen ja saada värjäytymään vain neutraalit lima-aineet. Amylaasina voidaan käyttää diastaasia, joka sisältää sekä alfa- että beeta-amylaasia tai vaihtoehtoisesti ihmissylkeä. (Layton & Bancroft 2019: 204.) Sylki sisältää vain  $\alpha$ -amylaasia ja monet histoteknikot ovat kokeneet sen paremmaksi, sillä Diastaasi ei aina sulata glykogeenia kokonaan. Glykogeeni värjäytyy aniliinin punaiseksi (taulukko 7.). Kontrollina käytetään glykogeenia sisältävää maksaa. Kontrollilaseja on kaksi. Toisessa lasissa on diastaasi käsittely ja toisessa ei. (Carson & Hladik 2009: 140–141.)

Taulukko 7. Diastaasi-PAS-värjäyksen tulkinta (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021b).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Neutraalit polysakkaridit	aniliininpunainen
Sienet, varsinainen soluosa	punainen - purppura
Sienet, limainen kapseli	sininen
Tumat	tummansininen - musta

#### 4.5.3 Alcian Blue-Periodic Asid Schiff (AB-PAS)

Alcian Blue-PAS-värjäyksellä erotetaan toisistaan happamat ja neutraalit lima-aineet. Happamia limoja on mm. suoliston pikarisoluissa ja keuhkoputkien limakalvoilla. Neutraalia lima-aineita erittäviä soluja löytyy mahan limakalvolta, pohjukkaissuolen Brünnerin rauhasista, eturauhasen epiteelistä ja jonkin verran suolen pikarisoluissa. Värjäystä käytetään kasvaindiagnostiikassa, sillä epiteelikudoksesta peräisin olevat karsinomat sisältävät usein limaa. Lisäksi kudoksen neoplastisten muutosten arvioinnissa määritetään, onko liman tyyppi hapan vai neutraali. (Layton & Bancroft 2019: 193, 199.)

Alcian Blue-värjäyksessä käytettävä pH määrittää, mitkä lima-aineet värjäytyvät. Tavallisimmin käytettävä pH on 2,5. Värjäyksessä Alcian Blue kiinnittyy happamiin lima-aineisiin, jonka jälkeen PAS-värjäyksellä osoitetaan neutraalit limat. (Naukkarinen 2006b: 48.) Happamat limat värjäytyvät sinisiksi ja neutraalit limat syvän punaisiksi. Kudokset ja solut, jotka sisältävät sekä happamia, että neutraaleja lima-aineita värjäytyvät violetin eri sävyin. Tämä johtuu Alcian Bluen sitoutumisesta soluihin ja tämän reagoimisesta Schiffin reagenssin kanssa. Tämä havaitaan ohutsuolen pikarisoluissa, jotka erittävät sekä happamia, että neutraaleja lima-aineita. (Layton & Bancroft 2019: 199.) Värjäysjärjestyksellä voi olla merkitystä värjäyksen lopputulokseen, sillä päinvastainen värjäysjärjestys (PAS – Alcian Blue) voi antaa virheellisen lopputuloksen (Horobin & Bancroft 1998: 11).

Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa värjäys tehdään rutiinisti mahalaukun limakalvosta otetuista gastroskopianäyteistä. Tumaväriä käytetään Weigertin hematoksyliiniä, joka värjää tumat tummansinisestä mustaan. Taulukko 8. on esitetty AB-PAS-värjäyksen tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021a.)

Taulukko 8. AB-PAS-värjäyksen tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021a).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Happamat polysakkaridit	sininen
Neutraalit polysakkaridit	aniliininpunainen
Tumat	tummansininen - musta

## 4.6 Giemsa-värjäykset

Giemsa-värjäys on suunniteltu alun perin loisten osoittamiseen malariassa, mutta se on käytetty värjäys myös histologiassa eri solukomponenttien laadukkaan värjäytyvyyden vuoksi. (Barcia 2007.) Värjäyksellä voidaan myös osoittaa mikro-organismeja, kuten histoplasma, Leishmania, Toxoplasma, Pneumokokki ja Helicobakteerit. Giemsa on hyvin käytetty värjäys hematologiassa verisolujen erottelemiseen ja morfologian tarkasteluun. Sitä käytetään myös yhdessä muiden väriaineiden kanssa. Liuos sisältää happamia ja emäksisiä väriainemolekyylejä; metyleeninsiniä, metyliini azuria, eosiniä ja glyserolia stabilointiaineena. Giemsa-värjäykseen vaikuttaa pH-taso. Happamat tasot värjäävät enemmän kromatiinia ja vähemmän sytoplasmaa ja päinvastoin, emäksiset pH-tasot värjäävät enemmän sytoplasmaa. Histologisissa leikkeissä tumat voivat värjäytyä syvän purppuranpunaisesta tummansiniseen. Kollageeni värjäytyy vaalean siniseksi, happamat mukopolysakkaridit punertavan violeteiksi ja muut happamat solumateriaalit oranssinpunaisiksi. (Jackson & Grabis & Manav 2018.) Giemsa-värjäyksissä on tärkeää noudattaa värjäysprotokollaa tutkittavan näyttemateriaalin mukaan, jotta eri solurakenteet tulevat luotettavasti esiin (Merck).

### 4.6.1 Helico giemsa -värjäys (modifioitu giemsa)

Tätä värjäystä käytetään *Helicobacter pylori* -bakteerien osoittamiseen. Modifioitu giemsa -värjäys on muunneltu värjäystekniikka perinteisestä giemsa-värjäystekniikasta. Tekniikkaa on yksinkertaistettu ja se on nopeampi ja edullisempi. Värjäyksen suorittaa kokonaisuudessaan värjäysautomaatti. Tarkkuus *H. pylori* bakteerien osoittamiseen on yhtä hyvä kuin perinteisellä giemsa-värjäyksellä. (Fan ym. 2020.) Helicobakteerit värjäytyvät giemsa-värjäyksessä sinisestä tummansiniseen (taulukko 9.) (Jackson & Grabis & Manav 2018).

Taulukko 9. Helico giemsa (modifioitu giemsa) -värjäyksen tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021d).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Helicobakteerit	tummansininen
Tumat	siniset
Tausta	vaaleanpunaisesta vaaleansiniseen

*Helicobacter pylori* on pieni, spiraalimainen gramnegatiivinen bakteeri, joka voi elää mahanlimakalvolla (Merras-Salmio & Ruuska 2020). Se voi aiheuttaa kroonisen neutrofiilivaltaisen mahan limakalvon tulehduksen, joka on yleensä oireeton, mutta voi aiheuttaa osalla potilaista vuosien kuluessa maha- tai pohjukkaissuolihaavan. Tämä lisää mahasyövän riskiä 2–6 kertaiseksi. Infektio saadaan yleensä lapsena ilmeisesti vanhemmilta tai isovanhemmilta oro-oraalisesti. Kehittyneissä maissa *H.pylori* infektio on harvinaisempi kuin maissa, joissa hygieniataso on heikompi. Suomessa esiintyvyys on vähentynyt viime vuosikymmenten aikana. Histologinen näyte otetaan gastroskopian yhteydessä. Biopsioita otetaan antrumista ja korpuksesta. (Suomen Gastroenterologia-yhdistys ry 2000.)

#### 4.6.2 Hematologinen mast solu -värjäys

Etelä-Karjalan patologian laboratorio käyttää hematologista mast solu -värjäystä maksa- ja kristabiopsioissa sekä lymfoomanäytteissä erityyppisten verisolujen tunnistamiseen. Värjäystä käytetään myös mast solujen osoittamiseen mm. ihonäytteistä, jos epäillään urticaria pigmentosaa. Värjäyksen tulkinta on esitetty taulukossa 10. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020b.)

Taulukko 10. Giemsa (mast solu) -värjäyksen tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020b).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Nukleiinihapot (basofiiliset)	sininen
Happamat kudokset	oranssinpunainen
Happamat mukopolysakkaridit	punavioletti

Mast solut eli syöttösolut ovat immuunijärjestelmän soluja. Ne ovat peräisin hematopoeettisista soluista, jotka vaeltavat varhaisessa vaiheessa kudoksiin ja erilaistuvat syöttösoluiksi mm. kantasolukasvutekijän vaikutuksesta. Eniten niitä löytyy ihosta ja limakalvoilta. Nämä ovat alueita, jotka joutuvat kosketuksiin ulkoisten taudinaiheuttajien kanssa. (Eklund ja Kovanen 1999.) Syöttösoluja on kahta tyyppiä. MC(T) soluja, jotka erittävät enimmäkseen tryptaasia, löytyy limakalvokudosten lähetyiltä ja ne toimivat pääasiassa immuunivasteessa. MC(TC)-soluja, joilla on keskeinen rooli myös kudosten

korjaamisessa, löytyy limakalvonalaisesta ja sidekudoksesta sidekalvon ja ihon vierestä, läheltä veri- ja imusuonia. (Fong & Crane 2021.)

Yliherkkyysreaktiossa allergeeni tarttuu syöttösolujen pintareseptoreihin kiinnittyneisiin IgE-immunoglobuliinimolekyyleihin ja tämä aktivoi syöttösolut erittämään histamiinia. Histamiini aiheuttaa yliherkkyysreaktioiden äkilliset oireet. Syöttösolut voivat puolustaa elimistöä myös parasiitteja ja bakteereja vastaan. Syöttösolujen sytoplasma on täynnä granuloita, jotka sisältävät tulehduksenvälittäjäaineita. Syöttösolujen yhtenä tehtävänä on kutsua tulehdusalueelle muita tulehdussoluja erittämällä ympärilleen tulehduksenvälittäjäaineita, kuten sytokiineja ja proteaaseja. Sairauksia, joissa syöttösoluja esiintyy runsaasti, on mm. mastosytoosi, sidekudossairaudet, kuten systeeminen skleroosi sekä fibroosi. (Eklund ja Kovanen 1999.)

#### 4.7 Toluidiininsini

Toluidiininsini (toluidine blue) -värjäystä käytetään kudosleikkeissä osoittamaan tiettyjä komponentteja kuten syöttösoluja, lima-aineita ja rustoa. Se on emäksinen matakromaattinen tiatsiiniväri, joka värjää selektiivisesti happamat kudskomponentit. Sillä on korkea affiniteetti nukleiinihappoihin. Se sitoutuu siis osiin, jotka sisältävät runsaasti DNA:ta ja RNA:ta. Toluidiininsini kuuluu tiatsiiniryhmään ja se liukenee osittain sekä veteen, että alkoholiin. Toluidiininsiniä on käytetty erilaisissa sovelluksissa. Sitä on käytetty kudosleikkeiden lisäksi väriteollisuudessa ja limakalvovärjäyksenä in vivo. (Sridharan & Shankar 2012.)

Toluidiininsini värjää kudoksia metakromaattisesti. Kun väriaine reagoi kudoksen kanssa, se tuottaa värin, joka eroaa alkuperäisestä väriaineesta ja muun kudoksen väristä. Vain tietyt kudoserakenteet voivat värjäytyä metakromaattisesti. Kudosten pinnalla on oltava vapaita elektronegatiivisia ryhmiä. Metakromasiassa väriaine absorboi valoa eri aallonpituuksilla ja sillä on kyky muuttaa väriään muuttamatta sen kemiallista rakennetta. Värimuutoksen aiheuttaa väriaineaggregaatio. Värikationit pinoutuvat kudoksessa paikkoihin, joissa on paljon anionisia ryhmiä. Pinoutuminen muuttaa läpäisevän valon spektrin maksimiaallonpituutta pidemmäksi ja punaisen värin sijaan havaitaan sininen väri. Tällä tavalla värjäytyviä aineita kutsutaan kromatroopeiksi ja näitä ovat mm. syöttösolut. Syöttösoluissa metakromasian aiheuttaa niiden sisältämä hepariini. (Sridharan & Shankar 2012.) HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian labo-



ratoriossa toluidiininsini-värjäystä käytetään juuri syöttösolujen eli mast solujen osoittamiseen, jos epäillään esimerkiksi systeemistä mastosytoosia. Värjäys tehdään käsinvärjäyksenä koneellisen parafiinin poiston jälkeen. Taulukko 11. kertoo värjäyksen tulokinnan. (Hus Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020e.)

Taulukko 11. Toluidiinin sininen värjäyksen tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020e).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Syöttösolut	violetti (sis. jyväsiä)
Tausta	sininen

#### 4.8 Berliininsini (rautavärjäys)

Rautavärjäystä käytetään yleisesti luuydin tutkimuksen yhteydessä hematologian laboratoriossa, mutta sitä voidaan käyttää myös patologian laboratorion tutkimuksissa (Tienhaara 2000: 159; Naukkarinen 2000: 158). Värjäyksen tarkoituksena on osoittaa elimistöön varastoitunut ferri-muotoinen rauta. Raudan tärkein varastoitumispaikka on luuydin. Kun elimistössä on liikaa rautaa, se varastoituu hemosideriiniksi löyhästi proteiiniin sidottuna. Tilaa kutsutaan hemosideroosiksi. (Naukkarinen 2000: 158.) Raudan kertyminen elimistöön voi aiheuttaa kudonvaurioita ja voi johtaa maksakirroosin, diabeteksen ja kardiomyopatian kehittymiseen. Tilaa kutsutaan hemokromatoosiksi. (Parkkila 2000.)

Värjäystä voidaan käyttää myös osoittamaan keuhkonäytteistä asbestinkappaleet ja siderofaagit. Siderofaagit ovat hemosideriiniä sisältäviä mononukleaarisia soluja (HUSLAB 2021). Värjäystä käytetään myös pigmenttien erotusdiagnostiikassa esimerkiksi, kun on tunnistettava, onko kyseessä ferritiini, hemosideriini vai melamiini. Berliininsini rautavärjäystä käytetään lisäksi vanhojen hematoomien tutkimisessa ja infarktidiagnostiikassa. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020a.)

Värjäysmenetelmästä on käytössä englanninkielisiä nimityksiä; Prussian blue, Berlin blue, Perls's reaction. Perusmenetelmä on kuitenkin sama ja se perustuu  $Fe^{3+}$ :n reaktioon kaliumferrosyanidin kanssa. Värjäyksessä ferrimuotoinen rauta vapautetaan kudoksen proteiinista suolahappokäsittelyllä. Kun ferrirauta reagoi kaliumferrosyanidin

kanssa ja se värjäytyy siniseksi. Hemoglobiiniin tai ferritiiniin vahvasti sitoutunut rauta ei värjäydy. Vastavärinä käytetään usein punaista Kernectrotia, jolloin siniseksi värjäytynyt rautapigmentti tulee hyvin esille. (Tienhaara 2000: 159; Naukkarinen 2000: 158.) Värjäystulos on kuvattu taulukossa 12.

Taulukko 12. Berliininsini (rautavärjäys) tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020a).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Ferri-ionit	kirkkaansininen
Tumat	punainen
Sytoplasma	vaaleanpunainen
Kupari	punainen
Uraani	ruskea
Nikkeli	vihreänvalkoinen

Värjäyksessä on tärkeää huomioida, että kaliumferrosyanidiliuos on tuoretta ja suolahappo lisätään siihen juuri ennen värjäystä. Värjäysastioiden puhtaus tulee myös huomioida, sillä rautajäämät voivat aiheuttaa taustalle hajavärjäytymistä. Rautavärjäyksessä käytetään kontrollina ferrirautaa sisältävää leikettä. (Naukkarinen 2000: 158; Carson & Hladik 2009: 257.)

#### 4.9 Ziehl-Nielsen

Ziehl-Nielsen värjäystä käytetään haponkestävien mykobakteerien osoittamiseen kudosteikkästä (Carson & Hladik 2009: 226). *Mycobacterium tuberculosis* -bakteeri aiheuttaa taudin nimeltä tuberkuloosi, joka ilmenee yleisimmin keuhkoissa. Keuhkotuberkuloosin tartuntatapa on pisaratartunta. Tuberkuloosin oireita ovat pitkittynyt yskä, pitkäaikaisen yskän paheneminen, keuhkoista nouseva lima, hengenahdistus, rintakipu ja veriyskökset. Noin 10 miljoonaa ihmistä sairastuu vuosittain tuberkuloosiin. Tartunta on usein saatu jo lapsuudessa ja voi olla piilevänä puhkeamiseen asti. Eniten tuberkuloosia sairastavia on Aasian ja Afrikan köyhillä alueilla. Suomessa todetaan noin 200–300 tuberkuloositapausta vuodessa. 1900-luvun alkupuolella se oli Suomessakin nuorten yleisimpiä kuolinsyitä. Tilanne parani 1940-luvulla tuberkuloosilääkkeiden käyttöönoton

myötä. Maahanmuuton lisääntyä, vajaa puolet sairastuneista Suomessa on ulkomaalaistaustaisia. Kantaväestöstä sairastuneet ovat usein iäkkäitä. HIV-infektio ja alkoholismi altistaa tartunnalle. (Vuento 2020.)

Mykobakteereilla on vahamainen hydrofobinen lipoidikapseli, joka imee värjäyksessä karbolifuksiinia. Fenoli tehostaa värjäytymistä poistamalla pintajännitystä ja parantamalla solukalvon huokoisuutta. Näin ollen väri pääsee paremmin tunkeutumaan kapselin läpi. Primaariväri värjää myös taustaa, mutta differoimalla suolahappo-etanoliliuoksella väri saadaan jäämään vain mykobakteerien solukalvoille, joista väri liukenee pois erittäin hitaasti. (Carson & Hladik 2009: 226; Morris & Ridgway & Suvarna 2019: 274.) Vastavärinä käytetään yleensä metyleeninsinistä. Värjäytymistä voidaan nopeuttaa värjäyslämpötilan nostamisella (Horobin & Bancroft 1998: 236–267). Mykobakteerit värjäytyvät kirkkaanpunaisiksi (taulukko 13.) (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020f).

Taulukko 13. Ziehl-Nielsen värjäyksen tulkinta. (HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020f).

VÄRJÄYTYVÄ OSA	VÄRJÄYSTULOS
Haponkestävät bakteerit	kirkkaanpunainen
Tausta	vaaleansininen

Kontrollina jokaisessa Ziehl-Nielsen värjäyksessä käytetään haponkestäviä organismeja sisältävää kudosta (Carson & Hladik 2009: 228). Näytteen altistumista vahvoille hapoille tulee välttää, sillä tämä voi vähentää primaarivärjäytymistä värin differoituessa halutuista osista pois. Liian voimakas vastavärjäys voi peittää mykobakteerit. Tällöin värjäysaika tulee lyhentää. (Horobin & Bancroft 1998: 236–240.)

## 5 Värjäysten laatuun vaikuttavia tekijöitä

Patologian laboratoriossa, kuten muissakin laboratorioissa, virheettömän diagnoosin saamiseen vaikuttavat preanalyttiset, analyttiset ja postanalyttiset toimet (Kujari 2017). Laadukas toiminta sisältää potilaan tarkan tunnistamisen, oikeanlaisen kudokäsittelyn fiksaatiosta kudokuljetukseen ja valamiseen, hyvän leikkausjäljen mikrotomilla, artefaktattomat leikkeet ja laadukkaan värjäyksen. (Cox & Colgan 2019: 17.)

Nämä kaikki kuuluvat päivittäiseen laboratorion omaan laadunvalvontaan. Patologian laboratorion ulkoisilla laadunvalvontakierroksilla arvioidaan laboratorion teknistä ja diagnostista suorittamista. Histologian laboratorioon lähetetään valmiita värjäämättömiä näytteitä kussakin yksikössä tehtävistä värjäyksistä, jotka laboratorio sitten värjää valmiiksi preparaateiksi. Asiantuntijat arvioivat preparaattien laadun. Diagnostisilla kierroksilla arvioitaviksi toimitetaan digitaalista materiaalia. (Kujari 2017.)

Usein patologian laboratorioissa tehtävät värjäysmenetelmät on akkreditoitu. Akkreditointi tarkoittaa pätevyyden osoittamista kansainväliseen kriteeriin perustuvalla menetelytavalla. Laboratorion tulee täyttää akkreditointivaatimuksena olevassa standardissa kuvatut vaatimukset. Tulokset tulee osoittaa oikeiksi ja vertailukelpoisiksi. Akkreditoidussa kliinisessä laboratorioissa noudatetaan standardin SFS-EN ISO 15189:2013 mukaisia vaatimuksia. Akkreditointi on vapaaehtoista terveydenhuollon sektorilla. (Finas 2015.)

Laadukkaaseen värjäyksen lopputulokseen pääsemisen perustana ovat ohuet, tasaiset ja rypyttömät leikkeet. On myös välttämätöntä, että leikkeestä saadaan poistettua ennen värjäystä veteen liukenematon tukiaine, kuten parafiini, jotta värit pääsevät sitoutumaan kudokseen. (Naukkari 2000: 158.) Jos vahaa jää kudostenleikkeeseen, värjäytyvyys heikkenee ja näin ollen myös kudosten rakenteiden eroteltavuus huononee. Vahanpoiston tärkeys näkyy myös histokemiallisissa ja immunohistokemiallisissa menetelmissä. Parafiinijäämät voivat haitata antigeenien esittelyä ja vaikeuttaa biokemiallisten muutosten havaitsemista. (Faoláin ym. 2005.) Lasit eivät saa kuivua missään värjäysvaiheessa ja liuokset tulee säilyttää peiteltyinä, kun ne eivät ole käytössä. Jos liuokset pääsevät haihtumaan, objektilasit eivät ehkä peity värjäyksessä kokonaan ja värjäys epäonnistuu. (Carson & Hladik 2009: 116.)

Kemppaisen (2013) tekemän opinnäytetyön mukaan konevärjäyksen mahdollisia virhelähteitä voisivat olla mm. liuosten väärin valmistaminen tai niiden vanheneminen. Esimerkiksi PAS-värjäyksessä käytettävä perijodihappo tulee vaihtaa viikon välein. Myös HE-värjäyksessä liuoksia tulee vaihtaa tietyn värjäysmäärän tultua täyteen (Carson & Hladik 2009: 117). Vaihto väleissä voi olla laboratoriokohtaisia eroja värjäysmäärien mukaan. Selvityksen mukaan, virhelähteinä voivat olla myös värjäyskoneen tekniset häiriöt ja sähkökatkot, jolloin lasit voivat esimerkiksi jäädä liian pitkäksi aikaa johonkin reagenssiin. Inhimillisistä virheistä Kemppainen mainitsee värjäyskoneen vesihanauksen avaamisen unohtumisen. (Kemppainen 2013.)

Värjäyksiä käsin tehdessä eri värjäysvaiheet kestävät tarkasti laadittuja aikoja. Joistakin tunneista minuutteihin tai sekunteihin. Toiset ajat ovat kriittisempiä kuin toiset. Regressiivisissä värjäyksissä työohjeet ovat usein myös tulkinnanvaraisia, kuten ”diffaa vaaravasti, kunnes leike on vaaleanpunainen” tai ”diffaa kunnes ei enää muodostu väripilviä”. Laboratoriohoitajalta vaaditaan siis tarkkuutta ja kokemuksen tuomaa tietoa, jotta värjäyksen lopputulos on laadukas. Värjäysten mahdolliset virhelähteet on koottu taulukkoon 14.

Taulukko 14. Kone- ja käsin värjäyksen mahdollisia virhelähteitä.

Konevärjäyksen virhelähteitä	Käsin värjäyksen virhelähteitä
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Liuosten väärin valmistaminen</li> <li>• Liuosten vanheneminen</li> <li>• Värjäyskoneen tekniset häiriöt</li> <li>• Sähkökatkot</li> <li>• Vesihanan avaamisen unohtuminen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Liuosten väärin valmistaminen</li> <li>• Liuosten vanheneminen</li> <li>• Värjäysastioiden epäpuhtaus</li> <li>• "Kellottamisen" virheet</li> <li>• Liian pitkä tai liian lyhyt diffausaika (ohjeet usein tulkinnanvaraisia)</li> </ul>

Kriteerinä hyväksyttävälle histologiselle värjäykselle voidaan pitää tuman yksityiskoh-  
tien erotettavuutta ja riittävää värjäysintensiiteettiä, jolloin eri kudskomponentit erottu-  
vat toisistaan. Kolmas kriteeri on värjäyksen puhtaus. Puhtaassa värjäyksessä tausta-  
värjäytyminen on saatu minimiin riittävien pesujen ja esikäsitteilyjen avulla. (Naukkari-  
nen 2000: 158.) Kontrollilasiens värjäys ennen varsinaisten leikkeiden värjäystä ja vär-  
jäystuloksen tarkistaminen mikroskoopilla kustakin värjäyserästä pitää laadun tasai-  
sena (Carson & Hladik 2009: 116).

## 6 Virtuaalimikroskopia digitaalisessa patologiassa

Virtuaalimikroskopia tarkoittaa skannattujen näytelasien analysointia tietokoneen kuva-  
ruudulta. Digitaalinen patologia on laajempi käsite, joka sisältää virtuaalimikroskopian  
lisäksi digitalisoitumisen aikaansaamia hyötyjä tuotantoprosessien hallinnasta digitaali-  
seen kuva-analyysin. Virtuaalimikroskopia ja sitä kautta digitaalinen patologia tulee

muuttamaan histopatologista diagnostiikkaa lähitulevaisuudessa. Se tulee parantamaan työkulkua, potilasturvallisuutta ja diagnostiikan laatua. Sen tuomien hyötyjen katsotaan olevan kustannuksista huolimatta kannattavia. (Tolonen & Näpänkangas & Isola 2021c.) Virtuaalimikroskopian avulla voidaan parantaa histologisten leikkeiden laatua, sillä ajan myötä lasit haalistuvat. Lisäksi perinteisiä laseja käsitellessä on aina vaarana niiden särkyminen ja näytteen menettäminen. (Ruotoistenmäki 2010.)

## 6.1 Virtuaalikuvaustekniikka

Virtuaalimikroskopiassa histologiset lasit kuvataan lasiskannerin avulla. Skanneri on robottimikroskooppi, joka kuvaa koko lasin pala palalta ja yhdistää tai liittää palat yhteen digitaaliseksi kuvaksi ohjelmiston avulla. Kuvaa voidaan katsella, suurentaa ja navigoida eri puolille ”lasia” tietokoneen näytöllä, aivan kuin valomikroskoopissakin. Virtuaalimikroskooppitekniikka on kehittynyt 2010-luvulta alkaen ja markkinoilla on tällä hetkellä useimpia digitaalista kuvaa tuottavia lasiskannereita. Laitteet käyttävät kuvaukseen kahdenlaista tekniikkaa. Useimmat skannerit kuvaavat lasin laattoina, jotkut taas luovat lineaarisia skannauksia läpi lasin. Molemmissa menetelmissä laatat tai viivaskannaukset liitetään yhteen ja tasoitetaan erikoisohjelmistolla. Näin saadaan yksi yhtenäinen digitaalinen kuva. (Melo ym. 2020.)

Jotta digitalisoitu histopatologia voisi toimia perinteisen valomikroskoopilla tehtävän diagnostiikan kaltaisesti, kaikki kudoslasi tulee skannata ja tallentaa tiedostoiksi. Patologi voi tarkastella skannattuja laseja paikan päällä tai etänä. Jotta etänä katselu onnistuu, tarvitaan sopivia laitteita, palvelimia ja riittävän suuri kaistanleveys tiedon siirtoon. Lasiskannerit tulee olla hyväksytyt EU:n in vitro-diagnostiikkaa koskevan direktiivin 98/79/EY mukaisesti. Useimmilla laitteilla ja niihin liittyvillä ohjelmistoilla on tällä hetkellä CE-IVD-merkki. Merkintä pitää sisällään tieteellisen validiteettiraportin sekä analyttisen ja kliinisen suorituskykyraportin. Jotta värit toistuvat skannatuissa laseissa oikein, skannerit tulee kalibroida säännöllisesti ja väripoikkeamat korjataan. Näyttöjen värikalibrointi on myös suositeltavaa eri valaistusolosuhteiden takia. (Jahn & Plass & Moifar 2020.) Laadukkaasti valmistetut kudoslasi mahdollistavat lasien nopean skannauksen ja korkearesoluutiolliset kuvat. Kudosartefaktat tai liian paksut leikkeet pidentävät skannausaikaa ja voivat häiritä lasien tulkintaa. (Pantanovitz ym.2012.)

Virtuaalimikroskopiaan voidaan yhdistää myös tekoäly. Tekoälyä on käytetty viime vuosina menestyksekkäästi eturauhassyövän havaitsemisen apuna ja luokittelussa. Israelilainen The Galen™ Prostate software on ensimmäisiä tekoälypohjaisia patologia-järjestelmiä, joka on otettu rutiininomaiseen käyttöön patologiassa. Algoritmi havaitsee eturauhassyövän neulabiopsianäytteestä digiskannatulta lasilta. Tulevaisuudessa tekoälyn suorittama esiseulonta voi korvata negatiivisissa tapauksissa ihmisen tekemän arvioinnin. (Jahn & Plass & Moinfar 2020.)

## 6.2 Digitaalinen patologia Suomessa ja maailmalla

Suomessa virtuaalimikroskopiaa on käytetty 2000-luvun alusta alkaen opetustyökaluna mm. lääketieteen opiskelijoiden perusopetuksessa, patologian koulutusseminaareissa ja kliinisen sytologian ja patologian diagnostiikan laadunarviointikierroksilla. Virtuaalisten näytelasien vahvuus on perinteisiin opetuslasikokoelmiin nähden kiistaton. Lasikoelman ylläpito on työlästä ja lasit ovat usein vanhoja ja niiden värjäykset haalistuvat ajan myötä. Harvinaisen sairauden aiheuttamista muutoksista ei ehkä riitä materiaalia ylimääräiseen parafiinileikkeeseen opetuskäyttöön. Lisäksi valomikroskoopin käytön oppiminen valoituksen ja ristipöydän säätämiseen vaatii totuttelua. Virtuaalisen näytelasikokoelman etuja ovat myös kokoelman päivitettävyyden ja se, että kaikilla opiskelijoilla on käytössä täsmälleen sama edustava lasi, jota voidaan esitellä myös yhteiseltä näytöltä. (Tolonen & Näpänkangas & Isola 2021d.)

Digitaalitekniikasta tulee olemaan hyötyä patologioiden välisessä konsultaatiotoiminnassa. Näytelasien postittaminen on ollut hidasta ja hankalaa ja niitä on voitu joutua lähettämään jopa toiselle puolelle maapalloa harvinaisten tai muuten haastavien tautien diagnosoimiseksi. Konsultoitavat digitaaliset PAD-näytteet voidaan parhaimmillaan arvioida reaaliajassa lähettävän ja konsultoivan patologin katsellessa samanaikaisesti näytettä omilta näytöiltään. Patologipulan vuoksi voidaan konsultoida etäyhteyden päässä olevaa patologiaa. Esimerkiksi jääleiketutkimuksissa, joissa tarvitaan patologin lausunto leikkauksen ollessa käynnissä, tutkimuksen voi käynnistää siihen koulutettu hoitaja ja vastuussa oleva patologi on yhteydessä laboratorioon internetkameran välityksellä. (Tolonen & Näpänkangas & Isola 2021b.) Etelä-Karjalan patologian laboratorioon lasiskanneri on hankittu juuri konsultaatioita varten mahdollista patologipulaa silmällä piltäen. Vielä toistaiseksi laitetta ei ole tähän tarkoitukseen käytetty.

Diagnostiikassa digitaalista patologiaa hyödynnetään Suomessa vielä suhteellisen vähän. Syy lienee teknologinen, sillä histologisten näytteiden skannaaminen tuottaa erittäin suuria tiedostoja, joiden käsittely, tallennus ja välittäminen ovat olleet haaste rutiinimaiselle digitoinnille. Pysyvästi tallennettujen digitaalisten näytearkistojen ylläpitämisen arvioidaan olevan suurin digipatologian kustannuserä tulevaisuudessa. Laitteistot ovat nykyään jo kuitenkin nopeudeltaan, kuvanlaadultaan ja kapasiteetiltaan riittäviä. Myös digipatologian vaatimien tehokkaiden työasemien ja korkean resoluution näyttöjen hinnat ovat laskeneet kohtuullisiksi. Lisäksi nykyiset verkkoyhteydet mahdollistavat sujuvan katselun hyvällä resoluutiolla. Digitaalinen työskentely on kuitenkin kustannustehokasta ja se parantaa jäljitettävyyttä ja diagnostiikan laatua. (Tolonen ym. 2021c; Tolonen & Näpänkangas & Isola 2021a.)

Maailmalla digitaalinen patologia on noussut perinteisen patologian rinnalle, mutta vain harvassa laboratorioissa syrjäyttänyt sen kokonaan. Hyviä kokemuksia on saatu mm. Kanadan harvaan asutuilla syrjäisillä alueilla, joiden sairaaloissa on puute patologeista. Digipatologian avulla leikkauksia on pystytty tekemään sairaaloissa, joissa patologi ei ole fyysisesti paikalla. (Têtu ym. 2012.) Täysin digitaaliseen patologiaan siirtynyt sairaala on Utrechtiin yliopiston lääketieteellinen keskus Alankomaissa. Digitaalisen järjestelmän käyttöönotto on lyhentänyt näytteiden läpimenoaikoja ja parantanut työskentelyergonomiaa. Useimmat käyttäjät pitivät skannattujen lasien laatua hyvänä ja luottivat näin ollen diagnostiikkaan. (Stathonikos & Nguyen & Spoto & Verdaasdonk & Diest 2019.) Covid-19 pandemian aikana patologit ovat pystyneet työskentelemään joko kotona tai laboratorioissa digitaalisen patologian ansiosta. Etätyöskentely on myös helpottanut aikataulutusta. (Eloy ym. 2021.)

## 7 Digitaalinen oppimateriaali

Ekonoja (2014) esittelee oppimismateriaaleja Sirkka Hirsjärven vuosina 1978 ja 1983 tekemän määritelmän mukaan, jossa oppimateriaali on perinteisesti tarkoittanut kaikkia niitä materiaaleja, jotka välittävät oppilaille tietoja, taitoja ja asenteita koulutuksen tavoitteiden mukaisesti. Se voi olla tietoa sisältävä lähde, kuten kirja tai myös laite tai aine, jonka avulla opitaan. Nykyään oppimateriaaleja ovat myös verkosta saatavat materiaalit. (Ekonoja 2014: 56–57). Heinonen (2005) on viitannut tutkimuksessaan Jorma Ekolan 1978 tekstiin, josta käy ilmi, että oppimateriaalit voidaan jaotella kirjalliseen op-



pimateriaaliin (esim. oppikirjat), visuaaliseen oppimateriaaliin (esim. kalvot), auditiiviseen oppimateriaaliin (esim. äänitteet), audiovisuaaliseen oppimateriaaliin (esim. videot) ja muuhun oppimateriaaliin (esim. oppimispelit). (Heinonen 2005: 30).

Tässä työssä käytetään nimitystä digitaalinen oppimateriaali. Eri lähteissä materiaaleista käytetään vaihtelevia nimityksiä, kuten sähköinen-, verkko-, tai e-oppimateriaali. Kaikille on kuitenkin yhteistä, että käyttö tapahtuu tietokoneella tai muulla tietoteknisellä laitteella. Digitaalinen oppimateriaali on usein käytettävissä internetin kautta, mutta se ei ole vaatimus. Se voi sisältää kuvia, videoita, tekstiä ja animaatioita. Se voi olla opintokokonaisuuden osa tai kokonainen opintokokonaisuus, kuten sähköinen oppikirja. (Ekonoja 2014: 58–59).

Digitaalista oppimateriaalia voidaan käyttää apuna uusien työntekijöiden perehdytyksessä ja työhönopastuksessa. Perehdytyksellä tarkoitetaan kaikkia toimenpiteitä, joilla uusi työntekijä oppii tuntemaan työpaikkansa, sen tavat, ihmiset ja työhön liittyvät odotukset. Tarkoitus on, että työntekijä oppii nopeasti uudet työtehtävät ja pääsee osaksi työyhteisöä. Työhön opastamiseen kuuluu puolestaan kaikki itse työntekemiseen liittyvät asiat. Apuna perehdytyksessä voidaan käyttää tukimateriaaleja, kuten käsikirjoja, kuvia ja videoita. (Ahokas & Mäkeläinen 2013.)

Digitaalisten oppimateriaalien käyttö on lisääntynyt viime vuosina laboratoriotyöskentelyssä. Verkon välityksellä voidaan perehdyttää ja kouluttaa mm. vieritutkimuksien tekemiseen. Digitaaliset kuvat, videot ja kyselyt ovat myös osa ulkoista laadunvalvontaa. Labquality käyttää digitaalisia näytteitä mm. patologian ja parasitologian laatukierroksilla. Kertyvää näyteaineistoa voitaisiin hyödyntää myös oppimateriaalina. (Wahlstedt 2017.)

Verkon kautta jaettavat oppimateriaalit ovat hyvänä apuna tilanteissa, kun opetus toteutetaan etänä, kuten monimuoto-opinnoissa. Verkko-oppiminen on myös lisääntynyt Covid-19 pandemian aikana, joka pakotti koulutusohjelmien siirtymisen etäopetukseen. Verkko tarjoaa erilaisia oppimisympäristöjä ja työkaluja opetuksen toteuttamiseen, kuten Moodle ja viestinnän välineitä kuten Zoom ja Microsoft Teams. (Westö 2020.) Patologian opetuksessa virtuaalimikroskoopin käyttö ja muut digitaalisen patologian menetelmät pandemian aikana ovat mahdollistaneet opetuksen jatkumisen. (Christian & VanSandt 2021).

Oppimateriaaleihin kohdistuu paljon toiveita. Sen tulisi vastata eri sidosryhmien kiinnostuksen kohteisiin ja vaatimuksiin. Oppimateriaalin tulisi vaalia yhteiskunnan arvoja ja perinteitä, mutta sen tulisi kuitenkin olla modernia ja tuoda uusia näkemyksiä. Sen pitäisi sisältää faktaa ja samalla herättää tunteita. Hyvän oppimateriaalin tulisi kestää aikaa, mutta olla samalla ajankohtainen. Sen pitäisi myös sopia erilaisille oppijoille. (Heinonen 2005: 31.)

Samoja periaatteita voidaan soveltaa myös digitaaliseen oppimateriaaliin. Lappalainen (2020) viittaaakin tekemässään tutkimuksessa Heinosen (2005) esittämiin seikkoihin laadukkaasta oppimateriaalista. Tutkimuksessa kartoitettiin luokanopettajien kokemuksia sähköisen oppimateriaalin käytöstä. Kokemuksien mukaan sähköiset oppimateriaalit monipuolistavat ja auttavat eriyttämään opetusta. Sen koetaan myös motivoivan oppilaita. Sähköisen oppimateriaalin koettiin myös lisäävän jonkin verran oppilaiden itsenäistä työskentelyä. Itsenäisen työskentelyn lisääntyessä oppimateriaalin laadukkuus korostuu ja opettajien tulee voida luottaa materiaalin sisältöön. (Lappalainen 2020: 79–82.) Digitaalinen oppimisympäristö monipuolisine sisältöineen voi parantaa oppimistuloksia (Zwart & Van Luit & Noroozi & Goei & Cheng 2017). Toisaalta, jos tämän tyylisen oppimisympäristö on vieras, voi se lisätä opiskelijoiden epävarmuutta ja vähentää tehokkuutta (Zwart & Noroozi & Van Luit & Goei & Nieuwenhuis 2020).

Opetushallituksen mukaan oppimateriaaleissa on aina jokin pedagoginen lähtökohta ja laadukas materiaali soveltuu luontevasti opetus- ja opiskelukäyttöön tukien opetusta ja oppimista. Sähköinen oppimateriaali tarjoaa pedagogista lisäarvoa. Tällä tarkoitetaan uudenlaisia tiedon käytön ja kehittämisen keinoja, uudenlaisia yhteisöllisyyden ja jakamisen käytäntöjä ja eri mahdollisuuksia tehtävien tekemiseen. Uuden asian opettamisessa käytetään hyväksi verkon teknisiä mahdollisuuksia, kuten vuorovaikutteisuutta, jakamista ja linkityksiä. Laadukkaassa digitaalisessa oppimateriaalissa yhdistyvät mielekkäät tehtävät ja oppimisen kannalta keskeinen sisältö, joka on tuotettu visuaalisesti mielekkäästi ja teknisesti toimivana kokonaisuutena. (Opetushallitus 2021.)

Kun oppimateriaalia suunnitellaan, tulee ottaa huomioon, millä keinoilla materiaalista saadaan mahdollisimman informatiivinen. On tiedossa, että kuvia ja tekstiä rinnakkain käyttämällä luodaan parhaat olosuhteet tiedon käsittelemiselle, sisäistämiselle ja muistamiselle. Hyvin suunniteltu visualisointi, eli kuvan ja kirjoituksen sekamuoto, tukee sekä nopeaa että hidasta ajattelua. Kuvat myös auttavat hahmottamaan aineiston rakennetta ja muodostamaan nopean, intuitiivisen kokonaiskuvan. Teksti taas pureutuu

yksityiskohtiin ja opastaa syvempään tulkintaan. Uusi tieto jää parhaiten mieleen, kun se on esitetty sekä kuvallisessa, että sanallisessa muodossa. Tieto ikään kuin kaksoiskoodataan nonverbaaliseen ja verbaaliseen aivojärjestelmään. (Koponen & Hildén & Vapaasalo 2016:19.)

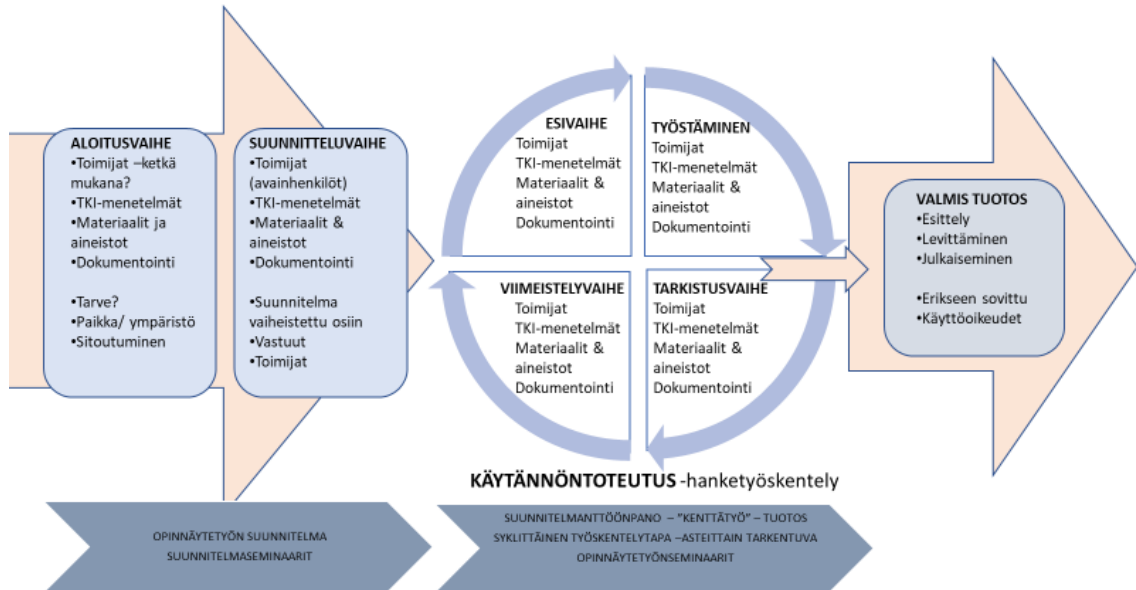
Ihmisillä uskotaan olevan erilaisia tapoja oppia ja käsitykset parhaasta tavasta oppia ja opettaa ovat muuttuneet ajansaatossa. Eri oppimisteoreetikot ovat luoneet omia mallejaan, kuten behaviorismi, konstruktivismi ja steiner-pedagogiikka. Viime vuosikymmenillä on syntynyt ajatus, että jokaisella oppijalla on oma tyypillinen oppimistyylinsä. Moni tutkija kuitenkin kritisoi näitä malleja ja esimerkiksi suosittu oppijoiden luokittelu auditiivisiin, kinesteettisiin ja visuaalisiin oppijoihin elää vahvana myyttinä, joka perustuu vain yhden tutkijan malliin. Tämän teorian mukaan visuaalinen oppija oppii parhaiten visuaalisen sisällön kautta ja auditiivinen taas kuuntelemalla. Kinesteettisen oppijan uskotaan taas oppivan parhaiten itse tekemällä. Mikään tieteellinen näyttö ei kuitenkaan todista, etteikö oppija voisi hyötyä näistä kaikista menetelmistä. (Kontinen 2008; Linja-Aho 2018; Yale.)

## **8 Toiminnallinen opinnäytetyö menetelmänä**

Työn menetelmä pohjautuu toiminnallisen opinnäytetyön malliin. Toiminnallisessa opinnäytetyössä työn tuotoksena syntyy uusi tai aikaisempaa parempi innovaatio, kuten opas, perehdytysmateriaali tai esite. Työ perustuu tietoperustaan ja teoriaan. Tuotoksen lähtökohtana on työn kehittäminen ja opinnäytetyö tehdään usein tiiviisti yhteistyössä työn tilaajan kanssa ja siinä ympäristössä, johon tuote tulee käyttöön. (Salonen 2013: 5–6, 13–14.) Opinnäytetyön raportti eli kirjallinen osuus on esitys hankkeesta, jonka tuotoksena on syntynyt itsenäinen tuotos.

”Se on kokonaiskuvaus kehittämistoiminnan ymmärtämisestä, alakohtaisesta ammatillisuudesta, ammattikorkeakoulun innovatiivisuudesta ja tekijän omasta oppineisuudesta” (Salonen 2013: 25).

Salonen (2013) kuvaa toiminnallisen opinnäytetyön vaiheita ja sisältöjä konstruktivistisen mallin mukaan. Malli sisältää aloitusvaiheen, suunnitteluvaiheen, esivaiheen, työstövaiheen, tarkistusvaiheen, viimeistelyvaiheen ja valmiin tuotoksen (kuvio 1).



Kuvio 1. Kehittämistoiminnan konstruktivistinen malli (Salosta 2013: 20, mukailleen).

- Aloitusvaihe laittaa kehitystoiminnan liikkeelle. Siinä määritellään kehittämistarve, toimintaympäristö, mukana olevat toimijat ja heidän osallistumisensa ja sitoutuminen tulevaan työhön. Aloitusvaihe linjaa hankkeen suunnan.
- Suunnitteluvaiheessa tehdään hankesuunnitelma/opinnäytetyönsuunnitelma, josta ilmenee työn tavoitteet, toimintaympäristö, työn eri vaiheet, toimijat, menetelmät, käytettävät materiaalit, tiedonhankintamenetelmät ja dokumentointitavat.
- Esivaiheessa opinnäytetyöntekijä siirtyy siihen toimintaympäristöön, jossa varsinaisen työ toteutetaan. Tässä vaiheessa suunnitelma käydään nopeasti läpi työpaikalla ja organisoidaan tulevaa työskentelyä ennen varsinaista työstövaihetta.
- Työstövaihe on toiminnallisen opinnäytetyön pisin ja vaativin vaihe. Tässä vaiheessa tehdään käytännön toteutusta ja suunnitelmavaiheessa kuvatut osatekijät realisoituvat. Työstövaihe on ammatillisen kehittymisen kannalta tärkeä vaihe.
- Tarkistusvaiheessa työssä mukana olevat toimijat arvioivat yhdessä syntynyttä tuotosta ja joko palauttavat sen takaisin työstövaiheeseen tai siirtävät viimeistelyvaiheeseen.
- Viimeistelyvaihe voi olla aikaa vievä. Siinä työtä hiotaan ja karsitaan pois turhia osia ja viimeistellään sekä tuotos, että kehittämishankeraportti.
- Valmis tuotos esitellään ja otetaan käyttöön. (Salonen 2013: 17–19.)

Toiminnallisen opinnäytetyön hankeraportti eli työn kirjallinen osa kirjoitetaan usein topiikkipohjaista rakennetta käyttäen. Tässä rakenteessa opinnäytetyötä avataan topiikki eli aihe tai teema kerrallaan ja työn toteuttamisprosessi ja menetelmät kuvataan tekstin loppupuolella ennen pohdintaa. Topiikkipohjaisella mallilla ja perinteisellä tutkielmamal-

lilla on yhteistä alun johdanto-osa ja loppuosan pohdintaosa. Topiikit jäsennellään tekstikohtaisesti opinnäytetyön toteuttamistavan ja tarkoituksen mukaan. Usein tuotetyypissä opinnäytetöissä ennen päätelmien esittämistä on viimeisenä topiikkina työn prosessin tai tuotoksen kuvaus. Tuloksia ja pohdintaa ei välttämättä erotella tiukasti toisistaan. Pohdinta osa voi olla lyhyt yhteenveto, joka kokoaa yhteen työssä esiintyvät havainnot. (Vuorijärvi 2013:75–76.)

## 9 Digitaalisen kuvakansion toteutusprosessi

Opinnäytetyön tilaajana on Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan patologian laboratorio. HUS Diagnostiikkakeskuksella on noin 170 toimipistettä Uudellamaalla, Kymenlaaksossa ja Etelä-Karjalassa. Etelä-Karjalan laboratorio ja kuvantaminen liittyivät osaksi HUS Diagnostiikkakeskusta vuoden 2020 alussa. Hus Diagnostiikkakeskus jakautuu tulosityksiköihin, joita kutsutaan toimialoiksi. Radiologia ja patologia muodostavat yhdessä yhden toimialan. Nämä jakautuvat vielä kahdeksi vastuualueeksi, HUS kuvantaminen radiologiaksi sekä HUSLAB patologiaksi. (Lehtonen 2020; HUS Diagnostiikkakeskus 2021.) Etelä-Karjalassa patologian osastolla työskentelee noin kymmenen henkilöä.

Opinnäytetyön prosessi käynnistyi elokuussa 2021, kun sain Etelä-Karjalan patologian laboratoriosta tiedon, että he tarvitsivat värjäysten kirjallisten työohjeiden rinnalle kuvallista oppimateriaalia. Oli koettu, että varsinkin harjoittelussa olevien opiskelijoiden ja uusien työntekijöidenkin perehtymistä voisi auttaa kuvat kustakin tehtävästä värjäyksestä kirjoitetun ohjeen rinnalla. Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa tehtäviä histologisia värjäyksiä on kaiken kaikkiaan kaksitoista. Lisäksi koettiin tarpeelliseksi saada kuvat myös Meilahden laboratoriossa tehtävistä rinnakkaisvärjäyksistä, eli vastaavista, mutta eri menetelmällä tehdyistä värjäyksistä. Niitä tähän työhön otettiin kolme. Laboratorion työntekijät, erityisesti työni ohjaaja, avustivat sopivien näytteiden etsimisessä. Myös patologin kanssa pohdittiin, mikä kudos osoittaisi parhaiten tiettyjen värjäysten ominaisuuksia. Yhtä kuvaa varten valmistettiin myös uusi lasi ja toista kuvaa varten lasille leikattu näyte lähetettiin Meilahden patologian laboratorioon värjättäväksi.

Koska kuvattavia laseja tuli työhön paljon, katsottiin työn laajuuden kannalta järkeväksi käyttää valmiiksi värjättyä laseja. Kustakin värjäyksestä etsittiin laadukas lasi ja nämä kuvattiin digitaaliseen muotoon patologian laboratoriossa olemassa olevalla Precipoint M8-merkkisellä lasiskannerilla. Laitteessa on mikroskooppi ja skanneri, joka skannaa

ensin koko lasin. Näytöltä voidaan tämän jälkeen zoomata yksityiskohtia halutulta alueelta. (Precipoint.) Lasiskannerilla, virtuaalisen mikroskopian laitteella, on tulevaisuudessa merkittävä rooli digipatologiassa, siksi päätin käsitellä aihetta myös tämän työn kirjallisessa osuudessa.

Sain tutkimusluvan Hus Diagnostiikkakeskukselta marraskuun puolivälissä, jonka jälkeen aloitettiin yhdessä työelämäohjaajan kanssa etsimään arkistosta sopivia laseja ja tilattiin Meilahden patologianlaboratoriosta lasit HE-, Herovici- ja elastiset säikeet -värjäyksistä. Sopivien lasien löytyttyä aloin perehtymään lasiskannerin ominaisuuksiin ja testaamaan millaisella suurennoksella kuvat opetusmateriaaliin tulisivat. Eri lasiskanneilla on erilaisia ominaisuuksia. Eroja on niiden skannauskapasiteetissa, objektiivivalikoimassa sekä kuvan resoluutiossa. 20-kertaisella objektiivilla suurennettua skannausta pidetään digitaalisten lasien vakiosuurennoksena ja tämä soveltuu useimpiin histopatologisiin analyysiin. (Melo ym. 2020.) Useimmissa värjäyksissä päädyin käyttämään 20-kertaista suurennosta, mutta joissakin osoitusvärjäyksissä 10- tai 5-kertainen suurennos havainnollisti värjäystä paremmin. Yksityiskohtien, kuten bakteerien osoittamiseen kuvasta käytin 40-kertaista suurennosta.

Skannattuja laseja tietokoneen ruudulta tarkastellessa totesin, etteivät digitaaliset ominaisuudet ole täysin verrattavissa valomikroskooppiin. Kyseisessä lasiskannerissa on 20-kertainen objektiivi. Siitä suurempiin suurennoksiin laite käyttää digitaalista zoomausta, jota ei voi enää verrata valomikroskoopin esim. 40-kertaisen objektiivin suurennokseen. Esimerkiksi helico giemsa -värjäyksessä, bakteerit kyllä näkyivät skannauksesta, mutta tarkennus ei riittänyt tekemään niistä riittävän teräviä hyviä kuvia varten. Siksi Helico giemsa, Giemsan mast solu ja Ziehl-Nielsen-värjäyksissä, kuvat päädyttiin ottamaan valomikroskoopilla, johon on liitetty kamera. On havaittu, että skannaustekniikkaan voi luoda haasteita näytteen yhdentasoisuus. Perinteisessä mikroskopiassa näytettä tarkastellaan eri tarkennustasoilta. Esimerkiksi joidenkin mikro-organismien ja mitosien löytäminen voi olla hankalaa ilman fokuointia. Lisäksi digitaalisesti yhdistetyt yksittäisten kuvien reunat voivat peittää joitakin yksityiskohtia. Skannatun lasin lisäksi saatetaan näistä syistä joutua tarkastamaan näyte manuaalisesti valomikroskoopilla tai skannaamaan lasi uudelleen artefaktujen takia. (Jahn & Plass & Moinfar 2020.)

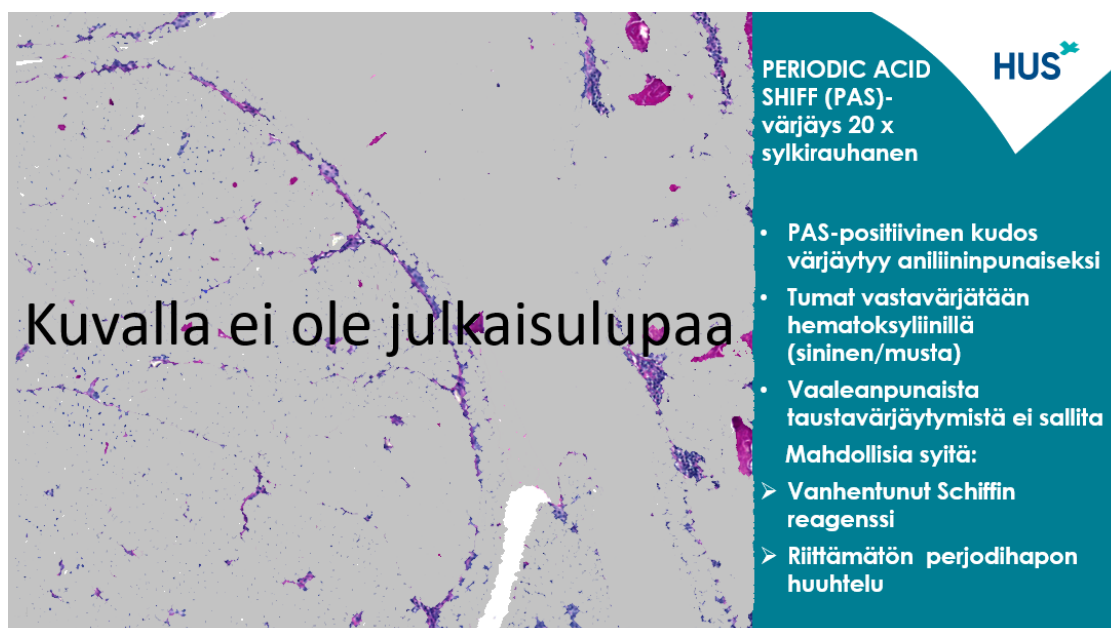
Kuvasin laseja ja etsin tietoa värjäyksistä rinta rinnan. Joidenkin värjäysten kohdalla huomasin kuitenkin tiedon karttuessa, ettei otettu kuva ihan riittänytään kertomaan

värjäyksen olennaisinta asiaa, joten palasin laboratorioon ottamaan paremman kuvan. Alkuperäisen suunnitelman mukaan ottamani kuvat oli tarkoitus liittää myös tähän raporttiin kunkin värjäyksen esittelyn yhteyteen, mutta prosessin loppuvaiheessa tuli ilmi, ettei kuvien julkaisuun HUS Diagnostiikkakeskuksen ulkopuolelle ole lupaa. Tämä perustuu vuonna 2019 säädettyyn toisiolakiin, joka määrittää kehittämis- ja innovaatiotoiminnan sosiaali- ja terveystietojen toissijaiseksi käytöksi. Eli kun sosiaali- ja terveydenhuollossa syntyneitä asiakas- ja rekisteritietoja käytetään muussa kuin alkuperäisessä käyttötarkoituksessa, käyttöön tarvitaan tietolupa. Lailla turvataan mm. henkilötietojen tietoturvallinen käsittely ja yksilön luottamuksensuoja. Toisaalta laki mahdollistaa tietojen tehokkaan ja tietoturvallisen käsittelyn. (Sosiaali- ja terveysministeriö; Laki sosiaali- ja terveystietojen toissijaisesta käytöstä 552/2019.) Vaikka kuvani eivät sisällä mitään tunnistetietoja, lupa niiden julkaisuun opinnäytetyön kirjallisessa osassa olisi täytynyt hakea erikseen tutkimuslupaprosessissa. Tutkimusluvassani lupa kuvien käyttöön oli myönnetty vain laboratorion sisäiseen opetuskäyttöön. Luvan hakuprosessi vie aikaa ja koska tilaaja saa kuitenkin kuvat käyttöönsä, päädyttiin ajan vähyyden takia jättämään kuvat pois raportista.

Julkistin opinnäytetyöni Etelä-Karjalan patologian laboratorion osastonkokouksessa 23.3.2022. Kuvakansio ladattiin laboratorion tietojärjestelmään, josta sen voi helposti avata perehdytystilanteissa.

## 10 Tuotoksen kuvaus

Työn tuotos, digitaalinen kuvakansio tehtiin PowerPoint tiedostolle, sillä HUS Diagnostiikkakeskuksella on käytössä Microsoft 365 ohjelmisto. PowerPoint tiedosto on helpokäyttöinen kuvien selaamiseen. Tiedostossa on helppo siirtyä kuvasta seuraavaan ja tarvittaessa palata takaisin edelliseen kuvaan. PowerPoint pohjaksi valittiin HUS:n oma logolla varustettu sinisävyinen pohja. Tiedosto sisältää 23 diaa. Tiedostossa olevat kuvat ja teksti tukevat toisiaan. Kuvien yhteyteen on kirjoitettu kuhunkin värjäykseen liittyviä olennaisia laatuun vaikuttavia tekijöitä. Lisäksi on asioita, jotka tulee huomioida kyseistä värjäystä tehdessä ja värjäytymistuloksia (kuva 1.)



Kuva 1. Esimerkki kuvakansioon tulleesta diasta. Kukin värjäys esitellään kuvattuna ja kuvan yhteyteen on kirjattu tärkeimpiä värjäykseen liittyviä seikkoja. (Kuva on piilotettu HUS:n ulkopuolisessa käytössä.)

Kansidian jälkeen on kerrottu värjäysten laatuun vaikuttavista tekijöistä yleisesti ja laadukkaiden värjäysten kriteerit. HE-värjäyksestä on kolme diaa, joista yksi on Meilahdessa tehty HE-värjäys. Kuvista näkyy tumien rakenteet, eosiniin eri sävyt ja HE-värjäysten laboratorikohtaiset sävyerot. Weigert van Gieson-värjäystä on kuvattu niin ikään kolmella kuvalla. Kuvissa näkyy, kuinka tiheydeltään erilaiset kudokset värjättyvät eri sävyin. Yksi WvG kuvista on otettu jääleikkeestä tehdystä lasista. Lisäsin sen tähän kansioon, sillä sen väritys poikkeaa hieman konevärjäyksenä tehdystä leikkeestä. Jääleikkeiden värjäykset tehdään käsin. Herovici-värjäyksestä on kaksi kuvaa, 5- ja 20-kertaisella suurennoksella otetut.

Resorsiini-fuksiini-värjäyksestä kansiossa on kaksi kuvaa. Ensimmäinen kuva on otettu kontrollikudoksesta ja siinä näkyy tiivis elastisten säikeiden verkko. Toinen kuva on patologisesta näytteestä ja kuvasta voi todeta, kuinka sairaus on vaurioittanut elastisia säikeitä. Meilahden elastiset säikeet -värjäyksestä on yksi kuva. Kuvassa näkyy, kuinka värjäyksessä käytettävä van Gieson -reagenssi on värjännyt taustan punaiseksi antaen säikeille hyvän kontrastin. Muista värjäyksistä on kustakin yksi kuva. Viimeiselle dialla on listattu työhön käytetyt lähteet.



## 11 Pohdinta

Tämä opinnäytetyö oli toiminnallinen ja sen tuotoksena syntyi digitaalinen kuvakansio. Kuvakansio tulee tukemaan HUS Diagnostiikkakeskus Etelä-Karjalan laboratorion opiskelijoiden ja uusien työntekijöiden perehdytystä. Kuvakansio auttaa perehtyjää sisäistämään kirjoitetun työohjeen rinnalla, miltä kukin värjäys näyttää. Kuvien oheen kirjoitetut huomioitavat asiat muistuttavat oppijaa kiinnittämään huomiota kunkin värjäyksen laadullisiin seikkoihin. Kansiota pyrittiin tekemään selkeä oppimateriaali. Värjäyksestä otettu kuva on kussakin diassa suuri, jotta värjäyksen erityispiirteet tulisivat mahdollisimman hyvin esille. Tekstissä ei toisteta työohjeessa jo olevaa tietoa, vaan korostetaan värjäyksen tulkintaan ja laatuun liittyviä seikkoja.

Tie laadukkaaseen histologiseen preparaattiin alkaa jo fiksaatiosta. Huonosti fiksoitunut näyte ei värjäydy kunnolla. Leikkeen tulee olla ohut, rypytön ja tasainen. Leikkauksessa apuna käytetty parafiini tulee saada poistettua leikkeestä ennen värjäystä, eikä leike saa päästä kuivumaan missään värjäysvaiheessa. Tässä työssä käsiteltiin kolmeoista eri värjäystä. Jokaisella niistä on omat erityispiirteensä ja työssä yritettiin nostaa esille kunkin värjäyksen laatuun vaikuttavia tekijöitä. HE-värjäys on yleisin laboratoriossa tehtävä värjäys ja se on Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa perusvärjäys, joka tehdään kaikista formaliiniin fiksoiduista kudoksenäytteistä. HE-värjäyksen sävyissä on laboratorio kohtaisia eroja, mutta on tärkeää, että eosiniin värjäämissä kudososissa on nähtävissä kolmea eri eosiniiniväriä. Tämä auttaa patologia havaitsemaan ja tulkitsemaan sairauksien aiheuttamia muutoksia. Useat osoitusvärjaukset tehdään Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa käsin värjäten. Näihin liittyy liuosten valmistamista, värjäysaikojen kellottamista ja diffusajan arviointia. Lisäksi esimerkiksi retikuliinivärjauksessä on erittäin tärkeää huomioida välineiden puhtaus. Jotta päästään parhaaseen mahdolliseen lopputulokseen, mahdolliset värjäysten virhelähteet tulee tiedostaa. Tulevaisuudessa digitaalisen skannaustekniikan lisääntyessä patologian laboratoriossa, tulee erityisesti huomioida näytteiden laadukkuus virheettömän ja nopean tulkinnan varmistamiseksi.

Opinnäytetyöni teon aikana nousi esille seikkoja, jotka olisivat ehkä jääneet muuten havaitsematta. Huomattiin, että Weigert van Gieson -värjäyksen värit eivät ole optimaalisia. Lihaskudoksessa ei havaittu pikriinihapon värjäämää keltaista väriä, vaan se värjäytyi punertavaksi. Tarkastelin eri kudoksista tehtyjä laseja, eikä esimerkiksi kohtuleikkeen, -joka lähteeni mukaan olisi hyvä kontrollikudos tässä värjauksessä, lihaskudos

ollut värjäytynyt kellertäväksi. Havainnon myötä laboratoriossa nousikin esiin värjäyksen optimoinnin tarve.

Toinen havainto, joka opinnäytetyöni myötä nousi laboratoriossa keskusteluun, oli resorsiini-fuksiini-värjäyksen sävyerot Etelä-Karjalan ja Meilahden värjäysten välillä. Meilahden värjäyksessä käytettävä van Gieson antaa paremman kontrastin elastisille säikeille. Etelä-Karjalassa resorsiini-fuksiini-värjäys on koettu työlääksi, sillä värjäyksessä tulee käyttää lämpökaappia. Meilahdessa värjäys tehdään huoneenlämmössä, vaikkakin värjäysaika on pidempi. Värjäystä tehdään Etelä-Karjalassa harvakseltaan, joten laboratoriossa harkitaan nyt näiden värjäysten lähettämistä jatkossa Meilahteen värjättäväksi.

Etelä-Karjalan patologian laboratoriossa retikuliinivärjäys on kaikkienensa omavalmisteen. Omavalmisteen ylläpitäminen on työlästä ja niiden valmistamisessa ja ylläpitämisessä tulee noudattaa lakia lääkinnällisten laitteiden laitevalmistuksesta. Laki käsittää mm. teknisten asiakirjojen laatimisen, joissa on kuvattu valmisteen riskien, suunnittelun, valmistuksen ja suorituskyvyn arviointi. Valmiste tulee olla jäljitettävissä ja siitä tulee olla kirjattuna mm. käyttötarkoitus, valmistusaika, raaka-aineet ja valmistuksesta vastaavan henkilön nimi. Lakia on muutettu vastaamaan EU-asetuksia vuonna 2021 ja sitä aletaan soveltaa täysimääräisesti nyt vuonna 2022. (Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista annetun lain muuttamisesta 720/2021.) Retikuliini-värjäystä tehdään Etelä-Karjalassa harvakseltaan ja sen tekemisestä joudutaan ehkä luopumaan. Jatkossa värjäys tehtäisiin Meilahden patologian laboratoriossa, jossa se on konevärjäys, eikä käytössä ole omavalmisteet. Lain muuttumisen myötä myös muut Etelä-Karjalassa käytössä olevat omavalmisteet tullaan vaihtamaan kevään 2022 aikana CE IVD merkittyihin kaupallisiin reagensseihin.

Skannattuja leikkeitä tietokoneelta katsellessa tulee huomioida näytön värisäädöt. Ihmisillä voi olla erilaisia tottumuksia näytön värisäätöjen suhteen. Jotta tietokone toistaisi värjätyin leikkeen värit todenmukaisina, näyttö tulisi värikalibroida. Väärillä säädöillä kuvaa voidaan arvioida virheellisesti.

Kuvakansio on tehty Etelä-Karjalan patologian laboratorion käyttöön, mutta sitä voitaisiin hyödyntää myös muissa HUS Diagnostiikkakeskuksen patologian laboratorioissa ja täydentää tarvittaessa kunkin laboratorion käytössä olevilla värjäyksillä.

## 11.1 Työn luotettavuus ja eettisyys

Luotettava työ syntyy hyvää tieteellistä käytäntöä noudattamalla. Tämä tarkoittaa mm. sitä, että tutkittavaan aiheeseen perehdytään huolellisesti ja lähteinä käytetään vain luotettavia tieteellisiä aineistoja ja viittaukset muiden tekemiin julkaisuihin merkitään ohjeiden mukaan. Tarvittavat tutkimusluvut tulee hankkia ennen työn aloitusta ja tutkimusprosessin jokaisessa vaiheessa noudatetaan rehellisyyttä, yleistä huolellisuutta ja tarkkuutta (TENK 2020).

Tässä työssä lähteitä käytettiin runsaasti ja ne on asianmukaisesti viitattu. Moni histologinen värjäysmenetelmä on syntynyt vuosikymmeniä, osa jopa yli vuosisata sitten. Näin ollen alkuperäisen lähteen käyttö oli melko mahdotonta. Haastetta toi myös saman värjäyksen eri variaatiot. Tästä syystä pyrinkin poimimaan lähteistä vaan olennaisimmat tiedot kustakin värjäyksestä. Koska värjäykset ovat vakiintuneet jo kauan sitten laboratorioiden käyttöön, tuoretta tutkimustietoa värjäyksistä ei myöskään löytynyt. Tuore tutkimustieto näkyy kuitenkin digitaalista opetusmateriaalia ja digipatologiaa käsittelevissä kappaleissa. Valmis työ tarkastettiin Turnetin plagiointitunnistusohjelmalla.

Tätä opinnäytetyötä tehdessä noudatettiin myös terveysalan ja bioanalyytikon eettisiä ohjeita, joihin kuuluu mm. ihmisarvon kunnioitus ja yksityisyyden suoja (Etene 2001; Suomen Bioanalytikkoliitto 2017). Tutkimuslupa työn tekemiseen hankittiin ennen opinnäytetyön aloittamista. Sopivat kuvattavat lasit etsittiin minulle tietokannoista valmiiksi, enkä itse missään vaiheessa työskentelyä ollut tekemisissä henkilötietojen kanssa. Näytelaseissa on tunnistetieto, mutta siinä ei näy henkilötietoja. Kuvasin lasit myös niin, ettei mitään tunnistetietoja jäänyt näkyviin. Kuvakansion kuvissa näkyy siis ainoastaan kudosta. Alkuperäisen suunnitelman mukaan kuvat oli tarkoitus liittää myös tähän raporttiin. Projektin loppupuolella kuitenkin selvisi, että kuvien julkaisulupa kattaa vain HUS Diagnostiikkakeskuksen sisäisen käytön. Tietolupa kuvien julkiseen käyttöön oli jäänyt erehdyksissä hakematta. Toisiolaki, jota tähän sovelletaan, on otettu vastikään käyttöön. Koska lupaprosessi on pitkä, eikä varmuutta luvan myöntämisestä ollut, päätettiin kuvat ohjaajieni siunauksella jättää pois. Yhtenä vaihtoehtona olisi ollut etsiä raporttiin verkosta luvallisia, CC-lisenssin omaavia kuvia. Se tuntui kuitenkin keinotekoiselta tähän työhön, eikä kuvia edes löytynyt kaikista työni värjäyksistä.

## 11.2 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessi oli hyvin opettavainen kokemus kahdesta näkökulmasta. Ensinäkin kehityin valtavasti tiedon etsimisessä ja sen referoimisessa. Tämä on ensimmäinen tekemäni iso kirjallinen työ. Kirjoitusprosessi oli haastava. Kielitaitoni ei ole kovin vahva ja histologisista värjäyksistä tehty kirjallisuus ja artikkelit ovat pääasiassa englanninkielisiä. Tiedon etsiminen ja tulkitseminen vei aikaa ja sitä oli joistakin värjäyksistä myös niukasti saatavilla. Esimerkiksi Herovici-värjäyksestä tietoa etsittiin yhdessä Etelä-Karjalan patologin kanssa ja tulos oli silti vähäinen. Hyvää apua kirjoittamisen eri vaiheisiin, sain koulun järjestämistä etätyöpajoista. Osallistuin yhteensä seitsemään eri työpajaan; osaan jo suunnitteluvaiheessa ja viimeisimpänä kielen huollon pajaan viimeistelyvaiheessa. Haasteista vähäisin ei ollut oma kriittisyyteni tekemääni tuotokseen.

Toinen oppi on ammatillinen. Projektin aikana sain paljon uutta tietoa patologiasta ja histologisista värjäyksistä. Aikaisempi tietoni värjäyksistä oli suppea. Neljän viikon harjoittelujakso patologian laboratoriossa juuri ennen opinnäytetyön aloittamista helpotti jonkin verran alaan paneutumista. Silti opinnäytetyön tekeminen melko vieraasta aiheesta hieman pelotti. Tieto piti etsiä ja kääntää suomeksi pääasiassa vieraskielisestä tekstistä, vaikka osa termeistä oli vielä omalla äidinkielelläkin kadoksissa. Lähetin tekstiäni usein työelämäohjaajani tarkastettavaksi ja pikku hiljaa aloin myös luottaa omaan arviointikykyyni tekstin suhteen.

Kuvasin työhön tulevat lasit melko tiukalla aikataululla vuoden 2021 marras-joulukuun vaihteessa. Tässä vaiheessa en ollut vielä ehtinyt kerätä perusteellista teoretista tietoa kaikista värjäyksistä. Tiedon karttuessa palasinkin vielä laboratorioon ottamaan uusia kuvia, joissa värjäysten ominaispiirteet tulivat paremmin esiin. Myös ohjaajan toiveesta pari kuvaa otettiin uudestaan. Yhteistyö laboratorion henkilöstön kanssa sujui loistavasti ja he olivat aina valmiit auttamaan, jos oli jotakin kysyttävää värjäyksistä tai tarvitsin apua lasiskannerin käytössä.

## 11.3 Päätelmiä

Työ patologian laboratoriossa on pitkälti teknistä tekemistä, kuten näytteiden käyntiinpäntä, leikkaamista ja värjäyskoneen käyttämistä. Lopullinen tekemisen tulos näkyy vasta prosessin lopussa, kun näyte on värjätty. Usein näytettä tarkastelee mikroskoopi-

pillä ensimmäisenä vasta patologi diagnoosia tehdessään. Jokaisella patologian laboratoriossa histologisten näytteiden kanssa työskentelevällä pitäisi kuitenkin olla selvää, miltä kullakin värjäyksellä tehdyn leikkeen tulee näyttää. Kustakin värjäyserästä tulisi ottaa lasi mikroskooppiseen tarkasteluun. Tämä kuuluu päivittäiseen laboratorion sisäiseen laadun tarkkailuun. Tulisi osata havainnoida, jos esimerkiksi värjäyksen värit eivät olekaan optimaaliset tai leikkeissä näkyy liikaa taustavärjäytymistä tai leikkausartefakteja.

Tulevaisuudessa pienissä patologian yksiköissä tullaan kokemaan patologipulaa. Silloin otetaan käyttöön tietotekniikan tuomat mahdollisuudet eli digipatologia ja virtuaalimikroskopia. Laboratoriossa työstetty näytelasi skannataan lasiskannerilla tietokoneelle ja sen diagnosoi patologi etänä toisessa laboratoriossa. Tässä korostuu entisestään näytteen laadukkuus, vaikka toisaalta nyt näytettä katsellaankin suurelta näytöltä mikroskoopin okulaarien sijaan. Perustekniikat histologisten leikkeiden valmistamisessa tulevat pysymään vielä kuitenkin ennallaan ja suurelta osin käsityönä. Patologian laboratorion työntekijöiden tieto, taito ja kokemus ovatkin merkittäviä laatuun vaikuttavia tekijöitä. Näitä oppeja uudet tekijät tarvitsevat tuekseen perehtyessään alaan. Apuna toimii laadukkaat perehdytysmateriaalit.

## Lähteet

Ahokas, Laura & Mäkeläinen, Jukka 2013. Perekdyttämisen ja työnopastus – Ennakoivaa työsuojelua. Työturvallisuuskeskuksen digijulkaisu. <[https://ttk.fi/oppaat\\_ja\\_ohjeet/digijulkaisu/perekdyttaminen\\_ja\\_tyonopastus\\_-\\_ennakoivaa\\_tyosuojelua](https://ttk.fi/oppaat_ja_ohjeet/digijulkaisu/perekdyttaminen_ja_tyonopastus_-_ennakoivaa_tyosuojelua)>. Viitattu 4.4.2022

American MasterTech 2018. Custom Herovici's Collagen Stain Kit Procedure. <<https://www.statlab.com/pdfs/ifu/CUKATHER.pdf>>. Viitattu 1.12.2021.

Bancraft, John D. & Layton, Christopher 2019a. The hematoxylin and eosin. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8. painos. E-kirja. Elsevier. 127, 140–141.

Bancraft, John D. & Layton, Christopher 2019b. Connective and other mesenchymal tissues with their stains. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8. painos. E-kirja. Elsevier. 169, 176–177, 184–185.

Barcia, Juan José 2007. The Giemsa stain: its history and applications. *Int J Surg Pathol* 15 (3). 292–296.

Braun, Skip 2012. The Science and Application of Hematoxylin and Eosin Staining. <<http://mhpl.facilities.northwestern.edu/files/2013/10/The-Science-and-Application-of-Hematoxylin-and-Eosin-Staining-6-5-2012.pdf>>. Viitattu 14.1.2022.

Carson, Freida L. & Hladik, Christa 2009. Histotechnology: A self-Instructional Text. 3. painos. Chicago: American Society for Clinical Pathology.

Christian, Robert & VanSandt, Mandy 2021. Using Dynamic Virtual Microscopy to Train Pathology Residents During the Pandemic: Perspectives on Pathology Education in the Age of COVID-19. *Sage journals*. <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/23742895211006819?cid=int.sj-related-articles.similar-articles.26>>. Viitattu 25.11.2021.

Cox, Beth & Colgan, Emma 2019. Pathology laboratory management. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8. painos. E-kirja. Elsevier. 17.

Eklund, Kari & Kovanen, Petri 1999. Uutta tietoa syöttösolujen tehtävistä elimistön immunipuolustuksessa. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. 115 (6). 640-. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo90166>>. Viitattu 14.12.2021.

Ekonoja, Antti 2014. Oppimateriaalien kehittäminen, hyödyntäminen ja rooli tieto- ja viestintätekniikan opetuksessa. Väitöskirja. Jyväskylä: Jyväskylän yliopisto. <<https://jyx.jyu.fi/handle/123456789/44175>>. Viitattu 14.9.2021.

Eloy, Catarina & Vale, João & Curado, Mónica & Polónia, António & Campelos, Sofia & Caramelo, Ana & Sousa, Rui & Sobrinho-Simões, Manuel 2021. Digital Pathology

Workflow Implementation at IPATIMUP. *Diagnostics* 11 (11). 2111. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8620597/>>. Viitattu 18.1.2022.

Etene 2001. Terveysthuollon yhteinen arvopohja, yhteiset tavoitteet ja periaatteet. Etene-julkaisuja 1. <<https://etene.fi/documents/1429646/1559098/ETENE-julkaisu+1+Terveysthuollon+yhteinen+arvopohja%2C+yhteiset+tavoitteet+ja+periaatteet.pdf/4de20e99-c65a-4002-9e98-79a4941b4468>>. Viitattu 21.9.2021.

Fan, Chi-Chen & Chen, Chung-Hsing & Chou, Chi & Kao, Ting-Yu & Cheng, An Ning & Lee, Alan Yueh-Luen & Kuo. Cheng-Liang 2020. A time-saving-modified Giemsa stain is a better diagnostic method of *Helicobacter pylori* infection compared with the rapid urease test. *J Clin Lab Anal* 34 (4). e23110. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7171334/>>. Viitattu 14.12.2021.

Faoláin, Eoghan & Hunter, Mary & Byrne, Joe & Kelehan, Peter & Lambkin, Helen & Byrne, Hugh & Lyng, Fiona 2005. Raman Spectroscopic Evaluation of Efficacy Current Paraffin Wax Section Dewaxing Agents. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 53 (1). 121–129. <<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/002215540505300114>>. Viitattu 12.10.2021.

Finas 2015. Akkreditointi. <<https://www.finas.fi/akkreditointi/Sivut/default.aspx>>. Viitattu 3.1.2022.

Fong, Michael & Crane, Jonathan S. 2021. Histology, Mast Cells. StatPearls Publishing. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499904/>>. Viitattu 14.12.2021.

Heinonen, Juha-Pekka 2005. Opetussuunnitelmat vai oppimateriaalit. Helsingin Yliopisto. Soveltavan kasvatustieteen laitos. <<https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/20002/opetussu.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Viitattu 14.9.2021.

Heinävaara, Sirpa & Jäntti, Maija & Färkkilä, Martti & Hyöty, Marja & Kairaluoma, Matti & Rautio, Tero & Voutilainen, Markku & Malila, Nea & Sarkeala, Tytti 2019. Kolorektaalisyövän seulonta uudistuu. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. 135. (19). 1920–1927. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo15151>>. Viitattu 6.2.2022.

Horobin, Richard 2019. Theory of histological staining. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 8. painos. E-kirja. Elsevier. 128–129.

Horobin, Richard W. & Bancroft, John D. 1998. Troubleshooting Histology Stains. New York: Churchill Livingstone. 236–240.

HUS = Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri.

HUS Diagnostiikkakeskus 2021. Korkeatasoista ja vaikuttavaa diagnostiikkaa. Power-Point esite. HUS Diagnostiikkakeskus.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021a. Alcian Blue – Periodic Acid Schiff (AB-PAS) -värjäys. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021c. Diastaasi-PAS (D-PAS) -värjäys. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021f. Hematoksyliini-eosiini-värjäys (HE). Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021g. Modifioitu giemsa -värjäys. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021e. Periodic Acid-Schiff (PAS) -värjäys. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2021f. Weigert van Gieson (WvG) -värjäys. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020b. Berlininsini (rautavärjäys). Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020e. Giemsa (Mast solu-värjäys). Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020d. Elastiset säikeet (Resorsiini-fuksiini-värjäys). Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020d. Retikuliinivärjäys. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020e. Toluidiinin sininen. Työohje.

HUS Diagnostiikkakeskus, patologia, Etelä-Karjala 2020f. Ziehl-Nielsen värjäys. Työohje.

HUSLAB 2021. Siderofaagit, aivo-selkäydinnesteestä. Tutkimusohjekirja. < <https://huslab.fi/ohjekirja/2625.html>>. Viitattu 17.12.2021.

HUSLAB, patologia, Meilahden patologia 2020. Elastiset säikeet (resorsinfuchsin). Osoitusvärjäyksen työohje.

HUSLAB, patologia, Meilahden patologia 2020. Herovici. Konevärjäys. Työohje.

Jackson, Shalmica & Grabis, Daniela & Manav, Caroline 2018. Giemsa: The Universal Diagnostic Stain. Sigma Aldrich. < <https://www.cellmarque.com/cmsial-literature/304-Giemsa-Academia.pdf>>. Viitattu 8.12.2021.



Jahn, Stephan W. & Plass, Markus & Moinfar, Farid 2020. Digital Pathology: Advantages, Limitations and Emerging Perspectives. National Library of Medicine. 9 (11). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7698715/>>. Viitattu 8.2.2022.

Kemppainen, Heidi 2013. Histologisten konevärjäysten virhelähteet. Opinnäytetyö. Helsinki: Metropolia Ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. <<https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/58071/Histologisten%20konevarjasten%20virhelahteet.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Viitattu 5.1.2022.

Kontinen, Juha 2008. Oppimistyyliä puntarissa. Erityispedagogiikan opiskelijoiden oppimistyyliä, opettaminen ja oppimistyylien yhteys lukemiseen. Pro Gradu -tutkielma. Jyväskylä: Jyväskylän yliopisto. Kasvatustieteiden laitos. Erityispedagogiikan yksikkö. <[https://jyx.jyu.fi/bitstream/handle/123456789/18402/1/URN\\_NBN\\_fi\\_jyu-200804281396.pdf](https://jyx.jyu.fi/bitstream/handle/123456789/18402/1/URN_NBN_fi_jyu-200804281396.pdf)>. Viitattu 14.4.2022.

Koponen, Juuso & Hildén, Jonatan & Vapaasalo, Tapio 2016. Tieto näkyväksi – informaatiomuotoilun perusteet. Helsinki: Aalto-yliopisto.

Kujari, Harry 2017. Patologian laaduntarkkailukierrokset akkreditaation piiriin. Moodi 39 (3). 8.

Laki sosiaali- ja terveystietojen toissijaisesta käytöstä 552/2019. Annettu Helsingissä 26.4.2019. <<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2019/20190552>>. Viitattu 2.3.2022.

Laki terveydenhuollonlaitteista ja tarvikkeista annetun lain muuttamisesta 720/2021. Annettu Naantalissa 15.7.2021. <<https://finlex.fi/fi/laki/alkup/2021/20210720>>. Viitattu 14.1.2022.

Lappalainen, Lauri 2020. Luokanopettajien kokemuksia ja käsityksiä sähköisten oppimateriaalien ja arviointijärjestelmien käytöstä. Pro Gradu. Lapin yliopisto. Kasvatustieteiden tiedekunta. Luokanopettajaopinnot. <[https://lauda.ulapland.fi/bitstream/handle/10024/64206/Gradu\\_Lauri\\_Lappalainen1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://lauda.ulapland.fi/bitstream/handle/10024/64206/Gradu_Lauri_Lappalainen1.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Viitattu 1.3.2022.

Layton, Christopher & Bancroft, John D. 2019. Carbohydrates. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8. painos. E-kirja. Elsevier. 190–211.

Lehtonen, Lasse 2020. HUS Diagnostiikkakeskuksen toimintaohje. Päivätty 22.12.2020.

Linja-aho, Vesa 2018. Oletko auditiivinen, kinesteettinen tai visuaalinen oppija – sitkeä myytti on suosittu, koska testaaminen ja lokerointi viehättää. Hiiltä ja timanttia -blogi. Blogipostaus 17.9.2018. <<https://blogit.metropolia.fi/hiilta-ja-timanttia/2018/09/17/oletko-auditiivinen-kinesteettinen-tai-visuaalinen-oppija-sitkea-myytti-on-suosittu-koska-testaaminen-ja-lokerointi-viehattaa/>>. Viitattu 14.4.2022.

Melo, Rossana & Raas, Maximilian & Palazzi, Cinthia & Neves, Vitor & Malta, Kássia & Silva, Thiago 2020. Whole Slide Imagin and Its Applications to Histopathological Studies of Liver Disorders. *Frontiers in Medicine*. <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2019.00310/full>>. Viitattu 25.11.2021.

Merras-Salmio, Laura & Ruuska, Satu 2020. Helikobakteeri. *Duodecim Oppiortti*. <<https://www.oppoportti.fi/op/lif00020/do>>. Viitattu 5.1.2022.

Merck. Giemsa-väri mikroskopiaa varten. <<https://www.merckmillipore.com/FI/en/ivd-oem-materials-and-reagents/learning-center/giemsa-solution/r2ab.qB.aBwAAAF0qm81ISAJ,nav?RefererURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F>>. Viitattu 15.12.2021.

Morris, Gayti B. & Ridgway, Elisabeth J. & Suvarna, S. Kim 2019. Traditional stains and modern techniques for demonstrating microorganisms in histology. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 8. painos. E-kirja. Elsevier. 204.

Mäkinen, Judit 1996. Maksakirroosin histopatologinen diagnostiikka. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. 112. (5). 425-. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo60100>>. Viitattu 8.12.2021.

Mäkinen, Markus 2021a. Histopatologinen diagnostiikka. *Duodecim Oppiortti*. <<https://www.oppoportti.fi/op/pat00730/do>>. Viitattu 21.9.2021.

Mäkinen, Markus 2021b. Kudosnäytteiden eri tyypit. *Duodecim Oppiortti*. <<https://www.oppoportti.fi/op/pat00731/do>>. Viitattu 1.9.2021.

Mäkinen, Markus 2021c. Näytteiden käsittely laboratoriossa. *Duodecim Oppiortti*. <<https://www.oppoportti.fi/op/pat00732/do>>. Viitattu 1.9.2021.

Mäkinen, Markus & Lehto Veli-Pekka 2012. Patologian varhaisvaiheet. *Duodecim Oppiortti*. <<https://www.oppoportti.fi/op/pat00880/do>>. Viitattu 20.9.2021.

Naukkarinen, Anita 2006a. Hematoksyliini-eosiini- ja Weigert van Gieson -värjäykset. Teoksessa Naukkarinen Anita (toim.) *Histologiset menetelmät-kurssi: luentomoniste*. 9. uudistettu painos. Kuopion yliopisto. 38–42.

Naukkarinen, Anita 2006b. Hiilihydraattivärjäyksistä. Teoksessa Naukkarinen Anita (toim.) *Histologiset menetelmät-kurssi: luentomoniste*. 9. uudistettu painos. Kuopion yliopisto. 46–48.

Naukkarinen, Anita 2006c. Histologisten värjäysten teoriaa. Teoksessa Naukkarinen, Anita (toim.) *Histologiset menetelmät-kurssi: luentomoniste*. 9. uudistettu painos. Kuopion yliopisto. 33–36

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

Opetushallitus 2021. E-oppimateriaalin laatukriteerit. <<https://www.oph.fi/fi/julkaisut/e-oppimateriaalin-laatukriteerit>>. Viitattu 14.9.2021.

Pantanovitz, Liron & Wiley, Clayton A. & Demetris, Anthony & Lesniak, Andrew & Ahmed, Ishtiaque & Cable, William & Contis, Lydia & Parwani, Anil V. 2012. Experience with multimodality telepathology at the University of Pittsburgh Medical Center. Elsevier. *Journal of Pathology Informatics*. 3 (45). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551511/>>. Viitattu 6.4.2022.

Parkkila, Seppo 2000. Perinnöllinen hemokromatoosi. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. 116 (8). 829–836. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo91463>>. Viitattu 17.12.2021.

Pihlajaniemi, Taina 2013. Soluväliaineen tutkimuksen monet ulottuvuudet. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 129 (21). 2262–2272. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo11296>>. Viitattu 30.11.2021.

Precipoint. M8 Mikroskop und Scanner. <<https://precipoint.com/produkte/m8-mikroskop-und-scanner/>>. Viitattu 13.9.2021.

Reagen. Patologian värjäysliuokset ja fiksatiivit. <<https://www.reagen.com/fi/tuotteet/diagnostiikka/varjaysliuokset/patologia/#WVG>>. Viitattu 30.11.2021.

Ross, Mikhael H. & Pawlina, Wojciech 2011. Clinical Correlation: Collagenopathies. Teoksessa *Histology A Text And Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. 6. painos. 171–172.

Ruotoistenmäki, Sanna 2010. Rintasyövän immunohistokemiallisten värjäysten automaattisen kuva-analyysin validointi kliiniseen diagnostiikkaan. Pro Gradu. Jyväskylän yliopisto. Bio- ja ympäristötieteiden laitos. <<https://jyx.jyu.fi/bitstream/handle/123456789/23025/URN%3aNBN%3afi%3ajyu-201003091310.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Viitattu 1.3.2022.

Salgado, Rosa Maria 2012. Fundamentos de una técnica policrómica: Tinción de Hero-vici. *Investigación en Discapacidad* 1 (1). 35-36. <<https://www.medigrafic.com/pdfs/invdiss/ir-2012/ir121f.pdf>>. Viitattu 1.12.2021.

Salonen, Kari 2013. Näkökulmia tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön. Turun ammattikorkeakoulun puheenvuoroja 72. Tampere: Suomen yliopistopaino.

Sampias, Cindy & Rolls, Geoffray 2021. H&E Staining Overview: A Guide to Best Practices. Leica Biosystems. <<https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/he-staining-overview-a-guide-to-best-practices/>>. Viitattu 29.11.2021.

Saxena, Rashmil 2010. Special Stains in Interpretation of Liver Biopsies. Teoksessa *Special Stains and H&E Education Guide*. 2. uudistettu painos. Daco. 107. <[Special\\_Stains\\_and\\_H\\_E\\_Education\\_Guide-with-cover-page-v2.pdf](https://www.dacopath.com/~/media/Products/107_Special_Stains_and_H_E_Education_Guide-with-cover-page-v2.pdf)>. Viitattu 16.12.2021.

Sigma-Aldrich 2021. Elastin staining solution acc. to Weigert for microscopy. <<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/416/740/100591-en.pdf>>. Viitattu 29.12.2021.

Solunetti 2006a. Elastiini. <<https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/elastiini/2/>>. Viitattu 15.12.2021.

Solunetti 2006b. Histologia. <<https://www.solunetti.fi/fi/histologia/etusivu/>>. Viitattu 1.9.2021

Solunetti 2006c. Patologia. <<https://www.solunetti.fi/fi/patologia/etusivu/>>. Viitattu 7.9.2021.

Solunetti 2006d. Sidekudos. <[https://www.solunetti.fi/fi/histologia/sidekudos\\_uusi/2/](https://www.solunetti.fi/fi/histologia/sidekudos_uusi/2/)>. Viitattu 30.11.2021.

Solunetti 2006e. Värjäysmenetelmät. <<https://www.solunetti.fi/fi/histologia/varjaysmenetelmat/>>. Viitattu 26.11.2021.

Sosiaali- ja terveysministeriö. Toisiolaki mahdollistaa sosiaali- ja terveystietojen tieturvallisen käytön. <<https://stm.fi/sote-tiedon-hyodyntaminen>>. Viitattu 2.3.2022.

Sridharan, Gokul & Shankar, Akhil A. 2012. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 16 (2). 251–255. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424943/>>. Viitattu 17.12.2021.

Suomen bioanalytikkoliitto 2017. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet 2017. <[https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2017.pdf](https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf)>. Viitattu 6.4.2022.

Suomen Gastroenterologiayhdistys ry 2000. Helikobakteeri-infektion diagnostiikka ja hoito. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. 116 (5). 548–560. <<https://www.duo-decimlehti.fi/duo91391>>. Viitattu 8.12.2021.

Suomen bioanalytikkoliitto ry. Kliininen sytologia ja histologia. <<https://www.bioanalytikkoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalytikko/bioanalyttikon-koulutus/erikoisalajat/kliininen-histologia-ja-sytologi/>>. Viitattu 1.9.2021.

Stathonikos, Nikolas & Nguyen, Tri Q. & Spoto, Clothaire P. & Verdaasdonk, Marina A.M. & Diest, Paul J. 2019. Being fully digital: perspective of a Dutch academic pathology laboratory. *Histopathology* 75 (5). 621–635. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6856836/>>. Viitattu 18.1.2022.

TENK 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. HTK-ohje 2012. <<https://tenk.fi/fi/ohjeet-ja-aineistot/HTK-ohje-2012>>. Viitattu 21.9.2021.

Têtu, Bernard & Boulanger, Jean & Houde, Christine & Fortin, Jean-Paul & Gagnon, Marie-Pierre & Roch, Geneviève & Paré, Guy & Trudel, Marie-Claude & Sicotte, Claude 2012. The Eastern Quebec telepathology network: a real collective project. *Médecine/Sciences* 28 (11). 993–999. <[https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full\\_html/2012/11/medsci20122811p993/medsci20122811p993.html](https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2012/11/medsci20122811p993/medsci20122811p993.html)>. Viitattu 17.1.2022.

Tienhaara, Anri 2000. Rautavärjäys. *Moodi* 24 (4–5). 159.

Tolonen, Teemu & Näpänkangas, Juha & Isola, Jorma 2021a. Virtuaalimikroskopia ja digitaalinen patologia. *Duodecim Oppiportti*. <<https://www.oppiportti.fi/op/pat00911/do>>. Viitattu 22.11.2021.

Tolonen, Teemu & Näpänkangas, Juha & Isola, Jorma 2021b. Virtuaalimikroskopia patologian opetuksessa. *Duodecim Oppiportti*. <<https://www.oppiportti.fi/op/pat00912/do>>. Viitattu 22.11.2021.

Tolonen, Teemu & Näpänkangas, Juha & Isola, Jorma 2021c. Digitaalisen patologian teknologiset vaatimukset ja haasteet. *Duodecim Oppiportti*. <<https://www.oppiportti.fi/op/pat00914/do>>. Viitattu 22.11.2021.

Tolonen, Teemu & Näpänkangas, Juha & Isola, Jorma 2021d. Digitaalisen patologian nykytila ja tulevaisuus. <<https://www.oppiportti.fi/op/pat00915/do>>. Viitattu 22.11.2021.

Vuento, Risto 2020. Tuberkuloosi. *Lääkärikirja Duodecim*. <<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00611>>. Viitattu 31.12.2021.

Vuorijärvi, Aino 2013. Tekstilaji ja yhteisö. Ammattikorkeakoulun opinnäytetyön diskusio tekstinä. Väitöskirja. Helsinki: Helsingin yliopisto. Humanistinen tiedekunta. <<https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/40126/tekstila.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Viitattu 12.3.2022.

Wahlstedt, Juha 2017. Ulkoisen laadunarvioinnin digiloikka. *Moodi* 39 (1).

Wästö, Jenni 2020. COVID-19 on luonut tarpeen löytää uusia verkko-oppimisen ja opettamisen työkaluja. Euroopan komissio-blogi. Blogipostaus 26.3.2020. <<https://epale.ec.europa.eu/fi/blog/covid-19-reviving-need-explore-online-teaching-and-learning-opportunities>>. Viitattu 25.11.2021.

Yale. Learning Styles as a Myth. <<https://poorvucenter.yale.edu/LearningStylesMyth>>. Viitattu 14.4.2022.

Zwart, Diana P. & Noroozi, Omid & Van Luit, Johannes E.H. & Goei, Sui Lin & Nieuwenhuis, Arjen 2020. Effects of Digital Learning Materials on nursing students' mathematics learning, self-efficacy, and task value in vocational education. *Elsevier. Nurse Education in Practice*. 44. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471595319304615?via%3Dihub>>. Viitattu 6.4.2022.

Zwart, Diana P. & Van Luit, Johannes E.H. & Noroozi, Omid & Cheng, May 2017. The effects of digital learning material on students' mathematics learning in vocational education. *Cogent Education* 4 (1). <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2331186X.2017.1313581>>. Viitattu 6.4.2022.