



Marja Kokko

# Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin käyttöönotto ja validointi Helsingin Biopankissa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

21.4.2023

Tekijä	Marja Kokko
Otsikko	Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin käyttöönotto ja validointi Helsingin Biopankissa
Sivumäärä	43 sivua + 1 liite
Aika	21.4.2023
Tutkinto	Sosiaali- ja terveystieteiden ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Erikoissuunnittelija, FM Jenni Niinimäki Kehittämispäällikkö, FT Pia Bäckström Lehtori Heidi Malava
<p>Opinnäytetyö tehtiin Helsingin Biopankin histologian laboratoriolle, jonne oli loppuvuodesta 2021 hankittu uusi Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri. Laitteen käyttöönotto oli viivästynyt sen tuottaman kuvanlaadun ja käyttöliittymän laaja-alaisen ongelmien vuoksi.</p> <p>Opinnäytetyön tarkoituksena oli suorittaa mikroskooppilasiskannerin tekninen validointi ja käyttöönotto. Validoinnin tavoitteena oli varmentaa uuden laitteen suorituskyky ja soveltuvuus käyttötarkoitukseensa. Työhön kuului validoinnin suunnittelu ja validointiparametrien valinta, validoinnin toteutus ja prosessin dokumentointi sekä validointiraportin kirjoittaminen toimeksiantajalle.</p> <p>Mikroskooppilasiskanneria käytetään ominaisuuksiltaan erilaisten histologisten kudoslasiin siirtämiseen digitaaliseen muotoon. Laitteen tulisi kyetä tuottamaan laadukkaita kuvia, jotka soveltuvat jatkoanalyysiin ja julkaisuun. Mikroskooppilasiskannerin tuottamissa kuvissa ei saa olla epätarkkuusalueita, epäjatkuvuuskohtia, värivirheitä tai taustan epätaisisuutta. Skannausohjelmiston on oltava käyttökelpoinen, ja kuvankatseluohjelman on mahdollistettava kuvien sujuva tarkastelu eri suurennoksilla sekä erilaisten digitaalisten merkintöiden tekeminen laselle.</p> <p>Opinnäytetyötä varten kerättiin 130 kudoslasiinäytepooli Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin laboratorion patologian arkistoista, joita Helsingin Biopankki hallinnoi. Mukana valittiin erityyppisiä histologisia kudosnäytteitä, erilaisia värjäyksiä ja eri valmistajien objektilaseja. Validointiprosessin aikana laitteiston suorituskykyä testattiin useilla eri skannausmenetelmillä, mikroskooppilasiskannerin tuottamien kuvien teknistä laatua tarkasteltiin silmämääräisesti ja ohjelmistojen käytettävyyttä arvioitiin sanallisesti.</p> <p>Työn lopputuloksena suoritettua validointia kirjoitettiin validointiraportti, jossa testauksessa saatuja tuloksia verrattiin asetettuihin tavoitteisiin. Toteutetun validoinnin perusteella Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri päätettiin ottaa tuotantokäyttöön Helsingin Biopankissa.</p>	
Avainsanat	mikroskooppilasiskanneri, validointi, digitaalinen patologia, histologia, biopankki

Author	Marja Kokko
Title	Commissioning and Validation of the Olympus VS200 Microscope Slide Scanner in Helsinki Biobank
Number of Pages	43 pages + 1 appendix
Date	21 April 2023
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Jenni Niinimäki, Senior Planning Officer, M.Sc Pia Bäckström, Development Manager, Ph.D Heidi Malava, Senior Lecturer
<p>The thesis was carried out for the histology laboratory of the Helsinki Biobank in Finland. The Biobank had acquired a new Olympus VS200 microscope slide scanner in 2021. However, the commissioning of the device had been delayed due to extensive issues with the user interface of the scanning software and the image quality it produced.</p> <p>The aim of the thesis was to perform a technical validation and commissioning of the microscope slide scanner. The purpose of validation was to verify the performance of the new device and confirm its suitability for the intended use. The process included planning the validation with the selection of suitable validation parameters, implementation and the documenting of it and the writing of a validation report.</p> <p>Microscope slide scanners are used to transfer histological tissue slides into digital format. The scanning device should be able to produce high-quality images that are suitable for further analysis and publications. The images must not contain non-focused areas, discontinuity errors, color distortions or unevenness of the background. The scanning software must be effortless to use, and the image processing software must enable smooth viewing of the images with panning and zooming as well as the creation of different markings on the digital slides.</p> <p>For the testing, a sample pool of 130 tissue slides was collected from the pathology archives managed by Helsinki Biobank. Different types of histological samples with various stains and slides from multiple manufacturers were selected. The performance of the instrument, the technical quality of the images it produced and the practicability of the scanning and viewing software were examined during the validation process.</p> <p>As a result, a validation report was written, in which the results obtained in the testing were compared with the goals set in the planning phase. Based on the performed validation, the Olympus VS200 microscope slide scanner was approved for production use at Helsinki Biobank.</p>	
Keywords	microscope slide scanner, validation, digital pathology, histology, biobank

## Sisällys

Lyhenteet	1
1 Johdanto	2
2 Histopatologia	3
2.1 Histologiset kudokset	3
2.2 Digitaalinen patologia	5
3 Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri	7
3.1 Laitteisto	7
3.2 Ohjelmistot	10
4 Uuden laitteen käyttöönotto ja validointi	12
5 Työn tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	12
6 Opinnäytetyön toteuttaminen	13
6.1 Menetelmät ja aineistonkeruu	13
6.2 Validointiprosessi	15
6.2.1 Lähtötilanne	16
6.2.2 Validointisuunnitelma	18
6.2.3 Validoinnin toteuttaminen	19
6.2.4 Raportointi	20
7 Tulokset ja tulosten tarkastelu	21
7.1 Tulosten arviointi	21
7.2 Laitteen tekninen suorituskyky	23
7.3 Kuvanlaatu	28
7.4 Käytettävyys	31
8 Pohdinta	34
8.1 Johtopäätökset	34
8.2 Luotettavuus	35
8.3 Eettisyys	37
8.4 Ammatillinen kasvu	38
8.5 Kehittämisehdotukset	38
Lähteet	40

Liite 1. Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerilla tuotettuja 20x-kuvia verrattuna referenssiin

## Lyhenteet

- BF: *Brightfield*. Kirkaskenttäskannaus.
- CE: *Conformité Européenne*. Merkintä osoittaa laitteen täyttävän direktiivien mukaiset vaatimukset.
- EFI: *Extended Focus Imaging*. Laajennettu tarkennus.
- EMC: *Electromagnetic Compability*. Sähkölaitteiden sähkömagneettinen yhteensopivuus.
- FFPE: *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded*. Parafiiniin valettu formalinifikoitu [kudosnäyte].
- HE: *Hematoxylin-Eosin*. Hematoksyliini-eosiini, histologinen perusvärjäys.
- IHC: *Immunohistochemistry*. Immunohistokemiallinen menetelmä.
- MRXS: *Mirax Virtual Slide Format*. 3DHISTECH:n käyttämä kuvatiedostomuoto.
- NA: *Numerical Aperture*. Numeerinen apertuuri.
- ROI: *Region of Interest*. Erytisen kiinnostava alue kudosnäytteessä.
- TMA: *Tissue Microarray*. Monikudosblokki.
- VSI: *Visual Studio Content Installer Format*. Olympuksen käyttämä kuvatiedostomuoto.
- WSI: *Whole Slide Imaging*. Koko näytelasin saattaminen digitaaliseen muotoon.

## 1 Johdanto

Helsingin Biopankkiin hankittiin vuonna 2021 uusi mikroskooppilasiskanneri, Olympus VS200. Sen käyttöönotto kuitenkin viivästyi skannausohjelmiston laaja-alaisten ongelmien takia. Sittemmin laitteistoon on saatu päivityksiä ja tarve laitteen suorituskyvyn varmentamiselle osoittautui ajankohtaiseksi.

Mikroskooppilasiskanneria käytetään diagnostisten, tutkimusryhmien omien ja Biopankissa valmistettujen kudoksenäytelasien digitoimiseen (Niinimäki 2021: 1). Digitaalinen patologia on nykyaikainen tapa tehdä diagnostiikkaa ja tutkimusta kudoksenäytteistä. Helsingin Biopankki hallinnoi laajoja patologian arkistoja, jotka käsittävät alkuperäisiä diagnostisia kudoksenäytteitä yli miljoonasta suomalaispotilaasta. Kudoslasiens digitointi onkin oleellinen osa biopankin palveluvalikoimaa. (Mirtti & Näpänkangas 2020: 1954; Pitkänen 2018.) Osa skannattavista näytelaseista saattaa olla yli 20 vuotta vanhoja ja erilaisia kuin nykyisin markkinoilla olevat lasit. Mikroskooppilasiskannerin tulisi tästä huolimatta kyetä systemaattisesti tuottamaan laadukkaita kuvia, jotka soveltuvat jatkoanalyysiin ja julkaisuihin. Esimerkiksi tekoälyprojekteissa erityisen tärkeää on toistettava kuvanlaatu ja tarkkuus. Kuvissa ei saa olla epäjatkuvuuskohtia tai värivirheitä ja myös taustan tulisi olla väritykseltään tasainen. Digitoitujen kuvien katseluun tarkoitetun ohjelmiston käytettävyyden tulee olla hyvä ja mahdollistettava esimerkiksi kudosalueiden mittaaminen ja merkitseminen. (Bury & Griffin 2019: 479–486; Niinimäki 2021: 1.)

Opinnäytetyön tarkoituksena oli toteuttaa Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin käyttöönotto ja tekninen validointi Helsingin Biopankissa. Kaikki uudet laboratoriolaitteet käyvät käyttöönoton yhteydessä läpi validointiprosessin, joka raportoidaan kirjallisesti. Skannerin ensimmäisen validoinnin yhteydessä puutteita havaittiin merkittävän paljon, joten sitä ei voitu hyväksyä Helsingin Biopankin tuotantokäyttöön. (Niinimäki 2021: 9.)

Opinnäytetyö sisälsi uuden validoinnin suunnittelun, toteutuksen ja validointiraportin kirjoittamisen. Suunnitteluvaiheeseen kuului validointikriteerien ja mitattavien parametrien määrittäminen osin aiemmin suoritettua validointia mukaillen. Validoinnin toteutusta varten Biopankissa kerättiin kattava näytepooli erityyppisiä histologisia kudoslaseja, joilla testaukset suoritettiin.

## 2 Histopatologia

Histopatologialla tarkoitetaan kudosten mikroskooppisen tarkastelun erikoisalaa, jossa tutkitaan elinten poikkeavia kudosis- ja solumuutoksia. Siinä yhdistyvät kudosten hienorakenteiden tuntemus, kudosnäytteiden prosessointi laboratoriossa ja mikroskooppitutkimukset. Kliinisen histologian tutkimuksia käytetään erityisesti syöpäsairauksien diagnostiikassa ja syöpähoitojen seurannassa. (Geneticist 2018; Lyly 2011.)

### 2.1 Histologiset kudosnäytteet

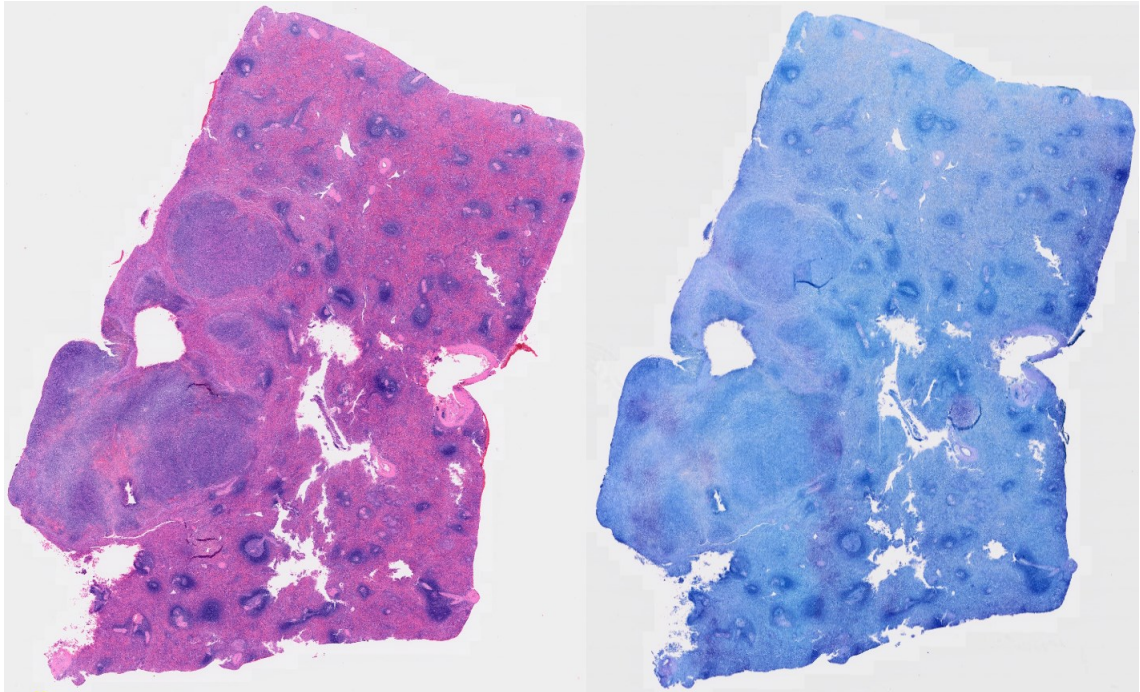
Taudin syntyä, etenemistä ja lopputulosta sekä hoidon vaikuttavuutta voidaan arvioida tarkastelemalla muutoksia kudosnäytteessä (Geneticist 2018; Lyly 2011). Histologisia näytteitä on mahdollista käyttää taudinmääritysten lisäksi myös esimerkiksi aivo-, kan-tasolu- ja lääketutkimuksissa (Evident: 1).

Kudosta irrotetaan potilaasta yleensä leikkauksen, biopsian (koepalan) oton tai ruumiinavauksen yhteydessä. Tämän jälkeen kudokappaleet lähetetään patologian laboratorioon joko formaliiniliuoksessa tai tuoreena. Tuorekudoksesta voidaan valmistaa mahdolliset, kiireellisenä käsiteltävät jääleikkeet laseille suoraan värjättäviksi, ja siitä myös tarvittaessa pakastetaan kudospaloja molekyylipatologian tutkimuksia varten. Formaliinifiksoitu näyte sen sijaan dissekoidaan eli siitä otetaan edustavat kappaleet merkittyihin muovikasetteihin. (Lyly 2011; Suvarna 2019: 66.) Formaldehydi pysäyttää solujen entsyymitoiminnan, estää mikrobien kasvua ja kovettaa kudosta, jolloin näytteen morfologiset piirteet pysyvät mahdollisimman muuttumattomina myös säilytettäessä. Dissekoinnista näytteet siirretään kudosprosessointiin, jossa kudoksen sisältämä vesi korvataan väliaineella. Sen jälkeen kudospalat valetaan tukiparafiiniin varsinaisiksi näyteblokeiksi. (Layton & Bancroft & Suvarna 2019: 40–41; Wolfe 2019: 74–77.)

Formaliinifiksoiduista parafiiniin valetuista (FFPE) kudosnäyteblokeista leikataan mikrotomilla ohuita, yleensä noin kolmen-neljän mikrometrin paksuisia, valoa läpäiseviä leikkeitä, jotka ovat mikroskoopilla tarkasteltavissa. Kudisleikkeet poimitaan nimetyille objektilaseille, kiinnitetään lämmön avulla ja värjätään analysointia varten. (Helsingin Biopankki 2021a: 1; Spencer 84–88.) Useimmiten kudosnäytteille käytetään hematoksyliini-eosiini-perusvärjäystä (HE), jossa tumat värjäytyvät tummiksi ja muut rakenteet pinkin ja punaisen eri sävyin. Ilman minkäänlaista värjäystä kudorakenteiden erottaminen on hankalaa. Kudoslaseille on mahdollista tarvittaessa suorittaa myös erikois-



värjäksiä, esimerkiksi Van Gieson/Herovic-, alciansininen-perjodihappo-Schiff-yhdistelmä (AB-PAS) tai Giemsa-värjäys (kuva 1). (Bancroft & Layton 2019: 126–130; Helsingin Biopankki 2021a: 2.)



Kuva 1. Vasemmalla kudoksen HE-värjäys ja oikealla Giemsa-värjäys pernan lymfoomanäytteestä. Kudoslasit on skannattu Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerilla.

Lisäksi näyte voidaan värjätä immunohistokemiallisia (IHC) menetelmiä käyttäen. Ne perustuvat kudoksessa esiintyvän antigeenin ja sille spesifisen vasta-aineen väliseen reaktioon. (Sanderson & Wild & Cull & Marston & Zardin 2019: 339–341.) Objektin valintaan vaikuttaa haluttu värjäys, sillä immunohistokemiallisissa värjäyksissä käytetään positiivisen varauksen omaavia laseja, mutta HE-värjättäville leikkeille riittää tavallinen objektilasi (Helsingin Biopankki 2021a: 2; Spencer 2019: 86).

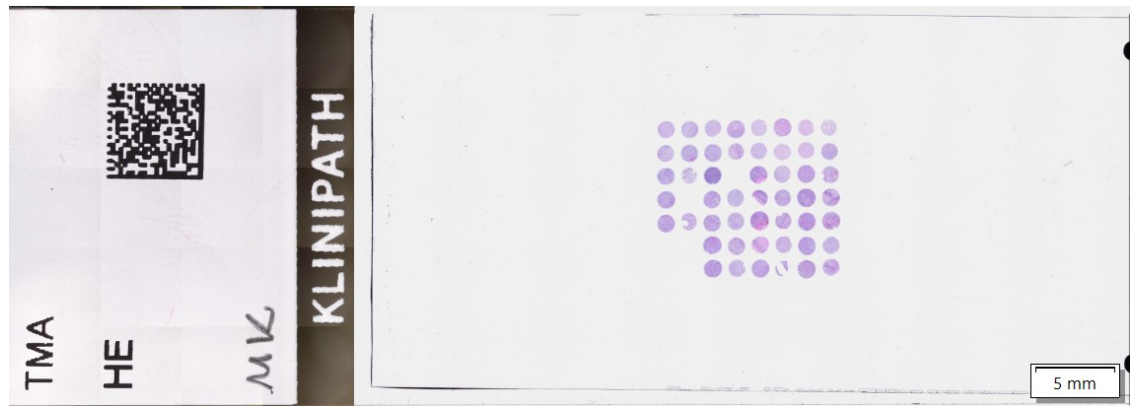
Leikkaus- ja värjäysvaiheessa näytelaseihin voi syntyä erilaisia artefakteja, jotka vaikuttavat näytteen myöhempään tarkasteluun ja mahdolliseen digitointiin. Näitä ovat mm. kudoksen rakenteesta johtumattomat reiät, vaurioituneen terän repimät naarmut, rypyt ja taitokset leikkeessä, kudoksen irtoaminen objektin lasilta sekä leikkeen leviäminen ja hajoaminen. Lisäksi ilmakuplat leikkeen tai peitinlasin alla sekä erilaiset roskat ja tahrat saattavat aiheuttaa haasteita kudoksen digitoinnissa. (Bury & Griffin 2019: 480–481; Spencer 85–91.)

## 2.2 Digitaalinen patologia

Histopatologiassa digitalisaatio on tuonut useita etuja perinteiseen mikroskopointiin nähden. Lasit, joille näytteet on leikattu, voivat rikkoutua tai jopa hävitä tutkimusprosessin aikana. Lisäksi ajan myötä arkistossa säilöminen vähentää niiden käyttöarvoa värien haalistuessa. Näytelasien digitointi helpottaa esimerkiksi useampien patologioiden konsultointia kustannustehokkaalla tavalla ja edesauttaa diagnoosin saamista pienemmällä viiveellä. Digitaalinen patologia myös mahdollistaa paikasta riippumattoman työskentelyn, kunhan käytettävissä olevan internet-yhteyden tiedonsiirtonopeus on riittävä. Suomen kaltaisessa harvaanasutussa maassa, jossa terveydenhuollon resurssit ovat keskittyneet suurimpiin kaupunkeihin, tämä on erityisen hyödyllistä varsinkin harvinaisempien sairauksien diagnostiikassa, tutkimuksessa ja opetuskäytössä. Vaikka digitaalisesta näytearkistosta olisikin paljon etua, kalliit laitteet, tarvittavat uudet tietojärjestelmät ja näytekuvien suuri tiedostokoko ovat rajoittaneet virtuaalimikroskopian yleistymistä. (Bonsembiante ym. 2019: 1; Tolonen & Näpänkagas & Isola 2015.)

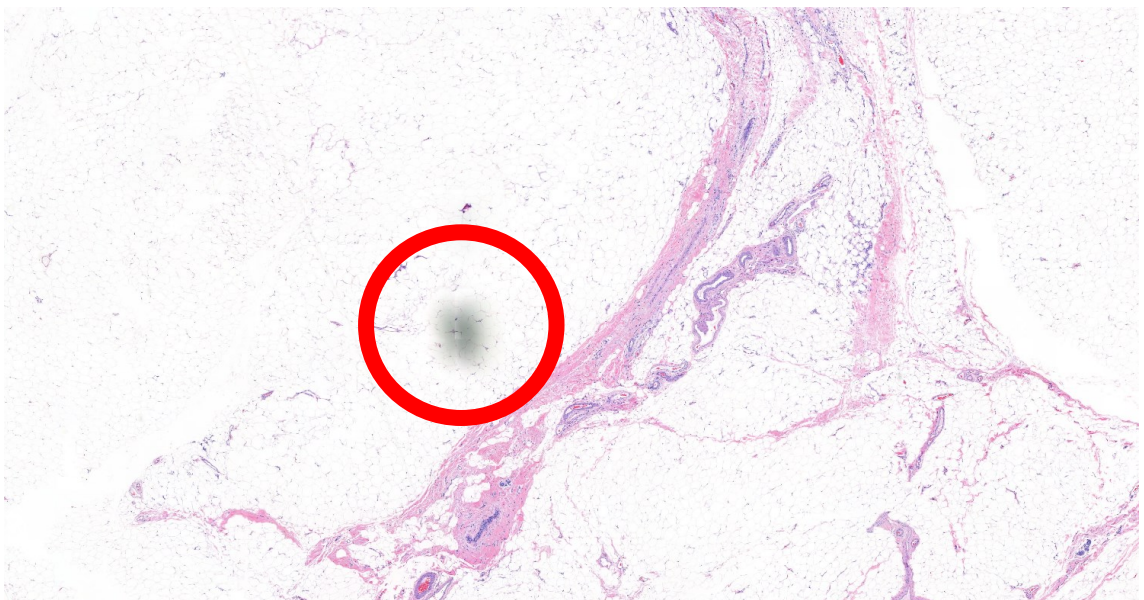
Digitaalisen patologian on todettu olevan verrattavissa konventionaaliseen mikroskopiaan tarkkuuden ja nopeuden suhteen. FFPE-kudosnäytteen valmisteluprosessi kudolasiksi asti on kuitenkin molemmissa sama ja yhtä aikaa vievä. (Mukhopadhyay ym. 2018; Snead ym. 2016.) Valomikroskopiassa kudospelke läpäistään valonsäteellä, joka kulkee mikroskoopin linssien läpi okulaariin käytännössä suurentaen näkymän kohteesta. Objektiivin valinnalla voidaan vaikuttaa suurennokseen. (Bancroft 2019a: 25.) Kudospelkeen digitoinnissa alkuperäinen lasi kuvataan mikroskooppilasiskannerin objektiivin läpi näkökenttä kerrallaan ja lopuksi laitteisto muuntaa kuvaamansa alueet yhtenäisen kuvan muotoon. Digitalisoidun kudospelkeen tarkastelu tapahtuu siihen tarkoitettulla katseluohjelmalla. (Bury & Griffin 2019: 476–479; Helsingin Biopankki 2021b: 1.)

Digitaalista patologiaa voidaan hyödyntää esimerkiksi TMA:n (Tissue Microarray) eli monikudospelkin rakentamisessa. TMA:n rakennusta varten patologi tai tutkija voi kuvankäsittelyohjelmalla merkitä haluamansa, erityisen kiinnostavat kudospelueet (Region of Interest, ROI) digitaalisiin leikekuviin annotaatioiksi. TMA-blokkiin valitut kudospelueet irrotetaan annotaatioiden perusteella alkuperäisistä, ns. luovuttajablokeista, ja siirretään tyhjiin vastaanottajablokkiin. Kudospelieriot kiinnitetään blokkiin lämmön avulla, minkä jälkeen siitä voidaan leikata monikudospelkeitä (kuva 2) erilaisia värjäyksiä varten. (Bancroft 2019b: 505–508; Bury & Griffin 2019: 483–486.)



Kuva 2. Koko lasin skannaus (Whole Slide Image, WSI) HE-värjätystä monikudosleikkeestä, jossa on näkyvissä 50 erillistä kudoksenäytettä. Alkuperäisistä FFPE-kudosblokeista irrottujen lieriöiden halkaisija on 1 millimetri. Näkymä Olympus OlyVIA -katseluohjelmasta.

Digitalisoinnin onnistumiseen liittyy useita tekijöitä. Mikroskooppilasiskannerin ominaisuuksien lisäksi myös lasityyppi, leikkeiden paksuuden vaihtelu ja kudosten ominaisuudet vaikuttavat kuvanlaatuun. Leikkausartefaktat, kaikenlaiset naarmut, sormenjäljet ja pöly laseilla (kuva 3) näkyvät kuvissa epätarkkoina alueina, mutta hyvillä esivalmisteluilla näiden aiheuttamia häiriöitä pystytään vähentämään. (Bury & Griffin 2019: 480; Helsingin Biopankki 2021b: 2.)



Kuva 3. Pölyhiukkanen fyysisen lasin pinnalla (ympyröity punaisella) näyttäytyy harmaana sumeana kohtana digitoidulla kudoslaseilla. Kuvassa HE-värjättyä rinnan rasva- ja sidekudosta.

Puhdistuksen ja skanneriin asettamisen jälkeen näytelasin varsinainen digitointi alkaa yleensä pienen, esimerkiksi 2x, suurennoksen esikatselukuvasta, josta laitteisto suorittaa automaattisen kudosalueen tunnistuksen. Käyttäjä luo kuvatiedostolle sopivan tunnisteiden, valitsee tallennussijainnin sekä säätää asetukset skannausalueen tarkennusta ja rajausta varten. Optimaalisesti rajattu näyte tuottaa pienemmän kuvatiedoston kuin koko lasin kattava skannaus. (Bury & Griffin 2019: 479; Helsingin Biopankki 2021b: 14.)

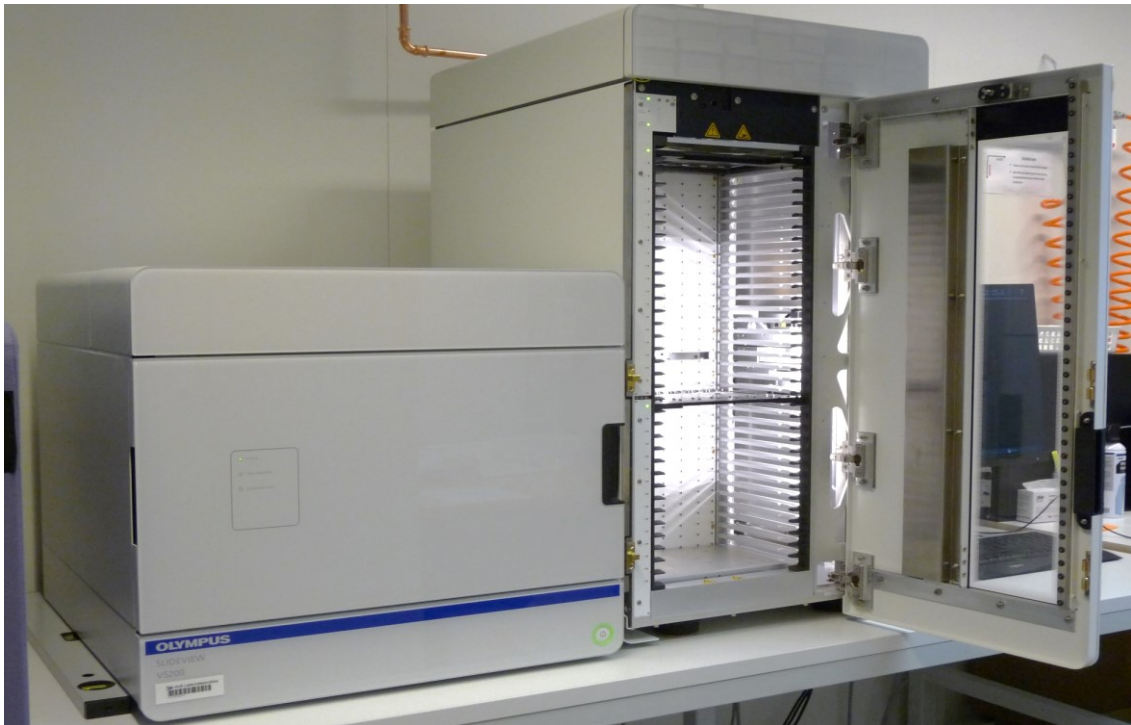
Uudemmat kudoslaseit ovat yleensä paremmassa kunnossa ja puhtaampia kuin vanhat. Huomioitavaa on myös, että osa laseista on peitelty muovikalvolla, joka on äärimmäisen herkkä hankaukselle ja näin ollen naarmuuntuu helposti. (Bury & Griffin 2019: 480; Helsingin Biopankki 2021b: 2.) Lisäksi HUSLAB:n patologian laboratoriossa yleisesti IHC-värjäyksissä käytettäville TOMO-laseille tyypillistä on taustan voimakas värjäytyminen, joka usein aiheuttaa häiriöitä mikroskooppilasiskannerin automaattiseen kudostunnistukseen (Helsingin Biopankki 2021a: 2).

### **3 Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri**

Olympus SLIDEVIEW VS200 -mikroskooppilasiskannerikokonaisuus koostuu fyysisestä laitteistosta ja sähköisestä ohjelmistosta. Mukana on myös toimitettu valmistajan englanninkielinen manuaali sekä digitaalisessa että kirjallisessa muodossa. Validoinnin referenssinä Olympus VS200:lle käytettiin Helsingin Biopankin 3DHISTECH Panoramic 250 Flash III -mikroskooppilasiskanneria, joka on hyväksytty käytettäväksi primaaridiagnostiikassa (Garcia-Rojo ym. 2019).

#### **3.1 Laitteisto**

Skanneriyksikkö VS200 ja VS20-LOADER-lasienlatausyksikkö muodostavat varsinaisen mikroskooppilasiskannerilaitteiston (kuva 4). Helsingin Biopankin VS200-skanneriyksikköön kuuluu korkearesoluutioinen digitaalinen värikamera, Olympuksen mikroskooppi motorisoidulla, ohjelmiston kautta ohjattavalla objektiivikiekolla, objektiivit 2x, 20x ja 40x sekä moottoroitu näytepöytä ja viivakoodinlukija. (Evident: 7.) Niiden lisäksi kokonaisuuteen kuuluu tietokoneen keskusyksikkö, näyttö, hiiri, näppäimistö ja näytetarjottimia eri kokoisille laseille.



Kuva 4. Helsingin Biopankin Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri vasemmalla ja oikealla VS20-latausyksikkö ovi auki, kaksi näytelasitarjotinta sisällä. (Niinimäki 2022.)

Latausyksikössä on paikat 35 näytelasitarjottimelle. Tavallisia 76 x 25 millimetrin objektilaseja mahtuu yhteen tarjottimeen kuusi kappaletta, mutta myös suurempia makrolaseja varten on omat lataustarjottimensa. Maksimikapasiteetti Olympus VS200:lla keralla skannattavaksi on 210 standardikokoista kudoslasiä. Laite tunnistaa automaattisesti tarjotinpaikat, joihin lasit on asetettu. Laitteisto siirtää lasitarjottimia vaakatasossa mikroskoopin näytepöydälle ja pois sieltä, joten yksittäisiä näytelaseja ei erikseen liikuteta laitteen sisässä. (Evident: 3–4.)

Skannerilaitteisto vaatii tietynlaisen toimintaympäristön. Valmistajan mukaan mikroskooppilasiskannerin toimintalämpötila on 12–28 °C ja optimaalinen ilmankosteus enintään 80 %. (Evident: 7.) Mikroskooppilasiskannerit ovat myös herkkiä tärinälle (Bury & Griffin 2019: 480).

Olympus SLIDEVIEW VS200 -mikroskooppilasiskanneri eroaa teknisiltä ominaisuuksiltaan jonkin verran referenssinä käytettävästä 3DHISTECH Panoramic 250 Flash III -skannerista. Laitteiden teknisiä tietoja on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Laitevalmistajien ilmoittamia teknisiä tietoja Olympus SLIDEVIEW VS200 ja 3DHISTECH Pannoramic 250 -mikroskooppilasiskannereista (3DHISTECH 2019; Evident: 7).

Ominaisuus	Olympus VS200	Pannoramic 250
<b>Resoluutio 20x</b>	0.274 $\mu\text{m}$ /pikseli	0.242 $\mu\text{m}$ /pikseli
<b>Numeerinen apertuuri 20x</b>	0.80	0.80
<b>Resoluutio 40x</b>	0.137 $\mu\text{m}$ /pikseli	0.121 $\mu\text{m}$ /pikseli
<b>Numeerinen apertuuri 40x</b>	0.95	0.95
<b>Ajallinen kesto 15x15 mm skannausalue BF 20x</b>	80 sekuntia	35 sekuntia

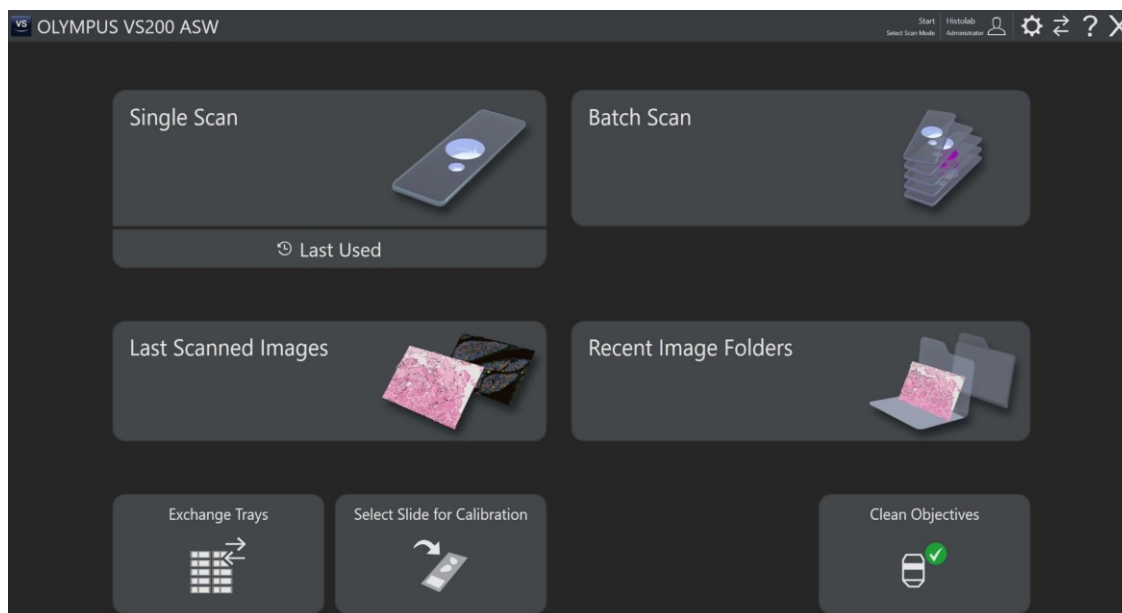
Teknisistä ominaisuuksista resoluutio mittaa pienintä välimatkaa, jolla kaksi pistettä voidaan tunnistaa omiksi kohteikseen. Resoluutioon vaikuttaa valon aallonpituus ja linssin numeerinen apertuuri (NA). Numeerinen apertuuri kertoo objektiivin erotuskyvystä. Ilman immersioöljyä 0.95 on suurin mahdollinen NA mikroskooppien objektiiveille. (Bancroft 2019a: 30.) Olympus VS200 mahdollistaa myös öljyobjektiivien käyttämisen kudoslasiin digitoinnissa (Evident: 3).

Toiminta näissä mikroskooppilasiskannereissa perustuu laattaskannaukseen, jossa skannerin kamera kuvaa kudosalueen mikroskoopin objektiivin läpi näkökenttä kerrallaan ja lopuksi ohjelmisto yhdistää kuvatut ruudut yhdeksi saumattomaksi kuvatiedostoksi, WSI:ksi (Bury & Griffin 2019: 476–479). Helsingin Biopankissa on toistaiseksi käytössä vain kirkaskenttäskannaus (Brightfield, BF), mutta molempiin skannereihin on laajennettavissa fluoresenssiskannausominaisuudet. Kummallakin laitteella on myös mahdollista käyttää laajennettua fokuointia (Extended Focusing, EFI) sekä suorittaa monitasoskannauksia (Z-stacking). EFI-menetelmää käytettäessä laite tarkentaa skannausalueen monelta tasolta, mutta koostaa lopulliseen kuvaan jokaisesta näkökentästä vain sen tason, jonka syvyysterävyys oli optimaalisin. (Evident: 7; Helsingin Biopankki 2021b: 1.)

## 3.2 Ohjelmistot

Mikroskooppilasiskannerit tarvitsevat laitteiston lisäksi digitaalisen käyttöympäristön ja erillisen kuvankatseluohjelman. Olympus SLIDEVIEW VS200 tuottaa kuvat VSI-tiedostoina ja referenssiskanneri 3DHISTECH Panoramic 250 MRXS-tiedostoina.

VS200-mikroskooppilasiskanneriin liitetyn tietokoneen keskusyksikössä on käytössä Windows 10 -käyttöjärjestelmä, johon ohjelmistot on asennettu. Olympus VS200 ASW 3.3 -ohjelmisto muodostaa mikroskooppilasiskannerin varsinaisen käyttöympäristön (kuva 5). Käyttäjä ohjaa käyttöliittymässä skannerin asetuksia hiirellä ja näppäimistöllä. (Evident: 5.)

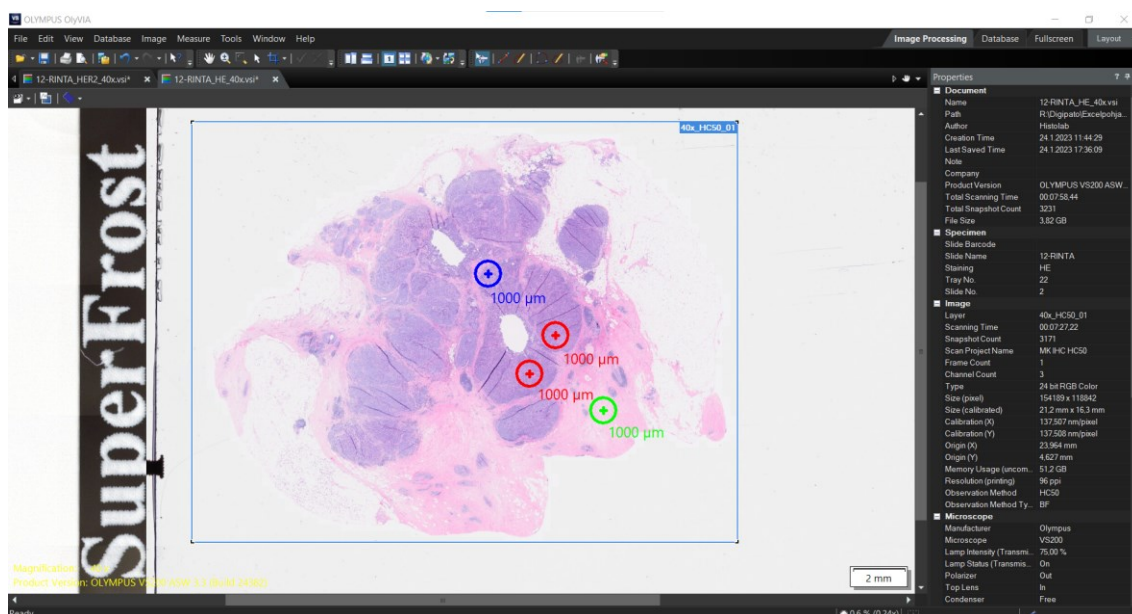


Kuva 5. Olympus VS200 ASW -skannausohjelmiston aloitusvalikko. Valittavissa on sekä yksittäisten lasien että suurempien lasierien skannaus, kuvatiedostojen tarkastelu, ja toimintotarjontien vaihtoon, laitteiston kalibrointiin ja objektiivien puhdistukseen.

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin käyttöliittymä mahdollistaa sekä yksittäisten lasien skannauksen (Single Scan) että suurempien lasierien massaskannaukset (Batch Scan). Ohjelmiston on oletusarvoisesti tarkoitus optimoida skannausasetukset. Asetuksia on kuitenkin mahdollista säätää myös manuaalisesti lukuisin tavoin. Näyte- ja lasityypeille spesifisten projektien luominen nopeuttaa työskentelyä, kun sekä tyypillisille että erityisen hankalille näytteille voidaan luoda soveltuvia skannausprofiileja. (Evident: 5.)

Olympus OlyVIA 3.3 -katseluohjelmisto mahdollistaa digitoitujen lasien tarkastelun perinteisen mikroskopoinnin tapaan, mutta katselualueen syvyyttä ei voi hallita samoin. Suurennosta kuitenkin voi, ja lasilla siirtyminen on hiiren kanssa vaivatonta. Monitasokannattujen (Z-stack) kuvien kanssa liikkuminen myös syvyyssuunnassa on mahdollista, koska skanneri ottaa samasta kohdasta kuvat eri tasoilta. (Bury & Griffin 2019: 481–484.)

Kuvankatseluohjelmissa voidaan myös esimerkiksi tarkastella useita digitalisoituja näyttelaseja rinnakkain, annotoida mielenkiintoisia kudosalueita (kuva 6) tai tehdä näytteläsiin muita digitaalisia merkintöjä (Bury & Griffin 2019: 486). Olympus VS200 -mikroskoopilasiskannerilla tuotettujen kuvien katselu ja käsittely onnistuu millä tahansa PC:llä, johon on asennettu tarvittava kuvankatseluohjelmisto, OlyVIA.



Kuva 6. Annotaatioiden lisääminen erivärisinä ympyröinä OlyVIA:ssa. Esimerkissä valittuna punaisella kaksi halkaisijaltaan 1 mm aluetta tuumoria, sinisellä 1 mm reuna-alueelta ja vihreällä 1 mm tervettä kudosta. Kudoslasilla on HE-värjätty rintakudosleike.

Digitalisoitujen kudoslaskuvien jakamista rajoittaa valtava tiedostokoko, ja useimmiten kuvatiedostot tallennetaan ulkoisille kovalevyille tai erityisiin pilvipalveluihin (Bury & Griffin 2019: 480–483; Evident: 6). Suurten kuvatiedostojen tallennus Helsingin Biopankissa tapahtuu tällä hetkellä verkkolevyille, jolloin niiden avaaminen on mahdollista HUS:n sisällä muillakin tietokoneilla kuin skannerikonaisuuden keskusyksiköllä.



## 4 Uuden laitteen käyttöönotto ja validointi

Validoinnilla eli varmentamisella tarkoitetaan selvitystä siitä, että laitteelle asetetut käyttöä koskevat vaatimukset täyttyvät. Validoinnissa varmistetaan perusteellisen testauksen avulla laitteen soveltuvuus ja suorituskyky suunniteltuun käyttötarkoitukseen. (Helsingin Biopankki 2021c: 1; Hägg 2016: 7.)

Laitteelle hankinnan yhteydessä määritellyt vaatimukset ohjaavat validoinnin menettelytapaa, ja ennalta suunniteltujen validointiparametrien tulee olla laitteen käytön kannalta merkityksellisiä. Parametrit voivat liittyä esimerkiksi laitteen tekniseen suorituskykyyn vastaanottotarkastuksen jälkeen, toistettavuuteen sarjan sisällä ja sarjojen välillä sekä uusittavuuteen pidemmällä aikavälillä. Valituilla parametreilla voidaan myös arvioida häiriötekijöiden vaikutuksia, valmistajan ilmoittamien raja-arvojen toteutumista, herkkyyttä ja tietoliikenteen toimivuutta. (Astrix Inc. 2019; Helsingin Biopankki 2021c: 2.)

Validointiprosessi alkaa kirjallisen suunnitelman laatimisella. Validointisuunnitelmassa tärkeintä on valita sopivat ja laitteen todellista käyttöä mallintavat parametrit, mutta siihen tulee kirjata tarkasti myös työssä käytettävät resurssit ja validoinnin hyväksymisen kriteerit. Suunnitelmaa voidaan tarkentaa tai muuttaa, mikäli tarve siihen ilmenee prosessin aikana. Validoinnin toteutusvaiheessa kaikkien havaintojen huolellinen dokumentointi on myös erityisen oleellista loppuvaiheen raportointia ajatellen. (Hägg 2016.)

Toteutetusta validoinnista laaditaan yhteenvetoraportti, jossa testauksessa saatuja tuloksia verrataan asetettuihin tavoitteisiin. Raporttiin kirjataan johtopäätökset perustelluineen sekä lyhyt yhteenveto siitä, soveltuuko laite käyttötarkoitukseensa ja voidaanko validointi hyväksyä. Laite voidaan ottaa käyttöön vasta validoinnin tultua hyväksytyksi. (Hägg 2016: 15–16.)

## 5 Työn tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön tarkoitus oli suorittaa Helsingin Biopankin Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin tekninen validointi ja käyttöönotto sekä tuottaa validoinnista kattava kirjallinen raportti ja suomenkielinen käyttöohjeistus laitteelle. Validoinnin tavoitteena oli todentaa, että uusi laite täyttää toimeksiantajan vaatimukset ja soveltuu tuotantokäyttöön. Opinnäytetyössä tavoitteena oli myös syventää tietoutta validoinnista prosessina ja perehtyä mikroskooppilasiskannerien toimintaan yleisellä tasolla.

Opinnäytetyötä ohjasivat kysymykset:

1. Täyttääkö Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri Helsingin Biopankin sille asetamat vaatimukset ja ovatko sekä sen käytettävyys että suorituskyky hyviä?
2. Ovatko Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin tuottamat kuvat laadukkaita ja soveltuvatko ne tutkimuskäyttöön ja tekoälyanalyysiin?
3. Voidaanko mikroskooppilasiskanneri hyväksyä suoritettun teknisen validoinnin perusteella tuotantokäyttöön Helsingin Biopankissa?

Työohjeen laatimisen mikroskooppilasiskannerille todettiin jo hyvin alkuvaiheessa olevan opinnäytetyön laajuuden kannalta liian suuri kokonaisuus, joten se tullaan toteuttamaan Helsingin Biopankissa erikseen työn valmistuttua. Validoinnin aikana tuotettuja huomioita tullaan kuitenkin hyödyntämään suunniteltaessa työohjetta histologian laboratorion henkilökunnan perehdytykseen ja työskentelyyn mikroskooppilasiskannerilla. Lisäksi laitteen testauksen ja käyttöönoton yhteydessä skannausohjelmaan luotiin valmiita profiileja erityyppisten kudoslasiens digitointia varten.

## 6 Opinnäytetyön toteuttaminen

### 6.1 Menetelmät ja aineistonkeruu

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerille oli suoritettu Helsingin Biopankissa jo aiemmin tekninen validointi, jonka lopputuloksena laitetta ei hyväksytty tuotantokäyttöön. Aiemmasta validoinnista kirjoitettua raporttia hyödynnettiin uusintavalidoinnin toteutuksen suunnittelussa ja dokumentoinnissa. Lisäksi laitevalmistajan edustaja oli hyvin tavoitettavissa ja vastaamassa osaltaan validoinnin aikana ilmenneisiin kysymyksiin.

Opinnäytetyötä Helsingin Biopankissa ohjasivat kehittämisspällikkö ja histopatologian laboratorion prosessivastaava. Työskentely tapahtui sekä itsenäisesti että Biopankin toimitiloissa. Opinnäytetyöprosessiin liittyi myös opettajan ohjaukset ja työpajoihin osallistumista. Prosessi sisälsi myös opinnäytetyöseminaareja sekä muiden opiskelijoiden opponointia.

Taustatietoa opinnäytetyöhön kerättiin alan kirjallisuudesta ja tietokannoista käyttäen soveltuvia hakusanoja, kuten esimerkiksi: validation, WSI, digital pathology, histology, virtual microscopy. Työhön valittiin ajantasaista tietoa, kelpoisuusehtona oli alle 10 vuotta julkaisusta ja saatavuus koulun lisensseillä. Relevantteja, englannin- ja suomenkielisiä lähdeartikkeleita valikoitiin hakukoneista PubMed, Google Scholar ja Medic.

Mikroskooppilasiskannerin validointiin on yleisesti suositeltu käytettävän vähintään 60 näytteen poolia (Evans ym. 2022). Olympus VS200:n teknistä validointia varten Helsingin Biopankissa koottiin näytepooli erityyppisistä kudoslaseista, jotta validoinnilla saataisiin mahdollisimman kattava kuva laitteen suorituskyvystä ja käytettävyydestä. Valitut lasit olivat HUSLAB:n patologian näytearkistosta kerättyjä, diagnostiikkaa varten valmistettuja kudoslaseja vuosilta 1997–2022. Mukaan valittiin erilaisia kudoksia, näytetyyppejä (esim. biopsiat ja TMA:t), eri valmistajien objektilaseja sekä perus-, erikois- ja IHC-värjäyksiä. Työssä validointiin käytettävien näytelasien määräksi muodostui 130. Taulukossa 2 on esitetty validoinnissa käytettyjen kudoslasiain ominaisuuksia.

Taulukko 2. Validoinnissa käytetyn näytepoolin koostumus.

Näyte	Ominaisuudet, värjäykset	kpl
<b>Imusolmuke</b>	runsassoluinen kudos, lasit tuoreita (<1 v), HE	10
<b>Rintasyöpä</b>	rasvainen, HE + erilaiset värjäytymisen voimakkuuden asteet: ER, PR, MIB-1 (Ki-67), c-erbB2 (HER-2)	50
<b>Prostatabiopsia</b>	pitkänomaiset neulabiopsiat, horisontaaliset, HE	24
<b>Keuhkosyöpä</b>	pienet näytteet, HE + PD-L1	10
<b>Lymfooma</b>	lasit vanhoja (>20 v), HE, Giemsa, Reticulin, PAS, IHC	21
<b>Monikudosleike (TMA)</b>	n. 50–130 erillistä näytespottia lasilla, HE + IHC	5
<b>Eri objektilasityypit</b>	Klinipath, SuperFrost Plus, TOMO	9
<b>Makrolasi</b>	76 x 51 mm, HE	1
	yht.	<b>130</b>

Validointipoolin kaikista näytteistä oli vähintään HE-värjätyt lasit. Rintänäytteistä valittiin lisäksi yleisimmin syöpädiagnostiikassa käytettyjä immunohistokemiallisia värjäyksiä; estrogeenireseptori (ER), progesteronireseptori (PR), MIB-1/Ki-67 proliferaatioindeksi ja HER-2-onkogeneeni (Wan ym. 2018). Keuhkonäytteistä mukaan valikoitui perusvär-

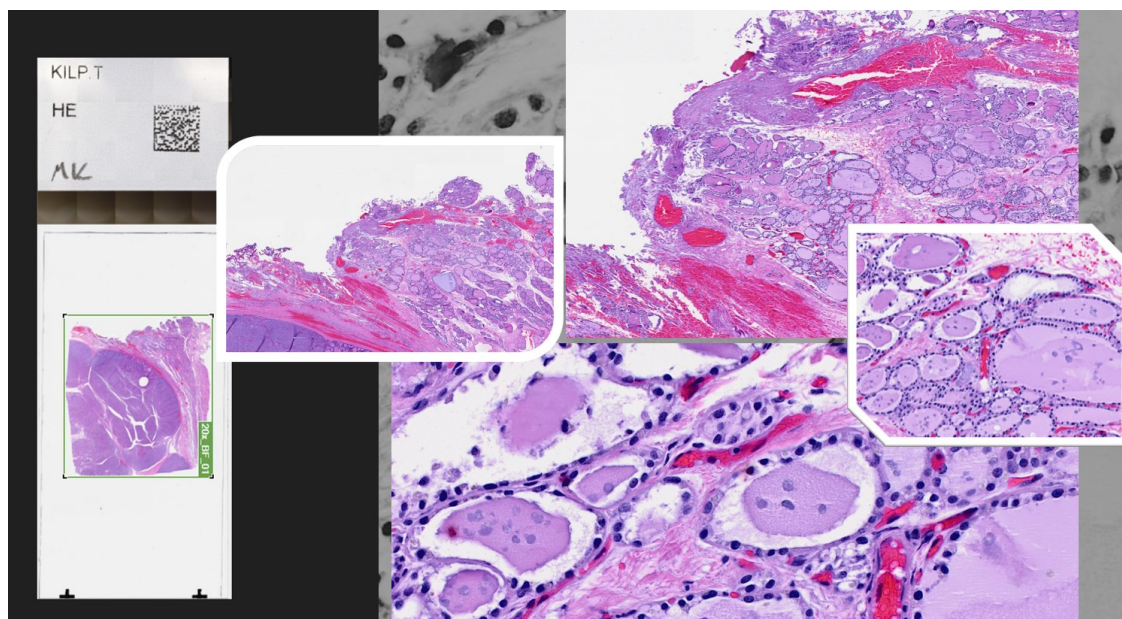
jäyksen lisäksi PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1), joka kertoo keuhkosyövän tyypistä (Saif ym. 2020). Lymfoomanäytteistä otettiin pooliin mukaan tyypillisimpiä erikois- ja IHC-värjäyksiä.

## 6.2 Validointiprosessi

Mikroskooppilasiskannerin validointiin valittavilla parametreilla arvioidaan sekä kuvanlaatua että laitteen käytettävyyttä ja suorituskykyä (Niinimäki 2021: 2–7). Joitain näistä ominaisuuksista on hankalahko mitata, mutta ne ovat kyseessä olevan laitteen tapauksessa kvantitatiivisia määreitä olennaisempia. Sopivia parametreja validoinnissa käytettäviksi ovat esimerkiksi:

- Toistettavuus
- Kudosalueiden automaattisen tunnistuksen toimivuus
- Epätarkkuusalueiden määrä ja koko
- Epäjatkuvuusalueiden määrä ja koko
- Ohjelmiston työkalujen käytettävyys (esim. kudoksen rajaaminen)
- Peruskäytäntöjen sujuvuus (esim. tiedostojen nimeäminen)
- Lasien lataamisen ja purkamisen kesto/vaivattomuus
- Kuvien teknisen laadun tarkastamiseen kuluva aika
- Tekstin ja muiden digitaalisten merkintöjen lisäys kuvaan
- Digitoinnin kesto ajallisesti ja suhteessa laitevalmistajan ohjeaikoihin
- Värien toistuminen
- Histologisten yksityiskohtien erottuvuus suhteessa referenssikuviiin
- Taustan värityksen tasaisuus.

Helsingin Biopankissa laaduntarkkailuun kuuluu, että skannausten valmistuttua jokainen kuva tarkastetaan silmämääräisesti. Teknistä laatua arvioitaessa havainnoidaan erityisesti näytteen reuna-alueiden yhdenmukaisuutta, mahdollisia epätarkkuusalueita ja skannausartefaktia. Digitalisoidun kudoslasiin tarkastelu tapahtuu siirtymällä esikat-selunäkymästä aina niin pitkälle, että kudostarologia erottuu (kuva 7). (Cox & Colgan 2019: 3; Leica Biosystems.)



Kuva 7. 20-kertaisella suurennoksella digitalisoidun näytteen tekninen tarkastelu esikatseluku-  
vasta histologisiin yksityiskohtiin. Kudoslasilla HE-värjätty leike kilpirauhastuumorista.

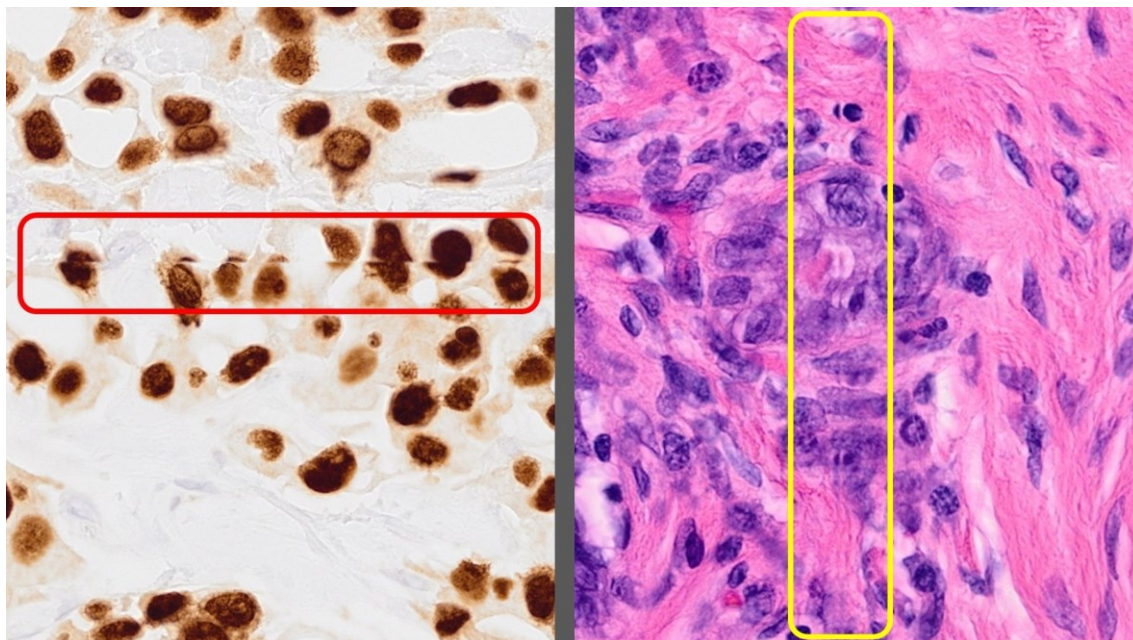
Kudoslasin skannauksen onnistumista arvioitaessa huomiota ei kiinnitetä siihen mitä lasilla on, vaan siihen kuinka sen siirtäminen digitaaliseen muotoon on onnistunut. Tämä voidaan tehdä suurentamalla kuvaa niin, että kudoksen histologiset yksityiskohdat erottuvat, jolloin kuvan tarkkuus ja rajauksen riittävyys ovat silmämääräisesti arvioitavissa. (Leica Biosystems.)

### 6.2.1 Lähtötilanne

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri oli asennettu käyttökuntoon valmistajan edustajan toimesta, kun se luovutettiin Helsingin Biopankille vuonna 2021. Tämän jälkeen laitteelle oli hyväksytysti suoritettu vastaanottotarkastus HUS Lääkintätekniikan toimesta. Tekninen asiantuntija on vahvistanut laitteiston olevan asianmukaisesti CE-merkitty ja täyttävän EMC-direktiivin vaatimukset. (Bury & Griffin 2019: 488; Villman 2021.)

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerille oli tehty testauksia Helsingin Biopankissa aiemman validoinnin yhteydessä, mutta ongelmat käyttöliittymän ja laitteen tuottaman kuvanlaadun kanssa eivät sallineet aloitusta tuotantokäytössä. Automaattinen kudostunnistus oli jättänyt suuren osan kudoksen reuna-alueista tunnistamatta, jolloin tarkennus ei toiminut. Varsinkin erittäin vaaleiden värjäyksien tunnistamisessa esiintyi huomattavia ongelmia. Skannausalueen rajaaminen käsin oli vaikeaa, joten tarkennusta ei saatu kuntoon manuaalisestikaan. (Niinimäki 2021: 3–5).

Validoinnissa havaittiin, että 40x-suurennoksella pienetkin vaihtelut peitinlasien paksuudessa aiheuttivat kuviin runsaasti epätarkkuusalueita. Häiriöitä esiintyi myös skannattujen kuvalaattojen yhteen liittämisenä (kuva 8). Laadukkaiden kuvien tuottaminen vaati todella paljon käsityötä. (Niinimäki 2021: 3–6.)



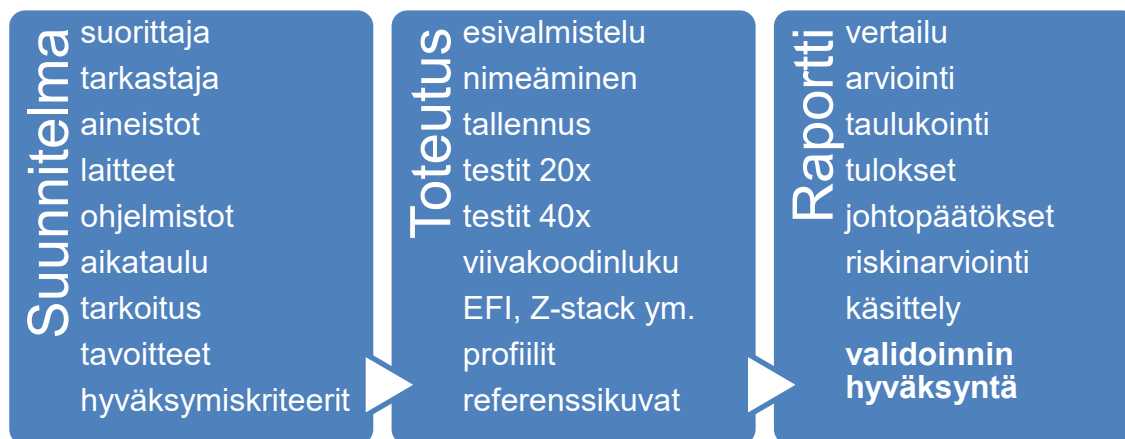
Kuva 8. Digitalisoiduissa näytteissä esiintyy toisinaan poikkeamia kuvanlaadussa. Kuvissa epäjatkuvuusalueet (merkitty punaisella/keltaisella), joita syntyy, kun kuvalaattojen yhteen liittäminen ei ole täysin onnistunut.

Epäjatkuvuusalueella tarkoitetaan skannerin kuvaamien näkökenttien yhteen liittämisenä tapahtunutta virhettä. Skannerin kamera kuvaa koko kudosalueen laattoina, jotka ohjelmiston tulisi liittää saumattomasti yhteen. Erityisesti suuremmilla suurennoksilla (40x) tai laajennetulla tarkennuksella (EFI) laseja digitoitaessa tähän tulee helposti häiriöitä, jotka näkyvät skannatuissa kuvissa saumoina. (Niinimäki 2021: 5–6.)

Ohjelmistojen käytettävyydessä oli runsaasti muitakin puutteita kuvanlaadun heikkouden lisäksi. Skannausohjelman kaatumisen satunnaisesti teki laitteen käytöstä epäluotettavaa ja aikaa vievää. Kudostunnistuksen sisältävä näkymä jäi näkyviin digitalisoi-tuihin näytelaseihin. Valmistajan ilmoittamat referenssiajat skannausten ajallisesta kestosta eivät pitäneet paikkaansa. Lisäksi kuvankatseluohjelmassa annotointien merkitseminen oli kömpelöä ja hidasta. (Niinimäki 2021: 2–7.)

## 6.2.2 Validointisuunnitelma

Validoinnin toteutus eteni suunnitelman mukaan, joka tehtiin Helsingin Biopankin validointi/verifointisuunnitelma- ja raporttipohjaa hyödyntäen. Suunnitelmaan kirjattiin prosessin vastuuhenkilöt ja suorittajat, käytettävät aineistot ja laitteisto, aikataulu, määriteltiin tarkoitus ja tavoitteet sekä asetettiin hyväksymiskriteerit. (Helsingin Biopankki 2021d: 1–2.) Kuviossa 1 esitetään mikroskooppilasiskannerin validointiprosessi.



Kuvio 1. Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin validointiprosessi.

Validoitavan laitteen suunniteltu käyttötarkoitus ja käyttöä koskevat vaatimukset määriteltiin seuraavasti:

- Mikroskooppilasiskanneria käytetään ominaisuuksiltaan erilaisten histologisten näytelasien siirtämiseen digitaaliseen muotoon.
- Validoinnin tarkoituksena on varmentaa laitteen suorituskyky ja soveltuvuus tuotantokäyttöön. Validoinnissa tarkastellaan laitteiston käytön sujuvuutta, sen tuottamien kuvien teknistä laatua ja ohjelmistojen käytettävyyttä.
- Mikroskooppilasiskannerin tuottamissa kuvissa ei saa olla toistuvasti epätarkkuusalueita, epäjatkuvuuskohtia, värivirheitä tai taustan epätasaisuutta.
- Skannausohjelmiston on oltava käyttökelpoinen ja kuvankatseluohjelman on mahdollistettava kuvien sujuva tarkastelu eri suurennoksien sekä erilaisten digitaalisten merkintöjen tekeminen laselle.

Hyväksymiskriteereihin kirjattiin taulukossa 3 mainittuja asioita. Heikkolaatuisen leikkeen tai vahingoittuneen objektin aiheuttamia häiriöitä skannauksessa ei tulkittu virheeksi kudoslasien digitalisoinnissa.

Taulukko 3. Asetetut hyväksymiskriteerit Helsingin Biopankin Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin validoinnille.

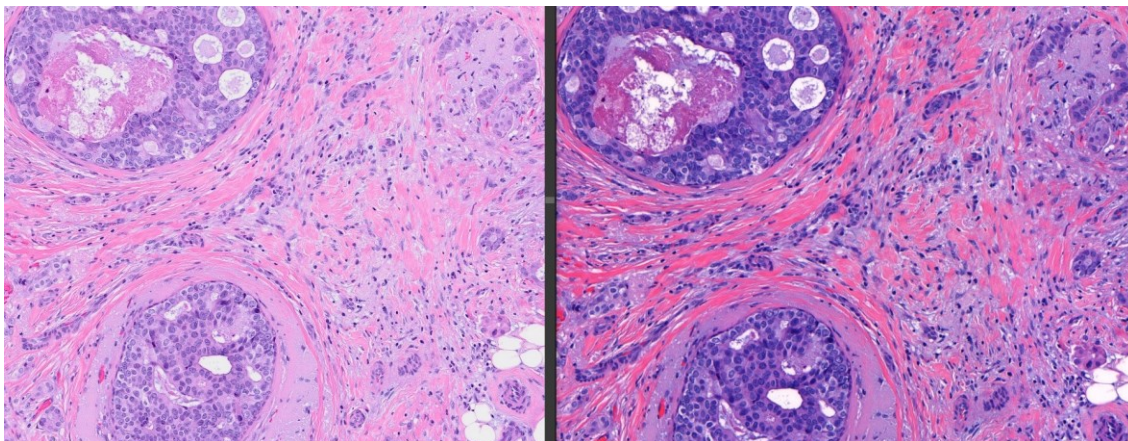
Arvioitava ominaisuus	Hyväksymisen kriteerit
<b>Kuvanlaatu 20x</b>	Vain satunnaisia epätarkkuusalueita tai epäjatkuvuuskohtia. Ei värivirheitä, taustan värityksen tasainen.
<b>Kuvanlaatu 40x</b>	Muutamia epäjatkuvuuskohtia sallittu. Vain satunnaisia epätarkkuusalueita. Ei värivirheitä, taustan värityksen tasainen.
<b>Toistettavuus ja uusittavuus</b>	Kuvanlaadun oltava toistettavissa sarjan sisällä ja sarjojen välillä. Kuvanlaadun oltava uusittavissa pidemmällä aikavälillä.
<b>Suorituskyky</b>	Kudosalueen automaattinen tunnistaminen toimii / alue rajattavissa myös manuaalisesti.
<b>Käytettävyys</b>	Laitteen ja sen ohjelmiston käyttö on sujuvaa, mahdollisimman vähän manuaalista työtä.
<b>Skannausajat</b>	Alle 240 sekuntia 15x15 mm alueella 20x tai toteutuvat valmistajan antamien ohjeellisten aikojen mukaisesti.
<b>Annotoiminen / merkintöjen tekeminen</b>	Onnistuu kuvankatseluohjelmassa vaivattomasti, ja annotaatiot skaalautuvat näkymää pienennettäessä / suurennettaessa.

Laitteiston ja ohjelmistojen käytettävyyttä arvioitiin validoinnin aikana sanallisesti vapaamuotoisena tekstinä ja konkreettisia toimintoja käytettiin mittareina. Kuvanlaatua tarkasteltiin silmämääräisesti, havainnot kirjattiin selkeästi ja mahdollisimman tarkkaan. Löydöksiä havainnollistettiin tallentamalla kuvakaappauksia.

### 6.2.3 Validoinnin toteuttaminen

Kaikki näytepooliin valitut kudoslasit skannattiin useampaan kertaan, jotta saatiin testattua kuvanlaadun toistettavuutta. Testauksia tehtiin molemmilla objektiiveilla (20x ja 40x) ja eri skannausmenetelmillä (single layer, EFI, Z-stack). Lisäksi Helsingin Biopankin toisella mikroskooppilasiskannerilla Pannoramic 250:lla otettiin tyypillisellä 20x-suurenoksella ja *Calibrated linear* -värimallilla referenssikuvat, jotta Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin tuottamia kuvia voitiin silmämääräisesti verrata (kuva 9) sen tuottamaan, sertifioituun laatuun (Hägg 2016: 34). Näitä kuvapareja on esitetty laajemmin liitteessä 1.





Kuva 9. Yksityiskohta saman kudoslasiin 20x-skannauksesta. Vasemmalla Olympus VS200:lla ja oikealla Pannoramic 250 -mikroskooppilasiskannerilla tuotettu kuva ilman kuvankäsittelyä. Kuvassa HE-värjätty kudoslasi rintasyöpänäytteestä.

Eri skannereilla tuotettujen kuvien vertailu ei suoraan onnistu samalla katseluohjelmalla eri tiedostotyyppien takia. Niitä on kuitenkin mahdollista tarkastella rinnakkain jaetulla näytöllä. Kuvien muuntaminen samaan muotoon on hidasta, joten opinnäytetyön kannalta sitä ei katsottu tarpeelliseksi.

Tuloksia käsiteltiin Excel-taulukkolaskentaohjelmassa. Taulukoihin kirjattiin vapaamuotoisia huomioita prosessin aikana kaikista osa-alueista, koottiin poikkeamia, listattiin tiedostokokoja ja otettiin aikoja eri vaiheiden kestosta. Kuvista arvioitiin esimerkiksi histologisten yksityiskohtien erottumista ja laskettiin laatuvirheiden määriä. Näiden lisäksi kuvankatseluohjelmassa arvioitiin sen käytettävyyttä sekä yleisesti että kuvien tarkastamisessa ja testattiin kuvien merkitsemiseen tarkoitettuja työkaluja.

#### 6.2.4 Raportointi

Toteutetusta validoinnista koostettiin validointiraportti, joka on toimeksiantajan virallinen dokumentti. Raporttiin kirjattiin suunnitelmassa määriteltyjen tietojen lisäksi validoinnin toteutuksen ajankohta, tulokset ja johtopäätökset. Validointiraportti käsitellään Helsingin Biopankin yksikkökokouksessa. (Helsingin Biopankki 2021d: 1–2.)

Helsingin Biopankin validointiohjeissa oli mukana myös riskinarviointi, joka on osa lopullista validointiraporttia. Riskinarviointiosuudessa arvioitiin validoidun asiakokonaisuuden vaikutusta biopankkinäytteiden turvallisuuden näkökulmasta. Mikroskooppilasiskannerin riskitekijöiksi kirjattiin tiedostojen tietoturvalliseen säilytykseen liittyvät kysymykset ja yleisimmät inhimilliset virheet, esim. poikkeama lasitunnisteessa virheelli-

sen nimeämisen takia (Cox & Colgan 5–7). Riskienhallintaan kuuluu laboratoriohenkilökunnan perehdyttäminen turhien laiterikkojen ym. välttämiseksi, työohjeiden laatiminen ja päivitys sekä laitteen määräaikaishuolloista huolehtiminen. Olympus VS200 lataa näytteet skannattavaksi tarjottimella vaakatasossa, joten todennäköisyys lasien vaurioitumiselle toimintahäiriönkään yhteydessä on suhteellisen pieni.

## 7 Tulokset ja tulosten tarkastelu

### 7.1 Tulosten arviointi

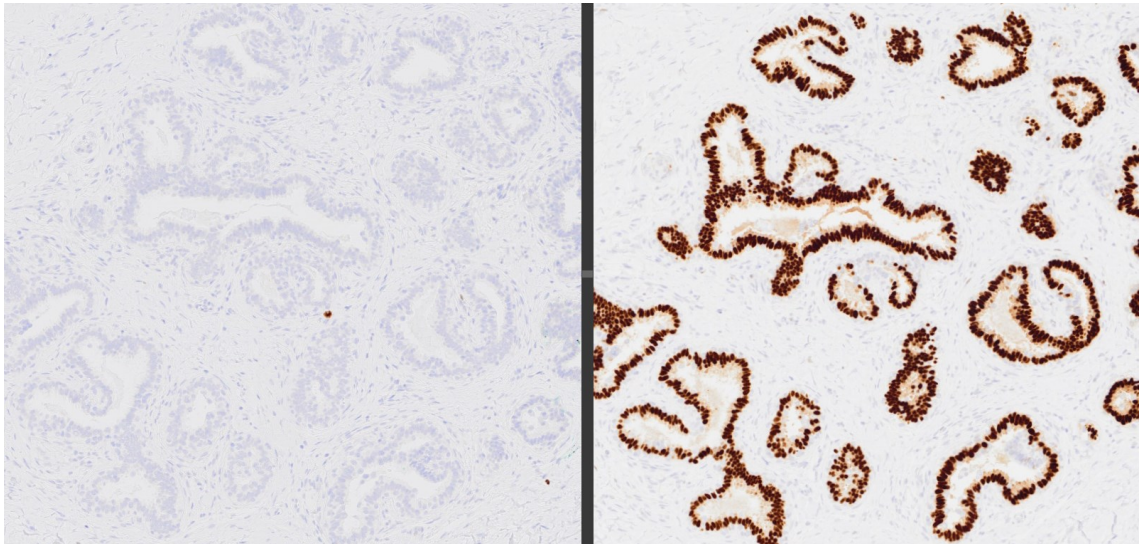
Kaikkien validoinnin aikana skannattujen näytelasien tiedoissa näkyy mm. skannausten ajankohta, valittu profiili, skannausmenetelmä ja käytetty objektiivi. 20x on standardisuurennos Helsingin Biopankin digitoimissa kudoslaseissa, joten tulosten arvioinnissa painotetaan havaintoja sillä tehdyistä testauksista.

Mikäli Olympus VS200:lla skannatussa kuvassa havaittiin paljon epätarkkuusalueita, se uusittiin. Skannauksia jouduttiin uusimaan noin 15 prosentissa näytteistä. Taulukossa 4 eritellään tarkat määrät uusinnoista.

Taulukko 4. Validoinnin aikana uusittujen 20x-skannausten määrät.

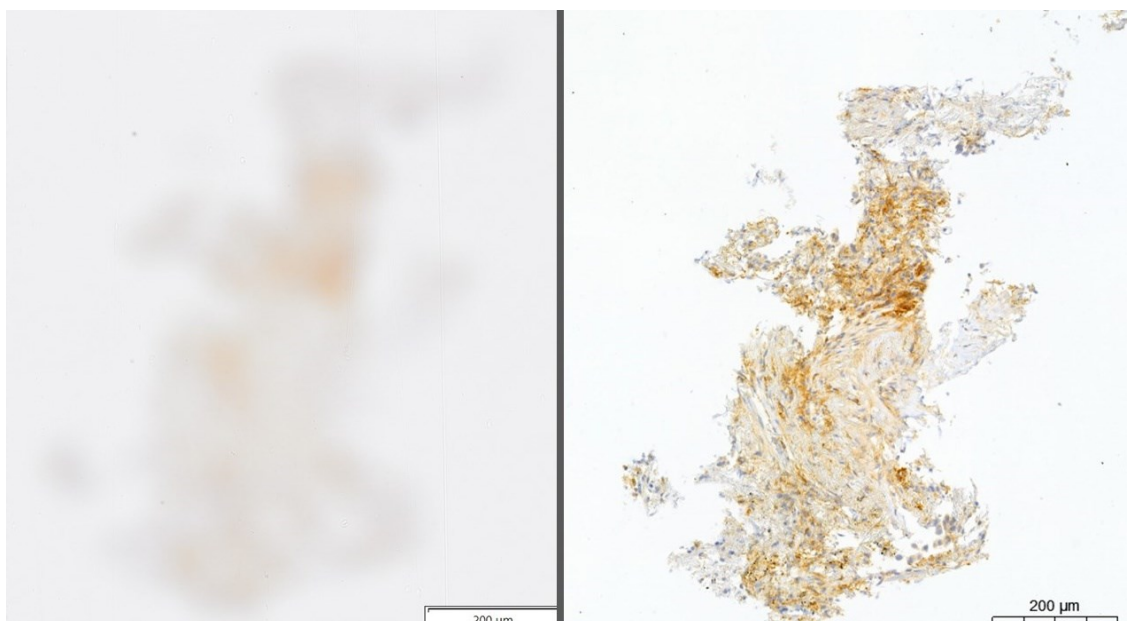
Näyte	skannattu kpl	uusittu kpl	uusimispro- sentti
<b>Imusolmuke</b>	10	0	0 %
<b>Rintasyöpä</b>	50	9	18 %
<b>Prostatabiopsia</b>	24	0	0 %
<b>Keuhkosyöpä</b>	10	2	20 %
<b>Lymfooma</b>	21	0	0 %
<b>Monikudosleike (TMA)</b>	5	0	0 %
<b>Eri objektilasityypit</b>	9	0	0 %
<b>Makrolasi</b>	1	0	0 %
<b>yht.</b>	<b>130</b>	<b>11</b>	<b>15.38 %</b>

Validoinnin aikana huomattiin, että Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri suoriutuu heikoiten hyvin rasvaisista ja vaaleista IHC-värjätystä näytteistä. Tämä nähtiin rintänäytteistä, joissa uusintaprosentti oli 18 % ja keuhkonäytteistä, joissa se oli 20 %. Määrällisesti uusittavaa eniten oli rintasyöpänäytteissä, joissa värjäysasteet vaihtelivat paljon (kuva 10). Useimmiten uusinnat liittyivät kasvainta ympäröivän rasvakudoksen rajautumiseen skannausalueen ulkopuolelle.



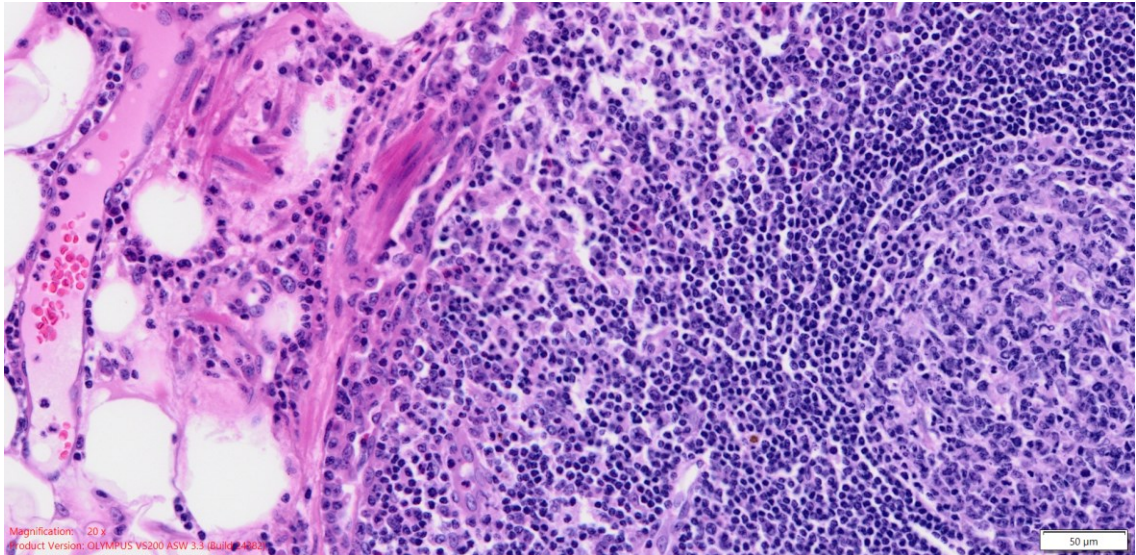
Kuva 10. Samasta rintakudosnäytteestä vasemmalla MIB-1- ja ER-värjäys oikealla. Molemmat kudoslasi on digitoitu Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerilla.

Kymmenestä keuhkosityöpänäytteestä uusittiin kaksi, molemmat olivat PD-L1-värjättyjä (kuva 11). Samoista näytteistä HE-värjättyjen kudoslasiin kohdalla ongelmia ei havaittu, vaikka kudosalueet olivat yhtä pieniä.



Kuva 11. Vasemmalla PD-L1-värjätyn keuhkonäytteen epäonnistunut 20x-skannaus Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerilla, oikealla referenssikuva Pannoramic 250:lla. Olym-  
puksen tarkennus on kohdistunut lasin pinnan artefaktaan kudoksen sijaan.

Oletusasetuksilla saatiin hyviä tuloksia, kun kudoksenäyte oli voimakkaasti värjäytynyt (kuva 12). Validoinnin aikana laitteelle luotiin eri näytetyypeille soveltuvia profiileja hel-  
pottamaan kudosalueen tunnistusta myös vaaleiden värjäysten kohdalla.










Kuva 12. HE-värjätty imusolmukenäyte skannattuna Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin oletusasetuksilla 20x-suurennoksella.

40x-skannauksissa uusintoja tehtiin useita peitinlasien huonon kunnan vuoksi. Muovikal-  
vot olivat naarmuuntuneita vanhemmissa näytteissä, mikä vaikutti negatiivisesti herkän  
40x-objektiivin toimintaan. Objektiivikohtaista peitinlasin paksuusarvoa ei muutettu, vaan  
kaikki skannaukset suoritettiin 0.17 millimetrin oletusarvolla.

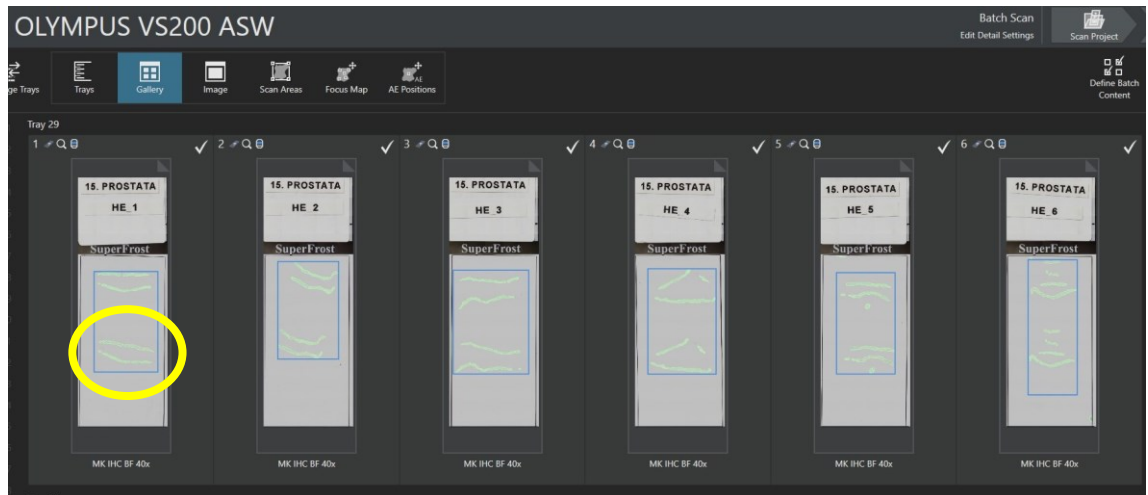
## 7.2 Laitteen tekninen suorituskyky

Laitteen teknistä suorituskykyä arvioitiin validointiprosessin aikana monin tavoin. Taulu-  
kossa 5 on esitetty testattuja toimintoja ja arvioituja parametreja.

Taulukko 5. Testit, tulokset ja huomiot Olympus VS200:n suoriutumisesta erilaisissa skannaustilanteissa. Vihreällä merkityt tulokset ovat sellaisenaan hyväksyttäviä, sinisellä merkityt vaativat lisänäyttöjä.

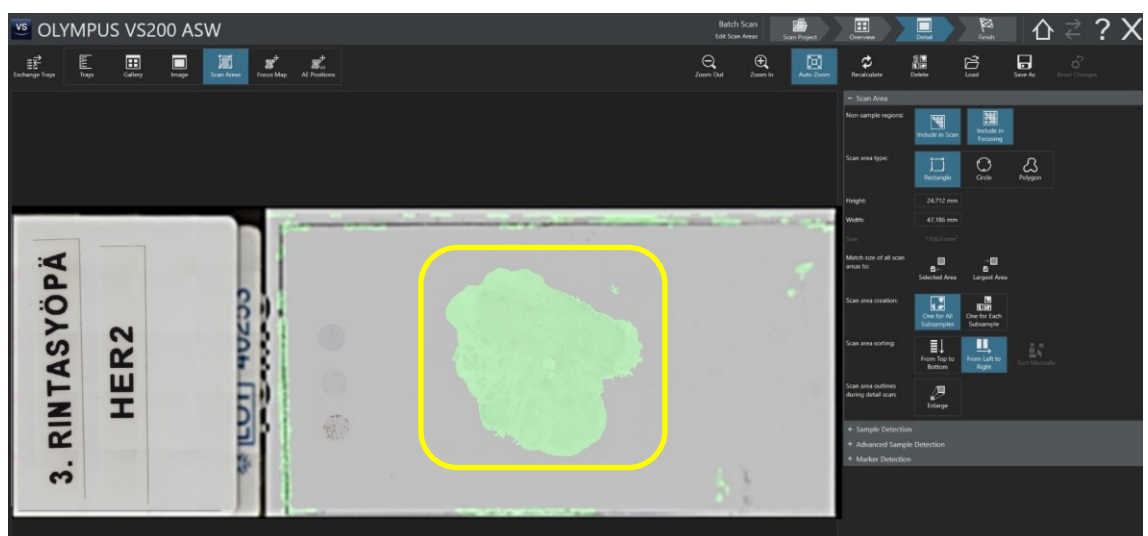
Testi	Tulos	Huomioita
<b>Kudosalueen automaattinen tunnistus</b>		Alhaisen värjäysasteen IHC-näytteissä haasteita, varsinkin rasvakudoksen kohdalla. Peitinlasien reunat mukana autom. poistosta huolimatta.
<b>Kudosalueen rajaaminen manuaalisesti</b>		Automaattisen tunnistuksen virheitä voidaan paikata rajaamalla kudosalue manuaalisesti.
<b>Toistettavuus</b>		Sarjan sisällä kuvanlaadussa ei vaihtelua, sarjojen välillä satunnaisesti.
<b>Uusittavuus</b>		Pitkällä aikavälillä ei merkittävää vaihtelua kuvanlaadussa.
<b>Reunasta reunaan (WSI)</b>		Skannauspinta-ala saadaan kattamaan lasi reunasta reunaan, kun peitinlasin poisto -toiminto otetaan pois päältä.
<b>Eri objektilasityypit (SuperFrost Plus, Klinipath, TOMO)</b>		TOMO-laseissa taustan värjäytyminen näkyy vähäisinä ylimääräisinä alueina kudoksen automaattisen tunnistamisen yhteydessä.
<b>Tussimerkinnän (markkeri) tunnistus ja poisto</b>		Automaatti tunnistaa toisinaan virheellisesti HE-värjättyä kudosta punaiseksi tussiksi. Markkerin väri voidaan määrittää kuvasta.
<b>EFI, Z-stack</b>		High contrast (HC50) -asetus on hyvä valita käyttöön.
<b>Makrolasi (76 x 51 mm)</b>		Lasien tunnisteet näkyvät kuvissa huonosti, etenkin jos tunnistetarra on asetettu vinoon tai hiospää on läpinäkyvä.
<b>Särkynyt lasi</b>		Esikatselukuvaan ei tarkennusta.

Kudosalueiden automaattinen tunnistus toimii optimaalisesti (kuva 13), kun skannausprofiili on näytteelle sopiva. Skannausprofiilin valintaan vaikuttavat esimerkiksi kudoksen näytteen koko, värjäyksen voimakkuus ja haluttu skannausmenetelmä.



Kuva 13. Kudosalueiden automaattinen tunnistus (ympyröity keltaisella) näkyy vihreänä esikatselukuivissa. Ohjelmisto on tunnistanut laseilta oikein pitkänomaiset, ohuet prostata-biopsianäytteet.

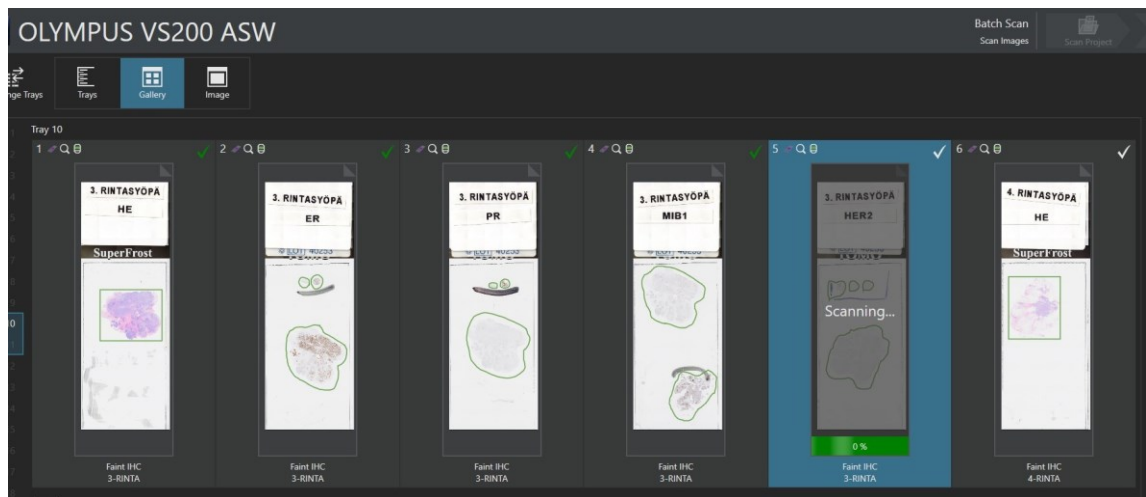
Esimerkiksi ohuiden biopsianäytteiden kohdalla kudostunnistus toimi parhaiten, kun kudostunnistuksen painoarvoksi asetettiin 0. Vaaleissa rintänäytteissä sen sijaan parhaimmat asetukset esikatselukuivassa olivat HC50 (high contrast) ja kudostunnistuksen painoarvo 80 %. Mitä suurempi arvo on, sitä enemmän kudostunnistuksen ohjelma antaa painoarvoa näytteen rakenteelle suhteessa sen väriin. HE-värjättyjen ja voimakkaasti värjättyneiden näytteiden kohdalla ohjelmisto tunnistaa pääosin koko kudosalueen hyvin. Peitinlasin poisto -toiminnosta huolimatta mukaan tulee usein myös peitinlasin raja-alueita, joissa liimajäljet ja ilmataskut peitinlasin alla muodostavat riittävän suuren kontrastieron (kuva 14).



Kuva 14. Kudosalueen automaattinen tunnistus on tunnistanut kudosalueen (rajattu keltaisella) oikein, mutta merkitsee myös peitinlasin alla olevat liimajäljet ja ilmakuplat skannattavaksi näytealueeksi, joka näkyy kuvassa vihreänä.

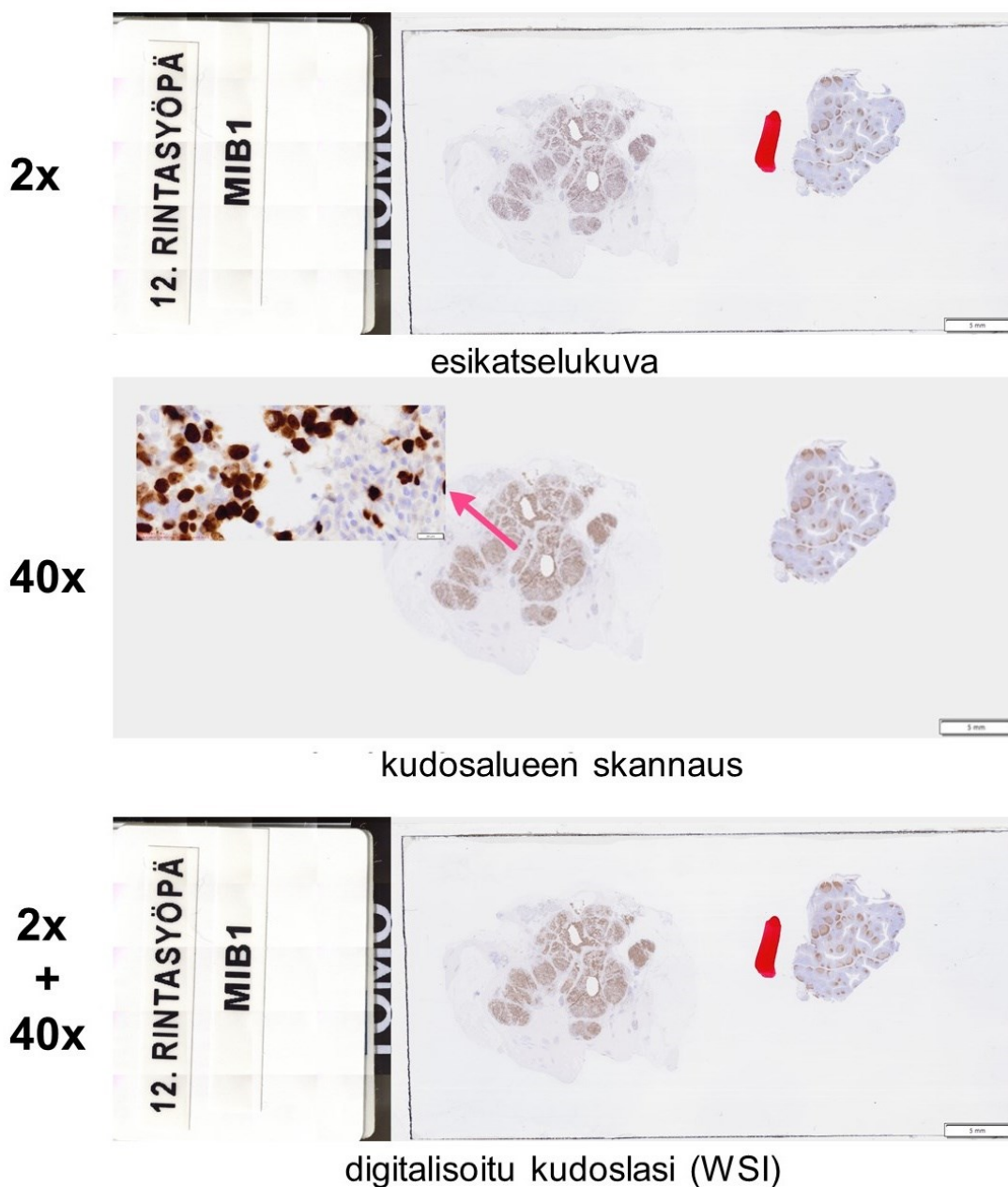
Validoinnin aikana havaittiin, että kaikkien näytteiden kohdalla kannattaa ottaa käyttöön esikatselukuvan esitarkennus ja tarkentaa myös tausta-alueisiin. Tämä hidastaa skannausprosessia joitain sekunteja, mutta parantaa automaattisen kudostunnistuksen tuloksia noin 80 prosentissa tapauksista. Tausta-alueet voi jättää pois lopullisesta skannauksesta, jolloin tiedostokoko pysyy hallitumpana. Myös kudosalueen ns. reikien täyttö -toiminto kannattaa aktivoida, jolloin kudostunnistuskartan aukkopaidat täytetään ja skannausalueesta tulee yhtenäinen.

Kudosalueen rajaaminen onnistuu suorakulmiona, ympyränä tai vapaasti kädellä piirtäen. Viimeinen on erityisen kätevä ominaisuus epäsäännöllisen muotoisten näytteiden kanssa (kuva 15), joiden reuna-alueita automaattitunnistus ei ole havainnut. Mahdollisimman tarkka rajaaminen pienentää tiedostokokoa ja nopeuttaa skannausta.



Kuva 15. Näytetarjottimen ensimmäisellä ja viimeisellä lasilla olevat kudospätytteet on rajattu suorakulmiona (vihreällä), muut manuaalisesti rajaamalla.

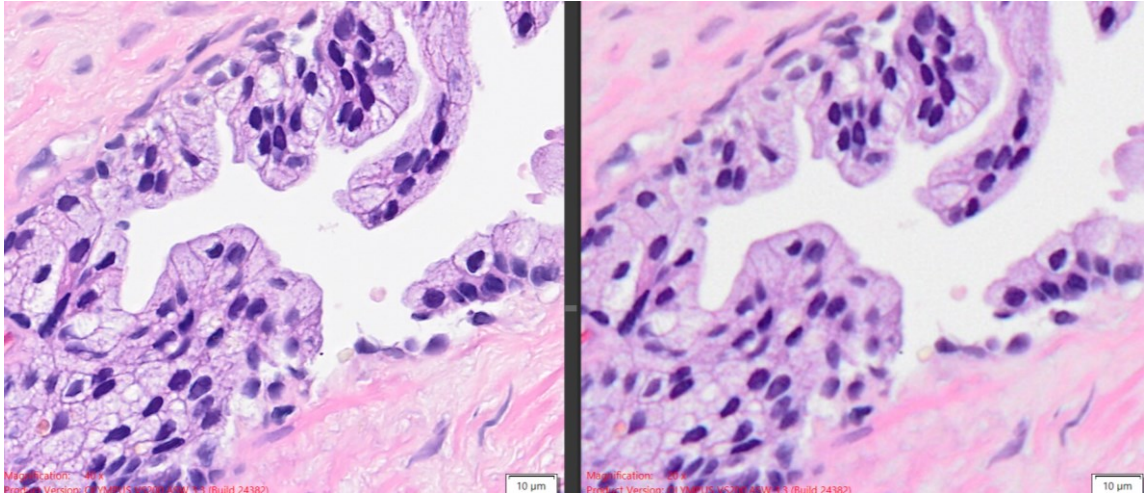
Myös markkerin (tussin) poisto -toiminto vaikuttaa tiedostokokoon ja skannausnopeuteen myönteisesti. Vaikka skannausalueeksi olisi valittu laaja alue taustoineen, tussijälki näkyy vain näytelasin esikatselukuvassa, koska siihen ei tarkenneta enää lopullisessa skannauksessa. OlyVIA-kuvankatseluohjelma näyttää koko lasin esikatselukuvan varsinaisen digitalisoidun kudospätytteen ”päällä” omana kerroksenaan, jolloin markkerikohta on erotettavissa (kuva 16).



Kuva 16. Ylimpänä kudoslasi skannauksen 2x-esikatselukuva, jossa nähdään kudosalueen lisäksi lasin tunniste hiospäässä, peitinlasi reunat sekä punainen markkeri, joka erottaa kontrollinäytteen. Keskellä varsinainen 40x-skannaus kudoksesta ja alimpana lopullinen WSI, jossa nämä on yhdistetty. Kuvissa Olympus VS200:lla digitalisoitu MIB-1-värjätty rintasyöpänäyte.

Prosessin aikana testattiin myös mikroskooppilasiskannerin laajennettu tarkennus- ja monitasoskannaus-toiminnot (kuva 17). Molemmat toimivat odotetusti ja kuvanlaatu oli hyvä sekä 20x- että 40x-objektiveilla. High contrast (HC50) -asetus kuitenkin todettiin lähes välttämättömäksi varsinkin EFI-menetelmää käytettäessä. Asetus sulkee mikroskoopin kondensorin apertuurihimmentimen oletusarvosta (75 %) 50 prosenttiin, jolloin optiikan syvyystarkka alue kasvaa, mutta resoluutio hieman heikkenee.





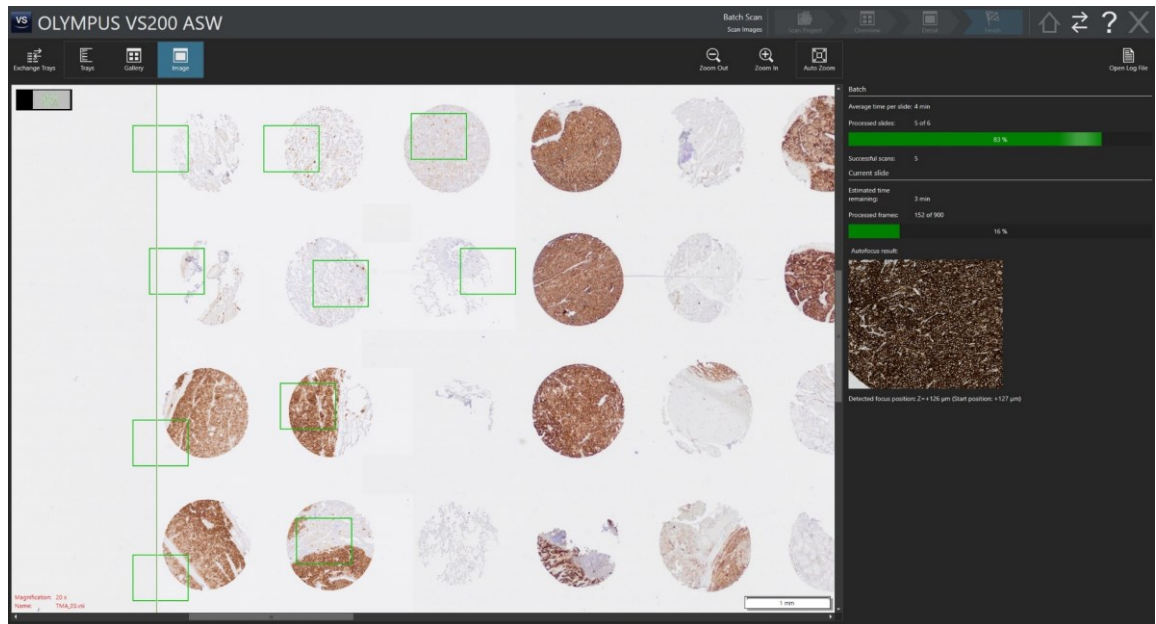
Kuva 17. Vasemmalla yksityiskohta HE-värjätyn prostatabiopsian 40x-suurenoksesta EFI-menetelmää käyttäen, oikealla sama näyte ilman laajennettua tarkennusta. Molemmat kuvat on tuotettu Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin 40x-objektiivilla.

Standardikokoa suuremman makrolasin skannaus testattiin 20x-objektiivilla. Kuvanlaatu oli erinomainen, mutta esikatselun kuva kudoslasiin hiospäästä oli osin rajautunut ja vinoon asetetusta näytteen tunnisteesta oli hankalahko saada selvää. Näytelasien hiospäiden tarroitus tai muu merkitseminen tulisikin aina tehdä suoraan.

### 7.3 Kuvanlaatu

Validoinnin aikana Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerin tuottamien digitalisointien kuvantarkkuus oli pääsääntöisesti hyvä, mutta toisinaan kuvissa ilmeni selittämättömiä epätarkkoja alueita.

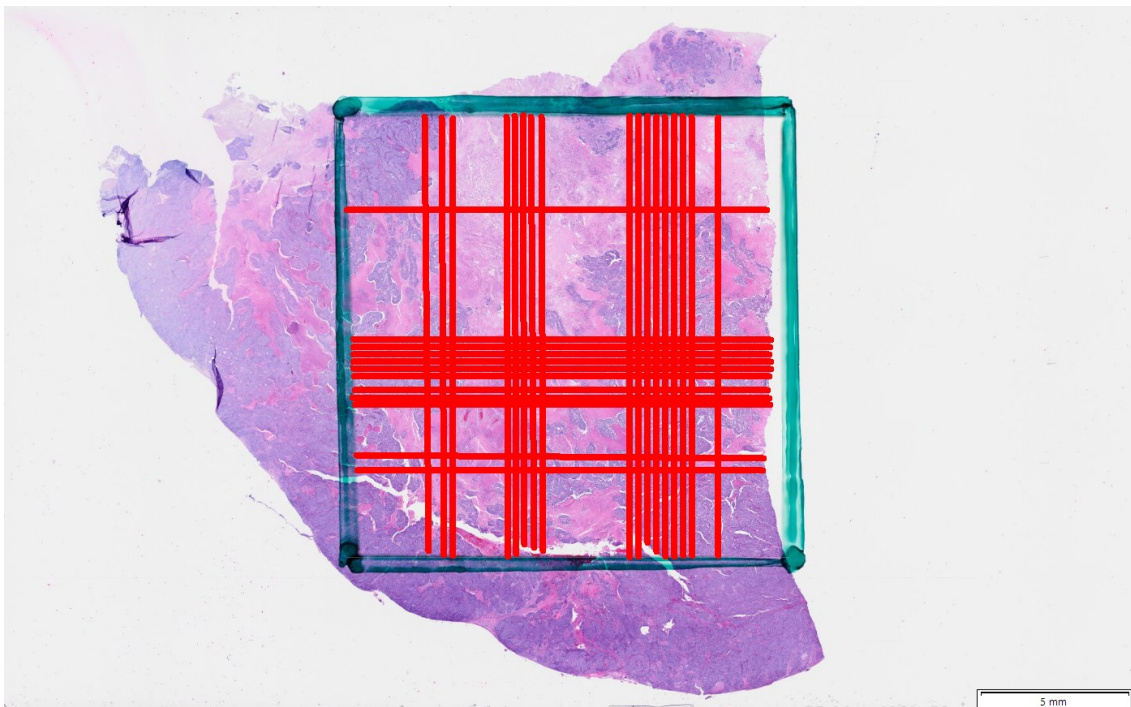
Prosessin aikana huomattiin, että tarkennuspisteiden määrää nostamalla skannaukseen saadaan mukaan irrallisia näytekappaleita (esim. TMA-spotti tai pieni keuhko-näyte), joiden tarkentaminen muuten saattaisi jäädä vajaaksi. Tämä hidastaa digitalisointia jonkin verran, mutta on joidenkin näytteiden kohdalla tarkoituksenmukaista. Pistettä voi myös manuaalisesti siirtää kudostunnistuskartalla osumaan paremmin haluttuihin näytealueisiin (kuva 18).



Kuva 18. TMA-spottien tarkennuspisteet vihreällä skannauksen ollessa kesken. Kuvassa SSTR2-värjäys.

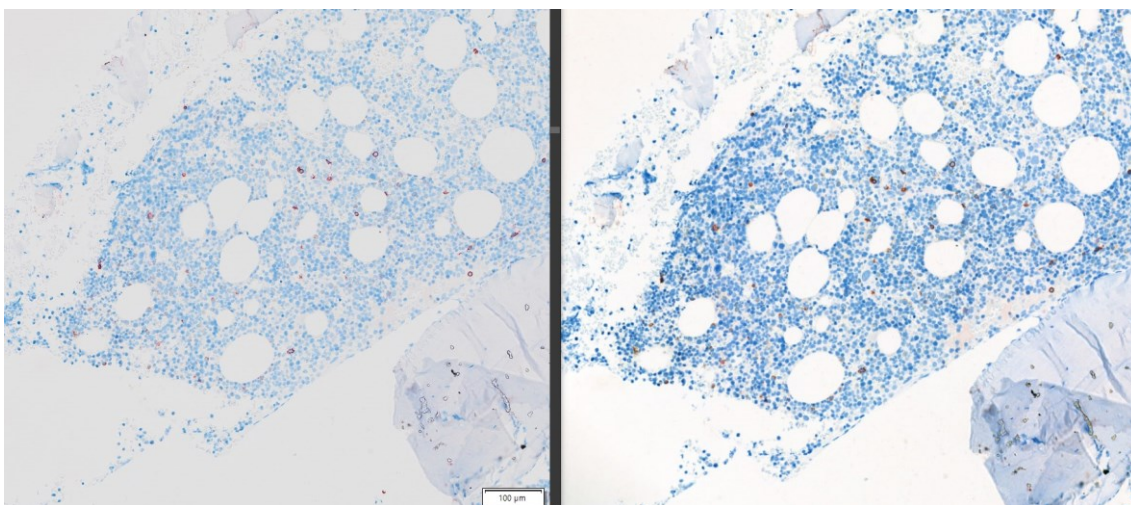
Näytteiden ja peitinlasin paksuuden vaihtelu myös selvästi häiritsee mikroskooppilasiskannerin tekemää tarkennusta. Prosessin aikana tehtiin hyödyllinen havainto laitteen toiminnallisuudesta tällaisissa tapauksissa – jatkuva tarkennus (continuous focusing) esitarkennuksen sijaan auttaa huomattavasti, vaikkakin hidastaa skannausprosessia jonkin verran.

Kuvattujen laattojen yhteen liittämisen kanssa oli ensimmäisen validoinnin aikana havaittu ongelmia, erityisesti 40x-suurenoksella ja varsinkin laajennetun tarkennuksen kanssa. Uusintavalidoinnin aikana mikroskooppilasiskannerin 20x-objektiivilla tuotetuissa kuvissa havaittavia epäjatkuvuuskohtia ei ilmennyt millään skannausmenetelmällä. 40x-kuvissa niitä sen sijaan oli sen verran paljon, että niitä tarkasteltiin erikseen 15 x 15 millimetrin testialueelta (kuva 19).



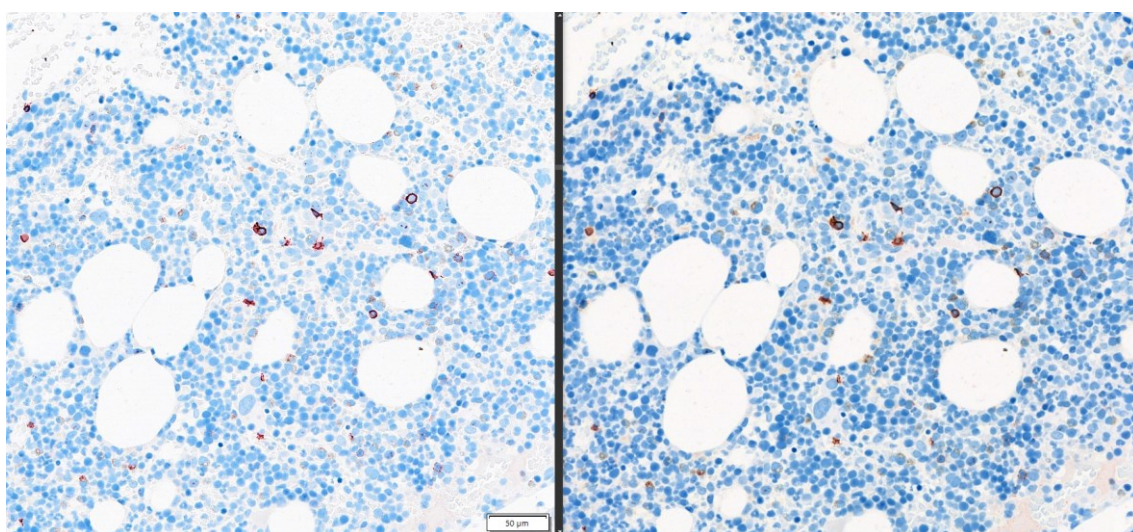
Kuva 19. 40x-suurennoksella kuviin tulee huomattavan paljon epäjatkuvuuskohtia. Pintapuolisella vilkaisulla niitä ei edes huomaa, mutta lähempi tarkastelu paljastaa toistuvat saumat (punaisella).

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerilla digitalisoiduissa näytekuviissa värien toistuminen on konventionaalisen mikroskoopin tasoa. Kuitenkin referenssiskannerin Panoramic 250 tuottamiin kuviin verrattuna nähtävissä on selviä sävyeroja (kuva 20). Olympuksen tuottamissa kuvissa kontrasti näyttää heikommalta ja värikylläisyys vaimeammalta.



Kuva 20. Vasemmalla Olympus VS200:lla tuotettu yksityiskohta L26-värijätystä lymfoomanäytteestä ja oikealla Panoramic 250 -mikroskooppilasiskannerin versio samasta näytteestä. Kuvissa voidaan nähdä selvä sävy- ja kontrastiero.

Olympus VS200 tuottaa käytännössä käsittelemätöntä kuvadataa, mutta Helsingin Biopankissa tallennusmuodon oletusvalintana on häviötön JPEG2000-pakkausformaatti. OlyVIA-ohjelmassa VSI-tiedostoista voidaan kuitenkin kopioida myös pakkaamattomat raakakuvat Olympus Imaging Format (raw) -muodossa (OIR-tiedosto). Referenssiskanneri Panoramic 250 käyttää häviöllistä JPEG-pakkausta, jolloin mm. valkotasapaino säädetään automaattisesti ennen kuvatiedoston varsinaista tallentumista. Olympuksen OlyVIA-kuvankatseluohjelmassa sen sijaan voi tiedostokohtaisesti hallita kuvanäkymän kirkkautta ja kontrastia, jolloin kudoksen morfologisten yksityiskohtien erottuminen varsinkin vaaleiden IHC-värjättyjen näytteiden kohdalla paranee huomattavasti, kuten nähdään kuvassa 21.

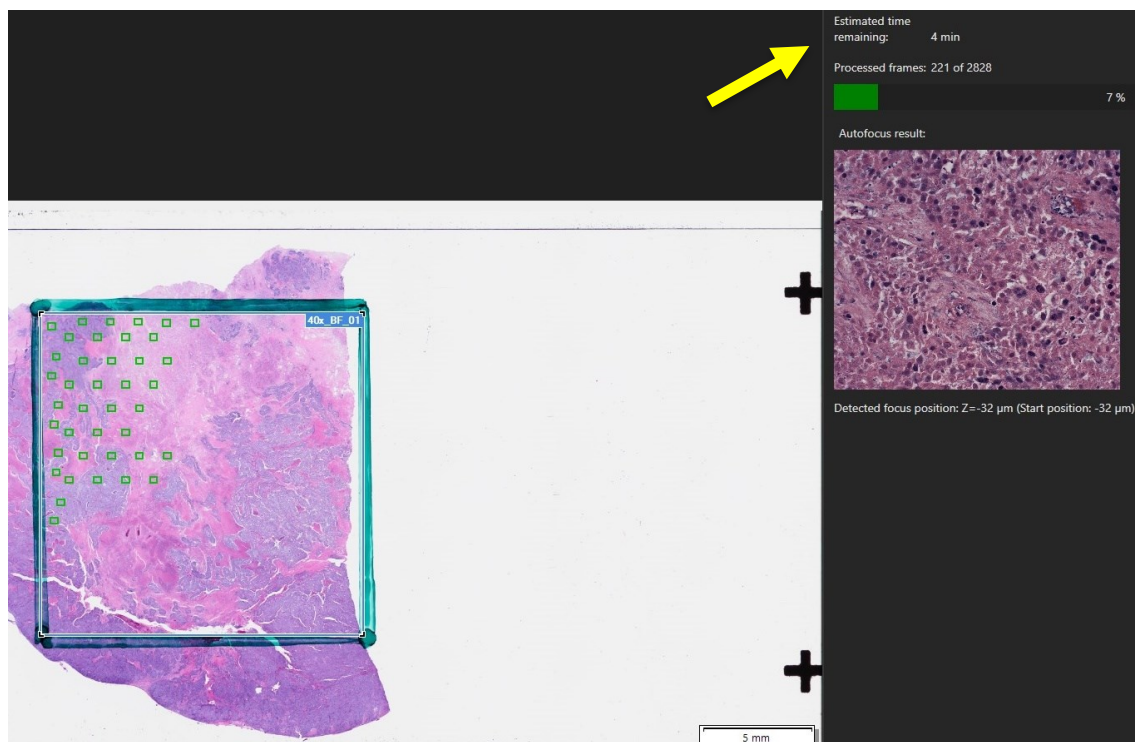


Kuva 21. 20x-suurennos kuvan 20 lymfoomanäytteestä. Vasemman kuvan kirkkautta ja kontrastia on skannauksen jälkeen lisätty OlyVIA-ohjelmassa. Oikealla Panoramic 250:n automaattiasetuksilla tuotettu versio.

Varsinaisia värivirheitä Olympus VS200:n tuottamissa kuvissa ei validoinnin aikana ilmennyt ollenkaan. Kuvissa myös taustan väritys oli säännönmukaisesti tasainen, vaikka toisinaan todellinen skannausalue erottui esikatselukuvia vasten harmaampana.

#### 7.4 Käytettävyys

Valmistaja on ilmoittanut Olympus VS200:n ohjeelliseksi skannausajaksi 15x15 millimetrin alueelle 80 sekuntia 20x-objektiivilla kirkaskenttäskannausta (BF) käytettäessä. Testaus kuitenkin osoitti, että todellinen skannausaika oli noin 140 sekuntia alueen ollessa lähes pelkkää skannattavaa kudosta (kuva 22). Kuvatiedoston koko 20x-suurenoksella oli noin 1.5 Gt. Vastaavasti 40x-suurenoksella kesto oli noin 390 sekuntia ja tiedoston koko noin 4.65 Gt.







Kuva 22. Näytelasilta on rajattu vihreällä tussilla 15x15 millimetrin alue, jonka skannauksista eri menetelmillä otettiin aikaa. Ohjelma arvioi skannaukseen jäljellä olevan ajan (keltainen nuoli) melko tarkkaan.

Skannausohjelmisto VS200 ASW antaa aika-arvion skannauksen kestosta, mutta ei ota huomioon esimerkiksi tallennukseen vaadittavaa aikaa. Varsinaiseen skannaukseen kuluvan ajan lisäksi myös tarkennukseen kului testauksissa noin 20–25 sekuntia, joka ei sekään sisälly valmistajan ilmoittamaan skannauksen keston. Myös OlyVIA-ohjelmassa kuvan tiedoista nähdään skannausaika ilman tätä tarkennusaikaa. Ajanoton perusteella tuo aika kuitenkin on muuten tarkka. Myös referenssiskanneri Panoramic 250:n ohjeaika on laskettu ilman tarkennus- ja tallennusvaiheita.

Sekä skannausohjelmiston että kuvankatseluohjelman ominaisuuksia testattiin laajalti. Haluttujen toimintojen käytettävyydessä esiintyi joitain hankaluuksia, joita on avattu tarkemmin taulukossa 6.

Taulukko 6. Testit, tulokset ja huomiot Olympus VS200:n ohjelmistojen käytettävyydestä. Vihreällä merkityt tulokset ovat sellaisenaan hyväksyttäviä, sinisellä merkityt vaativat lisänäyttöjä.

Testi	Tulos	Huomioita
<b>CSV-tiedoston käyttäminen kuvatiedostojen tunnisteiden luomisessa (VS200 ASW)</b>		Juokseva numerointi alkaa automaattisesti, mikäli tallennuskansiossa on samannimisiä kuvatiedostoja.
<b>Viivakoodin luku ja käyttäminen kuvatiedostojen tunnisteena (VS200 ASW)</b>		Lineaarinen viivakoodi, QR, Micro QR ja Data Matrix toimivat, mikäli lasin hiospää on hyvässä kunnossa ja kooditarra asetettu suoraan. EAN-koodin kanssa nimen alkuun tallentui funktiokoodi <code>_FNC1_</code> .
<b>Annotaation ja muiden digitaalisten merkintöjen lisääminen kuvankäsittelyohjelmassa (OlyVIA)</b>		Vaatii perehtymistä. Annotaatioita voi tehdä usealla (8/16) eri värillä. Annotaation koon määrittäminen esim. tasan 1 millimetriksi on hankalaa 3-pisteen ympyränä. Annotaatiot skaalautuvat, mutta eivät ole kopioitavissa.
<b>Näkymän kontrastin, kirkkauden ym. säätö kuvankäsittelyohjelmassa (OlyVIA)</b>		Voi tallentaa erikseen, muuten säädöt häviävät suljettaessa kuva. Säättöjen tallennus saattaa kestää useamman minuutin. Värien kylläisyyttä tai lämpötilaa ei voi muuttaa.

Annotointi kuvankäsittelyohjelma OlyVIA:ssa on toteutettu 3-pisteen ympyröillä, joiden käyttö on hankalaa, koska siinä ympyrän kokoa muutetaan vetämällä kolmesta eri pisteestä sen kehällä. VS200 ASW -skannausohjelmassa tähän voidaan käyttää myös 2-pisteen ympyrää, ja kuvankäsittelymahdollisuuksia muutenkin on enemmän. 2-pisteisessä toiminnossa ympyrän halkaisijaa yksinkertaisesti kasvatetaan ensimmäisestä määritetystä pisteestä toisen pisteen valintaan asti. Skannausohjelmassa lasien digitaalisia merkintöjä voi myös siirtää ja kopioida. ASW kuitenkin on käytettävissä ainoastaan mikroskooppilasiskanneriin liitetyssä tietokoneessa.

Validointiprosessin aikana lasiskannerin käyttöliittymä VS200 ASW kaatui kaksi kertaa. Molemmilla kerroilla keskeytynyttä lasierän skannausta voitiin jatkaa *Resume Batch Scan* -toiminnolla. Ohjelmiston yllättävä sulkeutuminen vastaa käytännössä sähkökatkoa, jonka mahdollisista seurauksista oltiin aiemmin konsultoitu laitevalmistajan edustajaa. VS200 ASW -ohjelmisto muistaa viimeisimmän skannaustyön asetuksineen, mutta käynnistyessään uudestaan se palauttaa mikroskoopin näytepöydällä olleen lasitarjottimen ensimmäiselle vapaalle tarjotinpaikalle, jolloin kyseinen näytetarjotin voi puuttua kokonaan määritellystä lasierästä. Näin ei käynyt kummankaan vikatilanteen

yhteydessä, koska laite oli jo päässyt näytepöydällä olleen tarjottimen viimeiseen kudoslasiin ja se pääsi suoraan jatkamaan seuraavan näytetarjottimen ensimmäiseltä lasipaikalta.

## 8 Pohdinta

Digitaalista patologiaa hyödynnetään yhä enenevässä määrin niin kliinisessä diagnostiikassa kuin tutkimustoiminnassakin. Mikroskooppilasiskannereita on kehitetty vastamaan erilaisten laboratorioden alati muuttuviin tarpeisiin. Tekniikan kehittyessä perinteisistä mikroskoopeista ei olla enää yhtä riippuvaisia. Lisäksi digitaalista kuvamateriaalia hyödyntävät tekoälysovellukset vapauttavat patologeja manuaalisista rutiinitöistä vaativampien tehtävien pariin. (Mirtti & Näpänkangas 2020: 1949–1950.)

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri on vielä varsin uusi laite markkinoilla. Tanskassa oli hiljattain tehty tutkimus, jossa todettiin sen olevan potentiaalinen käytettäväksi myös kliinisen patologian diagnostisessa laboratoriossa. (Williams & Noack & Zeuthen & Necip & Qvist 2023.) Lisäksi laitteella tuotettuja kuvia on jo hyödynnetty tutkimuskäytössä ja tekoälyanalyyseissä (Oliveira & Kadam & Salim & Bonthu & Singhal 2022; Tähti 2022).

Validointiprosessin aikana mikroskooppilasiskannerin toimintaa tarkasteltiin sen teknisen suorituskyvyn, kuvanlaadun ja käyttökokemuksen näkökulmista. Suoritettun validoinnin perusteella voidaan katsoa, että Olympus VS200 täyttää Helsingin Biopankin sille asettamat vaatimukset. Laitteen käytettävyys on hyvä, suorituskyky erinomainen ja sen tuottamien kuvien laatu on riittävä tutkimuskäyttöön. Heikot tulokset mikroskooppilasiskannerin ensimmäisestä validoinnista olivat uusinnassa parantuneet ohjelmistopäivitysten myötä huomattavasti, mutta joitain samankaltaisia haasteita laitteen käytössä kuitenkin edelleen on.

### 8.1 Johtopäätökset

Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri on käyttökelpoinen, mutta laitteisto vaatii kohdennetun työhjeen ja käyttäjäkohtaisen perehdytyksen. Ohjelmistot mahdollistavat vaaditut toiminnot riittävässä laajuudessa. Laitteen teknisessä suorituskyvyssä ei ilmennyt merkittäviä ongelmia, vaikka parannettavaa vielä on etenkin 40x-objektiivin tuottamaan kuvanlaatuun liittyen.

Olympuksen tuottamissa kuvissa varsinaisia värvirheitä ei ilmene, vaikka värisävyn havaittiin eroavan referenssiskannerina käytetyn Panoramic 250:n kuvista. Työssä konsultoitiin Helsingin Biopankin erikoissuunnittelijaa, patologian erikoislääkärinä ja hänen silmäänsä P250:n sinisävyisempi kuva vastaa hieman paremmin todellista kudoslasiä. Hän kuitenkin lisäsi Olympuksen tuottavan kuviin enemmän histologisesti merkityksellisiä yksityiskohtia kuin verrokkinsa.

Kuvalaattojen saumaton yhteen liittäminen onnistuu 20x-suurenoksella ja kuvien tarkkuus on pääsääntöisesti erittäin hyvä. 40x-suurenoksella epäjatkuuskohtia kuvissa on, mutta ne eivät aiheuta merkittävää haittaa tarkasteluun. Kuvanlaatu on molemmilla objektiiveilla toistettavaa. Valmistajan ilmoittama ohjeaika skannaukseen kuluvasta ajasta ei pitänyt paikkaansa, mutta täytti kuitenkin Biopankin vaatimuksen alle 240 sekunnin kestosta 20x-objektiivilla. Skannausaikaan voivat vaikuttaa mm. tarkennuspiSTEIDEN määrä ja lasiskanneriin liitetyn tietokoneen kapasiteetti.

Laitteen ja skannausohjelman käyttö on sujuvaa, kun voidaan hyödyntää näytteille soveltuvaa profiilia. Kudosalueen automaattinen tunnistus toimii HE-näytteissä hyvin, mutta vaaleammat IHC-värjätyt näytteet tuottavat vielä hankaluuksia. Samoja haasteita ilmenee kuitenkin myös muilla mikroskooppilasiskannereilla. Skannausalue on rajattavissa manuaalisesti, mikä helpottaa vaaleidenkin näytteiden digitointia. Digitaalisten merkintöjen tekeminen kuvankatseluohjelmassa toimii keskinkertaisesti, mutta kuvien tarkastelu on vaivatonta.

Validointiraporttiin kirjattujen tietojen ja tulosten perusteella päätettiin, että validoitu mikroskooppilasiskanneri Olympus VS200 voidaan hyväksyä tuotantokäyttöön Helsingin Biopankissa. Raportti hyväksyttiin ja tullaan tallentamaan osaksi Biopankin toimintajärjestelmää. Validoinnin jälkeen mikroskooppilasiskannerin suorituskyvyn seuraamista käytön aikana jatketaan, ilmenevät poikkeamat kirjataan laatuajärjestelmään ja mahdollisiin korjaaviin toimenpiteisiin ryhdytään tarvittaessa. (Helsingin Biopankki 2021c: 2–3.)

## 8.2 Luotettavuus

Vaikka näytepooli koostettiin mahdollisimman laajaksi, oli kyseessä siltikin harkinnanvarainen aineisto. Virhemarginaalia olisi kaventanut laajempi otanta, jolloin näytekanavan edustavuus olisi parempi. Poolissa kuitenkin oli tyypillisimpiä Helsingin Biopankissa käsiteltäviä kudoslaseja. Lähes kaikki näytteet saatiin skannattua myös referens-



siskannerilla (tulosprosentti 98,46 %), yhtä rikkoutunutta ja yhtä standardikokoa suurempaa lasia lukuun ottamatta. Työn aikana kohdattiin myös muutama satunnaisvirhe ohjelmiston kaatuessa, jolloin skannaus keskeytyi. Kaikki prosessin aikana tuotetut kuvat säästettiin, mukaan lukien ne, jotka vaativat uusintaa.

Validoinnin epävarmuustekijöihin huomioitiin mm. testausympäristöstä johtuva värinä, sillä laitteiston sijoittelu on tapahtunut Helsingin Biopankin histologian laboratorion tilanpuutteen vuoksi toimistosivun käytävälle. Läheisten ovien sulkeminen kovakouraisesti tärähdyttää pöytää, jolloin varsinkin 40x-objektiivi häiriintyy. Mikroskooppilasiskannerin sijoituspaikalla tulisi olla tasainen ja vakaa pöytä sekä riittävästi lasku- ja työskentelytilaa (Bury & Griffin 2019: 482). Myös näytteiden laatu oli laskettava epävarmuustekijäksi, koska jo aiemmin oltiin huomattu esimerkiksi muovikalvolla peittelyn vaikuttaneen kuvanlaatuun erityisen paljon 40x-suurenoksella (Niinimäki 2021: 5).

Tulosten tulkinta mikroskooppilasiskannerin validoinnissa perustui silmämääräisyyteen, joka on aina subjektiivista. Tässä työssä tehtiin laajempi otanta siten, että opiskelijan lisäksi histopatologian prosessivastaava toimi kuvien vertaisarvioijana, jolloin tuloksista saatiin luotettavampia. (Bonsembiante ym. 2019: 4.) Digitalisoitujen kudoslasekuvien tapauksessa arvioitavat kohteet kuitenkin olivat pääosin yksiselitteisiä; esimerkiksi epäjatkuvuuskohtia kuvassa joko oli tai ei ollut. Työssä arvioitiin myös käyttökokemuksen mielekkyyttä perehtyvän työntekijän näkökulmasta ja konkreettisten toimintojen käytökelpoisuutta.

Opinnäytetyötä tehtiin Helsingin Biopankin edustajien ja opettajan ohjauksessa, jolloin oli mahdollista saada apua aina haasteiden ilmetessä. Palautetta annettiin pitkin prosessia, joten työssä saatiin huomioitua myös sellaisia näkökulmia, joita opiskelijana ei olisi tullut edes ajatelleeksi. Ensimmäisissä testiajoissa oli paljon epävarmuutta asetusten säätämisessä, mutta toisin oli prosessin lopulla viimeisiä testejä suoritettaessa. Luoduilla näytetyyppikohtaisilla profiileilla oli huomattava vaikutus varsinkin työskentelyn nopeuteen. Mikroskooppilasiskannerin sujuvan käytön omaksuminen voi mahdollisesti vääristää tuloksia alkuvaiheen testikuvien asetusten ollessa vähemmän ihanteellisesti säädetty.

Opinnäytetyöprosessin aikana yksi pooliin valituista kudoslaseista pääsi putoamaan lattialle ja rikkoutui. Sirpaleet voitiin teipata yhteen, joten lasia ei ollut tarvetta hävittää. Tapahtuman yhteydessä todennettiin, että Olympus VS200 -mikroskooppilasiskan-

rilla voidaan skannata myös rikkoutuneita kudoslaseja kohtuullisen laadukkaasti. Vertailuskannerina käytetyllä Pannoramic 250 -laitteella haljenneita ja teipattuja laseja ei ole mahdollista digitoida sen vertikaalisen lasinsyöttötekniikan takia.

### 8.3 Eettisyys

Hyvä tieteellinen käytäntö edustaa luotettavaa, vastuullista ja avointa työskentelyotetta tutkimustyössä. Tutkimuseetiikalla tarkoitetaan mm. sitä, että työssä ei esiinny vilppiä, vääristeltyjä tuloksia ja tekijänoikeutta kunnioitetaan. Opiskelija oli tutustunut TENK:n ohjeisiin hyvästä tieteellisestä käytännöstä ja on sitoutunut noudattamaan niitä (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012). Opinnäytetyön raportti kävi myös läpi plagioinnin-tarkastuksen. Kaikki opinnäytetyössä käytetty kuvamateriaali on opiskelijan tuottamaa tai sen käyttöön on pyydetty lupa ja tekijään on viitattu lähteenä. Kuvia ei ole käsitelty jälkikäteen, ellei sitä ole erikseen mainittu.

Työstä laadittiin sopimus Metropolia Ammattikorkeakoulun ja Helsingin Biopankin kanssa. Lisäksi työlle haettiin Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin opinnäytetyön tutkimuslupa. Opiskelija oli myös allekirjoittanut Helsingin Biopankissa käytössä olevan HUS:n salassapito- ja tietoturvasitoumuksen.

Tietosuojakysymykset otettiin huomioon jo suunnitelmavaiheessa ja kaikessa työskentelyssä noudatettiin HUS:n tietoturvaohjeistuksia. Kudoslaseissa olevat näytenumerot lasketaan henkilötunnisteiksi, joten kaikkien kuvatiedostojen nimeäminen suoritettiin vain kudostyyppin, värjäyksen, skannausmenetelmän ja suurennoksen perusteella. Normaalityössä mikroskooppilasiskanneri ottaa kuvan myös näytelasin tunnisteesta lasin hiospäässä, mutta sen anonymisointi voidaan tehdä erikseen skannausohjelmassa. Testaukseen valittujen näytelasien hiospäätkuitenkin peitettiin työssä tarralla jo ennen laitteeseen lataamista, jolloin mahdollisuutta ylimääräisen arkaluontoisen metadatan syntymiseen ei ollut ja siten testauksessa käytettyjä näytteitä ei voida yhdistää yksittäisiin potilaisiin.

Lopputuloksena syntyneitä dokumentteja ei tulla sellaisenaan julkaisemaan työn liitteinä, mutta ne toimivat pohjana opinnäytetyön kirjalliselle osuudelle. Validointiraportti on toimeksiantajan käytössä ja käsitellään Helsingin Biopankin sisäisesti.

## 8.4 Ammatillinen kasvu

Työ oli erittäin mielenkiintoinen ja opiskelijan kannalta erinomainen tilaisuus oppia lisää histopatologiasta. Opiskelijan omiin oppimistavoitteisiin kuului digitaalisen patologian merkityksen ymmärtäminen, mikroskooppilasiskannerin käytön oppiminen ja hyvän tutkimustyötavan omaksuminen. Sekä validointiraportin että opinnäytetyöraportin laatiminen vaativat myös uusia taitoja asiatekstien tuottamisen osalta.

Opinnäytetyössä suurimmat ongelmat liittyivät ajankäyttöön ja työn rajaamiseen.

Työstä olisi saanut todella laajan, mikäli olisi lähdetty teknisen validoinnin lisäksi tekemään työhjetta mikroskooppilasiskannerilla työskentelyyn. Ongelmanratkaisukyky kuitenkin kehittyi työtä tehdessä ja oleellisten asioiden arvioiminen helpottui ajan kanssa. Kiinnostavia yksityiskohtia oli riittämiin, vaikka alun perin tehtävänanto vaikutti hyvin tavanomaiselta. Kuvatiedostojen suuresta koosta ja määrästä johtuen analysoitavaa materiaalia syntyi lähes yhden teratavun (950 Gt) verran!

Opinnäytetyön tekeminen Helsingin Biopankille oli ainutlaatuinen ja opettavainen kokemus. Työyhteisössä oltiin erittäin kannustavia ja oli hienoa tunnistaa oman ammattitaidon kehitys prosessin aikana.

## 8.5 Kehittämisehdotukset

Validoinnin hyväksymisen jälkeen Helsingin Biopankille tarvitaan mikroskooppilasiskanneria varten kohdennettu suomenkielinen työhje sekä käyttäjäystävällinen pikaohje. Eri näytetyypeille soveltuvia profiileja kannattaa myös luoda lisää aina uudenlaisen skannaustilanteen osuessa kohdalle.

Toistamalla testauksen laajemmalla näytepoolilla tuloksia voisi yleistää. Mikäli Helsingin Biopankissa päädytään hankkimaan mikroskooppilasiskannerille lisäominaisuuksia tai uusia objektiiveja, olisi syytä toteuttaa myös näiden osavalidointi. Lisäksi laitteen käyttöliittymään voi tulla mittaviakin muutoksia valmistajan julkaistessa uusia versioita skannausohjelmasta. Helsingin Biopankin VS200 ASW -ohjelmisto ollaan päivittämässä alkukesän 2023 aikana. Varsinkin automaattisessa kudostunnistuksessa olisi vielä parantamisen varaa, ja myös vähäisemmät ohjelmointivirheet toisinaan hankaloittavat laitteella työskentelyä, joten kaikki päivitykset tulisikin ottaa käyttöön ajantasaisesti.

Lisäksi validointiraportin yhteydessä toteutettu biopankkinäytteiden riskinarviointiosuus antoi ajateltavaa riskitekijöiden tunnistamiseksi. Ideaalitalanteessa mikroskooppilasiskannerin sijoituspaikka Helsingin Biopankissa olisi erilainen, sillä nyt ahdas tila aiheuttaa turhia tärähdyksiä ja vaarana on jopa näytelasien vaurioituminen, mikäli niitä pääsee työskentelytasolta putoamaan. Varautuminen ennakoimattomiin tapahtumiin on oleellinen osa laboratorion riskienhallintaa, myös esimerkiksi sähkökatkon tai laiterikon yhteydessä. Tulevaisuudessa olisi hyvä selvittää erilaisia vaihtoehtoja sille, kuinka tietostojenhallinnan varmuuskopiointi onnistuisi verkkolevyjen lisäksi myös erilliseen järjestelmään.

## Lähteet

3DHISTECH 2019. PANNORAMIC Slide Scanners. Esite. <<https://www.3dhistech.com/research/pannорamic-digital-slide-scanners/pannорamic-250-flash-iii/>>. Viitattu 19.3.2023.

Astrix Inc. 2019. Best Practices for Instrument Validation and Qualification. Laboratory Compliance. The Astrix Blog. Blogipostaus 17.6.2019. <<https://astrixinc.com/best-practices-for-instrument-validation-and-qualification/>>. Viitattu 25.9.2022.

Bancroft, John 2019a. Light microscopy. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Amsterdam: Elsevier. 25–39.

Bancroft, John 2019b. Tissue microarray. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Amsterdam: Elsevier. 505–508.

Bancroft, John & Layton, Christopher 2019. The hematoxylin and eosin. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Amsterdam: Elsevier. 126–138.

Bonsembiante, Federico & Bonfanti, Ugo & Cian, Francesco & Cavicchioli, Laura & Zattoni, Beatrice & Gelain, Maria Elena 2019. Diagnostic Validation of a Whole-Slide Imaging Scanner in Cytological Samples: Diagnostic Accuracy and Comparison with Light Microscopy. *Veterinary Pathology* 56 (3). 429–434.

Bury, Jonathan & Griffin, Jonathan 2019. Digital Pathology. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Amsterdam: Elsevier. 476–492.

Cox, Beth & Colgan, Emma 2019. Pathology laboratory management. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Amsterdam: Elsevier. 1–11.

Evans, Andrew & Brown, Richard & Bui, Marilyn & Chlipala, Elizabeth & Lacchetti, Christina & Milner, Danny & Pantanowitz, Liron & Parwani, Anil & Reid, Kearin & Ribben, Michael & Reuter, Victor & Stephens, Lisa & Stewart, Rachel & Thomas, Nicole 2022. Validating Whole Slide Imaging Systems for Diagnostic Purposes in Pathology: Guideline Update from the College of American Pathologists in Collaboration with the American Society for Clinical Pathology and the Association for Pathology Informatics. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 146 (4). 440–450.

Evident. Olympus. Research Slide Scanner VS200 SLIDEVIEW – The Power to See More. Esite.

Garcia-Rojo, Marcial & De Mena, David & Muriel-Cueto, Pedro & Atienza-Cuevas & Dominguez-Gomez, Manuel & Bueno, Gloria 2019. New European Union Regulations Related to Whole Slide Image Scanners and Image Analysis Software. *Journal of Pathology Informatics* 10 (1).

Geneticist Inc 2018. What is Histopathology? Geneticist Blog. Blogipostaus 19.3.2018. <<https://www.geneticistinc.com/blog/histopathology>>. Viitattu 2.10.2022.

Helenius, Mikko 2021. Verifiointi kliinisessä laboratoriossa. Blogipostaus 10.10.2021. <<https://www.labconsult.fi/laboratoriolaaketiede/verifiointi-kliinisessa-laboratoriossa/>>. Viitattu 5.10.2022.

Helsingin Biopankki 2021a. Objektilasien tulostaminen ja FFPE-blokkien leikkaaminen v. 4.0. Biopankin yhteinen ohje. Sisäinen dokumentti.

Helsingin Biopankki 2021b. Histologisten näytelasien skannaaminen Pannoramic 250 Flash III –mikroskooppilasiskannerilla v. 3.0. Biopankin yhteinen ohje. Sisäinen dokumentti.

Helsingin Biopankki 2021c. Validointi- ja verifiointiohje. Biopankin yhteinen ohje. Sisäinen dokumentti.

Helsingin Biopankki 2021d. Helsingin Biopankin validointi/verifiointisuunnitelma- ja raportti. Biopankin yhteinen ohje. Lomakepohja. Sisäinen dokumentti.

Hägg, Margareta (toim.) 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Espoo: Teknologian tutkimuskeskus VTT. <<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/technology/2016/T276.pdf>>. Viitattu 5.10.2022.

Layton, Christopher & Bancroft, John & Suvarna, Kim 2019. Fixation of tissues. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Amsterdam: Elsevier. 40–62.

Leica Biosystems. 4 Tips for Digital Pathology Slide Scanning. Viitattu 27.3.2023.

Lyly, Teppo 2011. Suomalainen Syöpäsanasto. Helsinki: Suomen syöpäyhdistys.

Mirtti, Tuomas & Näpänkangas, Juha 2020. Tekoäly patologian kudosleikkeiden tulkinassa. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 136 (17). 1949–1955. <<https://www.duodecimlehti.fi/xmedia/duo/duo15745.pdf>>. Viitattu 1.10.2022.

Mukhopadhyay, Sanjay & Feldman, Michael & Abels, Esther & Ashfaq, Raheela & Beltaifa, Senda & Cacciabeve, Nicolas & Cathro, Helen & Cheng, Liang & Cooper, Kumarasen & Dickey, Glenn & Gill, Ryan & Heaton, Robert & Kerstens, René & Lindberg, Guy & Malhotra, Reenu & Mandell, James & Manlucu, Ellen & Mills, Anne & Mills, Stacey & Moskaluk, Christopher & Nelis, Mischa & Patil, Teepa & Przybycin, Christopher & Reynolds, Jordan & Rubin, Brian & Saboorian, Mohammad & Salicru, Mauricio & Samols, Mark & Sturgis, Charles & Turner, Kevin & Wick, Mark & Yoon, Ji & Zhao, Po & Taylor, Clive 2018. Whole Slide Imaging Versus Microscopy for Primary Diagnosis in Surgical Pathology: A Multicenter Blinded Randomized Noninferiority Study of 1992 Cases (Pivotal Study). The American journal of surgical pathology 42 (1). 39–52.

Niinimäki, Jenni 2021. Olympus VS200 -mikroskooppilasiskanneri. Helsingin Biopankin validointiraportti. Sisäinen dokumentti.

Niinimäki, Jenni 2022. Valokuva Helsingin Biopankin Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerista.

Oliveira, Pedro & Kadam, Dinisha & Salim, Owaish & Bonthu, Saikiran & Singhal, Nitin 2022. Deep learning for sub-classification of Gleason pattern 4 in prostate cancer. Posterisity European Congress on Digital Pathology 2022 -kongressissa 15.–18.6.2022. European Society of Digital and Integrative Pathology.

Pitkänen, Kimmo 2018. Tutkija, hyödynnä biodatapankkia! Helsingin yliopiston blogi. Blogipostaus 26.11.2018. <<https://blogs.helsinki.fi/med-viikonjuttu/2018/11/26/tutkija-hyodynnna-biodatapankkia/>>. Viitattu 25.9.2022.

Saif, Hafsa & Kumar, K. S. Rajesh & Mufti, Suhail Sayeed & Giri, Ritesh & Hrishi, V. & Sarathy, Vinu & Ramaswamy, Veena & Hazarika, Diganta & Naik, Radheshyam 2020. Correlation of Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression with Clinicopathological Features in Non-Small Cell Lung Carcinoma: Experience from a Tertiary Cancer Care Center in India. *Journal of Cancer Therapy* 11 (3).

Sanderson, Tracy & Wild, Graeme & Cull, Ann Michelle & Marston, Jennifer & Zardin, Greg 2019. Immunohistochemical and immunofluorescent techniques. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Amsterdam: Elsevier. 337–394.

Snead, David & Tsang, Yee-Wah & Meskiri, Aisha & Kimani, Peter & Crossman, Richard & Rajpoot, Nasir & Blessing, Elaine & Chen, Klaus & Gopalakrishnan, Kishore & Matthews, Paul & Momtahan, Navid & Read-Jones, Sarah & Sah, Shatrughan & Simons, Emma & Sinha, Bidisa & Suortamo, Sari & Yeo, Yen & El Daly, Hesham & Cree, Ian 2016. Validation of digital pathology imaging for primary histopathological diagnosis. *Histopathology* 68 (7). 1063–1072.

Spencer, Lena 2019. Microtomy for paraffin and frozen sections. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Amsterdam: Elsevier. 84–95.

Suvarna, Kim 2019. The gross room/surgical cut-up including sample handling. Teoksessa Suvarna, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Amsterdam: Elsevier. 64–72.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkaus-epäilyjen käsitteleminen Suomessa. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohje 2012. Helsinki: Tutkimuseettinen neuvottelukunta. <[https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK\\_ohje\\_2012.pdf](https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf)>. Viitattu 5.10.2022.

Tolonen, Teemu & Näpänkangas, Juha & Isola, Jorma 2015. Kliininen patologia virtuaalimikroskopian kynnyksellä. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 131 (21). 1981–1987. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo12517>>. Viitattu 1.10.2022.

Tähti, Linn 2022. Transfer Learning in Histopathological Image Analysis. Master's thesis. Espoo: Aalto University. Life Science Technologies.

Villman, Markku 2021. Vastaanottopöytäkirja 17.11.2021. Lääkintäteknikka. Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri. Sisäinen dokumentti.

Wan, Zhi-Bin & Gao, Hong-Yi & Wei, Lian & Zhang, An-Qin & Zhang, Jiang-Yu & Wang, Yi & Wang, Dong-Dong & Zhang, Yan 2018. Expression of estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2, and Ki-67 in ductal carcinoma in situ (DCIS) and DCIS with microinvasion. *Medicine* 97 (44).

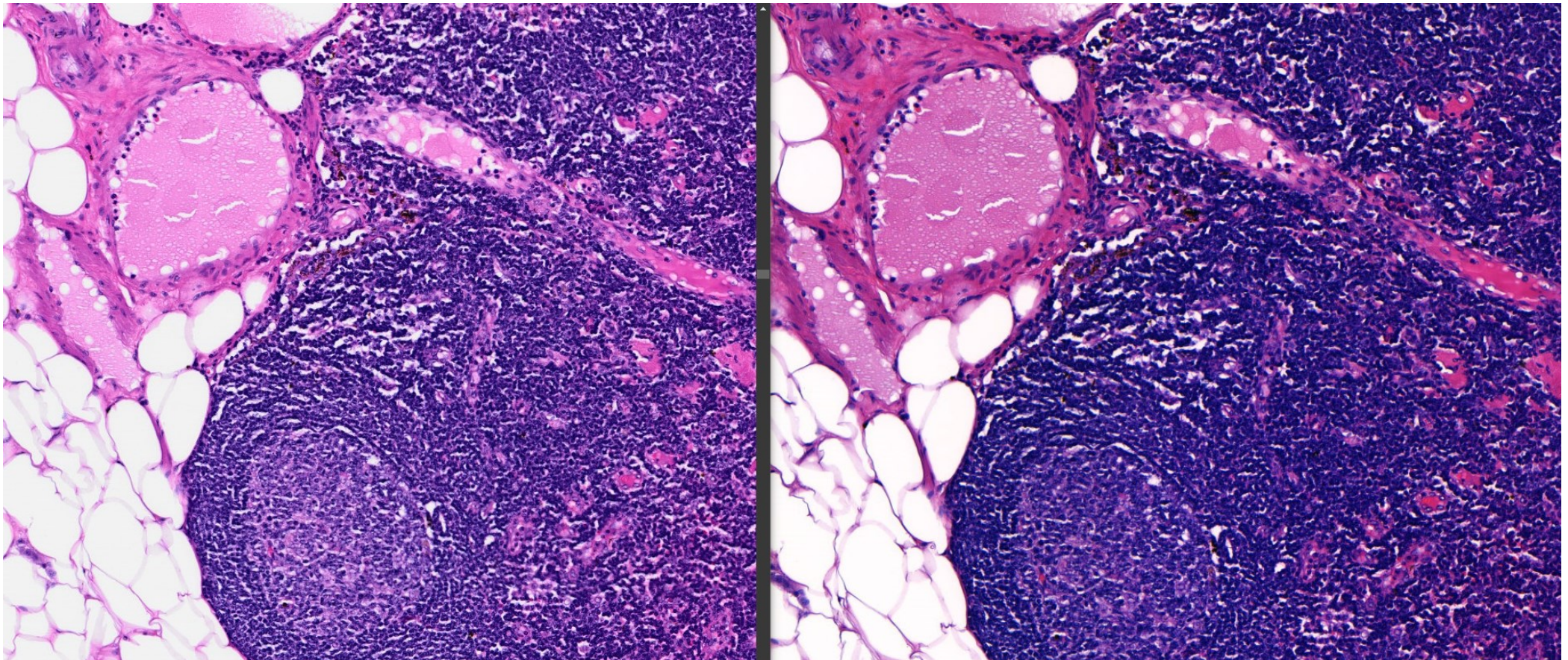
Williams, Julie Margaret & Noack, Jeppe & Zeuthen, Mette Christa & Necip, Filis & Qvist, Camilla 2023. Introducing Digital Pathology in Fast-Frozen Section by Validating the Whole Slide Imaging Scanner Slideview VS200 Research Slide Scanner. *Research Square*. Päivitetty 21.2.2023. <<https://www.researchsquare.com/article/rs-2465917/v1>>. Viitattu 3.4.2023.

Wolfe, Dee 2019. Tissue processing. Teoksessa Suvana, Kim & Layton, Christopher & Bancroft, John. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Amsterdam: Elsevier. 73–83.

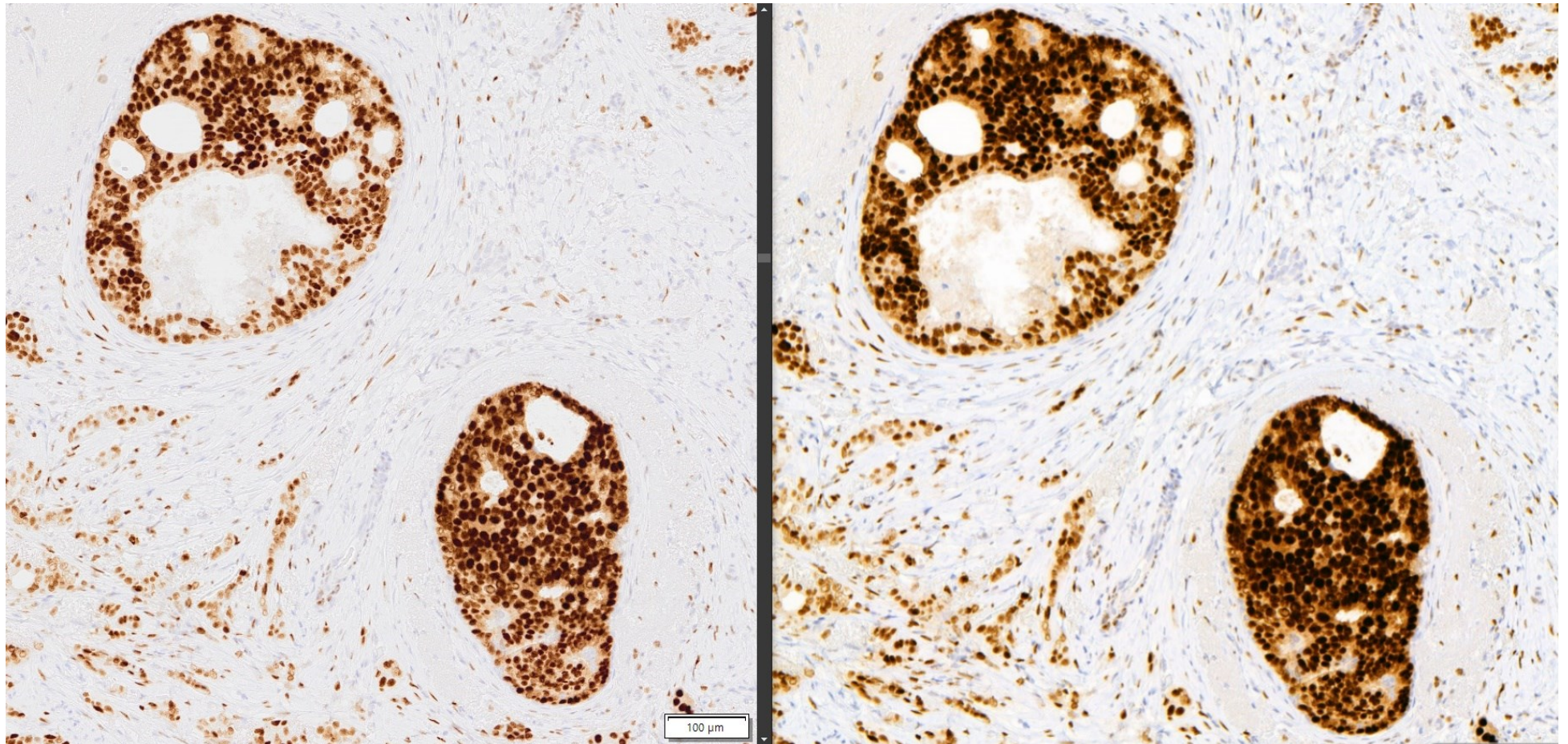


## Liitteet

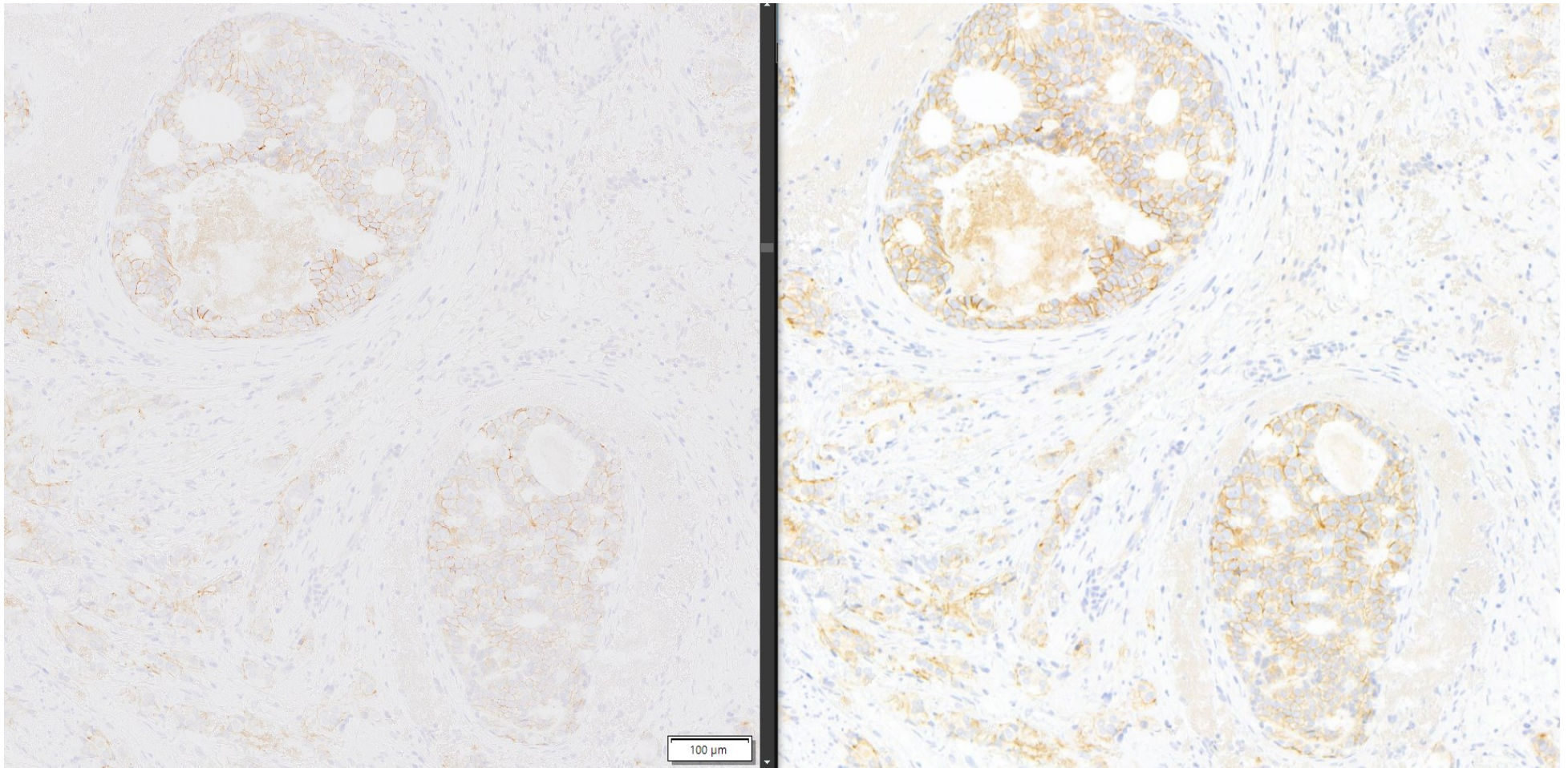
**Liite 1. Olympus VS200 -mikroskooppilasiskannerilla tuotettuja 20x-kuvia verrattuna referenssiin**



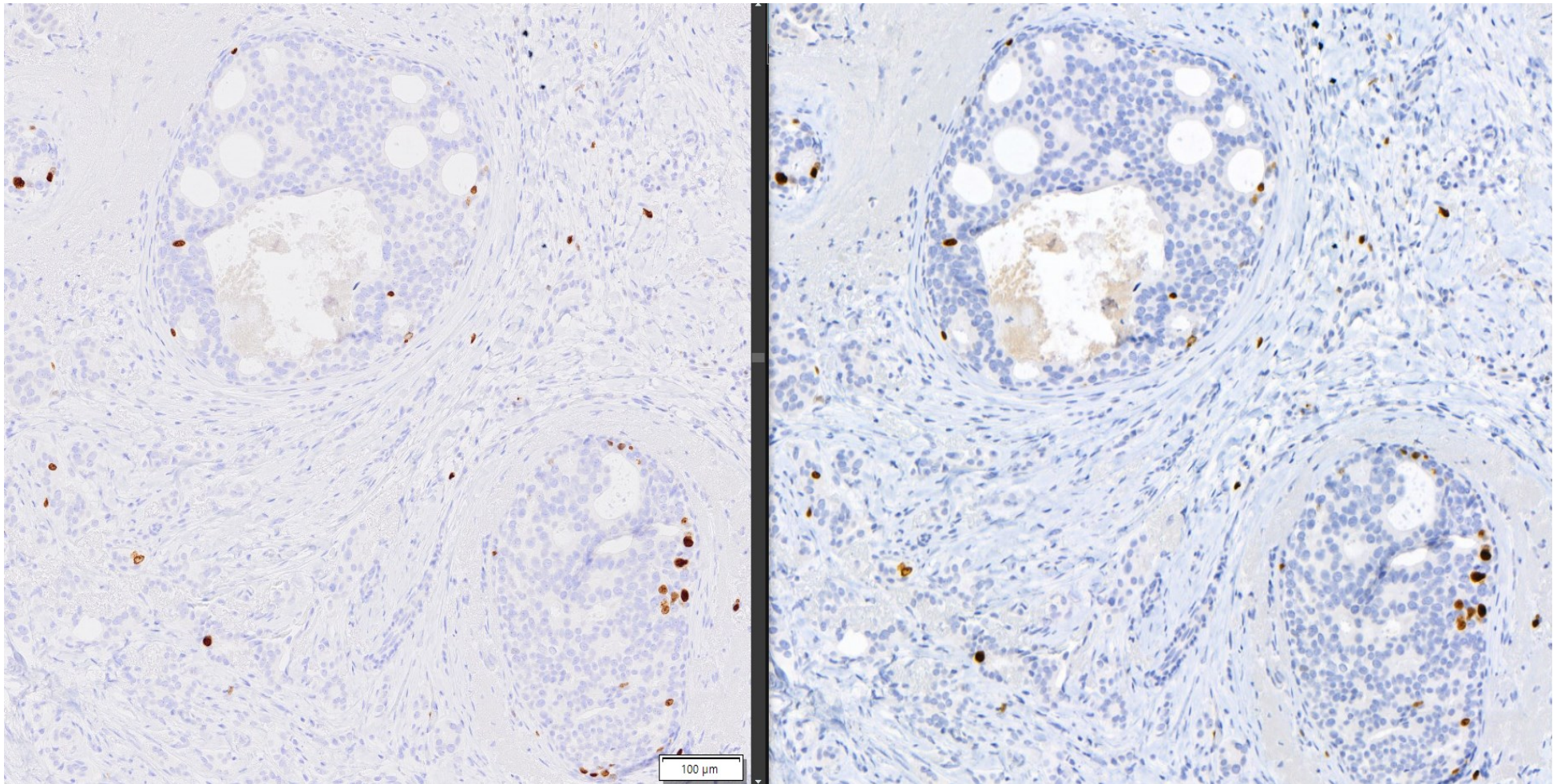
Imusolmuke HE-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



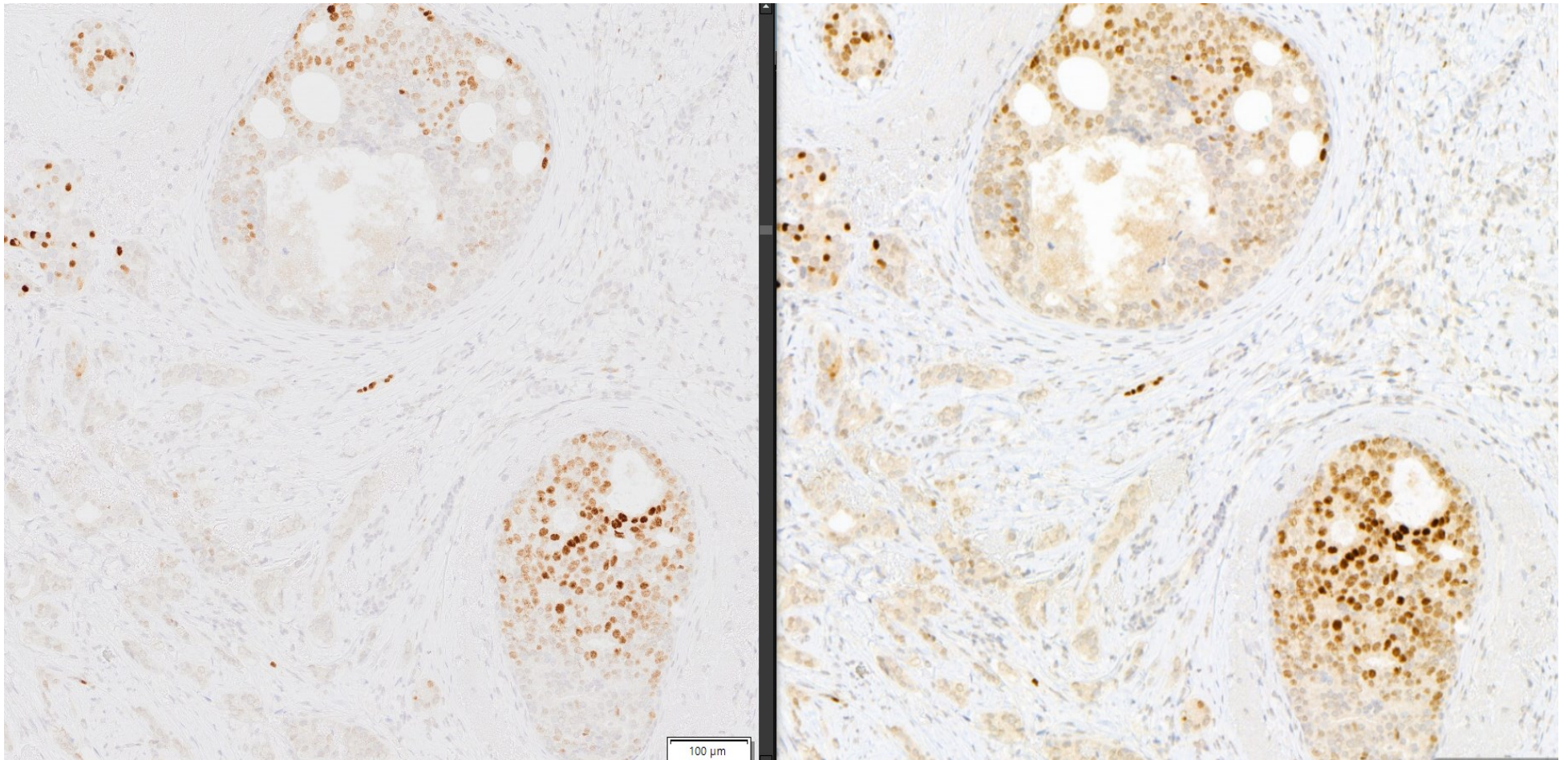
Rintasyöpä ER-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



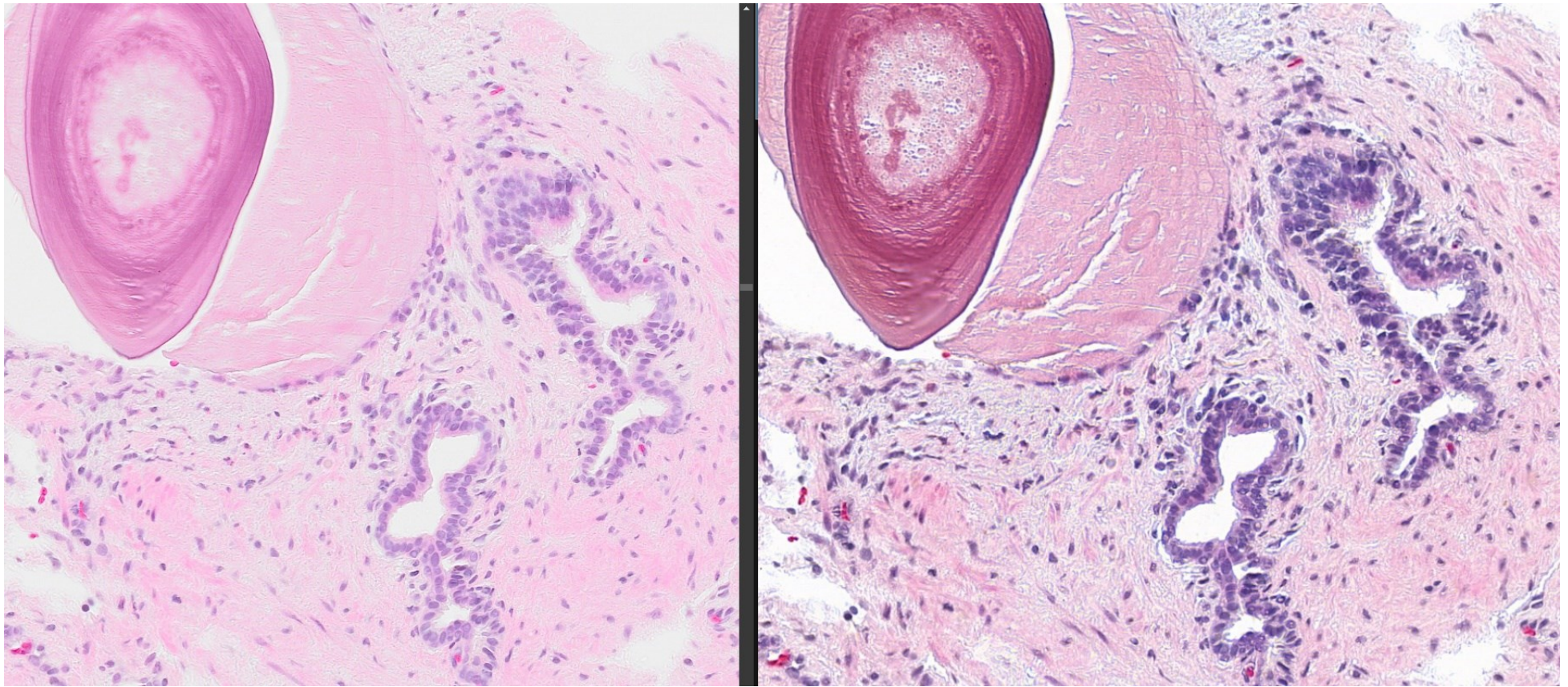
Rintasyöpä HER-2-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Panoramic 250.



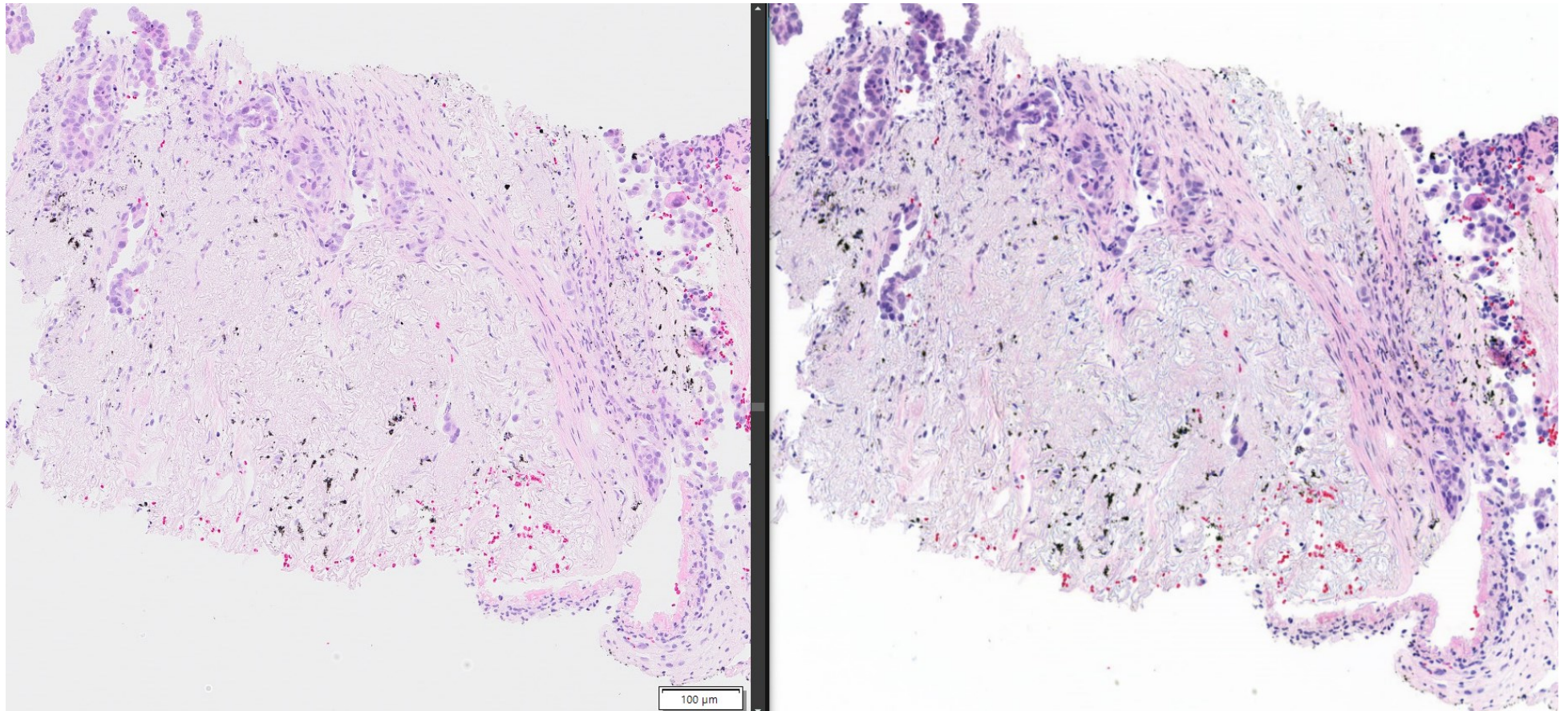
Rintasyöpä MIB-1-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



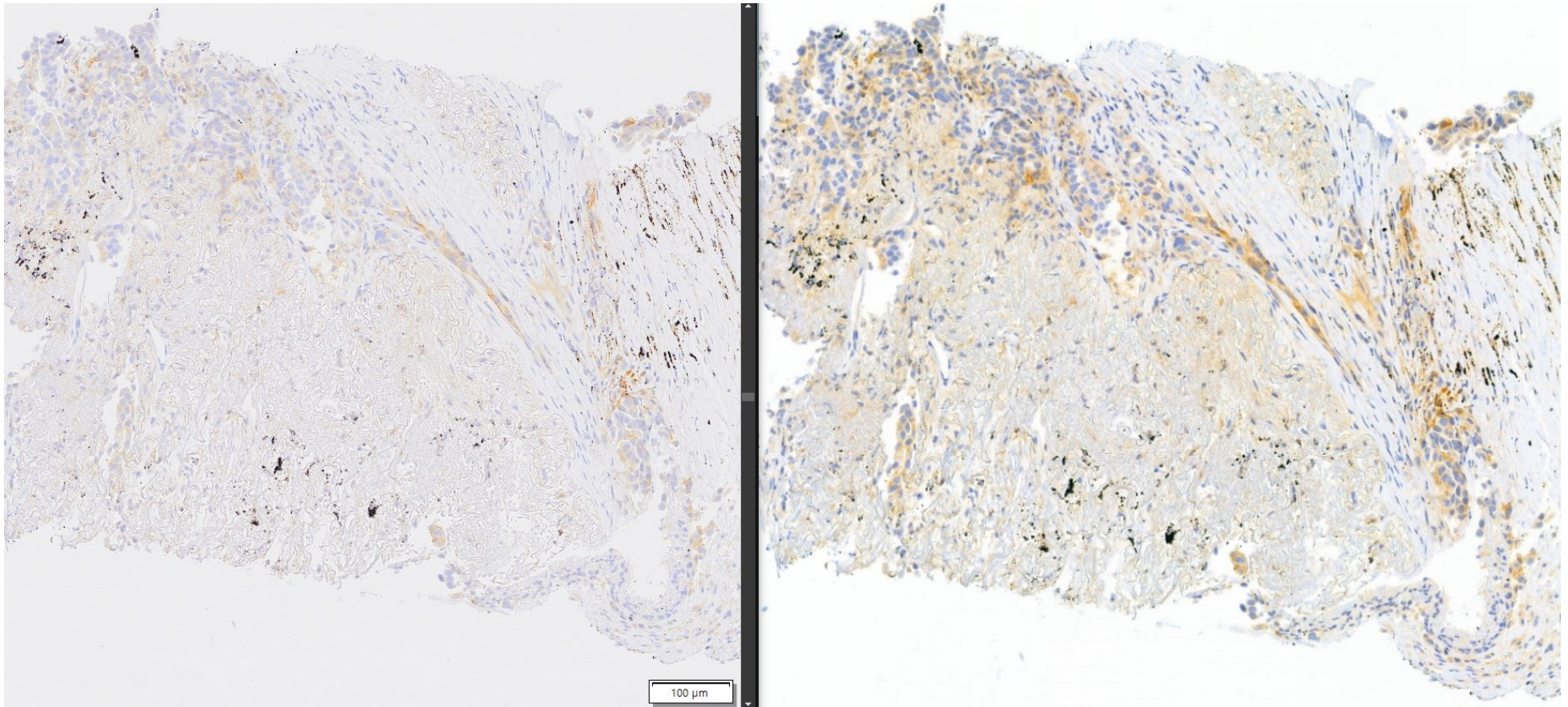
Rintasyöpä PR-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



Prostatibiopsia HE-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.

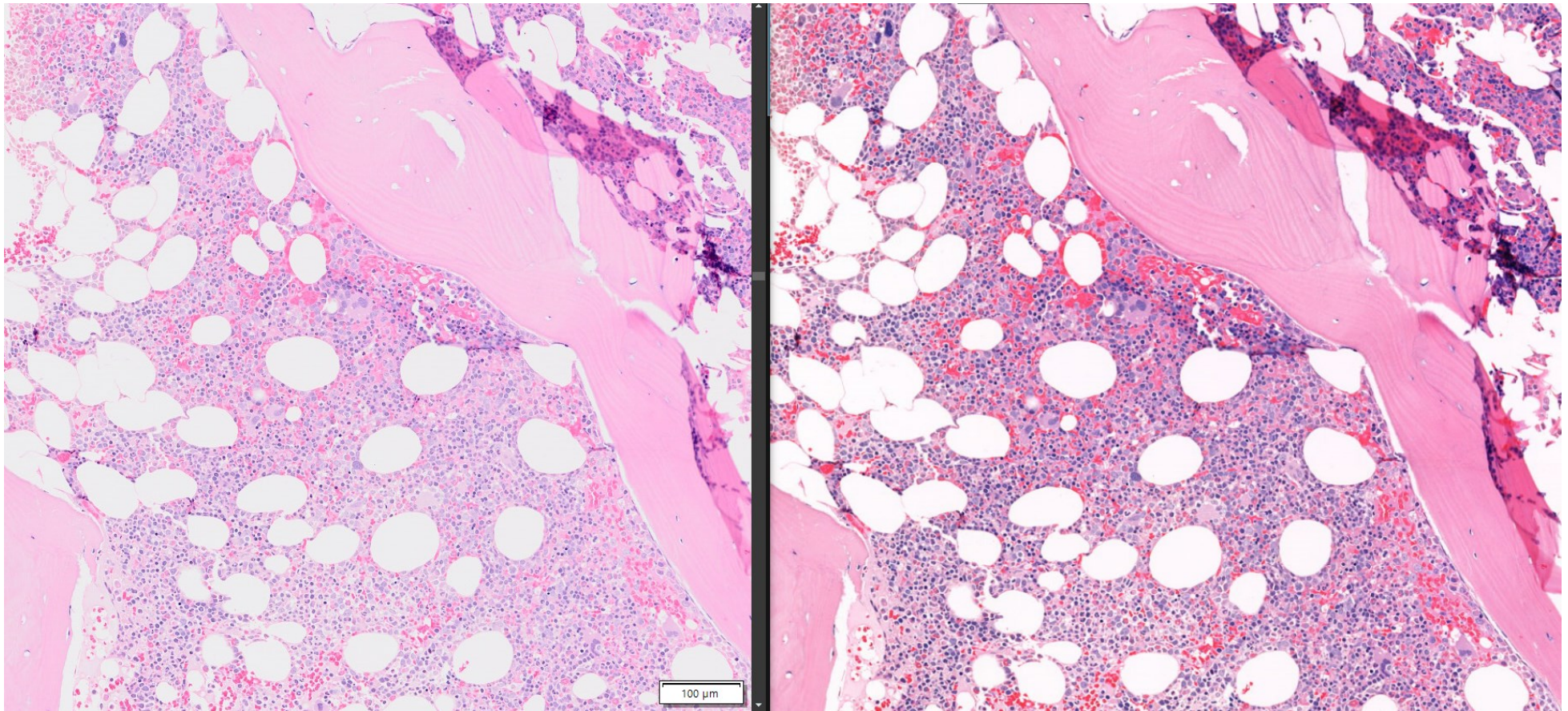


Keuhkosyöpä HE-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.

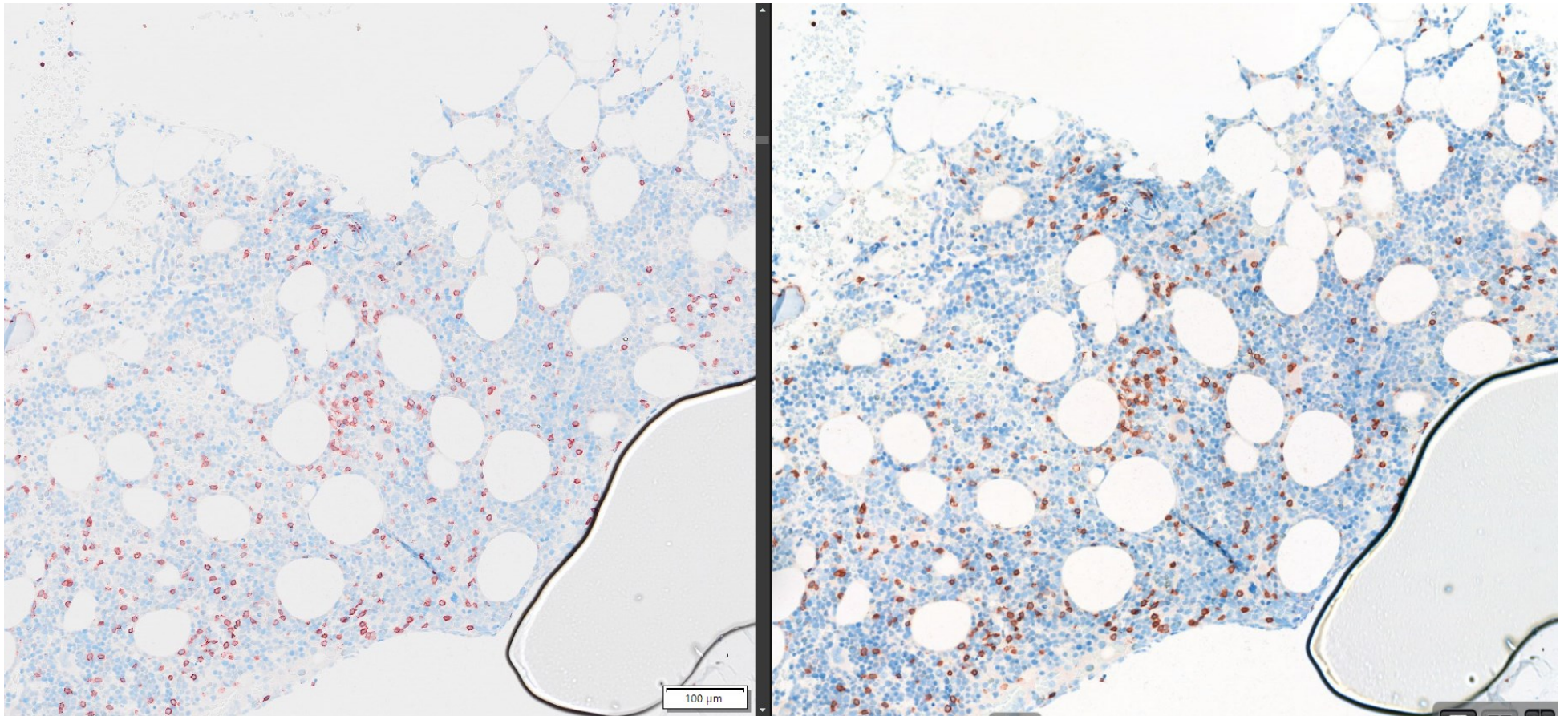


Keuhkosyöpä PD-L1-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.

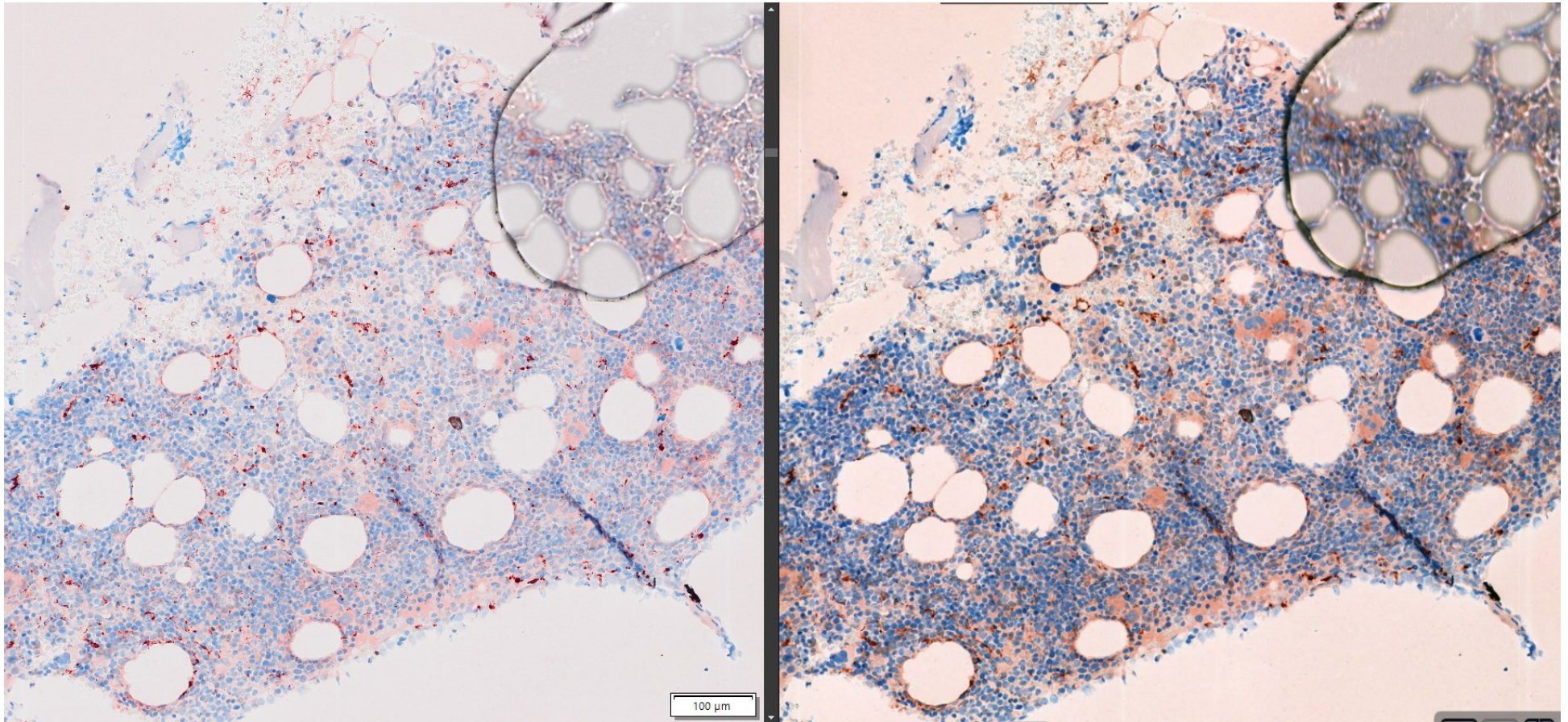




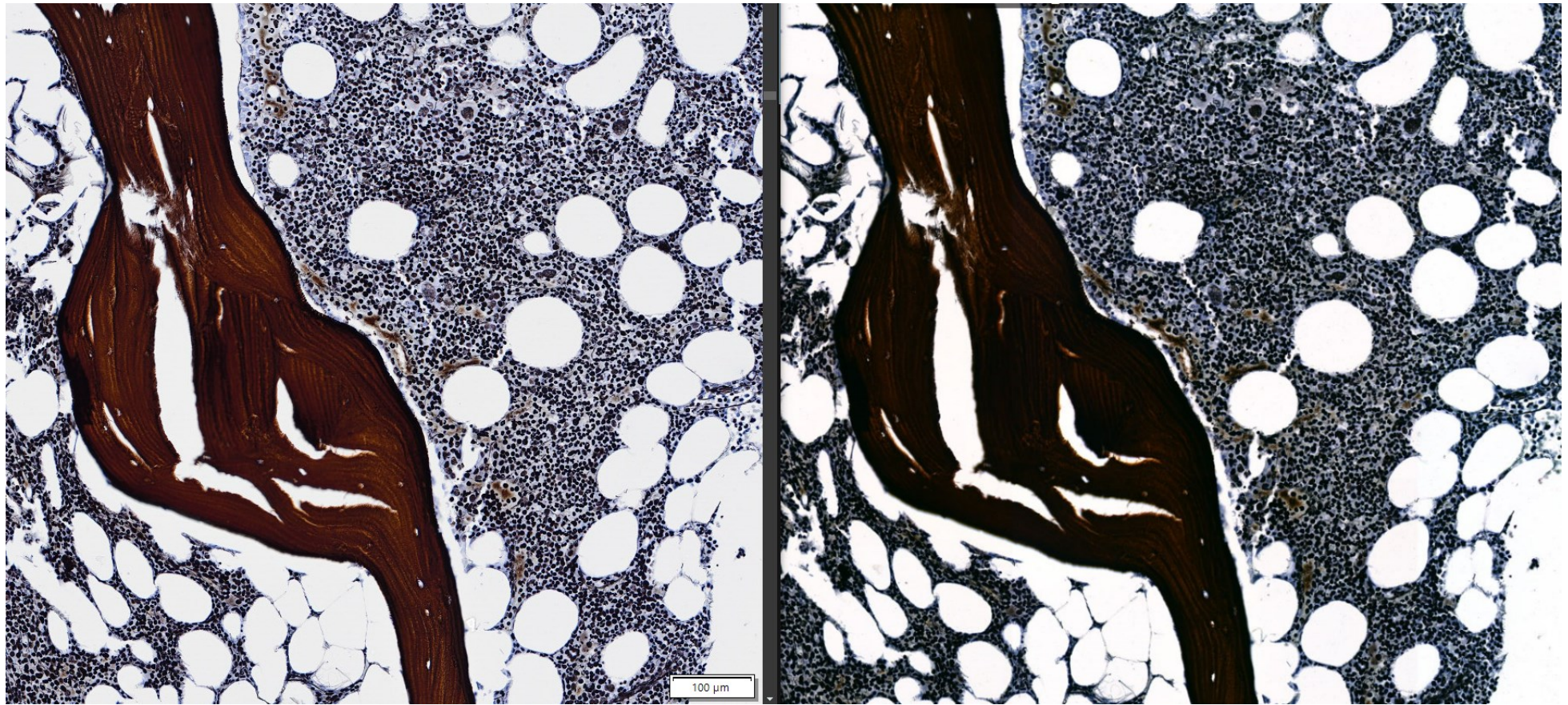
Lymfooma HE-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



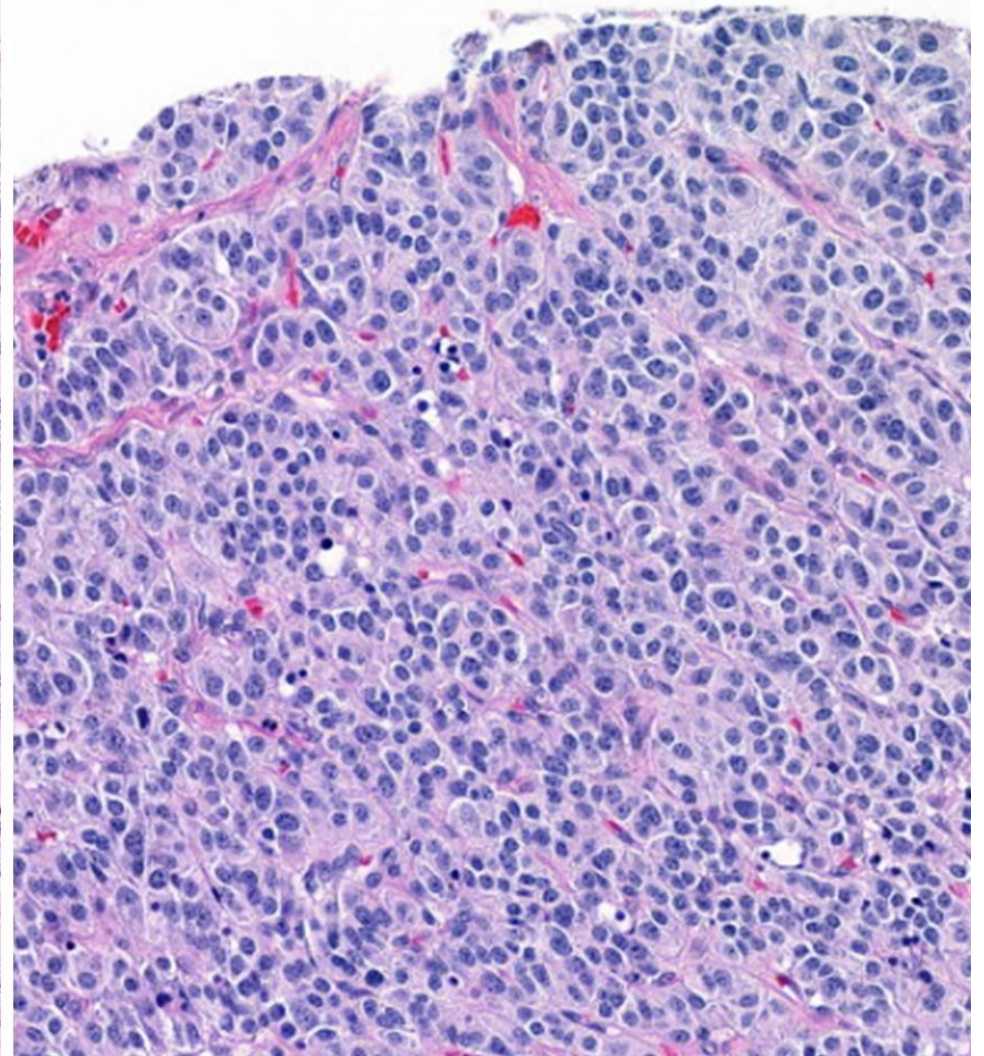
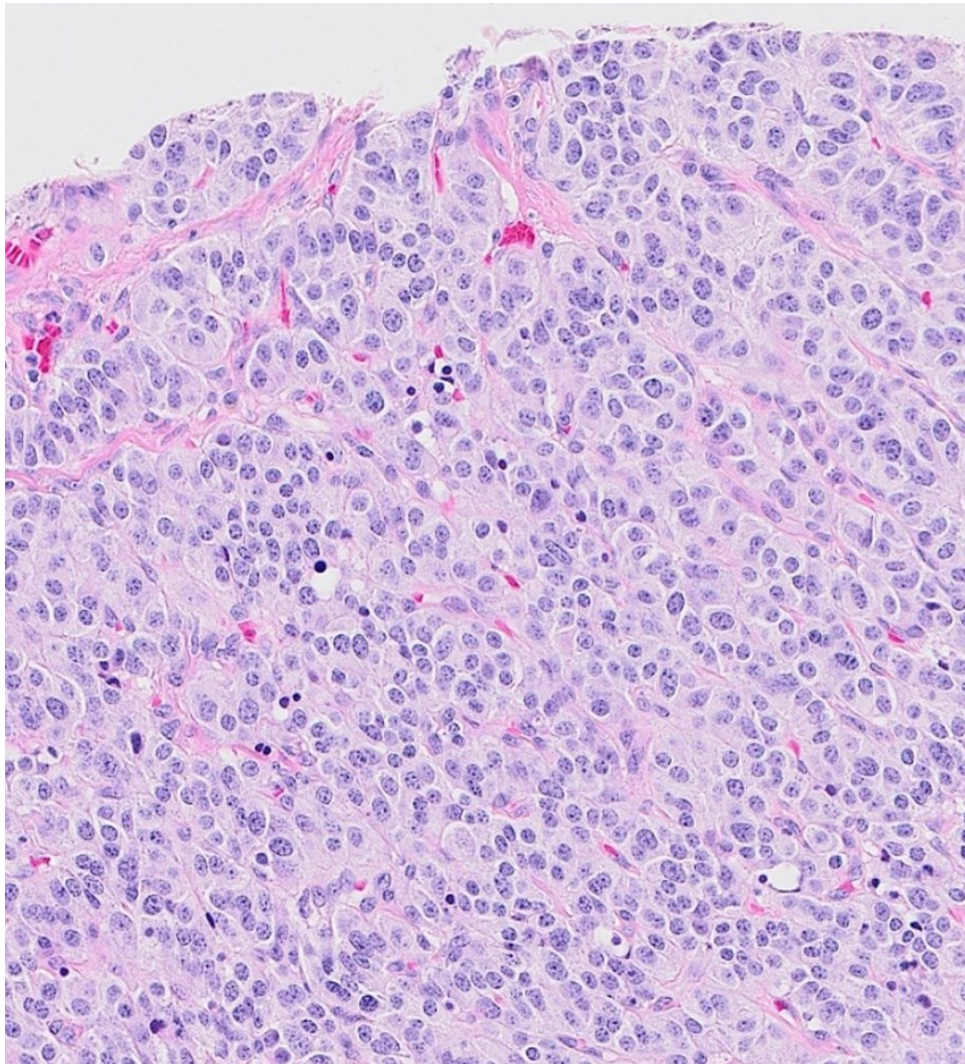
Lymfooma CD3-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



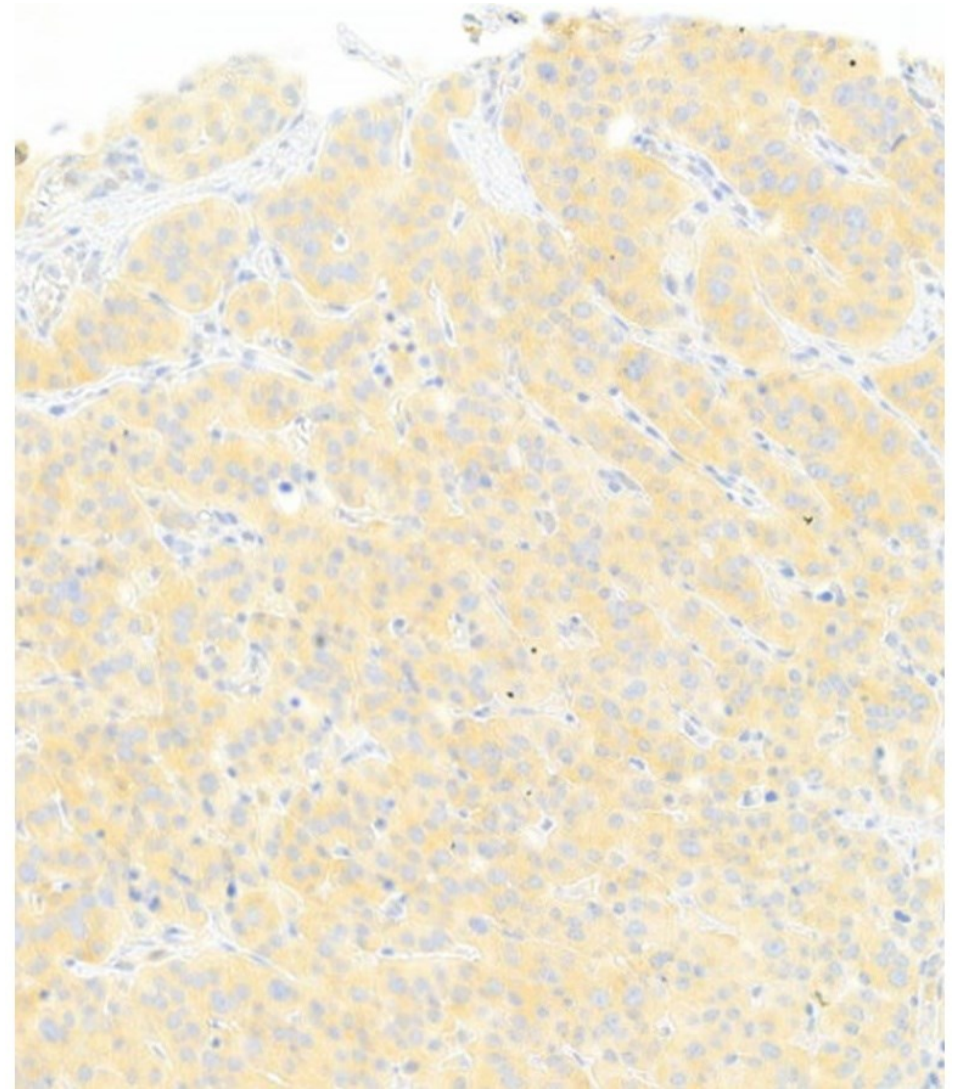
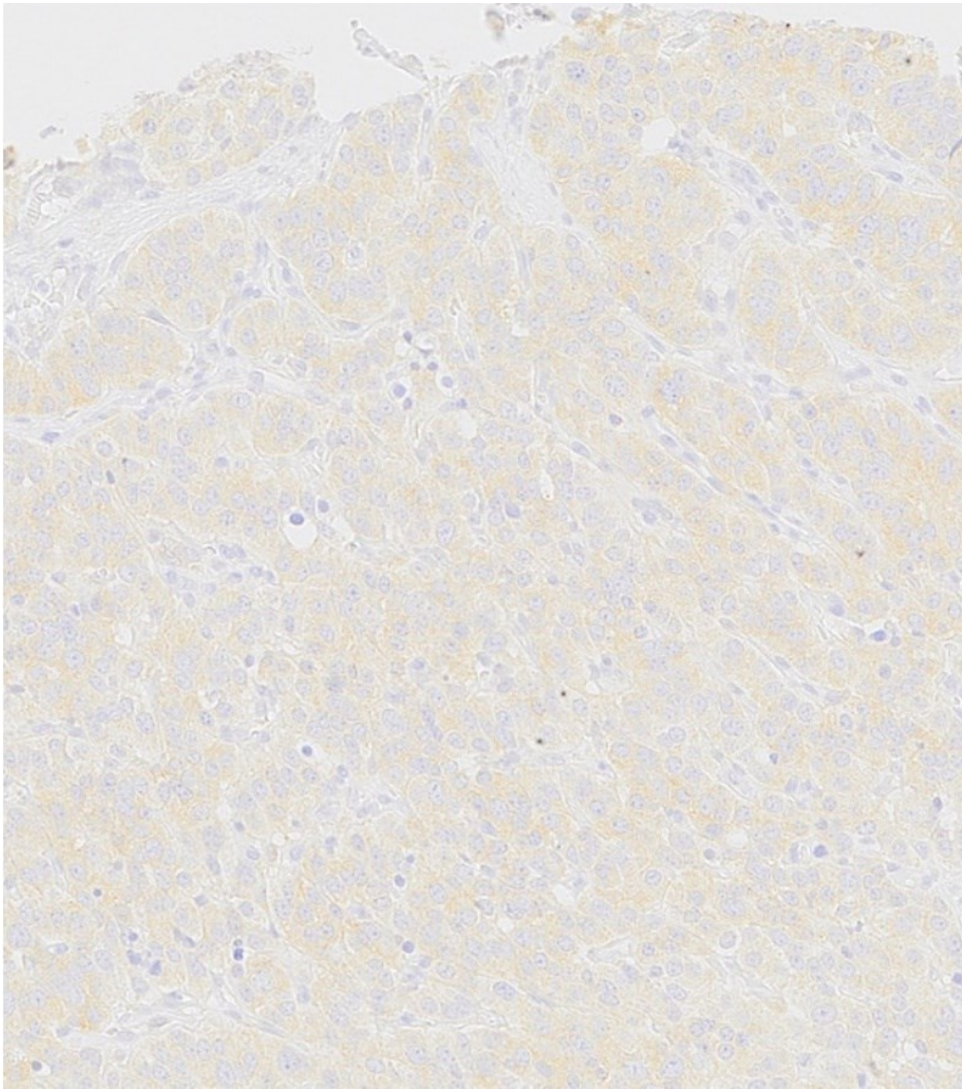
Lymfooma Cyclin-D1-värijäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



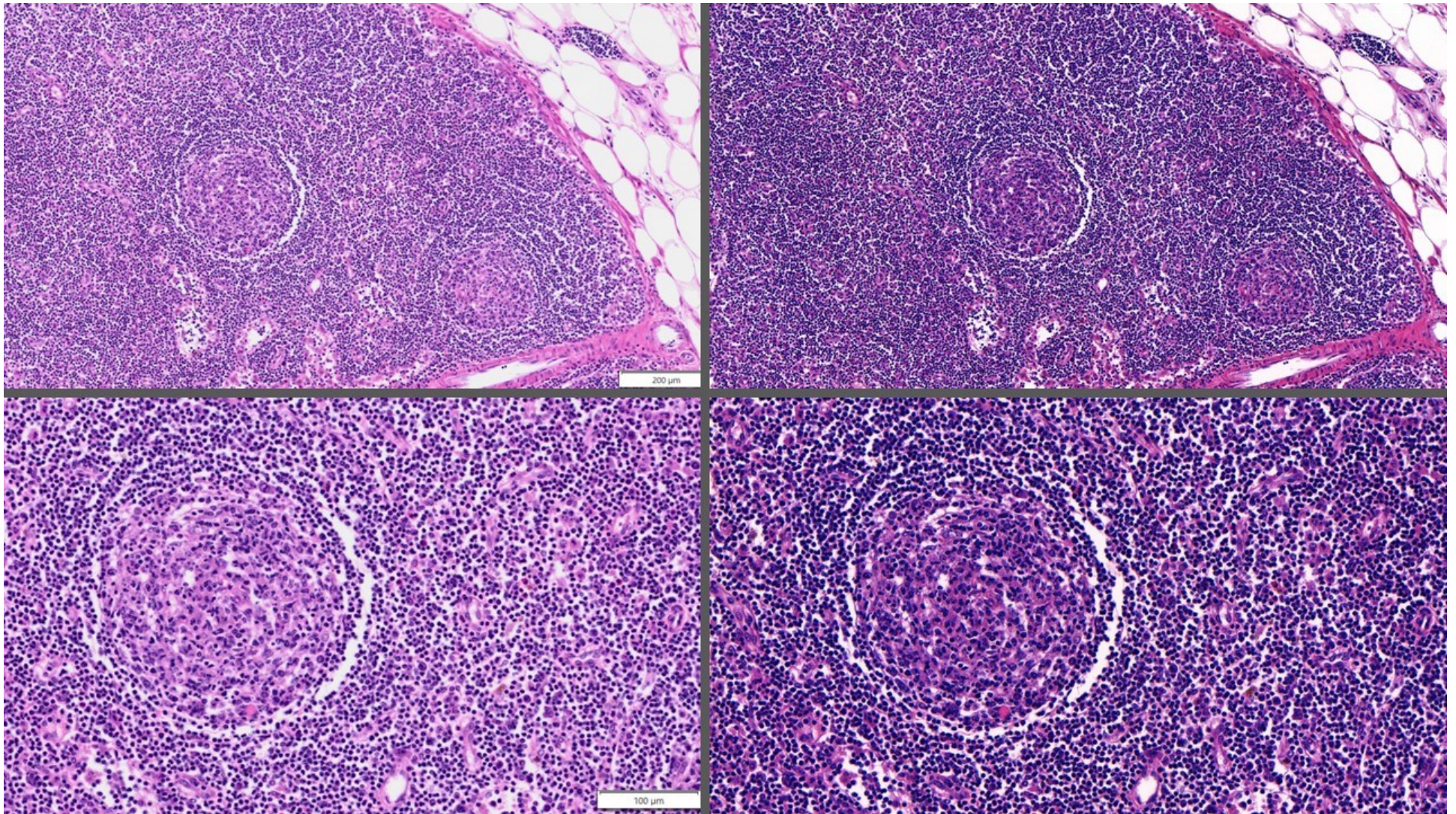
Lymfooma Reticulin-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



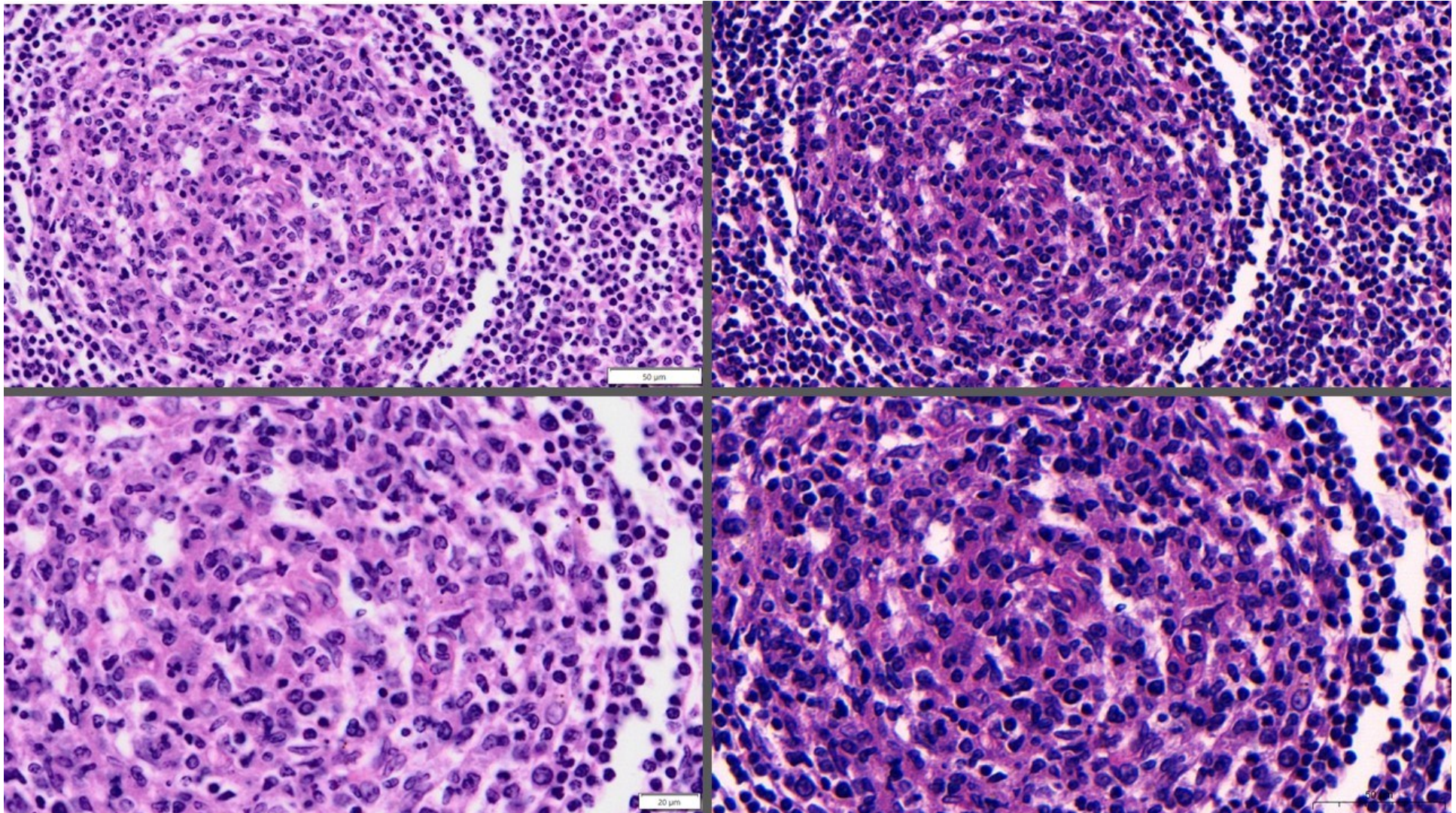
TMA-spotti HE-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



TMA-spotti SSTR5-värjäys. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



10x-suurennoksesta 20x-suurennokseen. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.



40x-suurennoksesta 63x-suurennokseen. Vasemmalla Olympus VS200 ja oikealla Pannoramic 250.