



TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

**VERIVILJELYANALYTIIKAN
HERKKYYSMÄÄRITYS
YKSINKERTAISTETULLA VITEK[®] 2 -
AUTOMAATIOMENETELMÄLLÄ**

Outi Huvila

Katja Stenius

Opinnäytetyö
Syyskuu 2016
Bioanalytikkokoulutus



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytikkokoulutus

HUVILA, OUTI & STENIUS, KATJA:

Veriviljelyanalytiikan herkkyysmäärittäminen yksinkertaistetulla VITEK[®] 2 -automaatiomenetelmällä

Opinnäytetyö 66 sivua, joista liitteitä 8 sivua
Syyskuu 2016

Veriviljely eli veren bakteeriviljely on yksi tärkeimmistä mikrobiologian tutkimuksista, jonka avulla voidaan havaita moniin infektioitauteihin liittyviä bakteremioita. Veriviljelyanalytiikkaan kuuluu oleellisena osana mikrobilääke- eli antibioottiherkkyyden määrittäminen, jonka tarkoituksena on löytää bakteerille herkästi tehoavat mikrobilääkkeet sekä havaita mahdollinen mikrobilääkeresistenssi.

Opinnäytetyössämme tutkittiin positiivisten veriviljelylöydösten antibioottiherkkyyksiä automaation avulla. Työmme tarkoituksena oli selvittää, voiko herkkyysmäärittäminen tehdä luotettavasti bioMérieux'n VITEK[®] 2 -automaatilla suoraan veriviljelypullosta ilman yön yli kestävää pesäkekasvatusta. Tavoitteena oli tuottaa vertailutietoa tämän yksinkertaistetun kokeiltavan menetelmän ja standardoidun pesäkekasvatusta tehtävän automaatiomenetelmän välisistä tuloksista. Työmme perimmäisenä tavoitteena oli tehostaa veriviljelyanalytiikan herkkyysmäärittäystä ja nopeuttaa näin veriviljelyvastauksen saamista potilaalle.

Opinnäytetyön tilaaja oli Fimlab laboratoriot Oy:n mikrobiologian yksikkö. Työ oli kokeellinen, kvantitatiivinen ja vertaileva tutkimus. Kokeellinen osuus suoritettiin mikrobiologian laboratoriossa viiden päivän aikana. Aineistona olivat tuoreet, positiiviset veriviljelynäytteet, jotka saatiin laboratorion läheisyydestä. Aineisto rajattiin käsittämään vain aerobisia ja fakultatiivisia bakteereita. Aineiston kooksi muodostui 79 veriviljelypullonäytettä, joista tehtiin 31 vertailu- eli pesäkekasvatusta. Näytelöydökset koostuivat yhteensä 11 eri bakteerilajista, joista yleisimmät olivat *Stafylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae* ja *Escherichia coli*.

MIC-määrittäytuloksia eri antibiooteille kertyi yhteensä 1187 kappaletta, joista 16 kappaletta eli 1,4 prosenttia oli herkkyystulkinnaltaan poikkeavia vertailunäytteisiin nähden. Sama herkkyystulkinta saatiin suurimmalla osalla eli 98,6 prosentilla mittaustuloksista. Yksinkertaistetulla menetelmällä saatiin siis hyvin samansuuntaiset tulokset kuin standardoidulla vertailumenetelmälläkin.

Tämän tutkimuksen tulosten perusteella voidaan todeta, että veriviljelyanalytiikan herkkyysmäärittäminen voidaan tehdä luotettavasti VITEK[®] 2 -automaatilla yksinkertaistetulla menetelmällä. Käyttämämme aineiston otoskoko oli kuitenkin pieni, mikä vähensi tutkimuksen luotettavuutta. Jotta menetelmä voitaisiin ottaa käyttöön rutiinianalytiikassa, sitä pitäisi vielä tutkia suuremmalla otoskolla.

Asiasanat: mikrobiologia, veriviljely, antibioottiherkkyys, MIC-menetelmä, VITEK[®] 2

ABSTRACT

Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

HUVILA, OUTI & STENIUS, KATJA:
Simplified Antimicrobial Susceptibility Testing Using the VITEK[®] 2 Instrument

Bachelor's thesis 66 pages, appendices 8 pages
September 2016

Detection of bloodstream infections is one of the most important functions of clinical microbiology laboratories. Blood cultures are used to detect microorganisms in the blood, to identify the type present and to guide treatment. Antimicrobial susceptibility testing (AST) helps to determine the susceptibility of microbial species to different antibiotic agents and to detect antimicrobial resistance.

The purpose of this study was to examine whether or not the AST results are reliable when analyzed directly from positive blood culture bottles using a VITEK[®] 2 Instrument (bioMérieux). The standard method requires an overnight agar medium subculture from positive blood culture bottles. The aim of the study was to produce comparative data on the results between the simplified method and the standard method.

The study was quantitative and experimental. The sample consisted of 79 fresh positive blood culture bottles and 31 standard samples from the Laboratory of Microbiology of Fimlab Medical Laboratories Ltd. In this study only aerobic and facultatively anaerobic bacteria were examined.

The VITEK[®] 2 results were reported as Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and through qualitative interpretation. A total of 1187 MIC results were obtained. 98,6 Percent of the AST interpretations matched the reference samples and only 1,4 percent deviated. The results obtained using the simplified method corresponded well with the results obtained by the standard method. However, further studies with a bigger sample size are needed to ascertain more reliable information.

Key words: microbiology, blood culture, antimicrobial susceptibility, MIC method, VITEK[®] 2

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	VERIVILJELY	8
	2.1 Kliininen merkitys	8
	2.2 Näytteenotto ja näytteen analysointi	9
3	HERKKYYSMÄÄRITYS	11
	3.1 Kiekkoherkkyysmenetelmä	12
	3.2 MIC-menetelmät	13
	3.3 Antibiootit	15
4	TYÖSSÄMME ESIINTYVÄT BAKTEERILAJIT	17
	4.1 Gramnegatiiviset sauvat.....	18
	4.1.1 <i>Escherichia coli</i>	19
	4.1.2 <i>Enterobacter cloacae</i>	20
	4.1.3 <i>Citrobacter koseri</i>	20
	4.1.4 <i>Klebsiella oxytoca</i> ja <i>Raoultella ornithinolytica</i>	21
	4.2 Grampositiiviset kokit.....	22
	4.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	22
	4.2.2 Koagulaasinegatiiviset stafylokokit	24
	4.2.3 <i>Enterococcus faecium</i>	25
5	VITEK [®] 2 -AUTOMAATTI	27
	5.1 Laitteiston osat ja toiminta.....	28
	5.2 Mikrobin tunnistus VITEK [®] 2 -automaatilla	31
	5.3 Antibioottiherkkyysmääritys VITEK [®] 2 -automaatilla.....	32
6	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSONGELMAT	36
7	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT	37
8	TYÖN SUORITUS	38
	8.1 Opinnäytetyöprosessi.....	38
	8.2 Kokeellinen osuus.....	38
	8.3 Mittaustulosten käsittely	42
9	TULOKSET	44
	9.1 Aineiston analyysi bakteerilajeittain.....	44
	9.2 Yhteenveto ja johtopäätökset.....	47
10	POHDINTA.....	50
	LÄHTEET.....	54
	LIITTEET	59

Liite 1. Esimerkki VITEK [®] 2 -analysaattorin herkkyysmäärittämisen tulosraportista.....	59
Liite 2. Taulukoidut MIC-tulokset bakteerilajeittain	60

1 JOHDANTO

Opinnäytetyömme aiheena on veriviljelyanalytiikan herkkyysmääritysten yksinkertaistaminen VITEK[®] 2 -automaatiolla. Tarkoituksenamme on selvittää, voiko veriviljelyn bakteerilöydösten herkkyysmäärityksiä tehdä luotettavasti VITEK[®] 2 -automaatilla ilman yön yli kestävää maljakasvatusta, jolloin tulokset saataisiin nopeammin. Aihe on tärkeä, koska veriviljelypositiiviset sairaalainfektiot ovat lisääntyneet viime vuosikymmeninä ja samalla mikrobien herkkyys antibiooteille on heikentynyt (Terveiden ja hyvinvoinnin laitos 2015). Varhain ja oikein valittu antibioottihoito parantaa infektiopotilaan ennustetta, lyhentää hoitoaikaa ja vähentää komplikaatioita (Hautala 2014).

Veriviljely on tärkeä mikrobiologian tutkimus, jolla pyritään osoittamaan verenkierrossa olevia mikrobeja ja tekemään niille antibioottiherkkyysmäärityksiä. Mikrobit veressä voivat aiheuttaa muun muassa vakavan henkeä uhkaavan yleisinfektion eli sepsiksen, joka vaatii aina nopean antibiootihoidon aloittamisen. Yleisimpiä veriviljelyistä löydettyjä bakteereita työikäisellä väestöllä ovat *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, koagulaasinegatiiviset stafylokokit ja Klebsiella-suvun bakteerit. (Lumio 2014b; Terveiden ja hyvinvoinnin laitos 2015.)

Erilaisilla herkkyysmääritysmenetelmillä saadaan selville herkimmin tehoava mikrobi-lääke tietyille bakteerille sekä havaitaan hankittu resistenssi (Nissinen 2006). Antibioo-teille resistentit bakteerikannat ovat yleistynyt ongelma sairaaloissa, joissa käytetään paljon mikrobilääkkeitä. Merkittävimpiä moniresistenttejä bakteereja sairaalassa ovat metisilliinille resistentit *Staphylococcus aureus* (MRSA) ja *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), vankomysiinille resistentti enterokokki (VRE) ja moniresistentit gramnegatiiviset sauvabakteerit. (Suomalainen Lääkäriseura Duodecim 2015.)

Teimme työmme Fimlab laboratoriot Oy:n mikrobiologian yksikköön, jossa veriviljely-analytiikan antibioottiherkkyysmääritykset tehdään tällä hetkellä perinteisellä kiekkoherkkyysmenetelmällä. Herkkyysmääritykset voidaan suorittaa standardoidusti myös automaation avulla, esimerkiksi bioMérieux'n VITEK[®] 2 -analysointorilla, joka on Fimlabissa käyttökokeilussa. Tämän laitteen standardimenetelmässä veriviljelynäytteet vaativat kuitenkin pesäkekasvatuksen maljalla kuten kiekkoherkkyysmenetelmässäänkin, mikä vie aikaa ja resursseja.

Opinnäytetyössämme teemme antibioottilherkkyysmäärityksen ilman maljakasvatusta suoraan veriviljelypullosta VITEK[®] 2 -automaatilla. Vertailemme ilman maljakasvatusta saatuja tuloksia standardoidulla automaatiomenetelmällä saatuihin tuloksiin. Toimeksiantaja hyötyy työstämme saamalla tietoa, onko yksinkertaistettu menetelmä luotettava potilasdiagnostiikassa. Jos menetelmä on toimiva, näytteen analysointi nopeutuu, jolloin potilaat saavat veriviljelyvastauksen nopeammin.

Työmme aineisto koostui tuoreista neljän päivän aikana saaduista positiivisista veriviljelynäytteistä. Näytteistä valitsimme vain ne, joissa löydöksiä olivat aerobiset tai fakultatiiviset bakteerit. Pelkät anaerobibakteerilöydökset jätimme pois, sillä niiden herkyyttä ei pystytä määrittämään VITEK[®] 2 -laitteella. Positiivisia veriviljelynäytteitä kertyi yhteensä 79 kappaletta, joista löytyi yhteensä 11 eri bakteerilajia. Näytteiden yleisimmät löydökset olivat *Stafylococcus aureus*, *Escherichia coli* ja *Enterobacter cloacae*.

Useat tutkimusryhmät maailmalla ovat jo tehneet tutkimuksia positiivisten veriviljelynäytteiden analysoimisesta automaatiolaitteilla suoraan veriviljelykasvatuspullosta (Pence, TeKippe & Burnham 2013, 664). Useimmissa tutkimuksissa veriviljelynäytteelle on tehty esikäsittelyä ennen kuin näyte on siirrostettu määrityskorteille. Esikäsittelynä on ollut muun muassa näytteen sentrifugointi bakteeripelletiksi, josta edelleen on valmistettu McFarland-standardisuspensio. Tässä opinnäytetyössä on tarkoitus tutkia vieläkin nopeampaa menetelmää jättämällä kaikki esikäsittelyvaiheet pois.

2 VERIVILJELY

Veriviljely (B-BaktVi) on tärkeimpiä kliinisen mikrobiologian tutkimuksia, jolla pyritään selvittämään, onko potilaan verenkierrossa mikrobeja. Verenkierrossa olevat mikrobit voivat aiheuttaa vakavia infektoita, jotka voivat hoitamattomina, ilman tehokasta mikrobilääkitystä johtaa potilaan menehtymiseen. Veriviljelyanalytiikka koostuu huolellisesta näytteenotosta, mikrobien kasvatuksesta veriviljelypulloissa, mikrobin kasvun osoituksesta mikroskopoimalla ja maljaviljelyllä sekä mikrobin tunnistuksesta. Lisäksi veriviljelyanalytiikkaan kuuluu bakteerien mikrobilääkeherkkyysmäärittäminen. (Kauppila 2007; Lumio 2014b.)

2.1 Kliininen merkitys

Veriviljelynäytteitä otetaan yleensä epäiltäessä bakteremiaa, sepsistä, endokardiittia tai meningiittia. Bakteremiassa bakteereja esiintyy veressä, joka on normaalisti steriiliä. Bakteremia voi olla ohimenevä ja oireeton tai oireellinen. Bakteremiaa, johon liittyy oireita ja vaikea yleisinfektio, kutsutaan yleisesti sepsikseksi eli verenmyrkytykseksi. Uudemman määritelmän mukaan sepsis on infektion aiheuttama voimakas tulehdusreaktio, vaikka veressä ei olisikaan bakteereita. Nykyisin sepsiksestä käytetään myös käsitettä SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome). (Eteläpohjanmaan sairaanhoitopiiri 2016; Lumio 2014b; Rintala & Valtonen 2011, 592.)

Sepsis voi olla itsenäinen pesäkkeetön infektio tai se voi olla pesäkkeellinen infektio jossain tietyssä elimessä. Veriviljelystä löytyvän bakteerilajin avulla voidaan hyvin arvioida, mihin elimeen bakteeri-infektio pesäke on alun perin pesiytynyt, ja mihin ne verenkierrossa toissijaisesti yleensä kulkeutuvat. Esimerkiksi endokardiitin eli sydänlappien tulehduksen aiheuttajabakteerien, kuten *Streptococcus viridansin* ja *Staphylococcus aureuksen* tiedetään pesiytyvän sydänlappiin verenkiertoon päästessään. *Streptococcus pneumoniae* ja *Neisseria meningitidis* eli meningokokki ovat vakavan meningiitin eli aivokalvontulehduksen yleisimpiä aiheuttajabakteereita. *Escherichia coli* ja *Klebsiella* -bakteerien puolestaan tiedetään aiheuttavan tulehduspesäkkeitä virtsateissä, munuaisissa ja suolistossa. (Lumio 2014b; Lumio 2014a; Kettunen 2014.)

Yleisimpiä sepsiksen aiheuttavia bakteerilajeja 15–64-vuotiailla ovat *Escherichia coli* (noin 25 %), *Staphylococcus aureus* (17 %), ihon stafylokokit, kuten *Staphylococcus epidermidis* (8 %), *Streptococcus pneumoniae* eli pneumokokki (7 %) ja Klebsiella-suvun bakteerit (5 %). Yli 65-vuotiailla veriviljelylöydösten määrä on jatkuvasti kasvanut. Heillä yleisin veriviljelylöydös on myös *E. coli* (noin kolmannes). Seuraavaksi yleisimmät bakteerit ovat Klebsiella-lajit (31 %), *S. aureus* (11 %) ja koagulaasinegatiiviset stafylokokit (6 %). Kaiken kaikkiaan potilasnäytteistä löydetään Suomessa vuosittain jopa 100 eri bakteerilajia. (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2015; Lumio 2014b.)

2.2 Näytteenotto ja näytteen analysointi

Veriviljelyllä voidaan rikastaa valtaosa veressä kiertävistä infektion aiheuttajista, kunhan näyte on otettu ja käsitelty oikein. Mikrobin pitoisuudet veressä ovat infektioiden yleensä alhaiset, joten verimäärä on yksi tärkeimmistä tulokseen vaikuttavista tekijöistä. Jos näytemäärä jää suositeltua pienemmäksi, mahdollisuus havaita veressä olevat taudinaiheuttajat vähenee ja voidaan saada vääriä negatiivisia tuloksia. Tämän vuoksi veriviljely suositellaan otettavaksi vähintään kahdesti peräkkäin. Liian täyteen otetut pullo puolestaan voivat aiheuttaa veriviljelylaitteessa vääriä positiivisia tuloksia, jotka osoittautuvat jatkoviljelyssä negatiivisiksi. (Hirvonen 2015; Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiri 2015; Satakunnan sairaanhoitopiiri 2016.)

Veriviljelynäyte otetaan yhteen aeroobi- ja anaerobipulloon. Kumpaankin pulloon otetaan aikuisilta 8–10 ml verta. Yhteensä kahteen viljelyyn käytetään neljä pulloa eli noin 40 ml verta. Alle 10-vuotiailta lapsilta otetaan yksi lasten veriviljelypullo, johon otetaan verta 1–4 ml, riippuen lapsen painosta. Bakteeriviljelypullo sisältävät nestemäistä bakteerien kasvua edistävää erikoiselatusainetta ja antikoagulanttia. Aerobiviljelypullo on tarkoitettu aerobisten bakteerien ja anaerobipullo anaerobisten bakteerien viljelyyn. (Fimlab 2011; Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiri 2015; Satakunnan sairaanhoitopiiri 2016.)

Veriviljelyn näytteenotossa on tärkeää noudattaa huolellista aseptiikkaa, koska pienikin määrä ihon normaaliflooraa veriviljelypullossa alkaa kasvaa voimakkaasti ja voi antaa väärän positiivisen tuloksen. Veriviljelynäytteet pyritään ottamaan ennen mikrobilääkehoidon aloittamista. Näytteenotossa on hyvä käyttää steriilejä käsineitä, varsinkin jos

pistokohtaa joutuu puhdistuksen jälkeen vielä tunnustelemaan. Viljelypullojen korkkien ulkopinnat sekä pistoskohta desinfioidaan klooriheksidiinialkoholiin tai 80 % etanoliin kostutetuilla steriileillä harsotaitoksilla. Pistokohdan tulee antaa kuivua ennen pistämistä. Veriviljelynäyte otetaan siipineulalla ja ennen muita verinäytteitä. Aerobipullo otetaan ennen anaerobipulloa, ellei kyseessä ole kanyylinäytteenotto. Näytteenoton jälkeen pulloja sekoitetaan huolellisesti muutaman kerran. Veriviljelypullot säilytetään ja kuljetetaan huoneenlämmössä. (Kauppila 2007; Fimlab 2011; Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiri 2015; Satakunnan sairaanhoitopiiri 2016.)

Veriviljelynäytteet inkuboidaan veriviljelyautomaatissa 35–37 °C lämpötilassa. Veriviljelypullot tulisi laittaa veriviljelyautomaattiin viipymättä, kuitenkin viimeistään neljän tunnin kuluessa näytteenotosta. Automaatit pystyvät toteamaan mahdollisen bakteerin kasvun, mittaamalla jatkuvasti muun muassa näytteiden hiilidioksidituotantoa. Mikäli bakteerit lisääntyvät, myös näytteen hiilidioksidipitoisuus kasvaa. Automaatti antaa positiiviset tulokset yleensä 1–2 vuorokauden kuluessa. Negatiivisia tuloksia seurataan viiden vuorokauden ajan, minkä jälkeen ne vastataan negatiivisiksi. Positiivisille näytteille tehdään gramvärjäys ja tarvittaessa AO- eli akridiini-oranssivärjäys, joilla voidaan saada nopeasti suuntaa antava alustava tulos infektion aiheuttajasta. Näytteistä tehdään jatkotutkimuksina myös bakteerin tarkempi lajitunnistus ja antibioottiherkkyysmäärittäminen, kuten bakteeriviljely ja kiekkoherkkyysmäärittäminen. Näiden tulokset saadaan tyypillisesti kahden tai kolmen vuorokauden kuluttua näytteenotosta. (Kauppila 2007, 36–37; Carlsson & Koskela 2011, 41; Fimlab 2011.)

3 HERKKYYSMÄÄRITYS

Bakteerien herkkyysmäärittämisellä on tarkoitus löytää herkimmin tehoava mikrobilääke tutkittavalle bakteerille, sekä havaita hankittu resistenssi. Hankitulla resistenssillä tarkoitetaan bakteerilajin yksittäisten kantojen kehittämää vastustuskykyä lääkkeelle. Herkkyysmäärittäykset tehdään aina lääkkeillä, joille bakteeri on luonnostaan herkkä. Määrittäyksiä ei tehdä lääkkeillä, joille mikrobi on luonnostaan resistenssi, jolloin kaikki tai lähes kaikki bakteerilajin edustajat ovat vastustuskykyisiä jollekin lääkeaineelle. (FiRe 2009, 1; FiRe 2012, 18; Nissinen 2006.)

Lääkeherkkyyttä voidaan mitata laboratoriossa erilaisin kontrolloiduin standardimenetelmin. Menetelmillä mitataan bakteerin kykyä lisääntyä lääkkeen läsnäollessa. Bakteeri altistetaan lääkkeelle joko portaittaisesti (laimennosmenetelmät) tai jatkuvasti (kiekkoherkkyysmenetelmä, E-testi) kasvavana pitoisuutena. Laimennosmenetelmillä ja E-testillä saadaan suoraan pienin bakteerin kasvua estävä lääkepitoisuus eli MIC-arvo (Minimum Inhibitory Concentration). Kiekkoherkkyysmenetelmällä saadaan puolestaan tulokseksi estorenkään halkaisija (ERH), jota voidaan korreloida vastaaviin MIC-arvoihin. Lääkeherkkyysmenetelmistä yleisin käytetty menetelmä on kiekkoherkkyysmenetelmä eli kiekkodiffuusiomenetelmä. Muita käytettäviä menetelmiä ovat MIC-menetelmät, kuten laimennusmenetelmät maljalla tai liemessä, E-testi sekä 2000-luvulla yleistynyt MIC-automaatio. (FiRe 2009, 1; Nissinen 2006.)

Suomalaiset kliinisen mikrobiologian laboratoriot ovat käyttäneet eurooppalaista EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) -herkkyysmäärittämisstandardia vuodesta 2011 lähtien. Aikaisemmin Suomessa noudatettiin FiRe (Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance) -standardia, joka perustui amerikkalaiseen CLSI:n standardiin. Standardi antaa tarkat ohjeet herkkyysmäärittäysten tekoon sekä estovyöhykkeiden tulkintarajat. (FiRe 2012, 18.)

3.1 Kiekkoherkkyysmenetelmä

Kiekkoherkkyysmenetelmä on Suomessa yleisin ja perinteisin käytetty herkkyysmäärittämissä tutkittavasta bakteerista tehdään bakteerisuspensio, joka sisältää elatusainemaljalta poimittuja bakteeripesäkkeitä ja 0,9 % NaCl-liuosta. Bakteerisuspension tulisi olla tiheydeltään McFarland 0,5 -standardia vastaava. Suspensio levitetään tasaiseksi kasvustoksi esimerkiksi Müller-Hinton -agarmaljalle, joko dreijaamalla tai tiheällä siksakliikkeellä. Maljalle asetetaan vakiomäärä eri mikrobilääkkeitä sisältäviä imupaperikiekoja. EUCAST-standardin mukainen mikrobilääkekierros on halkaisijaltaan 6 mm, ja tavalliselle 90 mm:n elatusainemaljalle mahtuu enintään 6 kiekkoa. Kiekkojen tulee olla riittävän kaukana toisistaan, jotta estorengas halkaisija tai säde on helposti mitattavissa. Jokainen laboratorio määrittää itse testattavat mikrobilääkkeet aina tietyille bakteeriryhmälle. Lääke alkaa diffundoitua kiekosta välittömästi sen koskettua maljan pintaa. Maljojen annetaan inkuboitua lämpökaapissa 35 °C:ssa 16–18 tuntia, jolloin bakteerit lisääntyvät ja muodostavat kasvustoa. (Carlson & Koskela 2011, 44; FiRe 2009, 9–10; Fire 2012, 18–19.)

Lääkeaineen diffundoiduttua elatusaineeseen syntyy kiekon ympärille estorengas, missä bakteeri ei pysty kasvamaan. Estorengas halkaisija on sitä suurempi, mitä herkempi bakteerikanta kyseiselle lääkeaineelle on. Inkubaation jälkeen estorengas halkaisija mitataan työntötulkilla millimetrin tarkkuudella ja verrataan tulosta tulkintataulukon. Saatua millimetrielukemaa verrataan raja-arvoihin, jotka perustuvat MIC:n luonnollisen logaritmin ja estorengas halkaisijan väliseen lineaariseen riippuvuussuhteeseen. Raja-arvojen mukaan bakteeri tulkitaan kyseiselle antibiootille, kansainvälisen SIR-luokituksen mukaan, joko herkäksi (S, susceptible), resistentiksi (R, resistant) tai epävarmaksi (I, intermediate). Resistentin ja herkän alueen väliin jäävä epävarma-alue on noin 5 mm leveä alue, joka toimii puskurivyöhykkeenä estäen kiekkoherkkyysmenetelmän epätarkkuudesta johtuvat virhetulkinnot. (Carlson & Koskela 2011, 44; FiRe 2009, 2; Fire 2012, 18–19.)

Kiekkoherkkyysmenetelmä on virhealtis menetelmä, minkä vuoksi sitä on pyritty kansainvälisesti vakioimaan. Laimennosmenetelmän ja kiekkoherkkyysmenetelmän tulokset eivät ole aina vertailukelpoiset, sillä MIC- ja ERH-arvojen suhde ei ole aina lineaarinen. Lisäksi SIR-rajat eivät sovellu kaikille bakteerilajeille, jolloin tietyille bakteerila-

jeille on standardoitu omat ERH-SIR-rajansa. Menetelmä sopii hyvin nopeakasvuille lajeille, kuten esimerkiksi *E. colille* ja *S. aureukselle*. Anaerobisille bakteereille menetelmä soveltuu huonommin, niiden hitaan kasvun vuoksi. Ongelmia kiekkoherkkyystuloksiin saattavat aiheuttaa myös eri bakteerilajien erilaiset kasvuvaatimukset, kuten elatusaineen eri ainesosat ja inkubaatioatmosfääri. Kaikki bakteerit eivät myöskään kasva Müller-Hinton -agarmaljalla, jolloin joudutaan käyttämään esimerkiksi erilailla rikastetua elatusainetta. Joidenkin bakteerien vaatimat elatusaineet ovat haitaksi mikrobilääkkeen vaikutukselle, eikä resistenttiys aina ilmene selkeänä estorenkana pienenemisenä vaan vain estorenkana epätyypillisenä ulkonäköinä. (Carlson & Koskela 2011, 44; FiRe 2009, 3, 5.)

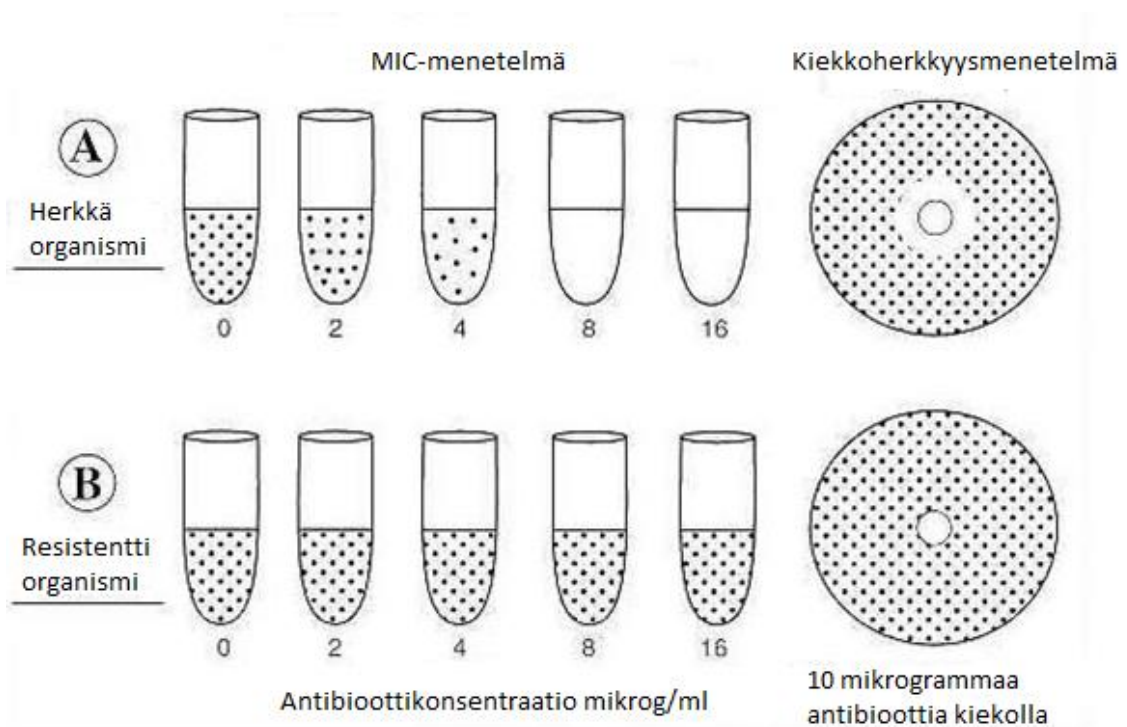
Kiekkoherkkyysmenetelmän käyttö edellyttää laboratorioilta jatkuvaa laaduntarkkailua. ERH- ja SIR-rajojen tulokset on kontrolloitava määräajoin laboratorio- ja bakteerilajikohtaisesti. Laadukkaiden tulosten saamiseksi on laboratorion huolehdittava myös standardin mukaisesta maljojen ja bakteerilääkekiekkojen laaduntarkkailusta ja säilytyksestä. Lääkekiekot ovat erittäin herkkiä kosteudelle, joten ne tulee säilyttää kosteudelta suojattuna tiiviissä astiassa. Kylmästä huoneenlämpöön otetut kiekot on annettava aina temperoitua ennen astian avaamista, jotta kiekkoihin ei pääse imeytymään huoneilmasta kosteutta. (Fire 2009, 7, 13.) Valmiita maljoja säilytetään kylmässä (2 – 8°C) valolta suojattuina ja ne on käytettävä yhden viikon kuluessa tai, jos ne on suojattu kuivumiselta, kolmen viikon kuluessa (Fire 2009, 7). Käytettävien maljojen laaduntarkkailussa huomioidaan oikean säilytyksen lisäksi myös maljan pH, ulkonäkö ja agarin paksuus. (FiRe 2009, 7, 13.)

3.2 MIC-menetelmät

MIC-laimennosmenetelmissä bakteeri altistetaan portaittain kasvavalle lääkepitoisuudelle. Laimennosmenetelmä voidaan tehdä joko liemi- tai maljalaimennossarjana. Liemilaimennosmenetelmä on maljalaimennosmenetelmää käytetympi menetelmä, jossa maljan sijaan käytetään kasvatuslientä. Kasvatuslientä sisältäviin koeputkiin tai nykyisin käytettäviin kuoppalevyihin lisätään portaittain kasvava määrä tutkittavaa mikrobilääkettä sekä standardimäärä bakteerisuspensiota. Näytteitä inkuboidaan 35 °C:ssa 16–20 tuntia, minkä jälkeen tarkastetaan, mikä on matalin pitoisuus, missä bakteerikanta ei

enää kasva. Tämä pitoisuus on lääkkeen MIC-arvo kyseiselle bakteerikannalle. (FiRe 2012, 19; MIC testing ohjekirja; Carlson & Koskela 2011, 44.)

Kuviossa 3.1 havainnollistetaan MIC-menetelmää ja kiekkoherkkyysmenetelmää. Kuvion esimerkissä näkyy kahden erilaisen organismin herkkyysmääritykset molemmilla menetelmillä samalle antibiootille. Herkän organismin eli A-organismin MIC-arvo on 8 µg/ml, koska tässä pitoisuudessa mikro-organismi ei enää kasva. Vastaava kiekkoherkkyystesti näyttää estorengasta kiekolla. Alemmassa eli B-näytteessä resistentti mikro-organismi kasvaa kaikilla antibioottikonsentraatioilla. Organismen MIC-arvo on siis suurempi kuin 16 µg/ml ja kiekolla ei näy lainkaan estorengasta. (Washington 2016.)



KUVIO 3.1. MIC-menetelmän ja kiekkoherkkyysmenetelmän vertailua (mukaillen Washington 2016)

Laimennosmenetelmää käytetään mikrobilääkeherkkyysmääritysten vertailu- eli referenssimenetelmänä. Menetelmä on täsmällinen, mutta työläs ja hidas. 2000-luvulla yleistyneet MIC-automaatiolaitteet, kuten VITEK[®]2 ovat kuitenkin paljon lisänneet laimennosmenetelmien käyttökelpoisuutta ja nopeutta laboriodiagnostiikassa. Käsittelemme VITEK[®]2 -automaatiota tarkemmin luvussa viisi. (FiRe 2012, 19; MIC testing ohjekirja; Carlson & Koskela 2011, 44.)

MIC-arvo voidaan määrittää myös yksinkertaisella E-testillä eli Epsilon-testillä. E-testi on kaupallinen, ohut paperiliuska, johon on valmiiksi laitettu nouseva pitoisuusgradientti tiettyä mikrobilääkettä. E-testiliuska asetetaan agarmaljalle, johon on ensin laitettu bakteerisuspensio. Inkuboinnin jälkeen liuskan ympärille on muodostunut ellipsian muotoinen estovyöhykealue, jossa bakteeri ei kasva. Liuskassa olevan mitta-asteikon avulla nähdään suoraan MIC-arvo estovyöhykkeen ja liuskan leikkauspisteessä. (Carlson & Koskela 2011, 44; FiRe 2012, 19.)

3.3 Antibiootit

Antibiootilla tarkoitetaan elävien mikrobien tuottamaa, toisia mikrobeja tuhoavaa tai niiden kasvua estävää ainetta. Tiukan määritelmän mukaan synteettisesti valmistetut lääkeaineet eivät ole antibiootteja, mutta antibiootti-nimitys on vakiintunut kansankielessä tarkoittamaan myös näitä valmisteita. Termi mikrobilääke on täsmällisempi. Mikrobilääkkeisiin kuuluvat sekä luonnosta saatavat yhdisteet että synteettisesti valmistetut lääkeaineet. (Huupponen 2014c, 916.)

Antibiootit ovat mikrobilääkkeitä, joita käytetään bakteeri-infektioiden hoitoon. Mikrobilääkkeisiin kuuluvat bakteerilääkkeiden lisäksi virus-, sieni- ja alkueläininfektioiden hoitoon käytettävät lääkkeet. Mikrobilääkkeiden käyttö alkoi 1930-luvulla sulfavalmisteilla. Penisilliini keksittiin 1940-luvulla ja sen jälkeen uusia mikrobilääkkeitä on syntetisoitu jatkuvasti. Mikrobilääkkeitä käytetään nykyisin erittäin laajalti ja ne ovatkin avohoidon käytetyin lääkeryhmä. Antibiootteja käytetään paljon myös turhaan ja tämä on osaltaan aiheuttanut resistenttien bakteerikantojen lisääntymisen. (Huupponen 2014c, 916; Lumio 2015.)

Bakteereita vastaan tehoavat mikrobilääkkeet voidaan jakaa bakterisidisiin ja bakterioostaattisiin lääkkeisiin. Bakterisidisten lääkkeiden toiminta perustuu niille herkkien bakteerien tappamiseen, kun taas bakterioostaattiset valmisteet estävät bakteerien kasvun ja lisääntymisen. Lääkkeen pitoisuuden suureneminen voi muuttaa eräät bakterioostaattiset valmisteet bakteriosidisiksi. Bakteerilääkkeet voidaan jaotella myös sen perusteella, miten laajaan joukkoon erityyppisiä bakteereita ne tehoavat. Tällöin puhutaan laajakirjoisista ja kapeakirjoisista valmisteista. Bakteerilääkkeet voidaan jaotella myös niiden vaikutusmekanismien mukaan. Tärkeimmät lääkkeiden vaikutusmekanismit ovat bak-

teerien seinämän rakenteeseen vaikuttaminen, bakteerien proteiinisynteesin esto ja bakteerien nukleiinihappoaineenvaihduntaan vaikuttaminen. (Huupponen 2014a, 916–918.)

β -laktaamiantibiootit ovat suurin mikrobilääkeryhmä ja ne kuuluvat bakteerien seinämän rakenteeseen vaikuttaviin lääkeaineisiin. Ne rakentuvat β -laktaamirenkaasta, siihen liittyvästä toisesta rengasrakenteesta sekä sivuketjuista. Kaikilla ryhmän antibiooteilla on samankaltainen, bakterisidinen vaikutusmekanismi. Sopivissa oloissa bakteerit hajoavat β -laktaamivaikutuksen seurauksena. β -laktaamiantibiootteihin kuuluvat penisilliinit, kefalosporiinit, monobaktaamit ja karbapeneemit. (Huupponen 2014b, 925.)

Bakteerien proteiinisynteesiä estäviin lääkeaineisiin kuuluvat makrolidit, tetrasykliinit, aminoglykosidit ja linkosamidit. Nukleiinihappoaineenvaihduntaan vaikuttavia lääkkeitä ovat sulfonamidit ja trimetopriimi, kinolonit, linetsolidi, fusidiinihappo, kloramfenikoli, daptomysiini, metronidatsoli ja fidaksomisiini. Glykopeptidiantibiootteihin kuuluvat vankomysiini ja teikoplaniini, jotka ovat bakteerien seinämän rakenteeseen vaikuttavia lääkkeitä. (Pelkonen ym. 2014, 923–924)

Bakteereiden luonnollinen resistenssi on kullekin bakteerisuvulle tai -lajille tyypillinen ominaisuus. Hankittu resistenssi tarkoittaa ilmiötä, jossa lääkeaineelle aiemmin herkät kannat muuntuvat resistenteiksi eli vastustuskykyisiksi. Resistenssimekanismeja on monenlaisia. Tärkein niistä on mikrobilääkkeitä tuhoavien entsyymien tuotto. Esimerkiksi eräiden bakteerien tuottamat β -laktamaasientsyymit inaktivoivat β -laktaamiantibiootin. Muita hankitun resistenssin mekanismeja ovat bakteerilääkkeen vaikutuskohdan muuntuminen, vaihtoehdoisen aineenvaihduntareitin käyttö sekä lääkevaikutuksen kohteena olevan entsyymin tuotannon raju kiihtyminen. Bakteerien seinämän rakenne voi myös olla sellainen, että lääke ei pysty sitä läpäisemään. (Huupponen 2014d, 919–920.)

Viime vuosina antibioottiresistenssi on lisääntynyt ja monipuolistunut nopeasti. Antibioottiresistenssi lisää sairastavuutta, kuolleisuutta ja terveydenhuollon kustannuksia. Antibioottiresistenssistä onkin muodostunut yksi lääketieteen vakavampia uhkia. (Evira 2016.)

4 TYÖSSÄMME ESIINTYVÄT BAKTEERILAJIT

Bakteerit ovat tumattomia, yksisoluisia ja mikroskooppisen pieniä organismeja. Useimmat bakteerit ovat kooltaan 0,1 - 50 mikrometriin. Bakteereilla ei ole tumaa, vaan perintöaines eli DNA, on solulimassa nukleoidina. Bakteerit ovat suotuisissa oloissa erittäin nopeita lisääntymään ja ne ovat myös nopeita sopeutumaan muuttuneisiin elin-oloihin. Bakteereilla, jotka voivat aiheuttaa sairauksia, on kyky tarttua kohteeseen, esimerkiksi limakalvoille tarttumakarvojen eli fimbrioiden välityksellä. Useat bakteerit pystyvät myös liikkumaan ympäristössään niiden pinnassa olevien flagelloiden tai liukumisen avulla. Useimmat bakteerit eivät ole patogeenisiä, vaan ovat osa ihmisen luonnollista mikrobistoa eli normaaliflooraa, joka on ihmiselle yleensä haitatonta. Normaaliflooraa esiintyy ihmisillä esimerkiksi iholla, suolistossa ja limakalvoilla. (Vaara, Skurnik & Sarvas 2010, 14; Solunetti 2006.)

Bakteerit voidaan tunnistaa monella tapaa, kuten esimerkiksi niiden morfologian, gramvärjäytyvyyden tai aineenvaihdunnan perusteella. Yleisimmät bakteerisolun muodot ovat pallomainen kokki (coccus) ja sauvamainen basilli (bacillus). Bakteerisolulla on myös oma tyypillinen ryhmittäytymisensä. Esimerkiksi kokit voivat esiintyä pareittain (diplokokit), neljän solun neliömäisenä ryhmänä, kahdeksan solun kuutiomaisena ryhmänä (Sarcina), ketjuina (streptokokit) tai rykelminä (stafylokokit). (Niemi 2003–2006.)

Bakteerit jaetaan soluseinän rakenteen mukaan grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin lajeihin. Gramnegatiivisilla bakteereilla on soluseinässään plasmamembraanin ja ohuen peptidoglykaanikerroksen ulkopuolella lisäksi biologinen kalvo eli ulkomembraani. Ulkomembraani on lipidi-kaksoiskalvo, jonka tärkein tehtävä on suojata bakteeria ulkoa tulevilta haitallisilta aineilta. Ulkomembraani tekee gramnegatiiviset bakteerit resistentiksi monille grampositiivisiin bakteereihin vaikuttaville mikrobilääkkeille. Grampositiivisilla bakteereilla ei ole ulkomembraania, mutta niillä on plasmamembraani ja paksumpi peptidoglykaanikerros. Sen vuoksi grampositiiviset bakteerit ovat herkkiä lysotsoymille ja penisilliinille. Bakteerien soluseinän rakenne saadaan selville gramvärjäyksessä, jossa grampositiiviset bakteerit värjäytyvät sinivioleteiksi ja gramnegatiiviset punertaviksi. (Vaara ym. 2010, 21.)

Bakteerit voidaan jaotella myös niiden metabolian eli aineenvaihdunnan mukaan. Aerobiset bakteerit käyttävät aineenvaihdunnassaan happea, joten happi on niiden toiminnalle välttämätön. Anaerobiset bakteerit puolestaan eivät siedä happea lainkaan. Fakultatiivisiksi anaerobeiksi kutsutaan bakteereja, jotka pystyvät elämään sekä hapellisissa että hapettomissa olosuhteissa. Suurin osa veriviljelyn löydöksistä on aerobisia tai fakultatiivisesti anaerobisia bakteereja, jotka sietävät hapellisia olosuhteita. Työmme tutkittavat bakteerit rajautuvatkin näihin osa-alueisiin. (Vaara ym. 2010, 35.)

4.1 Gramnegatiiviset sauvat

Työssämme positiivisina löydöksinä esiintyviä gramnegatiivisia sauvabakteereita ovat *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella oxytoca* ja *Raoultella ornithinolytica*. Nämä kaikki bakteerit kuuluvat laajaan gramnegatiivisten sauvabakteerien Enterobacteriaceae-heimoon. Niitä kutsutaan yleisesti enterobakteereiksi, sillä useimpien näiden bakteerien luonnollinen elinympäristö on ihmisten ja eläinten suolisto. Ne voivat elää myös maaperässä, jätevesissä ja luonnonvesissä. Enterobakteerit ovat fakultatiivisesti anaerobeja ja oksidaasi-negatiivisia bakteereja, jotka käyttävät glukoosia ravinnokseen. Monet enterobakteerikannat voidaan tyypittää niiden O-, H- ja K-antigeenien mukaan. O-antigeeni on bakteerin solun ulkopinnan osa, H-antigeenin omaavilla bakteereilla on flagelloja ja K-antigeenin omaavilla on polysakkaridikapseli. Useimmat enterobakteerikannat ovat opportunistisia taudinaiheuttajia, jotka eivät normaalisti ole taudinaiheuttajia, mutta voivat muuttua patogeenisiksi isäntäelimistön puolustuskyvyttömyyden takia ja päästessään suoliston ulkopuolelle. Ne voivat aiheuttaa muun muassa virtsatie-, keuhko- ja leikkaushaavainfektioita sekä sepsistä. (Siitonen & Vaara 2010, 177; Terveyskirjasto 2015. Walker ym. 2007, 503–504.)

Gramnegatiivisten bakteerien soluseinän kahden lipidikalvon ulompi lipidikalvo muodostuu lipopolysakkaridikerroksesta, joka haittaa mikrobilääkkeen pääsemistä solun sisään. Tehokkaan ulkomembraaninsa takia enterobakteerit ovat luonnostaan resistenttejä monille antibiooteille ja myös hankittu resistenssi on yleistä. Tämä vaikeuttaa mikrobilääkehoitoa ja uusien mikrobilääkkeiden kehittämistä gramnegatiivisten sauvabakteerien aiheuttamien infektioiden hoitoon. (Fire 2012, 34; Siitonen & Vaara 2010, 177.)

Osalla Enterobacteriaceae-heimon bakteerikannoista esiintyy ESBL (extended-spectrum β -lactamases) -geenejä, jolloin bakteeri tuottaa laajakirjoisia β -laktamaaseja. β -laktamaasit ovat entsyymejä, jotka voivat hajottaa β -laktaamirenkaan omaavia mikrobilääkkeitä, kuten penisilliinejä ja siten aiheuttaa bakteerin resistenssin kyseisiä mikrobilääkkeitä kohtaan. ESBL:t pystyvät lisäksi hajottamaan kefalosporiineja (esimerkiksi keftriaksoni) ja monobaktaameja (atstreonaami). ESBL:ää tuottavat bakteerikannat ovat yleensä resistenttejä myös fluorokinoloneille, aminoglykosideille, trimetopriimille, ja tetrasykliineille. Karbapeneemejä (imipeneemi, meropeneemi, ertapeneemi) pidetään viimeisenä lääkeryhmänä, joka on laajasti säilyttänyt tehonsa gramnegatiivisia bakteereja kohtaan, mutta resistenttiys karbapeneemejä kohtaan on huolestuttavasti yleistynyt maailmalla. Suomessa ei ole toistaiseksi tavattu kuin yksittäisiä karbapenemaasia tuottavia *E. coli*-, *Klebsiella spp.*- ja *Enterobacter cloacae* -kantoja. (Fire 2012, 41)

4.1.1 *Escherichia coli*

Escherichia colin normaali elinympäristö on ihmisten ja eläinten suolisto ja se kuuluu suoliston hyödylliseen normaaliflooraan. *E. coli* -bakteereihin kuuluu useita erilaisia kantoja, joista osa on patogeenisia. Baktereemisia ja invasiivisia infektioita aiheuttavilla *E. coli* on pinnallaan polysakkaridikapseli, eli K-antigeeni, kun taas suolistoinfektioita aiheuttavilta koleilta kyseinen antigeeni yleensä puuttuu. Useimmat *E. coli* pystyvät liikkumaan flagellojen ja kiinnittymään fimbrioiden avulla erilaisiin pintoihin ja kudoksiin. *E. coli* pystyy aiheuttamaan infektioita päästessään parenteraalitilaan limakalvojen vastustuskyvyn heikennyttyä tai jonkin vamman kautta. *E. coli* aiheuttavat 90 % virtsatieinfektioista, jotka ovat usein peräisin omasta suoliston ja välilihan normaalifloorasta. *E. coli* on usein mukana myös erityisesti suoliston alueen kirurgisissa infektioissa ja on yleisin sepsiksen aiheuttaja. Vastasyntyneillä *E. coli* voi aiheuttaa vakavan septisen yleisinfektion, johon liittyy usein aivokalvontulehdus. Vastasyntynyt voi saada tartunnan äidin synnytyskanavasta. Osa *E. coli* kannoista, esimerkiksi enterohemorragiset (EHEC) -kannat, voivat aiheuttaa suolistoinfektioita elintarvikkeiden välityksellä. (Siitonen & Vaara 2010, 177–179.)

E. coli on luonnostaan herkkä gramnegatiivisiin bakteereihin tehoaville mikrobilääkkeille, mutta moniresistenssi on yleistä sairaalassa, missä käytetään paljon bakteerilääkkeitä. *E. coli* resistenttiys kefalosporiineja kohtaan on lisääntynyt ja myös

ESBL:ää tuottavien kantojen osuus on ollut kasvussa. Herkkyysmäärittäminen on yleensä tarpeen, varsinkin septisissä infektioissa, joissa on tärkeää saada nopeasti varmasti tehoava lääke potilaalle. (Siitonen & Vaara 2010, 177–179.)

4.1.2 *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae on fakultatiivisesti anaerobinen, flagellojen avulla liikkuva, gramnegatiivinen sauvabakteeri. Se kuuluu useimpien ihmisten normaaliflooraan ja sitä esiintyy myös ympäristössä, kuten jätevesissä ja saastuneessa maaperässä. Se ei ole ihmisen ensisijainen taudinaiheuttajabakteeri, eikä yleensä aiheuta infektioita perusterveillä ihmisillä. Se on kuitenkin yksi merkittävä sairaalainfektioiden aiheuttaja, erityisesti huonokuntoisilla potilailla. *E. cloacae* voi aiheuttaa tai olla osana erilaisia infektioita, kuten bakteremiaa, endokardiittia, iho- ja pehmytkudosinfektioita sekä hengitys- ja virtsatietulehduksia. (National Center for Biotechnology Information (NCBI) 1998; Nanologix 2015; Tissari & Anttila 2010, 197.)

E. cloacae bakteerit ovat useimmiten resistenttejä ampisilliineille ja ensimmäisen polven kefalosporiineille, sillä ne tuottavat β -laktamaasientsyymiä. *E. cloacae* kehittää myös helposti resistenssiä kolmannen polven kefalosporiineille, varsinkin jos hoidossa käytetään laajakirjoista kefalosporiinia. *E. cloacae* -kannat ovat kuitenkin pysyneet Suomessa vielä suhteellisen herkkinä tärkeimmille käytetyille mikrobilääkkeille. Resistenssitilanne vaihtelee alueittain ja sairaaloittain, joten on tärkeää tehdä herkkyysmäärittäminen oikean hoidon takaamiseksi. (Tissari & Anttila 2010, 198; Fire 2012, 10–11.)

4.1.3 *Citrobacter koseri*

Citrobacter koseri kuuluu *Citrobacter*-lajeihin. Se on fakultatiivisesti anaerobinen, flagellojen avulla liikkuva bakteeri. *C. koseri* esiintyy vesistöissä, maaperässä, ruoassa ja ihmisten ja eläinten suolistossa. *C. koserin* aiheuttamia infektioita esiintyy yleensä sairaalapotilailla, mutta ne voivat olla myös sairaalan ulkopuolelta hankittuja. *C. koserin* on havaittu aiheuttavan erityisesti vastasyntyneillä sepsistä ja vakavaa meningiittiä, johon saattaa liittyä nekrotisoivaa enkefaliittiä- ja aivopaiseita. *Citrobacter*-lajit voivat opportunisteina aiheuttaa myös monia muita infektioita sairaalapotilailla, kuten virtsa-,

hengitystie- ja leikkaushaavainfektioita, sekä sepsistä. Yleisesti *Citrobacter*-lajien arvioidaan aiheuttavan noin 3–6 % kaikista Enterobacteriaceae-heimon sairaalainfektioista. (Wang & Chang 2010–2014.)

C. koseri on suhteellisen herkkä gramnegatiivisten sauvojen mikrobilääkkeille, lukuunottamatta ampisilliiniä. Parhaiten tehoavia mikrobilääkkeitä ovat aminoglykosidit (gentamysiini, netilmysiini ja amikasiini), fluorokinolonit (levofloksasiini ja siprofloksasiini) ja karbapeneemit (ertapeneemi, imipeneemi ja meropeneemi). (Wang & Chang 2010–2014.)

4.1.4 *Klebsiella oxytoca* ja *Raoultella ornithinolytica*

Klebsiella-suvun bakteerit ovat liikkumattomia, fakultatiivisesti anaerobisia bakteereja, joiden solun pinnalla on näkyvä polysakkaridikapseli. Polysakkaridikapseli suojaa klebsielloja monia isännän puolustusmekanismeja vastaan, millä on vaikutusta bakteerin virulenssille. Kaikista virulentimpia ovat kapselityypit K1 ja K2. Yleisimpiä infektioita aiheuttavia Klebsiella-lajeja ovat *K. pneumoniae* ja *K. oxytoca*. Ne kuuluvat ihmisen suoliston ja nenänielun normaaliflooraan, mutta säilyvät hengissä erilaisissa ympäristöissä, kuten hoitohenkilökunnan käsissä, pesualtaissa ja hengityskoneissa, sekä ruoassa, maaperässä ja vedessä. Tyypillisimpiä klebsiellojen aiheuttamia infektioita ovat virtsatieinfektiot, sairaalaperäiset keuhkokuumeet ja sepsikset. Yleisimmin infektiokanta on lähtöisin potilaan suolistosta, mutta tartuntareittejä on useita. *K. oxytoca* -kantojen hankittu resistenssi on melko harvinaista, mutta ne ovat luonnostaan resistenttejä ampisillinielle. Myös ESBL-kannat ovat vielä melko harvinaisia. (Tissari & Anttila 2010, 196; FiRe 2012, 38; Paterson, Siu & Chang 2010–2014.)

Raoultella ornithinolytica on ennen kuulunut Klebsiella-lajeihin, mutta raoultellat ehdotettiin kuuluvan omaan sukuunsa vuonna 2001. *R. ornithinolytica* on melko harvinainen opportunistinen taudinaiheuttaja. Pääasiassa se aiheuttaa virtsa- ja hengitystieinfektioita sekä sepsistä sairaalapotilailla. (FiRe 2012, 38.)

4.2 Grampositiiviset kokit

Työssämme esiintyviä grampositiivisia kokkeja ovat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus lugdunensis* ja *Staphylococcus hominis*, jotka kuuluvat *Staphylococcus*-sukuun eli stafylokokkeihin. Positiivisena löydöksenä näytteissä esiintyi myös yksi enterokokkilaji *Enterococcus faecium*. Stafylokokit voidaan jakaa koagulaasinegatiivisiin ja -positiivisiin lajeihin, joista *S. aureus* on ainoa koagulaasiposiitivinen ihmisen stafylokokkilaji. Muut stafylokokit kuuluvat koagulaasinegatiivisiin stafylokokkeihin. Koagulaasitesti perustuu *S. aureuksen* kykyyn aiheuttaa plasman hyytyminen bakteerin tuottaman koagulaasientsyymin avulla. (Vuopio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2010, 83.)

4.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus on fakultatiivisesti anaerobinen, liikkumaton, yleensä pareittain tai rykelmissä esiintyvä kokkibakteeri. Sen pesäkkeet ovat tyypillisesti kellertäviä, mutta ne voivat olla myös valkoisia tai värittömiä. *S. aureus* sietää hyvin erilaisia olosuhteita ja kasvaa helposti tavallisella elatusaineella. Erityistä huomiota vaativat kuitenkin *S. aureuksen* pienipesäkkeiset ns. SCV-variantit, joita voi olla vaikea havaita bakteeriviljelymaljalla. (Turnidge ym. 2008; Vuopio-Varkila ym. 2010, 83.)

S. aureus on merkittävimpiä taudinaiheuttajabakteereita, aiheuttaen infektioita sekä perusterveille että huonokuntoisille sairaalapotilaille. Se on tärkein märkäisten ihoinfektioiden aiheuttaja. Sitä esiintyy ajoittain yleisesti ihmisten nenässä, nenänielussa ja iholla, harvemmin emättimessä tai peräsuolen alueella. Infektion aiheuttava *S. aureus* on useimmiten peräisin potilaan omasta mikrobistosta, mutta se voi levitä myös ihmisestä toiseen kosketus- ja aerosolitartuntana. Yleisimpiä *S. aureuksen* aiheuttamia infektioita ovat märkäiset iho- ja pehmytkudosinfektiot, infektiot leikkaushaavoissa, luussa ja niveliissä, sekä vakavat yleisinfektiot, kuten sepsis ja endokardiitti. *S. aureuksen* aiheuttama bakteremia on jatkuvasti lisääntynyt ja yleinen tauti. Se saa alkunsa yleensä jonkin paikallisen infektion, kuten haavan, selluliitin tai keuhkokuumeen seurauksena. Bakteriemiaa voi seurata lisäksi vakava septinen sokki ja metastaattisten infektiopesäkkeiden muodostuminen sisäelimiin. *S. aureus* on yleinen sairaalainfektioiden aiheuttaja, ja varsinkin

moniresistentit *S. aureus* -kannat ovat jatkuvasti yleistyneet. (Vuopio-Varkila ym. 2010, 83, 86–87; FiRe 2012, 46.)

S. aureuksella on paljon erilaisia taudinaiheuttamiskykyyn vaikuttavia tekijöitä, kuten sen ympäristöönsä tuottamat erilaiset toksiinit ja pintaproteiinit. Stafylokokkien soluseinässä on useita kerroksia sisältävä peptidoglykaanikerros, johon monet bakteerin pintaproteiinit sitoutuvat. Pintaproteiinien avulla se pystyy muun muassa tarttumaan elimistön rakenteiden pintaan, hajottamaan puna- ja muita eukaryoottisoluja hemolysiiniproteiinien avulla ja estämään spesifisiä vasta-aineita pääsemästä bakteerin sisään ja peittämään bakteerin rakenteita elimistön puolustusreaktioilta proteiini A:n avulla. *S. aureus* voi myös suojautua elimistön puolustusjärjestelmältä ja fagosytoosilta muodostamalla ympärilleen polysakkaridikapselin, joita on 11 eri serotyyppiä. *S. aureuksen* tuottamat eksotoksiinit ovat superantigeenejä, jotka pystyvät aktivoimaan laajan immuunivasteen kiinnittymällä suoraan T-solun reseptoriin. TSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin) on *S. aureuksen* eksotoksiini, joka voi aiheuttaa toksisen sokkioireyhtymän. *S. aureuksen* tuottamat enterotoksiinit puolestaan aiheuttavat ruokamyrkytyksiä, joihin ei auta ruoan kuumennus, sillä enterotoksiinit ovat lämpöresistenttejä. (Harrison 2007, 369–370; Vuopio-Varkila ym. 2010, 84–86.)

S. aureus on kehittänyt resistenssiä lähes kaikkia mikrobilääkeryhmiä kohtaan ja se on nykyään 80 %:sti resistentti tavalliselle penisilliinille, sen tuottaman penisilliiniä hajottavan entsyymin eli beetalaktamaasin (penisillinaasin) vuoksi. Penisillinaasia tuottaville kannoille on kehitetty stafylokokkipenisilliinit, kuten kloksasilliini, dikloksasilliini ja metisilliini, mutta osa *S. aureus* -kannoista, eli metisilliiniresistentit *S. aureukset* (MRSA) ovat resistenttejä myös stafylokokkipenisilliineille. MRSA-kantojen resistenssi johtuu sen *mecA* -tai *mecC*-geenistä, jonka avulla soluseinään muodostuu proteiinia, johon metisilliini ja muut stafylokokkipenisilliinit eivät sitoudu. Kaikkiin MRSA-kantoihin tehoavat hyvin kuitenkin glykopeptidiantibiootit, kuten vankomysiini ja teikoplaniini, joihin Suomessa ei ole vielä havaittu resistenssiä. MRSA-esiintyvyys on lisääntynyt paljon sairaaloissa maailmalla ja varsinkin maissa, joissa sen leviämiseen suhtaudutaan välinpitämättömästi. MRSA aiheuttaa yleensä sairaalasyntyisiä leikkaushaava- ja luuinfektioita sekä sepsistä. Se ei kuitenkaan eroa taudinkuvaltaan muista herkistä *S. aureuksista*, mutta niiden hoito on hankalaa mikrobilääkeresistenssin vuoksi ja ne saattavat sairaalassa levitä nopeasti. MRSA leviää tavallisesti potilaasta toiseen hoitohenkilökunnan käsien välityksellä, joten tartuntojen ehkäisyssä tärkeää on muun mu-

assa hyvä käsihygienia ja kosketuseristys. (Vuopio-Varkila ym. 2010, 89–90; FiRe 2012, 46.)

4.2.2 Koagulaasinegatiiviset stafylokokit

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit kuuluvat useimpien ihmisten normaaliflooraan iholla ja limakalvoilla. Ne ovat yleisimpiä sairaalasyntyisten bakteremioiden aiheuttajia. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat myös tavallisimpia väärin positiivisten veriviljelytulosten aiheuttajia, koska niitä esiintyy runsaasti iholla. Bakteridiagnoosin tulleen mielellään perustua siihen, että sama bakterikanta on eristetty useammasta kuin yhdestä näytteestä ja kahdesta eri näyteenottokerrasta otetusta näytteestä. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat opportunistisia taudinaiheuttajia, joten kliinisen infektion syntyyn tarvitaan lähes aina jokin altistava tekijä, kuten ihon tai limakalvon vaurio, immunosuppressio tai vierasesineet. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit voidaan erottaa *S. aureuksesta* koagulaasireaktion perusteella. Ne esiintyvät maljalla yksittäin ja rykelmissä muodostaen pieniä valkoisia pesäkkeitä. Ihmisellä on tavattu 15 eri koagulaasinegatiivista stafylokokkia, joista merkittävin on *Staphylococcus epidermidis*. Se aiheuttaa yli 80 % sairaalasyntyisistä koagulaasinegatiivisista stafylokokki-infektioista. Työssämme positiivisina veriviljelylöydöksinä koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista esiintyivät *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis* ja *Staphylococcus hominis*. (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila & Kotilainen 2010, 98–99; John Jr. ym. 2010–2014.)

Suurin osa koagulaasinegatiivisten stafylokokkien aiheuttamista sairaalainfektioista liittyy vierasesineinfektioihin, joissa ne ovatkin yleisin aiheuttajamikrobiryhmä. Tavallisimpia bakteremiaan liittyviä vierasesineitä ovat verisuonikatetrit, erityisesti teho-osastoilla, hematologisilla osastoilla ja vastasyntyneiden teho-osastoilla. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit infektoivat herkästi vierasesineitä kehossa, koska ne pysyvät kiinnittymään tiukasti vierasesineen pintaan ja erittämään ympärilleen glykokalyksikerroksen, joka suojaa bakteeria antibioottien vaikutukselta ja elimistön puolustusmekanismeilta. Koagulaasinegatiivisten stafylokokkien aiheuttamien infektioiden hoitaminen saattaa olla hankalaa, ja yleensä vierasesine joudutaan poistamaan etenkin tekoläppä- ja tekonivelinfektioissa. (Lyytikäinen ym. 2010, 99–101.)

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat yksi resistenteimmistä sairaalainfektioiden aiheuttajista ja nykyään yli puolet niistä on metisilliiniresistenttejä (MRSE). Metisilliiniresistenttiys perustuu samaan mecA-geenin mekanismiin kuin *S. aureuksella*. Lisäksi sairaalainfektioita aiheuttavat kannat ovat resistenttejä myös useille muille mikrobilääkkeille, kuten erytromysiinille, klindamysiinille, trimetopriimille, aminoglykosideille, fluorokinoloneille, rifampisiinille ja fusidiinihapolle. Varmimmin tehoavat mikrobilääkkeet koagulaasinegatiivisille stafylokokeille ovat vankomysiini ja teikoplaniini, joihin resistenttiys on vielä harvinaista. (Lyytikäinen ym. 2010, 99,101; Veriviljelypositiiviset sairaalainfektiot 2007.)

4.2.3 *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium kuuluu Enterococcus-sukuun eli enterokokkeihin. Se on fakultaatiivisesti anaerobinen, grampositiivinen kokkibakteeri, joka muistuttaa morfologialtaan streptokokkia. Se on kasvuvaatimuksiltaan hyvin vaatimaton ja sietää hyvin erilaisia olosuhteita, kuten laajoja lämpötilan vaihteluita, korkeaa pH:ta ja suolaista ympäristöä. *E. faecium* kuuluu ihmisen ja eläinten suoliston normaaliflooraan, mutta sitä voi esiintyä myös virtsa- ja genitaalialueella, erityisesti välilihassa, sekä jonkin verran suussa ja iholla. *E. faecalis* ja *E. faecium* ovat yleisimmät infektioita aiheuttavat enterokokkilajit. (Fire 2012, 49; Zervos 2010; Rantakokko-Jalava 2010, 126.)

Enterokokit ovat tyypillisiä opportunistisia taudinaiheuttajia. Ne aiheuttavat infektioita yleensä vain elimistön immuunipuolustuksen heiketessä, vasta kun ne ovat ohittaneet elimistön luonnolliset estemekanismit tai kun mikrobilääkehoito on vähentänyt kilpailevien bakteerien määrää. Infektio on yleensä myös lähtöisin potilaan omasta mikrobistosta. Yleisimpiä niiden aiheuttamia infektioita ovat virtsatieinfektiot, joihin liittyy katetriisaatio tai muu toimenpide. Enterokokit voivat aiheuttaa myös bakteremiaa ja bakteremiaendokarditetteja, sekä esiintyä muiden bakteerien lisänä vatsan ja lantion alueen absesseissa sekä haavoissa. (Rantakokko-Jalava 2010, 126; FiRe 2012, 49.)

Vaikka enterokokit ovat taudinaiheuttajakyvyiltään suhteellisen heikkoja, ne menestyvät sairaaloissa hyvin, koska ne ovat jo luontaisesti resistenttejä monille antibiooteille. Ne ovat myös hanakoita hankkimaan resistenssin muuntelemalla soluseinän proteiinejaan entistä resistentimmiksi, mikä on tyypillistä erityisesti *E. faeciumille*. Beetalak-

taamiantibiootit tehoavat heikosti *E. faeciumiin*, joka sietää melko suuria penisilliinipitoisuuksia ja on jopa 80 %:sti resistentti ampisilliinille. Myös vakavien infektioiden hoitoon käytetyt kefalosporiinit ovat tehottomia ja resistenttiys fluorokinoloneille ja nitrofurantoiinille on yleistä. Vankomysiini on tärkein vakavien *E. faecium* -infektioiden hoitoon käytettävä antibiootti. Vankomysiinille resistentit enterokokit (VRE) ovat kuitenkin lisääntyneet 1990-luvulta lähtien ja suurin osa niistä on *E. faeciumia*. Uudet mikrobilääkkeet linetsolidi ja tigesykliini tehoavat kuitenkin vielä VRE-kantoihin. (Rantakokko-Jalava 2010, 127; FiRe 2012, 49.)

5 VITEK[®] 2 -AUTOMAATTI

BioMérieux'n VITEK[®] 2 on mikrobien lajitunnistukseen ja herkkyysmääritysten tekemiseen kehitetty automaatti. Herkkyysmäärittäminen perustuu mikrobikasvun turbidimetrisen mittaamiseen fotometrin avulla (Marsik 2015, 293). VITEK[®] 2 -analysointilaitetta voidaan käyttää gramnegatiivisten ja grampositiivisten bakteerien tunnistamiseen, hiivojen tunnistamiseen sekä herkkyysmääritysten tekoon. (BioMérieux 2015a; Pincus 2006, 1.)

Alun perin VITEK[®] -laitteet suunniteltiin avaruustutkimuksen käyttöön 1970-luvulla. Niillä oli tarkoitus tutkia muiden planeettojen elämää avaruusaluksista käsin. Alkuperäisen tarkoituksen vuoksi laitteet ovatkin melko pienikokoisia ja erittäin automatisoituja ja analyysilaitteita. Herkkyysmäärittämisskortit ovat suunnilleen luottokortin kokoisia ja ne sisältävät eri mikrobilääkkeiden laimennossarjat mikrolitrasolla. (Marsik 2015, 295.)

VITEK[®] 2 (kuva 5.1) on kehitetyn ja automatisoidun version alkuperäisestä VITEK[®] 1 -laitteesta. VITEK[®] 2 -analysointilaitetta on saatavilla kolmessa muodossa (VITEK[®] 2 compact, VITEK[®] 2 ja VITEK[®] 2 XL), jotka eroavat toisistaan sekä automaation asteesta että määrityskapasiteetissa. Näistä VITEK[®] 2 ja VITEK[®] 2 XL soveltuvat klinisiin laboratorioihin. VITEK[®] 2 -laitteeseen mahtuu 60 määrityskorttia ja VITEK[®] 2 XL -laitteeseen 120 korttia. Laitteisto koostuu tietokoneesta, lukija-inkubaattorista ja Smart Carrier -asemasta. (BioMérieux 2015a; Pincus 2006, 1.)



KUVA 5.1. VITEK[®] 2 -automaatti (Kuva: Katja Stenius 2015)

5.1 Laitteiston osat ja toiminta

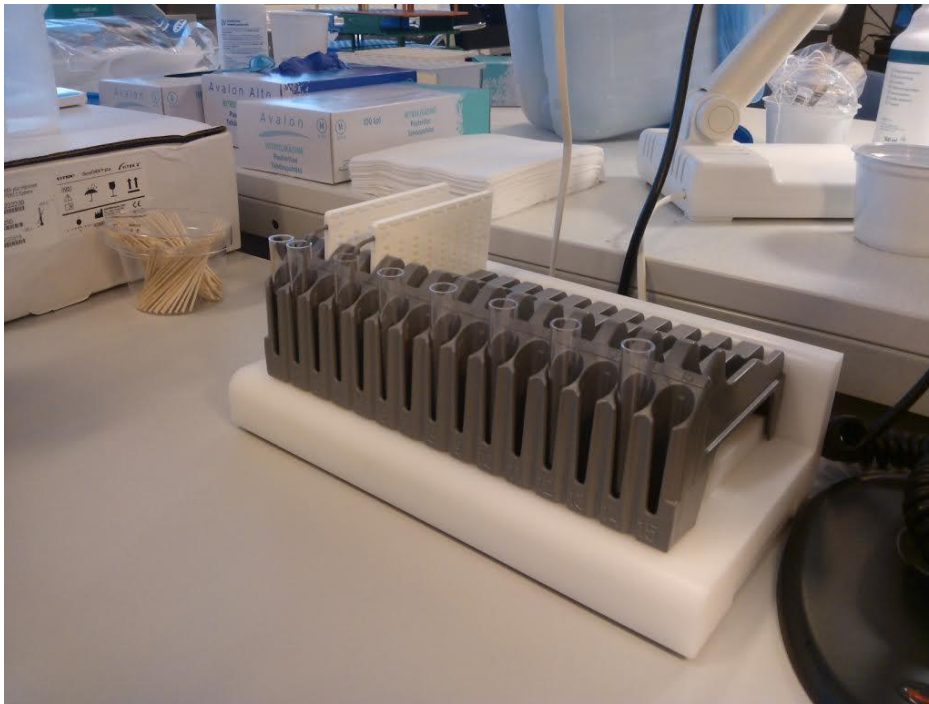
VITEK[®] 2 -laitteisto on integroitu systeemi, joka suorittaa automaattisesti näytteen valmistelun, testikorttien täytön mikrobisuspensiolla ja reaktioiden lukemisen. Laitteisto koostuu tietokoneesta, Smart Carrier -asemasta sekä varsinaisesta VITEK[®] 2 -analysointilaitteesta. Automaatin osat ovat kasetti, kasetin latausasema ja poistoasema, kuljetustarjottimet, viivakoodilukija, muistilukija, laimennus- ja pipetointiasema, täyttöasema, sinetöinti-asema, lukija ja inkubaattori, näytekaruselli, optiikka, kortin poistoasema, jätteenkeräys ja käyttöliittymäsysteemi. Osien sijoittuminen eri prosessointivaiheisiin on esitetty taulukossa 5.1. (BioMérieux 2008, 4-5.)

TAULUKKO 5.1. VITEK[®] 2 -laitteen osat ja niiden sijoittuminen eri prosessointivaiheisiin (BioMérieux 2008, mukaillen)

Komponentti	Prosessointivaihe
Kasetti	Testikortin kuljetus
Kasetin lataus- ja poistoasema	Testikortin kuljetus
Tarjottimet (Boats)	Testikortin kuljetus
Viivakoodilukija	Näytteen valmistelu
Muistilukija (Button Memory Reader)	Näytteen valmistelu
Laimennus-/pipetointiasema	Näytteen valmistelu
Täyttöasema	Näytteen valmistelu
Sinetöintiasema	Näytteen valmistelu
Testikorttien inkubaatio ja lukeminen	Testikorttianalyysi
Näytekaruselli	Testikorttianalyysi
Optiikka	Testikorttianalyysi
Kortin poisto	Testikortin kuljetus
Jätteenkeräysasema	Testikortin kuljetus
Käyttäjän liittymä	Kaikki prosessin vaiheet

Prosessi alkaa Smart Carrier -asemalta (Smart Carrier Station eli SCS). SCS on tietokone, joka kerää tietoa testikorteista sekä näytteistä ja siirtää tiedot VITEK[®] 2 -laitteelle. Testikorttien kuljetuksessa kasetti on tärkein osa (kuva 5.2). Yhteen kasettiin mahtuu 15 korttia ja niiden suspensioputket. Kasetissa on siru, jonka avulla tieto Smart Carrier -asemalta siirtyy VITEK[®] 2 -laitteelle. (BioMérieux 2008, 2-6 – 4-6.)

Kasetit voidaan ladata laitteeseen, kun kasetin lataus- ja poistoasemalla palaa vihreä merkkivalo. Kasetit kulkeutuvat automaattisesti tarjottimien avulla laitteen eri prosessointiasemille. Viivakoodinlukuasemalla luetaan kortin viivakoodit, joista selviää kortin tyyppi, viimeinen käyttöpäivä sekä eränumero. Muistilukija lukee kasetin sirun, johon on SCS:lla talletettu korttien ja näytteiden tiedot. (BioMérieux 2008, 4-7 – 4-10.)



KUVA 5.2. Näytekasetti Smart Carrier -asemalla (Kuva: Katja Stenius 2015)

Laitteen pipetointiasemalla mikrobisuspensiot laimennetaan sopiviksi antibioottil herkkyysmäärityskortteja varten. Laitteen tekemä automaattinen laimennus nopeuttaa analysointia huomattavasti, kuten myös se, että herkkyysmääritys voidaan tehdä samasta näytteestä kuin mikrobintunnistus. (BioMérieux 2008, 4-11.)

Täyttöasemalla testikortit täytetään mikrobisuspensiolla. Täyttö tapahtuu vakuumikammion ja pumpun avulla. Suspensio kulkeutuu alipaineen avulla täyttöputken eli pienen pillin kautta testikortin kanaviin ja täyttää testikaivot. Sinetöintiasema on viimeinen vaihe näytteen käsittelyssä. Asemalla kortin täyttöputki katkaistaan kuuman metallilangan avulla. Kuumuus sulattaa muovipillin, irrottaa sen ja sinetöi mikrobisuspension kortin sisälle. (BioMérieux 2008, 4-13 – 4-14.)

Kun testikortit on sinetöity, ne ovat valmiina inkuboitavaksi ja reaktion lukemiseen. Kortit kuljetetaan näytekaruselliin, jossa kortteja inkuboidaan 35,5 °C lämpötilassa. Karusellin pyöriessä kukin testikortti kulkeutuu lukuasemalle 15 minuutin välein. Lukemisen jälkeen kortin inkubointi jatkuu. (BioMérieux 2008, 4-14 – 4-15.)

VITEK[®] 2 -laitteen tunnistus ja herkkyysmääritys perustuu siihen, että organismin kasvua ja aktiivisuutta monitoroidaan jatkuvasti testikorttien kaivoissa. Tämän monitoroinnin suorittaa optinen systeemi. Transmittanssoptiikka käyttää näkyvää valoa suoraan

organismien kasvun mittaamiseen. Transmittoituneen valon määrä mitataan alussa ennen kuin kasvua on tapahtunut ja sen jälkeen 15 minuutin väliajoin. Kasvun määrä on verrannollinen siihen, kuinka paljon kaivon lävitse estyy pääsemästä valoa. Optinen systeemi koostuu valoa emittoivista diodeista (LED) sekä valodetektorista. LEDit tuottavat valoa, jolla on sopiva aallonpituus ja valodetektorilla ottaa kiinni transmittoituneen valon. (BioMérieux 2008, 4-16.)

5.2 Mikrobin tunnistus VITEK[®] 2 -automaatilla

VITEK[®] 2 -laitteen mikrobintunnistus perustuu biokemiallisiin reaktioihin, joiden tuloksia verrataan laitteiston tietokannassa oleviin tietoihin mikrobin ominaisuuksista ja tyypillisistä reaktioista (Lehman 2015, 192). Kaikki mikrobin tunnistuksessa tarvittavat reagenssit ovat valmiina VITEK[®] 2 -reagenssikorteilla. Korteissa on 64 reagenssikaivoa, joissa jokaisessa on yksittäinen testisubstraatti. Substraatit mittaavat mikrobin metaboliaan liittyviä toimintoja, kuten hapettumista, alkalinisaatiota, entsyymihydrolyysiä tai kasvua inhibiittoreiden kanssa. Kortin kaivojen molemmilla puolilla on optisesti kirkas kalvo, joka sekä päästää sopivan määrän happea reaktiokaivoon että suojaa näyttereaktiota. Jokaisessa kortissa on pieni putki, jonka kautta tutkittava mikrobisuspensio siirretään reagenssikortille. Korteissa on viivakoodit, jotka sisältävät tietoa kortin tyyppistä, eränumerosta ja viimeisestä käyttöpäivästä. Näytteen tiedot yhdistetään korttiin joko ennen laitteeseen lataamista tai kortin laitteeseen lataamisen jälkeen. (Pincus 2006, 2–3.)

VITEK[®] 2 -laitteelle on saatavilla mikrobintunnistukseen viisi erilaista korttiryhmää. GN-kortti on tarkoitettu fermentoiville ja ei-fermentoiville gramnegatiivisille basilleille, GP-kortti grampositiivisille bakteereille, YST-kortti hiivoille ja hiivojen kaltaisille organismeille, NH-kortti *Neisserian*, *Haemophiluksen*, ja muiden gramnegatiivisten bakteerien tunnistamiseen sekä ANC-kortti anaerobisten bakteerien ja korynebakteerien tunnistamiseen. (BioMérieux 2016c.)

Tutkittavasta näytteestä valmistetaan suspensio muoviputkessa olevaan suolaliuokseen. Näytteeksi valitaan puhtasviljelmältä sopiva määrä pesäkkeitä. Mikrobisuspensiolla pitää olla tietty McFarland-turbiditeetti, joka mitataan DensiCHEK[™]-turbiditeettimittarilla. (Pincus 2006, 4.)

Näytesuspensio siirrostetaan testikortteille VITEK[®] 2 -laitteessa olevan vakuumilaitteen sisällä. Näytetelineeseen laitetaan vierekkäin näytesuspensioputket ja niiden tunnistuskortit. Laite kuljettaa näytetelineen automaattisesti vakuumikammioon, jossa suspensio kulkeutuu alipaineen avulla siirtoputken kautta testikortin kanaviin ja täyttää testikaivot. Kortteja inkuboidaan karuselli-inkubaattorissa ja testireaktiot luetaan 15 minuutin välein. (Pincus 2006, 4–5.)

Optinen systeemi mittaa testikaivojen läpi kulkevan valon transmittanssia. Optiikka mahdollistaa testireaktioiden tulkitsemisen näkyvän valon eri aallonpituuksilla. Testireaktioista mitataan joko turbiditeettia tai substraatin metaboloitumisreaktion värillistä tuotetta. Lisäksi laitteistossa on erityisalgoritmit, joiden avulla poistetaan ilmakuplista johtuvat virheelliset luennat. (Pincus 2006, 6.)

Testireaktioiden tulokset muodostavat raakadatan, jossa jokainen reaktio saa tuloksen positiivinen (+), negatiivinen (-) tai epävarma (?). Analysointori vertaa mittaustuloksia valmistajan tietokantoihin ja ilmoittaa todennäköisimmän nimen mikro-organismille. Tietokannat on koottu tunnetuista mikro-organismeista, joita on testattu erilaisilla kasvualustoilla. Tietokannat on johdettu useista kliinisistä ja teollisista lähteistä sekä julkisista ja yliopistojen kokoelmista. (Pincus 2006, 6.)

Laite ilmoittaa tunnistuksen luotettavuuden sekä sanallisesti että prosentuaalisesti. Tunnistusluokkia ovat Excellent (96–99 %), Very good (93–95 %), Good (89–92 %), Acceptable (85–88 %), Low discrimination ja Unidentified Organism. Toiseksi viimeisessä luokassa analysointori löytää tunnistettavalle organismille kaksi tai kolme nimeämistä vaihtoehtoa ja viimeisessä tunnistusluokassa yli kolme nimeämistä vaihtoehtoa tai ei yhtään vaihtoehtoa. Näissä tapauksissa identifikaation varmistukseksi on tehtävä lisätestejä tai käytettävä muita referenssimenetelmiä. (Pincus 2006, 6–8.)

5.3 Antibioottiherkkyysmääritys VITEK[®] 2 -automaatilla

Antibioottiherkkyysmääritys VITEK[®] 2 -automaatilla perustuu MIC-arvon eli pienimmän mikrobin kasvua estävän antibiootikonsentraation määrittämiseen. Herkkyysmäärityksessä käytetään herkkyysmäärityskortteja eli AST-kortteja (Antimicrobial Suscep-

tibility Testing). Mittaus AST-korteilla perustuu mikrolaimennusmenetelmään, joka on yksinkertaistettu ja pienennetty versio doubling dilution -tekniikasta, jossa mikrobisuspensio laimennetaan aina puoleen edellisestä pitoisuudesta. Jokaisessa kortissa on 64 kaivoa, jotka sisältävät elatusainetta sekä eri antibiootteja tunnettuina pitoisuuksina. Yhdessä kaivoista on pelkkää elatusainetta ja tämä toimii kontrollina reaktiolle. (BioMérieux 2014, 8-3; BioMérieux 2016b.)

Tutkittava mikrobi kasvatetaan sopivalla kasvatusalustalla ja inkuboidaan asianmukaisissa olosuhteissa. Puhdasviljelmältä poimitaan steriilillä silmukalla sopiva määrä pesäkkeitä ja valmistetaan standardisuspensio 0,45 % suolaliuokseen. Mikrobisuspension turbiditeetti mitataan DensiCHEKTM-turbidimetrillä ja tarkistetaan, että sameus vastaa valmistajan ilmoittamaa McFarland-turbiditeettiarvoa. (BioMérieux 2014, 8-3; Pincus 2006, 4.)

Mikrobisuspensio pitää syöttää laitteeseen viimeistään tunnin kuluessa suspension valmistuksesta. Suspensioputket asetetaan näytekasettiin joko ID-kortin kanssa tai ilman. Kasetin seuraavaan korttipaikkaan asetetaan tyhjä putki ja AST-kortti. Kasetti syötetään VITEK[®]2-laitteeseen, joka tekee automaattisesti laimennoksen, kaivojen täyttämisen, sinetöinnin, inkuboinnin sekä reaktion lukemisen. (BioMérieux 2014, 8-3 – 8-5.)

Herkkyysmäärittäminen perustuu siihen, että laite vertaa mikrobin kasvua antibiootin kanssa mikrobin kasvuun ilman antibioottia. Laite monitoroi kasvua jokaisessa kaivossa tietyn ajan. Bakteerien kasvua seurataan korkeintaan 24 tuntia, mutta tulos voi olla valmiina jo neljässäkin tunnissa. Inkubaatiosyklin jälkeen laite määrittää MIC-arvot jokaiselle kortissa olevalle antibiootille erikseen. Kasvu määritetään kineettisesti ja mittaus tuottaa kasvukäyrän, josta MIC-arvo johdetaan tietokonealgoritmien avulla. MIC-arvon määrittämiseen tarvitaan useita kasvuun perustuvia parametreja, kuten esimerkiksi ESBL-positiivisuus. Lisäksi MIC-arvon määrittämiseen tarvitaan mikrobin oikea tunnistus. AES eli Advanced Expert System on validointityökalu, joka kontrolloi teknisiä virheitä ja auttaa epätavallisten resistenssimekanismien havainnoinnissa. AES sisältää tietokannan, joka koostuu yli 3500 fenotyypistä ja 30000 MIC-jakaumasta. (BioMérieux 2014, 8-3 – 8-7; BioMérieux 2016a; BioMérieux 2016b; Felmingham & Brown 2001, 84.)

VITEK[®]2 AST-kortteja (kuva 5.3) on saatavilla erilaisia eri mikrobilajien herkkyysmäärittämiin. Kortteja on enterobakteereille, ei-fermentoiville bakteereille, stafyloko-

keille, enterokokeille, streptokokeille sekä hiivoille (BioMérieux 2016b). Bakteereille pitää suorittaa ensin gramvärjäys, sillä sopivan herkkyyskortin valinta riippuu siitä, onko bakteeri grampositiivinen vai -negatiivinen. Opinnäytetyössämme tarvittavat mahdolliset herkkyysmäärityskortit olivat AST-N230, AST-N222, AST-P629 ja AST-P586.

AST-N230 -kortti on tarkoitettu aerobisten gramnegatiivisten sauvabakteerien herkkyysmääritykseen. Antibiootit, joiden herkkyyttä kortilla voidaan määrittää, ovat amokisilliini-klavulaanihappo, kefaleksiini, kefoksiitiini, keftatsidiimi, keftriaksoni, kefuroksiimi, siprofloksasiini, ertapeneemi, mesillinaami, meropeneemi, nitrofurantoiini, piperasilliini-tatsobaktaami, tigesykliini, tobramysiini, trimetopriimi ja trimetopriimi-sulfametoksatsoli. (BioMérieux 2015b.)



KUVA 5.3. Antibiootiherkkyysmäärityskortti eli AST-kortti (Kuva: Katja Stenius 2015)

AST-N222 -kortti on tarkoitettu aerobisten gramnegatiivisten sauvabakteerien herkkyysmääritykseen. Antibiootit, joiden herkkyyttä kortilla voidaan määrittää, ovat amikasiini, atstreonaami, kefepiimi, keftatsidiimi, siprofloksasiini, kolistiini, gentamisiini, imipeneemi, meropeneemi, minosykliini, pefloksaksiini, piperasilliini, piperasilliini-tatsobaktaami, rifampisiini, tikarsilliini, tikarsiliini-klavulaanihappo, tobramysiini ja trimetopriimi-sulfametoksatsoli. Tikarsilliini-klavulaanihappo on hyväksytty vain *Pseudomonas aeruginosalle*. (BioMérieux 2015c.)

AST-P629 -kortti on tarkoitettu seuraavien grampositiivisten bakteerien herkkyysmääritykseen: *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* ja *S. agalactiae*. Antibiootit, joiden

herkkyyttä kortilla voidaan määrittää, ovat bentsylpenisilliini, siprofloksasiini, klindamysiini, erytromysiini, fusidiinihappo, gentamisiini, linetsolidi, nitrofurantoiini, oksasiiliini, kinupristiini-dalfopristiini, rifampisiini, teikoplaniini, tetrasykliini, tobramysiini, trimetopriimi, trimetopriimi-sulfametoksatsoli ja vankomysiini. (BioMérieux 2015d.)

AST-P586 -kortti on tarkoitettu seuraavien grampositiivisten bakteerien herkkuysmäärittämiseen: *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* ja *S. agalactiae*. Antibiootit, joiden herkkyyttä kortilla voidaan määrittää, ovat ampisilliini, ampisilliini-sulbaktaami, bentsylpenisilliini, kefuroksiimi, klindamysiini, erytromysiini, imipeneemi, levofloksasiini, linetsolidi, moksifloksasiini, nitrofurantoiini, kinupristiini-dalfopristiini, teikoplaniini, tetrasykliini, tigesykliini, trimetopriimi-sulfametoksatsoli ja vankomysiini. (BioMérieux 2015e.)

6 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSONGELMAT

Opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää, voiko veriviljelyherkkyysmäärityksen tehdä luotettavasti VITEK[®] 2 -laitteella suoraan veriviljelypulloista ilman maljakasvatusta. Määritämme antibioottiherkkydet VITEK[®] 2 -automaatilla yksinkertaistetulla ja standardoidulla menetelmällä neljän päivän aikana saaduista positiivisista veriviljelynäytteistä. Yksinkertaistetussa menetelmässä näyte analysoidaan ilman pesäke- eli maljakasvatusta, kun taas standardoidussa menetelmässä määrittäminen suoritetaan pesäkekasvatusta. Vertaamme lisäksi yksinkertaistetun menetelmän automaattimääritysten tuloksia rutiinianalytiikasta saataviin kiekkoherkkyystuloksiin.

Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa vertailutietoa tämän yksinkertaistetun kokeiltavan menetelmän ja standardoidun pesäkekasvusta tehdyn automaatiomenetelmän välisistä tuloksista. Lopullisena tavoitteena on tutkia mahdollisuutta tehostaa veriviljelyanalytiikan herkkyysmäärittämiä ja näin nopeuttaa veriviljelyvastauksen saamista potilaalle.

Tutkimusongelmina ovat:

- 1) Voidaanko veriviljelyanalytiikan antibioottiherkkyys määrittää luotettavasti VITEK[®] 2 -automaatilla suoraan veriviljelypullosta ilman maljaviljelystä?
- 2) Eroavatko MIC-tulokset toisistaan maljakasvusta tehdyn automaatiomenetelmän ja yksinkertaistetun automaatiomenetelmän välillä?

Oma tavoitteemme opinnäytetyön suhteen on saada aikaan onnistunut vertailututkimus ja sen raportointi. Pyrimme saamaan mahdollisimman luotettavat tulokset työskentelemällä huolellisesti ja ohjeiden mukaan. Tavoitteena on myös pysyä aikataulussa ja oppia uusia asioita, kuten mikrobiologian automaatiolaitteiden käyttöä.

7 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Opinnäytetyömme on sekä kokeellinen, kvantitatiivinen että vertaileva tutkimus. Kokeellisen tutkimuksen tavoitteena on tutkia jonkin ilmiön reaktiota tai vaikutusta johonkin. Kokeellinen tutkimus on systemaattista ja kontrolloitua havaintojen tekoa. Tapahutumien kulku raportoidaan sellaisella tarkkuudella, että tutkimus voidaan toistaa uudelleen. (Virtuaaliammattikorkeakoulu 2010.)

Kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus perustuu kohteen kuvaamiseen ja tulkitsemiseen numeroiden ja tilastojen avulla (Lähdesmäki ym. 2009). Menetelmä edellyttää tutkittavan ilmiön tekijöiden, parametrien tai muuttujien tuntemista. Määrällisessä tutkimuksessa tutkittavan ilmiön tekijät muutetaan muuttujiksi, joita käsitellään tilastollisin menetelmin. Määrällinen tutkimus pyrkii yleistämään, ja sen tarkoituksena on tuottaa perusteltua ja luotettavaa tietoa. (Kananen 2011, 12–19; Vilka 2015, 66–67.)

Vertailevassa tutkimuksessa hahmotetaan valittujen tapausten välisiä yhtäläisyyksiä ja eroja. Vertailun kohteena olevien tapausten pitää olla jollain tavoin yhteismitallisia ja sen vuoksi vertailukelpoisia. Vertaileva tutkimus voi perustua sekä määrällisiin että laadullisiin aineistoihin ja tilastollisiin analyysimenetelmiin. (Lähdesmäki ym. 2009.)

Opinnäytetyössämme mitataan veriviljelynäytteiden antibioottilherkkyyksiä. Muuttujina ovat eri herkkyysmäärittämenetelmät ja mitattavina suureina ovat eri menetelmillä määritetyt mikrobilääkeherkkyydet. Kokeellinen tutkimus suoritetaan laboratoriossa ja koeolosuhteet ovat kontrolloidut. Mittaus on määrällistä ja mittaustulokset ovat numeraalisia MIC-arvoja. Vertailemme eri menetelmillä saatuja mikrobilääkeherkkyyksiä keskenään ja käsittelemme tuloksia tilastollisin menetelmin.

Tutkimusaineistona opinnäytetyössämme ovat tuoreet, positiiviset veriviljelynäytteet, jotka saamme mikrobiologian laboratoriosta. Aineistoksi valitsemme vain veriviljelynäytteet, joissa löydöksinä ovat aerobiset tai fakultatiiviset aerobibakteerit. Anaerobiset bakteerit rajataan tutkimuksen ulkopuolelle. Aineiston määrä riippuu siitä, kuinka paljon veriviljelyssä tulee positiivisia näytteitä kokeellisen osuuden suoritusviikkomme aikana.

8 TYÖN SUORITUS

8.1 Opinnäytetyöprosessi

Saimme aiheen Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologi Jari Hirvoselta, joka toimi opinnäytetyömme työelämäohjaajana. Aloitimme opinnäytetyöprosessin tausta-aineistoon perehtymisellä. Etsimme aiheeseen liittyvää tietoa suomenkielisestä ja englanninkielisestä kirjallisuudesta, verkkolähteistä sekä tieteellisistä artikkeleista. Saimme myös suullista tietoa aiheesta työelämäohjaajaltamme. Opinnäytetyöprosessin alkuvaiheeseen kuului ideapaperin ja opinnäytetyösuunnitelman tekeminen, mikä auttoi työn kokonaisuuden hahmottamista.

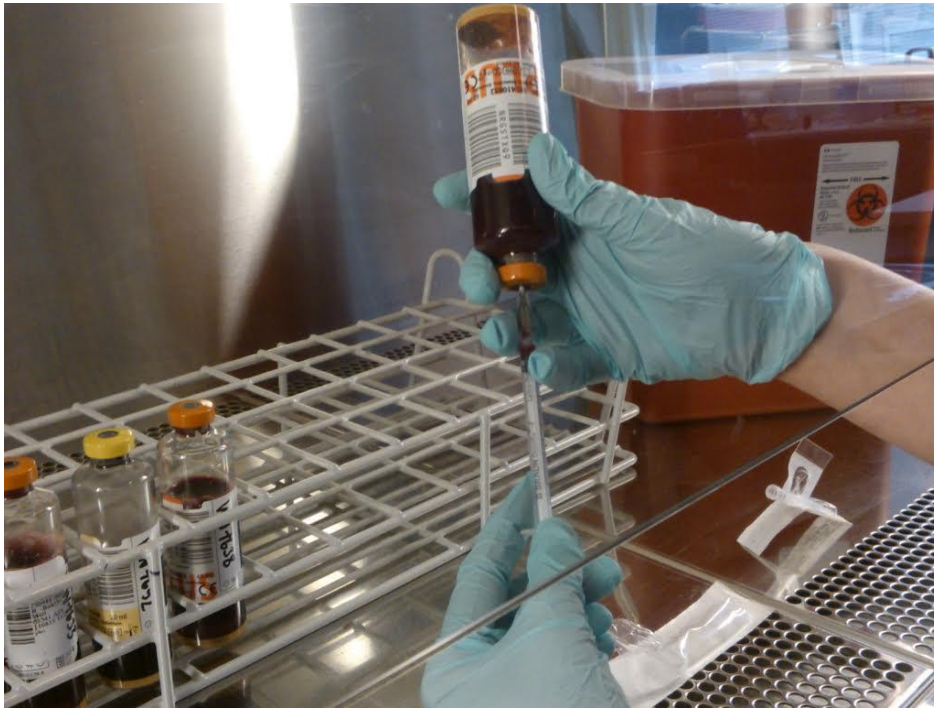
Kävimme tutustumassa mikrobiologian laboratorioon ennen kokeellisen osuuden suorittamista. Työelämäohjaajamme esitteli meille työhöme liittyvät tilat, välineet, laitteet ja työskentelytavat. Perehdyimme käytännön työn suorituksen eri vaiheisiin. Suoritimme kokeellisen osuuden mikrobiologian yksikössä viiden päivän aikana 10.8.–14.8.2015.

Kokeellisen osuuden jälkeen taulukoimme ja analysoimme mittaustulokset. Raportin kirjoittaminen ajoittui kesälle ja syksylle 2015 sekä keväälle 2016. Työ esitettiin opinnäytetyöseminaarissa syksyllä 2016.

8.2 Kokeellinen osuus

Aloitimme työskentelyn veriviljelynäytteiden käsittelyllä. Teimme ensin kokeellisen osuuden yksinkertaistetulla menetelmällä, ottamalla näytteet suoraan veriviljelypullosta. Tutkimukseen otimme mukaan samana päivänä positiiviseksi tulleita veriviljelypulloja. Tarkistimme, oliko alustavissa gramvärjäystuloksissa löytynyt gramnegatiivisia sauvoja tai grampositiivisia ryhmä- tai diplokokkeja. Jos positiivisena tuloksena oli pelkkä anaerobibakteeri, emme valinneet löydöstä mukaan, koska anaerobibakteerien herkkyyttä ei pystytä määrittämään VITEK[®] 2 -laitteella.

Merkitsimme VITEK[®] 2 -suspensioputkiin näytteiden numerot sekä sen, oliko näyte aerobinen vai anaerobinen. Aerobinäytteet merkitsimme A-merkinnällä ja anaerobiset näytteet B-merkinnällä. Annostelimme jokaiseen putkeen 3 ml 0,45-prosenttista natriumkloridiliuosta. Analysoitavista veriviljelypulloista siirrostimme aseptisesti ruiskun ja neulan avulla kolme tippaa näytettä jokaiseen suspensioputkeen. Siirrostus tapahtui laminaarivirtauskaapissa (kuva 8.1).



KUVA 8.1. Veriviljelynäytteen siirrostus (Kuva: Katja Stenius 2015)

Näytteille valittiin oikeat herkkyyskortit alustavalla gramvärjäyksellä saatujen bakteerilajien mukaan. Otimme tarvittavan määrän oikeita herkkyyskortteja hyvissä ajoin kylmiöstä lämpenemään huoneen lämpötilaan. Taulukossa 8.1 näkyy tutkimukseemme soveltuneet mahdolliset herkkyyskortit.

TAULUKKO 8.1. Herkkyyskortin valinta

Bakteeri	Alustava herkkyystulos	Herkkyyskortti
Gramnegatiivinen sauva (enterobakteerit)	B-herkkyys	AST-N230
Gramnegatiivinen sauva (pseudomonakset)	Q-herkkyys	AST-N222
Grampositiivinen ryhmäkokki (stafylokokit)	Ap-herkkyys	AST-P629
Grampositiivinen diplokokki (enterokokit)	Z-herkkyys	AST-P586

B-, Q-, Ap- ja Z-herkkyysmerkinnät ovat Fimlab laboratoriot Oy:n nimeämiä herkkyysryhmiä. B-herkkyys tehdään märkänäytteistä eristetyille gramnegatiivisille sauvoille (EUCAST:n mukaan enterobakteereille) ja Q-herkkyys tehdään oksidaasipositiivisille gramnegatiivisille sauvoille (EUCAST:n mukaan *Pseudomonas spp.*). Ap-herkkyys, joka tarkoittaa pitkää A-herkkyyttä, tehdään stafylokokeille ja Z-herkkyys tehdään enterokokeille (Fimlab laboratoriot Oy 2015.)

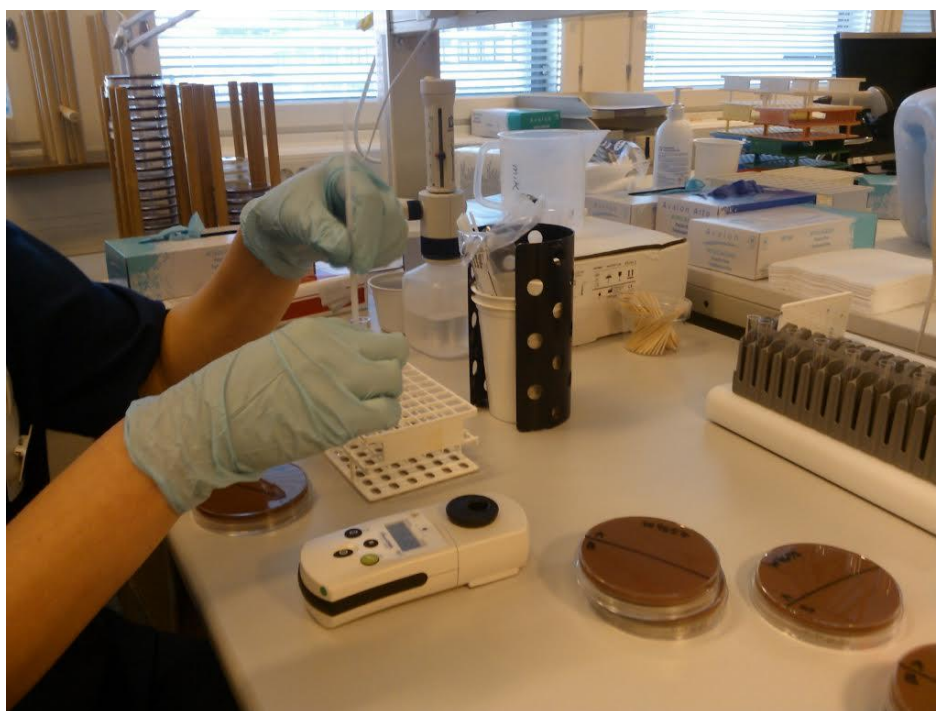
Herkkyystutkimukset tehtiin bioMérieux'n VITEK[®] 2 -laitteella. Näytenuumerot ja herkkyyskorttitiedot syötettiin VITEK[®] 2 / VITEK[®] MS -näytteenkäsittelyasemalle tietokoneella ja näyteputket ja herkkyyskortit asetettiin näytekasettiin. Yhteen kasettiin mahtui yhteensä seitsemän näytettä. Herkkyysanalyysi käynnistyi, kun kasetti asetettiin VITEK[®] 2 -laitteeseen. Herkkyysanalyysin kesto oli näytteillämme keskimäärin 9–11 tuntia.

Seuraavana päivänä suoraan pulloista otettujen näytteiden VITEK[®] 2 -herkkyystulokset olivat valmiit. Tulokset saatiin vain yhdistämällä herkkyystulos VITEK[®] MS -tunnistuksesta saatuun näytelöydöksen nimeen. Tähän yhdistämiseen saimme apua VITEK[®] MS -laitteen käyttöön perehtyneeltä työntekijältä. Liittessä 1 on esimerkkinä yhden näytteen herkkyysmäärittämisen tulosraportti. Tulosraportissa näkyy muun muassa bakteerin nimi ja MIC- ja SIR-herkkyystulokset antibiootettain.

Luotettavuuden varmistamiseksi vertasimme tulosraporttien avulla suoraan pulloista tehtyjen näytteiden VITEK[®] 2 -herkkyystuloksia samoista näytteistä tehtyihin kiekkoherkkyystuloksiin. Kiekkoherkkyudet oli tehty rutiinianalytiikassa ja maljat oli säilytetty meille vertailua varten. Vertailimme tuloksia vain niiden mikrobilääkkeiden osalta, jotka olivat maljoilla. Tarkastimme jokaisen kiekon estorenkään erikseen silmämääräisesti ja epäselvissä tapauksissa käytimme työntömittaa apuna. Kiekkoherkkyyksistä oli tarkoitus varmistaa, ettei niiden SIR-herkkyystuloksissa esiintynyt poikkeamaa suoraan pullosta tehtyihin VITEK[®] 2 -automaatin MIC-arvoista saatuihin SIR-herkkyystuloksiin nähden. Jos poikkeamaa ei esiintynyt, voitiin luottaa siihen, että suoraan pullosta VITEK[®] 2 -automaatilla analysoitu tulos oli vertailukelpoinen VITEK[®] 2 -automaatin standardoidun referenssiherkkyysmäärittämisen tuloksen kanssa. Kiekkoherkkyystuloksia emme tarkemmin kirjanneet ylös, merkitsimme vain ok-merkinnän muistiinpanoihimme, jos tulokset olivat yhtenevät suoraan pulloista tehtyjen tuloksien kanssa. Jos tulok-

set poikkesivat merkittävästi keskenään, emme ottaneet kyseistä näytettä mukaan työhöme.

Viimeisenä vaiheena teimme tutkittujen näytteiden yön yli kasvatetuista pesäkemaljakasvuista standardoidut referenssiherkkyysmääritykset VITEK[®] 2 -laitteella. Saimme pesäkekasvumaljat valmiina rutiinianalytiikasta. Referenssimääritys tehtiin siirrostamalla VITEK[®] 2 -suspensioputkeen pesäkemassaa (kuva 8.2). Tutkimuksessamme käytettyjen VITEK[®] 2 -testikorttien näytesuspensiotiheyksien tuli olla välillä 0,50–0,63 McF. Tarkistimme valmistamiemme suspensioiden tiheydet bioMérieux'n DensiCHEK[™] plus -tiheysmittarilla. Referenssinäytteille valittiin oikeat herkkyyskortit ja näytteet syötettiin näytteenkäsittelyasemalle. Referenssinäytteet jätettiin analysoitumaan, jonka jälkeen siirryimme käsittelemään taas uusia positiiviseksi tulleita veriviljelypulloja.



KUVA 8.2. Suspension tekoa (Kuva: Katja Stenius 2015)

Jatkoimme kokeellisen osuuden suorittamista samaan tapaan koko viikon ajan. Viimeisenä työpäivänä emme enää ottaneet käsittelyyn uusia positiivisia veriviljelynäytteitä, vaan teimme ainoastaan referenssimääritykset. Huomasimme, että kaikista näytteistä ei ollut jätetty pesäkekasvumaljaa meille. Tämän vuoksi siirrostimme viimeisenä päivänä vielä nämä puuttuvat näytteet maljoille ja jätimme lämpökaappiin kasvamaan. Mikrobiologi Jari Hirvonen teki näistä pesäkekasvuista meille referenssiherkkyysmääritykset ja saimme niiden tulokset seuraavalla viikolla.

8.3 Mittaustulosten käsittely

Neljän päivän aikana sopivia analysoitavia näytteitä kertyi yhteensä 79 kappaletta, joista pesäkekasvu- eli maljanäytteitä tehtiin 31 kappaletta. Maljanäytteitä eli vertailunäytteitä oli vähemmän, koska samalla potilaalla saattoi olla useita veriviljelynäytteitä, joista tehtiin vain yksi maljanäyte. Kirjasimme päivittäin ylös taulukkoon näytteiden numerot, potilaiden nimet, alustavat värjäystulokset, näytteiden aerobisuuden tai anaerobisuuden, bakteerilajin ja kiekkoherkkyyden vertailutuloksen. Näin pysyimme selvillä tehdyistä näytteistä ja niiden määrästä, mikä helpotti jatkotyöskentelyämme.

Näytteistä löytyi yhteensä 11 eri bakteerilajia, jotka näkyvät taulukossa 8.2. Bakteerit jakaantuivat enterobakteereihin, stafylokokkeihin ja yhteen enterokokkilajiin. Näytteiden yleisimmät löydökset olivat *Stafylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae ssp cloacae* ja *Escherichia coli*.

TAULUKKO 8.2. Bakteerilöydökset ja näytteiden lukumäärät

	Bakteeri	Pullonäytteiden lukumäärä (kpl)	Maljanäytteiden lukumäärä (kpl)
1	<i>Citrobacter coseri</i>	4	2
2	<i>Enterobacter cloacae ssp cloacae</i>	22	4
3	<i>Enterococcus faecium</i>	1	1
4	<i>Escherichia coli</i>	14	6
5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	1
6	<i>Raoutella ornithinolytica</i>	4	1
7	<i>Stafylococcus aureus</i>	24	10
8	<i>Stafylococcus epidermidis</i>	2	2
9	<i>Staphylococcus hominis</i>	2	2
10	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	1
11	Määrittelemätön koagulaasinegatiivinen stafylokokki	1	1
	Yhteensä	79	31

Kirjasimme VITEK[®] 2 -tulosteista saamamme MIC-tulokset Excel- taulukkolaskentaohjelmaan. Taulukoimme kunkin bakteerilajin referenssi- eli malja-herkkyystulokset sekä suoraan veriviljelypulloista tehdyt herkkyystulokset antibiooteit- tain. Saamamme MIC-tulokset on esitetty liitteessä 2. Merkitsimme taulukoihin sinisellä pohjavärillä maljanäytteiden tulokset. Kunkin maljanäytteen alapuolella näkyy samasta potilaasta määritetyt pulloherkkyystulokset. Vertasimme pulloherkkyystuloksia samojen

potilaiden maljaherkkyystuloksiin ja merkitsimme poikkeavat tulokset huomiovärein. Tarkistimme poikkeavuudet EUCAST-standardin Clinical Breakpoints -arvoista, jossa on määritetty MIC-raja-arvot eri herkkyystulkinnoille (EUCAST 2016).

Merkitsimme valkoisella pohjavärillä MIC-tulokset, jotka olivat täysin identtiset sekä pullo- että maljanäytteellä. Keltaisella pohjavärillä merkitsimme MIC-tulokset, jotka poikkesivat malja- eli vertailuarvosta, mutta joilla ei ollut vaikutusta herkkyystulkintaan. Nämä poikkeamat nimesimme ei-merkitseviksi poikkeamiksi. Oranssilla pohjavärillä merkitsimme MIC-tulokset, joissa poikkeama jäi tulkintojen intermediaani-alueelle (esimerkiksi pulloherkkyystulkinta S ja vastaava maljaherkkyystulkinta I). Nämä poikkeamat nimesimme vähän merkitseviksi poikkeamiksi. Punaisella pohjavärillä merkitsimme MIC-tulokset, joissa oli merkitsevä poikkeama eli pullonäytteen herkkyystulkinta oli eri kuin maljanäytteen.

Teimme myös mittausaineiston analysoinnin Excel-tilukkolaskentaohjelmalla. Laskimme ja kirjasimme taulukoihin poikkeamien lukumäärät jokaista antibioottia kohden. Käsittelimme kutakin bakteerilajia erikseen. Lopuksi laskimme koko aineiston poikkeavien tulosten kokonaislukumäärät sekä prosenttiosuudet.

9 TULOKSET

Suoritimme antibioottiherkkyysmäärittäykset yhteensä 79 pullonäytteestä, joista 31:stä tehtiin maljanäyte referenssituloksia varten. Herkkyysmäärittäykset tehtiin 11 eri bakteerilajille, jotka jakautuivat enterobakteeriin, stafylokokkeihin ja yhteen enterokokkilajiin. Kunkin bakteerilajin herkkyys määritettiin useilla mikrobilääkkeillä. Herkkyysmäärittäykset tehtiin yhteensä 33:lle eri antibiootille tai antibiootiyhdistelmälle. MIC-määrittäytulokset on esitetty liitteessä 2.

9.1 Aineiston analyysi bakteerilajeittain

Laskimme bakteereittain taulukoitujen MIC-tulosten jakaumat. MIC-tulokset ryhmiteltiin neljään ryhmään sillä perusteella, miten arvot poikkesivat referenssiarvosta eli pesäkemaljakasvusta tehdystä MIC-määrittäytuloksesta. Käsittelemme seuraavassa kappaleessa bakteerilajien herkkyystuloksia erikseen. Esitämme herkkyystuloksien jakaumat taulukkomuodossa kolmen yleisimmän päälöydösbakteerin osalta. Näytteiden yleisimmät löydökset olivat *Stafylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae ssp. cloacae* ja *Escherichia coli*.

Stafylococcus aureus -näytteillä analysoitujen MIC-tulosten kokonaiskukumäärä oli 383 kappaletta (taulukko 9.1). Näistä 292 kappaletta eli 76,2 % oli täysin yhteneväisiä pesäkekasvusta tehtyjen MIC-määrittäysten kanssa. 87 kappaleessa eli 22,7 % MIC-tuloksista oli eroa vertailunäytteeseen nähden, mutta näiden herkkyystulkinta oli sama. Täten *S. aureus* -näytteiden herkkyystulkintojen yhteneväisyys vertailunäytteisiin nähden oli 98,9 %. Vain yhdessä herkkyystuloksessa oli vähän merkitsevä poikkeama ja kolmessa merkitsevä poikkeama, joka muutti herkkyystulkintaa. Merkitsevät poikkeamat MIC-tuloksissa oli määritetty bensyylipenisilliinillä ja klindamysiinillä ja vähän merkitsevä poikkeama tetrasykliinillä. MIC-arvoista puuttui yhden näytteen klindamysiinitulos, jota automaatti ei ollut pystynyt määrittämään.

TAULUKKO 9.1. *Stafylococcus aureus* -näytteiden herkkyytulosten jakauma

Mikrobilääke	MIC-arvo sama kuin vertailuarvo (kpl)	Ei-merkitsevä poikkeama (kpl)	Vähän merkitsevä poikkeama (kpl)	Merkitsevä poikkeama (kpl)	Yhteensä (kpl)
Bentsyylipenisilliini	18	5	0	1	24
Oksasilliini	20	4	0	0	24
Gentamisiini	24	0	0	0	24
Tobramysiini	24	0	0	0	24
Siprofloksaksiini	24	0	0	0	24
Erytromysiini	3	21	0	0	24
Klindamysiini	6	15	0	2	23
Kinupristiini/dalfopristiini	24	0	0	0	24
Linetsolidi	4	20	0	0	24
Teikoplaniini	24	0	0	0	24
Vankomysiini	8	16	0	0	24
Tetrasykliini	23	0	1	0	24
Fusidiinihappo	22	2	0	0	24
Rifampisiini	24	0	0	0	24
Trimetopriimi	20	4	0	0	24
Trimetopriimi/sulfametoksatsoli	24	0	0	0	24
Yhteensä (kpl)	292	87	1	3	383

Muut stafylokokkilajit esiintyivät jokainen ainostaan yhdessä tai kahdessa eri potilasnäytteessä. Otoksen pienuuden vuoksi näiden näytteiden tilastollinen tarkastelu on epävarmaa ja voi antaa harhaanjohtavan kuvan tilanteesta. Laskimme kuitenkin näidenkin näytteiden MIC-tulosten jakaumat. Suurin osa MIC-tuloksista oli täysin samoja kuin vertailunäytteillä, mutta ei-merkitseviä poikkeamiakin oli melko runsaasti (12,5–40,0 %). Vähän merkitsevät poikkeamat löytyivät *Staphylococcus epidermidis* ja *Staphylococcus hominis* -näytteillä. Merkitsevät poikkeamat löytyivät *S. hominis* -näytteestä ja koagulaasinegatiivisesta stafylokokkinäytteestä. Automaatiolaite ei pystynyt määrittämään koagulaasinegatiivisen stafylokokin oksasilliinitulosta, vaan se esitettiin merkinällä TRM eli terminated.

Enterobacter cloacae ssp cloacae -näytteiden MIC-tulosten kokonaismäärä oli 308 kappaletta (taulukko 9.2). Näistä 291 kappaletta eli 94,5 % oli täysin identtisiä vertailutuloksiin nähden. 10 kappaleella eli 3,2 %:lla MIC-tuloksista oli ei-merkitsevä poikkeama, joka ei vaikuttanut herkkyytulokintaan. Sama herkkyytulokinta oli siis yhteensä 97,7 %:lla kaikista herkkyytuloksista. Herkkyytulokintaan vaikuttavia vähän merkitse-

viä poikkeamia oli viisi kappaletta ja merkitseviä poikkeamia kaksi kappaletta. Kaikki poikkeamat olivat ertapeneemin herkkyysmäärittämisessä.

TAULUKKO 9.2. *Enterobacter cloacae* ssp *cloacae* -näytteiden herkkyystulosten jakauma

Mikrobilääke	MIC-arvo sama kuin vertailuarvo (kpl)	Ei-merkitsevä poikkeama (kpl)	Vähän merkitsevä poikkeama (kpl)	Merkitsevä poikkeama (kpl)	Yhteensä (kpl)
Amoksisilliini/klavulaanihappo	22	0	0	0	22
Piperasilliini/tatsobaktaami	15	7	0	0	22
Kefaleksiini	22	0	0	0	22
Kefuroksiimi	22	0	0	0	22
Kefuroksiimiasetiili	22	0	0	0	22
Keftatsidiimi	22	0	0	0	22
Keftriaksoni	21	1	0	0	22
Ertapeneemi	15	0	5	2	22
Meropeneemi	22	0	0	0	22
Tobramysiini	22	0	0	0	22
Siprofloksaksiini	22	0	0	0	22
Tigesykliini	20	2	0	0	22
Trimetopriimi	22	0	0	0	22
Trimetopriimi/sulfametoksatsoli	22	0	0	0	22
Yhteensä (kpl)	291	10	5	2	308

Escherichia coli -näytteillä analysoitujen MIC-tulosten kokonaismäärä oli 224 kappaletta (taulukko 9.3). Näistä 205 kappaletta eli 91,5 % oli täysin yhteneväisiä vertailutuloksiin nähden. 18 kappaleella eli 8,0 %:lla MIC-tuloksista oli ei-merkitsevä poikkeama, joka ei vaikuttanut herkkyystulkintaan. Sama herkkyystulkinta oli siis yhteensä 99,5 %:lla kaikista herkkyystuloksista. Vähän merkitseviä poikkeamia oli vain yksi kappale, eikä merkitseviä poikkeamia ei ollut yhtään kappaletta.

TAULUKKO 9.3. *Escherichia coli* -näytteiden herkkyystulosten jakauma

Mikrobilääke	MIC-arvo sama kuin vertailuarvo (kpl)	Ei-merkitsevä poikkeama (kpl)	Vähän merkitsevä poikkeama (kpl)	Merkitsevä poikkeama (kpl)	Yhteensä (kpl)
Mesillinaami	14	0	0	0	14
Amoksisilliini	12	2	0	0	14
Piperasilliini	13	0	1	0	14
Kefaleksiini	6	8	0	0	14
Kefuroksiimi	10	4	0	0	14
Kefuroksiimiasetiili	10	4	0	0	14
Keftatsidiimi	14	0	0	0	14
Keftriaksoni	14	0	0	0	14
Ertapeneemi	14	0	0	0	14
Meropeneemi	14	0	0	0	14
Torbramysiini	14	0	0	0	14
Siprofloksaksiini	14	0	0	0	14
Tigesykliini	14	0	0	0	14
Nitrofurantoiini	14	0	0	0	14
Trimetopriimi	14	0	0	0	14
Trimetopriimi/sulfametoksatsoli	14	0	0	0	14
Yhteensä (kpl)	205	18	1	0	224

Muita enterobakteereita eli *Citrobacter koseria*, *Klebsiella oxytoca* ja *Raoutella ornithinolytica* löytyi jokaista yhteensä neljästä eri potilasnäytteestä. Kaikkien näiden bakteerien MIC-tulokset olivat hyvin yhteneväisiä vertailutuloksiin nähden. Minkään näiden bakteerien MIC-tuloksista ei löytynyt vähän merkitseviä tai merkitseviä poikkeamia. *C. koserilla* ja *R. ornithinolyticalla* esiintyi ei-merkitseviä poikkeamia, mutta ne eivät vaikuttaneet herkkyystulkintoihin. Tutkimuksemme ainoa enterokokkilöydös, *E. faecium* löytyi vain yhdestä potilasnäytteestä. Sen MIC-tulokset olivat täysin yhteneväiset vertailunäytteeseen nähden.

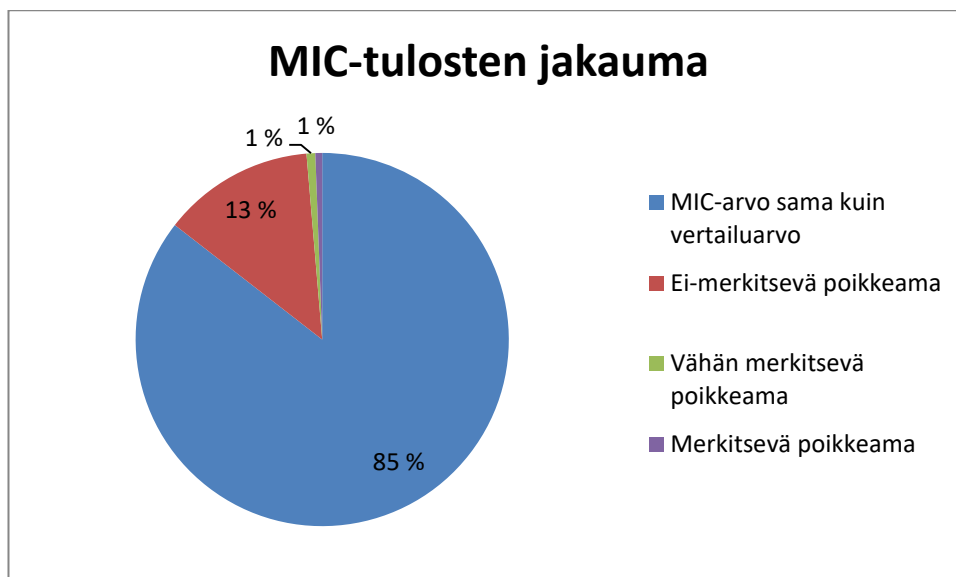
9.2 Yhteenveto ja johtopäätökset

Taulukossa 9.4 on yhteenveto kaikkien näytteiden MIC-tulosten jakaumista. Taulukoon on koottu jokaisen bakteerin jokaisella antibiootilla määritettyjen MIC-tulosten lukumäärät ja prosenttiosuudet. MIC-tulokset on ryhmitelty neljään ryhmään sillä perusteella, miten arvot poikkeavat referenssiarvosta eli pesäkekasvusta tehdystä MIC-määrittäytuloksesta.

TAULUKKO 9.4. Kaikkien näytteiden MIC-tulosten jakauma

Bakteeri	MIC-arvo sama kuin vertailuarvo		Ei-merkitsevä poikkeama		Vähän merkitsevä poikkeama		Merkitsevä poikkeama		Yhteensä	
	kpl	%	kpl	%	kpl	%	kpl	%	kpl	%
<i>Citrobacter coseri</i>	45	80,4	11	19,6	0	0,0	0	0,0	56	100
<i>Enterobacter cloacae ssp cloacae</i>	291	94,5	10	3,2	5	1,6	2	0,6	308	100
<i>Enterococcus faecium</i>	9	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	100
<i>Escherichia coli</i>	205	91,5	18	8,0	1	0,4	0	0,0	224	100
<i>Klebsiella oxytoca</i>	56	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	56	100
<i>Raoutella ornithinolytica</i>	44	78,6	12	21,4	0	0,0	0	0,0	56	100
<i>Stafylococcus aureus</i>	292	76,2	87	22,7	1	0,3	3	0,8	383	100
<i>Stafylococcus epidermidis</i>	26	81,3	5	15,6	1	3,1	0	0,0	32	100
<i>Staphylococcus hominis</i>	26	81,3	4	12,5	1	3,1	1	3,1	32	100
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	13	81,3	3	18,8	0	0,0	0	0,0	16	100
Koagulaasinegatiiviset stafylokokit	8	53,3	6	40,0	0	0,0	1	6,7	15	100
Yhteensä	1015	85,5	156	13,1	9	0,8	7	0,6	1187	100

MIC-tulosten kokonaislukumääräksi saimme 1187 kappaletta. Näistä 1015 kappaletta eli 85,5 prosenttia oli täysin identtisiä pesäkekasvusta tehtyjen MIC-määritysten kanssa. 156 kappaleella eli 13,1 prosentilla MIC-tuloksista oli eroa vertailunäytteeseen nähden, mutta näiden herkkyystulkinta oli sama. Täten sama herkkyystulkinta oli yhteensä 98,6 prosentilla tuloksista. Vähän merkitseviä poikkeamia oli yhteensä 9 kappaletta eli 0,8 prosenttia tuloksista. Vähän merkitseviä poikkeamia oli yhteensä 9 kappaletta eli 0,8 prosenttia tuloksista. Merkitseviä poikkeamia oli yhteensä 7 kappaletta eli 0,6 prosenttia tuloksista. MIC-tulosten jakauma prosentteina on esitettyinä graafisesti kuviossa 9.1.



KUVIO 9.1. Kaikkien näytteiden MIC-tulosten jakauma (%)

Bakteerit, joiden MIC-tuloksissa ei ollut mitään eroa referenssituloksiin nähden, olivat *Enterococcus faecium* ja *Klebsiella oxytoca*. Merkittäviä eroja herkkyystulkinnassa oli seuraavilla bakteereilla: *Enterobacter cloacae ssp cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis* ja koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Vähän merkittäviä poikkeamia esiintyi seuraavilla bakteereilla: *Enterobacter cloacae ssp cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ja *Staphylococcus hominis*.

MIC-tuloksissa ei ollut mitään eroa referenssituloksiin nähden seuraavilla antibiooteilla: ampisilliini, ampisilliini-sulbaktaani, keftatsidiimi, keftriaksoni, siprofloksaksiini, imipeneemi, mesillinaami, meropeneemi, nitrofurantoiini, kinupristiini-dalfopristiini ja rifampisiini. MIC-tuloksissa oli merkittäviä herkkyystulkintaeroja seuraavilla antibiooteilla: ertapeneemi, bentsylpenisilliini, klindamysiini, gentamysiini ja tobramysiini. MIC-tuloksissa oli vähän merkittäviä herkkyystulkintaeroja seuraavilla antibiooteilla: Ertapeneemi, piperasilliini, tetrasykliini ja trimetopriimi-sulfametoksatsoli.

Johtopäätöksenä voimme sanoa, että yksinkertaistetulla menetelmällä saadut herkkyystulkintatulokset vastasivat suurelta osin referenssimenetelmällä saatuja tuloksia. Vain 16 kappaletta eli 1,4 % kaikista MIC-tuloksista poikkesi vertailunäytteen tuloksista herkkyystulkinnallaan. Täten 98,6 % mittaustuloksista oli yhteneväisiä vertailutuloksiin nähden. Tutkimuksemme perusteella voidaan yksinkertaistettua menetelmää pitää luotettavana menetelmänä, mutta tutkittava näytemäärä oli pieni. Jos menetelmää haluttaisiin käyttää rutiinianalytiikassa, sitä pitäisi vielä tutkia suuremmalla otoskoolla.

10 POHDINTA

Työmme tarkoituksena oli selvittää, voiko veriviljelyn herkkyysmäärittämiä tehdä luotettavasti VITEK[®] 2 -automaatilla ilman yön yli kestävästä maljakasvatuksesta, jolloin tulokset saataisiin nopeammin. Teimme työmme Fimlab laboratoriot Oy:lle, jolla on VITEK[®] 2 -automaatti käyttökokeilussa. Vertasimme suoraan veriviljelypullosta otettujen näytteiden herkkyystuloksia, maljakasvuista tehtyjen referenssinäytteiden herkkyystuloksiin. Aineistomme muodostui neljän päivän aikana saaduista tuoreista veriviljelynäytteistä, joita kertyi yhteensä 79 kappaletta. Aineistoon laskettiin mukaan myös saman potilaan useampi veriviljelynäyte. Yhtä potilasta kohden tehtiin kuitenkin vain yksi pesäkekasvatus maljalle, joten vertailtavia referenssimaljanäytteitä kertyi 31 kappaletta. Saman potilaan näytteistä löytyi luonnollisesti aina sama bakteerilaji, joten 31 potilaan näytteistä löytyi yhteensä 11 eri bakteerilajia. Yleisimmät bakteerilajit näytteissä eri potilailla olivat odotetusti *Stafylococcus aureus* ja *Escherichia coli*, joita esiintyy myös yleisesti paljon veriviljelynäytteissä. Kolmanneksi eniten eri potilailla esiintyi *Enterobacter cloacae ssp cloacae* -lajia. Muut bakteerilajit esiintyivät ainoastaan yhdessä tai kahdessa eri potilasnäytteessä.

Kaikki 79 yksinkertaistetun menetelmän ja 31 referenssimenetelmän näytettä analysoitiin VITEK[®] 2 -automaatilla, joka suoritti herkkyysmäärittäykset eri antibiooteille. Testattavat antibiootit määräytyivät sen mukaan, oliko kyseessä grampositiivinen vai -negatiivinen bakteerilaji. Yhden näytteen VITEK[®] 2 -tuloraportissa on herkkyysmäärittämys tehty 9–18 eri antibiootille (liite 1). VITEK[®] 2 -automaatin antamat MIC-tulokset yksinkertaistetun menetelmän ja referenssimenetelmän näytteille kirjassimme antibiootteittain Excel-taulukoihin (liite 2).

Luotettavinta vertailutietoa saimme bakteerilajeista, joiden näytemäärä oli suurin. *S. aureuksen* 24 pullonäytteen ja 10 maljanäytteen MIC-tulosten kokonaismäärä oli 383. Sen herkkyystulkintojen yhteneväisyys vertailunäytteisiin nähden oli 98,9 %. *Enterobacter cloacae ssp cloacae* 22 pullonäytteen ja 4 maljanäytteen MIC-tulosten kokonaismäärä oli 308 kappaletta, joiden herkkyystulkintojen yhteneväisyys oli 97,7 %. *E. colin* 14 pullonäytteen ja 6 maljanäytteen MIC-tulosten kokonaismäärä oli 224 kappaletta, joiden herkkyystulkintojen yhteneväisyys oli 99,5 %. Näiden bakteerien osalta

tulokset ovat lupaavia ja luotettavia. Varsinkin *E. colin*, jonka tuloksissa esiintyi vain yksi vähän merkitsevä poikkeama.

Yksittäisten bakteerien tulosten tilastollinen merkitys on epävarmaa ja saattaa olla harhaanjohtavaa. Olemme kuitenkin taulukoineet myös yksittäin esiintyvien bakteerien MIC-tulokset. Esimerkiksi yksittäin esiintyvien *Enterococcus faecium* ja *Klebsiella oxytoca* -pullonäytteiden MIC-arvot olivat 100-prosenttisesti yhteneviä vertailunäytteisiin nähden. *E. faeciumin* yhden pullonäytteen ja yhden maljanäytteen MIC-arvojen kokonaismäärä oli 18 kappaletta ja *K. oxytoca* neljän pullonäytteen ja yhden maljanäytteen MIC-arvojen kokonaismäärä oli 70 kappaletta. Koska otoskoko oli pieni ja sisälsi vain yhden potilaan näytteet, ei tuloksista voitu tehdä luotettavaa tulkintaa näiden bakteerien osalta. Tulos oli kuitenkin suuntaa antava ja näiden potilasnäytteiden osalta luotettava.

Kokonaisuudessaan saimme hyviä tuloksia, eikä merkitseviä poikkeamia esiintynyt kuin muutamia joillekin antibiooteille. Kaikkien näytteiden MIC-tulosten kokonaislukumääräksi saimme 1187 kappaletta. Näistä 1015 kappaletta eli 85,5 prosenttia oli täysin identtisiä pesäkekasvusta tehtyjen MIC-määritysten kanssa. Ei-merkitseviä poikkeamia, jotka ei vaikuttaneet herkkyystulkintaan, esiintyi 156 kappaleella eli 13,1 prosentilla. Täten sama herkkyystulkinta oli yhteensä 98,6 prosentilla tuloksista. Vähän merkitseviä poikkeamia oli 0,8 prosenttia ja merkitseviä poikkeamia oli 0,6 prosenttia tuloksista.

Kaikkien herkkyystulosten 98,6 prosentin yhteneväisyyden perusteella, voidaan yksinkertaistettua menetelmää pitää riittävän luotettavana menetelmänä veriviljelyn herkkyysmääritysten tekemiseen. Työmme näytemäärä oli kuitenkin suhteellisen pieni, varsinkin niiden bakteerien osalta, joita oli vain yksi tai kaksi näytettä. Tässä työssä tuloksissa ratkaisi kuitenkin kaikkien näytteiden kokonaistulokset, ei niinkään eri bakteerilajien tulokset. Osan näytteistä jouduimme hylkäämään sekakasvulöydöksen tai referenssimaljan puuttumisen vuoksi. Saimme kasvatettua näytemäärää ottamalla mukaan kaikki samasta potilaasta otetut näytteet. Luotettavuuden varmistamiseksi tutkimus olisi hyvä toistaa laajemmalla aineistolla, jolloin vertailutietoa olisi enemmän.

Tulosten luotettavuuteen vaikutti se, että näytteet otettiin tuoreista samana päivänä tulleista näytteistä. Lisäksi luotettavuuden kannalta oli hyvä, että Fimlab laboratoriot Oy:n ammattitaitoinen henkilökunta teki meille näytteistä kiekkoherkkyudet ja pesäkekasvumaljat valmiiksi rutiinianalytiikassa. Luotettavuuden varmistamiseksi yksinkertaistetun

menetelmän tuloksia verrattiin kiekkoherkkyysmenetelmän tuloksiin, koska kiekkoherkkyysmenetelmä on Fimlab Laboratoriot Oy:ssä yleisesti käytössä oleva referenssimenetelmä. Jos kiekkoherkkyystulos oli yhtenevä yksinkertaistetun menetelmän kanssa, jatkoimme näytteen analysointia VITEK[®] 2 -automaation referenssimenetelmällä. Pyrimme myös työskentelemään mahdollisimman huolellisesti, yhtenäisesti ja aseptisesti Fimlab Laboratoriot Oy:n sääntöjen ja toimintatapojen mukaisesti. Lisäksi kävimme läpi tulosten tulkintaa ja arviointia yhdessä työelämäohjaajamme Jari Hirvosen kanssa. Potilasnäytteet kirjassimme niille annetuin numeroin Excel-taulukoihin, tulosraportteihin sekä suspensioputkiin, jolloin potilaiden henkilötiedot pysyivät salassa. Omiin muistiinpanoihimme kirjoitimme potilaiden nimiä, jotta erottaissimme potilaat toisistaan. Hävittämme potilaan nimiä sisältävät muistiinpanot asianmukaisesti opinnäytetyömme valmistuttua.

Virhettä tuloksiin ovat saattaneet aiheuttaa mahdolliset kirjaamisvirheet. Kirjasimme kaikki MIC-tulokset manuaalisesti VITEK[®] 2 -tulostusraporteilta taulukkolaskentaohjelmaan. Vaikka pyrimme työskentelemään huolellisesti ja tarkasti, inhimillisen virheen mahdollisuus on aina olemassa. Toinen virhettä mahdollisesti aiheuttanut tekijä on voinut olla herkkyystulkintatulosten virheellinen lukeminen. Olisimme voineet kirjata taulukoihin MIC-tulosten lisäksi myös herkkyystulkinnat, jolloin vertailu olisi ollut helpompaa. Pohtimisen arvoista on myös, että jos aloittaisimme työn alusta uudestaan, tekisimmekö tulosten taulukoinnin samalla tavalla. Mittaustulokset olisi voinut taulukoida esimerkiksi antibiooteittain tai määrityskorteittain samoihin taulukoihin. Alkuperäisenä tarkoituksena oli myös laatia mittaustuloksista korrelaatiokäyriä. Kokeilimme niiden tekemistä, mutta emme saaneet niistä riittävän havainnollisia. Kaiken kaikkiaan haastavinta opinnäytetyön tekemisessä oli juuri mittaustulosten analysointi ja johtopäätöksiin pääseminen.

Valitsimme tämän opinnäytetyöaiheen, koska halusimme päästä tekemään kokeellisen osuuden sisältävän työn. Tässä työssä opimme käyttämään mikrobiologian automaatiolaitteita, joista meillä ei ollut aikaisempaa käyttökokemusta. Kokeellisen osuuden suoritus oli melko yksinkertaista ja VITEK[®] 2 -analysointilaitteen käyttö helppoa. Mielenkiintoista oli myös oppia teoretiedon kautta syvemmin työmme eri osa-alueista, kuten työssämme esiintyvistä bakteerilajeista ja herkkyysmääritysmenetelmistä. Kiinnostavaa oli myös lopulta nähdä työmme tulokset, jotka saimme analysoitua onnistuneesti molemmilla menetelmillä. Työssä opimme hyvin tulosten taulukointia Excel-ohjelmalla.

Tärkeää oli miettiä, että tulokset olisivat mahdollisimman selkeästi ja havainnollisesti esitetty.

Saimme työmme tehtyä suunnitelman mukaisesti ja pysyimme alkuperäisessä aikataulussa. Yhteistyö on sujunut hyvin sekä työelämän että koulun ohjaajien kanssa, ja olemme saaneet tarvittaessa riittävästi neuvoja opinnäytetyöhömmen liittyen. Keskinäinen yhteistyömme on myös sujunut hyvin ja olemme pyrkineet jakamaan työmäärän tasapuolisesti.

LÄHTEET

- BioMérieux. 2008. VITEK[®] 2 Instrument User Manual. 6/2008.
- BioMérieux. 2014. User Manual. VITEK[®] 2 Systems Product Information. 12/2014.
- BioMérieux. 2015a. VITEK[®] 2. Luettu 5.10.2015. <http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2>
- BioMérieux. 2015b. VITEK[®] 2 –technology. AST-N230. Package Insert. 7/2015.
- BioMérieux. 2015c. VITEK[®] 2 –technology. AST-N222. Package Insert. 3/2015.
- BioMérieux. 2015d. VITEK[®] 2 –technology. AST-P629. Package Insert. 9/2015.
- BioMérieux. 2015e. VITEK[®] 2 –technology. AST-P586. Package Insert. 11/2015.
- BioMérieux. 2016a. VITEK[®] 2 Advanced Expert System™. Luettu 30.3.2016. <http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-advanced-expert-system>
- BioMérieux. 2016b. VITEK[®] 2 AST Cards. Luettu 30.3.2016. <http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-ast-cards>
- BioMérieux. 2016c. VITEK[®] 2 ID Cards. Luettu 14.3.2016. <http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-identification-cards>
- Carlson, P. & Koskela, M. 2011. Bakteriologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Eteläpohjanmaan sairaanhoitopiiri. 2016. Bakteriviljely verestä. Luettu 7.4.2016. <http://www.epshp.fi/files/4807/B-BaktVi-1153.pdf>
- EUCAST. 2016. Clinical breakpoints – bacteria (v 6.0). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Päivitetty 1.1.2016. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- Evira. 2016. Antibioottiresistenssin seuranta. Elintarviketurvallisuusvirasto Evira. Päivitetty 29.2.2016. Luettu 5.4.2016. <http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainten+terveys+ja+elaintaudit/laakitseminen/antibioottiresistenssin+seuranta/>
- Felmingham, D. & Brown, D. F. J. 2001. Instrumentation in Antimicrobial Susceptibility Testing. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 48 (Suppl. S1), 81–85.
- Fimlab laboratoriot Oy. 2011. Bakteri, viljely (verestä). Ohjekirja. Luettu 29.6.2015. http://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja_/ohje.tmpl?sivu_id=194;setid=6695;id=3990
- Fimlab laboratoriot Oy. 2015. Herkkyyssryhmät (Veriviljelyt). Työohje. Versio 3.4. 28.05.2015.

FiRe. 2009. Bakteerin lääkeherkkyyden määrittäminen kiekkomenetelmällä Versio 6. <http://www.thl.fi/attachments/Fire/kiykkomenetelma.pdf>

FiRe. 2012. Mikrobilääkeresistenssi Suomessa. Finres 1997–2010. Raportti 67/2012. Terveystieteiden tutkimuskeskus. Helsinki: Terveystieteiden tutkimuskeskus. Luettu 13.7.2015. http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/90830/URN_ISBN_978-952-245-767-7.pdf?sequence

Harrison, L. 2007. Staphylococci. Teoksessa Mahon, C., Lehman, D. & Manuselis, G. Diagnostic microbiology. Kolmas painos. USA: Elsevier.

Hautala, T. 2014. Veriviljely vakavien yleisinfektioiden diagnostiikassa: klinikon näkökulma. OYS sisätautien klinikka. Luettu 6.4.2016. http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=B%29%202007%20Labquality-pai-vat%2FHautala_Veriviljely_vakavien_yleisinfektioiden_diagn.pdf&type=file&vuosi=2014

Hirvonen, J. Kierrospalautteita: Veriviljely. Fimlab Laboratoriot Oy. Luettu 29.6.2015. http://www.labquality.fi/@Bin/2791089/Jari+Hirvonen_Abstrakti_Labquality+Days+2015.pdf

Huupponen, R. 2014a. Bakteerilääkkeiden vaikutusmekanismeja. Teoksessa Pelkonen, O., Ruskoaho, H., Hakkola, J., Huupponen, R., MacDonald, E., Moilanen, E., Pasanen, M., Scheinin, M. & Vähäkangas, K. (toim.) Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim 916–919.

Huupponen, R. 2014b. β -laktaamiantibiootit. Teoksessa Pelkonen, O., Ruskoaho, H., Hakkola, J., Huupponen, R., MacDonald, E., Moilanen, E., Pasanen, M., Scheinin, M. & Vähäkangas, K. (toim.) Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 925.

Huupponen, R. 2014c. Mikrobilääkkeet ja niiden jaottelu. Teoksessa Pelkonen, O., Ruskoaho, H., Hakkola, J., Huupponen, R., MacDonald, E., Moilanen, E., Pasanen, M., Scheinin, M. & Vähäkangas, K. (toim.) Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 916.

Huupponen, R. 2014d. Resistenssin kehittyminen mikrobilääkkeelle. Teoksessa Pelkonen, O., Ruskoaho, H., Hakkola, J., Huupponen, R., MacDonald, E., Moilanen, E., Pasanen, M., Scheinin, M. & Vähäkangas, K. (toim.) Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 919–920.

John Jr., J., Davidson, R. & Low, D. 2010-2014. Staphylococcus epidermidis and other Coagulase-Negative Staphylococci. Antimicrobe. Luettu 30.10.2015. <http://www.antimicrobe.org/b234.asp>

Kananen, J. 2011. Kvantti: Kvantitatiivisen opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas. Jyväskylän ammattikorkeakoulun julkaisuja 118/2011. Jyväskylä: Jyväskylän ammattikorkeakoulu.

- Kauppila, J. 2007. Veriviljely vaikeiden infektioiden diagnostiikassa - laboratorionnäkökulma. *Moodi* 1 (31), 36–37.
- Kettunen, R. 2014. Endokardiitti (sydänläppien tulehdus). Lääkärikirja Duodecim. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Luettu 29.6.2015. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00679
- Lehman, D. C. 2015. Biochemical Identification of Gram-Negative Bacteria. Teoksessa Mahon, C., Lehman, D. & Manuselis, G. (ed.) *Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fifth edition. Missouri: Elsevier/Saunders, 181–197.
- Lumio, J. 2014a. Aivokalvontulehdus (meningiitti). Lääkärikirja Duodecim. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Luettu 29.6.2015. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00558
- Lumio, J. 2014b. Verenmyrkytys eli sepsis. Lääkärikirja Duodecim. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Luettu 29.6.2015. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00604&p_teos=dlk&p_osio=109&p_selaus=7851
- Lumio, J. 2015. Antibiootit. Lääkärikirja Duodecim. 17.3.2015. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Luettu 2.4.2016. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_osio=&p_artikkeli=dlk01177
- Lyytikäinen, O., Vuopio-Varkila, J. & Kotilainen, P. 2010. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Lähdesmäki, T., Hurme, P., Koskimaa, R., Mikkola, L. & Himberg, T. 2009. Menetelmäpolkuja humanisteille. Jyväskylän yliopisto, humanistinen tiedekunta. Luettu 1.10.2015. <http://www.jyu.fi/mehu>
- Marsik, F. 2015. Antimicrobial Susceptibility Testing. Teoksessa Mahon, C., Lehman, D. & Manuselis, G. (ed.) *Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fifth edition. Missouri: Elsevier/Saunders, 274–305.
- MIC Testing ohjekirja. Tulostettu versio. Aineisto saatu mikrobiologi Jari Hirvoselta.
- Nanologix. *Enterobacter cloacae*. Luettu 19.10.2015. http://nanologix.com/bacteria/enterobacter_cloacae.html
- National Center for Biotechnology Information_(NCBI). 1998. Occurrence of Virulence-Associated Properties in *Enterobacter cloacae*. Luettu 19.10.2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC113501/>
- Niemi, J. 2003-2006. Mikrobiologian perusteet. Luentorunko. Luettu 6.10.2015. users.utu.fi/jarnie/Mikrobiologian_perusteet.doc
- Nissinen, A. 2006. Bakteerin lääkeherkkyyden määrittäminen. *Moodi* 6/2006, 201-202.

Paterson, D., Siu, K. & Chang, F. 2010-2014. Klebsiella species (K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ozaenae and K. rhinoscleromatis). Antimicrobe. Luettu 21.10.2015. <http://www.antimicrobe.org/new/b107.asp>

Pelkonen, O., Ruskoaho, H., Hakkola, J., Huupponen, R., MacDonald, E., Moilanen, E., Pasanen, M., Scheinin, M. & Vähäkangas, K. (toim.) 2014. Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Pence, M. A., TeKippe, E. & Burnham, C-A. D. 2013. Diagnostic Assays for Identification of Microorganisms and Antimicrobial Resistance Determinants Directly from Positive Blood Culture Broth. Teoksessa Burnham, C-A. D. (ed.) Automation and Emerging Technology in Clinical Microbiology. Clinics in Laboratory Medicine. September 2013, 651–684.

Pincus, D. H. 2006. Microbial identification using the bioMerieux VITEK® 2 System. Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods. Bethesda, MD: Parenteral Drug Association.

Rantakokko-Jalava, K. & Anttila, V-J. 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Rintala, E. & Valtonen, V. 2011. Sepsis. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Satakunnan sairaanhoitopiiri. 2016. Bakteri, viljely, verestä. Luettu 7.4.2016. <http://ohjekirja.satadiag.fi/1153.html>

Siitonen, A. & Vaara, M. 2010. Esterichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Solunetti. 2006. Bakterit. Luettu 1.7.2015
<http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/bakteerit/2/>

Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. 1997. Antibioottiresistenssi - säilyykö lääkkeiden teho? Luettu 7.4.2016.
http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&viewTy-pe=viewArticle&tunnus=duo70557&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_auth=

Terveystieteiden tutkimuskeskus. 2015. Aikuisten veri- ja likvorilöydökset 2014. Luettu 6.4.2016
<https://www.thl.fi/fi/web/infektioaudit/seuranta-ja-epidemioiden-tartuntatautirekisteri/tartuntataudit-suomessa-vuosiraportit/tautien-esiintyvyyden-2014/aikuisten-veri-ja-likvoriloydokset-2014>

Terveyskirjasto. 2015. Enterobacteriaceae. Lääkärikirja Duodecim. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Luettu 20.10.2015. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt00716

Tissari, P & Anttila V-J. 2010. Muu Enterobacteriaceae-heimo. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Turnidge, J., Rao, N., Chang, F-Y., Fowler Jr, V., Kellie, S., Ardold, S., Lee, B. & Tristan, A. 2008. Staphylococcus aureus. Luettu 27.10.2015. http://www.antimicrobe.org/sample_staphylococcus.asp

Vaara, M., Skurnik, M & Sarvas, M. 2010. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Varsinais-Suomen sairaanhoitopiirin ky. 2015. B-Bakteeri, viljely B-BaktVi. Luettu 7.4.2016. <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/1153.html>

Veriviljelypositiiviset sairaalainfektiot vuosina 1999-2006. 2007. Kansanterveyslaitos. Luettu 30.10.2015. <http://www.thl.fi/attachments/infektiaudit/siro/2007b20.pdf>

Vilkka, H. 2015. Tutki ja kehitä. 4. painos. Jyväskylä: PS-kustannus.

Virtuaaliammattikorkeakoulu. 2010. Ylemmän AMK-tutkinnon metodifoorumi. Luettu 1.10.2015. <http://www2.amk.fi/digma.fi/www.amk.fi/opintojaksot/0709019/1193463890749.html>

Vuopio-Varkila, J., Kuusela, P. & Kotilainen, P. 2010. Staphylococcus aureus. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Walker, K., Horneman, A., Mahon, C. & Manuselis, G. 2007. Enterobacteriaceae. Teoksessa Mahon, C., Lehman, D. & Manuselis, G. Diagnostic microbiology. Kolmas painos. USA: Elsevier.

Wang, J-T & Chang, S-C. 2010-2014. Citrobacter species. Antimicrobe. Luettu 21.10.2015. <http://www.antimicrobe.org/b93.asp>

Washington, J. A. 2016. Principles of Diagnosis. Luettu 15.5.2016. <http://intranet.tdmu.edu.ua/data/cd/disk2/ch010.htm>

Zervos, M., Chow, J., Chen, A. & Muder, R. 2010. Enterococcus species. Antimicrobe. Luettu 30.10.2015. <http://www.antimicrobe.org/new/b03.asp>

LIITTEETLiite 1. Esimerkki VITEK[®] 2 -analysointilaitteen herkkyysmäärittämisen tulostuksesta

bioMérieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Aug 11, 2015 11:54 EEST
Printed by: labadmin

Isolate Group: ww7585B-1

Selected Organism: Staphylococcus aureus

Comments:	

Identification Information	
Selected Organism	Staphylococcus aureus
	Entered: Aug 11, 2015 11:54 EEST By: labadmin
Analysis Messages:	

Susceptibility Information	Card:	AST-P629	Lot Number:	539321520	Expires:	Oct 3, 2015 13:00 EEST
	Completed:	Aug 10, 2015 23:28 EEST	Status:	Final	Analysis Time:	9.00 hours
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation	
Cefoxitin Screen	NEG	-	Linezolid	<= 0.5	S	
Benzylpenicillin	<= 0.03	S	Teicoplanin	<= 0.5	S	
Oxacillin	<= 0.25	S	Vancomycin	<= 0.5	S	
Gentamicin	<= 0.5	S	Tetracycline	<= 1	S	
Tobramycin	<= 1	S	Nitrofurantoin			
Ciprofloxacin	<= 0.5	S	Fusidic Acid	<= 0.5	S	
Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-	Rifampicin	<= 0.03	S	
Erythromycin	0.5	S	Trimethoprim	<= 0.5	S	
Clindamycin	<= 0.12	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 10	S	
Quinupristin/Dalfopristin	<= 0.25	S				

+ = Deduced drug * = AES modified ** = User modified

AES Findings:	Last Modified: Jul 15, 2015 10:08 EEST	Parameter Set: Finlab Copy of EUCAST+EUCAST-based
Confidence Level:	Consistent	

Installed VITEK 2 Systems Version: 06.01
MIC Interpretation Guideline: Copy of EUCAST
AES Parameter Set Name: Finlab Copy of EUCAST+EUCAST-based

Therapeutic Interpretation Guideline: EUCAST-based
AES Parameter Last Modified: Jul 15, 2015
10:08 EEST

Liite 2. Taulukoidut MIC-tulokset bakteerilajeittain

1 (7)

Citrobacter koseri

	Mikrobiiläike	Amoksisilliini/klavulaanihappo	Piperasilliini/tatsobaktaami	Kefaleksiini	Kefuroksiimi	Kefuroksiimiaksetiili	Keftatsidiimi	Keftriaksoni	Ertapeneemi	Meropeneemi	Tobramysiini	Siprofloksasiini	Tigesykliini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7660malja	4	4	16	8	8	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20	
ww7660A	2	4	4	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20	
ww7660B	2	4	4	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20	
ww7661malja	4	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20	
ww7661A	2	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20	
ww7661B	2	4	4	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20	

Enterococcus faecium

	Mikrobiiläike	Ampisilliini	Ampisilliini/sulbaktaani	Imipeneemi	Kinupristiini/dalfopristiini	Linetsolidi	Teikoplaniini	Vankomysiini	Tigesykliini	Nitrofurantoiini
ww7588malja	32	32	16	0,5	2	0,5	0,5	0,12	256	
ww7588A	32	32	16	0,5	2	0,5	0,5	0,12	256	

Enterobacter cloacae ssp cloacae

	Mikroiläike	Amokisilliini/klavulaanihappo	Piperasilliini/tatsobaktaami	Kefaleksiini	Kefuroksiimi	Kefuroksiimiaksetiili	Keftatsidiimi	Keftriaksoni	Ertapeneemi	Meropeneemi	Tobramysiini	Siprofloksasiini	Tigesykliini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7607malja	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7607A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7607B	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7608A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7608B	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7609A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7609B	32	128	64	64	64	64	64	64	1	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7610A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7610B	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7611A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7611B	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7612A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7612B	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7637malja	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7637A	32	128	64	64	64	64	64	64	4	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7637B	32	128	64	64	64	64	64	64	4	0,25	1	0,25	2	0,5	20
ww7614malja	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7613A	32	64	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7613B	32	32	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7614A	32	32	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7614B	32	32	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	1	0,5	20
ww7635malja	32	128	64	64	64	64	64	64	1	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7635A	32	128	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	1	0,5	20
ww7635B	32	32	64	64	64	64	64	32	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7636A	32	32	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7636B	32	64	64	64	64	64	64	64	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20

Escherichia coli

	Mikrobiiläike	Mesillinaami	Amoksiiliini	Piperasiliini	Kefaleksiini	Kefuroksiimi	Kefuroksiimiaksetiili	Keftatsidiimi	Keftriaksoni	Ertapeneemi	Meropeneemi	Tobramysiini	Siprofloksasiini	Tigesykliini	Nitrofurantoiini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7618malja	1	4	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7618A	1	4	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7618B	1	4	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7619A	1	4	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7619B	1	4	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	1,5	20	
ww7652malja	8	16	128	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	16	320	
ww7652A	8	16	16	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	16	320	
ww7656malja	1	16	4	64	8	8	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7656A	1	16	4	16	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7656B	1	16	4	32	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww5657malja	1	32	4	64	8	8	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww5657A	1	16	4	32	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww5657B	1	16	4	32	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7658malja	1	2	4	8	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7658A	1	2	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7658B	1	2	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7659A	1	2	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7659B	1	2	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7663malja	1	2	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	
ww7663A	1	2	4	8	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	16	0,5	20	

Klebsiella oxytoca

	Mikrobiiläike	Amoksiiliini/klavulaanihappo	Piperasiiliini/tatsobaktaami	Kefaleksiini	Kefuroksiimi	Kefuroksiimiaksetiili	Keftatsidiimi	Keftriaksoni	Ertapeneemi	Meropeneemi	Tobramysiini	Siprofloksasiini	Tigesykliini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7633malja	2	4	4	4	1	1	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7633A	2	4	4	4	1	1	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7633B	2	4	4	4	1	1	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7634A	2	4	4	4	1	1	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7634B	2	4	4	4	1	1	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20

Raoutella ornithinolytica

	Mikrobiiläike	Amoksiiliini/klavulaanihappo	Piperasiiliini/tatsobaktaami	Kefaleksiini	kefuroksiimi	Kefuroksiimiaksetiili	Keftatsidiimi	Keftriaksoni	Ertapeneemi	Meropeneemi	Tobramysiini	Siprofloksasiini	Tigesykliini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7616malja	2	4	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7616A	2	4	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7616B	2	4	4	4	1	1	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7617A	2	4	4	4	2	2	1	1	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,5	20
ww7617B	2	4	4	4	4	4	1	1	0,5	0,25	1	0,25	1	0,5	20

Staphylococcus aureus

5 (7)

	Mikroiläike	Bentsylipenisilliini	Oksasilliini	Gentamisiini	Tobramysiini	Siprofloksasiini	Erytromysiini	Klindamysiini	Kinupristiini/dalfopristiini	Linetsolidi	Teikoplaniini	Vankomysiini	Tetrasykliini	Fusidiinihappo	Rifampisiini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7585malja	0,03	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	1	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7585A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7585B	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7586A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7586B	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7591A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7592A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7593malja	0,06	0,25	0,5	1	0,5	1	0,12	0,25	2	0,5	1	1	0,5	0,03	1	10	
ww7593A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	1	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7599malja	0,5	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	2	0,5	0,5	1	0,5	0,03	1	10	
ww7599A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,25	1	0,5	1	1	0,5	0,03	1	10	
ww7615malja	0,06	0,25	0,5	1	0,5	1	4	0,25	2	0,5	1	1	16	0,03	1	10	
ww7615A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	1	1	8	0,03	0,5	10	
ww7615B	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	1	1	8	0,03	1	10	
ww7622malja	0,06	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,25	2	0,5	1	1	8	0,03	2	10	
ww7622A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	8	0,03	0,5	10	
ww7622B	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	1	1	8	0,03	0,5	10	
ww7642malja	0,5	0,5	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	2	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7642A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	1	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7646malja	0,5	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	2	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7646A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7646B	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7647A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	---	0,25	2	0,5	1	2	0,5	0,03	0,5	10	
ww7647B	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7650malja	0,25	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	2	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7650A	0,12	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	2	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7654malja	0,5	0,5	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	2	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7654A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7654B	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7655A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,12	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7672malja	0,5	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	1	0,5	1	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7672A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7672B	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	
ww7673A	0,5	0,25	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,25	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,03	0,5	10	

Staphylococcus epidermidis

	Mikroiläike	Bentsyylipenisilliini	Oksasilliini	Gentamisiini	Tobramysiini	Siprofloksaksiini	Erytromysiini	Klindamysiini	Kinupristiini/dalfopristiini	Linetsolidi	Teikoplaniini	Vankomysiini	Tetrasykliini	Fusidiinihappo	Rifampisiini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7620malja	0,5	4	4	1	8	8	4	0,25	1	4	1	1	0,5	0,03	16	160	
ww7620A	0,25	4	2	1	8	8	4	0,25	1	2	1	1	0,5	0,03	16	80	
ww7621malja	0,5	4	0,5	1	0,5	8	0,25	0,25	1	4	1	16	0,5	0,03	0,5	10	
ww7621A	0,5	4	0,5	1	0,5	8	0,25	0,25	0,5	0,5	1	16	0,5	0,03	0,5	10	

Staphylococcus hominis

	Mikroiläike	Bentsyylipenisilliini	Oksasilliini	Gentamisiini	Tobramysiini	Siprofloksaksiini	Erytromysiini	Klindamysiini	Kinupristiini/dalfopristiini	Linetsolidi	Teikoplaniini	Vankomysiini	Tetrasykliini	Fusidiinihappo	Rifampisiini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7643malja	0,5	4	1	1	0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	2	0,5	0,5	1	8	0,03	16	80
ww7643A	0,5	4	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	8	0,03	16	40
ww7651malja	0,5	4	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	16	0,03	16	40
ww7651A	0,5	4	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	8	0,03	16	20

Staphylococcus lugdunensis

	Mikrobilääke															
	Bentsyylipenisilliini	Oksasilliini	Gentamisiini	Tobramysiini	Siprofloksaksiini	Erytromysiini	Klindamysiini	Kinupristiini/dalfopristiini	Linetsolidi	Teikoplaniini	Vankomysiini	Tetrasykliini	Fusidiinihappo	Rifampisiini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7625malja	0,06	0,5	0,5	1	0,5	0,25	0,25	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	4	10
ww7625A	0,03	0,25	0,5	1	0,5	0,25	0,12	0,25	1	0,5	0,5	1	0,5	0,03	4	10

Määrittelemätön koagulaasinegatiivinen stafylokokki

	Mikrobilääke															
	Bentsyylipenisilliini	Oksasilliini	Gentamisiini	Tobramysiini	Siprofloksaksiini	Erytromysiini	Klindamysiini	Kinupristiini/dalfopristiini	Linetsolidi	Teikoplaniini	Vankomysiini	Tetrasykliini	Fusidiinihappo	Rifampisiini	Trimetopriimi	Trimetopriimi/sulfametoksatsoli
ww7649malja	0,03	0,25	0,5	1	0,5	1	0,25	0,25	4	0,5	1	16	0,5	0,03	1	10
ww7649A	0,03	TRM	0,5	4	0,5	0,5	0,12	0,25	2	0,5	0,5	8	0,5	0,03	0,5	10