



Clostridium difficile -pikatestin koestus

Kristiina Heikkonen
Elli Honkanen

OPINNÄYTETYÖ
Syyskuu 2020

Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
HEIKKONEN, KRISTIINA & HONKANEN, ELLI
Clostridium difficile -pikatestin koestus

Opinnäytetyö 56 sivua, joista liitteitä 4 sivua
Syyskuu 2020

Opinnäytetyön aiheena oli Abbottin ja Techlab-yhtiön valmistaman C. Diff Quik Chek Complete -vieritestin toimivuuden ja käytettävyyden testaaminen. Opinnäytetyön aihe saatiin Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian yksiköstä. Tarkoituksena oli analysoida ulostenäytteitä C. Diff Quik Chek Complete-testillä. Opinnäytetyön tehtävinä oli arvioida testin tulostasoa sekä luotettavuutta nykyisin käytössä olevaan PCR-menetelmään verraten. Pikatestin soveltuvuutta terveydenhuollon yksikön käyttöön tarkasteltiin SWOT-analyysillä, joissa otettiin huomioon käyttäjävällyisyys ja käytännön työhön soveltuvuus.

Lokakuun 2019 ja joulukuun 2019 välillä suoritettiin 62 analyysia Fimlab Laboratoriot Oy:lle lähetetyillä potilasnäytteillä. Näytteet oli jo analysoitu PCR-menetelmällä ja siitä saatu tulos oli kirjoitettu näyteastiaan. Suositeltavin näytetyyppi oli valmistajan mukaan tuore uloste, mutta suurin osa näytteistä lähetetään laboratorioon FecalSwab-putkessa. Näytteet jakautuivat neljään ryhmään. Testiä suositellaan seulontatestiksi tai käytettäväksi diagnostiikan apuna. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) on luonut kaksi algoritmia, jotka ohjeistavat testin tehokkaaseen, mutta laadukkaaseen ja turvalliseen käyttöön. Testiä arvioitiin näiden algoritmien valossa. Tulokset viittasivat siihen, että testi toimi sille asetettujen odotusten mukaisesti ja tulokset olivat linjassa aikaisempien tutkimusten kanssa.

PCR-menetelmä osoittaa toksigeenisen bakteerin läsnäolon. Toksigeeninen bakteeri ei kuitenkaan välttämättä tuota toksinia ja se saattaa olla myös osa potilaan suoliston normaaliflooraa. Toksiiniosuus tuotti tässä koestuksessa suurimman osan vääristä negatiivisista, mikä voi osaksi selittyä em. seikalla. Muita selittäviä syitä saattavat olla esimerkiksi toksiinin alhainen pitoisuus näytteessä. Pikatestin onkin sanottu olevan spesifimpi oireiselle tulehdukselle, sillä se on positiivinen vasta suuremmilla toksiinipitoisuuksilla. Myös opinnäytetyön käytännön toteutuksen kannalta välttämättömät seikat ovat saattaneet vaikuttaa tuloksiin. Jatkotutkimuksena pikatestiä voisi verrata toiseen menetelmään, tai keskittyä tekemään saman tyyppisen koestuksen ainoastaan tuoreita ulostenäytteitä hyödyntäen. Käyttökokemuksen arviointi hoitotyön ammattilaisten toimesta, voisi kertoa enemmän testin kohderyhmän ajatuksista testin käytettävyyden suhteen.

Asiasanat: clostridium difficile, diagnostiikka, vieritestaus, infektioaudit

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

HEIKKONEN, KRISTIINA & HONKANEN, ELLI:
Clostridium difficile Rapid Test Trial

Bachelor's thesis 56 pages, appendices 4 pages
September 2020

Clostridium difficile infections are commonly healthcare-associated and related to the use of antibiotics. The clinical representation is variable and can range from asymptomatic colonization to severe diarrhea. Due to the inability to distinguish *C. difficile* from other causes of diarrhea, laboratory testing is essential to differentiate cases with *C. difficile* infections.

The purpose of this study was to evaluate the results and reliability of the *C. Diff* Quik Chek Complete -bedside test (Abott & Techlab), by comparing test results with the current PCR-method in use (Altona RealStar). SWOT -analysis was also applied to estimate the suitability of the bedside test for the use of a healthcare unit. This study was carried out by analysing 62 stool samples. Test results were collected and analysed using tabulation and calculative values. Experiences and thoughts were expressed in the SWOT -analysis fields.

Results were evaluated using testing guidelines provided by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). As a result, the *C. Diff* Quik Chek Complete -bedside test meets the expectations given by the manufacturer and ESCMIDs' guidelines. The results correlate with previous studies conducted.

Keywords: clostridium difficile, diagnostics, bedside testing, infectious disease

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	5
2	TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT	6
3	CLOSTRIDIUM DIFFICILEN VAIKUTUS KANSALLISESTI	8
	3.1 Patogeneesi ja poikkeavat ribotyypit.....	8
	3.2 Infektio ja leviämisen ehkäisy.....	10
	3.3 Vaikutus kansallisella tasolla.....	11
4	BAKTEERIN LABORATORIODIAGNOSTIIKKA.....	14
	4.1 Viljelymenetelmät	16
	4.2 PCR-menetelmät.....	16
	4.3 Entsyymi-immunologiset menetelmät (EIA)	17
	4.4 Referenssimenetelmät	19
5	VERTAILTAVAT MENETELMÄT	20
	5.1 C. Diff Quik Chek Complete® -pikatesti	20
	5.2 RealStar® Clostridium difficile PCR Kit 2.0	22
6	AIKAISEMMA TUTKIMUKSET	24
7	VIERITESTAUS	26
	7.1 Laatu	26
	7.2 Vieritestit mikrobiologialla.....	27
	7.3 Testauksen luvanvaraisuus ja valvonta.....	28
8	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT.....	29
	8.1 Diagnostisen testin arviointi	29
	8.2 Taulukot ja kuvat osana tutkimusta	31
9	OPINNÄYTETYÖN SUORITUS.....	32
	9.1 Kokeellisen osuuden suoritus	32
	9.2 Kirjaus ja taulukointi	35
10	TULOKSET	37
	10.1 Koestaminen.....	37
	10.2 Tulosten tulkintaan vaikuttavia huomioita	42
	10.3 Tulokset verrattuna aikaisempiin tutkimuksiin.....	43
	10.4 SWOT-analyysit.....	44
11	POHDINTA	47
	LÄHTEET	49
	LIITTEET	53
	Liite 2. Nelikenttä -analyysi	55

1 JOHDANTO

Opinnäytetyömme aiheena on Abbottin ja Techlab-yhtiön valmistaman C. Diff Quik Chek Complete-vieritestin toimivuuden ja käytettävyyden arviointi. Opinnäytetyön aihe on saatu Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian yksiköltä. Käytämme opinnäytetyössä termiä koestus kuvaamaan tutkimusprosessia, vaikka tutkimusasetelma ei täytä virallisen koestuksen kriteerejä. Pikatestillä analysoidaan näytteitä, jotka on lähetetty laboratorioon tutkimusnimikkeellä F-CldTNhO, eli *Clostridium difficile*, toksigeeni, nukleinihappo osoitus. Näytteet tutkitaan laboratorion käytössä olevalla PCR-menetelmällä, joka toimii vertailumenetelmänä omille tuloksillemme. Suoritamme opinnäytetyön kokeellisesti ja analysoimme dataa kuvioilla, sillä pidämme sitä kaikista luotettavimpana ja edustavimpana lähestymistapana. Tulosten arvioinnissa ja esittämisessä tämä lähestymistapa mahdollistaa objektiivisuuden. Laskemme testille tunnusarvoja, joita esitellään ja arvioidaan. Testin käytettävyyttä aiomme pohtia SWOT-analyysin avulla.

C. difficile on bakteeri, jonka patogeeninen kanta aiheuttaa ripuli-infektion tuottamalla toksineja. *Clostridium* suvusta tunnetaan muitakin ihmiselle patogeenisiä lajeja ja niitä yhdistävä patogeenisyyden tekijä on toksiinien tuotto. *C. difficile* on merkittävä hoitoon liittyvien infektioiden aiheuttaja, jolloin infektion laukaisijana toimii usein antibioottihoito, mikä heikentää normaaliflooraa ja mahdollistaa bakteerin pitoisuuden nousun. Immuunipuutteisilla bakteeri voi aiheuttaa myös enterisen taudin. (Pitt 2018, 103.) *C. difficile* infektioiden hallintaan ja niiden nopeaan diagnostiikkaan on kiinnitettävä huomiota, sillä potilaiden nopea eristys ja hoidon aloitus estää taudin leviämisen ja sairaalajaksojen pidentymisen.

Pikatestit ovat kehittyneet suhteellisen nopeasti osaksi potilasdiagnostiikkaa. Niillä voi olla suuri vaikutus hoitopäätöksiin, mutta kehittyneissä terveydenhuollon rakenteissa testien tulee olla riittävän luotettavia. Jos testi ei ole riittävän sensitiivinen, riskinä on väärä diagnoosi tai lisäkulut, koska joudutaan suorittamaan varmistustestejä. (Hansen 2020.) Pikatesti on kehitetty siten, että sen voi tehdä helposti ja nopeasti kuka tahansa, missä ympäristössä tahansa. Mikäli testi toimii ja tulokset ovat luotettavia, testin käyttöönotto voisi johtaa nopeampaan infektion diagnosointiin tai poissulkuun. Tällä testillä ei voida kuitenkaan täysin korvata laboratoriotutkimuksia ja sitä suositellaan käytettäväksi mm. seulontatestinä.

2 TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyömme tavoitteena on kerätä kokeellista dataa Techlab- yhtiön valmistaman C. Diff Quik Chek Complete -vieritestin tuloksista ja verrata niitä Altona RealStar PCR-menetelmän tuloksiin. Datan avulla saamme lisätietoa testin ominaisuuksista ja kykenemme arvioimaan testin toimivuutta diagnostiikan välineenä. Konkreettista aikomusta ottaa pikatestiä osaksi laboratoriodiagnostiikkaa ei tällä hetkellä ole, mutta testin toimivuutta ja muita oleellisia ominaisuuksia on tärkeää testata tulevaisuuden varalle.

Testaamme 62 potilasnäytettä, jotka edustavat neljää erilaista näytetyyppiä. Näytteet on jo ennen vieritestausta analysoitu käytössä olevalla PCR-menetelmällä. Analysoinnin jälkeen vertaamme tuloksia tilastollisin menetelmin, jotta pystymme kartoittamaan niiden yhteneväisyyttä, sekä nostamaan esille muita huomionarvoisia havaintoja. Tulosten analysointiin ja esittämiseen hyödynnämme Excel laskentataulukko-ohjelmistoa, jonka avulla tuloksia esitellään taulukoilla, kuvioilla ja diagrammeilla. Lisäksi laskemme pikatestin Ag- ja Tox- osuuden sensitiivisyyden, spesifisyyden, sekä negatiivisen ja positiivisen ennustearvon, laskennallisia kaavoja hyödyntäen. Tunnusarvojen tulokset taulukoidaan erilaiset näyteryhmät huomioiden. Tuomme sanallisesti esille myös SWOT-analyysiin kirjattuja huomioita, joita keräämme opinnäytetyöprosessin aikana.

Pystymme soveltuvin osin arvioimaan testin käytettävyyttä ja sopivuutta hoitoympäristöön, mutta tämä osuus opinnäytetyöstä perustuu meidän subjektiiviseen kokemukseemme testin käyttäjinä. Teemme opinnäytetyön laboratorion näkökulmasta ja pysymme puolueettomina. Arvioimme vieritestin sopivuutta hoitoympäristöön ajankäytön, käyttömukavuuden ja käytännön vaikutusten osalta nelikenttäanalyysin avulla. Emme ota kantaa siihen, kannattaako vieritestiä ottaa käyttöön vai ei, vaan esittelemme asiaan liittyviä näkökantoja. Emme pysty ajan, opinnäytetyön rajauksen tai resurssien rajoissa testaamaan testiä hoitoympäristössä, muiden ammattiryhmien käyttämänä.

Opinnäytetyön tarkoituksen olemme muotoilleet tutkimuskysymyksiksi:

1. Pääasiallisena tutkimusongelmana pidämme, antaako vieritesti yhtenevät tulokset käytössä olevan testin kanssa?
2. Lisäksi pohdimme mahdollisuuksien ja omien kykyjemme sekä tietojemme mukaan testin sopivuutta hoitoympäristöön. Olemme jakaneet tämän ongelman pienempiin kokonaisuuksiin, joihin pääasiallisesti keskitymme:
 - 1.1. Onko vieritesti ominaisuuksiltaan toteutettavissa hoitotyön lomassa ilman, että tuloksen laatu kärsii?
 - 1.2. Olisiko testin käyttöönotolla konkreettista hyötyä hoitoyksikölle, eli vähentäisikö se työtaakkaa ja nopeuttaisi potilaan hoitopolkua?

3 CLOSTRIDIUM DIFFICILEN VAIKUTUS KANSALLISESTI

Clostridium difficile on anaerobinen itiöitä muodostava sauvabakteeri. Gram-väryksessä bakteeri on grampositiivinen. Imeväisikäisistä jopa 60 %:lla on *Clostridium difficile* osana suoliston normaaliflooraa, mutta terveistä aikuisista sitä tavaataan vain noin kolmella prosentilla. (Hellstén & Heikkilä 2005, 45.) Imeväisikäisiä oireisen taudin puhkeamiselta uskotaan suojaavan toksinireseptoreiden puute kehittymättömässä suolistossa, mutta he voivat silti levittää bakteerin itiöitä ympäristöönsä. Sairaalan ulkopuolinen *C. difficile* on tilastollisesti yleisempää naisilla, selittävänä tekijänä saattaa olla vauvan hoitaminen ja vaippojen vaihto. (Lefler & Lamont 2012, 97.)

Clostridium difficile merkittävä virulenssitekijä on toksiinien tuottaminen, mutta kaikilla *C. difficile*-kannoilla ei ole tätä ominaisuutta (Hellstén & Heikkilä 2005, 45). Vaikka bakteerikannalla olisi kyky tuottaa molempia toksineja, se ei välttämättä siltikään tuota kumpaakaan. Kyky tuottaa lepoitiöitä, eli endosporeja tekee *C. difficile*stä yleisimmän sairaalaympäristöstä saadun ripulitaudin. (Ford 2014, 225.) Itiöt ovat todella kestäviä ja *C. difficile*en, kuten muidenkin klostridien itiöitä löytyy yleisesti ympäristöstä. Jotkin *C. difficile*en aiheuttamat sairaalaepidemiat voidaan jäljittää ympäristöön. Infektioissa klostridit esiintyvät usein muun sekaflooran kanssa, jolloin aerobiset ja fakultatiiviset mikrobit käyttävät hapen ja tuottavat ravinteita, tämä luo klostrideille suotuisat kasvuolosuhteet. Toisaalta esimerkiksi *Clostridium difficile*en patogeneesi vaatii sen, että normaalifloora häiriintyy, jotta bakteerin määrä voi lisääntyä. (Hedman ym. 2010, 233–234.)

3.1 Patogeneesi ja poikkeavat ribotyypit

Clostridium difficile aiheuttaa infektion (CDI), jos se on kanta, joka kykenee tuottamaan toksineja ja lisääntyä riittävään pitoisuuteen. Toksiinit ovat suuria proteiineja. Virulentit kannat tuottavat kahta primaaritoksiinia, joista A on enterotoksiini, mutta sekin voi olla sytotoksinen, toksiini B on sytotoksiini. (Ford 2014, 281.) A ja B toksineilla on eri reseptorit, mutta sama biologinen aktiivisuus (Hedman ym. 2010, 235). Toksiini B voi aiheuttaa taudin myös yksinään, tähän toksiini A ei

pysty, mutta sen merkitys vaikuttaa olevan suurempi pseudomembranoottisessa koliitissa. A toksiinien vaikutusten tiedetään johtavan suoliston seinämän elektrolyytti- ja nestetasapainon muutoksiin, tämä aiheuttaa osaltaan potilaiden ripulioireen. Toksiini B puolestaan häiritsee solutukirangan aktiinia, joka aiheuttaa solujen tuhoutumisen. (Pitt 2018, 104; Ford 2014, 281.)

Bakteeri tuottaa proteaasientsyymejä, joiden avulla se pääsee mukoosin kerroksen läpi suolen epiteelin läheisyyteen. Toksiinituotto alkaa aikaisintaan, kun bakteeri on päässyt stationaarivaiheeseen, sitä ennen tuotantoa repressoit tcdC-geeni. Huomattavaa onkin, että virhe tcdC-geenissä aiheuttaa hypervirulentteja kantoja. Esimerkiksi deletio geenissä aiheuttaa ribotyypin 027, joka muutaman muun hypervirulentin kannan tavoin voi tuottaa toksineja jo ennen stationaarivaihetta. Aikaisempi toksiinituotannon aloitus johtaa suurempiin toksiinipitoisuuksiin. Näiden kantojen aiheuttama kuolleisuus on suurempi ja uusiutuminen todennäköisempää. Ribotyyppi 027, eli NAP1 tai BI, tuottaa noin 15–20 kertaa enemmän toksineja A ja B. Tähän kantaan liittyy myös 7 % korkeampi kuolleisuus ja se vaikuttaa tarttuvan tavanomaisia kantoja helpommin. (Pitt 2018, 104; Hessen 2010.)

Hypervirulentit kannat voivat tuottaa binaaritoksiinia, jonka merkitys infektion kannalta on vielä melko tuntematon (Hedman ym. 2010, 235). Binaaritoksiinia (CDT) tuottaa cdtAB-geenit ja tuotannon säätelyyn uskotaan liittyvän cdtR proteiini. Bakteerit, joilla ei ole cdtAB geeniä tai cdtAB pseudogeeniä, eivät ekspressoi myöskään cdtR proteiinia. Binaaritoksiinin tiedetään koostuvan kahdesta alayksiköstä CDTa ja CDTb. CDTb sitoutuu kohdesolun reseptoriin, jolloin CDTa eli toksiinin entsyymaattinen komponentti, pystyy häiritsemään solun toimintaa. (Carter ym. 2007, 7290.) Suomessa ribotyyppiä 027 tavattiin syksyllä 2007, jolloin se levisi Etelä-Suomeen Keski-Euroopasta. Tämän jälkeen hypervirulentti kanta on levinnyt hitaasti koko maahan, mutta on Suomessa verraten harvinainen. THL tunnistaa sinne lähetetyt bakteerikannat ja seuraa hypervirulentteja kantoja. (Lumio 2018.)

3.2 Infektio ja leviämisen ehkäisy

Bakteerin aiheuttamat taudit vaihtelevat vesiripulista pseudomembranoottiseen koliittiin. Pahimmillaan infektio voi aiheuttaa suolen perforaation, sepsiksen tai kuoleman. (Delost 2015, 312.) Pseudomembranoottisen koliitin riski on suurempi ja taudinkuva voi olla vakavampi, jos potilaan suolen toiminta on hidastunut tai sitä hidastetaan lääkkeillä, koska tällöin bakteeri ja toksiinit pysyvät suolessa pidempään (Ford 2014, 281). Pseudomembranoottisessa enterokoliitissa suolen seinämässä voidaan nähdä katteisia tulehdusalueita, vakava tauti voi olla henkeä uhkaava (THL 2019a).

Jos antibioottiripuli on lievä, oireet loppuvat yleensä silloin, kun laukaiseva mikrobilääkitys lopetetaan, tarvittaessa potilasta voidaan nesteyttää. Vakavammat tautitapaukset hoidetaan vankomysiinillä, myös metronidatsolia käytetään. Antibioottihoidon jälkeen uusiutumisosuus on jopa 30 %. (Hedman ym. 2010, 235-236.) Erityisesti poikkeavan ribotyypin kannat tuottavat paljon itiöitä ja uusiutuminen on todennäköisempää. Tehokkain suoja infektiota ja sen uusiutumista vastaan on todennäköisesti terve normaalifloora. Uusiutuviin *C. difficile* infektioihin hoitomuotona voidaan käyttää ulosteensiirtoa. Vaikka tarkkaa vaikutusmekanismia ei tunneta, kyseessä on mahdollisesti rekolonisaation aiheuttama kolonisaatioresistenssi. Tavoitteena on normalisoida suoliston mikrobikanta, jolloin normaaliflooralla saattaa olla myös suora antagonistinen vaikutus *Clostridium difficile*en. Ulosteensiirron vaikutuksia toistuviin *C. difficile*-infektioihin on tutkittu pitkään ja sen on arvioitu estävän infektion uusiutumisen 83 % tapauksista. (Arkkila ym. 2013, 1671–1673.)

Satunnaistetussa tutkimuksessa ulosteensiirtoa verrattiin vankomysiiniin, sekä vankomysiini-suolihuuhtelu-yhdistelmään, mutta tutkimus jouduttiin keskeyttämään. Ulosteensiirto osoittautui ylivertaiseksi hoitomuodoksi parantaen 13 potilasta kaikkiaan 16:sta potilaasta ensimmäisen infuusion jälkeen. Lisäksi kaksi jäljelle jääneistä kolmesta potilaasta parantui jatkohoidon jälkeen. Neljä 13:sta potilaasta parantui infektiosta pelkällä vankomysiinillä, yhdistelmähoidolla vastaava tulos oli kolme 13:sta potilaasta. (Van Nood ym. 2013.)

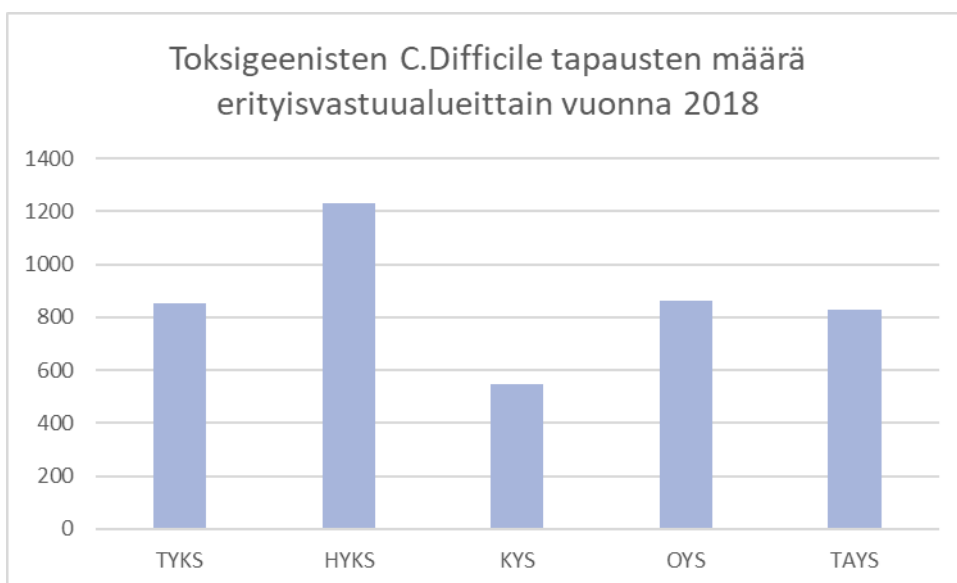
Aiemmin oletettiin, että tauti syntyy ainoastaan endogeenisesti, kun suoliston normaalifloora häiriintyy. Nykyään kuitenkin tiedetään, että tauti leviää itiöinä uloste-suuteitse ihmiseltä toiselle tai kontaminoituneesta ympäristöstä ihmiseen. (Hedman ym. 2010, 234.) *Clostridium difficile* infektioiden määrä oli nousussa 2000-luvun alussa maailmanlaajuisesti. Selittäviä tekijöitä saattavat olla ikääntyneempi potilaskanta, lisääntyneet myötävaikuttavat tilat, antibioottien käytön lisääntyminen ja virulentimpien kantojen esiintyminen. (Martinez, Leffler & Kelly 2012, 56.) Taudin leviämisen ehkäisy vaatii *C. difficile* infektiosta kärsivien potilaiden eristämistä hoitoyksiköissä. *C. difficile* itiöitä on hankala hävittää, koska ne ovat todella kestäviä. Alkoholipohjainen käsihuuhe ei riitä, vaan kädet on pestävä lämpimällä vedellä ja saippualla. (Hedman ym. 2010, 235–236.) Nopea taudin detektio, potilaan eristäminen ja tarvittaessa infektion hoito ovat tärkeitä tekijöitä epidemioiden synnyn ehkäisyssä. Taudin ehkäisyyn kuuluu myös tarpeettomien mikrobilääkehoitojen välttäminen. (THL 2019a.)

3.3 Vaikutus kansallisella tasolla

C. difficile on tärkein antibioottihoitoon liittyvän ripulin aiheuttaja, koska antibiootihoidon yhteydessä se pääsee kolonisoitumaan, erityisesti jos käytetty antibiootti on ollut laajakirjoinen (Hedman ym. 2010, 234). *C. difficile* aiheuttaa kuitenkin vain suunnilleen yhden prosentin antibioottiripuleista, sillä suurin osa niistä aiheutuu antibiootin suorasta haitasta tai suoliston bakteerikannan häiriöstä (Lumio 2018). Lukumäärällisesti infektio on silti melko yleinen Suomessa. THL seuraa *C. difficile* infektioiden määrää ja julkaisee tiedot tartuntatautirekisterissä.

Vaihtelua eri sairaanhoitopiirien välillä infektioiden lukumäärissä esiintyy paljon (kuvio 1). Selittäviä tekijöitä saattavat olla esimerkiksi erilaiset ohjeistukset näytteenoton aktiivisuudessa, käytössä olevissa menetelmissä, epidemiologisissa tilanteissa tai torjuntatoimissa (THL 2020). *Clostridium difficile* -infektioita alettiin seurata vuonna 2008 osana SIRO, eli sairaalainfektio-ohjelmaa. Ohjelma mahdollistaa tilastojen vertailun eri sairaaloiden välillä. Tarkoitus on ehkäistä hoitoon liittyviä infektioita. Yksi ohjelman tavoitteista on luoda yhteisiä torjuntaohjeita ja

suosituksia, sekä tarjota koulutusta. Ohjelmaan osallistuvien sairaaloiden laboratoriovastauksista ilmoitetaan ja tilastoidaan erikseen myös vakavat tautitapaukset ja epidemiat. (THL 2019d.)

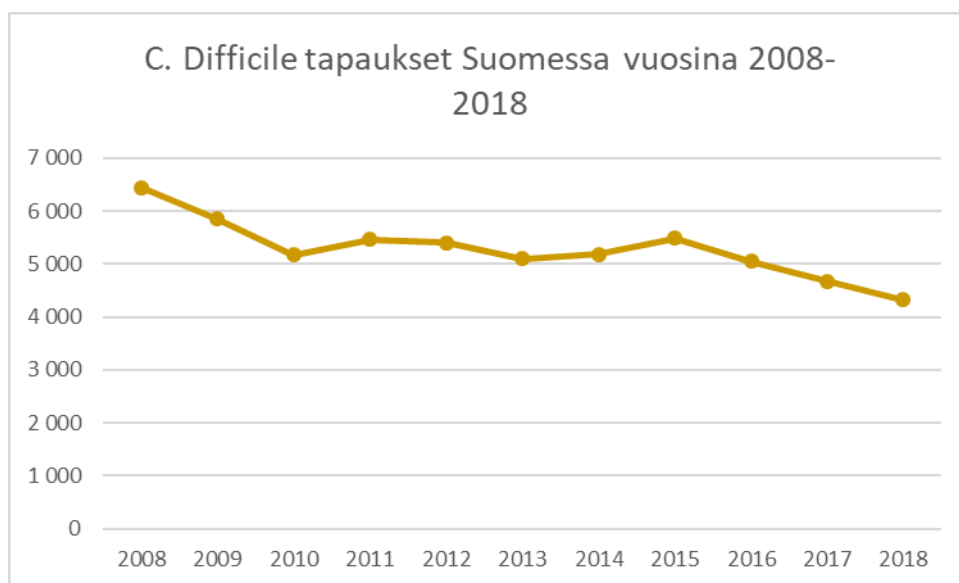


KUVIO 1. THL:n tartuntatautirekisteristä toksigeenisten C. difficile tapausten lukumäärä erityisvastuualueittain. (THL 2019c. Muokattu.; Valtioneuvoston asetus erityistason sairaanhoidon erityisvastuualueista 156/2017.)

USA:ssa on arvioitu, että jokainen C. difficile infektio aiheuttaa 15 000 \$ lisäkulut (Ford 2014, 281). On kuitenkin huomioitava, että lisäkulojen arviointi on hankalaa. Pohjoismaissa on laskettu C. difficile infektioiden aiheuttamaa taakkaa sairaaloille, tekemällä kansainvälistä vertailua potilastietokantojen aineistolla. Eräässä vertailussa olivat mukana Tanska, Norja, Suomi ja Ruotsi. Tietokannoista saatiin potilaiden vuosittainen lukumäärä, sairaalajaksojen lukumäärä ja sairaalajakson pituus. Suomen kohdalla arvio lisäkuluista perustui hoitopäivän hintaan. Katsauksen mukaan C. difficile potilaiden hoito aiheutti Suomessa vuoden aikana n. 15 miljoonan euron verran kuluja. Vuositasolla eri maissa aiheutuneet lisäkulut vaihtelivat 11–30 miljoonan välillä. (Nordling, Anttila, Norén & Cockburn 2014, PIN39.)

Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitoksen Tartuntatautirekisterin mukaan vuonna 2018 Suomessa rekisteröitiin 4 324 toksigeenistä C. difficile infektiota. Rekisterissä

olevista luvuista tämä on tähän asti pienin (kuvio 2), mutta kyse on edelleen merkittävästä infektioiden aiheuttajasta. Pirkanmaan sairaanhoitopiiristä vuonna 2018 THL:n rekisteriin päätyi 290 infektiota (THL 2019c).



KUVIO 2. THL:n seurannan aikana toksigeenisten *C. difficile* tapauksien määrä on vähentynyt huomattavasti (THL 2019c. Muokattu).

Suomessa *C. difficile* on noroviruksen jälkeen yleisin ripuliin liittyvä taudinaiheuttaja. Tautitapauksista valtaosa on ikääntyneellä väestöllä ja perusterveellä tauti johtaa ripuliin melko harvoin. Sairaaloissa tauti voi aiheuttaa epidemioita, mutta toisin kuin esimerkiksi noroviruksessa hoitohenkilökunta ei yleensä sairastu, vaikka voivatkin toimia taudin välittäjänä potilaasta toiseen. (Lumio 2018.)

4 BAKTEERIN LABORATORIODIAGNOSTIIKKA

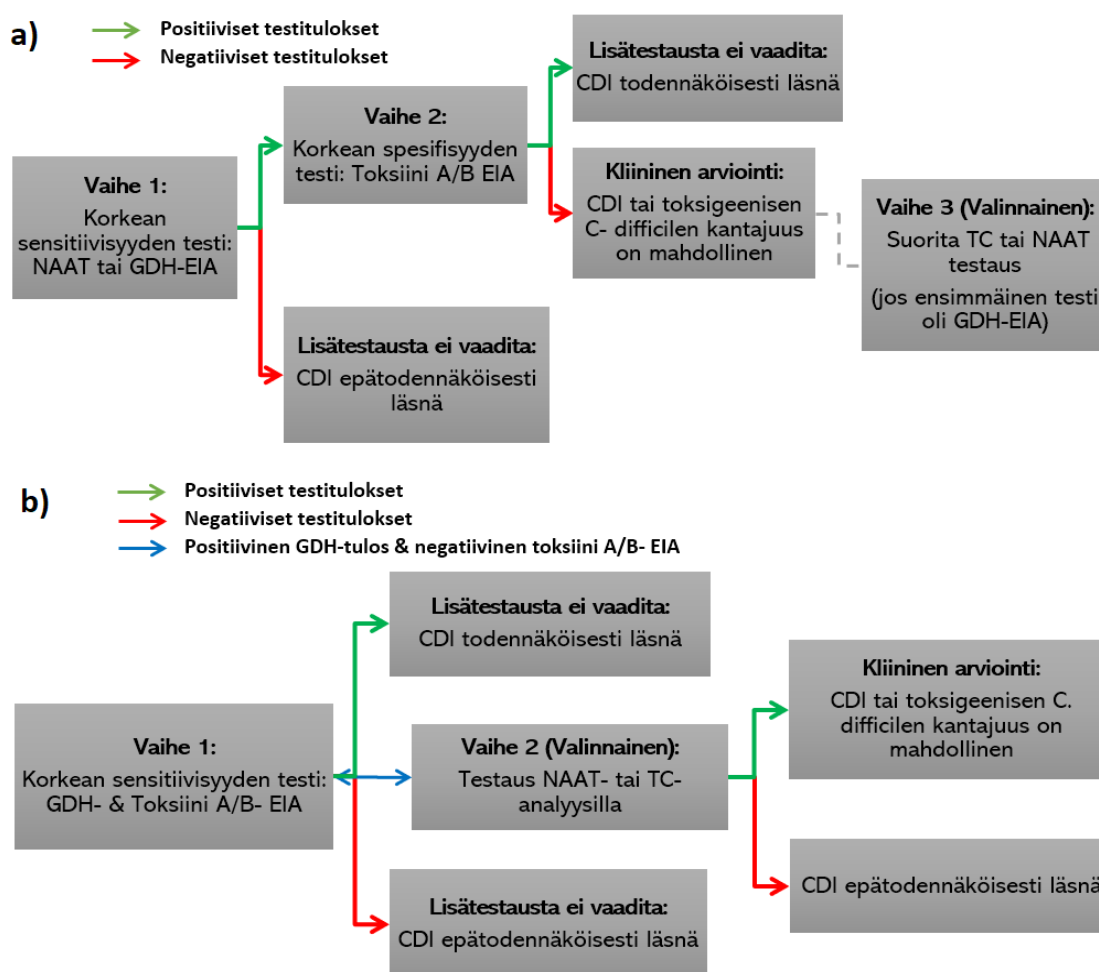
Diagnostiikassa on historiallisesti kärsitty pitkittyneistä viiveistä potilasvastauksissa perinteisten analyysimenetelmien ollessa hyvin aikaa vieviä. Osaltaan tämä vaikutti jälkeenpäin kehitettyjen EIA (Enzyme Immunoassay) -menetelmien nopeaan omaksumiseen maailmalla, sillä uudet menetelmät olivat huomattavasti tehokkaampia ja käytännöllisempiä. Siirtymän jälkeen on kuitenkin osoitettu, etteivät kyseiset menetelmät omanneet tarvittavaa analyttistä herkkyyttä, mikä taas puolestaan ajoi laboratorioita siirtymään nukleinihapon osoitukseen perustuviin menetelmiin. (Burnham & Carroll 2013, 604.) NAAT (Nucleid Acid Amplification Test) -menetelmät, joihin kuuluvat myös PCR:ää hyödyntävät analyysit, ovatkin nykyisin suomessa yleisimpiä *Clostridium difficile*n osoitukseen käytettäviä menetelmiä (THL 2018, 15).

Vuonna 2016 julkaisemassaan CDI-diagnostiikan ohjeistuksessa ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) painottaa, ettei diagnostiikan tule perustua pelkästään laboratoriotestaukselle, vaan kliinisten oireiden sekä testitulosten yhteisarvioon. Huomioimalla potilaan kliininen kuva vältytään diagnosoimasta oireettomia kantajia varsinaisen infektion puuttuessa. CDI-diagnostiikassa käytettävistä menetelmistä ESCMID kertoo toksiinien osoitus EIA:n omaavan suurimman analyttisen spesifisyyden. GDH:n osoituksessa käytettävä EIA- sekä toksigeenisyyttä tutkivat NAAT-menetelmät puolestaan osoittautuivat herkimmiksi menetelmiksi. (Crobach ym. 2016, 73.)

Diagnostiikassa on syytä ottaa huomioon näiden menetelmien erot, sillä ne mitaavat lähtökohtaisesti eri asioita. Täten myös tulosten kliininen merkitys vaihtelee, vaikka analyysi antaisikin arvokasta ja luotettavaa tietoa diagnoosin kannalta. Ei-toksigeenisten kantojen kyetessä kolonisoimaan yksilöitä tulisi menetelmät, jotka tunnistavat pelkästään mikrobin läsnäolon yhdistää toksiinin tuottoa arvioivan testin rinnalle (Jorgensen 2015, 950). ESCMID suositteleekin, ettei mitään yksittäistä kaupallista testiä tulisi käyttää niin sanottuna stand-alone testinä, vaan diagnostiikkaan suositellaan kaksivaiheista algoritmia. ESCMID kertoo suosituksessaan, että ensimmäisen suoritettavan testin tulisi olla korkean negatiivisen ennustearvon omaava testi, eli korkean sensitiivisyyden testi. Toisen vaiheen

testin tulisi puolestaan olla korkean positiivisen ennustearvon omaava eli hyvin spesifinen testi. (Crobach ym. 2016, 74.) Kaksivaiheisen diagnostiikan myötä kyetään patogeenisten, sekä kolonisoivien ei-patogeenisten *C. difficile* kantojen väliseen erotukseen.

ESCMID on laatinut diagnostiikan suosituksessaan kaksi vaihtoehtoista testaus-algoritmia CDI-diagnostiikkaan (kuvio 3). Suositeltua kaksivaiheista testausta voidaan toteuttaa kumpaa tahansa algoritmia hyödyntäen, laboratorion oman harkinnan mukaisesti. A-algoritmin mukaisesti ensimmäisen vaiheen testaus suoritetaan GDH-EIA:lla tai NAAT-tutkimuksella, jonka jälkeen patogeeninen kanta varmistetaan Toksiini A/B-EIA:lla. Toinen vaihtoehto on käyttää ensimmäisessä vaiheessa B-algoritmin mukaisesti GDH- sekä Tox A/B-EIA:a, jolloin kaksivaiheinen testaus toteutuu yhtäaikaista. (Crobach ym. 2016, 76–77.)



KUVIO 3. Suositellut algoritmit Clostridium difficile-infektion (CDI) testaukseen. (a) GDH tai NAAT – Tox A/B algoritmi. (b) GDH ja Tox A/B – NAAT/TC algoritmi. (Crobach ym. 2016, 77 Muokattu.)

4.1 Viljelymenetelmät

Viljelymenetelmien käyttö *Clostridium difficile* -infektioiden diagnostiikassa on kokenut huomattavan laskun vuoden 2013 jälkeen, jolloin 90 % maassa ilmoitetuista löydöksistä oli todettu viljelymenetelmiä käyttäen. Vuonna 2017 nukleinihapon osoitusmenetelmillä oli todettu 78 % löydöksistä, kun taas viljelymenetelmien osuus oli laskenut alle 20 %:iin. Tämä osoittaa laskevaa trendiä viljelymenetelmien käytössä, vaikkakin useimmat laboratoriot vielä ylläpitävät valmiutta *C. difficile* n viljelyyn ja kantojen tyyppitykseen esimerkiksi epidemiatilanteissa. (THL 2018, 15.)

Vaikka *C. difficile*ä kyetäänkin viljelemään onnistuneesti sille spesifisillä maljoilla, tulee toksigeenisuus silti osoittaa pesäkkeestä erillisellä laboratorionkokeella (Garcia & Isenberg 2010, 39). Bakteerin viljelyllä itsessään ei siis voida osoittaa onko tutkittava kanta patogeeninen, toksiinia tuottava kanta, mutta se on silti tärkeä väline epidemiologisiin tutkimuksiin sekä herkkyysmäärityksiin. Etenkin erityisen vakavat infektiot sekä infektioryppäät tulisi saada tyyhitettyä, hypervirulenttien kantojen havaitsemiseksi. Viljelyn avulla eristetyn kannan tyyppityksessä voidaan käyttää apuna monia menetelmiä, usein PCR- sekä elektroforeesimenetelmiin tukeutuvia tutkimuksia. (Hedman ym. 2010, 234.)

4.2 PCR-menetelmät

NAAT-menetelmiin kuuluva PCR (polymerase chain reaction) on nukleinihappoketjun eli DNA:n kopiointiin ja monistukseen perustuva laboratoriodiagnostiikan menetelmä. Mikrobi-diagnostiikassa menetelmällä pyritään monistamaan tietyn patogeenisen mikro-organismien perimää, jotta sen läsnäolo voidaan todeta näytteestä. PCR:llä pystytään osoittamaan nopeasti ja tehokkaasti hyvin pieninäkin pitoisuuksina esiintyviä mikro-organismeja. (McPherson & Møller 2005, 1, 263.) CDI-diagnostiikan kohdalla yleisimmin tutkittavia geenejä ovat mikrobin toksiinien *tcdB* ja *tcdA* tuottoon liittyvät geenialueet (Crobach ym. 2016, 64). PCR-menetelmässä käytetään monistettavan geenialueen merkkejä, joiden avulla

DNA-polymeraasi rakentaa uuden nukleinihappojuosteen templaatin mallin mukaisesti. Monistus tapahtuu syklejä toistamalla, jonka jälkeen hyvinkin pienestä näytemäärästä saadaan moninkertainen määrä haluttua DNA-lopputuotetta. (Suominen, Pärssinen, Haajanen & Pelkonen 2013, 153–168.)

RT-PCR (real time-PCR) -menetelmä erottuu perinteisestä menetelmästä siten, että monistuksessa syntyvän tuotteen määrää voidaan seurata reaaliaikaisesti. Tämä onnistuu leimaamalla monistuva DNA-juoste esimerkiksi fluoresoivalla merkkiaineella, jolloin sen signaali voimistuu sykleittäin indikoiden reaktiotuotteen määrän kasvua. RT-PCR on perinteistä PCR-menetelmää tehokkaampi, sillä monistuksen jälkeen lopputuotetta ei tarvitse jatkokäsitellä tai mitata. Tulos saadaan suoraan käytetyn leiman signaalin ylittäessä vastauksen kynnyksarvot. (Suominen ym. 2013, 153–168.) Nukleinihapon osoitusmenetelmien kehityksen myötä monet laboratoriot ovat ottaneet käyttöönsä CDI-diagnostiikassa hyödynnettäviä RT-PCR menetelmiä, mahdollistaen toksigeenisyyden osoituksen suoraan ulostenäytteestä. Tutkimukset ovatkin osoittaneet kehitettyjen PCR-menetelmien nostavan diagnostiikan herkkyyttä huomattavasti niitä edeltäviin entsyymi-immunomenetelmiin verraten. (Garcia & Isenberg 2010, 39.)

4.3 Entsyymi-immunologiset menetelmät (EIA)

Immunologiset menetelmät ovat biokemiallisia analyysseja, joilla pyritään osoittamaan vasta-aineen tai antigeenin läsnäolo näytteestä (Jorgensen 2015, 91). Menetelmät perustuvat vasta-aineen (ab) ja antigeenin (ag) väliseen spesifiseen reaktioon, jossa tunnistusalueiden välinen affiniteetti määrittää niiden välisen sitoutumisen voimakkuuden. Immunologisten parien käyttö mahdollistaa käsittelemättömien näytteiden analysoinnin laboratoriossa, sillä vasta-aineet eivät reagoi näytteen muun materiaalin kanssa. Korkea affiniteetti mahdollistaa EIA-analyysien matalat detektorajat, sillä sitoutumista tapahtuu pienissäkin pitoisuuksissa. (Manz, Pamme & Iossifidis 2004, 110–122.) EIA-menetelmiksi voidaan kutsua kaikkia immunologisia menetelmiä, jossa hyödynnetään entsyymileimoja. Entsyymileimoina voidaan käyttää mm. fluoresoivia tai kromogeenisiä entsyymejä, jotka reagoidessaan substraatin kanssa tuottavat mitattavan signaalin. (Jorgensen 2015, 92.)

EIA-menetelmistä *C. difficile*n yhteydessä yleisimmin käytettyjä ovat toksini A:n ja/tai B:n sekä glutamaattidehydrogenaasin osoitus suoraan ulosteesta. (Hirvonen & Kaukoranta 2015, 1005.) Ennen kuin ymmärrettiin kummankin toksinin omaavan merkitystä diagnostiikassa, kaupallisia EIA-testejä kehitettiin osoittamaan vain yhtä toksinia, usein *tcdA*:ta, testien nopeuden vuoksi. (Garcia & Isenberg 2010, 39.) Nykyisin on siirrytty kummankin toksinin yhtäaikaiseen testaukseen niiden kliinisen merkityksen vuoksi (Hedman ym. 2010, 234). Toksiinin osoitus EIA:t perustuvat suolistossa infektion aiheuttavan *C. difficile* -kannan tuottamien antigeenien suoraan osoitukseen, jolloin pyritään saamaan tieto aktiivisesta toksinin tuotosta eli patogeenisyydestä.

GDH:n osoituksella ei pystytä ottamaan kantaa kannan toksigeenisyyteen, sillä kaikki *C. difficile*n kannat erittävät korkeita pitoisuuksia tätä metabolista entsyymiä (Hirvonen & Kaukoranta 2015, 1005; Jorgensen 2015, 950). GDH:n osoittamiseen kehitetyt EIA:t ovat yleisesti käytössä osana organismin tunnistusta. GDH:n osoitusmenetelmä on itsessään hyvin herkkä, muttei tarpeeksi spesifinen *Clostridium difficile* suhteen, sillä muitakin GDH:ta tuottavia bakteereja tunnetaan. Sen takia GDH-antigeenin osoitusta suositellaan käytettävän enintään negatiivisena seulontamenetelmänä ulostenäytteille, jolloin *C. difficile* -infektio voitaisiin poissulkea GDH-negatiivisiksi osoittautuneista näytteistä. Seulonnassa GDH -positiiviset näytteet tulisi kuitenkin ohjata jatkotutkimuksiin *C. difficile*ä kohtaan spesifisellä, sekä kannan patogeenisyyden vahvistavalla menetelmällä, kuten toksinien osoituksella. (Garcia & Isenberg 2010, 39.)

Vaikka EIA-menetelmät ovat nopeita sekä yksinkertaisia suorittaa, osoittautuvat ne puutteellisiksi diagnostisen tarkkuuden suhteen (Hirvonen & Kaukoranta 2015, 1005). Nykyisten menetelmävertailuiden valossa pystytään kuitenkin osoittamaan EIA-testien analyttisen herkkyyden kehittyminen aikaisempiin tutkimuksiin verrattuna. Tämä johtuu suureksi osaksi vanhojen A-toksiinia osoittavien EIA-menetelmien korvautumisen uuden sukupolven menetelmillä, joissa on siirrytty kummankin toksinin osoitukseen. (Crobach ym. 2016, 64.)

4.4 Referenssimenetelmät

C. difficile -infektioiden diagnostiikassa on yleisesti hyväksytty kaksi ”kultastandardina” tunnettua referenssimenetelmää: sytotoksiinin neutralisaatiotesti (CCNA), sekä toksigeeninen viljely (TC). CCNA osoittaa näytteestä vapaan B-toksiinin, kun tarkastellaan ulostenäytteen sytopaattisia vaikutuksia soluviljelmällä. Viljelmässä odotetaan näkyvän solujen pyöritystä toksiinien vaikutuksesta. Spesifisyys tulee määrittää toksiinien vaikutusten neutraloimisella antitoksiinin avulla. TC-menetelmä taas osoittaa *in vitro* -oloissa toksigeeniä tuottavan *C. Difficile* -kannan. Menetelmässä ulostenäyte viljellään anaerobisesti selektiiviselle elatusaineelle, jonka jälkeen mahdollisesta kasvusta tutkitaan toksiinien tuotto esimerkiksi CCNA-testillä tai EIA-menetelmällä. (Crobach ym. 2016, 64.)

Näitä standardimenetelmiä käytetään yleisesti referensseinä menetelmävertailuja sekä verifiointia suorittaessa. Vertailua tehdessä tulee kuitenkin ottaa huomioon, että nämä kaksi menetelmää mittaavat lähtökohtaisesti eri asioita. TC-menetelmä ei niinkään ennusta infektiota, vaan osoittaa mikrobin kolonisaation. CCNA-menetelmä puolestaan osoittaa paremmin taudin, eli toksinia tuottavan kannan läsnäolon näytteessä. (Crobach ym. 2016, 64.)

5 VERTAILTAVAT MENETELMÄT

C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin toimivuutta arvioidessamme vertasimme potilasnäytteiden tuloksia Fimlab Laboratoriot Oy:n käyttämään PCR-menetelmään. Menetelmä on kaupallinen, Abbottin valmistama Altona RealStar C. difficile 2.0, joka perustuu RT-PCRT-tekniikkaan. Vertailtavat testit perustuvat eri analyysitekniikoihin, joista C. Diff Quik Chek Complete kuuluu EIA-menetelmiin ja Altona RealStar C. difficile 2.0 NAAT-menetelmiin.

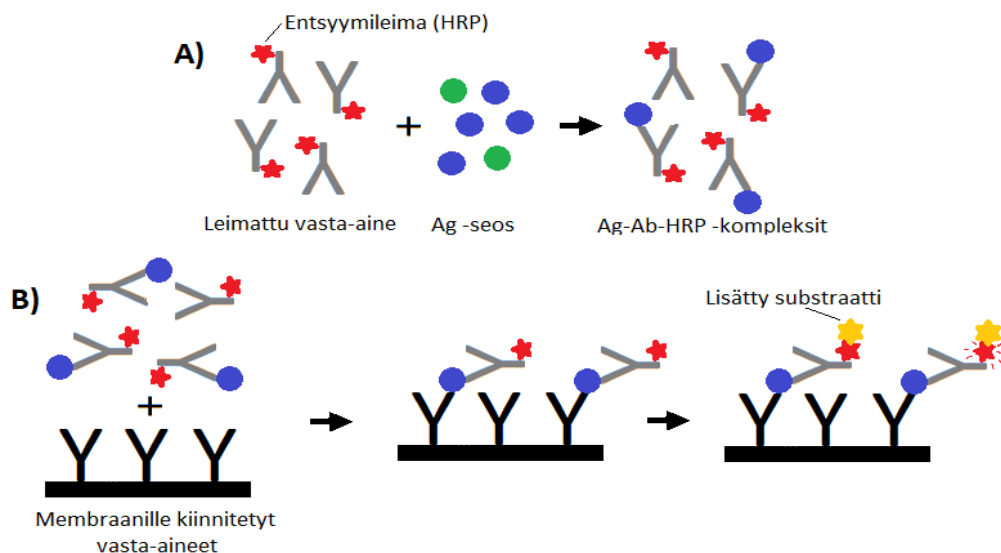
5.1 C. Diff Quik Chek Complete® -pikatesti

C. Diff Quik Chek Complete on Techlab yhtiön valmistama pikatesti, jonka tarkoituksena on GDH:n sekä tcdA:n ja tcdB:n samanaikainen osoitus ulostenäytteestä (Techlab 2016, 3). Tämä mahdollistaisi toksigeenisten Clostridium difficile -kantojen havaitsemisen potilailta, joiden potilashistoria ja oireet johtavat C. difficile -infektion epäilyyn. Pikatestiin kuuluu kaksi EIA-testiä, jotka mahdollistavat pikatestin käytön osana kumpaakin diagnostiikkasuosituksessa esiteltyä testausalgoritmia (Crobach ym. 2016, 76–77). Toinen testiviiva osoittaa näytteestä C. difficile:n tuottamaa antigeeniä, GDH:ta ja toinen sen tuottamia toksiineja. Techlabin mukaan antigeenin osoitus toimii seulana C. difficile:n läsnäolon havaitsemiseksi, kun taas toksiinien osoitus täydentää testiä osoittamalla toksigeeniset kannat näytteestä. Entsyymi-immunologisenä menetelmänä analyysi hyödyntää GDH:ta ja toksiineja A ja B kohtaan spesifisiä vasta-aineita, sekä entsyymileimana piparjuuriperoksidaasia (HRP; horseradish peroxidase). (Techlab 2016, 3.)

C. Diff Quik Chek Complete -pikatesti on rakennettu hyödyntämällä entsyymi-immunologista ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) -menetelmää, yhdistettynä testimembraaniin. Testi on siis rakenteeltaan hyvin yleisesti vieritestauksessa käytetty ”Lateral flow”-immunomenetelmä (Wild & John 2013, 3). Vieritestin membraani toimii näyteliuoksen matriisina. Näytekaivoon pipetoitu reaktioseos kulkee oikealta vasemmalle, ylittäen reaktioikkunan kaksi testiviivaa,

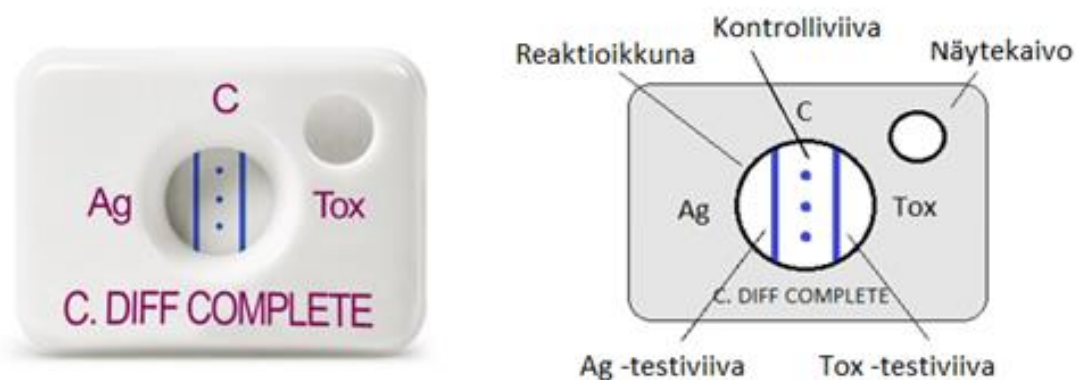
sekä niiden keskelle sijoittuvan kontrolliviivan. (Techlab 2016, 3.) Testimembraani on rakennettu muovisen testikasetin sisälle, mikä helpottaa ja ohjaa testin käyttöä mm. näytettä ja reagensseja pipetoidessa.

ELISA on heterogeeninen EIA-menetelmä, joka hyödyntää testauksessa kaksoisvasta-ainetekniikkaa (sandwich). Sandwich -tekniikassa käytetään kahta antigeenille spesifistä vasta-ainetta, jotka sitoutuvat spesifisesti tutkittavan antigeenin eri sitoutumiskohtiin. Menetelmässä primaarinen vasta-aine on kiinnitetty kiinteään faasiin ja entsyymileimalla leimattu sekundaarinen vasta-aine on vapaana rektioliuoksessa. (Wild & John 2013, 383.) C. Diff Quik Chek testissä kiinteänä faasina toimivalle membraanille on kiinnitetty tutkittavaa antigeeniä kohtaan spesifisiä vasta-aineita (Techlab 2016, 3). Kiinnitetyillä vasta-aineilla mahdollistetaan tutkittavien antigeenien sitoutuminen testiviivan kohdalle. Kuviossa 4 on havainnollistettu immunokompleksien muodostumista molekyylitasolla. Kuvasta käyvät ilmi reaktiot näytteen antigeeninen sekä konjugaatin ja membraanin vasta-aineiden välillä. Lisäksi nähdään kuinka suorituksen lopussa, kompleksien muodostuttua membraanille, saadaan HRP-entsyymileima aktivoitua substraatin lisäyksellä.



KUVIO 4. A) Leimatut immunokompleksit muodostuvat näytteen antigeenien ja konjugaatin sisältämien vasta-aineiden välillä. B) Leimatut immunokompleksit sitoutuvat testi-alueella membraanille kiinnitettyihin vasta-aineisiin. Substraatin lisäys johtaa entsyymi-leiman muodostamaan värireaktioon.

Sininen värireaktio Ag- ja Tox-testiviivoilla merkitsee positiivista testitulosta tutkitavan antigeenin suhteen. Kontrollipisteille muodostuu sininen värireaktio aina testin toimiessa, sillä konjugaatin sisältämä HRP tarttuu kontrolliviivan vasta-aineisiin samoin periaattein, kuin tutkittavat antigeenitkin. Testin eri osiot on esitelty kuvassa 1. Valmistajan mukaan testin havaitsemisrajat ovat A toksiinille 0.63 ng/ml, B-toksiinille 0.16 ng/ml ja GDH:lle 0.8 ng/ml. Tulos on aina kvalitatiivinen, eikä sen avulla voida tehdä päätelmiä pitoisuudesta. Lisäksi reaktion voimakkuuteen voi vaikuttaa muitakin tekijöitä, kuten antigeenia sitovat aineet näytteessä. Valmistaja ilmoittaa, että *Clostridium sordellii* oli ainoa testattu bakteeri, joka tuotti positiivisen reaktion toksiini osuudessa. Bakteerin jotkin kannat tuottavat toksiineja, jotka ovat immunologisesti *C. difficile*n toksiinien kaltaisia. (Techlab 2016, 5–8.)



KUVA 1. Vasemmalla kuva Techlabin C. Diff Quik Chek Complete -pikatestistä. Oikealla havainnollistus testin käyttöön liittyvistä osista

5.2 RealStar® *Clostridium difficile* PCR Kit 2.0

Fimlab Laboratoriot Oy käyttää diagnostiikassaan Altona yhtiön valmistamaa kaupallista RealStar *Clostridium Difficile* 2.0 PCR -testiä. Analyysi monistaa ja tunnistaa näytteestä A- ja B-toksigeenejä (*tcdA* & *tcdB*), osoittaen patogeeniset kannat potilaan ulostenäytteestä. Testi erittelee toksigeenit, sekä antaa kummankin geenin osalta monistuskäyrään perustuvan kvalitatiivisen tuloksen (POS/NEG). Lopullinen laboratoriotulos perustuu kuitenkin ainoastaan *tcdB*-geenin analyysin tulkintaan, sillä *tcdA*-analyysin tuloksella ei nähdä olevan kliinistä merkitystä. (Fimlab Laboratoriot Oy 2019.)

Näytteenä analyysissa käytetään FecalSwab-kuljetusputkessa laboratorioon saapuneita näytteitä sekä tuoreulostetta, joka siirretään laboratoriossa TE- tai PBS-liuosta sisältävään Falcon-putkeen. RealStar Clostridium Difficile 2.0 PCR testin suoritusta varten tulee laboratoriossa olla yleisten laboratoriovälineiden lisäksi käytössä testille soveltuva rt-PCR-laite sekä nukleiinihappojen eristykseen käytettävä menetelmä. Testipaketti sisältää tarvittavat Master mix -reagenssit (Master A & Master B), testikohtaisen sisäisen kontrollin, testisarjakohtaisen positiivisen kontrollin sekä analyysissa käytettävän PCR-menetelmiin sopivan veden. Näytesarjaan kuuluva positiivinen kontrolli osoittaa menetelmän toimivuuden sekä onnistuneen testauksen. Näytteen sisäinen kontrolli puolestaan osoittaa näytekohtaiset häiriöt, kuten liiallisen näytemäärän herkästi aiheuttaman PCR-inhibition. Lisäksi laboratoriossa voidaan käyttää negatiivista kontrollia, jossa ajettava näyte sisältää pelkästään näytteen esikäsittelyssä käytettävää TE- tai PBS-liuosta. (Fimlab Laboratoriot Oy 2019; Altona Diagnostics 2019.)

Ennen rt-PCR testausta näytteistä suoritetaan nukleiinihapon eristys, jossa näytteen sisältämä DNA vapautetaan solurakenteiden sisältä. Eristyksen jälkeen PCR-menetelmässä käytettävät alukkeet pääsevät sitoutumaan vapaana olevaan *C. difficile* perimään ja DNA:n monistus on mahdollista. RealStar Clostridium Difficile 2.0 PCR menetelmä hyödyntää kahta toksigeeneille spesifistä koetinta, jotka sisältävät rt-PCR menetelmälle ominaisen fluoresoivan leiman. TcdA- ja tcdB-toksigeenien testaus erotetaan käyttämällä koettimissa kahta eri leimaa, jolloin fluoresoivat signaalit mitataan toisistaan riippumattomasti. Positiivisessa näytteessä koetin sitoutuu reaktion edetessä monistuvaan kohde-DNA:han ja leiman fluoresenssia mittaamalla saadaan nouseva monistuskäyrä. (Altona Diagnostics 2019.)

6 AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET

C. Diff Quik Chek Complete pikatestin tuomaa diagnostista arvoa on tutkittu useaan otteeseen. Esimerkiksi vuonna 2012 julkaistussa raportissa ”A two-stage algorithm for Clostridium difficile including PCR: can we replace the toxin EIA?” Orendi, J., Monnery, D., Manzoor, S. ja Hawkey, P. selvittivät, miten kaksivaiheisen algoritmin käyttö vaikutti C. difficile-infektioiden diagnostiikkaan. Tutkimuksessa Iso-Britannian opetussairaalassa oli aiemmin käytössä vain toksiiini A/B EIA-menetelmä, mutta huonon sensitiivisyyden vuoksi tutkittiin kolmen testin kaksivaiheista algoritmia (GDH, toksiiini, toksiinigeeni). Tutkimuksessa oli mukana kaikki näytteet, jotka olivat tulleet C. difficile tutkimuksiin välillä 1.11.2010-30.04.2011, ulkopuolelle rajattiin näytteet, joissa oli todettu patogeeninen C. difficile 28 päivän sisällä. Näytteet tutkittiin C. Diff Quik Chek Complete testillä saapumispäivänä.

Pikatestin ollessa yhdenmukainen, eli GDH positiivinen ja toksiiini positiivinen, testi vastattiin todennäköisenä CDI:nä. Näytteet, joista tulos ei ollut yhdenmukainen vastattiin mahdollisena CDI:nä, korostettiin kliinisen kuvan merkitystä ja ohjattiin jatkotutkimukseen. Nämä näytteet analysoitiin PCR-menetelmällä (GeneOhm PCR, BD Diagnostics) toksiiini B-geenin osalta. PCR:ssä positiiviset vastattiin toksigeenisena C. difficilenä ja mahdollisena CDI:nä. Kokonaisuudessaan 3053 ulostenäytettä analysoitiin. Yhdenmukaisia tuloksia, joko negatiivisia tai positiivisia, saatiin 91.3 % näytteistä. Jatkotutkimukseen ohjatuista 8.7 % PCR:n perusteella toksigeenisia oli 59 %. Pohdinnassa tuodaan esille, että pikatestin käyttöönotto nopeutti eristystoimien ja hoidon aloitusta. Vaikka PCR:llä saadaan varmemmin kiinni toksigeeninen C. difficile, pikatestin oletetaan olevan spesifimpi kliinisesti merkityksellistä C. difficile -infektiota kohtaan, jossa toksiinipitoisuus on havaitsemisrajan yläpuolella. Kolmen testin algoritmin eduksi luetaan myös se, että sillä voidaan erottaa ne potilaat, joilla on toksigeeninen kanta, mutta toksiinintuotto puuttuu tai on vähäistä.

Toisessa tutkimuksessa (Evaluation of C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE test for the diagnosis of Clostridium difficile infection. 2013) Kim, H., Kim, W., Kim, M., Jeong, S. ja Lee, K testasivat 595 löysää ulostetta, joissa epäiltiin C. difficileä

elokuun ja joulukuun välillä vuonna 2012. Tutkimuksen tarkoitus oli arvioida pikatestin toimivuutta alustavassa seulonnassa. Vertailussa C. Diff Quik Chek Complete testin lisäksi käytettiin VIDAS Clostridium difficile A&B testiä (VIDAS CDAB; bioMérieux). Lisäksi suoritettiin ulosteviljelyitä selektiiviselle maljalle (CDSA; Becton, Dickinson and Company). Lajitunnistus suoritettiin ATB 32A:lla (bioMérieux) ja toksigeeniset kannat tunnistettiin PCR-menetelmällä. Ne näytteet, jotka olivat CD COMPLETE tai VIDAS CDAB positiivisia, mutta viljelyssä negatiivisia, rikastettiin TCC-liemessä ja viljeltiin TCC agarille.

Tutkimuksessa Kim ym. totesivat C. Diff Quik Chek Complete testistä, että sen katsotaan olevan luotettava menetelmä CDI:n diagnostiikassa ja parantaa sensitiivisyyttä pelkkään EIA:an verrattuna. Lisäksi päätelmäosuudessa tuotiin esille, että C. Diff Quik Chek Complete helpottaa C. difficilen löytymistä verrattuna pelkkään viljelyyn. Tutkimuksessa pikatestissä positiivisista, viljelyssä negatiivisista 47.5 % osoittautui rikastamisprotokollan jälkeen C. difficilen kannalta positiiviseksi.

Swindells, J. Brenwald, N., Reading, N. ja Oppenheim, B julkaisivat 2010 tutkimuksensa, jossa he vertailivat eri menetelmien ominaisuuksia (Evaluation of Diagnostic Tests for Clostridium difficile Infection). Testejä suoritettiin 150 ulostenäytteestä joulukuusta 2008 tammikuulle 2009. Kaikille näytteille tehtiin neljä testiä, jotka olivat VIDAS Clostridium difficile A&B testiä (VIDAS CDAB; bioMérieux), GeneOhm PCR (BD Diagnostics), Xpert C. difficile PCR (Cepheid) ja C. Diff Quik Chek Complete (Techlab). C. difficile viljelyistä 19 oli positiivisia, näistä kaikki olivat positiivisia myös C. Diff Quik Chek Complete testin GDH osuudessa. Toksiiniosuuden sensitiivisyydeksi tuli tutkimuksessa 73.3 %.

Swindells ym. pitivät C. Diff Quik Chek Complete testiä GDH osuuden kannalta hyvin luotettavana ja sen katsotaan sopivan C. difficile infektion poissulkuun ja alustavaksi seulontatestiksi. C. Diff Quik Chek Complete testin hyväksi puoleksi katsotaan myös nopea tuloksen saatavuus. Tutkimuksessa kannatetaan kahden menetelmän algoritmia diagnostiikassa, jossa C. Diff Quik Chek Complete testillä GDH positiiviset, toksiini negatiiviset tutkittaisiin myös PCR-menetelmällä. GDH negatiivisten osalta C. difficile voitaisiin sulkea pois, näitä tutkimuksen otannasta oli 85.3 %.

7 VIERITESTAUS

Parhaimmillaan vieritestaus tarjoaa etuja, kuten nopean vastauksen. Jos testin tulos tukee kliinistä tutkimusta, hoitopäätösten tekemistä saadaan nopeutettua. Tämä saattaa parhaimmillaan parantaa hoidon tasoa ja lyhentää sairaalassaolo-aikaa. Lisäksi monet vierilaitteet vaativat suhteellisen vähän koulutusta ja ovat melko helppoja käyttää. Toisaalta vierilaitteiden käyttöön liittyy ongelmia esimerkiksi laitteiden huollon ja kalibroinnin osalta, nämä seikat tulee ottaa huomioon aina kun uuden vierilaitteen käyttöönottoa punnitaan. Vierilaitteiden käyttö on lisääntynyt huomattavasti ja testejä suorittavat monet terveydenhuollon ammattiryhmät, joissain tilanteissa myös potilas itse voi suorittaa vieritestauksen. (Boyd & Woolley 2016.)

Vieritestauksen laadun kannalta oleellisten toimenpiteiden, kuten kontrolloinnin ja tulosten kirjauksen tärkeyttä tulee korostaa ja riittävän perehdytyksen ja koulutuksen saannista huolehtia. Vieritestauksen kulutehokkuus tulee myös aina punnita toimipaikkakohtaisesti. Testikittien hinta nousee usein laboratoriotestauksen yläpuolelle, mutta vieritestauksen suorittaa yleensä taho, jonka hyödyntäminen ei luo lisäkustannuksia. Tutkimusten lähettäminen laboratorioon on maksullista, mutta toisaalta kuluja syntyy myös tarvikkeiden ja laitteiden ylläpidosta, henkilökunnan kouluttamisesta, sekä laadunvalvonnasta. Testien suorittamisen yleistyttyä monen ammattiryhmän työtehtäväksi, koulutus ja perehdytys on noussut erittäin tärkeään rooliin. Työntekijät, joilla ei ole laboratorioalan koulutusta, ovat alttiimpia analyysivaiheen virheille. (Florkowski ym. 2017; Pitt 2018, 3.)

7.1 Laatu

Labquality julkaisi vuonna 2018 päivitetyn vieritestisuosituksen, edellinen oli vuodelta 2009. Vieritestisuositus on tarkoitettu vieritestausta suorittavien ammattilaisen hyödynnettäväksi, mutta sitä voidaan hyödyntää myös omatestauksessa, eli potilaan itse suorittamassa vieritestauksessa. Suosituksen on koontanut asiantuntijaryhmä. Suosituksessa vieritesti määritellään testiksi, joka tehdään laboratorion ulkopuolella ja jolla on välitön vaikutus potilaan hoitoon. Testien virhetekijät

tulee kuitenkin tuntea ja tulosten tulisi olla jäljitettävissä. (Vieritestisuositus 2018, 1.1.) Laadunhallinnan perustana toimii kirjallinen ohjeistus.

Laadunhallinnan osia ovat esimerkiksi osaava henkilökunta, kontrolloinnit, tulosten jäljitettävyys ja testien tarkoituksenmukainen valinta. Laadunvarmistus jaetaan usein ulkoiseen ja sisäiseen osa-alueeseen. Sisäisellä laadunvarmistuksella varmistetaan, että tulokset yksikön sisällä ovat ajasta ja testin suorittajasta riippumatta vertailtavat keskenään. Ulkoinen laadunvarmistus vertaa tuloksia muiden yksiköiden tuloksiin samalla testillä. Ulkoinen laadunarviointi on täydentävä toimi, joka ei korvaa sisäistä laadunohjausta. Hoitoyksiköiden apuna ulkoisessa laadunarvioinnissa toimii tarvittaessa tukilaboratorio. Mikrobiologian toimiluvalla toimivien yksiköiden on osallistuttava laadunarvioinnin ulkoisille kierroksille vähintään neljä kertaa vuodessa, sen mukaan paljonko palveluntarjoajat kierroksia järjestävät. (Vieritestisuositus 2018, 2.1.)

7.2 Vieritestit mikrobiologialla

Mikrobiologiset vieritutkimukset perustuvat yleensä mikrobin läsnäolon varmentamiseen, joko havaitsemalla jokin sen osa, tai kehon tuottamat vasta-aineet. Esimerkkejä käytössä olevista mikrobiologisista vieritesteistä on Labqualityn vieritestisuosituksen mukaan nielun streptokokki A-antigeenin, influenssa A- ja B-antigeenien, RSV-antigeenin, sekä adenoviruksen antigeenin osoitustesti. Suosituksessa nostetaan esille, että testaus vaatii erityisjärjestelyä, sekä osaamista, joten testaus hoitoyksikössä on hankalaa toteuttaa, vaikka tartuntatautilaki sallii-kin sen valvontasopimuksen omaaville yksiköille. Mikrobiologisten pikatestien käyttöönoton syy on usein nopeamman vastauksen saaminen, vaikka testien tulokset ovat laboratoriodiagnostiikkaa epäluotettavampia, eikä testaukseen käytettävät kulut välttämättä pienene. Kun testin käyttöönottoa harkitaan, tulee ottaa huomioon kunkin toimintayksikön tarpeet ja lähtökohdat testien suorittamiseen. (Vieritestisuositus 2018, 1.2.)

7.3 Testauksen luvanvaraisuus ja valvonta

Vieritestausta ohjaavat muun muassa tartuntatautilaki, sekä laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista. Tartuntatautilaissa (1227/2016) määritellään mikrobiologisten potilasnäytteiden testaamisen luvanvaraisuus, toimiluvan myöntää aluehallintovirasto Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen lausunnon perusteella. Diagnostisia testejä saavat tehdä ainoastaan laboratoriot, joille on myönnetty toimilupa tai toimintayksiköt, joita valvoo toimiluvan omaava laboratorio. Toimintayksikön tulee laatia kirjallinen valvontasopimus toimiluvallisen laboratorion kanssa, jos yksikössä suoritetaan pikatestausta, toiminnasta on tehtävä ilmoitus aluehallintovirastolle. Ilmoitus tehdään valvovan laboratorion toimesta. Toimilupamenettelyllä varmistetaan, että mikrobiologian diagnostiikkaa suoritetaan Suomessa ammattitaitoisen henkilökunnan toimesta mahdollisimman laadukkaasti. (THL 2017; THL 2019b; Tartuntatautilaki 1227/2016.)

Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista (692/2010) ylläpitää ja edistää laitteiden käyttöä, sekä velvoittaa laitteiden käyttöön turvallisesti. Vastuuhenkilö on nimettävä valvomaan, että lakia, määräyksiä ja säännöksiä noudatetaan laitteiden käytössä. Laissa veloitetaan noudattamaan valmistajan antamia tietoja ja käyttöohjeita, joissa määritetään esimerkiksi laitteiden huoltoon, kalibrointiin ja ylläpitoon liittyviä seikkoja.

Laissa (629/2010) säädetään myös vaatimuksista, joiden mukaan käyttäjillä tulee olla riittävä koulutus ja heidän tulee tutustua valmistajan ohjeistukseen ennen laitteen käyttöä. Laitteiden käytössä tulee myös olla käytössä seurantajärjestelmä, josta selviää laitteiden ylläpitoon liittyvät toimenpiteet, sekä mahdollisiin vaaratilanteisiin tai laitevirheisiin liittyvät tiedot. Seurantajärjestelmään kerättävät henkilötiedot on pidettävä salassa ja niitä saa luovuttaa ainoastaan Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirastolle, jos tiedot ovat tarpeellisia laitteen turvallisuuden varmistamiseksi. Vaaratilanteet, jotka ovat johtuneet laitteessa olevasta viasta tai puutteesta, tulee ilmoittaa myös valmistajalle. (Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista (629/2010); Vieritestisuositus 2018, 1.3.)

8 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Tämä opinnäytetyö on kvantitatiivinen kokeellinen tutkimus, jossa keräsimme dataa analysoimalla ulostenäytteitä pikatestillä. Kokeellisen tutkimuksen tarkoitus on tehdä systemaattista ja kontrolloitua havainnointia (Anttila 2005, 270). Tuloksia verrataan PCR-menetelmällä saatuihin tuloksiin. Kokeellinen suoritus, sekä kvantitatiivinen tulosten arviointi on puolueeton menetelmä arvioida vieritestin toimivuutta. Soveltuvien osien hyödynnämme myös pohdintaa, joka muodostaa opinnäytetyön kvalitatiivisen osuuden. Arvioinnissa käytämme apuna taulukoita, jotka tuovat esille tekemiämme havaintoja.

Perusjoukon tutkimuksessa muodostavat näytteet, jotka on lähetetty F- CldTNhO läheteellä mikrobiologian laboratorioon. Otoksen muodosti 62 ulostenäytettä, joissa varioi näytetyyppi. Otoksista sisällä on 37kpl positiivisia ja negatiivisia 25kpl näytteitä. Valmistajan ohjeistuksessa suositettiin mahdollisimman tuoretta ulostetta, mutta käytännön syistä käytimme myös pakastettuja näytteitä. Analysoimme lisäksi näytteitä, jotka oli toimitettu laboratorioon COPAN Diagnostics Inc. FecalSwab® putkessa. Toimimme näin, koska laboratorioon tulee huomattavasti enemmän *Clostridium difficile* epäilyjen näytteitä kuljetusputkessa, kuin tuoreulosteena.

8.1 Diagnostisen testin arviointi

Diagnostisen testin luotettavuutta arvioidaan testin kyvyllä erottaa terveet ja sairastoisista. Tulokset ilmoitetaan prosentteina ja referenssinä toimii vertailumenetelmä, tässä tutkimuksessa PCR. Koska herkkyys lasketaan sairaiden ryhmässä ja tarkkuus terveiden ryhmässä, tulokset eivät riipu sairauden yleisyydestä. Testien käytännön soveltuvuuden arviointiin käytetään positiivista ja negatiivista ennustearvoa. Ennustearvojen laskemisessa suhteutetaan terveitä ja sairaita keskenään, joten nämä arvot ovat riippuvaisia myös sairauden yleisyydestä otoksessa. Sensitiivisyys ja spesifisyys eivät yksinään riitä testin arviointiin. Kun testin sensitiivisyys lisääntyy, sen spesifisyys heikentyy, eli se antaa enemmän vääriä positiivisia. (Uhari & Nieminen 2012, 47–48.)

Sensitiivisyys eli herkkyys kuvastaa testin kykyä tunnistaa sairaus ja se kertoo tautia sairastavien potilaiden osuuden, joille laboratoriotesti osoittaa positiivisen tuloksen. Herkkyys saadaan laskettua kaavan (1) mukaisesti.

$$\text{Sensitiivisyys} = \frac{\text{Oikeat positiiviset (lkm)}}{\text{Oikeat positiiviset} + \text{Väärät negatiiviset (lkm)}} \quad (1)$$

Spesifisyys eli testin tarkkuus kuvastaa testin kykyä tunnistaa terveiden potilaiden osuutta, joille laboratoriotesti osoittaa negatiivisen tuloksen. Tarkkuus saadaan laskettua kaavan (2) mukaisesti.

$$\text{Spesifisyys} = \frac{\text{Oikeat negatiiviset (lkm)}}{\text{Oikeat negatiiviset} + \text{Väärät positiiviset (lkm)}} \quad (2)$$

Testin positiivinen ennustearvo kertoo testillä positiivisiksi osoittautuneiden sairaiden osuuden kaikista testin positiivisista tuloksista. Tämä kuvastaa todennäköisyyttä, jolla positiivisen testituloksen jälkeen todetaan sairaus. Positiivinen ennustearvo voidaan laskea kaavan (3) avulla.

$$\text{Positiivinen ennustearvo} = \frac{\text{Oikeat positiiviset (lkm)}}{\text{Oikeat positiiviset} + \text{Väärät positiiviset (lkm)}} \quad (3)$$

Negatiivinen ennustearvo puolestaan kertoo testillä negatiivisen tuloksen saaneiden terveiden potilaiden osuuden kaikista testin negatiivisista tuloksista. Tämä kuvastaa todennäköisyyttä, jolla todetaan potilas terveeksi negatiivisen testituloksen jälkeen. Negatiivinen ennustearvo voidaan laskea kaavan (4) avulla.

$$\text{Negatiivinen ennustearvo} = \frac{\text{Oikeat negatiiviset (lkm)}}{\text{Oikeat negatiiviset} + \text{Väärät negatiiviset (lkm)}} \quad (4)$$

Testiä arvioidessa kliinisen herkkyuden ja spesifisyyden arvojen sekä ennustearvojen tulisi asettua mahdollisimman lähelle arvoa yksi, joka kuvastaa 100 %. (Burtis, Bruns, Sawyer & Tietz 2015, 32–35; Niemelä & Pulkki 2010, 41 – 44.)

8.2 Taulukot ja kuviot osana tutkimusta

Taulukoiden ja kuvioiden tarkoitus on parantaa luettavuutta ja ymmärrettävyyttä. Kuvio on mikä tahansa muu havainnollistamisen keino kuin taulukko. (Hirsjärvi 2014, 328.) Taulukko soveltuu hyvin, jos esiteltävä tieto on numeerista ja sitä on runsaasti. Kuvion avulla voidaan painottaa tietoa, sen ominaisuuksia ja havainnollistaa. Kun numeerisia tuloksia esitetään graafisesti, esitystavan valinnassa tulee olla huolellinen, jotta lukijalle ei jää virheellistä mielikuvaa. (Vilkkä 2007, 135–138.)

SWOT, eli nelikenttäanalyysi on laajalti käytetty analyysimenetelmä, jolla saadaan tehokkaasti ja monipuolisesti arvioitua tutkittavaa kohdetta. SWOT-analyysi tarjoaa valmiin kehyksen, jonka päälle pohdintaa voidaan rakentaa. Mallin suurimpana etuna pidetään sen yksinkertaisuutta. SWOT-analyysi on usein jaettu ulkoisiin ja sisäisiin tekijöihin. Ulkoiset tekijät liittyvät toimintaympäristöön, eikä niitä voida muuttaa. Sisäisiin tekijöihin lukeutuvat usein elementit, joihin voidaan vaikuttaa tai joita voidaan muuttaa. Malli mahdollistaa toiminnan tai tuotteen kehittämisen rajauksen valossa. Analyysin tarkoituksen ja taustan perusteella, voidaan jako ulkoisiin ja sisäisiin tekijöihin jättää myös tekemättä, kuten taulukossa 1 on tehty. (Speth & Probert 2015, 4–6.)

TAULUKKO 1. Esimerkki SWOT-analyysin jaottelusta. (Speth & Probert 2015, 5–6.)

Vahvuudet (Strengths) Tekijät tai rakenteet, joilla on positiivinen vaikutus käsiteltävään tuotteeseen tai toimintaan.	Heikkoudet (Weaknesses) Tekijät tai rakenteet, joilla on negatiivinen vaikutus käsiteltävään tuotteeseen tai toimintaan.
Mahdollisuudet (Opportunities) Tuotteen tai toiminnan mahdolliset hyödyt ja positiivinen vaikutus.	Uhat (Threats) Tuotteen tai toiminnan mahdolliset haitat ja negatiivinen vaikutus.

SWOT-analyysissä on muistettava, että sisältö perustuu subjektiiviseen arvioon, jonka formaatti jakaa loogiseen järjestykseen. Vaikka mallista mahdollista saada nopea yleiskuva käsiteltävästä asiasta, se on usein vajavainen. (Speth & Probert 2015, 10.)

9 OPINNÄYTETYÖN SUORITUS

Saimme opinnäytetyömme aiheen Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian yksiköltä maaliskuussa 2019, jonka jälkeen aloimme työstää opinnäytetyöprosessin työvaiheita. Opinnäytetyösuunnitelmamme valmistui toukokuussa 2019, jolloin myös allekirjoitimme valmistelemamme opinnäytetyön sopimuksen. Tämän jälkeen aloitimme kirjallisen osuuden työstämisen perehtymällä aiheemme teoreettiseen viitekehykseen ja siirtyen teoriaosuuden kirjoitukseen. Syksyllä 2019 vierailimme mikrobiologian yksikössä tutustuen laboratorion tiloihin ja toimintaan opinnäytetyömme aiheen osalta. Talven 2019–2020 aikana suoritimme käytännön työn osuuden analysoiden potilasnäytteet laboratoriossa C. Diff Quik Chek Complete -pikatesteillä. Kirjasimme koestuksessa saamamme tulokset taulukoon, sekä kokosimme SWOT-analyysiimme näkemyksiä, sekä käyttökokemuksia testauksen ohella. Näytteiden testauksen jälkeen siirryimme kevään 2020 aikana tulosten analysointiin sekä opinnäytetyömme kirjallisen osuuden toteuttamiseen.

9.1 Kokeellisen osuuden suoritus

Suoritimme näytteiden analysoinnin C. Diff Quik Chek Complete -pikatesteillä mikrobiologian ulostelaboratoriossa ajalla 30.10 – 9.12.2019. Analysoimme näytteet erissä, sillä halusimme minimoida suuren näytemäärän samanaikaisen käsittelyn myötä syntyvät riskit. Jokaisen erän kohdalla suoritimme analysoinnin noudattaen samoja työtapoja, työskennellen samoissa tiloissa sekä samanlaisia työvälineitä käyttäen. Siirsimme jokaisen analysointikerran yhteydessä analysoidtavat näytteet, reagenssit sekä tarvittavan määrän testikasetteja huoneenlämpöön noin 0,5–1,0 tuntia ennen analysointia. Pakastetut näytteet sulatimme valmistajan ohjeiden mukaisesti, siirtäen ne huonelämpöön noin tunti ennen analysointia. (Techlab 2016, 4.) Siirsimme reagenssit sekä mahdolliset käyttämättä jääneet kasetit heti analysoinnin jälkeen jääkaappilämpötilaan säilytykseen.

Aloitimme analysoinnin pakastetuista näytteistä, joita oli kerätty kesän 2019 aikana käyttöömmme. Valikoimme pakastettuja, sekä tuoreita näytteitä siten, että

saimme mahdollisimman kattavan otannan eri näytemuodoista, sekä vertailutuloksia niin positiivisista kuin negatiivisistakin näytteistä. Näytteisiin oli keräysvaiheessa merkitty laboratorion käyttämän Altona RealStar -analyysin perusteella positiiviseksi osoittautuneet näytteet.

Analysoimme pakastettuja näytteitä 19 kappaletta, jonka jälkeen siirryimme tuoreisiin näytteisiin, ajatuksena mahdollinen testin tulosten tarkkuuden parantuminen tuoreemmilla näytteillä. Analysoimme 21 kpl tuoreita, alle 7 vrk vanhoja purkki- sekä FecalSwab-näytteitä, sekä 19 kpl alle 72 tuntia vanhoja tuoreinäytteitä. C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin näytemateriaaliksi suositellaankin mahdollisimman tuoretta näytettä. Suositelluin näytemateriaali on valmistajan mukaan välittömästi analysoitu, alle 24 tuntia vanha löysä ulostenäyte (Techlab 2016, 4). Tuoreimmat jääkaappilämpötilassa säilytettävät näytteet analysoitiin pienemmissä erissä sitä mukaan, kuin niitä saapui laboratorioon. Näytteen säilytysaikaa arvioimme näytteisiin kiinnitetyistä tutkimuspyyntötarroista, jossa nimeetään näytteenottopäivämäärä sekä -aika.

Näytteiden testaukseen tarvittavat välineet saimme käyttöömmme mikrobiologian yksikön tarjoamana, pois lukien testauksessa käytettyjä pipettejä, jotka sisältyivät valmistajan testipakettiin. Testauksessa käyttämiimme työvälineisiin ja laitteisiin kuuluivat: vetokaappi, Vortex-sekoitin, ajastin, suojakäsineet, Eppendorf-putket, näytetikut sekä putkitelineet. F- CldTNhO tutkimuspyynnön ulostenäytteet otetaan laboratorion ohjeiden mukaisesti, joko kierrekorkilliseen ulostepurkkiin tai FecalSwab-kuljetusputkeen.

Suuri osa analysoimistamme näytteistä, olivat saapuneet laboratorioon FecalSwab-kuljetusputkessa. FecalSwab-putki on COPAN Diagnostics -yhtiön valmistama näyteputki, joka sisältää mikrobiologisille näytteille sopivan kuljetusmediumin. Putki on kehitetty ulostenäytteiden säilytystä ja kuljetusta varten. FecalSwab-putken kuljetusmediumi sisältää kloridi- ja natriumsuoloja, fosfaattipuskurin, L-kysteiiniä, agaria sekä tislattua vettä. (COPAN Diagnostics Inc. 2016, 2.) C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin valmistajan mukaan näytemateriaaliksi sopivat vastaavanlaiseseen kuljetusaineeseen otetut näytteet, sekä näytepurkissa säilytetyt näytteet. (Techlab 2016, 4.)

Näyte pipetoidaan eppendorf-putkeen, johon lisätään testin reagensseihin kuuluva konjugaatti, sekä laimennosliuos. Konjugaatti sisältää GDH:lle sekä A ja B toksiineille spesifisiä HRP:llä leimattuja vasta-aineita, jotka sitoutuvat näytteen antigeeneihin. Kun laimennettu näyte-konjugaatti-liuos pipetoidaan näytekaivoon inkuboitumaan, positiivisessa näytteessä vapaana oleva GDH, tcdA ja tcdB sitoutuvat niille spesifisiin leimattuihin vasta-aineisiin. Muodostuneet antigeeni – vasta-aine – HRP-kompleksit kulkevat suodattimen läpi membraanille, jossa ne vaeltaessaan kiinnittyvät antigeeni osastaan membraanin testiviivoille kiinnitettyihin vasta-aineisiin. Näytteen kuljettua membraanin läpi, reaktioikkuna pestään ”Wash Buffer”-liuoksella ylimääräisten vasta-aineiden poistamiseksi. Tämän jälkeen näyteikkunaan lisätään substraattiliuos. Substraattina käytettävä tetrameyylibentsidiini hapettaa reaktioikkunan testiviivoihin kiinnittyneiden kompleksien HRP-molekyylin, jonka seurauksena muodostuu silmin havaittava sininen värireaktio. (Techlab 2016, 3, 5.)

C. Diff Quik Chek testissä kiinteänä faasina toimivalle membraanille on kiinnitetty, jokaista tutkittavaa antigeeniä kohtaan spesifisiä vasta-aineita. Antigeenin testiiviiva (”Ag”) sisältää GDH:lle, kontrolli -viiva (”C”) piparjuuriperoksidaasille (HRP) ja toksiini A & B testiiviiva (”Tox”) toksiineille spesifisiä vasta-aineita. Testin tulkinta on luotettavin, kun tulos luetaan heti ohjeiden mukaisen 10 minuutin reaktioajan jälkeen. Tulokset tulisi lukea hyvässä valaistuksessa ja himmeäkin sininen viiva reaktiokohdassa tulkitaan positiiviseksi. Myös osittainen viiva tulkitaan positiiviseksi reaktioksi, kuten kuvan 2 Ag-reaktiossa. (Techlab 2016, 5.)



KUVA 2. Osittainen hento sininen viiva muodostuu Ag puolelle. Kontrolli on positiivinen, joten tulos voidaan tulkita GDH:n suhteen positiiviseksi.

9.2 Kirjaus ja taulukointi

Tulokset suoritetuista testeistä kirjattiin näytenumeroa tunnisteena käyttäen ensin suorituspaikassa vihkoon, josta ne siirrettiin yhteiseen Excel-tiedostoon. Näytenuumeron käyttäminen mahdollisti sen, että pystyimme tarvittaessa palaamaan tuloksiin ja yhdistämään pikatestin tulokset PCR:llä saatuihin tuloksiin. Emme keränneet tietoja potilaista, joiden näytteet olivat kyseessä. Myös testikasetit identifioitiin näytenumeroilla, jonka avulla yhdistimme testitulokset testikaseteista otettuihin kuviin. Kasettien identifiointi mahdollisti myös testien uusimisen, mikäli sille ilmeni tarvetta. Jaoimme tulostaulukon neljään osioon, joihin kirjattiin näytekohtaiset tulokset Ag-, Tox- ja kontrolliosuuksista, sekä PCR:n tulos. Mahdollisena riskinä pidimme näytenuumerojen sekoittumista keskenään, joka mahdollisesti johtaisi pikatestitulosten yhdistämisen väärään PCR-tulokseen. Tätä virhelähdettä yritimme estää huolellisen työskentelyn lisäksi pienillä näytesarjoilla, kirjausten tarkistuksilla ja Excel-taulukon värikoodaamisella, joka helpotti myös myöhemmin tapahtuvaa testitulosten tarkastelua.

Tunnusarvojen laskeminen tapahtui kappaleessa 8.1 esiteltujen kaavojen mukaisesti. Aloitimme siten, että jaottelimme tulokset oikeisiin positiivisiin ja negatiivisiin, sekä väriin positiivisiin ja negatiivisiin. Nämä ryhmät jaettiin lisäksi näytemuodon mukaisesti neljään ryhmään. Laskimme tunnusarvot Ag- ja Tox-osuuksille erikseen, sillä testit mittaavat käytännön tasolla eri asioita, jolloin niiden tunnusarvot voivat erota keskenään. Näytteiden pienen kokonaismäärän vuoksi huomasimme nopeasti, että tunnusarvot ovat epäluotettava tapa arvioida tuloksia. Pienen otannan tunnusarvot eivät kuvaa luotettavasti todellista suorituskykyä, joten päädyimme painottamaan kokonaisotannan sekä suurimman otannan tuloksia, ryhmäkohtaisen analysoinnin sijasta. Koestuksen otannasta suuri osa oli FecalSwab -näytteitä, jolloin muiden näyteryhmien otannat jäivät hyvin pieniksi. Siten mm. pakastettujen FecalSwab- näytteiden joukolle ei voitu laskea ollenkaan negatiivista ennustearvoa, sillä otannassa ei ollut yhtäkään negatiivista näytettä.

Tunnusarvojen kanssa ilmenneiden ongelmien vuoksi, vaihdoimme tulosten esitystavan kuvioihin ja kaavioihin, jotta voisimme esittää tulokset luotettavammalla

tavalla. Muodostimme tuloksista taulukoiden avulla havainnollistavia pylväsdiagrammeja sekä päädyimme avaamaan tuloksia myös sanallisessa muodossa.

SWOT-analyysin rakentaminen aloitettiin tutustuttuamme valmistajan ohjeisiin. Keräsimme yhteiseen Word-tiedostoon kokemuksiamme ja ajatuksiamme testistä ja sen suorituksesta. Taulukot jaettiin alkuperäisten tutkimuskysymysten avulla, mutta tiedostoon kirjoitettiin myös paljon vapaata tekstiä ja pohdintaa, josta myöhemmin koostettiin lyhyitä ja selkeitä, kysymysten kannalta oleellisia huomioita. Yritimme SWOT-analyysin teon aikana pitää mielessä erityisesti objektiivisuuden ja käytännönläheisyyden.

10 TULOKSET

C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin koestuksessa analysoimme yhteensä 62 kappaletta näytteitä, joista 43 kappaletta oli tuoreita ja 19 kappaletta pakastettuja. 46 kappaletta tutkituista näytteistä oli otettu FecalSwab-kuljetusputkeen ja 16 kappaletta ulostenäytepurkkiin (Taulukko 2). Tuloksia tarkastellessa yhdistimme näytemuotoja saadaksemme havainnollistavia sekä luotettavampia tuloksia. Liitteessä 1 on esitelty koestuksen tuloksena saamiamme laskennallisia tuloksia näytemuotojen eri otannoista, Tox- ja Ag-osuus eriteltyinä. Lisäksi SWOT-analyysia käyttämällä saimme kirjattua ylös monipuolisesti näkökulmia testin ominaisuuksista sekä mahdollisesta käyttöönotosta yksikössä. SWOT-analyysit ovat liitteenä (liite 2). SWOT-analyysissa tuomme esille omia subjektiivisia kokemuksiamme ja ajatuksiamme testistä ja sen käyttöönoton tuomista mahdollisista vaikutuksista.

TAULUKKO 2. Näytemäärät

Tuoreet ulostenäytteet:	Yht. 43 kpl
Fecalswab kuljetusputkessa	35 kpl
Ulostenäytepurkissa	8 kpl
Pakastetut ulostenäytteet	Yht. 19 kpl
Fecalswab kuljetusputkessa	11 kpl
Ulostenäytepurkissa	8 kpl

10.1 Koestaminen

Analysoiduista näytteistä 2 kappaletta tuotti täysin virheellisen tuloksen, jota diagnostiikan suosituksen B-algoritmin (kuvio 3) mukaan ei olisi ollut välttämätöntä vahvistaa luotettavammalla testillä. Näissä testeissä sekä Ag-, että Tox-osuudet tuottivat väärät negatiiviset tulokset, jolloin tulos tulkitaan täysin negatiiviseksi. Testien sisäinen kontrolli toimi kummankin testin osalta, osoittaen testien ja reagenssien toimivuuden. Kyseiset näytteet analysoitiin uudestaan, uusilla testikaseteilla, jotta saimme varmuuden tuloksesta ja suljimme pois ensimmäisessä testauksessa tapahtuneen virheen mahdollisuuden. Kuvan 3 pikatesti on toinen kahdesta väärän negatiivisen tuloksen tuottaneesta testistä, jonka näyteikkunassa nähdään vain kontrollipisteiden muodostuneet reaktiot.



KUVA 3. Testikasetti tuotti näytteen kohdalla kummankin testin osalta väärän negatiivisen tuloksen Altona RealStar PCR-menetelmään verraten.

Jos ESCMID:n suosituksen mukainen B-algoritmi (kuvio 3) on testaavan hoitoyksikön käytössä, näiden kahden näytteen kohdalla päädyttäisiin mahdollisesti sulkemaan pois CDI:n mahdollisuus. Fimlabin käyttämällä PCR-menetelmällä testeistä on saatu tulokseksi tcdB-toksigeeni positiivinen. Todennäköisen CDI-infektion hoito olisi näiden potilaiden kohdalla viivästynyt tai jopa jäänyt toteuttamatta. Toisaalta suosituksen mukaan näin voidaan menetellä vain, jos tulos saadaan korkean sensitiivisyyden omaavalla testillä, mihin emme pysty tämän testin osalta ottamaan kantaa.

Kun tarkastellaan testin kumpaakin tulosta kokonaisuutena, vain AG- sekä Tox-testin suhteen positiivisen tuloksen saaneet näytteet ilmaisevat CDI-infektion suhteen positiivista tulosta. Tuloksia on tulkittu siten, että PCR-positiivisen näytteen tulisi olla AG- sekä Tox-osuuden suhteen positiivinen ja PCR-negatiivisen näytteen puolestaan AG- ja Tox-osuuden suhteen negatiivisia. Seuraavassa osuudessa tarkastelemme tuloksia edellä mainittua tulkintaa hyödyntäen.

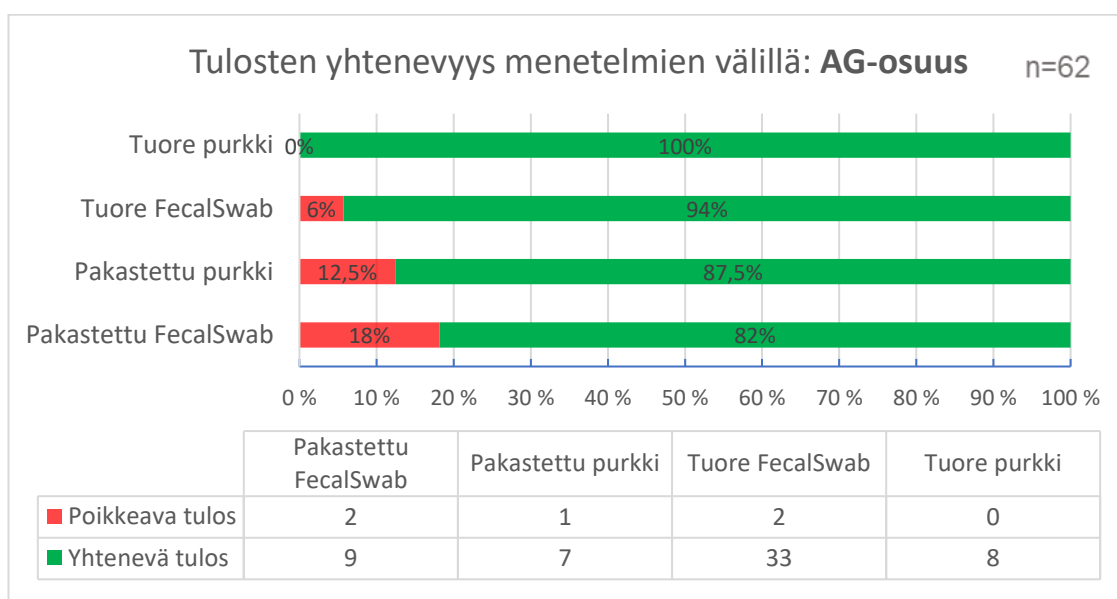
Kun huomioidaan kaikki näytemuodot ja tulkitaan pikatestin kumpaakin tulosta yhdessä, saadaan testin sensitiivisyydeksi 49 % (Taulukko 3). Sensitiivisyys kuvaa sitä osuutta sairaista, joille testi antaa positiivisen tuloksen, eli testi toteaa tämän koestuksen osalta sairaiksi vain noin puolet PCR-menetelmällä todetuista positiivisista. Tuoreiden näytteiden kohdalla sensitiivisyys on korkeampi kuin pakastettujen näytteiden otannassa (Taulukko 3). Otantojen koko saattaa kuitenkin vaikuttaa väärinlaskennalliseen arvoon, jolloin koko otannan tarkastelu on luotettavampaa, vaikka se sulkeekin pois mahdollisuuden näytemuotojen väliseen tarkasteluun. Spesifisyydeksi kokonaisotannasta saatiin 100%, sillä testi ei

em. tulkinnan mukaan tuottanut yhtäkään väärää positiivista tulosta, jossa PCR-negatiivinen näyte olisi tuottanut pikatestillä Ag-POS sekä Tox-POS tulokset. Spesifisyys kuvastaa testin kykyä todeta terveet potilaat, joiden testi tulos tulisi olla negatiivinen.

TAULUKKO 3. C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin sensitiivisyys tulkiteen testin kumpaakin tulosta yhdessä.

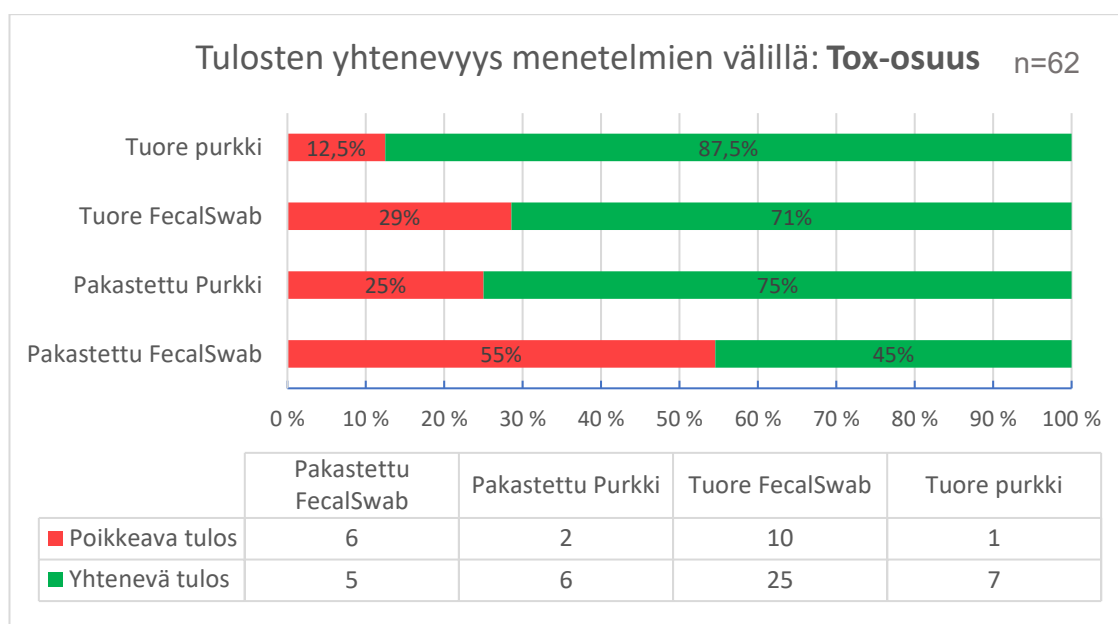
	Sensitiivisyys %
Koko otanta	49 %
Vain tuoreet	52 %
Vain pakastetut	43 %

Kuviossa 5 ja 6 on esitelty Altona RealStar PCR-menetelmän tulokset verrattuna C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin tuloksiin. Kuvioissa yhtenevä tulos tarkoittaa NEG-NEG tai POS-POS tuloksia ja poikkeava tulos puolestaan ristiriitaisia NEG-POS pareja, sekä PCR-tuloksen kanssa ristiriitaisia tuloksia. Kuviossa 5 käsitellään pikatestin GDH-EIA:a, joka tuotti 62:sta testistä vain 5 kpl PCR:stä poikkeavia tuloksia. Eri näytemuodoista pakastetut näytteet tuottivat eniten poikkeavia tuloksia. Purkinäytteistä poikkeavan tuloksen tuotti 12,5 % ja FecalSwab-näytteistä 18 %. Tuoreiden FecalSwab-näytteiden otanta oli suurin ja siten tulokset ovat luotettavimpia tämän näytemuodon kohdalta. Näiden näytteiden tuloksista noin 6 % tuotti poikkeavan, väärän negatiivisen tai väärän positiivisen tuloksen. (Kuvio 5.)



KUVIO 5. Tulosten yhtenevyys PCR-menetelmän ja pikatestin GDH-EIA:n välillä.

Kuviossa 6 on käsitelty pikatestin Tox-osuutta, joka tuotti 62 näytteestä 19 kappaletta PCR:stä poikkeavia tuloksia, mikä on huomattavan suuri osuus kokonaisuudesta. Pakastetut FecalSwab-näytteet tuottivat pikatestillä suurimman osuuden (55 %) poikkeavista toksiinin osoituksen tuloksista. Luotettavimman arvion tulosten yhteneväisyydestä antaa tuoreiden FecalSwab-näytteiden otos, joka oli kaikista suurin. Tämän näytemuodon kohdalla 29 % näytteistä tuotti PCR:stä poikkeavan tuloksen, eli Tox-osuuden tapauksessa väärän negatiivisen. (Kuvio 6)



KUVIO 6. Tulosten yhtenevyys PCR-menetelmän ja pikatestin Tox-EIA:n välillä.

Väärän negatiivisen tuloksen tuottaa PCR-positiivinen näyte, josta saadaan molempien tai yhden pikatestin testiosuuden suhteen negatiivinen tulos. Tämän koestuksen otannassa saimme kumpaakin testitulosta tarkastellessa tulokseksi 19 väärää negatiivista tulosta, joista TOX-testi tuotti kaikki, eli 19 kappaletta. Näistä 2 kappaletta olivat myös AG-testin osalta väärä negatiivisia. Väärin negatiivisten korkean määrän saattaa selittää ESCMID:n tuottama tieto kyseisen toksiini-A/B EIA-testien mahdollisesti puutteellisesta sensitiivisyydestä (Chrobach ym. 2016, 77).

Testi toimii odotetusti, sillä pikatestin testausominaisuudet rajoittuvatkin testin käyttöön diagnostiikan apuna, eivätkä riitä varman diagnoosin tuottoon (Techlab 2016, 3). ESCMID (2016) on myös diagnostiikan suosituksessaan tuonut esille kummankin testin puutteelliset testausominaisuuden erillään käytettynä. Lisäksi

ESCMID:in suosituksessa (2016) sekä vieritestin tuote-esitteessä (2019) tuodaan esille tarve tehdä kliinistä arviointia AG-positiivisten ja Tox-negatiivisten näytteiden kohdalla. Näiden näytteiden kohdalla sekä valmistaja, että ESCMID ehdottavat myös valinnaista lisätestausta luotettavimmilla NAAT- tai TC-analyysillä. (Crobach ym. 2016, 64; Abbott 2019.) Tämän tiedon myötä voimme todeta, että negatiivisiksi jäävien toksiini A/B EIA-tulosten painoarvo diagnostiikassa jää hyvin pieneksi.

Tox -testin sensitiivisyydeksi saatiin tässä työssä 49 %, joka kertoo testin heikosta kyvystä tunnistaa sairaus (Taulukko 4). Toksiiniosoitus-EIA:a käyttäessä ESCMID:in diagnostiikkasuositusten mukaisesti, testin korkea spesifisyys on kuitenkin sensitiivisyyttä tärkeämpää (Chrobach ym. 2016, 76). Tox -testin spesifisyydeksi saatiin 100 % (Taulukko 4), sillä Tox -testillä ei saatu yhtäkään väärää positiivista tulosta, mikä aiheuttaa spesifisyyden korkean laskennallisen arvo.

TAULUKKO 4 Laskennalliset arvot C. Diff Quik Chek Complete -pikatestin tuloksista. (LIITE. TAULUKOT)

	Sensitiivisyys	Spesifisyys	Negatiivinen ennustearvo	Positiivinen ennustearvo
AG-testi (GDH EIA)	97 %	84 %	95 %	90 %
Tox-testi (Tox A/B EIA)	49 %	100 %	57 %	100 %

ESCMID:n CDI-laboratoriodiagnostiikan suosituksen A-algoritmia käyttäessä voidaan tarkkailla pelkästään GDH-EIA:n tulosta, jolloin Tox-testiosuus toimii vain mahdollisena lisäinformaationa testaajalle. Kun GDH-EIA:a käytetään ensimmäisenä testinä CDI:tä epäillessä, johtaa positiivinen tulos aina lisätestaukseen korkean spesifisyyden testillä. Negatiivisen testituloksen kohdalla CDI:n mahdollisuus on epätodennäköinen. (Chrobach ym. 2016.) AG-testin sensitiivisyydeksi saimme koko otannasta 97 % ja spesifisyydeksi 84 %. Testi siis tunnistaa sairauden hyvin, mutta samalla väärin positiivisten määrä on kasvanut ja laskenut spesifisyyden arvoa. Negatiivisen ennustearvon tulokseksi saimme 95 %, eli todennäköisyys, jolla testituloksena negatiivisen saanut potilas todetaan terveiksi, on korkea.

Toksiinin osoituksen vääriä negatiivisia tuloksia (19kpl) tarkastellessa täytyy ottaa huomioon mahdollisuus, ettei toksigeeninen kanta tuotakaan toksiinia tai sen tuotto on hyvin heikkoa. Tällöin tulos tulkittaisiin vääräksi negatiiviseksi, vaikka todellisuudessa pikatestin tulos saattaa olla oikea negatiivinen näytteestä puuttuvan toksiinin vuoksi. Tarkasteltaessa AG-osuuden tuottamia vääriä positiivisia tuloksia (4kpl), tulee ottaa huomioon mahdollisuus, että pikatesti on havainnut potilaan normaaliflooran kolonisoivan ei-toksigeenisen kannan, josta PCR-menetelmä ei oletetusti löydä toksigeeniä. Terveistä aikuisista n. 3 %, sekä sairaalapotilaista n. 20-40% kantaa oireettomana *C. difficile*ä kolonisoivana bakteerina (THL 2019a).

10.2 Tulosten tulkintaan vaikuttavia huomioita

Koestettava menetelmä hyödyntää EIA-menetelmää, jonka tiedetään omaavan matalampi sensitiivisyys verrattuna PCR:ään. Näitä menetelmiä vertaillessa, suurimmat erot tuloksissa tulivat näytteistä, joissa PCR oli positiivinen ja vieritestin toksiiniosuus negatiivinen. Kyseiset näytteet tulkittiin siten vieritestin osalta vääräksi negatiivisiksi. Kun arvioidaan EIA-menetelmän toimivuutta, ihanteellisinta olisi, kun saataisiin referenssimenetelmällä joko todistettua tai suljettua pois kannan kyky tuottaa toksiinia. Menetelmien toimintatavoista, tutkimusasetelmasta ja bakteeriin liittyvästä teoriasta voidaan johtaa monia seikkoja, jotka ovat voineet vaikuttaa tuloksiin.

RealStar Clostridium Difficile 2.0 PCR menetelmä omaa hyvän analyttisen spesifisyyden ja sen herkkyys nähdään riittäväksi diagnostiikkaan (Fimlab Laboratoriot Oy 2019.) Testillä kuitenkin osoitetaan NAAT-menetelmille tyypillisesti toksiinin tuottoon liittyvän geenin läsnäoloa näytteessä, toksiinin suoran osoituksen sijaan. Pelkkä toksigeenisuus ei automaattisesti johda infekioon, sillä geeni ei välttämättä tuota aktiivisesti toksiinia potilaan elimistöön (Ford 2014, 225). On mahdollista, että osa saamistamme tuloksista selittyy tällä. Kirjallisuudessa ei kuitenkaan tunneta toksigeenisten, mutta toksiineja tuottamattomien kantojen osuutta *C. difficile* kantojen kokonaismäärästä. Niiden merkitys testauksessa on näin ollen tuntematon.

Toinen vaikuttava tekijä saattaa olla bakteerin, tai sen tuottaman toksinin, alhainen pitoisuus näytteessä. Mikäli toksinin pitoisuus on ollut alle valmistajan ilmoittaman havaitsemisrajan, testin toksiniosuus jää negatiiviseksi. Bakteerin läsnäolon testi saattaa silti havaita AG-osuuden avulla. Toksinin tuotto ei-hypervirentillä kannalla alkaa vasta, kun bakteeri on saavuttanut stationaarivaiheen. Mikäli testi on tehty aikaisin stationaarivaiheen alussa, bakteeria on jo runsaasti näytteessä, mutta toksinin pitoisuus saattaa olla liian matala detektiolle.

10.3 Tulokset verrattuna aikaisempiin tutkimuksiin

Kun verrataan saamiamme tuloksia aiemmin esiteltyjen tutkimusten tuloksiin, joissa tutkimuskohteena oli ollut C. Diff Quik Chek Complete-pikatesti, huomataan, että olemme päätyneet samankaltaisiin tuloksiin. Toisin kuin Orendi, J., Monnery, D., Manzoor, S. ja Hawkey, P. (2012) tutkimuksessaan, me emme sulkeneet otannasta pois jo tunnettuja C. difficile tapauksia, emmekä tiedä lukeutuiko otantaan heidän näytteitään. Em. tutkimuksessa testi tehtiin sinä päivänä, kun näyte saapui laboratorioon. Tämä mahdollistaa näytteiden analysoinnin mahdollisimman tuoreena, jota valmistajakin suosittaa. Käytännön syistä tämä ei olisi ollut mahdollista opinnäytetyön puitteissa. Orendi ym. tuovat esille sen, että pikatesti ja PCR-menetelmät tukevat toisiaan C. difficilen diagnostiikassa, saamamme tulokset viittaavat samaan johtopäätökseen. Tutkimus nostaa myös esille sen, että pikatesti saattaa heikommalla herkkyydellään toksiniosuudessa olla spesifimpi oireisen C. difficile infektion suhteen. Tämä johtuu siitä, että oireiden synty vaatii myös tietyn toksinin pitoisuuden.

Kim, H., Kim, W., Kim, M., Jeong, S. ja Lee, K (2013) nostivat esille, että pikatesti helpottaa diagnostiikkaa viljelyyn verraten. Swindells, J. Brenwald, N., Reading, N. ja Oppenheim, B (2010) mainitsivat testin etuna nopean tuloksen valmistumisen. Aiemmin esiteltyjen tulosten perusteella tuloksemme viittaavat samoihin loppupäätelmiin Swindellsin ym. tulosten kanssa. Testi voitaisiin sovittaa osaksi alustavaa seulontaa.

10.4 SWOT-analyysit

Muodostimme tutkimuskysymystemme pohjalta kaksi pienempää kokonaisuutta, jotka sijoitimme kahteen SWOT-analyysiin. Kirjasimme nelikenttiin ajatuksiamme ja näkemyksiämme testien suorituksen yhteydessä sekä opinnäytetyön teoriaa kirjoittaessa. Siten saimme kirjattua omien tietojemme sekä taitojemme puitteissa huomioita sekä teorian, että käytännön puolelta. Ensimmäisen SWOT-analyysin yhteydessä pohdimme testin ominaisuuksia ja niiden myötä vieritestin soveltuvuutta käyttöympäristöön. Huomioimme mm. testin käytettävyyden, suoritukseen kuluvan ajan sekä testausympäristön erityispiirteet. Toisessa SWOT-analyysissä pohdittiin testin käyttöönoton konkreettisia hyötyjä. Pohdimme mm. käyttöönoton vaikutuksia hoitotyöntekijöiden työtaakkaan, sekä potilaan hoitoon ja hoitopolun etenemiseen.

On tärkeää huomioida tämän tulososuuden perustuvan opinnäytetyön kirjoittajien subjektiivisille näkemyksille. SWOT-analyyseistä saatava kuva edustaa lähinnä laboratorion näkökulmaa ja on muutenkin käytännön työn kuvaajana vajavainen. Emme pysty myöskään pohtimaan asiaa kattavasti erilaisten hoitoympäristöjen kannalta, sillä eri organisaatioissa ja erilaisissa ympäristöissä ongelmat ja edut vaihtelevat. Testin suoritusympäristönä käsittelemme mitä tahansa terveydenhuollon hoitoyksikköä, jossa testiä suoritetaan yksikön sisällä itsenäisesti.

Hyödyksi koemme testin hoitoyksikölle tuoman mahdollisuuden suorittaa testausta itsenäisesti, ulkoisesta laboratoriotestauksesta riippumatta. Tällöin yksikkö saa näytteestä ensimmäisen testituloksen nopeammin, eikä tulos riipu ulkoisen laboratorion resursseista tai aikataulusta. Testin suoritus yksikössä saattaa lisäksi helpottaa ajankäyttöä, kun näytteen ottoon ja lähetykseen liittyviltä epäselvyyksiltä vältytään. Näitä ovat mahdollisesti näytteenotto-ohjeiden, tarvittavan lähetteen ja lähetysohjeiden selvittely ohjekirjan avulla tai laboratorion kanssa.

Testausta saatettaisiin suorittaa matalammalla kynnyksellä, sillä testi olisi jo yksikköön valmiiksi hankittu ja siten CDI:tä epäillessä yksikön vapaasti käytettävissä. Lisäksi kun testi suoritetaan hoitoyksikössä, pikatestaukseen käytettävä näyte on mahdollisimman tuore. Tällöin testin avulla olisi mahdollisuus arvioida

potilaan tilannetta nopeasti, sekä mahdollisesti pystyttäisiin taudin toteamiseen tai poissulkuun. Mahdollisuus taudin nopeaan poissulkuun täysin negatiivisen testaustuloksen kohdalla antaa yksikölle mahdollisuuden keskittyä toisiin mahdollisiin taudinaiheuttajia -epäilyihin. Hyötynä koemme lisäksi täysin positiivisen testituloksen tuoman mahdollisuuden potilaan nopeaan eristykseen sekä hoidon aloitukseen.

Testin hyödyksi koemme myös sen käytettävyyden, sillä testin suoritus on hyvällä perehdytyksellä opittavissa. Lisäksi testikitti on kattava ja se sisältää lähes kaiken tarvittavan suoritusta varten. Testikasetti on selkeästi rakennettu, mikä tekee testin suorituksesta ja tuloksen luennasta selkeää. Tällä viittaamme näytekaivoon sekä reaktioikkunan merkintöihin, jotka osoittavat testiviivojen paikat. Lisäksi testi vaatii vain hyvin pienen näytemäärän, joka voidaan ottaa jo yleisesti käytössä olevaan ulostenäytepurkkiin tai FecalSwab-putkeen, mikä hyödyttää testin käyttöä. Reaktioviivojen tulkinta puolestaan saattaa luoda enemmän ongelmatilanteita, jos suorittaja ei tunne tai muista eri tulosten merkitystä esimerkiksi jatkotutkimusten tarpeen kannalta.

Testin haittana on sen käytön myötä syntyvä tarve kattavaan ja jatkuvaan perehdytykseen, sillä testi on monivaiheisempi, kuin moni muu hoitotyön rutiinikäytössä oleva vieritesti. Testi lisää siten väistämättä yksikön työtehtäviä perehdytyksen, kontrolloinnin ja testin suorituksen myötä. Uhkana näemme testin käyttöönotossa perehdytyksen riittämättömyyden, jolloin tieto ja taito testin näytevaatimuksista ja suorituksesta saattaisi jäädä hataran muistin varaan. Pohdimme, palattaisiinko hoitoympäristössä ohjeisiin, vai siirtyisikö tieto monen eri suorittajan kautta eteenpäin, matkalla mahdollisesti vääristyen. Suorituksen monivaiheisuuden myötä uhaksi muodostuu myös inkubaatioajoista lipsuminen, sekä sekaannukset tai unohdukset. Lisäksi näytteitä analysoidessamme, koimme testikitin mukana tulleen pipetin herkäksi epätarkalle pipetoinnille, jolloin uhkaksi muodostuu mahdollisesti vaihtelevat pipetointimäärät testiä suorittaessa. Pikatestin tuoteselosteessa valmistaja kertoo, että liian suuret tai pienet näytemäärät laimennoksessa saattavat johtaa virheellisiin testituloksiin (Techlab 2016, 5).

Testiä käytettäessä hoitoympäristössä, näemme mahdollisuutena sen lisäävän tietoisuutta *C. difficile* patogeenisistä. Tietoa voisi siten hyödyntää potilasohjauksessa mahdollisten tartuntojen vähentämiseksi. Lisäksi testi luo mahdollisuuksia CDI:n diagnostiikkaan, sillä sen sisältämän Tox-osuuden tarkoitus on osoittaa näytteestä aktiivista toksiinin tuottoa, mikä onkin patogeenisyyden ja siten diagnostiikan kannalta merkittävin havainto. Testi saattaa kuitenkin olla spesifisempi oireiselle infektiolle, joissa toksiinipitoisuus on jo noussut huomattavan korkealle. Koemme, että infektion varhaisessa vaiheessa testatuista näytteistä, joissa toksiinipitoisuus ei vielä ole noussut, saadaan herkästi negatiivisia tuloksia.

Vieritestin haitaksi näemme Tox -osuuden heikon luotettavuuden, sillä heikon sensitiivisyyden testi saattaa tuottaa suhteettoman paljon vääriä negatiivisia tuloksia. Tällöin hoitoyksikön täytyy joka tapauksessa lähettää vieritestillä analysoituja näytteitä testattavaksi ulkoiseen laboratorioon. Lisäksi pohdimme, aiheuttaisiko vieritestillä saatu negatiivinen Tox -testituloks yksikön hoitajille käsityksen, ettei kyseessä ole patogeenin *C. difficile* -kanta. Tällöin hoitohenkilökunta saattaisi virheellisesti rentoutua eristystoimien ja aseptiikan suhteen, varmistavien tulosten vastausviiveen ajaksi. Lisäksi vieritestin suoritus saattaa altistaa otetun näytteen kontaminaatiolle, jolloin varmistustestiä varten yksikön tulisi ottaa potilaalta uusi näyte. Tämä saattaa lisätä vastauksen saannin viivettä sekä aiheuttaa lisätyötä yksikölle. Koemme tällöin uhaksi muodostuvan, että yksikkö kokee testin vaivalloiseksi tai turhaa aikaa vieväksi, jolloin sitä ei rutiinisti käytetä ja se jää yksikössä käyttämättä.

11 POHDINTA

Koestuksen suoritus on saattanut vaikuttaa tuloksiin. Mikäli näytettä on otettu vieritestiä suorittaessa liian vähän diluentti-konjugaatti seokseen, voi se valmistajan mukaan aiheuttaa väärän negatiivisen tuloksen (Techlab 2016, 5). Näytemäärän arviointi puolikiinteillä näytteillä, erityisesti alussa ennen harjaantumista, on haastavaa. Tämä on saattanut johtaa käyttäjästä johtuviin virheisiin. Liian suuri määrä näytettä saattaa puolestaan estää näytteen kulkeutumista reaktioalueelle, mutta se huomattaisiin testitulosta tarkastellessa, kontrolliviivan puuttumisen myötä.

Valmistaja suosittelee testien suoritusta 24 h sisällä näytteen keräämisestä. Valmistajan mukaan suurin osa laimentamattomista näytteistä voidaan kuitenkin säilyttää jopa 72 h, ennen kuin toksiinit ovat huomattavasti hajonneet. Näytteitä voi pakastaa, mutta toistuva pakastaminen ja sulattaminen saattaa johtaa toksiinien tai antigeenin immunoreaktiivisuuden heikentymiseen. (Techlab 2016, 6.) Käytimme koestuksessa sekä tuoretta, että pakastettua ulostetta. Näytteen tuoreuden vaikutusta tuloksiin emme pysty määrittämään, mutta sitä ei voi myöskään jättää huomiotta tulosten merkittävyyttä arvioidessa. Emme ajallisista syistä pystyneet suorittamaan testausta niin tuoreilla näytteillä, kuin valmistaja suosittelee.

Opinnäytetyön eettisenä ongelmana voidaan pitää tietosuojaa ja sen toteutumista. Sitouduimme salassapitoon, joka koskee kaikkia näytteisiin liittyviä potilastietoja. Tietosuoja koskee myös muuta prosessin aikana vastaan tullutta informaatiota, jota ei ole opinnäytetyön kannalta oleellista tuoda esille. Salassapitoon sitoutuminen jatkuu edelleen opinnäytetyöprosessin jälkeen.

Työn tulokset olivat koestuksen osalta linjassa aiempien tutkimusten kanssa, tämä lisää tulosten luotettavuutta. Lisäksi pyrimme esittämään tulokset mahdollisimman kuvaavalla tavalla, jolloin niiden hahmottaminen helpottuisi. Alkuperäisesti tarkoitus oli hyödyntää data-analyysia ja laskea tunnuslukuja. Otoksen rakenteen takia tunnusluvut eivät kuitenkaan antaneet luotettavaa kuvaa tuloksista, joten siirryimme muihin, edustavampiin menetelmiin. Graafinen ja kirjallinen esitystapa tosin saattaa heikentää tämän koestuksen tulosten vertailtavuutta aiem-

min tehtyjen tutkimusten kanssa, sillä tulokset esitetään niistä poikkeavalla tavalla. Tulosvertailua tulee muutoinkin suorittaa harkiten, sillä otos oli tässä koetuksessa pienempi, kuin yhdessäkään esille nostamassamme tutkimuksessa.

Pidämme opinnäytetyötä onnistuneena tutkimuskysymyksiin vastaamisen kannalta, niillä rajoituksilla, joita alussa asetimme. Jatkotutkimuksena tutkimuskysymysten kannalta, voisi olla hyödyllistä suorittaa saman tyyppinen koestus pelkästään tuoreella purkkiulosteella, jolloin otos on yhtenäisempi ja saattaa tuottaa luotettavampia tunnuslukuja. Lisäksi uudessa koetuksessa pikatestiä voisi verrata menetelmään, mikä osoittaisi pikatestin tavoin toksiinia näytteestä.

Toisen tutkimuskysymyksen kattavamman käsittelyn kannalta, voisi olla hyödyllistä, että hoitoyksiköissä työskentelevät tai alan opiskelijat, saisivat koittaa testin suorittamista. Heidän kokemuksensa testin suorittamisesta vastaisivat paremmin esittämiimme kysymyksiin. Tutkimustyötä voisi myös tehdä erilaisissa hoitoyksiköissä, sillä tarpeet ja edellytykset testien tekemiselle vaihtelevat suuresti eri yksiköiden välillä. Tämän kannalta hyödyllistä olisi myös selvittää millaisissa paikoissa on käytännön tarvetta kyseiselle testille.

Pyrimme lisäämään teoreettisen osuuden luotettavuutta valitsemalla lähteitä mahdollisimman monipuolisesti ja lähdekriittisesti. Suosimme vertaisarvioituja tieteellisiä artikkeleita ja hyödynsimme runsaasti myös englanninkielisiä lähteitä. Käytimme lähteinä myös viranomaistahojen julkaisuja ja valmistajien ohjeita. Toimme tekstissä esille käytetyt lähteet ja pyrimme kirjoittamaan siten, että lähdetekstin sanoma ei vääristy. Pyrimme kirjoittamaan sisältöä objektiivisesta näkökulmasta ja noudattamaan hyviä tieteellisiä käytäntöjä.

Opinnäytetyöprosessin aikana kehitimme kriittistä ajattelukykyämme ja jouduimme arvioimaan omaa työtämme objektiivisesta näkökulmasta. Jäsentelimme teoreettista tietoa ja yhdistimme sitä käytännön työhön ja tuloksiin. Arvioimme käytännön työssä saamiamme tuloksia teoretiedon valossa ja harjoitimme kykyämme arvioida työn luotettavuutta ja tunnistaa ongelmakohtia. Vahvistimme omia ammatillisia valmiuksiamme ja osallistuimme työtä kehittävään toimintaan.

LÄHTEET

Abbott. 2019. "C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE Brochure Non-US (English)". Tuote-esite. Julkaistu: 10.2019. Luettu: 21.5.2020

<https://ensur.invmed.com/ensur/contentAction.aspx?key=ensur.494452.S2R4E4A3.20191028.5585.4201846>

Altona Diagnostics. 2019. RealStar Clostridium difficile PCR Kit 2.0. Käyttöohje. Julkaistu 03/2019. Luettu: 31.3.2020.

https://www.altona-diagnostics.com/files/public/Content%20Homepage/%2002%20RealStar/MAN%20-%20CE%20-%20EN/RealStar%20Clostridium%20difficile%20PCR%20Kit%202.0_WEB_CE_EN-S01.pdf

Anttila, P. 2005. Ilmaisu, teos, tekeminen ja tutkiva toiminta. Hamina: Akatiimi.

Arkkila, P., Mattila, E., Anttila, V. 2013. Ulosteensiirto Clostridium difficile-infektion hoitona. Duodecim 129 (16), 1671-1679.

Boyd, M. & Woolley, T. 2016. Point of care testing. Surgery (Oxford) 34 (2), 91-93.

Burtis, C., Bruns, D., Sawyer, B. & Tietz, N. 2015. 7. painos. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Saunders, St. Louis, Mo. E-kirja. Luettu: 19.3.2020

http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=cookie_ip,uid&db=nlebk&AN=1167481&site=ehost-live&scope=site

Burnham, C. & Carroll, K. 2013. Diagnosis of Clostridium difficile Infection: an Ongoing Conundrum for Clinicians and for Clinical Laboratories. Clinical microbiology reviews. 26 (3), 604.

Carter, G., Lyras, D., Allen, D., Mackin, K., Howarth, P., O'Connor, J. & Rood, J. 2007. Binary Toxin Production in Clostridium difficile Is Regulated by CdtR, a LytTR Family Response Regulator. The Journal of Bacteriology. 189 (20), 7290–7301.

COPAN Diagnostics Inc. 2016. FecalSwab™. Pakkauseloste ja käyttöohje. Luettu 11.05.2020.

<https://www.copanusa.com/wp-content/uploads/2020/01/HPC021B-Fecalswab-Rev.02-Date-2016.11.pdf>

Crobach, M., Planche, T., Eckert, C., Barbut, F., Terveer, E., Dekkers, O., Wilcox, M. & Kuijper, E. 2016. ESCMID. "European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the diagnostic guidance document for Clostridium difficile infection", Clinical Microbiology and Infection, 22 (4), 63–88.

Delost, M. 2015. Introduction to diagnostic microbiology for the laboratory sciences. Burlington, MA, Massachusetts: Jones & Bartlett Learning.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2019. CLOSTRIDIUM DIFFICILE, TOKSIGEENI, NUKLEIINI-HAPPO (KVAL), Tampere. Työohje. Vaatii käyttöoikeuden. Julkaistu 16.12.2019. Tulostettu: 2.1.2020.

Florkowski, C., Don-Wauchope, A., Gimenez, N., Rodriguez-Capote, K., Wils, J. & Zemlin, A. 2017. Point-of-care testing (POCT) and evidence-based laboratory medicine (EBLM) - does it leverage any advantage in clinical decision making? *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 54 (7-8), 471–494.

Ford, M. 2014. *Medical microbiology*. 2. painos. Oxford: Oxford University Press.

Garcia, L. & Isenberg, H. 2010. *Clinical microbiology procedures handbook: Vol. 1-3*. 3. painos. E-kirja. Washington, DC: ASM Press
https://andor.tuni.fi/permalink/358FIN_TAMPO/i4qs1o/alma9910619863105973

Hansen, G. 2020. Point-of-Care Testing in Microbiology: A Mechanism for Improving Patient Outcomes. *Clinical Chemistry* 66 (1), 124-137

Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P. ym. 2010. *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Mikrobiologia*. 1. painos. Helsinki. Kustannus Oy Duodecim.

Hellstén, S. & Heikkilä, R. 2005. *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. 2. uud. p. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Hessen, M. 2010. In the clinic. Clostridium difficile Infection. *Annals of internal medicine*. 153 (7), ITC41–15.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2014. *Tutki ja kirjoita*. 19. uud. p. Helsinki: Tammi.

Hirvonen, J. & Kaukoranta, S.-. 2015, "Comparison of BD Max Cdiff and GenomEra C. difficile molecular assays for detection of toxigenic Clostridium difficile from stools in conventional sample containers and in FecalSwabs", *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34 (5), 1005-1009.

Jorgensen, J., Pfaller, M. & Carroll, K. 2015. *Manual of Clinical Microbiology*. 11. painos. Washington: ASM Press. E-kirja. Luettu: 27.2.2020.
https://andor.tuni.fi/permalink/358FIN_TAMPO/153crqv/asm_press_b10.1128%252F9781555817381

Kim, H., Kim, W., Kim, M., Jeong, S. & Lee, K. 2013. P169 Evaluation of C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE test for the diagnosis of Clostridium difficile infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 42, 96

Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 24.06.2010/629

Leffler, D. & Lamont, J. 2012. Not So Nosocomial Anymore: The Growing Threat of Community-Acquired Clostridium difficile. *American journal of gastroenterology* 1(107), 96-98.

- Lumio, J. 2018. Clostridium difficile -bakteerin aiheuttama ripuli (antibioottiripuli). Duodecim Terveyskirjasto. Luettu: 12.12.2019
https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00806
- Manz, A., Pamme, N. & Iossifidis, D. 2004. Bioanalytical chemistry, Imperial College Press, London.
- Martinez, F., Leffler, D. & Kelly, C. 2012. Clostridium difficile outbreaks: Prevention and treatment strategies. Dove Press Journal: Risk Management and Healthcare Policy. 5, 55–64.
- McPherson, M., & Møller, S. 2005. PCR. Abingdon, Oxon, England; Bios. E-kirja. Luettu 21.5.2020.
https://andor.tuni.fi/permalink/358FIN_TAMPO/1hf871a/alma9910662194705973
- Niemelä, O. & Pulkki, K. 2010. Laboratoriolääketiede: kliininen kemia ja hematologia, 3. painos, Kandidaattikustannus, Helsinki.
- Nordling, S., Anttila, V., Norén, T. & Cockburn, E. 2014. PIN39 - The Burden of Clostridium Difficile (CDI) Infection in Hospitals, in Denmark, Finland, Norway And Sweden. Value in Health 17 (7), A670
- Orendi, J., Monnery, D., Manzoor, S. & Hawkey, P. 2012. A two-stage algorithm for Clostridium difficile including PCR: can we replace the toxin EIA? Journal of Hospital Infection. 80 (1), 82–84
- Pitt, S. 2018. Clinical microbiology for diagnostic laboratory scientists. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
- Valtioneuvoston asetus erityistason sairaanhoidon erityisvastuualueista 16.03.2017/ 156
- Speth, C. & Probert, C. 2015. SWOT analysis. Namur: Lemaitre Publishing. [E-kirja] Luettu 16.04.2020
https://andor.tuni.fi/permalink/358FIN_TAMPO/i4qs1o/alma9910678774105973
- Suominen, I., Pärssinen, R., Haajanen, K. & Pelkonen, J. 2013. Geenitekniikka, 2. korjattu painos, Turku: Turun ammattikorkeakoulu.
- Swindells, J. Brenwald, N., Reading, N. & Oppenheim, B. 2010. Evaluation of Diagnostic Tests for Clostridium difficile Infection. Journal of Clinical Microbiology. 48 (2), 606–608.
- Tartuntatautilaki 21.12.2016/1227
- Techlab. 2016. "TECHLAB® C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®", pakkausseloste. Julkaistu: 7.2016. Luettu: 2.11.2019.
https://www.techlab.com/wp-content/uploads/2018/04/30525Cinsert_rev0716-1.pdf
- THL 2017. Edellytykset kliinisen mikrobiologian alan laboratorioden ja valvottavien toimintayksiköiden toiminnalle Luettu 10.5.2020

https://thl.fi/documents/533963/3370250/Ohjeistus+3.0_290517+%28valmis%29.pdf/1f3de6f8-d0e9-410e-b561-677e0bf7cda8

THL. 2018. Tartuntataudit Suomessa 2017. Raportti. Julkaistu: 29.6.2018. Luettu: 6.12.2019. http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/136615/THL_RAP_6_2018_Tartuntataudit%20Suomessa%202017KORJ27.8.2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

THL 2019a. Clostridium difficile. Luettu 04.05.2020. Päivitetty 28.11.2019. <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/clostridium-difficile>

THL 2019b. Kliinisen mikrobiologian laboratorioden toimilupamenettely. Luettu 10.5.2020 <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/palvelut-ja-yhteystiedot/kliinisen-mikrobiologian-laboratorioden-toimilupamenettely>

THL 2019c. Tartuntatautirekisterin tilastotietokanta, C. difficile. Luettu 11.12.2019 https://sampo.thl.fi/pivot/prod/fi/ttr/shp/fact_shp?row=area-12260&column=time-12059&filter=reportgroup-12271

THL 2019d. Sairaalainfektio-ohjelma SIRO. Luettu 14.5.2020 <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/seurantajarjestelmat-ja-rekisterit/hoitoon-liittyvien-infektioiden-seuranta/sairaalainfektio-ohjelma-siro>

THL c). 2020. Clostridium difficilen esiintyvyys Suomessa. Luettu 14.5.2020 <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/clostridium-difficile/clostridium-difficilen-esiintyvyys-suomessa>

Uhari, M. & Nieminen, P. 2012. Epidemiologia ja biostatistiikka. 2. uud. p. Helsinki: Duodecim.

Van Nood, E., Vrieze, A., Nieuwdorp, P., Fuentes, S., Zoetendal, E., Erwin, G. ym. 2013. Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent Clostridium difficile. The New England Journal of Medicine. 268 (5), 407-415.

Vieritestisuositus. 2018. LABQUALITY. Luettu 15.5.2020 <https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/>

Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa: määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.

Wild, D., & John, R. 2013. The immunoassay handbook theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques. 4. painos. Oxford: Elsevier. Luettu 21.5.2020 https://andor.tuni.fi/permalink/358FIN_TAMPO/i4qs1o/alma9910615421705973

LIITTEET

Liite 1. Tulostaulukko

1 (2)

Pakastettu uloste AG			
oikeat positiiviset	5	Sensitiivisyys	100 %
väärät positiiviset	1	Spesifisyys	67 %
Oikeat negatiiviset	2	Neg. Ennustearvo	100 %
Väärät negatiiviset	0	Pos. ennustearvo	83 %

Pakastettu Uloste TOX			
oikeat positiiviset	3	Sensitiivisyys	60 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	3	Neg. Ennustearvo	60 %
Väärät negatiiviset	2	Pos. ennustearvo	100 %

Tuore uloste AG			
oikeat positiiviset	4	Sensitiivisyys	100 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	4	Neg. Ennustearvo	100 %
Väärät negatiiviset	0	Pos. ennustearvo	100 %

Tuore uloste TOX			
oikeat positiiviset	3	Sensitiivisyys	75 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	4	Neg. Ennustearvo	80 %
Väärät negatiiviset	1	Pos. ennustearvo	100 %

Pakastettu FecalSwab AG			
oikeat positiiviset	9	Sensitiivisyys	100 %
väärät positiiviset	2	Spesifisyys	0 %
Oikeat negatiiviset	0	Neg. Ennustearvo	
Väärät negatiiviset	0	Pos. ennustearvo	0.82 %

Pakastettu FecalSwab TOX			
oikeat positiiviset	3	Sensitiivisyys	33 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	2	Neg. Ennustearvo	25 %
Väärät negatiiviset	6	Pos. ennustearvo	100 %

Tuore FecalSwab AG			
oikeat positiiviset	18	Sensitiivisyys	95 %
väärät positiiviset	1	Spesifisyys	94 %
Oikeat negatiiviset	15	Neg. Ennustearvo	94 %
Väärät negatiiviset	1	Pos. ennustearvo	95 %

Tuore FecalSwab TOX			
oikeat positiiviset	9	Sensitiivisyys	47 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	16	Neg. Ennustearvo	62 %
Väärät negatiiviset	10	Pos. ennustearvo	100 %

Kaikki AG osuudet			
oikeat positiiviset	36	Sensitiivisyys	97 %
väärät positiiviset	4	Spesifisyys	84 %
Oikeat negatiiviset	21	Neg. Ennustearvo	95 %
Väärät negatiiviset	1	Pos. ennustearvo	90 %

Kaikki TOX osuudet			
oikeat positiiviset	18	Sensitiivisyys	49 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100%
Oikeat negatiiviset	25	Neg. Ennustearvo	57 %
Väärät negatiiviset	19	Pos. ennustearvo	100 %

Pakastetut AG			
oikeat positiiviset	14	Sensitiivisyys	100 %
väärät positiiviset	3	Spesifisyys	40 %
Oikeat negatiiviset	2	Neg. Ennustearvo	100 %
Väärät negatiiviset	0	Pos. ennustearvo	82 %

Pakastetut TOX			
oikeat positiiviset	6	Sensitiivisyys	43 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	5	Neg. Ennustearvo	39 %
Väärät negatiiviset	8	Pos. ennustearvo	100 %

Tuore AG			
oikeat positiiviset	22	Sensitiivisyys	96 %
väärät positiiviset	1	Spesifisyys	95 %
Oikeat negatiiviset	19	Neg. Ennustearvo	95 %
Väärät negatiiviset	1	Pos. ennustearvo	96 %

Tuore TOX			
oikeat positiiviset	12	Sensitiivisyys	52 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	20	Neg. Ennustearvo	65 %
Väärät negatiiviset	11	Pos. ennustearvo	100 %

(jatkuu)

FecalSwabit AG (pakastetut ja tuoreet)			
oikeat positiiviset	27	Sensitiivisyys	96 %
väärät positiiviset	3	Spesifisyys	83 %
Oikeat negatiiviset	15	Neg. Ennustearvo	94 %
Väärät negatiiviset	1	Pos. ennustearvo	68 %

FecalSwabit TOX			
oikeat positiiviset	12	Sensitiivisyys	43 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	18	Neg. Ennustearvo	53 %
Väärät negatiiviset	16	Pos. ennustearvo	100 %

Uloste AG (tuoreet ja pakastetut)			
oikeat positiiviset	9	Sensitiivisyys	100 %
väärät positiiviset	1	Spesifisyys	86 %
Oikeat negatiiviset	6	Neg. Ennustearvo	100 %
Väärät negatiiviset	0	Pos. ennustearvo	90 %

Uloste TOX			
oikeat positiiviset	6	Sensitiivisyys	60 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	7	Neg. Ennustearvo	64 %
Väärät negatiiviset	4	Pos. ennustearvo	100 %

KAIKKI			
oikeat positiiviset	54	Sensitiivisyys	73 %
väärät positiiviset	4	Spesifisyys	92 %
Oikeat negatiiviset	46	Neg. Ennustearvo	67 %
Väärät negatiiviset	20	Pos. ennustearvo	93 %

Tulkinta verrattuna PCR tulkintaan			
oikeat positiiviset	18	Sensitiivisyys	49 %
väärät positiiviset	0	Spesifisyys	100 %
Oikeat negatiiviset	25	Neg. Ennustearvo	57 %
Väärät negatiiviset	19	Pos. ennustearvo	100 %

Liite 2. Nelikenttä -analyysi

1. Onko vieritesti tarpeeksi helppokäyttöinen ja ajallisesti mahdollinen suorittaa, jotta sen suorittaminen onnistuu muun hoitotyön lomassa, ilman että tuloksen laatu kärsii?

<p>Hyödyt</p> <p>Voidaan suorittaa yksikössä itsenäisesti.</p> <p>Hoitoyksikön suoritettavissa matalalla kynnyksellä.</p> <p>Hyvällä perehdytyksellä opittavissa.</p> <p>Testin luku selkeää, (ag/kontr./tox.) merkinäät hyvät.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tulkinta voi olla ongelmallisempi: milloin lähetän testin eteenpäin jne. <p>Kitti sisältää lähes kaiken tarvittavan.</p>	<p>Haitat</p> <p>Testin tekemiseen perehtyminen ja perehdyttäminen vaatii paljon aikaa ja resursseja.</p> <p>Taidon ylläpito vaatii jatkuvaa perehdyttämistä, sillä suoritus unohtuu nopeasti. Ei siten välttämättä toimi osastoilla, joilla tehtäisiin harvemmin, koska vaatii harjaantumista.</p> <p>Toksiinin osoitus luotettavuudeltaan huono, jos väärää negatiivisia tulee paljon, on käytetty turhaan aikaa testin tekemiseen</p> <p>Saattaa lisätä vastauksen saannin viivettä, jos tulos joudutaan vieritestauksesta huolimatta varmistamaan laboratoriossa.</p>
<p>Uhat</p> <p>Perehdytyksen riittämättömyys tai tiedon unohtuminen/virheellisyys.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kun tieto ei siirry, tai liikkuu toisen käden informaatiota ym. voi se johtaa virheellisiin tuloksiin. <p>Näytelaadun mukaan muuttuvat pipetointimäärät riski. Muistetaanko määriä, pipetoidaanko määriä ristiin tai palataanko ohjeisiin, jos epävarmuutta kumpi oli kumpi.</p> <p>Inkubaatioajat sellaisia, että riskinä unohtua tai inkuboitua liian vähän aikaa.</p> <p>Melko erilainen kuin muut testit, joita hoitotyössä rutiinisti käytössä. Testin suoritus sisältää enemmän ”käsityötä” kuin esim. CRP, Hb ym.</p> <p>Pipetoinnit epätarkkoja, mahdollinen vaihtelu käyttäjäkohtaisesti. Vaikuttaa tulosten luotavuuteen.</p>	<p>Mahdollisuudet</p> <p>Voidaan lisätä tietoisuutta C. difficilen patogeneesistä. Hyödyllistä erityisesti niille hoitajille, jotka paljon asian kanssa tekemisissä.</p> <p>Mahdollisuus arvioida tilannetta nopeammin.</p> <p>Mahdollisuus taudin nopeaan poissulkuun.</p> <p>Mahdollisuus välittömään testaukseen hoitoyksikössä, suositellulla tuoreella (alle 24 h) näytteellä</p> <p>Testi osoittaa aktiivisen toksiinin tuoton, joka on diagnostiikan kannalta merkittävin havainto</p>

(jatkuu)

2. Olisiko testin käyttöönotolla konkreettista hyötyä hoitoyksikölle, eli vähentäisikö se työtaakkaa ja nopeuttaisi potilaan hoitopolkua?

<p>Hyödyt</p> <p>Saattaa helpottaa ajankäyttöä ulostenäytteiden ottamiseen, ohjeiden selvittelyyn, lähetteet yms.</p> <p>Jos tulokset positiiviset, saadaan nopeasti tieto todennäköisestä CDI:stä ja voidaan eristää potilas ja siirtyä varotoimiin leviämisen estämiseksi.</p> <p>Testin vaatima näytemäärä todella vähäinen</p> <p>Testaus ei ole riippuvaista laboratorion resursseista, aikatauluista ym.</p> <p>Potilaalle voidaan aloittaa hoito nopeammin</p>	<p>Haitat</p> <p>Lisää työtehtäviä yksikössä: perehtyminen, perehdytys, testin teko, kontrollointi.</p> <p>Testin teko vaatii, että tekijä on testin läheisyydessä puoli tuntia, sekä huomioi testin välittömästi inkubointi aikojen päättyessä.</p> <p>Testi on kalliimpi kuin standardi laboratorio testaus</p>
<p>Uhat</p> <p>Testi koetaan vaivalloiseksi/aikaa vieväksi ja sitä ei käytetä rutiinisti, eli testi jää käyttämättä.</p> <p>Näyte, josta tehty pikatesti altistuu prosessin aikana kontaminaatiolle.</p> <p>Joudutaan keräämään uusi näyte mahd. PCR-varmistusta varten.</p> <p>-lähetään mahdollisesti kontaminoitunut näyte PCR:ään.</p> <p>Laadunhallinta voi jäädä hoitamatta/huomioimatta.</p> <p>Testin sensitiivisyys hyvin huono:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Epäily CDI -> pikatesti neg. -> hoitajat rentoutuvat eivät pese käsiä niin hyvin yms. ajattelevat, ettei ole CDI -> lab. POS -> muita altistettu infektiolle? <p>Testi saattaa olla spesifimpi oireiselle infektiolle koska TOX testi ei kauhean sensitiivinen. On mahdollista, että näyte tutkitaan niin varhain, ettei toksiini pitoisuus ole kerennyt nousta -> näytteet varmistukseen joka tapauksessa.</p>	<p>Mahdollisuudet</p> <p>Mahdollisesti taudin nopea poissulku ja toisiin taudinaiheuttajiin keskittyminen nopeuttaisi diagnoosia.</p> <p>Laboratorion vastaus viiveet eivät vaikuttaisi yksikköön</p> <p>Hoitajat saavat mahdollisesti lisänäkemyksiä CDI:n hallinnasta ja epidemiologiasta</p>

