

KARELIA-AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Anni Leppänen
Johanna Seppälä

ACTINOBACULUM SCHAALII -BAKTEERIN TUNNISTAMINEN

Opinnäytetyö
Tammikuu 2013



OPINNÄYTETYÖ
Tammikuu 2013
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6600

Tekijät
Anni Leppänen, Johanna Seppälä

Nimeke
Actinobaculum schaalii -bakteerin tunnistaminen

Toimeksiantaja
Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä (Islab), Mikkelin aluelaboratorio, mikrobiologian osasto

Tiivistelmä

Actinobaculum schaalii on grampositiivinen sauvabakteeri, ja se kuuluu ihmisen normaaliflooraan. A. schaalii luokitellaan anaerobibakteeriksi, mutta sillä on mikroaerofiilisiä ominaisuuksia. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia seitsemää Actinobaculum schaalii -bakteerikantaa. Tutkimuksessa vertailtiin kyseisiä kantoja keskenään suorittamalla erilaisia mikrobiologisia tunnistustestejä ja viljeltiin kannat erilaisille elatusmaljoille. Näillä menetelmillä yritettiin löytää kannoille yhteisiä tekijöitä ja ominaisuuksia, joiden perusteella voidaan helpottaa A. schaalii -bakteerin tunnistamista kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Lisäksi tutkittiin, löydettäisiinkö potilaan virtsasta helpommin A. schaalii -bakteeria, jos virtsan erikoisviljely U-BaktEVi sisältäisi anaerobisille bakteereille tarkoitetun elatusmaljan. Tutkimus oli toimeksianto Itä-Suomen laboratorikeskuksen liikelaitoskuntayhtymän, Mikkelin aluelaboratorion mikrobiologian osastolta. Tutkimusmenetelmä oli kvantitatiivinen ja koeasetelma kokeellinen.


Tutkimuksen perusteella saatiin uutta tietoa A. schaaliiin ominaisuuksista ja käyttäytymisestä erilaisissa olosuhteissa, mikä voi auttaa A. schaaliiin tunnistuksessa kliinisessä mikrobiologian laboratoriossa. Tutkimus oli tärkeä, koska A. schaalii -bakteeria ei ole tutkittu aikaisemmin Suomessa. Erikoistutkimusten osalta voitaisiin kehittää nykyistä BaktEVi-tutkimusta siten, että sen avulla voisi löytää A. schaaliiin virtsanäytteestä ABA-viljelyn avulla. Erikoistutkimuksen kehittäminen olisi tärkeää siksi, että A. schaalii -bakteeri löydettäisiin ja tunnistettaisiin mahdollisimman varhaisessa vaiheessa.

Kieli
suomi

Sivuja 38

Liitteet 6

Asiasanat
Actinobaculum schaalii, bakteeri, elatusmalja, U-BaktEVi

 <p>Karelia UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES</p>	<p>THESIS January 2013 Degree Programme in Biomedical Laboratory Sciences Tikkarinne 9 FIN 80200 JOENSUU FINLAND Tel. 358-13-260 6600</p>
<p>Authors Anni Leppänen, Johanna Seppälä</p>	
<p>Title Identification of Actinobaculum Schaalii bacterium</p> <p>Commissioned by Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB), Microbiological Department of Mikkeli Regional Laboratory</p>	
<p>Abstract</p> <p>The objective of this thesis was to examine seven bacterial strains of Actinobaculum schaalii. The purpose was to compare the strains by carrying out different types of microbiological identification tests and by culturing them on different kinds of culture media. These methods were used to find similarities between the strains and to find features which help to identify A. schaalii in the laboratories of clinical microbiology. In addition, it was studied if it were easier to find A. schaalii in the patient's urine if a cultivation technique called U-BaktEVi contained a culture medium specific for anaerobic bacteria. The study was commissioned by the Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB), Microbiological Department of Mikkeli Regional Laboratory. The research method was quantitative and the design experimental.</p> <p>On the basis of the study, new information was gained about the features of A. schaalii and about how it acts in different environments. This may help the identification of A. schaalii in the laboratories of clinical microbiology. The study is significant because A. schaalii has not been studied before in Finland. The current cultivation technique called U-BaktEVi could be developed further. Thus, A. schaalii could be found in a urine sample if ABA cultivation were added to the current technique. It would be important to develop special cultivation techniques, such as U-BaktEVi, to find and identify A. schaalii as early as possible.</p>	
<p>Language Finnish</p>	<p>Pages 38</p> <p>Appendices 6</p>
<p>Keywords Actinobaculum schaalii, bacterium, culture media, U-BaktEVi</p>	

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto.....	6
2	Bakteerit	7
2.1	Bakteerin rakenne.....	8
2.2	Bakteerin kasvuolosuhteet	8
3	Actinobaculum Schaalii.....	9
4	Bakteerien tunnistus	10
4.1	Gramvärjäys	10
4.2	Bakteerien mikroskooppinen tutkimus	11
4.3	Identifikaatiotestit	12
4.4	Kemialliset testit.....	13
4.5	Bakteerien viljely ja siihen käytettävät elatusmaljat.....	14
4.6	Antibioottiprofiili	16
5	Virtsan bakteeriviljely ja erikoisviljely U-Baktevi.....	18
6	Tutkimuksen tarkoitus ja tehtävä.....	19
7	Tutkimuksen menetelmälliset valinnat.....	19
7.1	Aineiston hankinta ja käsittely	20
7.2	Työn toteutus.....	21
7.2.1	Maljojen viljely	21
7.2.2	Mikrobiologiset tunnistustestit.....	22
7.2.3	Laimennossarjojen viljely	23
7.2.4	Maljojen lukeminen	24
8	Tulokset	26
8.1	Maljojen tarkastelu ja vertailu.....	26
8.2	API-testien ja Vitek2:n tulokset	27
8.3	Gramvärjäyksen tulokset.....	28
8.4	Identifikaatiotestien tulokset	29
8.5	Antibioottiherkkyysien tulokset	29
8.6	Virtsan laimennossarjojen tulokset	30
9	Johtopäätökset	30
9.1	Elatusmaljat.....	30
9.2	API-testit ja Vitek	31
9.3	Gramvärjäys ja identifikaatiotestit	32
9.4	Antibioottiherkkyudet	33
9.5	Virtsan laimennossarja	33
9.6	Pohdinta.....	33
10	Luotettavuus ja eettisyys	34
10.1	Reliabiliteetti ja validiteetti	34
10.2	Eettisyys	35
	Lähteet.....	37

Liitteet

Liite 1	Toimeksiantosopimus
Liite 2	Tutkimuslupa
Liite 3	API-Rapid ID 32 A entsyymaattiset reaktiot

Liite 4	API-Coryne entsymaattiset reaktiot
Liite 5	Vitek-analysaattorin entsymaattiset reaktiot
Liite 6	Islabin potilasohje virtsanäytteenottoon

1 Johdanto

Bakteereilla ei ole varsinaista tumaa, ja niiden DNA on kiinnittynyt solukalvoon. Ne jaetaan soluseinän rakenteen mukaan grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin bakteereihin. Bakteerit ovat nopeita lisääntymään niiden nopean jakautumiskyvyn vuoksi. Tästä syystä bakteerit sopeutuvat hyvin muuttuviin elinolosuhteisiin. (Solunetti, 2006.) Bakteerilla täytyy olla virulenssitekijöitä, että se voi infektoida tai lisääntyä ihmisessä. Erilaisia virulenssitekijöitä on olemassa melkein yhtä suuri määrä kuin tautia aiheuttavia bakteerejakin. Bakteeri-infektion erilaiset oireet johtuvat tiettyjen bakteerien lisääntymisestä ihmisessä. Lisääntyessään bakteerit riistävät elimistöltä ravinteita, aiheuttavat tulehdusta ja kudostuhoa. Infektio voi johtaa äärimmäisessä tapauksessa jopa ihmisen kuolemaan. Tämä ei kuitenkaan ole bakteerien tarkoitus, koska samalla kun ihminen menehtyy, myös bakteeri kuolee. (Hedman, Heikkinen, Huovinen, Järvinen, Meri & Vaara 2010. 68 - 69.)

A. Schaalii on grampositiivinen kokkimainen sauvabakteeri (Beguelin, Genne, Vara, Tritten, Siegriest, Jatton & Lienhard 2010). Se luokitellaan anaerobibakteeriksi, mutta sillä on myös mikroaerofiilisiä ominaisuuksia. *A. schaalia* -bakteeria on vaikea tunnistaa sen muodostamien pesäkkeiden ulkomuodon perusteella, sillä se sekoitetaan yleensä ihmisen normaaliflooran kasvustoon. (Cattoir, Varca, Greub, Prod'hom, Legrand & Lienhard 2010.) *Actinobaculum*-suku löydettiin ensimmäisen kerran vuonna 1997 (Reinhard, Prag, Kemp, Andersen, Klemmensen, Højlyng, Sørensen & Christensen 2005). *A. schaali* -bakteeria on esiintynyt virtsassa, veressä ja limassa. Bakteeria on löytynyt virtsaviiljelyssä ja veriviljelyssä. (Fendukly & Osterman 2005.) Tämä bakteeri aiheuttaa virtsatietulehduksia, mutta se aiheuttaa myös sepsistä, osteomyeliittiä, paiseita ja erittäin vaikeita ihotulehduksia (Beguelin ym. 2010).

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia *Actinobaculum schaalii* -kantoja. Tutkittavana on seitsemän eri *A. Schaalii* -kantaa, jotka on löydetty veriviljelynäytteistä Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (Islab) alueelta. Tarkoituksena on vertailla kyseisiä kantoja keskenään suorittamalla erilaisia mikrobiologisia

tunnistustestejä ja viljelemällä niitä kolmelle erilaiselle elatusmaljalle. Näillä menetelmillä yritetään löytää kannoille yhteisiä tekijöitä ja ominaisuuksia, joiden perusteella voidaan helpottaa *A. schaalii* -bakteerin tunnistamista klinisen mikrobiologian laboratoriossa. Lisäksi tutkitaan, olisiko potilaan virtsasta helpompi löytää *A. schaalii* -bakteeri, jos virtsan erikoisviljely U-BaktEVi sisältäisi anaerobisille bakteereille tarkoitetun elatusmaljan.

Tutkimus on tärkeä, koska *A. schaalii* -bakteeria ei ole tutkittu aikaisemmin Suomessa. *A. schaalii* -bakteeria on tutkittu aikaisemmin vain Ruotsissa, Ranskassa ja Tanskassa. *A. schaalii* -bakteerin ominaisuuksien tunteminen on tärkeää, koska sitä ei välttämättä tunnisteta, vaan se sekoitetaan ihmisen normaaliflooraan. Bakteerin tunnistaminen aikaisessa vaiheessa on tärkeää siksi, ettei bakteeri aiheuta virtsatieinfektiota vakavampaa infektiota, kuten esimerkiksi sepsistä. Tämän takia tutkimuksessa tutkitaan myös U-baktEVi-tutkimuksen kehittämistä, jotta *A. schaalii* -bakteeri tunnistettaisiin jo virtsaviljelynäytteestä. Tutkimus on toimeksianto Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitosyhtymän, Mikkelin aluelaboratorion mikrobiologian osastolta. Toimeksiantosopimus on liitteessä 1. Tutkimuksessa tutkimusmenetelmänä on kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus.

2 Bakterit

Bakteerit ovat pieniä organismeja, jotka lisääntyvät itsenäisesti jakautumalla. Bakterisoluja on ihmisessä kymmenkertaisesti enemmän kuin omia soluja. Ihmisellä on oma normaalifloora, joka on normaali, runsas bakteeristo suolistossa, limakalvoilla ja iholla. Normaalifloora pitää yllä ihmisen elimistön immuunijärjestelmää, käsittelee ruoka-aineita ja suojaa ihmistä. Yleensä bakteerien aiheuttamat haitalliset taudit hoidetaan pois antibiooteilla. (Lumio 2009.)

2.1 Bakterin rakenne

Bakteerit ovat mikroskooppisen pieniä ja yksisoluisia organismeja. Kiinteällä ravintoalustalla kasvaessa bakteerit muodostavat pesäkkeitä, jotka voidaan havaita silmillä katsoen. Yksittäiset bakteerit ovat kuitenkin niin pieniä, että niitä täytyy tarkastella mikroskoopilla. Yksi bakteeripesäke sisältää satoja miljoonia bakteerisoluja. (Hedman ym. 2010, 37)

Bakteerit jaetaan muotonsa perusteella pallomaisiin kokkeihin (coccus) ja sauvoihin (bacillus). Kokin ja sauvan välimuotoa kutsutaan kokkobasilliksi. Vibrioiksi kutsutaan pilkunmuotoisia käyrystyneitä sauvoja. Korkkiruuvimuotoisia, kapeita ja kierteisiä bakteereita kutsutaan spirokeetoiksi. Sprillit ovat kuin spirokeetat, mutta pienempiä. Bakteerit voivat esiintyä myös ryhmissä, pareittain tai ketjuissa. Pareittain esiintyviä kokkeja kutsutaan diplokoikeiksi. (Hedman ym. 2010, 57, 63, 213.)

Bakterin rakenteita ovat muun muassa fimbriat eli tarttumakarvat, joiden avulla bakteeri tarttuu esimerkiksi limakalvoille. Flagellat ovat bakteerien liikkumisvälineitä. Ne ovat pitkiä korkkiruuvimuotoisia ja taipuisia rakenteita. Bakteeri liikkuu myös liukumalla, jolloin bakteerilla ei ole flagellaa. Bakteerit liikkuvat kohti suotuisimpia kasvuolosuhteita. Pariutumisen avulla bakteereilla on mahdollisuus siirtää DNA:ta solusta toiseen, ja tämä tapahtuu bakteerien erikoistuneiden karvojen avulla. Näitä karvoja kutsutaan piluksiksi. Epäedullisissa olosuhteissa bakteeri voi selvitä itiönä, joka on bakterin lepomuoto. (Hedman ym. 2010, 14 - 15.)

2.2 Bakterin kasvuolosuhteet

Jokaisen bakterin on löydettävä ainekset, joita se tarvitsee energian tuottamiseen ja solun biosynteesiin. Ravinteina bakteerit käyttävät luonnosta saatavia kemikaaleja ja yhdisteitä. Laboratoriossa bakteerit saavat elatusaineista kaiken, minkä ne vaativat kasvuun. (Hedman ym. 2010, 33 - 34.)

Bakteerit jaetaan hapen tarpeen mukaan viiteen eri ryhmään. Hapen tarve on yksi bakterien kasvuolosuhde. Osa bakterilajeista tarvitsee happea elääkseen, ja näillä bakteereilla on happea käyttävä hengitysjärjestelmä. Tällaisia bakteereita kutsutaan

aerobeiksi. Toiset bakteerilajeista eivät taas kestä happea ollenkaan, ja tällaisia bakteereita kutsutaan anaerobeiksi. Anaerobibakteerilta puuttuu aerobibakteerin hengityselin. Tällaisia bakteereita on 99 prosenttia ihmisen suoliston normaalifloorasta. Bakteereita, jotka voivat elää aerobisissa ja anaerobisissa olosuhteissa, kutsutaan fakultatiiviseksi anaerobeiksi. Näitä bakteereita esiintyy usein sekainfektioissa. Bakteerit, jotka eivät pysty elämään normaalissa happipitoisuudessa, mutta pystyvät kuitenkin kasvamaan vähäisissä happipitoisuuksissa, kutsutaan mikroaerofiiliseksi. Kapnofiiliset bakteerit kasvavat hyvin ilmassa, jossa on 10 prosenttia hiilidioksidia. Ne kasvavat myös pelkässä ilmassa, mutta huonommin kuin hiilidioksidipitoisessa ilmassa. Yleisesti kliinisessä mikrobiologiassa puhutaan vain anaerobi- ja aerobibakteereista. (Hedman ym. 2010, 35- 36.)

Lämpötila on merkittävä bakteerien kasvuolosuhde. Bakteerit viihtyvät parhaiten 35 - 37 °C:n lämpötilassa. Bakteri säilytetään yleensä 37 °C:n lämpötilassa niiden optimaalisessa ympäristössä Jotkut bakteerit, kuten *Pseudomonas*-lajit, viihtyvät myös viileässä ympäristössä. (Hedman ym. 2010, 37.)

3 *Actinobaculum Schaalii*

Actinobaculum schaalii -bakteeri tunnistettiin ensimmäisen kerran vuonna 1997, ja se nimettiin saksalaisen mikrobiologi Klaus P. Schaaliin mukaan (Bank, Jensen, Hansen, Sjøby & Prag 2010). *A. Schaalii* on grampositiivinen kokkimainen sauvabakteeri (Beguelin ym. 2010). Se luokitellaan anaerobibakteeriksi, mutta sillä on myös mikroaerofiilisiä ominaisuuksia. *A. schaalii* -bakteeri kuuluu *Actinobaculum*-sukuun, ja se on myös läheistä sukua *Actinomyces*- ja *Arcanobacterium*-bakteerien suvulle. *A. schaalii* -bakteeri kuuluu osaksi ihmisen normaaliflooraa. (Cattoir ym. 2010.)

A.schaalii -bakteeri aiheuttaa infektioita pääasiassa pitkäaikaissairailta iäkkäillä miespotilailla, joilla on ollut ennestään urologisia sairauksia (Cattoir ym. 2010). Bakteri aiheuttaa virtsatietulehduksia, mutta myös sepsistä, osteomyeliittiä, paiseita ja erittäin vaikeita ihotulehduksia (Beguelin ym 2010). *A. schaalii* -bakteeria esiintyy

virtsassassa, veressä ja limassa. Bakteria on löydetty Suomessa vain muutama tapaus. *A.schaalii* -tapauksia on löydetty virtsaviilijelyssä ja verivilijelyssä. (Fendukly & Osterman 2005.)

A.schaalii -bakteeri kasvaa parhaiten hevosen- tai lampaanverimaljalla. Bakterin kasvu on hyvin näkyvässä 48 tunnin inkubaation jälkeen. Inkubaatio tapahtuu anaerobisissa olosuhteissa 37 °C:n lämpötilassa. *A.schaalii* -bakteeria esiintyy kasvualustoilla pienenä harmaana kasvustona. Yhden bakteeripesäkkeen läpimitta on noin 0,2 - 1 mm. (Beguelin ym. 2010.) Pesäkkeen ulkomuodon perusteella *A.schaalii* -bakteeria on vaikea tunnistaa, sillä se sekoitetaan yleensä ihmisen normaaliflooran kasvustoon (Cattoir ym. 2010). *A. schaalii* -bakteeripesäkkeiden ympärillä voidaan havaita heikkoa beetahemolyyysiä (Bank ym. 2010). Kyseistä bakteeria on tutkittu katalaasi-, ureaasi- ja oksidaasitesteillä. Saadut tulokset ovat olleet negatiivisia. (Beguelin ym. 2010.)

4 Bakterien tunnistus

Gramvärjäyksellä erotellaan bakteerit niiden soluseinän perusteella grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin. Bakteereita tunnistetaan myös hajun ja pesäkkeen koon mukaan. Kun pesäke on pienikokoinen, ravintoalustalla kasvava bakteeri on yleensä kokkibakteeri. Jos pesäke on puolestaan isokokoinen ja limainen, kyseessä on sauvabakteeri. Bakterien tunnistamiseksi on kehitetty erilaisia kasvualustoja, joissa eri bakteerit kasvavat niille tunnusomaisin tavoin ja värein. Bakteereita tunnistetaan entsyymireaktioiden avulla. Entsyymireaktiossa voidaan tutkia bakteerin yksittäistä kykyä toimia reaktiossa tai kykyä, jossa bakteeri hajottaa orgaanisia yhdisteitä. Yksi tällainen esimerkki on API- testi. (Hedman, Heikkinen, Huovinen, Järvinen, Meri & Vaara. 2011, 38 - 45.)

4.1 Gramvärjäys

Useimmilla bakteereilla on plasmamembraanin ulkopuolella soluseinä, jota eläinsolussa ei ole. Soluseinä estää solujen osmoottisen hajoamisen ja antaa bakteerisoluille niille

tyypillisen muodon. Soluseinän rakenne jakaa bakteerit kahteen luokkaan, grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin bakteereihin. Gramnegatiivisilla bakteerilla on ylimääräinen niin sanottu ulkomembraani soluseinässään. Grampositiivisella bakteerilla soluseinä on huomattavasti paksumpi kuin gramnegatiivisella bakteerilla. Erot gramnegatiivisten ja grampositiivisten bakteerien välille tulevat esille bakteerivärjäyksessä, jonka kehitti tanskalainen lääkäri Hans Christian Gram. Värjäyksessä grampositiiviset bakteerit värjäytyvät tumman sinivioleteiksi, ja gramnegatiiviset bakteerit muuttuvat vaaleanpunaisiksi. (Hedman ym. 2010, 21.)

Gramvärjäys suoritetaan siten, että bakteeri kiinnitetään ensin objektilasille esimerkiksi kuumentamalla. Tämän jälkeen bakteeri käsitellään emäksisellä kristalliviolettiliuoksella, joka värjää kaikki bakteerisolut violeteiksi. Muodostunut väri kiinnitetään jodi-kaliumjodiliuoksella, minkä jälkeen se huuhdellaan asetoni-alkoholiseoksella. Gramnegatiivisista bakteereista väri huuhtoutuu pois, mutta grampositiiviset bakteerit säilyttävät violetin värinsä. Gramnegatiiviset bakteerit saadaan näkyviin viimeisessä vaiheessa, kun valmiste värjätään punaisella safraniinilla. (Hedman ym. 2011, 38.)

4.2 Bakteerien mikroskooppinen tutkimus

Moderni valomikroskooppi koostuu sisäänrakennetusta valonlähteestä sekä yhdistelmälinssistä, joka tarkoittaa ainakin kahden linssin yhteistoimintaa. Värjättyä näytettä katsotaan läpivalaisuna eli valo on keskitetty näytteeseen ja näyte nähdään kirkasta taustaa vasten. (Murray, Baron, Pfaller, Tenover & Tenover 1995, 33 - 35.)

Valomikroskopiassa etsitään objektilasilta edustava kuva näytteestä, käyttäen esimerkiksi x 10-25 -objektiivia. Tämän jälkeen objektilasille tiputetaan muutama tippa immersioöljyä ja siirrytään katsomaan öljyimmersio-objektiivia. Näytettä tarkastellaan suoralinjaisesti joko sivelyn pituus- tai poikkiakselin suuntaan. Näytteestä on pyrittävä arvioimaan bakteerien esiintyminen ja niiden järjestäytyminen ryhmiksi, pareiksi tai ketjuiksi. Objektilasilta katsotaan myös näytteen bakteerien gramreaktiivisuus eli onko tarkasteltava bakteeri grampositiivinen vai -negatiivinen. Kun tarkastellaan grampositiivisia sauvoja, pitää erottaa, onko kyseessä pieni vai suuri sauva. Tarkempi

morfologinen analyysi vaatii paljon kokemusta kliinisten näytteiden tutkimisesta. (Penttilä 2004, 350 - 351.)

4.3 Identifikaatiotestit

Katalaasitestillä, tutkitaan tuottaako bakteeri peroksideja hajottavaa katalaasientsyymiä. Testissä käytetään vetyperoksidia, joka hajoo hapeksi ja vedeksi. Testi suoritetaan siten, että siirretään bakteeripesäkkeitä puhtaalle objektilasille. Bakterimassan päälle tiputetaan muutama tippa vetyperoksidiliuosta. Bakteeri on katalaasiposiitivinen, kun todetaan kuplintaa. Bakteripesäkkeet täytyy ottaa veri-elatusmaljalta erittäin huolellisesti, koska elatusmaljan punasolut voivat aiheuttaa väärän positiivisen tuloksen. (Murray, Baron, Pfaller, Tenover & Tenover 1999, 1666.)

Oksidaasitesti havaitsee sytokromin oksidaation. Testi voidaan suorittaa kolmella eri reagenssilla. Kovács-reagenssi on yleisin käytössä oleva reagenssi, koska se on vähemmän myrkyllinen ja hellävaraisempi kuin muut reagenssit. Testi suoritetaan siten, että kostutetaan Whatman no.2 -paperia muutamalla pisaralla reagenssia. Veri-elatusmaljalta otetaan steriilillä puutikulla erillinen bakteeripesäke, joka hierotaan kostutetulle paperille. Kovács-reagenssi antaa tuloksen 10 - 15 sekunnin kuluessa. Positiivinen tulos nähdään tumman violetina värinä. (Murray ym. 1999, 1670.)

Indolitestiiä käytetään selvittämään organismin kykyä tuottaa indolia, tryptofaanin deaminaatioissa Ehrlich- ja Kovács-reagenssien avulla. Kovács-reagenssi on hellävaraisempi kuin Ehrlich-reagenssi. Testi suoritetaan samalla tavalla kuin oksidaasitesti. Positiivinen reaktio nähdään sinisenä tai sini-vihreänä värimuutoksena kahden minuutin kuluessa. Väritön tai heikko vaaleanpunainen väri tulkitaan negatiiviseksi tulokseksi. Ainoastaan tryptofaania sisältävää elatusmaljaa voidaan käyttää indolitestin suorittamiseen. (Murray ym. 1999, 1668.)

Glukosidaasit ovat glukosideja hydrolosoivia entsyymejä (Duodecim. 2012). Alfaglukosidaasit ovat joukko entsyymejä, jotka reagoivat 1,4 alfasidoksissa ja siten vapauttavat yksittäisen alfa-glukoosi-molekyylin alkuperäisestä rakenteesta (ExPASy. 2012). Alfaglukosidaasi-testi tehdään siten, että tutkittavasta bakteerista tehdään bakteerisuspensio koeputkeen. Koeputkessa täytyy olla noin 0,25 millilitraa 0,9 %:sta

natriumkloridi-liuosta, johon lisätään tutkittavasta bakteeria. Bakterisuspension vahvuus täytyy olla vähintään 4 McFarlandin vahvuinen. Koeputkessa olevaan bakterisuspensioon lisätään diagnostinen kiekko ja putki suljetaan. Koeputkea inkuboidaan neljä tuntia tai vaihtoehtoisesti annetaan olla yön yli 35 - 37 °C:n lämpötilassa lämpökaapissa. Alfaglukosidaasi-testin positiivinen tulos nähdään keltaisena värinä ja negatiivinen tulos värittömänä. Negatiivisena kontrollina käytetään pelkkää bakterisuspensiota.

4.4 Kemialliset testit

API-testit ovat testipakkauksia grampositiivisten ja gramnegatiivisten bakteerien sekä hiivojen tunnistukseen. API-testeillä osoitetaan bakteerin sokereiden fermentaatiota ja entsyymiaktiiviteetteja, erilaisilla entsyymireaktioilla. API-testiliuskat sisältävät testille ominaisen määrän pieniä testikaivoja, joihin on lisätty entsyymireaktioita aiheuttavia suspensioita. Testeissä on pH-indikaattoreita, jotka saavat aikaan reaktioissa tapahtuvat värinmuutokset. (bioMérieux 2009a.)

API-testit valitaan tutkittavan bakteerin mukaan. Esimerkiksi API-Coryne -testi on tarkoitettu grampositiivisten sauvabakteereiden nimeämiseen, ja API-rapid ID 32 A on tarkoitettu anaerobibakteereiden tunnistukseen ja nimeämiseen. Testiliuskojen testikaivoihin pipetoidaan tietyn McFarlandin standardin mukaisesti bakterisuspensiota, riippuen testiliuskasta. API-testi-liuskoja inkuboidaan 37 °C:n lämpötilassa 4 - 24 tuntia testin ohjeesta riippuen. (bioMérieux 2009a.) Tulosten tulkinnassa käytetään API-koodia, joka tulee jokaisen kolmen peräkkäisen testin positiivisista tuloksista (Penttilä 2004, 357). API-testeistä saadaan tulokset, jotka tarkistetaan APIweb- tietokannasta. APIweb-tietokanta antaa numerokoodin ja nimen tutkittavalle bakteerille sen entsyymaattisten reaktioiden perusteella. (bioMérieux 2009b).

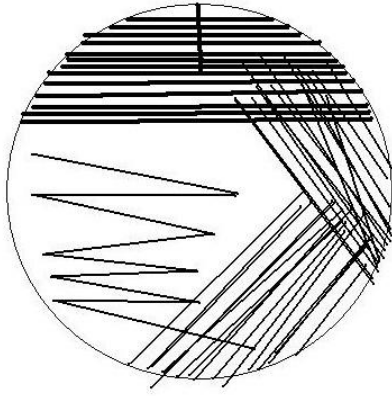
Vitek2 on automaatti, joka tekee bakteerin tunnistuksen entsyymaattisten reaktioiden perusteella, osoittamalla bakteerin sokereiden fermentaatioita ja entsyymiaktiivisuuden. Vitek2-analysaattori tekee myös herkkyysmäärittelyn automaattisesti. Automaatti tarvitsee vakioitunutta bakterisuspensiota jokaisella mittauskerralla, jotta automaatti toimii asianmukaisesti. Bakterisuspensio on tietty määrä keittosuolaliuosta ja bakteerimassaa,

suspension vahvuutta mitataan McFarlandin standardin mukaisesti. Suspensio laitetaan Vitek2-analysaattorin telineeseen. Laite imee bakteerisuspension tunnistuskorttiin, josta tekee vielä tarvittavan bakteerisuspensiolaimennoksen. Samalla laite imee suspension herkkyysmäärityskorttiin. Tunniste- ja herkkyyskortit syötetään samassa telineessä Vitek2-analysaattoriin, mihin on aikaisemmin asetettu bakteerisuspensio. Analysaattori analysoi kortit 4-16 tunnin kuluttua ja ilmoittaa mikä bakteeri on kyseessä ja tämän lääkeherkkyden. Analysaattorin analysoidessa muita kortteja, voi laitteeseen syöttää lisää kortteja. Valmiit kortit Vitek2-laite poistaa automaattisesti itse. Tunniste- ja herkkyyskortit valitaan tutkittavan bakteerin mukaan. (Nissinen 2008, 195-196.)

4.5 Bakteerien viljely ja siihen käytettävät elatusmaljat

Diagnostisen bakteriologian perusmenetelmänä käytetty bakteeriviljely on säilyttänyt asemansa, koska sen etuina ovat tarvittavan välineistön halpuus ja yksinkertaisuus. Viljeltyjä bakteerikantoja on helppo tutkia tarkemmin erilaisilla tunnistustesteillä ja lisäksi voidaan määrittää bakteereille mikrobilääkeherkkyksiä. Viljelytutkimuksia voidaan osittain porrastaa. Esimerkiksi negatiiviset virtsaviljelyt voidaan seuloa ja vain positiiviset eli kasvavat näytteet lähetetään jatkotutkimukseen mikrobiologian laboratorioon. (Hedman ym. 2010, 40.)

Puhdasviljelytekniikkaa tarvitaan erottamaan erilaiset bakteerilajit ja -kannat toisistaan bakteeriviljelynäytteistä. Periaatteena puhdasviljelyssä on laimentaa lähtömateriaalia niin pitkälle, että kiinteän elatusaineen pinnalle saadaan erillisiä ja yksittäisiä bakteeripesäkkeitä. Käytännössä viljely tapahtuu niin kutsutulla hajotusmenetelmällä. Hajotusmenetelmässä alkuperäistä näytettä levitetään aluksi vain pienellä osalla elatusmaljaa ja edelleen viljelysauvaa apuna käyttäen koko elatusmaljan pinnalle. Viimeisellä hajotusalueella ei ole enää jäljellä kun vain murto-osa näytteen bakteereista. Bakteerit lisääntyvät elatusmaljalla nopeasti jakaantumalla kahtia, ja ne muodostavat näin silmännähtäviä pesäkkeitä vajaan vuorokauden aikana. Kukin bakteeripesäke on lähtöisin yhdestä samasta solusta. Puhdasviljelmä saadaan aikaan, kun siirretään pesäke kasvamaan uudelle elatusmaljalle. (Hedman ym. 2010, 41.) Kuvassa 1 on havainnollistettu hajotusviljelyn periaate.



Kuva 1. Hajotusviljely (mukaillen Hedman ym. 2010, 41).

Elatusmaljat eli kiinteä elatusaine valmistetaan siten, että hydytetään nestemäinen elatusaine agarille. Se valetaan sen jälkeen pyöreälle muoviselle elatusmaljalle. Patogeenisten bakteerien kasvuvaatimukset ovat erilaisia. Toiset bakteerit ovat huomattavasti vaativampia, ja ne tarvitsevat kasvualustakseen runsaasti erilaisia kasvutekijöitä. Elatusaineessa ravinteina käytetään erilaisia liha- ja hiivauutteita sekä peptoneja, jotka ovat osittain hydrolysoituneita proteiineja. Usein elatusmaljoihin lisätään rikasteeksi defibrinoitua hevosen tai lampaan verta. Verimaljoilla on nähtävissä joillekin bakteereille tyypillinen hemolyysi pesäkkeiden ympärillä. Ruskea suklaa-elatusmalja on veri-elatusmaljaakin rikkaampi kasvualusta, koska sisältää kuumentamalla hajotettua verta. Useimmat aerobiset patogeenit kasvavat veri- ja suklaamaljoilla, ja siksi näitä maljoja kutsutaankin yleiselatusaineiksi. Näiden lisäksi on käytettävissä erikoistarkoituksiin lukuisia erottelevia ja selektiivisiä elatusaineita. Erotteleva elatusmalja auttaa bakteerin alustavassa tunnistuksessa. Selektiivistä elatusmaljaa käytetään silloin, kun halutaan etsiä vain tiettyä taudinaiheuttajaa ja samalla estää häiritsevien bakteerien kasvu. (Hedman ym. 2010, 41.)

ABA-elatusmalja on rikas elatusmalja anaerobibakteerin kasvatukseen. ABA-elatusmalja sisältää tarkasti valittuja aineita, jotka tukevat anaerobibakteerin kasvua. Yhtenä aineena on esimerkiksi tärkkelys, joka imee itseensä mahdolliset myrkylliset metaboliitit. Lisäksi elatusmalja sisältää hiivauutetta, joka toimii vitamiinien lähteenä. ABA-elatusmaljaa tulee käyttää vain *in vitro* -tutkimuksissa. Elatusmaljaa ei saa käyttää, jos se on vanhentunut, vaihtanut väriä tai siinä on huomattavissa minkäänlaista huonontumaa. (Bridson 1998.)

ChromID CPS® -elatusmalja on virtsan bakteerien kasvatukseen ja tunnistukseen tarkoitettu elatusmalja. Sen avulla voidaan tunnistaa esimerkiksi *Escheria coli*, *Enterococcus* ja *Klebsiella*. ChromID CPS®-elatusmalja on rikas elatusalusta, joka koostuu erilaisista proteiinijohdannaisista ja kolmesta kromogeenisestä substraatista. Kromogeeniset substraatit mahdollistavat spesifisten entsyymien havaitsemisen. Elatusaineeseen on laitettu lisäksi tryptofaania, mikä parantaa indolin havaitsemista. (bioMérieux 2011.)

4.6 Antibioottiprofiili

Bakteerien lääkeherkkyysmäärityksellä on tarkoituksena tutkia hankittua resistenssiä. Herkkyysmääritys tulee aina tehdä sellaisille lääkeaineille, joille kyseinen bakteeri on luonnostaan herkkä. Yleensä herkkyysmääritys suoritetaan siten, että mitataan bakteerikasvun estyminen tutkittavan lääkkeen läsnä ollessa. Mittaamisesta saadaan tulokseksi lukuarvo. Lääkepitoisuus, joka vähintään tarvitaan bakteerin kasvun estämiseksi, saadaan määrittämällä pienin kasvua estävä lääkepitoisuus, MIC (minimum inhibitory concentration). Yksittäisen potilaskannan MIC-määritykseen käytetään kaupallista E-testiä. Toinen käytettävä herkkyysmääritysmenetelmä on niin kutsuttu kiekkomenetelmä. Se on suhteellinen menetelmä, jossa estorenkään halkaisija (ERH) on lääkeherkkyuden mittaustulos. Suomessa käytetään kumpaakin menetelmää, joista perusmenetelmänä käytetään kiekkomenetelmää. (Nissinen 2006, 202.)

Kiekkomenetelmässä määritetään lääkeaineen tietyn pitoisuuden estovaikutus tutkittavan kannan kasvulle. Lääkeaineet on annosteltu yleensä halkaisijaltaan 6 millimetrin kiekkoihin. Tutkittavasta bakteerikannasta tehdään standardisoitu solususpensio, joka siirrostetaan herkkyysmääritys elatusmaljalle. Tämän jälkeen elatusmaljalle lisätään valitut lääkeainekiekkot. Elatusmaljaa inkuboidaan 18 tuntia, jonka jälkeen mitataan lääkeainekiekkojen aikaansaamat estorenkaat millimetreinä. (Penttilä 2004, 357.)

Viime vuosien aikana E-testiä on käytetty yhä useammin kliinisessä mikrobiologiassa, kun tutkitaan anaerobibakteereita, sen hyvän soveltuvuuden takia. Tutkittavasta bakteerista tehdään 0,5 McFarlandin vahvuinen bakteerisuspensio, joka levitetään elatusmaljalle. Muovinen, tiettyä antibioottia sisältävä E-testiliuska asetetaan

elatusmaljalle. 24 - 48 tunnin inkubaation jälkeen E-testiliuskan muodostama ellipsi luetaan elatusmaljalta. MIC-lukema luetaan ellipsin ja liuskaan merkittyjen MIC-arvojen risteyskohdasta. (Murray ym. 1999, 1668.)

I-, R- ja S-kirjaimilla esitetään bakteerien herkkyys antibiooteille. I tarkoittaa intermediate. Tätä ilmaisua käytetään, kun bakteeri on osittain herkkä antibiootille. R eli resistentti tarkoittaa sitä, että antibiootti on tehoton tutkittavalle bakteerille. S eli sensitiivinen merkitsee, että bakteeri on herkkä antibiootille. (Mustajoki & Kaukua 2012.)

Tutkimukseen valittiin neljä bakteerilääkettä: kelaleksiini, kefuroksiimi, mesillinaami ja penisilliini. Kefaleksiinilla on hyvä teho muun muassa *Staphylococcus aureukseen*, *Streptococcus pyogenekseen*, muihin hemolyyttisiin streptokokkeihin, peptostreptokokkeihin, pneumokokkiin ja klostrideihin. Kefaleksiiniä käytetään avohoidossa pääasiassa streptokokkien tai *Staphylococcus aureuksen* aiheuttamissa infektioissa, kuten ihoinfektioissa. Sitä voidaan käyttää myös haava- sekä akuuteissa virtsatieinfektioissa. Kefuroksiimilla on laaja antibakteerinen kirjo. Se tehoaa valtaosaan bakteereista, jotka aiheuttavat perusterveelle ihmiselle vaikean ja nopeasti etenevän yleisinfektion. Se onkin laajin sairaalassa käytetty bakteerilääke. Kefuroksiimia käytetään, kun aiheuttajabakteeri ei ole selvillä tai jos infektion sijaintikaan ei ole tiedossa. Mesillinaami eli amdinosiilliini on penisilliinijohdos. Se kuitenkin eroaa muista penisilliineistä vaikutusspektrinsä suhteen. Mesillinaami ei yleensä tehoa kovin hyvin grampositiivisiin bakteereihin, mutta se on erittäin tehokas gramnegatiivisille enterobakteereille. Sitä käytetäänkin Suomessa gramnegatiivisten enterobakteerien aiheuttamien virtsatieinfektioiden hoidossa. Penisilliini on peruslääke, jota käytetään hyvin monenlaisten infektioiden hoidossa. Peruspenisilliinit jaetaan kahteen ryhmään, G- ja V-penisilliineihin. G-penisilliini annetaan käytännössä aina laskimoon, koska se hajoaa mahalaukun matalassa pH:ssa. Siksi sitä käytetään lähinnä sairaaloissa. V-penisilliini on yksi käytetyimpiä bakteerilääkkeistä Suomessa, ja sitä käytetään pääasiassa tonsilliitin ja ylähengitysteiden bakteeri-infektioiden hoitoon. (Hedman ym. 137 - 149.)

5 Virtsan bakteeriviljely ja erikoisviljely U-Baktevi

Virtsan bakteeriviljely tehdään yleensä aamuvirtsasta tai vähintään neljä tuntia rakossa säilyneestä virtsasta. Näytteenotossa on noudatettava erityisesti puhtaussääntöjä, jotta näyte olisi luotettava. Huoneenlämmössä säilyneestä virtsasta ei saada oikeaa kuvaa virtsateiden bakteerimäärästä, koska bakteerit lisääntyvät nopeasti huoneenlämmössä. Tästä syystä näyte on tutkittava välittömästi. (Mustajoki & Kaukua 2012) Tutkimuksessa käytettävä virtsanäyte annetaan liitteen 6 Islabin virtsanäytteenotto-ohjeen mukaisesti.

Virtsanäytteestä otetaan bakteeriviljelynäyte pienellä steriilillä, vakioidulla silmukalla. Vakioidun silmukan sisään jää näytettä 1 mikrolitra. Silmukasta näyte siirretään kasvamaan elatusmaljalle. Elatusmaljat laitetaan lämpökaappiin + 37 °C:n lämpötilaan kasvamaan ja tulokset luetaan noin vuorokauden kuluttua viljelystä. Jos elatusmaljalla kasvaa yli 100 000 (10^5) bakteeria/ml, on se käytännössä aina tulehduksen merkki. Jos kasvua on 10 000 – 100 000 ($10^4 - 10^5$) bakteeria/millilitrassa, se on viitteellinen tulos mutta ei täysin varma bakteeritulehduksen merkki. Vielä epävarmempi tulos on 1000 – 10 000 ($10^3 - 10^4$) bakteeria/ml, mutta jos potilaalla on selvät oireen ja virtsassa on leukosyyttejä eli valkosoluja, se voi tarkoittaa tulehdusta. Virtsatietulehdusta ei ole, jos virtsanäytteessä on alle 1000 ($10^1 - 10^2$) bakteeria millilitrassa. Virtsatietulehduksessa elatusainemaljalle kasvaa yleensä vain yhtä bakteerilajia. Tällöin kyseessä on todennäköisesti tulehdus, koska yksi bakteerilaji aiheuttaa aina tulehduksen. Jos elatusmaljalla kasvaa useita erilaisia pesäkkeitä, bakteerit ovat tulleet virtsaamisen yhteydessä tai huonosta alapesusta. (Mustajoki & Kaukua 2012.)

U-BaktEVi-tutkimuksessa etsitään harvinaisia ja pieninä pitoisuuksina esiintyviä virsatieinfektion aiheuttajia, kuten urologisten ja immunosuppressiopotilaiden näytteitä. Virtsanäyte viljellään suklaa- ja kromogeeniselle elatusmaljalle 10 µl:n siirrostussilmukalla. Kliinisesti merkittävä bakteerikasvu tunnistetaan, arvioidaan kasvun määrä ja tehdään herkkyysmääritys. (Islab. 2012.) U-BaktEVi-tutkimusmenetelmällä pystytään toteamaan vähäiset, noin 10^2 bakt/ml bakteerimäärät. Kasvuvaatimuksilta vaativien mikrobien osoittamisen mahdollistaa rikas elatusalusta. Tämän takia U-BaktEVi-tutkimusta voidaan käyttää muuhunkin, kuin vain

virtsatieinfektion selvityksessä, esimerkiksi verenmyrkytys potilaan infektion taudinkuvan selvityksessä. (Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri 2012)

6 Tutkimuksen tarkoitus ja tehtävä

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli karakterisoida *Actinobaculum schaalii* -kantoja. Tutkittavana oli seitsemän eri *A. Schaalii* -kantaa, jotka on löydetty veriviljelynäytteistä Islabin alueelta. Tarkoituksena oli tehdä kannoista viljelyt eri maljoille, saada API- ja Vitek-koodit, tehdä gramvärjäykset, identifikaatiotestit ja tutkia antibioottiherkkyydet. Lisäksi on tarkoituksena tehdä puhtaasti otettuun virtsaan erivahvuiset laimennokset bakteerikannoista ja viljellä ne ABA-elatusmaljalle, koska halusimme selvittää, voidaanko kyseessä olevaa bakteeria löytää U-baktEVi -erikoisvirtsaviljelyllä.

Tutkimustehtäviä työssämme olivat:

1. Tutkia missä olosuhteissa *A. schaalii* kasvaa.
2. Löytää *A. schaalii* -bakteerikannoille yhtenäisiä ominaisuuksia sen tunnistamiseksi.

7 Tutkimuksen menetelmälliset valinnat

Tämä tutkimus oli kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus. Määrällisessä tutkimuksessa on tärkeää tutkijan objektiivisuus eli tutkijan puolueettomuus. Tutkija ei siis vaikuta millään tavoin tutkimustuloksiin. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa halutaan tietoa valitusta muuttujasta. Työssämme muuttujana ovat *A. schaalii*in seitsemän eri kantaa. Määrällinen tieto saadaan selville niin kutsutun mittarin avulla. Mittareita määrällisessä tutkimuksessa ovat haastattelu, kysely- ja havainnointilomake. (Vilkkä 2007, 13.) Tutkimuksessa on kokeellisen tutkimuksen piirteitä. Kokeellisessa tutkimuksessa mitataan yhden käsiteltävän muuttujan vaikutusta toiseen muuttujaan (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2008, 130). Työssä näytteeksi valittiin seitsemän *A.*

schaalii -bakteerikantaa. Niitä analysoitiin erilaisten koejärjestelyjen avulla. Koejärjestelyt olivat tarkkaan harkitut ja suunnitellut.

Kvantitatiivinen menetelmässä saatua tietoa tarkastellaan numeerisesti eli tutkittavia asioita ja niiden ominaisuuksia käsitellään yleisesti kuvaillen numeroiden avulla. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkija saa tutkimustiedon numeroina tai ryhmittämällä laadullisen aineiston numeeriseen muotoon. Tutkija tulkitsee ja selittää olennaisen numerotiedon sanallisesti ja kuvaa, kuinka asiat liittyvät toisiinsa tai eroavat toistensa suhteen. Luonnon ilmiön tutkiminen kvantitatiivisessa tutkimusmenetelmällä on mahdollista siten, että tutkittavat asiat muutetaan rakenteellisesti. Työssä tutkimus strukturoidaan eli tutkittava asia ja sen ominaisuudet suunnitellaan ja vakioidaan. Tutkimus on kartoittava eli tavoitteena on etsiä uusia näkökulmia. Tarkasteltavasta asiasta voidaan löytää keskeisiä malleja, teemoja, luokkia ja tyyppittelyjä. Perusjoukko on kohdejoukko, jota tutkimuksessa halutaan tutkia ja tehdä siitä päätelmiä. Otos on havaintoyksikön joukko, joka edustaa perusjoukkoa mahdollisimman hyvin. (Vilka 2007, 14,20,51.)

Perusjoukkona on kaikki löydetyt *A. schaalii* -bakteerikannat. Otoksena tutkimuksessa tutkittiin Suomesta Islabin eri toimipisteistä löydettyjä *A. schaalii* -bakteerikantoja. Tutkimuksessa ei saatu varsinaisia numeerisia tuloksia. Tulokset ilmoitettiin mikrobiologiassa käytetyillä menetelmillä. Esimerkiksi maljojen kasvun merkitseminen yhdellä +:lla, tarkoittaa bakteerin kasvua ensimmäisellä siirrostusalueella ja kahdella ++:lla, kun bakteeri kasvaa kahdella siirrostusalueella. Toimintaympäristönä tutkimuksessa oli Mikkelin klinisen mikrobiologian laboratorio. Laboratorion henkilökuntaan kuuluu seitsemän laboratoriohoitajaa, mikrobiologi sekä mikrobiologian ylilääkäri.

7.1 Aineiston hankinta ja käsittely

Aineistona tutkimuksessa toimi seitsemän eri *Actinobaculum schaalii* -bakteerikantaa. Nämä kannat on löydetty veriviljelynäytteestä Islabin alueelta. *A. schaalii* -bakteerin eri kannat on saatu tutkimukseen Islabin toimipisteistä: Joensuusta, Kuopiosta, Mikkelistä ja Savonlinnasta. Toimipisteet toimittivat *A. schaalii* -bakteerikannat tutkimusta varten Mikkelin klinisen mikrobiologian laboratorioon, jossa *A. schaalii* -bakteerikannat säilytettiin pakastettuna.

Bakteerikannat sulatettiin ja viljeltiin puhtasviljelynä elatusmaljoille tutkimusta varten. Kliinisessä mikrobiologian laboratoriossa työskentelevä laboratoriohoitaja puhdisti *A. schaalii* -bakteerikannat, niin että elatusmaljoilla kasvoi vain *A. schaalii* -bakteeria.

7.2 Työn toteutus

Työn esitestaus suoritettiin Mikkelin klinisen mikrobiologian laboratoriossa 5.-8.3.2012. Esitestauksessa käytettiin kahta sattumanvaraisesti valittua *A. schaalii* -bakteerikantaa. Esitestauksessa testattiin tutkimussuunnitelman toimivuus ja perehdyttiin tutkimuksen tekniseen toteutukseen. Havaitut virhetekijät korjattiin, jotta työ pystyttiin toteuttamaan mahdollisimman virheettömästi ja luotettavasti. Esitestauksessa testattiin *A. schaalii* -bakteerin kasvukykyä NaCl-liuoksessa laimennossarjaa varten ABA- ja CPS3-elatusmaljoilla. Laimennossaran esitestauksessa huomattiin, ettei *A. schaalii* -bakteeri kasva NaCl-liuoksessa. Tästä syystä tämä osio laimennossarjan toteutuksesta poistettiin tutkimuksesta.

Varsinainen tutkimus suoritettiin 9.-13.4.2012 Mikkelin klinisen mikrobiologian laboratoriossa. Tutkimuksessa tutkittiin kaikkia seitsemää *A. schaalii* -bakteerikantaa. Tutkimuksessa asiantuntija-apuna olivat klinisen mikrobiologian laboratoriohoitajat, mikrobiologi sekä mikrobiologian ylilääkäri. Tutkimus oli tärkeä tehdä, koska aikaisempaa tutkimusta *A. schaalii* -bakteerista ei ole Suomessa tehty. Tutkimuksessa tutkittiin *A. schaalii* -bakteerin ominaisuuksia ja käyttäytymistä eri olosuhteissa. *A. schaalii* -bakteerikannat nimettiin järjestysnumeroin: kanta 1, kanta 2, kanta 3, kanta 4, kanta 5, kanta 6 ja kanta 7.

7.2.1 Maljojen viljely

Kaikki seitsemän eri *A. schaalii* -bakteerikantaa viljeltiin viljelysauvalla veri-, suklaa- ja ABA-elatusmaljoille. Elatusmaljat merkitään *A. schaalii* -bakteerikantojen nimen mukaan. Aerobisena elatusmaljana tutkimuksessa oli veri-elatusmalja. Aerobiset elatusmaljat laitettiin kasvamaan +37 °C:n lämpökaappiin kahdeksi vuorokaudeksi. Mikäli veri-elatusmaljoissa ei näkynyt bakteerikasvustoa ensimmäisen vuorokauden jälkeen, veri-elatusmaljoja kasvatettiin vielä toinen vuorokausi.

Anaerobisina elatusmaljoina tutkimuksessa olivat veri-, suklaa- ja ABA-elatusmaljat. Anaerobiset elatusmaljat laitettiin kasvamaan hapettomiin olosuhteisiin kahdeksi vuorokaudeksi, + 37 °C:n lämpökaappiin.

7.2.2 Mikrobiologiset tunnistustestit

Mikrobiologiset identifikaatiotestit: katalaasi-, oksidaasi-, indoli- ja alfa-glukosidaasitestit tehtiin puhdasviljelymaljoilta. Identifikaatiotestit tehtiin sen takia, jotta voitiin olla varmoja, että tutkittavat bakteerikannat ovat samaa bakteeria eli *A. schaalii* -bakteeria.

Gramvärjäystä varten poimittiin maljoilta bakteeripesäkkeitä viljelysauvalla ja siirrettiin ne objektilasille, jossa ne sekoitettiin viljelysauvalla pieneen määrään Aquaa. Preparaatin annettiin kuivua huoneenlämmössä, jonka jälkeen näyte kiinnitettiin lämpölevyllä. Kiinnityksen jälkeen näyte värjättiin gramvärjäysohjeen mukaisesti. Värjäyksen valmistuttua preparaatti tutkittiin mikroskoopilla 100-kertaisella suurennoksella.

API-Coryne testeihin tarvittavat bakteerisuspensiot valmistettiin siten, että lisättiin riittävästi bakteeripesäkkeitä API suspension medium -ampulliin. Bakteeripesäkkeet kerättiin elatusmaljalta viljelysauvalla ja liuotettiin ampulliin. Bakteerisuspensio tarkistettiin sameuden perusteella, vertaamalla sitä 6 McFarlandin standardiin oikean vahvuuden tarkistamiseksi. Tämä jälkeen pipetoitiin suspension API-Coryne testiliuskoille työohjeiden mukaisesti. API-Coryne testi ja perämalja laitettiin kasvamaan yhdeksi vuorokaudeksi + 37 °C lämpökaappiin. Seuraavana päivänä API-Coryne -testi luettiin ylilääkärin kanssa ja saatiin *A. schaalii* -bakteerikannoille API-numerokoodi. Lisäksi tarkastettiin, että perämaljalla oli kasvua. Mikäli perämaljalla ei näkynyt kasvua, ei API-testiä voinut pitää luotettavana.

API-rapid ID 32 A -testeihin bakteerisuspensiot valmistettiin samoin periaattein kuin API-Coryne-testeihin valmistetut bakteerisuspensiot. API-rapid ID 32 A -testien bakteerisuspensiot tarkistettiin 4 McFarlandin standardin perusteella. Pipetoitiin bakteerisuspension työohjeen mukaisesti testiliuskoihin. API-rapid ID 32 A -testit

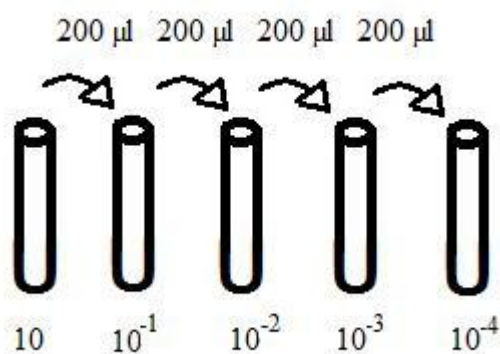
laitettiin inkuboitumaan + 37 °C:n lämpökaappiin. Tulokset luettiin neljän tunnin jälkeen ylilääkärin kanssa. Tulokset merkittiin ylös laboratoriopäiväkirjaan.

Vitek-numerokoodit saatiin Vitek2-analyssaattorilla. Vitek-määrittystä varten tehtiin 2 McFarlandin vahvuinen bakteerisuspensio. *A. schaalii* -bakteeripesäkkeet otettiin Vitek-määrittystä varten veri-elatusmaljalta. Bakteerisuspension vahvuus mitattiin erillisellä Vitek2-analyssaattoriin kuuluvalla mittarilla. Vitek-määrittäyksessä käytettiin gram-positiivisten anaerobibakteerien tunnistuskortteja.

Antibioottiherkkyksiä varten otettiin puhtasviljelymaljoilta kolmesta viiteen erillistä *A. schaalii* -bakteeripesäkettä viljelysauvalla ja sekoitettiin bakteerit keittosuolaliuokseen. Tavoitteena oli tehdä 0,5 McFarlandin vahvuinen bakteerisuspensio. Bakteerisuspension valmistuttua laitettiin bakteerisuspensioon pumpulipuikot, joiden avulla bakteerisuspensio dreijattiin tasaisesti ABA-elatusmaljalle. Dreijauksen jälkeen maljoille laitettiin kefalexin ja mecillinam antibioottikiekot sekä kefuroksiimi- ja penisilliini-E-testiliuskat. Herkkyysmaljoja kasvatettiin anaerobioosissa kaksi vuorokautta + 37 °C:n lämpökaappissa. Tulokset luettiin kahden vuorokauden kuluttua, mittaamalla estorenkään halkaisija ja E-testin muodostama ellipsi.

7.2.3 Laimennossarjojen viljely

Työssä selvitettiin, missä pitoisuuksissa *A.schaalii* -bakteeri kasvaa virtsassa. Tarkoituksena oli tehdä keinotekoisia virtsanäytteitä, joihin siirrettiin eri määrä bakteereja. Tutkimus tehtiin kahdesta parhaiten kasvaneesta *A.schaalii* -bakteerikannasta laimennos sarjat 10 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ja 10^{-4} . Laimennossarjat aloitettiin suodattamalla virtsa bakteerisuodattimen läpi. Otettiin viisi koeputkea johon jokaiseen pipetoitiin 2 ml suodatettua virtsaa. Putket merkittiin 10 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ja 10^{-4} . Ensimmäiseen 10 -putkeen lisättiin 3 *A.schaalii* -bakteeripesäkettä. 10 -putkesta siirrostettiin 200 µl: a näytettä 10^{-1} -putkeen ja niin edelleen. Kuva 2 havainnollistaa virtsan laimennossarjaa.



Kuva 2. Virtsan laimennossarja (Kuva: Anni Leppänen ja Johanna Seppälä).

Valmiit virtsan ja *A. schaalii* -bakteerin laimennossarjat viljeltiin ABA- ja CPS3-elatusmaljoille. Lisäksi viljeltiin nolla-näytteet ABA- ja CPS3-elatusmaljoille. Nolla-näyte oli bakteerisuodatettua virtsaa, mihin ei ollut lisätty *A. schaalii* -bakteeria. Tällä varmistettiin, että virtsassa ei ollut epäpuhtauksia, jotka olisivat voineet haitata laimennossarjan tulkintaa. ABA-elatusmaljoja kasvatettiin anaerobisissa olosuhteissa + 37 °C:n lämpökaappissa kaksi vuorokautta. CPS3-elatusmaljoja kasvatettiin aerobisissa olosuhteissa + 37 °C:n lämpökaappissa kaksi vuorokautta. Maljoihin merkittiin, mikä kahdesta kannasta oli kyseessä ja mikä laimennossarja. Tällä menetelmällä selvitettiin, voidaanko BaktEVi-tutkimus muuttua sellaiseen muotoon, että se sisältää myös ABA-elatusmaljan.

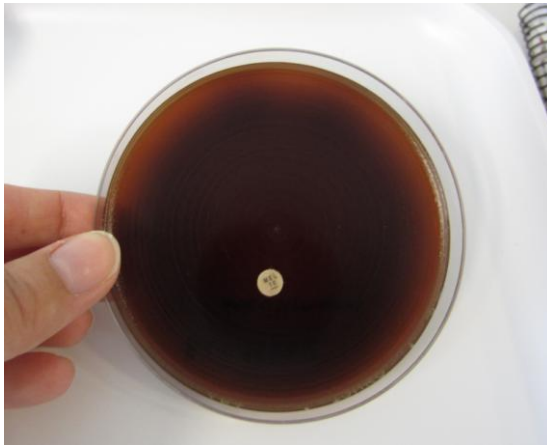
7.2.4 Maljojen lukeminen

Puhdasviljelymaljoissa tarkasteltiin pesäkkeiden määrää. Pesäkkeiden määrä ilmoitettiin +----+. Kasvusto merkittiin yhden +:n verran, jos kasvusto kasvoi vain yhdessä siirrostuksessa. Kasvusto merkittiin kahden ++:n verran, jos kasvusto oli levinnyt seuraavalle siirrostusalueella ja kolmen +++:n verran, jos kasvusto kasvoi koko elatusmaljalla. Maljoilta katsottiin myös kasvuston ja pesäkkeiden ulkonäköä, esimerkiksi väri, koko ja muoto. Otettiin huomioon myös mahdollinen kasvuston tuoksu ja se merkittiin tutkimuspäiväkirjaan.

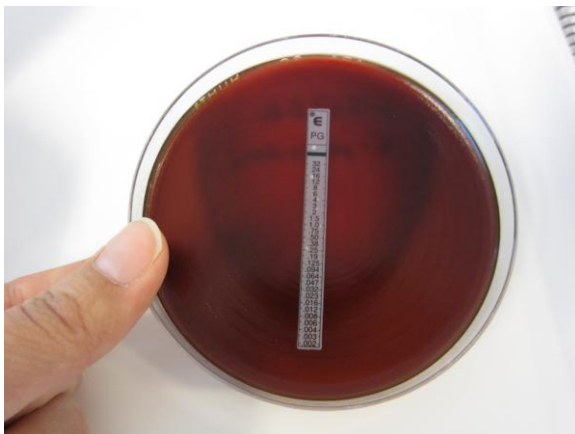
Virtsan laimennossarjan elatusmaljoista tutkittiin kasvustot jokaisesta laimennossarjan elatusmaljalta. Kasvut merkittiin bakteeripesäkkeiden määrän mukaan. Jos

elatusmaljalla ei ollut kasvua, merkitään ”ei kasvua”. Jos elatusmaljalla oli alle 10 bakteeripesäkettä, merkittiin tulos ” 10^3 ”. Jos elatusmaljalla oli 10 -100 bakteeripesäkettä, merkittiin tulos ” 10^{4-5} ”. Jos elatusmaljalla oli yli 100 bakteeripesäkettä, tulos merkittiin 10^5 .

Kiekkoherkkyystulokset luettiin herkkyysmaljoilta mittaamalla estorenkään halkaisija. Estorenkään halkaisija ilmoitettiin millimetreinä. E-testin MIC-arvot luetaan testiliuskan kasvustoon muodostamasta ellipsin reunasta ja tulokset ilmoitetaan mg/l. Kuvassa 3 on kuvattuna yhden tutkittavan A. schaalii -bakteerikannalle tehty kiekkoherkkyysmäärittelmä. Kuvassa 4 nähdään yhden A.schaalii bakteerikannan E-testin muodostama ellipsi.



Kuva 3. Kiekkoherkkyys. (Kuva: Anni Leppänen ja Johanna Seppälä).



Kuva 4. E-testi. (Kuva: Anni Leppänen ja Johanna Seppälä).

8 Tulokset

Tulokset kirjattiin huolellisesti laboratoriapäiväkirjaan ja tulosten mahdolliset tulosteet säilytettiin erillisessä tuloskansiossa, joka yhdistettiin laboratoriapäiväkirjaan. Tutkimustulosten perusteella analysoitiin *A.schaalii* -bakteerikantojen yhteneväisyyttä, joka auttaa *A.schaalii* -bakteerin tunnistamista kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Laimennossarjan tulosten perusteella arvioitiin, voidaanko BaktEvi-tutkimukseen sisällyttää ABA-elatusmalja *A.schaalii* -bakteerin löytämiseksi helpommin virtsanäytteistä.

Tutkimustulokset on esitetty tutkimuskohtaisesti. Tuloksista nähdään, miten *A. schaalii* kasvaa eri elatusmaljoilla, anaerobisissa ja aerobisissa olosuhteissa. Yhtenä tulosten osiona ovat API-testien ja VITEK-analysointilaitteen tulokset. Seuraavana käsitellään gram-värijäyksten tulokset, identifikaatiotestit, antibioottiherkkyysien tulokset ja viimeisenä virtsan laimennossarjojen tulokset. Tutkimuksessa käytetyt *A. schaalii* -bakteerikannat on merkitty tuloksiin järjestysnumeroin 1. – 7. Bakteerikantojen tarkemmat nimet ovat vain tutkijoiden tiedossa.

8.1 Maljojen tarkastelu ja vertailu

Yhden vuorokauden inkubaation jälkeen kaikilla tutkittavilla maljoilla kasvoi harsomainen ja utuinen pieni kasvusto. Taulukoissa 1 ja 2 on kuvattuna kahden vuorokauden *A. schaalii* -kasvustot.

Taulukko 1. Kahden vuorokauden kasvu anaerobiosuhteissa.

Kanta	ABA-elatusmalja	Veri-elatusmalja	Suklaa-elatusmalja
1	+++	+++	++
2	+++	+++	++
3	+++	+++	+++
4	+++	+++	++
5	+++	++	++
6	+++	+++	+
7	+++	+++	+++

Taulukossa 1 on merkitty seitsemän *A. schaalii* -bakteerikannan kasvut kolmella eri elatusmaljalla. Elatusmaljoja on kasvatettu kaksi vuorokautta anaerobisissa olosuhteissa. Kasvu, joka on merkitty yhdellä +:lla tarkoittaa, että *A. schaalii* -bakteeri kasvaa vain ensimmäisellä siirrostusalueella. Kaksi ++:lla tarkoittaa, että bakteeri kasvaa kahdella siirrostusalueella. Mikäli bakteeri kasvaa jokaisella siirrostusalueella, se merkitään kolmella +++:lla.

Taulukko 2. Kahden vuorokauden kasvu veri-elatusmaljalla aerobisissa olosuhteissa.

Kanta	Veri-elatusmalja
1	+++
2	+++
3	++
4	++
5	+
6	+++
7	+++

Taulukossa 2 on kuvattuna *A. schaalii* kasvu veri-elatusmaljalla kahden vuorokauden inkubaation jälkeen. Inkubaatio tapahtui 37 °C:n lämpötilassa aerobisissa oloissa. *A. schaalii* -bakteerin kasvu veri-elatusmaljalla on merkitty taulukkoon + - +++.

8.2 API-testien ja Vitek2:n tulokset

Tunnistustesteinä käytettiin API-Rapid ID 32 A-, API-Coryne-testiä ja VITEK2-analysaattoria. Taulukoissa 1, 2 ja 3 on merkitty eri *A. schaalii* -bakteerikantojen antamat koodit ja bakteerien nimet.

Taulukko 3. API-rapid ID 32-tulokset.

Kanta	API-numerokoodi	Bakteerin nimi
1	0436077717	Capnocytophaga spp
2	0426477717	Capnocytophaga spp
3	0410477717	Micromonas micros
4	0436477717	Capnocytophaga spp
5	0436477717	Capnocytophaga spp
6	0416477717	Capnocytophaga spp
7	0414477717	Capnocytophaga spp

Taulukosta 3 nähdään, että tutkittavat *A. schaalii* -bakteerikannat antavat API-rapid ID 32-testeissä suurimmalle osalle kannoista nimeksi *Capnosytophaga spp.*

Taulukko 4. API-Coryne-tulokset.

Kanta	API-numerokoodi	Bakteerin nimi
1	2050721	Gardenella vaginalis
2	0010721	Gardenella vaginalis
3	2050721	Gardenella vaginalis
4	2050721	Gardenella vaginalis
5	0050220	Gardenella vaginalis
6	2050721	Gardenella vaginalis
7	0050721	Listeria spp

Taulukosta 4 nähdään, että tutkittavat *A. schaalii* -bakteerikannat antavat API-Coryne-testeissä suurimmalle osalle kannoista nimeksi *Gardenella vaginalis*.

Taulukko 5. Vitek-tulokset.

Kanta	Vitek-numerokoodi	Bakteerin nimi
1	6625100010401	Actinomyces meyeri
2	2601000000401	Low discrimination
3	6764100010641	Actinomyces meyeri
4	6727102010661	Unidentified organism
5	6625000010401	Low discrimination
6	6765100010441	Actinomyces meyeri
7	6724100010641	Actinomyces meyeri

Taulukossa 5 nähdään Vitek-analysointorin antamat tulokset tutkittaville *A. schaalii*-bakteerikannoille. Suurimmalle osalle kannoista Vitek-analysointori antoi bakteerille nimeksi *Actinomyces meyeri*.

8.3 Gramvärjäyksen tulokset

A. schaalii gramvärjäyksiä tutkittiin valomikroskoopilla. Havaittiin, että *A. schaalii* on kokin näköinen ja grampositiivinen sauvabakteeri. *A. schaalii* esiintyi kasoissa ja yksittäin eli sillä ei ole selkeää asettumista. Kaikki tutkittavat bakteerikannat näyttivät samanlaisilta.

8.4 Identifikaatiotestien tulokset

Kaikille seitsemälle kannalle tehtiin seuraavat identifikaatiotestit: katalaasi-, oksidaasi-, indoli- ja α -glukosidaasi-testi. Taulukossa 6 on esitetty tunnistustestien tulokset.

Taulukko 6. Identifikaatiokaatiotestien tulokset.

Kanta	Katalaasi	Oksidaasi	Indoli	α -glukosidaasi
1	-	-	-	+
2	-	-	-	+
3	-	-	-	+
4	-	-	-	+
5	-	-	-	+
6	-	-	-	+
7	-	-	-	+

8.5 Antibioottiherkkyysien tulokset

Antibioottiherkkyyksissä vertailtiin seitsemän *A. schaalii* -bakteerikantojen antibioottiherkkyksiä kefalexin-, kefuroksiini-, mecillinam- ja penisilliini-antibiooteille. Herkkyystulokset on esitetty taulukossa 7.

Taulukko 7. Antibioottiherkkyudet

Kanta	Kefalexin (mm)	Kefuroksiimi (mg/l)	Mecillinam (mm)	Penisilliini (mg/l)
1	33	alle 0,016	38	0,006
2	38	alle 0,016	35	0,004
3	26	alle 0,016	28	0,004
4	31	alle 0,016	30	alle 0,004
5	32	alle 0,016	30	0,003
6	35	alle 0,016	35	0,008
7	31	alle 0,016	35	0,004

8.6 Virtsan laimennossarjojen tulokset

Tutkimuksessa haluttiin tutkia, kuinka hyvin bakteerisuodatettuun virtsaan lisätty *A. schaalii* -bakteeri kasvaa ABA- ja CPS3-elatusmaljalla. CPS3-elatusmaljalla ei ollut huomattavissa minkäänlaista kasvua. ABA-elatusmaljojen kasvut on esitetty taulukossa 8. Lisäksi viljeltiin ABA- ja CPS3-elatusmaljoille nollanäytteet. Nolla-näytteisiin oli viljelty ainoastaan bakteerisuodatettua virtsaa, ilman *A. schaalii* -bakteeria. Nolla-näytteissä ei havaittu bakteerikasvua lainkaan.

Taulukko 8. Virtsan laimennossarjat ABA-maljoilla.

laimennos	10	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
kanta 6.	10^5	10^5	10^{4-5}	10^{4-5}	10^3
kanta 3.	10^5	10^5	10^{4-5}	10^{4-5}	10^3

9 Johtopäätökset

Johtopäätöksissä käsitellään tutkimusten tuloksia ja vertaillaan niitä aikaisempiin samantapaisiin tutkimuksiin. Lisäksi vertaillaan *A. schaalii* -bakteerikantojen käyttäytymistä ja pyritään löytämään yhteneväisyyksiä kaikille seitsemälle eri kannalle.

9.1 Elatusmaljat

Fenduklyn ja Ostermanin (2005) tutkimuksessa *A. schaalii* -bakteeria inkuboitiin veri-elatusmaljalla 37 °C:n lämpötilassa anaerobiosuhteissa kahdesta kolmeen vuorokautta. Inkubaation jälkeen maljoilla kasvoi *A. schaalii* -bakteeria. Tutkimuksessa vertailimme kolmea erilaista elatusmaljaa, ABA-, suklaa- ja veri-elatusmaljaa. Vertailun kohteena oli, kuinka *A. schaalii* käyttäytyy eri elatusmaljalla. Kuten taulukosta 1 nähdään, *A. schaalii* jokainen kanta kasvoi parhaiten anaerobisissa olosuhteissa ABA-elatusmaljalla. *A. schaalii* kasvoi toiseksi parhaiten veri-elatusmaljalla ja huonoiten

suklaa-elatusmaljalla. Merkittävää kuitenkin oli, että *A. schaalii* kasvoi jokaisella elatusmaljalla, koska aikaisemmissa tutkimuksissa *A. schaalii* -bakteerin kasvua ei ole tutkittu suklaa-elatusmaljalla.

Bankin ym. (2010) tutkimuksen mukaan *A. schaalii* kasvoi veri-elatusmaljalla, harmaina pieninä pesäkkeinä noin 1 mm:n kokoisina. Tutkimuksessa ABA-elatusmaljalla *A. schaalii*-pesäkkeen koko oli noin 0,5 mm – 2 mm. Pesäkkeet olivat väriltään keltaharmahtavia, muodoltaan kuperia ja selväreunaisia. Elatusmaljoja avatessa havaittiin kitkerä tuoksu, joka oli verrattavissa kissan virtsan hajuun. Veri- ja suklaa-elatusmaljalla pesäkkeet olivat samanlaisia kuin ABA-elatusmaljalla, mutta hieman pienempikokoisia. Veri- ja suklaa-elatusmaljalla *A. schaalii* kasvusto oli vihertävää.

Fenduklyn ja Ostermanin (2005) tutkimuksessa *A. schaalii*:a inkuboitiin kahdesta kolmeen vuorokautta 37 °C:ssa aerobisissa olosuhteissa veri-elatusmaljalla, ja kasvua ei havaittu lainkaan. Tutkimuksessa *A. schaalii* kasvoi myös aerobiosuhteissa veri-elatusmaljalla. Taulukosta 2 nähdään, että jokainen *A. schaalii* -kanta kasvaa aerobisissa olosuhteissa. Kasvu ei kuitenkaan ollut yhtä runsasta kuin anaerobisissa olosuhteissa. Tämä havaittiin, kun vertailtiin bakteeripesäkkeiden kokoa anaerobisissa ja aerobisissa olosuhteissa kasvaneiden maljojen välillä. Tutkimuksessa *A. schaalii* kasvoi molemmissa olosuhteissa, eli *A. schaalii* on mikroaerofiilinen anaerobibakteeri.

9.2 API-testit ja Vitek

Reinhardin ym. (2005) tutkimuksessa tehtiin API-Rapid ID 32 A- ja API-Coryne testit. API-Rapid ID 32 antoi tulokseksi numerokoodit: 0400077705, 0420077705, 0430077705. Valmistajan tietokannassa numerokoodit antoivat bakteerin nimeksi *Actinomyces meyeri*:n. Tutkimuksessamme *A. schaalii* -kannoista 86 % antoi API-Rapid ID 32 A numerokoodien perusteella bakteerin nimeksi *Capnocytophaga spp.* Numerokoodit näkyvät taulukossa 3. Liitteessä 1 on eritelty API-Rapid ID 32 A:n antamat entsyymaattiset reaktiot *A. schaalii* -bakteerille.

Reinhardin ym. (2005) tutkimuksessa API-Coryne antoi valmistajan tietokannasta *A. schaalii* -bakteerin nimeksi *Arcanobacterium bernardiae*, *Arcanobacterium hemolyticum*, *Arcanobacterium pyogenes* tai *Gardenella vaginalis*. Taulukosta 4 nähdään, että 86 % *A. schaalii* -kannoista API-Coryne antoi bakteerin nimeksi *Gardenella vaginalis*. Liitteessä 2 on eritelty API-Corynen antamat entsyymaattiset reaktiot *A. schaalii* -bakteerille.

Vitek-tuloksista ei ole vertailtavia tuloksia. Haluttiin tarkistaa, minkälaiset koodit ja bakteerien nimet analysaattori antaa *A. schaalii* -bakteerille. Vitek-analysaattori antoi 57 prosentille kannoista nimeksi *Actinomyces meyeri*. Kolmelle *A. schaalii* -bakteerikannalle Vitek-analysaattori ei antanut selkeää bakteerin nimeä. Liitteessä 3 on eritelty Vitek-analysaattorin entsyymaattisten reaktioiden tulokset *A. schaalii* -bakteerille.

9.3 Gramvärjäys ja identifikaatiotestit

Kaikki tutkittavat *A. schaalii* -bakteerikannat näyttivät gramvärjäyksessä samalta, kun sitä tutkittiin valomikroskoopilla. *A. schaalii* -bakteeri on kokkoidi grampositiivinen sauvabakteeri. Bakteeri esiintyy yksittäin ja kasoissa, joten sillä ei ole selkeää asettumista.

Cattoirin ym. (2010) tutkimuksessa on havaittu, että *A. schaalii* -bakteerin katalaasi- ja oksidaasitestit olivat negatiivisia. Tutkimuksessamme kaikki *A. schaalii* -bakteerikannat olivat katalaasi-, oksidaasi- ja indoli-negatiivisia sekä α -glukosidaasi-positiivisia. Katalaasitestin perusteella voidaan sanoa, että *A. schaalii* ei tuota peroksideja hajottavaa katalaasientyymiä. *A. schaalii* -bakteerissa ei tapahdu oksidaatioreaktiota, koska se on oksidaasi negatiivinen bakteeri. *A. schaalii* -bakteerilla ei ole kykyä tuottaa indolia, joten se on indoli-negatiivinen. Identifikaatiotesteillä osoitettiin, että tutkittava bakteeri on *A. schaalii*, kun bakteeria siirrostettiin puhdasviljelyssä elatusmaljalta toiselle.

9.4 Antibioottiherkkydet

Reinhardin ym. (2005) tutkimuksessa on tutkittu penisilliini-antibioottiherkkyttä *A. schaalii* -bakteerille, ja tulokseksi on saatu 0,003-0,032 mg/l. Opinnäytetyössä tutkittiin myös kefuroksiimin antibioottiherkkyksiä *A. schaalii* -bakteerille, ja tulokseksi on saatu alle 0,016 mg/l. Tästä voidaan päätellä, että *A. schaalii* -bakteeri on herkkä myös kefuroksiimi-antibiootille.

Taulukosta 7 voidaan nähdä, että *A. schaalii* -bakteeri on herkkä opinnäytetyössä tutkittaville antibiooteille, joita olivat kefalexin-, kefuroksiini-, mecillinam- ja penisilliini-antibiootit. Tutkittavat *A. schaalii* -bakteerikannat eivät eroa antibioottiherkkyksiltään kovinkaan paljon.

9.5 Virtsan laimennossarja

Taulukossa 8 on kuvattu ABA-maljoilla näkynyt *A. schaalii* kasvun määrä kahden vuorokauden inkubaation jälkeen. Tuloksista voidaan päätellä, että *A. schaalii* kasvaa hyvin bakteerisuodatetussa virtsassa ABA-elatusmaljalla. CPS3-maljoilla ei havaittu ollenkaan *A. schaalii* kasvua kahden vuorokauden inkubaatioajan jälkeen. Voidaan päätellä, että CPS3-elatusmalja ei ole tarpeeksi rikas elatusmalja *A. schaalii*lle.

Tutkimustulosten ja havaintojen perusteella voidaan sanoa, että ABA-elatusmalja voitaisiin sisällyttää U-BaktEVi-tutkimukseen. Tällä tavoin *A. schaalii* -bakteeri olisi helpompi tunnistaa kliinisen mikrobiologian laboratoriossa, koska tällä hetkellä U-BaktEVi-tutkimus ei sisällä elatusmaljaa anaerobibakteereille.

9.6 Pohdinta

Tutkimuksessa löydettiin yhteisiä tekijöitä *Actinobaculum schaalii* -bakteerikannoille. Kaikki seitsemän *A. schaalii* -bakteerikantaa antoivat samantapaisia tuloksia tutkimuksessa tehdyissä testeissä. Tutkimuksen perusteella saatiin uutta tietoa *A.*

schaaliin ominaisuuksista ja käyttäytymisestä erilaisissa olosuhteissa, mikä voi auttaa *A. schaalii* tunnistuksessa kliinisessä mikrobiologian laboratoriossa. Tutkimus oli tärkeä, koska *A. schaalii* -bakteeria ei ole tutkittu aikaisemmin Suomessa.

Erikoistutkimusten osalta voitaisiin kehittää nykyistä BaktEVI-tutkimusta siten, että sen avulla voisi löytää *A. schaalii* virtsanäytteestä ABA-viljelyn avulla. Erikoistutkimuksen kehittäminen olisi tärkeää siksi, että *A. schaalii* bakteeri löydettäisiin ja tunnistettaisiin mahdollisimman varhaisessa vaiheessa, ennen kuin bakteeri aiheuttaa elimistössä vakavampaa infektiota.

10 Luotettavuus ja eettisyys

Tutkimuksen kokonaisluotettavuuden muodostavat reliabelius ja validius. Tehty tutkimus on hyvä, kun valittu otos edustaa perusjoukkoa ja mittaamisessa on mahdollisimman vähän mittausvirheitä. Tutkimuksen reliabiliteetti arvioi tulosten pysyvyyttä mittauksesta toiseen eli tutkimuksen kykyä antaa ei-sattumanvaraisia tuloksia. Tutkimuksen validiteetti on tutkimuksen kyky mitata sitä, mitä tutkimuksessa on ollut tarkoitus mitata. Eettisyyden näkökulmasta hyvä tutkimus noudattaa aina hyvää tieteellistä käytäntöä. (Vilka 2007, 90-152.)

10.1 Reliabiliteetti ja validiteetti

Reliabiliteetti arvioi tulosten pysyvyyttä mittauksesta toiseen eli toistettavuutta. Tutkimuksen reliabiliteetissa tarkastellaan aina mittaukseen liittyviä asioita ja tutkimuksen toteutuksen tarkkuutta. Reliabiliteetin arvioinnin kohteena ovat esimerkiksi otoskoko ja laatu, kuinka huolellisesti havaintoyksikköjen kaikkia muuttujia koskevat tiedot syötetty sekä tutkimuksen mittausvirheet. (Vilka 2007, 149.)

Laboratoriossa suoritettavassa tutkimuksessa noudatettiin vakioituja ja aseptisia työskentelytapoja sekä Mikkelin klinisen mikrobiologian laboratorion työturvallisuusohjeita. Tutkimuksen eri työvaiheet suoritettiin Islabin työohjeiden

mukaisesti. Vakioidut ja aseptiset työskentelytavat takasivat työn luotettavuuden eli tutkimuksen eri vaiheet suoritettiin huolellisesti ja tarkasti. Tutkittavat bakteerikannat olivat aikaisempien tutkimustulosten perusteella varmistettu *A. schaalii* -bakteeriksi. Lisäksi mikrobiologian laboratorionhoitajat olivat puhdistaneet bakteerikannat valmiiksi tutkimusta varten. *A. schaalii* -bakteerin tunnistuksessa oli asiantuntija-apuna mikrobiologi, mikrobiologian ylilääkäri sekä mikrobiologian laboratorionhoitajat. Tutkimusaineiston kerääminen tutkimuksessa suoritettiin myös erittäin huolellisesti.

Tutkimuksen validiteetti on hyvä silloin, kun tutkija ei ole mennyt esimerkiksi käsitteiden tasolla vikaan ja systemaattiset virheet puuttuvat. Tutkimuksen validiteettia voidaan arvioida tutkimuspäiväkirjan avulla. Tutkimuspäiväkirjaan kirjataan tehdyt ratkaisut ja niiden perustelut. (Vilka 2007, 153.)

Tutkimus suunniteltiin huolellisesti ja esitutkimus tehtiin ennen varsinaista tutkimusta. Esitutkimuksen avulla testattiin tutkimussuunnitelman toimivuus ja perehdyttiin eri työvaiheiden tekniseen suoritukseen. Esitutkimuksella pyrittiin selvittämään myös odottamattomia virhetekijöitä, jotka voitiin poistaa varsinaisesta tutkimuksesta. Tutkimuksessa konsultoimme tarvittaessa Mikkelin klinisen mikrobiologian ylilääkäriä sekä mikrobiologia. Tutkimuksen suorituksen aikana pidettiin tutkimuspäiväkirjaa. Opinnäytetyötä kirjoitettaessa käytettiin mahdollisimman uusia ja luotettavia lähteitä. Lähteinä on käytetty ensisijaisesti alkuperäislähteitä.

10.2 Eettisyys

Tutkimuksessa tulee noudattaa hyvää tieteellistä käytäntöä, mikä tarkoittaa esimerkiksi yleistä huolellisuutta, tarkkuutta ja rehellisyyttä tutkimustyössä sekä eettisesti kestävien tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmien käyttöä. Omassa tutkimuksessa tehdyistä valinnoista ja niihin liittyvistä perusteluista on vastuussa tutkija. Tutkijan vastuulla on myös minimoida tutkimuksen haitat ja suhteessa niihin maksimoida hyödyt. Tutkimusetiikan lisäksi tutkijan täytyy noudattaa voimassa olevaa lainsäädäntöä. (Vilka 2007, 90.)

Eettisyys tutkimuksessa näkyy siten, että tutkimus on suoritettu huolellisesti ja tutkimuksesta saadut tulokset on esitetty rehellisesti. Tutkittavat *A. schaalii* -bakteerikannat oli löydetty potilasnäytteistä. Tämän takia nimesimme tutkittavat kannat järjestyksessä 1. numerosta eteenpäin. Tämä tehtiin siitä syystä, ettei ulkopuoliset pysty jäljittämään *A. schaalii* -bakteerikantoja potilaisiin. Tutkimuksessa noudatettiin myös salassapitovelvollisuutta.

- Murray P. R., Baron E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C. & Tenover, R. H. 1995. Manual of clinical microbiology. Washington American Society for Microbiology.
- Mustajoki, & Kaukua, 2012. Virtsan bakteeriviljely. Duodecim. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03153. 9.9.2012.
- Nissinen, A. 2006. Bakteerin lääkeherkkyuden määrittäminen. Moodi (6), 202.
- Nissinen, A. 2008. Bakteerien ja hiivojen tunnistus ja herkkyys-määritykset automaateilla. Moodi (5), 195-196.
- Penttilä, I. 2004. Kliiniset Laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY.
- Reinhard, M., Prag, J., Kemp, M., Andersen, K., Klemmensen, B., Højlyng, N., Sørensen, S.H. & Christensen, J.J. 2005. Ten Cases of *Actinobaculum schaalii* Infection: Clinical Relevance, Bacterial Identification, and Antibiotic Susceptibility. Tanska.
- Solunetti. 2006. Bakteerit. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/bakteerit/2/>. 3.10.2012.
- Vilka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Jyväskylä: Tammi.

Toimeksiantosopimus



OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTO

SOPIJAOSAPUOLET:

TOIMEKSIANTAJA: ISLAB/ Mikkelin aluelaboratorio

Yhteystiedot: Porrassalmenkatu 35-37, 50100 MIKKELI

Sähköpostiosoite: Aluelaboratorion johtaja Päivi Ylikangas, email paivi.ylikangas@islab.fi

OPISKELIJA : Anni Leppänen ja Johanna Seppälä

Yhteystiedot: etunimi.sukunimi@edu.pkamk.fi

TOIMEKSIANTOSOPIMUS:

Opinnäytetyö A schaaliiin karakterisoinnista ISLAB:n Mikkelin aluelaboratoriossa.

Osapuolet ovat tänään sopineet toimeksiannosta seuraavaa: (esim. rahoitus, aikarajat, tekijänoikeudet)

Toimeksiantaja

IsLab, Mikkelin aluelaboratorio, kliininen mikrobiologia

Opiskelija(t)

Anni Leppänen ja Johanna Seppälä

Opinnäytetyön ohjaajana PKAMK:ssa toimii Satu Martiskainen

Päiväys ja allekirjoitukset
Mikkeli 14.12.11

Toimeksiantajan edustaja

PÄIVI YLIKANGAS

Opiskelija

Tutkimuslupa


 ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
 LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

 HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
 TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

Nro / 20

Hakemuksen käsittely on kuvattu hallinnollisessa ohjeessa "Hoitotieteen ja muiden terveystieteiden tutkimuksen ohjeet Kuopion yliopistollisessa sairaalassa". Hakemukseen liitetään tutkimussuunnitelma aineiston keruulomakkeineen ja saatteineen, rahoitussuunnitelma.

HAKIJA

Vastuullinen tutkija
 Johanna Seppälä

Nimi _____ Osoite, puh, s-posti _____

Muut tutkijat
 Anni Leppänen

Työ- tai opiskelupaikka _____ Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu

Virka/toimi (ei koske opiskelijoita) _____

Opiskelupaikka AMK mikä PRAMK yliopisto mikä _____ muu mikä _____

Suoritettava tutkinto _____ Bioanalyytiikka

TUTKIMUS

Tutkimuksen nimi _____ Actinobaculum schaaliin karakterisointi

Tutkimuksen lyhyt kuvaus (mm. tutkimuksen tarkoitus, kohderyhmä ja tutkimusmenetelmät) sekä julkaisusuunnitelma (maksimissaan 300 sanaa)
 Actinobaculum schaaliin identifikaatio kuvaus.
 Tarkoituksena on suorittaa kyseiselle bakteerille tyypillisimmät mikrobiologiset tutkimukset kuten api-testit ja gramvärjaukset. (herkkyudet, Vitek-toodi)
 Tutkimuksessa vertailimme neljää eri Actinobaculum schaaliin kantaa, jotka ovat löytyneet Islabin alueelta.

Tutkimus on amk-tutkinto ylempi amk-tutkinto pro gradu lisensiaattityö
 väitöskirja muu, mikä _____


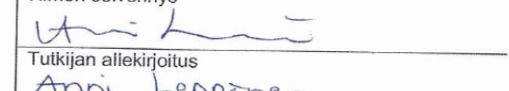
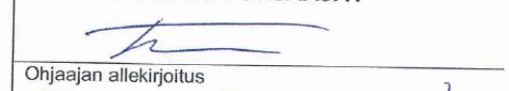
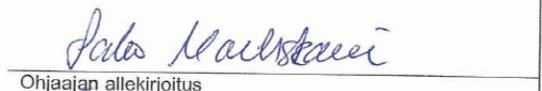
Monikeskustutkimus ei kyllä kansallinen kansainvälinen

Tutkimuksen kokonaisaikataulu _____ Aikataulu KYSissä/Islabissa
 syksy 2011 - syksy 2012 5.3. - 9.3.2012

Kustannukset
 Arvio KYSille ja Islabille koituvista kustannuksista 200 €
 Tarkempi kustannuserittely esitettävä erillisellä liitteellä.
 Ei aiheuta kustannuksia KYSille/Islabille

ISLAB 210-1.

Tutkimuslupa

Tutkimuseettisen toimikunnan lausunto <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu Toimikunta _____ Lausunto nro _____ pvm _____	
Johtajayliääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu pvm _____	
STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu pvm _____	
Henkilöstöpäällikön lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu pvm _____	
Muu lupa (mikä) <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä pvm _____	
ALLEKIRJOITUS JA SITOUMUS Allekirjoittaneet tutkijat sitoutuvat noudattamaan tulosyksikön esimiesten antamia ohjeita, sairaalan yleisiä sääntöjä sekä salassapito- ja vaihtolovelvollisuutta ja lähettämään tutkimusraportin yksikköön jossa tutkimus on tehty sekä luvan myöntäjälle. <u>21/2 2012</u>  Tutkijan allekirjoitus Johanna Seppälä Nimen selvennys  Tutkijan allekirjoitus Anni Leppänen Nimen selvennys	
OPINNÄYTETYÖN OHJAAJAT  Ohjaajan allekirjoitus TAMARA TUUVHINEN Nimen selvennys Osoite, puhelin, s-posti 044-7178917 TAMARA.TUUVHINEN@ISLAA.FI	
 Ohjaajan allekirjoitus SATU MARTISKAINEN Nimen selvennys Osoite, puhelin, s-posti 050 4128790 Satu.martiskainen@pkamk.fi	
PUOLTO Potilastutkimuksissa puolto tarvitaan joko tulosyksikön ylilääkäriltä (yksi tulosyksikkö) tai johtajayliääkäriltä (useita tulosyksiköitä). <input type="checkbox"/> Puollan hakemusta <input type="checkbox"/> En puolla, perustelut __/__/20__ Allekirjoitus Nimen selvennys, virka-asema	

Tutkimuslupa



ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

PÄÄTÖS	
<input checked="" type="checkbox"/>	Myönnän tutkimusluvan
<input type="checkbox"/>	Myönnän tutkimusluvan, mutta ennen tutkimuksen aloittamista tutkimukselle tulee hakea tutkimuseettisen toimikunnan lausunto / johtajayliääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten / STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten / KYS:n henkilöstöpäällikön lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten / muu lupa, mikä
<input type="checkbox"/>	Tulosyksikön / -alueen ylihoitajan / hallintoylihoitajan päätös nro _____
<input checked="" type="checkbox"/>	Islabin aluelaboratorion johtajan päätös _____
<u>14.12.2011</u>	<u>Paivi Ylikangas</u>
<u>Kari Punnonen</u>	Allekirjoitus
KARI PUNNONEN	<u>PAIVI YLIKANGAS</u>
	Nimen selvennys
Yhteyshenkilö Islabissa/KYSissä (Tulosyksikön /-alueen ylihoitaja tai hallintoylihoitaja nimeää)	
<u>TAMARA TUHINEN</u>	<u>M4002</u>
Nimi	Työyksikkö
<u>TAMARA.TUHINEN@ISLAB.FI</u>	<u>044 778917</u>
S-posti	Puhelin

LIITTEET

- Tutkimussuunnitelma _____ sivua
 Rahoitussuunnitelma _____ sivua
 Muita liitteitä _____ sivua

API-rapid ID 32 A -reaktiot

	URE	ADH	α Gal	β Gal	β GP	α GLU	β GLU	α ARA	β GUR	β NAG
PV215	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
S-21528	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
S-21495	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
M-21846	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
11PV511	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
J-20722	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
BC-16602	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	100 %	86 %	57 %	0 %	0 %
	MNE	RAF	NIT	IND	PAL	ArgA	ProA	LGA	PheA	LeuA
PV215	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
S-21528	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
S-21495	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M-21846	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
11PV511	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
J-20722	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
BC-16602	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	71 %	86 %	0 %	0 %	86 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
	PyrA	TyrA	AlaA	GlyA	GDC	α FUC	HisA	GGA	SerA	
PV215	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
S-21528	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
S-21495	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
M-21846	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
11PV511	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
J-20722	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
BC-16602	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	0 %	100 %	100 %	100 %	

API-Coryne-reaktiot

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	β GUR	β GAL	α GLU	β NAG	ESC	URE	GEL
PV215	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
S-21528	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
S-21495	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
M-21846	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
11PV511	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
J-20722	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
BC-16602	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
	0 %	57 %	0 %	0 %	0 %	0 %	100 %	0 %	86 %	0 %	0 %
	O	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT	
PV215	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
S-21528	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
S-21495	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
M-21846	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
11PV511	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	
J-20722	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
BC-16602	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
	0 %	86 %	100 %	86 %	0 %	100 %	0 %	86 %	0 %	0 %	

VITEK2-analysaattorin reaktiot

	dGAL	dCEL	SAC	BGALi	MTE	PHOS	LeuA	TyrA	ARB
PV215	-	-	+	-	+	-	+	+	-
S-21528	-	-	-	-	-	-	+	-	-
S-21495	-	-	+	-	+	-	+	+	-
M-21846	-	-	+	-	+	-	+	+	-
11PV511	-	-	-	-	+	-	+	+	-
J-20722	-	-	+	-	+	-	+	+	-
BC-16602	-	-	+	-	+	-	+	+	-
	0 %	0 %	71 %	0 %	86 %	0 %	100 %	86 %	0 %
	AARA	ESC	IARA	ELLM	APPA	NAG	AGALi	BdFUC	dRIB2
PV215	-	-	(-)	+	-	-	-	-	+
S-21528	-	-	-	-	-	-	-	-	+
S-21495	-	-	+	+	+	-	-	-	+
M-21846	+	-	+	+	-	-	-	-	+
11PV511	-	-	-	+	-	-	-	-	+
J-20722	-	-	-	+	(+)	-	-	-	+
BC-16602	-	-	+	+	(-)	-	-	-	+
	14 %	0 %	42 %	86 %	14% (29%)	0 %	0 %	0 %	100 %
	PheA	dGLU	BGLUi	BMAN	BNAGi	OPS	ProA	dMNE	URE
PV215	(-)	+	-	-	-	-	+	-	-
S-21528	(-)	+	-	-	-	-	+	-	-
S-21495	+	-	-	-	-	-	+	-	-
M-21846	+	+	-	-	-	-	+	+	-
11PV511	(-)	+	-	-	-	-	+	-	-
J-20722	+	+	-	-	-	-	+	-	-
BC-16602	+	(-)	-	-	-	-	+	-	-
	57 %	71 %	0 %	0 %	0 %	0 %	100 %	14 %	0 %
	ARG	AMANi	AARAF	PyrA	Dmal	BGURi	PVATE	AIFUC	Dxyl
PV215	-	-	-	+	+	-	-	-	-
S-21528	-	-	-	+	-	-	-	-	-
S-21495	-	-	-	+	+	-	-	-	+
M-21846	-	-	+	+	+	-	-	-	+
11PV511	-	-	-	+	+	-	-	-	-
J-20722	-	-	-	+	+	-	-	-	+
BC-16602	-	-	-	+	+	-	-	-	+
	0 %	0 %	14 %	100 %	86 %	0 %	0 %	0 %	57 %

Islabin potilasohje virtsanäytteenottoon



ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

POTILASOHJE

15.6.2012

1

Potilasohje kotona annettavaa virtsan perustutkimusta varten

Luotettavan tuloksen saaminen virtsanäytteestä edellyttää asianmukaista valmistautumista, huolellista näytteenottoa ja oikeaa näytteen säilytystä. Aamuvirtsat soveltuu parhaiten virtsateiden sairauksien perusnäytteeksi. Oireita aiheuttavaa virtsatietulehdusta voidaan tutkia myös päiväaikaisesta näytteestä.

Valmistautuminen

- Ennen näytteenottoa vältä kovaa fyysistä rasitusta ja syömistä ja juomista yön aikana.
- Virtsan on oltava rakossa vähintään 4 tuntia ennen näytteenottoa. Jos käyt yöllä wc:ssä, ota näyte aamulla vasta sitten, kun edellisestä virtsaamisesta on kulunut 4 tuntia.

Näytteenottovälineet

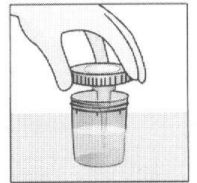
- Purkki, jonka kannen suojateipin alla on näyteneula näyteputkea varten.
- Näyteputket (1-3 kpl), jotka sisältävät säilöntäainetta ja tyhjiön.
- **Huom! Näyteputken korkkia ei saa avata!**

Virtsanäytteen antaminen

Pese kädet huolellisesti. Tee alapesu käsisuihkua käyttäen lämpimällä vedellä. Saippuaa ei saa käyttää. Kuivaa WC-paperilla. Avaa purkin kansi kiertämällä.

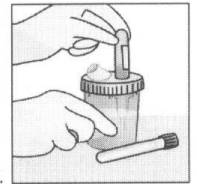
Naiset:

Pida häpyhuulia erillään ja laske vähän virtsaa ensin WC-pyttyyn. Vie purkki virtsaamista keskeyttämättä virtsasuihkun alle ja täytä 2/3 purkillista.



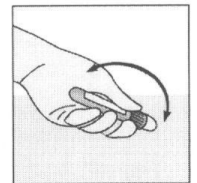
Miehet:

Pida esinahka taaksepäin vedettynä ja laske vähän virtsaa ensin WC-pyttyyn. Vie purkki virtsaamista keskeyttämättä virtsasuihkun alle ja täytä 2/3 purkillista.



Virtsanäytteen siirto putkeen

- Sulje purkin kansi tiukasti. Aseta purkki tukevalle alustalle.
- Avaa purkin kannessa oleva suojateippi, jolloin näyteneula paljastuu.
- Paina näyteputki korkki edellä näyteneulaan ja pidä siinä kunnes putki on täynnä.
- Kun putki on täynnä, poista se näyteneulasta.
- Sekoita putkea kääntämällä ylösalaisin 8-10 kertaa.
- Täytä kaikki näyteputket samalla tavalla.
- Kiinnitä nimitarrat näyteputkiin pitkittäin.
- Tuo näyteputket laboratorioon huoneenlämmössä mahdollisimman pian.
- Hävitä purkki kodin sekajätteissä.



Palauta tämä ohje näytteen mukana ja täydennä tiedot:

Nimi	
Henkilötunnus	
Virtsanäytteenottoaika	___/___ - ___ klo. _____
Edellisestä virtsaamisesta on kulunut	_____ tuntia

Tutkimuksiin tai tuloksiin liittyviin kysymyksiin vastaa oma lääkärinte tai hoitajanne. Laboratorio vastaa näytteenottoon liittyviin kysymyksiin.

Oman hoitajan/lääkärin yhteystiedot	
Laboratorion yhteystiedot	