



SAVONIA

■ OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

ULOSTEEN PARASIITTIIEN TUTKIMINEN

Työohje bioanalyttikko-opiskelijoille

TEKJÄT: Henna Karhunen
Titta Tuhkanen

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Henna Karhunen & Titta Tuhkanen	
Työn nimi Ulosteen parasiittien tutkiminen – työohje bioanalyttikko-opiskelijoille	
Päiväys 28.9.2016	Sivumäärä/Liitteet 38/27
Ohjaaja(t) Lehtori Leena Tikka	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu	
Tiivistelmä <p>Suoliston alkueläin- sekä matoinfektiot eli parasiitti-infektiot ovat hyvin yleisiä maailmanlaajuisesti. Useimmat Suomessa todetut suoliston parasiitti-infektiot ovat peräisin ulkomailta, mutta joitakin parasiitteja esiintyy myös Suomessa. Tässä opinnäytetyössä käsitellään Suomessa esiintyviä parasiitteja sekä niiden tutkimista työohjeen avulla. Bioanalyttikon työssä parasitologian osaaminen on kliinisen mikrobiologian alan erityisosaamista.</p> <p>Opinnäytetyö on toiminnallinen opinnäytetyö, johon kuuluu kirjallinen raporttiosa sekä tuotokseksi tehty kirjallinen työohje. Tähän kirjalliseen raporttiin on koottu tarkempaa tietoa suolistoparasiiteista, niiden yleisyydestä, tartuntatavasta, oireista sekä hoidosta. Käsitellyt parasiitit ovat <i>Entamoeba histolytica</i>, <i>Dientamoeba fragilis</i>, <i>Giardia lamblia</i>, <i>Cryptosporidium</i> -lajit sekä <i>Ascaris lumbricoides</i>, <i>Diphyllobothrium latum</i> ja <i>Trichuris trichiura</i>. Työohjeessa käydään läpi koko ulosteen parasiittien tutkimisprosessi näytteen konsentroinnista mikroskopointiin ja löydettyjen parasiittien tunnistamiseen kuvien sekä teoretiedon avulla.</p> <p>Opinnäytetyön tarkoitus on tuottaa selkeä työohje Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille opiskelun tueksi kliinisen parasitologian opintojaksolle. Pää tavoitteena on edistää opiskelijoiden oppimista ja osaamista sekä kehittää parasitologian opintojakson sisältöä.</p>	
Avainsanat Parasiitti, uloste, työohje, tutkiminen	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Henna Karhunen & Titta Tuhkanen			
Title of Thesis Examination of Fecal Parasites – working instructions for Biomedical Laboratory Science students			
Date	28.9.2016	Pages/Appendices	38/27
Supervisor(s) Senior Lecturer Leena Tikka			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p>Intestinal protozoan and worm infections also known as parasite infections are very common worldwide. Most of the parasites that are found in Finland are from abroad. Some parasites also occur in Finland. In this thesis we deal with the most common parasites in Finland and examining them with working instructions. Expertise in parasitology is a speciality in the field of clinical microbiology when working as a biomedical laboratory scientist.</p> <p>This is a functional thesis and it consists of literary report and literary working instructions. In this literary report we have combined detailed information about intestinal parasites, about their prevalence, their infectiousness, the symptoms they cause and how they can be cured. The parasites that we deal with in this thesis are <i>Entamoeba histolytica</i>, <i>Dientamoeba fragilis</i>, <i>Giardia lamblia</i>, <i>Cryptosporidium</i>-species, <i>Ascaris lumbricoides</i>, <i>Diphyllobothrium latum</i> and <i>Trichuris trichiura</i>. In the working instructions we go through the whole research process of the fecal parasites from concentrating the sample to exploring it with the microscope and identifying parasites found in the sample. To help exemplify the instructions we used both images and theoretical information.</p> <p>The purpose of our thesis is to provide explicit working instructions for biomedical laboratory science students studying at Savonia University of Applied Sciences. The main goal of our thesis is to help the biomedical laboratory science students to learn more about parasitology and advance their abilities exploring parasites. The working instructions also improve the content of the clinical parasitology course.</p>			
<p>Keywords Parasite, faeces, working instructions, examination</p>			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	5
2	YLEISTÄ PARASIITEISTA.....	7
3	ALKUELÄIMET SUOLISTOSSA	8
3.1	<i>Entamoeba histolytica</i>	9
3.2	<i>Dientamoeba fragilis</i>	10
3.3	<i>Giardia lamblia</i>	12
3.4	<i>Cryptosporidium</i> -lajit.....	13
4	MADOT SUOLISTOSSA.....	15
4.1	<i>Ascaris lumbricoides</i>	16
4.2	<i>Diphyllobothrium latum</i>	17
4.3	<i>Trichuris trichiura</i>	18
5	ULOSTEEN PARASIITTIIEN TUTKIMUSPROSESSI	20
5.1	Näytteenotto	20
5.2	Näytteen konsentrointi	21
5.3	Värjäykset	22
5.3.1	Jodivärjäys	22
5.3.2	Kryptovärjäys.....	23
5.3.3	Amebavärjäys	24
5.4	Mikroskopointi	25
5.5	Hygienia.....	26
6	HYVÄ TYÖOHJE.....	27
7	TYÖN TARKOITUS JA TAVOITE.....	28
8	TYÖN TOTEUTUS	29
8.1	Toiminnallinen opinnäytetyö	29
8.2	Työohje opinnäytetyön tuotoksena.....	29
9	POHDINTA.....	31
9.1	Eettisyys ja luotettavuus.....	31
9.2	Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu	32
9.3	Hyödynnettävyys ja jatkokehitysmahdollisuudet.....	33
	LÄHTEET	34
	LIITE 1. TYÖOHJE	1

1 JOHDANTO

Parasiitit eli loiset ovat ihmisiä infektoivia, aiotumallisia organismeja, jotka käyttävät ihmiselimistöä ravinnon lähteenä sekä asuinpaikkana (Meri 2014, 140). Ne voivat elää ihmisessä useassa eri paikassa: esimerkiksi suolistossa, veressä, sappiteissä ja eri kudoksissa (Suomen Kuntaliitto 2005, 83). Parasiitteja voidaan jakaa eri luokkiin niiden elinympäristön perusteella. Näitä ryhmiä ovat ihoparasiitit, veriparasiitit, suolistoparasiitit sekä kudoksissa elävät parasiitit. (Jokiranta ja Meri 2010, 335.) Opinnäytetyössämme keskitymme ainoastaan yleisimpiin Suomessa esiintyviin suoliston parasiitteihin, joita voidaan tutkia ihmisen ulosteesta.

Maailmanlaajuisesti suoliston mato- ja alkueläin- eli parasiitti-infektiot ovat hyvin yleisiä. On arveltu, että noin viidesosalla maailman väestöstä on suolistomatoja, ja että noin 200 miljoonaa ihmistä kantaa *Giardia* suolistossaan. Kuolleisuus parasiittitaudeissa on kuitenkin suhteellisen pieni verrattuna yleisesti infektioitauteihin; esimerkiksi amebiaasiin kuolee vuosittain noin 40 000–100 000 ihmistä. (Siikamäki, Kyrönseppä ja Jokiranta 2002, 1235.) Aiheemme on mielestämme ajankohtainen maahanmuuton lisääntyvyyden takia. Parasiitti-infektiot eivät ole Suomessa tällä hetkellä varsin yleisiä, mutta ne voivat olla yleistymässä. Meri (2014, 142) toteaa artikkelissaan, että ihmisten, eläinten ja tavaroiden lisääntyvyys ja liikkuvuus maista toisiin vaikuttaa parasiitti-infektioiden ja epidemioiden määrään.

Suolistoparasiittien diagnostiikan kulmakivi on parasiittien osoittaminen ulosteen formaliininäytteestä. Värjäytystä näytteestä etsitään mikroskoopin avulla alkueläinten kystia ja trofotsoitteja sekä matojen munia ja toukkia. Luotettavuuden takaamiseksi näytteitä tulee ottaa useampana päivänä, sillä kystien ja munien erittyminen ulosteeseen on jaksottaista. (Siikamäki ym. 2002, 1245.) Ulosteen parasiittitutkimuksella selvitetään yleisimmin pitkittyneen ripulin, painonlaskun, anemian tai esimerkiksi eosinofilian syitä. Tutkimusta voidaan käyttää myös ulkomaanmatkan jälkeisessä terveystarkastuksessa. (Matikainen, Miettinen ja Wasström 2010, 106.)

Kliininen mikrobiologia on erikoisala, joka tutkii terveyttä uhkaavien taudinaiheuttajien ominaisuuksia. Bakteriologian, mykobakteriologian, immunologian, mykologian ja virologian lisäksi kliinisen mikrobiologian osaamisalueeseen kuuluu myös kliinisen parasitologian osaaminen, jonka opiskeluun työohjeemme on erityisesti suunnattu (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2016). Bioanalytiikan tutkinto-ohjelman kliinisen parasitologian opintojaksolla (1,5 op) Savonia-ammattikorkeakoulussa opiskelija perehtyy erilaisiin ihmisessä eläviin parasiitteihin ja niiden aiheuttamiin sairauksiin. Opintojakso keskittyy lähinnä malariaan ja erilaisiin suolistoparasiitteihin: kuinka ne päätyvät ihmiseen ja minkälaisia tauteja ne aiheuttavat sekä siihen, kuinka niitä hoidetaan ja tutkitaan. Pääpaino harjoitustunneilla on parasiittien osoittaminen ulosteesta- eli F-Para-O -tutkimuksen harjoittelu ja suorittaminen.

Opinnäytetyömme tuotoksena on työohje ulosteen parasiittien tutkimisesta Savonia-ammattikorkeakoululle. Sen tarkoituksena on esitellä bioanalytikko-opiskelijoille tutkimuksen kulku vaihe vaiheelta

kuvien ja tekstin avulla ja toisaalta olla myös apuna opettajille opiskelijoiden opetustilanteissa. Tavoitteenamme on edistää bioanalytikko-opiskelijoiden oppimista ja ammattitaitoa parasitologian osalta. Savonia-ammattikorkeakoululla ei ole olemassa aiempaa työohjetta ulosteen parasiittien tutkimiseen. Teemme ohjeen laboratorioden ”Parasiitit, ulosteesta” (F-Para-O) -tutkimusohjeiden mukaisesti.

Olemme perehtyneet aiheeseen opinnäytetyötä tehdessämme internetin ja kirjallisuuden avulla. Syksyllä 2015 keskussairaalaharjoittelun aikana mikrobiologian jaksolla pääsimme perehtymään tutkimukseen ja harjoittelemaan sen tekoa myös käytännössä. Lisäksi olemme käyneet mikrobiologian kurssiin kuuluvan parasitologian opintojakson keväällä 2015. Työohjetta varten kuvasimme koululla F-Para-O-tutkimuksen jodivärjäyksellä sekä sitä seuraavan kryptovärjäyksen vaiheineen. Amebavärjäyksen ohjeistamme teoriassa.

2 YLEISTÄ PARASIITEISTA

Parasiitteja voidaan luokitella usealla eri tavalla, mutta mikrobiologisen määrittelyn mukaan parasii-teilla tarkoitetaan ihmisessä tai esimerkiksi eläimissä loisivä eliöitä, jotka eivät ole viruksia, baktee-reita tai sieniä, ja jotka hyödyntävät jollakin tavalla isäntänsä elimistöä. Niistä ei kuitenkaan ole mi-tään hyötyä isäntäeliölle. Parasiitit ovat hyvin monenlaisia erilaisia eliöitä. (Jokiranta ja Meri 2010, 334.) Yksisoluisia eliöitä ovat esimerkiksi alkueläimet ja monisoluisia madot sekä niveljalkaiset. Para-siiteiksi lasketaan myös ektoparasiitit eli ulkopinnoilla esiintyvät loiset. Tällaisia ovat esimerkiksi hyönteiset sekä hämähäkkieläimet. (Suomen Kuntaliitto 2005, 83.)

Maailmanlaajuisesti parasiitti-infektiot ovat hyvin yleisiä, varsinkin trooppisilla alueilla ja kehitys-maissa (Siikamäki ym. 2002, 1235). Kehitysmaissa samalta potilaalta löydetään usein monia parasii-titauteja samanaikaisesti (Siikamäki, Jokiranta ja Meri 2010, 338). Syynä parasiitti-infektioiden le-viämiseen on useimmiten huonot hygieeniset olosuhteet (Siikamäki ym. 2002, 1235). Joidenkin pa-rasiittitautien esiintymiseen liittyy vektorieliö eli niveljalkainen, joka levittää tautia (Siikamäki ym. 2010, 338). Valtaosa suomalaisten parasiitti-infektioista on matkoilta saatuja tai maahanmuuttajien mukana tulleita. Suomessa esiintyy joitakin suolistoparasiitteja kotoperäisinä. (Siikamäki ym. 2002, 1235.) Parasiittien esiintyvyys Suomessa on jakautunut tasaisesti, ei ole alueita joilla tiettyä parasii-tia esiintyisi enemmän. Pohjoismaiden vähentyneet parasiitti-infektiot kertovat hygienian paranemi-sesta ja tiedon lisääntymisestä. (Suomen Kuntaliitto 2005, 83.) Vuonna 2014 Suomessa diagnosoi-dut, yleisimmät suolistoparasiitit on esitetty taulukossa 1.

Parasiitit voivat olla harmittomia isännälleen, jolloin niitä kutsutaan kommensaaleiksi eli nonpatogee-neiksi. Tämä tarkoittaa, että parasiitista ei ole hyötyä tai haittaa isännälleen. (Tiilikainen, Vaara ja Vaheri 1997, 551.) Tautia aiheuttavaa parasiittia kutsutaan patogeeniksi. On kuitenkin haastavaa lajitella parasiitteja patogeenisiin ja nonpatogeenisiin, sillä esimerkiksi 1970-luvulla *Giardia* pidettiin nonpatogeenina, kunnes sen huomattiin aiheuttavan oireisia infektioita. (Jokiranta ja Meri 2010, 334.)

Useille parasiiteille on ominaista elinkierto. Parasiiteilla on pääisäntä sekä ainakin yksi väli-isäntä, joiden avulla ne lisääntyvät ja pitävät yllä kiertokulkua. (Suomen Kuntaliitto 2005, 83.) Parasiittien sukusoluja tuottavat muodot syntyvät pääisännässä. Väli-isännässä kehittyä eriasteisia välivaiheita. Jotkut parasiitit ovat valikoivia isäntiensä suhteen, esimerkiksi malariaplasmoidi kelpuuttaa isännäk-seen vain ihmisen ja väli-isännäksi *Anopheles*-hyttysen. (Siikamäki ym. 2010, 339.)

Immuunipuutospotilaille parasiiteista voi olla enemmän vaivaa. Immuunipuutoksessa elimistön kyky torjua infektioita on häiriintynyt. (Immuunipuutospotilaiden yhdistys Ry 2016.) Jotkin parasiittitaudit voivat aiheuttaa immuunipuutteisille rajumman taudinkuvan ja osa parasiittitaukeista on tyypillisiä nimenomaan immuunipuutospotilaille (Siikamäki ym. 2010, 338). Esimerkiksi AIDS-potilaille yleisiä taudinaiheuttajia ovat *Pneumocystis jirovercii*, *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium*, *Isospora* sekä *Leishmania* (Siikamäki ym. 2010, 340). Oireiden esiintymiseen voivat vaikuttaa myös perinnölliset tekijät, muut samanaikaiset sairaudet sekä ravitsemustila (Siikamäki ym. 2010, 338).

3 ALKUELÄIMET SUOLISTOSSA

Alkueläimet ovat yksisoluisia eliöitä, joilla on tuma. Elämänsä aikana ne voivat olla rakenteellisesti eri muodoissa eri elämänvaiheissa. Kystoiksi kutsutaan alkueläimen muotoja, jotka ovat paksuseinäisiä ja jotka sietävät erilaisia ympäristöoloja, kuten kuivuutta sekä suolapitoisuuden ja lämpötilan muutoksia. Kystat yleensä aiheuttavat infektion isäntään. Trofotsoiitit ovat kystista muodostuvia, jakaantumis- ja liikkumiskykyisiä parasiittimuotoja. Jotkin alkueläimet, kuten esimerkiksi *Cryptosporidium*-lajit muodostavat gametosyyteistä eli pariutuneista sukusoluista ookystia. Ne ovat parasiitin alkujia. Jotkin alkueläimet voivat muodostaa kudoksiin parasiittirykelmiä eli kuduskystia. (Siikamäki ym. 2010, 339.) Alkueläimet pystyvät tarttumaan suoraan ihmisestä toiseen, mutta yleisemmin tartunnan voi saada pintavesistä tai saastuneista ruoka-aineista, kun alkueläimen kystamuotoja niellään (Lumio 2014a). Aiheutunut infektio on usein oireinen (Siikamäki ym. 2002, 1236).

Alkueläimet voidaan jakaa ryhmiin niiden liikkumisominaisuuksien mukaisesti. Tärkeimmät ryhmät ovat:

1. Juurijalkaiset eli *Sarcodina* eli amebat. Ameboilla ei ole suvullista lisääntymistä. Ne liikkuvat valejalkojen avulla, joilla ne myös tunkeutuvat soluvälitiloihin ja hankkivat ravintoa. Valejalat ovat solukalvon ulokkeita.
2. Siimaeläimet eli *Flagellata*. Siimaeläimet eivät myöskään lisäänty suvullisesti. Siimaeläimet liikkuvat flagelloiden avulla, jotka ovat pitkiä, siimamaisia ulokkeita. Yhdellä alkueläimellä voi olla jopa 8 flagellaa.
3. Ripsieläimet eli *Ciliata*. Ripsieläimet kykenevät lisääntymään suvullisesti. Ne liikkuvat ripsiensä avulla, jotka ovat lyhyiltä ulokkeita. Ripsiä on ympäriinsä alkueläimen solupinnalla.
4. Itiöeläimet eli *Sporozoa*. Itiöeläimet eivät liiku aktiivisesti ja ne lisääntyvät suvullisesti. (Siikamäki ym. 2010, 339.)

TAULUKKO 1. Yleisimmät Suomessa esiintyneet suolistoparasiitit vuonna 2014 (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, Tartuntatautirekisterin tilastotietokanta 2016)

Tieteellinen nimi	Todettujen infektioiden lkm Suomessa vuonna 2014
<i>Giardia lamblia</i>	287
<i>Cryptosporidium</i> –lajit	31
<i>Entamoeba histolytica</i>	22

Suolistoparasiitit pääsevät loisimispaikkaansa usealla eri tavalla: suoraan suun kautta, läpäisemällä ihon tai suolen seinämän ja kulkemalla verenkierron avulla keuhkoihin. Sieltä ne päätyvät suoleen niellyn yskösliman mukana. (Jokiranta ja Meri 2010, 335.) Suurin osa suun kautta saatavista tartunnoista saadaan ulosteen kontaminoiman ruoan tai juomaveden, sekä pesemättömien käsien takia,

jolloin infektoitunutta ulostetta voi päätyä käsistä suuhun (Suomen Kuntaliitto 2005, 83). Päästäkseen loisimipaikkaansa suolistoparasiiteilla täytyy olla kyky selviytyä mahalaukun happamuuden sekä ruoansulatusentsyymien hajottavilta vaikutuksilta. Lisäksi selviytyäkseen suolistossa loisen täytyy järjestää itselleen ravintoa sekä pystyä karttamaan isäntänsä puolustusjärjestelmiä. Suolistoparasiiteilla on erilaisia keinoja pysytellä haluamassaan loisimispaiassa, jotta ne eivät kulkeudu suoliston liikkeiden mukana pois elimistöstä. Ne pyrkivät loisimaan isännässä niin kauan, että jälkeläisiä ehtii syntyä riittävästi seuraavan isännän infektoimiseksi. (Jokiranta ja Meri 2010, 335–336.)

Alkueläinten hoitamiseen käytetään erilaisia antibiootteja. Suomessa pyritään hoitamaan sekä oireetomat että oireelliset infektiot, sillä uuden infektion riskiä ei juuri ole. Sen sijaan endeemisillä alueilla oireettomien infektioiden hoitaminen ei ole aina järkevää uuden infektion todennäköisyyden takia. (Siikamäki 1994.)

3.1 *Entamoeba histolytica*

*Entamoeba histolytica*n aiheuttamaa infektiota elimistössä kutsutaan amebiaasiksi (Siikamäki ym. 2010, 341). Se voi aiheuttaa paksusuolen haavaisen infektion, jonka oireita ovat väsymys, ruokahaluttomuus, vatsakivut sekä mahdollinen lämmön nousu. Parasiitit voivat myös muodostaa paiseita eri puolille kehoa, yleisimmin maksaan. Hoitamattomana amebiaasi voi aiheuttaa veriripulin. (Suomen Kuntaliitto 2005, 85.) Infektio voi kuitenkin olla myös vähäoireinen tai oireeton. Alueilla, joissa *E. histolytica*a esiintyy kotoperäisenä, noin 90 % infektion saaneista on oireettomia. Isännän vastustuskyvyllä on huomattu olevan vaikutusta oireiden esiintyvyyteen, esimerkiksi immuunipuutteilla on isompi riski sairastua vakavaoireiseen infektiin. *E. histolytica*n tiedetään aiheuttavan infektiota vain ihmisille, eli sitä ei ole tavattu ollenkaan eläimillä. (Siikamäki ym. 2010, 341, 343.) Eniten *E. histolytica*a esiintyy trooppisilla sekä subtrooppisilla alueilla, joissa hygienia on huonoa (Suomen Kuntaliitto 2005, 85).

E. histolytica esiintyy kysta- sekä trofotsoiittimuodoissa. Kystat ovat kestäviä ja voivat pysyä elinkykyisinä monia viikkoja. Ne kuitenkin tuhoutuvat syväpakkauksessa (-20 °C) tai jos niitä kuumentaan 5 minuutin ajan +50 °C:ssa. (Siikamäki ym. 2010, 343.) Tartunta saadaan yleisimmin vedestä tai ruoasta, joka on kontaminoitunut kystia sisältävällä ulosteella (Siikamäki ym. 2002, 1236).

Kystista vapautuu neljä metatrofotsoiittia ohutsuolessa. Metatrofotsoiitit kiinnittyvät isännän suoleen niiden pinnalla olevien lektiinien avulla. (Meri 2007, 154.) Trofotsoiittimuotoinen *E. histolytica* pystyy liikkumaan valejalkojensa ansiosta ja kerää näiden avulla myös ravintoa, kuten punasoluja, suoliston bakteereita sekä suolen seinämän soluja. Se pystyy myös hajottamaan soluja toksiinien avulla. Ennen poiskulkeutumista ulosteen mukana trofotsoiitit erittävät ympärilleen kystaseinämän, jolloin myös kystia vapautuu ulosteeseen. Kuitenkin aikaa tartunnan saamisesta kystien muodostuksen alkamiseen voi mennä jopa neljä viikkoa. (Siikamäki ym. 2010, 343.)

Tartunnan vakavuus on kiinni trofotsoiittien kiinnittymisestä isännässä. Mikäli trofotsoiitti kiinnittyy solujen ulkopuolelle suolen ulkoisiin rakenteisiin, se ei pysty vaurioittamaan isäntäsolua vaan jää solunulkoiseen limaan lisääntymään. Trofotsoiitti lisääntyy jakaantumalla kahtia. Jos trofotsoiitti kykenee tunkeutumaan limakerroksen läpi, se voi tarttua solujen pintaan. Tällöin se voi aiheuttaa solukuolemaa, jonka seurauksena syntyy tulehtuneita haavaumia suolen pinnalle. Tämä voi johtaa myös veriripuliin. Suolen seinämästä trofotsoiitti voi kulkeutua verenkiertoon, josta se yleensä päätyy ensimmäisenä maksaan ja alkaa tuhota maksakudosta. Seurauksena syntyy abskesseja eli paiseita. Joskus amebat saattavat edetä maksasta vielä muualle elimistöön, kuten aivoihin. (Meri 2007, 154–155.)

Entamoeba histolytica kystat voidaan osoittaa ulosteen formaliininäytteestä. Luotettavan tuloksen saamiseksi näytteitä tulisi olla kolmelta eri päivältä, sillä kystia erittyy ulosteeseen ajoittain. (Suomen Kuntaliitto 2005, 85.) Kysta on muodoltaan pyöreä ja sen halkaisija on noin 12–15 µm (Forbes, Sahm ja Weissfeld 2002, 652). Kypsässä kystassa on neljä tumaa, joiden keskellä on pieni karyosomatäplä (Meri 2007, 153–154).

Ulosteen PVA- eli polyvinyylialkoholinäytteestä voidaan etsiä myös trofotsoiittimuotoja (Siikamäki ym. 2002, 1237). Värjäyksenä käytetään yleensä trikromi- eli amebavärjäystä. Trofotsoiitti on keskimäärin 15–20 µm kokoinen. Sillä on yksi tuma, jonka kromatiini on hienojakoista. Sytoplasmassa voi olla pieniä vakuoleja. (Forbes ym. 2002, 650.) *E. histolytica* erottaminen muista ameboista voi olla kuitenkin haastavaa silmämääräisesti, sillä patogeeninen *E. histolytica* ja nonpatogeeninen *E. dispar* muistuttavat paljon toisiaan (Siikamäki ym. 2010, 345). Punasolujen esiintyminen sytoplasmassa on ainoa erottava tekijä näiden kahden välillä, mutta tämä ei ole aina luotettava erotuskeino (Forbes ym. 2002, 650). Antigeeninosoitusmenetelmällä *E. histolytica*- ja *E. dispar*-amebat voidaan erottaa toisistaan luotettavasti (Siikamäki ym. 2002, 1237). Antigeeni määritetään kvalitatiivisesti mikrokuoppalevyllä entsyymi-immunomenetelmällä (EIA). Näytteeksi tarvitaan kiinnittämätöntä ulostetta. (Huslab 2016a.) *E. histolytica* tunnistamiseen voidaan käyttää myös esimerkiksi epäsuoraa immunofluorosenssimenetelmää, hemagglutinaatiota sekä serologisia menetelmiä (Aziz ja Zeibig 2013, 48).

Entamoeba histolytica hoitoon käytetään metronidatsolia tai tinidatsolia. Nämä lääkkeet eivät kuitenkaan tehoa suolessa oleviin amebakystiin, joten jatkohoitona oireiseen amebiaasiin annetaan diloksanidifuroaattia, paromysiiniä tai jodokinolia. Jotakin näistä annetaan myös oireettomalle amebakantajalle. (Siikamäki ym. 2010, 341, 345.)

3.2 *Dientamoeba fragilis*

Dientamoeba fragilis on yksisolainen ja kaksitumainen organismi. Alkuun sitä pidettiin amebasukuun kuuluvana, johon nimi viittaa. (Meri 2012, 5.) *Dientamoeba fragilis* kuuluu kuitenkin *Trichomonadidae*-heimoon (Meri ja Jokiranta 2011, 165). Se on löydetty jo vuonna 1918, mutta on vielä paljon asioita, joita siitä ei tiedetä (Meri 2012, 5). *D. fragilista* esiintyy maailmanlaajuisesti (Siikamäki ym. 2010, 346).

Dientamoeba fragiliksen elinkierrosta ja lisääntymisestä ei ole vielä varmaa tietoa (Graeter ja Zeibig 2013, 89). Todennäköisin tartuntareitti lienee ulosteesta suuhun joutuminen. Tutkimusten mukaan se tarttuu helpommin lähikontaktissa, kuten esimerkiksi perheiden sisällä sekä laitoksissa. Laji ei muodosta lainkaan kystamuotoa, eli se tarttuu suoraan isännästä toiseen. On oletettu, että *D. fragilis* pystyisi tartuttamaan kulkeutumalla elimistöön sukkulamatojen munien mukana. Vielä ei ole saatu selville, kuinka *D. fragilis* selviytyy elimistön ulkopuolella ja kuinka se pääsee elimistössä mahalaukun ja ohutsuolen läpi. *Dientamoeba fragilista* on löydetty ihmisten lisäksi apinoilta ja lammailta. Löydökset ovat olleet kuitenkin niin harvinaisia, että ihmistä pidetään sen pääisäntänä (Meri 2012, 7.) Ravinnokseen *D. fragilis* käyttää elinympäristönsä bakteereita sekä tärkkelystä (Meri ja Jokiranta 2011, 165).

Dientamoeba fragilis aiheuttaa oireita 20–60 %:lle tartunnan saaneista (Siikamäki ym. 2010, 346). Elimistöön päästessään se elää paksusuolen alueella, jossa se ärsyttää paksusuolen limakalvoa (Meri 2012, 7,10). Mahdollisia oireita ovat ripuli, vatsakivut, ilmavaivat, pahoinvointi, oksentelu, väsymys, laihtuminen, peräaukon kutina sekä ihottumat (Meri ja Jokiranta 2011, 165). *D. fragiliksen* ei ole huomattu tunkeutuvan kudoksiin (Meri 2012, 7).

Dientamoeba fragiliksen patogeenisuudesta ollaan yhä montaa mieltä (Meri ja Jokiranta 2011). Tutkija Robert Koch (1843–1910) on määrittänyt ehdot, jotka mikrobin tulisi täyttää, jotta sitä voidaan ajatella taudinaiheuttajana (Tieteen termipankki 2013). *D. fragiliksen* kohdalla nämä postulaatit eivät täyty. Kuitenkin sitä löydetään enemmän oireisilta kuin oireettomilta potilailta ja useimmiten oireet ovat loppuneet hoidon jälkeen. Toisaalta myös suuri osa potilaista on oireettomia. Voidaan siis ajatella, että *D. fragilis* on hoidettava löydös, mikäli potilaalla on oireita, joille ei ole löytynyt muuta syytä. (Meri 2012, 9.)

D. fragilis voidaan diagnosoida monella eri tavalla. Sitä voidaan tutkia mikroskopoimalla, viljelemällä tuoreulostenäyte yhdessä bakteerin kanssa tai tekemällä PCR. (Meri 2012, 5.) Trofotsoitin tunnistaminen F-Para-O -näytteestä voi olla haastavaa, joten on luotettavampaa tehdä diagnoosi kestokiinnitetystä polyvinyylialkoholinäytteestä amebavärjäyksellä. (Meri ja Lavikainen 2012). Trofotsoittimuotoinen *D. fragilis* on 5–15 µm kokoinen aitotumainen solu eli eukaryootti. Sillä voi olla jopa neljä tumaa, mutta yleisimmin niitä on kaksi. Amebavärjätys PVA-näytteessä tumasta löytyy yleensä 5–8 kromatiinijyvistä tumakalvon läheltä. (Meri 2012, 5.) Trofotsoittia ympäröi ulkokalvo, jota se käyttää liikkumiseen. Se lisääntyy jakautumalla kahtia. (Meri ja Jokiranta 2011, 165.)

Meri ja Jokiranta (2011, 166) mukaan *Dientamoeba fragilis*-löydökset ovat lisääntyneet Suomessa huomattavasti vuodesta 2007 lähtien. Vuonna 2010 HUSLAB:ssa *Dientamoeba fragilis*-parasiitteja löydettiin 215 kappaletta, kun yleisimpänä pidettyä *Giardia lamblia* löydettiin 160 kappaletta. (Meri ja Jokiranta 2011, 166.)

Dientamoeba fragiliksen hoitoon käytetään ensisijaisesti paromomysiiniä. Muita käytettäviä lääkkeitä ovat doksisykliini, jodokinololi, metronidatsoli sekä seknidatsoli. (Meri 2012, 11.)

3.3 *Giardia lamblia*

Giardia lamblia on flagellaatti eli siimaeläin. Sitä esiintyy eniten trooppisilla- ja subtrooppisilla alueilla, mutta Suomessakin tartuntoja löytyy vuosittain. Tartunnan voi saada erityisesti pinta- tai jätevesistä, ja tällaisia epidemioita on aiheutunut Pohjoismaissakin, esimerkiksi Norjassa ja Suomessa. Ihmisen lisäksi *Giardia lamblia* on huomattu esiintyvän hiirissä, majavissa, koirissa, kissoissa, nau-doissa sekä lampaissa. (Siikamäki ym. 2010, 347.)

Giardia lamblian itämisaika tartunnan saamisesta oireiden alkamiseen on yleensä 1–3 viikkoa (Siikamäki ym. 2010, 348). Tartunnan oireet voivat olla kroonisia tai akuutteja. Kroonisia eli pitkäaikaisia oireita ovat esimerkiksi pehmeät, rasvamaiset ulosteet, vatsan turvotus sekä laihtuminen. Akuutissa taudissa yleisin oire on pari päivää kestävä ripuli, johon voi liittyä esimerkiksi pahoinvointia, ylävatskipuja sekä väsymystä. Toisinaan tartunta voi olla myös oireeton. (Siikamäki ym. 2002, 1238.) Tartunta voi aiheuttaa suolen limakalvon vaurioitumista, jolloin potilaalle voi syntyä keliakian tai laktoosi-intoleranssin kaltaisia ravinnon imeytymishäiriöitä (Björknäs, Markkula ja Mäkelä 1995, 3813). Tämän tyyppinen oireilu voi jatkua vielä useita viikkoja hoitojen jälkeenkin. Lisäksi giardian on huomattu aiheuttavan esimerkiksi urtikariaa, aftoja, artriittia, nivelkipuja sekä sappitietulehdusta. Lapsipotilaat oireilevat yleensä aikuisia voimakkaammin. (Siikamäki ym. 2010, 348.)

G. lamblia tarttuu kystien avulla niiden joutuessa ruoansulatuskanavaan (Siikamäki ym. 2002, 1238). Tavallisimmin kystat pääsevät ruoansulatuskanavaan ulosteella kontaminoidun veden mukana, mutta tartunta on mahdollinen myös ruoan mukana tai kosketustartuntana (Björknäs ym. 1995, 3813). Kystien tartuttava määrä on hyvin pieni, sillä jo 10–25 kystan nieleminen aiheuttaa tartunnan (Lounamo 2008, 4). Trofotsoiitit kuoriutuvat kystista päästyään pohjukaissuoleen. Kystat ovat hyvin kestäviä, oikeissa olosuhteissa ne saattavat elää jopa pari kuukautta. (Siikamäki ym. 2002, 1238.) Ne kestävät kylmyyttä sekä esimerkiksi veden desinfiointiaineena käytettävää klooria (Björknäs ym. 1995, 3813). Trofotsoiitit muuttuvat kystiksi ohutsuolen loppuosan sappinesteen ja maitohapon ansiosta (Lounamo 2008, 4). Niitä alkaa erittyä ulosteeseen 2–4 viikon kuluttua tartunnasta (Siikamäki ym. 2002, 1238).

Trofotsoiitit tarttuvat imulevyn avulla suolen seinämään ja ne lisääntyvät jakaantumalla (Siikamäki ym. 2010, 347). Trofotsoiitilla on neljä flagellaa eli siimaa, joiden avulla se hankkii ravintoa ja liikkuu (Meri 2014, 141).

G. lamblia voidaan todeta kystien löytymisellä ulosteen formaliininäytteestä. Kystat ovat pyöreitä tai ovaalinmuotoisia, yleensä 8–19 µm kokoisia. Niillä on neljä tumaa ja kystan jakaa kahtia aksoneema

eli pitkittäinen raita. Trofotsoitteja voidaan löytää pohjukaissuolinäytteistä. (Meri 2014, 141.) Trofotsoiitit ovat vesipisaran tai päärynän muotoisia, noin 10–20 µm pituisia ja noin 5–15 µm leveitä eliöitä. Niillä on kaksi tumaa, neljä flagellaparia sekä imulevy kiinnittymistä varten. (Siikamäki ym. 2010, 348.) Tumat ovat sijoittuneet trofotsoiitin etupäähän vierekkäin, jolloin tumat muistuttavat silmiä (Lounamo 2008, 4).

Giardiaasin hoitoon on olemassa useita lääkkeitä, kuten esimerkiksi tinidatsoli, metronidatsoli sekä kinakriini. Tinidatsolia saa Suomessa pelkästään erityisluvalla. On suositeltavaa ottaa kontrollinäytteitä kolmen viikon ja kahden kuukauden kuluttua hoidosta, sillä noin 5 %:lla tauti uusiutuu hoidon jälkeen. (Siikamäki ym. 2010, 348.)

3.4 *Cryptosporidium*-lajit

Cryptosporidium-sukuun kuuluu 19 lajia. Ihmisillä näistä tavataan useimmiten *Cryptosporidium parvum* tai *Cryptosporidium hominis*. (Meri 2014, 140.) *Cryptosporidium*-lajit ovat itiöeläimiin kuuluvia suolistoparasiitteja. Ihmisiä infektioivia lajeja tiedetään ainakin kahdeksan. (Jokiranta 2012, 3.) Monet eläimet voivat kantaa *Cryptosporidiumia*, kuten esimerkiksi nautakarja, siat, lampaat, jyräjät, kissat ja koirat (Kotilainen ja Lounamo 2009, 5). *C. parvum* aiheuttaa infektioita ihmisen lisäksi yli sadalle nisäkkäälle. Sen sijaan *C. hominis* aiheuttaa infektioita vain ihmisille. (Jokiranta 2012, 4.) *Cryptosporidiumia* esiintyy ympäri maailmaa (Siikamäki ym. 2010, 349). Ensimmäisen kerran *Cryptosporidium* löydettiin hiiren mahasta vuonna 1907, ja sen huomattiin aiheuttavan vatsatauti ihmiselle vuonna 1976 (Kotilainen ja Lounamo 2009, 9).

Useimmiten se aiheuttaa äkillistä, rajua ripulia varsinkin lapsilla sekä immuunipuutteisilla henkilöillä, joilla ripuli voi aiheuttaa lisäinfektioita esimerkiksi haimaan tai johtaa jopa kuolemaan. Ripulin lisäksi muita oireita voivat olla vatsakivut, pahoinvointi, ilmavaivat sekä kuume. (Siikamäki ym. 2010, 349.) Perusterveillä sen aiheuttama ripuli rauhoittuu yleensä itsestään (Meri 2014, 140). Tartunta voi olla myös oireeton (Kotilainen ja Lounamo 2009, 6).

Cryptosporidium tarttuu helposti uima- ja juomaveden välityksellä. Suomessa on aiheutunut yksi kryptosporidioosi-epidemia Kirkkonummella kylpylähotellissa vuonna 2012, jolloin sairastuneita todettiin noin 30. (Jokiranta 2012, 4.) Toistaiseksi maailmanlaajuisesti suurin kryptosporidioosiepidemia oli vuonna 1993 Yhdysvalloissa Milwaukeessa, jolloin yli 400 000 ihmistä sairastui juomaveden välityksellä. Noin sata sairastuneista kuoli. Epidemia sai alkunsa Milwaukeen toiselta vedenottamolta. (Kotilainen ja Lounamo 2009, 8.)

Cryptosporidium tarttuu myös ihmisen tai eläimen ulosteen kontaminoiman ruoan välityksellä ookystien avulla. Jokaisessa ookystassa on neljä sporotsoiittia. Kun ookysta pääsee suolistoon, se vapauttaa nämä sporotsoiitit, jotka menevät ohutsuolen limakalvon epiteelisoluihin. Siellä sporotsoiitti jakaantuu, kehittämällä kystamuodon, josta vapautuu edelleen merotsoiitteja, joista osasta kehittyy ulosteeseen erittyviä ookystia ja osa jatkaa muiden epiteelisolujen infektoimista. (Siikamäki ym. 2010, 349.) Ookystat ovat tietyissä olosuhteissa hyvin kestäviä. Ne esimerkiksi säilyvät jopa 18 kuukautta

elinkykyisinä kosteassa, märässä tai kylmässä elinympäristössä ja ne kestävät veden puhdistukseen käytettävää klooria. Sen sijaan ne eivät kestä kuivumista, auringon ultraviolettivaloa tai pastörintia. Lisäksi *Cryptosporidium* tuhoutuu mikroaaltouunissa 20 sekunnissa, mikäli uunissa saavutetaan 80 asteen lämpötila. Taudin itämisaika on noin 5–10 päivää. *Cryptosporidium* ei lisäännä elimistön ulkopuolella. (Kotilainen ja Lounamo 2009, 5-6, 9.)

Kryptosporidioosi todetaan ulosteen formaliininäytteestä ookystien osoituksella. Värjäyksenä voidaan käyttää modifioitua Ziehl-Neelsen-happo- tai jodivärjäystä. (Meri 2014, 141.) Ookystat ovat pyöreitä ja halkaisijaltaan ne ovat noin 4–6 µm leveitä (Forbes ym. 2002, 667). Ziehl-Neelsen-happovärjäyksessä ookystat värjäytyvät punaisen sävyin. Toteamiseen voidaan käyttää myös antigeeninosoitusta ulostenäytteestä. (Siikamäki ym. 2010, 349.)

Perusterveillä tauti usein paranee itsestään muutamassa päivässä (Kotilainen ja Lounamo 2009, 7). Mikäli näin ei kuitenkaan tapahdu, lääkahoitona voidaan käyttää nitatsoksanidia. Immuunipuutospotilaan kryptosporidioosin hoitaminen ei ole yhtä helppoa, mutta siihen voidaan käyttää nitatsoksanidia pidempänä kuurina tai paromysiiniä yksin tai atsitromysiinin kanssa. (Siikamäki ym. 2010, 350.) On todettu, että kerran taudin sairastaneella on osittainen suoja uutta tartuntaa vastaan (Kotilainen ja Lounamo 2009, 7).

4 MADOT SUOLISTOSSA

Madot voivat aiheuttaa ihmiselle infektiota suolessa tai kudoksissa (Jokiranta, Siikamäki ja Meri 2010, 382). Ainakin kolmanneksella maapallon ihmisistä on suolistomatoja, ja pahimmillaan useita matolajeja samanaikaisesti (Jokiranta ym. 2010, 382). Kudosmatoinfektiot ovat harvinaisempia, ja opinnäytetyössämme keskityimme yleisimpiin Suomessa tavattaviin suolistomatoihin sekä niiden aiheuttamiin infektioiden (taulukko 2). Vaikka kihomato onkin yleisin suolistomato Suomessa, emme käsittele sitä tässä opinnäytetyössä. Kihomatoa ei tutkita formaliiniulostenäytteestä, vaan diagnoosi tehdään useimmiten tikkunäytteestä, joka otetaan peräaukon ympäriltä. Näytteestä voi löytyä mato tai sen munia. (Lumio 2013a.)

Matojen aiheuttamat suolistoinfektiot ovat hyvin yleisiä ympäri maailmaa, mutta nykypäivänä Suomessa harvinaisempia. Infektioiden lisääntyminen on kuitenkin vaarana maahanmuuton sekä tropiikkiin matkustamisen yleistyessä. Kehitysmaissa ne aiheuttavat merkittävän tautikuorman. (Jokiranta ym. 2010, 382.) Koto

Ihmiselle infektiota aiheuttavat madot jaetaan imu-, sukkula- tai heisimatoihin (Siikamäki ym. 2002, 1240). Imumadot eli *Trematoda* tarttuvat ihmisiin väli-isäntien avulla. Ne ovat litteitä ja ne tarttuvat kiinni alustaansa kahden imukupin avulla. Ne liikkuvat aktiivisesti ja kohdehakuksisesti. Niiden elämän kiertokulku on usein hyvin monimutkainen ja ne tarvitsevat siihen usein 1–3 väli-isäntää. Sukkula-madot eli *Nematoda* ovat pitkiä ja ohuita, aktiivisesti liikkuvia matoja, jotka munivat runsaasti muna. Ne ovat maailman runsaslajisimpiin kuuluva eläinlahko. Ne eivät tarvitse väli-isäntää kiertokulussaan. Heisimadot eli *Cestoda* ovat alkeellisia matoja. Niillä on jaokkeita, joiden avulla ne liikkuvat melko vähän, joko kiemurtelemalla tai hyppimällä. Niiden kiertokulussa on usein vähintään yksi väli-isäntä. (Jokiranta ym. 2010, 384.) Lukuunottamatta *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis*, *Taenia solium* ja *Hymenolepis nana*, madot eivät tavallisesti tartu suoraan ihmisestä toiseen. Madot tarvitsevat välivaiheen joko maaperässä tai väli-isännässä. Lukuunottamatta *Strongyloides stercoralis*, madot eivät myöskään lisäänty väli-isännässä. Tartunta saadaan suun kautta tai kun mato lävistää ihon. (Siikamäki ym. 2002, 1240.)

TAULUKKO 2. Yleisimmät kotoperäisen tartunnan lähteet (Lumio 2014b).

Suomalainen nimi	Tieteellinen nimi	Todettujen infektioiden lkm vuosittain
Kihomato	<i>Enterobius vermicularis</i>	yli 5 000
Piiskamato	<i>Trichuris trichiura</i>	120
Leveä heisimato	<i>Diphyllobothrium latum</i>	yli 100
Suolinkainen	<i>Ascaris lumbricoides</i>	60

Matoinfektiot suolistossa ovat usein vähäoireisia tai oireettomia (Siikamäki 1994). Kuitenkin esimerkiksi kehityismaissa, jossa aliravitsemus on yleistä, suolistomadot aiheuttavat anemiaa, alentavat oppimiskykyä sekä hidastavat lasten kasvua ja kehitystä. Lisäksi taudeissa, joissa toukkamuoto vaeltaa suoliston ulkopuolisissa kudoksissa myös eosinofilia ja IgE-luokan vasta-aineiden lisääntyminen on tyypillistä. (Jokiranta ym. 2010, 384.)

Suoliston matoinfektiot hoidetaan yleensä korkeintaan viikon kestäväällä lääkekuurilla. Jotkut lääkkeet tehoavat myös kerta-annoksena. Kolmen viikon päästä lääkekuurista tulisi ottaa kontrollinäytteiksi 2–3 ulosteen parasiittinäytettä, jotta voidaan varmistua lääkkeen tehosta. Heisimatoinfektioissa on suositeltavaa ottaa lisäksi näytteet uudelleen kolmen kuukauden kuluttua. (Siikamäki ym. 2002, 1241.) Poikkeuksena tähän on piiskamatoinfektio eli trikuriaasi, jonka hoidon tehoa ei tarvitse varmistaa mikroskooppitutkimuksella (Lumio 2014b). Endemisillä alueilla on käytetty kerran vuodessa annettavaa matokuuria, jonka vaikutuksesta matoinfektiot ovat vähentyneet ja lasten kasvu ja kehitys sekä koulumenestys ovat parantuneet (Jokiranta ym. 2010, 384).

4.1 *Ascaris lumbricoides*

Ascaris lumbricoides eli suolinkainen kuuluu sukkulamatoihin. Sen aiheuttamaa infektiota kutsutaan askariaasiksi. Vuonna 2010 sen on arvioitu olevan yleisin matotauti maapallolla. Eniten sitä esiintyy trooppisilla alueilla, varsinkin lapsilla. WHO on arvioinut siihen kuolevan noin 60 000 ihmistä vuodessa. (Jokiranta ym. 2010, 389.)

Tartunta saadaan maaperässä kypsyneistä munista niiden joutuessa esimerkiksi salaatinlehtiin. Kun kontaminoituneet salaatinlehdet niellään, munat pääsevät suolistoon. (Suomen Kuntaliitto 2005, 86.) Vatsahapot ja suolen entsyymit hajottavat munan, josta vapautuu toukka. Toukka tunkeutuu suolen seinämän läpi verenkiertoon, josta se kiertää porttilaskimoa pitkin maksaan. Maksasta se kulkeutuu laskimokierron mukana sydämeen, josta se päättyy keuhkovaltimoita pitkin keuhkoalveoleihin. (Jokiranta ym. 2010, 389.) Keuhkoalveoleissa mato kehittyy, ja jatkaa edelleen matkaansa kohti nielua keuhkoputkia pitkin (Suomen Kuntaliitto 2005, 86). Nieluun päästyään mato niellään syljen mukana, jolloin se päättyy suolistoon. Suolistossa se kasvaa aikuiseksi, noin 15–35 cm pitkäksi, 0,2–0,6 cm leveäksi, vaalean kellertäväksi tai -punertavaksi madoksi. Jotta mato voi erittää munia, tulee suolessa olla sekä naaras- että urosmatoja. Munien erityys voi alkaa noin 2–3 kuukauden kuluttua tartunnasta. Ulosteen mukana munat päätyvät jälleen maaperään. (Jokiranta ym. 2010, 389.) Munista ei kuitenkaan synny uusia matoja suolistossa, vaan matoja voi saada lisää vain esimerkiksi syömällä uudestaan munilla infektioitunutta ruokaa. Mato elää suolistossa 1–2 vuotta, ja madon kuoltua infektio häviää. (Lumio 2014b.)

Suolinkaisen kiertokulku kestää pari viikkoa, jonka aikana potilaalle voi kehittyä astmankaltainen keuhkoreaktio, johon kuuluu yleensä hengenahdistusta sekä kuumetta. Tällöin röntgenkuvassa nähtäisiin nesteen aiheuttamia varjostumalaikkuja. Tämän jälkeen mato kulkeutuu suolistoon. (Lumio 2014b.) Suolessa ollessaan mato ei yleensä aiheuta oireita, mutta suurina määrinä esiintyessään

niitä voi ilmetä. Yleisimpiä oireita ovat vatsakipu, pahoinvointi sekä imeytymishäiriöt. (Siikamäki ym. 2002, 1241.) Pahimmillaan suolessa oleva mato voi aiheuttaa suolitukoksen. Ravinnokseen mato käyttää isännän sulattamaa ravintoa suolistossa. (Jokiranta ym. 2010, 389.) Askariaasille on yleistä eosinofilia sekä plasman kohonnut IgE-pitoisuus. Joskus mato voi eksyä normaailta reitiltään esimerkiksi sappiteihin, jossa se voi aiheuttaa esimerkiksi sappitietukoksen. (Siikamäki ym. 2002, 1241.) Suomessa vakavammat oireet ovat harvinaisia, sillä matoja on yleensä vähän (Lumio 2014b).

Diagnoosi tehdään parasiitin osoittamisella ulosteesta. Ulostesta voidaan löytää munia tai jopa aikuinen mato. Munien koot vaihtelevat, sillä ulosteesta voidaan löytää suojakuorellisia, suojakuoretomia tai hedelmöitymättömiä munia. Suojakuorikerroksinen muna on noin 55–75 µm pitkä ja 35–50 µm leveä. Mikäli munalla ei ole suojakerrosta, sitä kutsutaan dekortikoituneeksi. Hedelmöitymätön muna on noin 90 µm pitkä ja 45 µm leveä. (Jokiranta ym. 2010, 390.)

Myös naaras- ja koirasmadot voidaan erottaa toisistaan ulkonäön perusteella. Naaras on noin 15–35 cm pitkä ja 0,2–0,6 cm paksu. Molempien sukupuolien päät ovat suipot, mutta naaraalla häntä on suora. Koiras on 15–31 cm pitkä ja 0,2–0,4 cm paksu, mutta sen häntä on käyrä. (Jokiranta ym. 2010, 390.)

4.2 *Diphyllobothrium latum*

Diphyllobothrium latum, eli leveä heisimato tai lapamato, on jaokkeista koostuva, suolistossa loisiva mato (Suomen Kuntaliitto 2005, 87). Vielä 1940-luvulla se on ollut Suomessa yleinen, sillä raakaa kalaa syötiin enemmän. Nykyään niitä löydetään Suomessa noin 200 ihmiseltä vuodessa. Ihminen voi sairastua muistakin *Diphyllobothrium*-lajeista, kuten esimerkiksi usein Tyynen valtameren lohesta saatavasta *Diphyllobothrium nihonkaiensenista*. (Lumio 2013b.)

Tartunta saadaan yleisimmin kaloista, mädistä tai äyriäisistä, jotka elävät makeassa vedessä. Yleisimpiä matoja kantavia kaloja ovat ahven, made, kiiski ja hauki. (Lumio 2013b.) Parhaiten tartunta voidaan ehkäistä joko pakastamalla kala -18 °C:ssa vuorokauden ajan tai kypsentämällä täysin kypsäksi. Suolaaminen ei estä tartuntaa. (Jokiranta ym. 2010, 412.) Makeaan veteen päässeistä munista kehittyy toukan esiaste, jolla on värekarvat. Se hakeutuu pienen äyriäisen suolistoon, jossa se kasvaa. Kun kala syö infektoituneen äyriäisen, mato tunkeutuu seuraavaksi kalan lihaksistoon, jossa se jatkaa kasvamista ja kehittymistä. Ihminen saa tartunnan esimerkiksi raa'asta kalan lihasta. (Suomen Kuntaliitto 2005, 87–88.) Päästyään suolistoon mato kiinnittyy ohutsuolen limakalvolle väkästen avulla. Mato kehittyy aikuiseksi noin kuukaudessa ja voi kasvaa jopa 10 metrin pituiseksi. (Lumio 2013b.)

Heisimato aiheuttaa harvoin oireita, yleisimmin vatsakipuja ja pahoinvointia (Suomen Kuntaliitto 2005, 87–88). Mikäli matoja on runsaasti, voi ilmetä myös laihtumista. Mato vähentää B₁₂-vitamiinin imeytymistä suolessa ja voi näin aiheuttaa pernisiöösin anemiaa. Mato voi elää suolistossa jopa 25 vuotta. (Lumio 2013b.)

Diagnoosi tehdään ulostenäytteestä, josta osoitetaan madonmunia, joita heisimato erittää ulosteesseen runsaasti (Suomen Kuntaliitto 2005, 88). Ulostenäytteen konsentroinnista on huomattu olevan hyötyä tuoreiden tai niukkojen infektioiden havaitsemisessa. Munat ovat yleensä noin 58–75 µm x 40–50 µm kokoisia ja soikeita. Munan toisessa päässä on yleensä kohouma ja toisessa kannen ura. (Jokiranta ym. 2010, 411.) Heisimadolla on sekä koiraan että naaraan sukupuolielimet. Aikuinen *Diphyllobothrium latum* on 4–10 metriä pitkä ja noin 1 cm leveä nauha. Joskus ulosteeseen voi erittyä esimerkiksi osia madosta, joista voidaan myös tehdä diagnoosi. Madot palaset tulee lähettää laboratorioon tutkittavaksi vedessä tai keittosuolaliuoksessa. (Suomen Kuntaliitto 2005, 88.)

Heisimato hoidetaan yleensä niklosamidilla tai pratsikvantelilla. Ulostuslääkkeellä on hyvä varmistaa madon ulostulo. Hoidon toimivuutta voidaan arvioida löytämällä ulosteesta scolex, eli madon pää. Hoitoa pidetään onnistuneena sen löytyessä. Joskus sitä on kuitenkin vaikea havaita pienen kokonsa vuoksi, jolloin helpompaa on tutkia ulosteen madonmunat uudelleen noin kolmen kuukauden päästä hoidosta. (Jokiranta ym. 2010, 412.)

4.3 *Trichuris trichiura*

Trichuris trichiura eli piiskamato kuuluu sukkulamatoihin (Jokiranta ym. 2010, 391). Se on saanut nimensä ratsupiiskamaisesta muodostaan. Piiskamato on yleinen maailmalla, varsinkin subtrooppisissa, trooppisissa sekä köyhissä maissa. Kantajia on arveltu olevan noin 800 miljoonaa. Se on myös Suomessa toiseksi yleisin suolistomato löydös kihomadon jälkeen. Lähes kaikki Suomessa löydettyt infektiot ovat kuitenkin luultavasti peräisin ulkomailta. (Lumio 2014b.)

Tartunta saadaan yleensä maaperässä esiintyvistä tartuttamiskykyisistä munista, jotka joutuvat ruoan tai juoman mukana suolistoon (Lumio 2014b). Ohutsuoleen päästyään muna avautuu, jolloin I-asteen toukka vapautuu. Toukka kehittyy aikuiseksi paksusuoleessa, jossa se tunkee piiskamaisen etupäänsä suolen pintakerroksen sisään. (Jokiranta ym. 2010, 391.) Mato voi elää suolessa 1–3 vuotta. Madot eivät lisäänty suolistossa, vaan uusia matoja syntyy, mikäli isäntä syö uudelleen muna. (Lumio 2014b.) Ainakin osana piiskamadon ravintoa on isännän veri. Infektoitumisesta munien erittymisen alkamiseen kuluu noin kolme kuukautta. Kun munat pääsevät ulosteen mukana maaperään, ne tarvitsevat vielä muutaman viikon kehittyäkseen tartuttamiskykyisiksi. (Jokiranta ym. 2010, 391.)

Suurin osa tartunnansaaneista on oireettomia. Yleensä suolistossa tulee olla useita matoja ennen kuin oireita ilmenee. Oireita ovat vatsakivut, krooninen ripuli, anemia sekä fyysisen ja psyykkisen kehityksen hidastuminen. Lapsilla oireita esiintyy herkemmin. (Lumio 2014b.) Joskus peräsuolen esiinluiskahdus voi aiheutua tulehdusreaktion ja kudosturvotuksen myötä (Jokiranta ym. 2010, 391).

Diagnoosi tehdään madonmunien osoituksella ulostenäytteestä. Muna on 50–55 µm x 22–24 µm kokoinen. Sen päissä on usein vaaleammat nyykyt. Tunnistuksessa tulee olla tarkkana, sillä harvinaisen *Capillaria philippinensiksen* sekä *Capillaria hepatican* munat voivat olla samannäköisiä piis-

kamadon munien kanssa, tosin *C. philippinensiksen* munat ovat pienempiä ja *C. hepatican* suurempia. (Jokiranta ym. 2010, 391.) Usein piiskamato on sivulöydös etsittäessä jotain muuta taudinaiheuttajaa (Lumio 2014b).

Oireeton piiskamatoinfektio ei vaadi hoitoa. Mikäli hoito tarvitaan, siihen käytetään yleensä mebendatsolia. (Lumio 2014b.) Myös ivermektini tehoaa piiskamatoihin (Jokiranta ym. 2010, 391).

5 ULOSTEEN PARASIITTIEN TUTKIMUSPROSESSI

Ulosteen parasiittien perustutkimus on parasiittien osoitus ulosteesta (F-Para-O). Tutkimusta varten tarvitaan lähete. Lähetetiedoissa tulee mainita, onko asiakas käynyt ulkomailla muutaman viikon sisällä. Mikäli ulkomaanmatkoja on ollut, kohdemaata tulee mainita lähetteessä. (Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja 2016c.)

5.1 Näytteenotto

On suositeltavaa ottaa näytteitä vähintään kolmella eri ulostamiskerralla, sillä parasiitteja erittyy ulosteeseen ajoittain. Tällöin on todennäköisempää, että mahdollisia parasiitteja huomataan, jolloin vastaus on luotettavampi. Jokainen näyte laitetaan omaan purkkiinsa. (Matikainen ym. 2010, 107.) Todennäköisyys parasiittien löytymiseen yksittäisestä näytteestä on noin 50–60 %, kun kolmen peräkkäisen näytteen kohdalla se on jo yli 95 % (Versalovic, Carroll, Funke, Jorgensen, Landry ja Warronck 2011, 2066). Pitkittyneissä tautitiloissa näytteitä otetaan 6–10 kappaletta 3–4 viikon aikavälillä (Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja 2016c). Asiakasta kehoitetaan olemaan käyttämättä antibiootteja sekä laksatiiveja kahta viikkoa ennen näytteenottoa, sillä ne voivat vaikuttaa laboratoriotuloksiin (Matikainen ym. 2010, 107).

Ulostenäyte tulee ottaa puhtaaseen astiaan, kuten kertakäyttöastiaan tai kaarimaljaan. Näytettä ei tule ottaa WC-altaasta eikä siihen saa sekoittua virtsaa. Ulostenäyte tulee siirtää 10 % formaliniin sisältävään näytepurkkiin välittömästi näytteenoton jälkeen. Formaliini toimii säilöntäaineena, jolloin näyte säilyy analyysikelpoisena pitkään. (Matikainen ym. 2010, 107.)

Formaliini on myrkyllistä hengitettynä, nieltynä ja iholle joutuessaan ja voi aiheuttaa pysyviä vaurioita. Se on syövyttävää ja sen epäillään aiheuttavan syöpää. Formaliinille voi herkistyä sen joutuessa iholle. (HYKS Myrkytystietokeskus 2011, 1.) Siksi formaliniin tulisi käsitellä aina suojahansikkaat kädessä. Formaliinin joutuessa iholle iho tulee pestä runsaalla vedellä sekä miedolla saippualla. Mikäli formaliniin on joutunut vaatteille, ne tulee riisua ennen pesua. Pesun jälkeen iho rasvataan. Mikäli formaliniin päätyy silmiin, niitä tulee huuhdella vedellä 10–15 minuutin ajan ja tämän jälkeen tulee hakeutua lääkäriin pikimmiten. Mikäli formaliniin on nieltä, tulee juoda paljon vettä ja hakeutua heti lääkäriin. Formaliniin ei tule yrittää poistaa oksentamalla. (Matikainen ym. 2010, 107.)

Ulostenäyte sekoitetaan formaliniiniin huolellisesti, jolloin näytteestä tulee "vellimäistä". Formaliinin ja ulosteeseen sekoitussuhde vaihtelee ulosteeseen koostumuksen mukaisesti. Mikäli uloste on löysää tai nestemäistä, sekoitussuhde on 1 osa ulostetta + 2 osaa 10 % formaliniinia. Ulosteen ollessa kiinteää sekoitussuhde on 1 osa kiinteää ulostetta sekoitettuna 5 osaan 10 % formaliniinia. Näytteitä säilytetään jääkaapissa, mutta voidaan kuljettaa huoneenlämmössä. Näyte ei saa kuitenkaan jäätyä, sillä jotkin parasiitit voivat tuhoutua jäätyessään. (Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja 2016c.) Formaliininäytteestä madon munat ja alkueläinten kystat voidaan tutkia helposti ja halvalla. Näyte myös säilyy hyvin ja se on vaaraton. Sen herkkyys on kuitenkin vain kohtalainen, eikä siitä voida havaita alkueläinten trofotsoitteja. (Jokiranta 2012, 7.)

5.2 Näytteen konsentroidi

Parasiitteja tutkitaan formaliiniin sekoitetusta konsentroidusta ulostenäytteestä. Ulostenäytteen konsentroidi on tärkeää varsinkin, mikäli näytteeseen olisi sattunut tulemaan vain vähän parasiitteja. Konsentroidinnissa parasiitit "kerätään" mahdollisimman pieneen määrään näytettä ja pyritään poistamaan ylimääräisiä jätteitä näytteestä. Konsentroidinnin jälkeen näytteestä voidaan tutkia kystia, ookystia, munia sekä toukkia. Trofotsiitit eivät yleensä kestä konsentroidikäsittelyä. (Roberts ja Zeibig 2013, 22.)

Opinnäytetyössämme käytämme formaliini-etyyliasetatikkonsentroidintia. Se on yleisin käytetty konsentraatiomenetelmä, joka perustuu painovoimaan. (Roberts ja Zeibig 2013, 23.) Työssämme käytämme ParaPak® CON-Trate® -konsentroidintikittiä, jolla konsentroidi voidaan tehdä formaliiniinintetylle ulostenäytteelle (Meridian Bioscience Europe 2016).

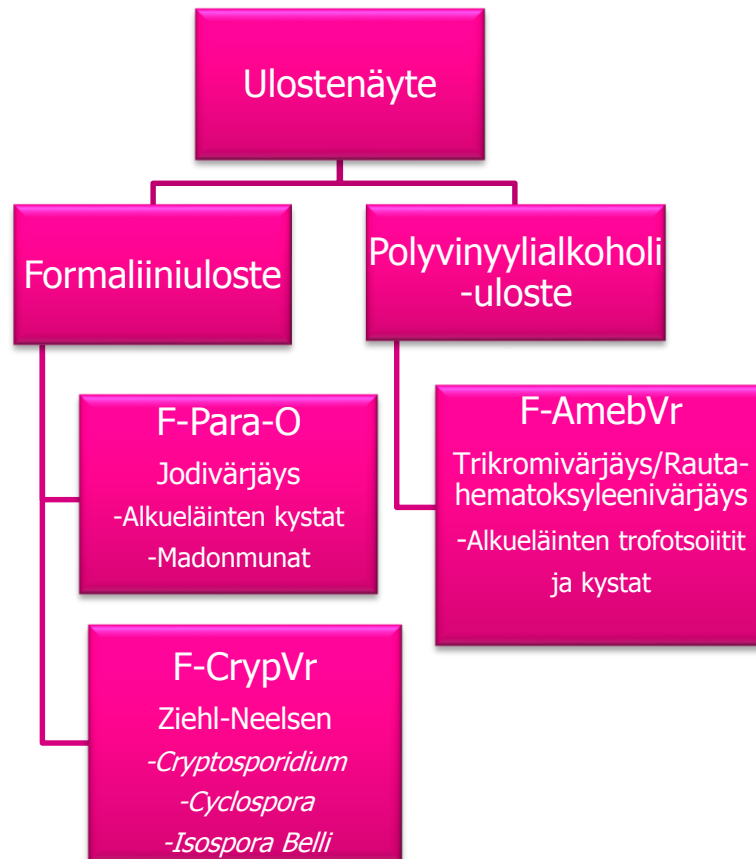
Konsentroidinnin aluksi formaliiniulostepurkkiin tiputetaan neljä tippaa erotusainetta eli A-reagenssia, jonka jälkeen purkki suljetaan ja sitä sekoitetaan ravistelemalla. Näytettä otetaan 3 millilitraa ja se laitetaan näyteputkeen filtterin läpi. Putkeen lisätään 10 millilitraa natriumkloridia, jonka jälkeen se sentrifugoidaan n. 2000 rpm 10 minuutin ajan. Sentrifugoinnin jälkeen putkesta poistetaan supernatantti, jolloin jäljelle jää vain putken pohjalle tiivistynyt sedimentti. Sedimentti resuspendoidaan yhdeksään millilitraan 10 % formaliinia. Seuraavaksi putkeen lisätään 3 millilitraa B-reagenssia eli etyyliasetattia. Putkea sekoitetaan ravistelemalla ja sitä sentrifugoidaan jälleen n. 2000 rpm 10 minuutin ajan. (Meridian Bioscience Europe 2016.)

Koska parasiitit ovat painavampia kuin neste, ne painuvat putken pohjalle. Ulosteessa oleva ylimääräinen sakka on yleensä parasiitteja kevyempää, joten sen jää putken yläosaan. (Roberts ja Zeibig 2013, 23.) Sentrifugoinnin jälkeen putkessa tulisi siis näkyä neljä kerrosta: pohjalla parasiitit sisältävä sedimentti ja sen päällä vesimäinen kerros, välissä ulostejäänteiden muodostama "tulppa" sekä ylin, etyyliasetattia sisältävä kerros. Putkesta halutaan käyttää vain pohjimmainen kerros, joten muut kerrokset voidaan poistaa hajottamalla "tulppa" ja pipetoimalla supernatantti pois. (Meridian Bioscience Europe 2016.) Sedimentti voidaan siirtää objektilasille ja se on valmis tarkasteltavaksi. Se voidaan joko värjätä tai sitä voidaan mikroskopoida natiivina (Versalovic ym. 2011, 2066).

Formaliini-etyyliasetatikkonsentroidinnin etuna on sen helppo suoritettavuus. Parasiitit myös säilyvät siinä yleensä hyvin. Näytteeseen pääsee kuitenkin aina lisäksi ulosteen ylimääräistä sakkaa, mikä tekee parasiittien tunnistamisesta ja mikroskopoinnista hankalampaa. (Roberts ja Zeibig 2013, 23.)

5.3 Värjäykset

Parasiittien tutkimiseksi ulosteesta voidaan näytteelle tehdä jodi-, krypto- tai amebavärjäys (kuva 1). F-Para-O -tutkimuksessa ulostenäytteet voidaan mikroskopoida konsentroidusta formaliininäytteestä natiivina tai jodilla värjättyinä. (Versalovic ym. 2011, 2066.) Formaliiniulosteelle voidaan tehdä myös kryptovärjäys (F-CrypVr). Amebavärjäystä (F-AmebVr) varten ulostenäyte tulee olla polyvinyylialkoholilla kestokiinnitetty (Mathur 2011, 9).



KUVA 1. Ulosteen parasiittinäytteiden värjäykset

5.3.1 Jodivärjäys

Jodivärjäys on rutiinivärjäys parasitologian tutkimuksissa. Sen avulla parasiittien kystat voidaan helposti erottaa leukosyyteistä, sillä kystat värjäytyvät jodilla vaaleanruskeiksi. (Versalovic ym. 2011, 2066.)

Jodivärjäyksen kantaliuos tulee laimentaa tislatulla vedellä suhteessa 1:5, jonka jälkeen se on valmista käytettäväksi. Liuosta tulee säilyttää tummassa astiassa valolta suojattuna. (Versalovic ym. 2011, 2066.) Kantaliuos on käyttökelpoista niin kauan, kun liuksen pohjalla näkyy jodikiteitä. (Roberts ja Zeibig 2013, 22).

Värjäys tehdään tiputtamalla yksi tippa jodiväriä objektilasille, johon lisätään pieni määrä ulostenäytettä. Tämän jälkeen väriä sekoitetaan ulosteeseen kunnes seos on homogeeninen. Jodi värjää ulosteen välittömästi. Objektilasin päälle asetetaan peitinlasi, jonka jälkeen näyte on valmis tarkasteltavaksi mikroskoopilla. Mikroskopointi on hyvä tehdä 100-kertaisella suurennoksella. (Versalovic ym. 2011, 2066.)

5.3.2 Kryptovärjäys

Cryptosporidiumin, sekä *Isospora Bellin* ja *Cyclosporan*, ookystien osoittamiseen ulosteesta voidaan käyttää cryptosporidiumvärjäystä (F-CrypVr). Indikaatio tutkimukselle on ripulitauti immunisuppressiopotilailla tai ulkomaanmatkan jälkeen. (Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja 2016b.) Opinnäytetyössämme käytämme cryptosporidiumvärjäykseen kryptovärjäystä eli Kinyon/Ziehl-Neelsen-värjäystä.

Cryptosporidium vaatii erikoisvärjäyksen, jossa värinpoistoa käytetään vähemmän kuin muissa haponkestovärjäyksissä. Väriaineina värjäyksessä käytetään karbolifuksiinia ja metyyliisiä. Värjäyksen tehostamiseksi voidaan käyttää näytteen lämmitystä. Lämmön lisäys Kinyon/Ziehl-Neelsen-värjäyksessä helpottaa karbolifuksiinin pääsyä organismien sisälle värjäten ne punaisiksi tai vaaleanpunaisiksi. (Versalovic ym. 2011, 2066.) Muu kuin haponkestävä aines, kuten hiivat, bakteerit ja sieni-itiöt värjäytyvät metyylinen vaikutuksesta siniseksi (Rekha, Puttalakshamma ja D'Souza 2016). Näin punertavaksi värjäytyvät ookystat saadaan paremmin esille taustasta (Niiranen 2012, 18).

Värjäys suoritetaan tiputtamalla 1–2 pisaraa näytettä objektilasille, jonka jälkeen näytteen annetaan kuivua. Näyte fiksoidaan absoluuttisella metanolilla minuutin ajan. Karbolifuksiinia lisätään lasille viideksi minuutiksi ja sitä voidaan lämmittää värjäyksen tehostamiseksi. Lämmitetty lasi jäähdytetään varovasti vedellä, jonka jälkeen se huuhdellaan 50 % etanolilla. Värinpoisto tehdään 1 % rikkihapoliuoksella kahden minuutin ajan, jonka jälkeen lasi huuhdellaan vedellä. Sen jälkeen lasia värjätään metyyliisinellä yhden minuutin ajan ja se huuhdellaan jälleen vedellä. Värjätty näyte ilmakuivataan, jonka jälkeen se on valmis mikroskoitavaksi. (Versalovic ym. 2011, 2066–2067.)

Mikäli toistuvista ulosteen formaliininäytteistä ei ole F-Para-O- ja F-CrypVr -tutkimuksissa löytynyt epäiltyjä alkueläimen kystia ja potilaan oireet jatkuvat, voidaan ulostenäytteestä tehdä Giardia- ja Cryptosporidium -antigeenitutkimus (F-GiCrAg). Tutkimuksella havaitaan F-Para-O -tutkimusta herkemmin *Giardia* ja *Cryptosporidium*, mutta sillä ei pystytä havaitsemaan mm. *E. histolytica*, *D. fragilista* eikä matoinfektioiden aiheuttajia. Sen sijaan *E. histolytica* voidaan erottaa samannäköisestä, apatogeenisestä *E. disparista* antigeeniosoituksella. Antigeeniosoitustutkimuksissa ulostenäytteen antigeenejä määritetään mikrokuoppalevyllä entsyymi-immunomenetelmällä (EIA). (Huslab tutkimusohjekirja 2016c.)

5.3.3 Amebavärjäys

Dientamoeba fragiliksen tutkimisessa voidaan käyttää amebavärjäystä (F-AmebVr), kun potilaalla on voimakasta ja jatkuvaa ripulia, eikä F-Para-O-tutkimuksessa näytteestä ole löydetty amebaa. (Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja 2016a.) Ulosteen lisäksi amebavärjäys voidaan tehdä myös kudospalasta, aspiraatio- tai kauanäytteestä. Tällöin näytteestä etsitään *D. fragiliksen* vegetatiivisia trofotsoiitteja. (Huslab tutkimusohjekirja 2016b.)

Amebavärjäykseen käytetään PVA-näytettä eli polyvinyylialkoholilla, esim. EcoFix®, kestokiinnitettyä ulostenäytettä. *D. fragiliksen* trofotsoittimuodot ovat herkkiä ympäristön muutoksille: ne hajoavat nopeasti myös formaliinissa, mutta säilyvät kestokiinnitteen avulla. (Mathur 2011, 9.) EcoFix®-kiinnite on helposti syttyvää, ärsyttävää ja ympäristölle vaarallista, sillä se sisältää polyvinyylialkoholia ja sinkkisulfaattia. Ulostenäyte kiinnitetään sekoittamalla noin 1 millilitra ulostetta 5–10 millilitraan EcoFix®-kiinnitettä. (Huslab tutkimusohjekirja 2016b.) Näytteen tulisi kiinnittyä vähintään 30 minuuttia ennen objektilasille prosessoimista (Mathur 2011, 9).

Ennen prosessointia kiinnitetty ulostenäyte tulee sekoittaa hyvin. Sen jälkeen näytettä otetaan pipetillä yksi pisara objektilasille ja levitetään se sille toisen objektilasin avulla. Kun näyte on levinnyt koko lasille, se viivoitetaan. Viivoittaminen tapahtuu toisen objektilasin avulla, jolloin lasille saadaan muodostumaan eri vahvuisia näytealueita. Lasin annetaan kuivua huoneenlämmössä vähintään kahden tunnin ajan ennen sen värjäämistä. Yleisimmin käytetyt värjäykset ovat trikromivärjäys sekä rauta-hematoksyleenivärjäys. (Mathur 2011, 9-10.)

Ennen trikromi- tai rauta-hematoksyleenivärjäystä lasille voidaan tehdä jodi-alkoholikäsittely. Se poistaa näytteestä kiinnitteen mukana tulleen elohopeakloridin korvaamalla sen jodilla ja sitä seuraavan alkoholisarjan tehtävänä on poistaa näytteestä jodi ennen trikromivärjäystä. Usein käytetty EcoFix®-kiinnite sisältää vain vähän elohopeakloridia, jolloin jodi-alkoholikäsittelyä ei tarvitse tehdä. (Mathur 2011, 10.) Jodi-alkoholikäsittelyssä lasit laitetaan ensin 70 % etanoliin 5 minuutin ajaksi. Etanolikäsittelyn jälkeen laseja käytetään 70 % jodi-alkoholiliuoksessa 5 minuutin ajan, jonka jälkeen ne laitetaan uudestaan 70 % etanoliin 5 minuutiksi. (Mathur 2011, Liite 2.) Jodi-alkoholikäsittelyn jälkeen värjäystä jatketaan normaalisti (Versalovic ym. 2011, 2067–2068).

Trikromivärjäys on helppo värjäys, jolla saadaan tasaisesti värjättyä alkueläimet, hiivat, ihmisen solut ja artefakta. Trikromi värjää alkueläinten sytoplasman näytteen pH:sta riippuen yleensä sinivihreäksi, joskus jopa hieman punertavaksi. Alkueläinten kystat värjäytyvät usein punertaviksi. Värjäyksessä käytettävän nousevan happoalkoholisarjan tehtävä on poistaa lasilta ylimääräinen väri, huuhdella laseja ja lopuksi poistaa objektilaseilta vesi. (Mathur 2011, 10–11.)

Trikromivärjäyksessä prosessoidut näytelasit laitetaan 70 % etanoliin 5 minuutiksi, jonka jälkeen ne siirretään trikromiväriin 10 minuutiksi. Väriin jälkeen lasit huuhdellaan nopeasti, 1–3 sekunnin ajan 90 % etanolissa, jossa on etikkahappoa. Laseja käytetään nopeasti useita kertoja absoluuttisessa etanolissa ja jätetään sen jälkeen absoluuttiseen etanoliin kahdesti 3 minuutiksi (3 min + 3 min).

Lopuksi lasit viedään kaksi kertaa ksyleeniin 5–10 minuutiksi (5–10 min + 5–10 min). Lasit peitetään peitinlaseilla ja kuivataan joko tunnin ajan +37 °C lämpötilassa tai yön yli huoneenlämmössä. Kuivauksen jälkeen lasit ovat valmiita mikroskopoitaviksi. (Versalovic ym. 2011, 2068.)

Toinen mahdollinen värjäys on rauta-hematoksyleenivärjäys. Siinä alkueläinten trofotsoiitit värjäytyvät siniharmaiksi, joskus jopa lähes mustiksi. Tausta värjäytyy vaalean harmaaksi tai sinertäväksi. (Mathur 2011, 10–11.)

Prosessoidut näytelasit laitetaan ensiksi 70 % etanoliin 5 minuutiksi, jonka jälkeen lasia huuhdellaan juoksevan veden alla 10 minuutin ajan. Huuhtelun jälkeen lasi asetetaan rauta-hematoksyliini-käyttöliuokseen 5 minuutiksi. Laseja huuhdellaan jälleen juoksevan veden alla 10 minuutin ajan. Lopuksi lasit viedään nousevan alkoholisarjan läpi: ensin 70 % etanoli (5 min), 95 % etanoli (5 min) 100 % etanoli (5 min + 5 min) ja lopuksi ksyleeni (5 min + 5 min). Näyte peitetään peitinlasilla, jonka jälkeen se on valmis mikroskopoitavaksi. (Versalovic ym. 2011, 2067.)

Tutkimuksella voidaan löytää myös *Entamoeba histolytica*, mutta sitä ei pystytä erottamaan nonpatogeenisestä *Entamoeba disparista*. Siksi *E. histolytica*n tutkimiseen suositellaan pääsääntöisesti antigeeniosoitusmenetelmää (F-EHistAg), jossa nonpatogeenistä *E. disparia* ei havaita. Jos potilas kärsii vesiripulista, on suositeltavaa tehdä myös formaliininäytteestä tehtävä cryptosporidiumvärjäys (F-CrypVr). (Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja 2016a.)

5.4 Mikroskopointi

Ulosteen parasiitteja osoittaessa mikroskoopilla F-Para-O-tutkimuksessa näytettä tulee mikroskopoida sekä 100- että 400-kertaisilla suurennoksilla riittävän kattavasti ja kauan (Jokiranta 2012, 7).

Jodivärjätyn näytteen mikroskopoinnin haasteena madonmunadiagnostiikassa on yksittäisen madonmunan löytäminen muun näytteessä olevan aineksen seasta. Madonmunan tunnistus on yleensä varsin helppoa, kun apuna on tunnistusmateriaalia. Alkueläinten kystien mikroskopoinnissa haasteena on taas kystien tunnistus, ei niinkään niiden löytäminen näytteestä. Kystien erottaminen toisistaan voi olla hankalaa ja kystat sekoitetaan helposti näytteessä olevaan hiivaan tai roskiin. (Jokiranta 2012, 7.)

Trikromi- tai rauta-hematoksyleenivärjäyksen jälkeen amebavärjättyjä laseja mikroskopoidaan valomikroskoopilla ensin 100-kertaisella suurennoksella yleisilmeen näkemiseksi. Sen jälkeen laseja tarkastellaan immersioöljyobjektiveilla 500- ja 1000-kertaisella suurennoksilla. Jokaiselta lasilta tulee tutkia noin 300 näkökenttää. Alkueläinten kystien ja trofotsoiittien lisäksi laseilta voi nähdä puna- ja valkosoluja, eosinofiilejä, hiivoja, siitepölyä, kuitua tai kasvien siemeniä. (Mathur 2011, 11.)

5.5 Hygienia

Ulostenäytteen tutkimisessa hyvään hygieniaan tulee kiinnittää huomiota. Työskentely tapahtuu aina vetokaapissa niin, että vetokaapin etummainen lasi on vedetty mahdollisimman alas. Työntekijän tulee käyttää suojakäsineitä. Työskentely kahdet käsineet päällekkäin voi olla helpompaa, kun ulomaiset voi niiden likaantuessa heittää roskiin ja käsillä on silti vielä suojaa. Myös hihansuojia voi käyttää halutessaan.

Formaliiniulostenäytteet tulee säilyttää jääkaapissa, joka on ainoastaan ulostenäytteille tarkoitettu. Jätteet tulee lajitella ongelma- ja tartuntavaarallisiin jätteisiin ja hävittää asianmukaisesti. Formaliinia, jodia, ksyleeniä, etyyliasetaattia ja metanolia sisältävät liuokset tulee kerätä erilleen ja toimittaa hävitettäväksi, eikä niitä saa kaataa viemäriin. Samoin fenolia sisältävä fuksiiniväri tulee kerätä talteen ja hävittää asianmukaisesti. Rikkihappojäte voidaan neutraloida emäksisellä substanssilla, jonka jälkeen se voidaan kaataa viemäriin. Trikromivärjäyksessä objektilasien käsittelyyn tarvittava jodi-alkoholiliuos voidaan myös neutraloinnin jälkeen kaataa viemäriin. (Meri 2000, 117–122.)

6 HYVÄ TYÖOHJE

Hyvä kirjallinen ohje on sisällöltään, kieleltään ja ulkoasultaan yhtenäinen kokonaisuus (Nissi 2009a), joka on ymmärrettävä, helppolukuinen ja helposti käytettävä. Heti ohjeen alussa on hyvä selvittää, mitä asiaa työohje käsittelee. Selkeiden ohjeiden tulisi erottua asiaa perustelevalta aineksesta ja tärkeimpiä asioita tekstistä olisi hyvä korostaa. On tärkeää, että asiat esitetään ohjeessa johdonmukaisessa järjestyksessä: sisältöä voi jäsentää otsikoilla ja väliotsikoilla, jotka helpottavat lukemista. (Nissi 2009b.) Havainnollisuutta lisäävät erilaiset kuvat, taulukot ja kaaviot sekä kappalejain jäsenneily teksti (Nissi 2009c).

Ohjetta laatiessa on hyvä kiinnittää huomiota kohderyhmään ja miettiä, millainen ohje on juuri saajan kannalta hyvä (Nissi 2009b). Lukukokemukseen vaikuttavat lukijan omat aiemmat tiedot sekä kokemukset aiheesta (Nissi 2009a), joka on hyvä muistaa työohjetta tehdessä. Työohjeen käyttötarkoitus ja sisältö tulee ottaa huomioon tekstiosuuksia kirjoittaessa, jotta tekstin kieli sopisi ohjeen tyyliin. Työohjeessa käytettävä kieli on hyvä valita myös kohderyhmän mukaan, lukijoiden ikä ja aikaisempi tietämys huomioon ottaen. (Airaksinen 2009, 22.) Työohjeen käyttäjien erilaiset oppimistyyli on hyvä huomioida ja tehdä näin ohjeesta mahdollisimman monenlaisista oppijaa hyödyttävä.

Oppimistyyli on tapa ottaa vastaan, prosessoida ja palauttaa mieleen informaatiota. Oppimistyyliä voidaan jakaa aistien mukaan auditiiviseen, visuaaliseen ja kinesteettiseen oppimistyyliin. (Jyväskylän yliopiston kielikeskus 2016.) Auditiivinen oppimistyyli eli kuuntelemalla oppija muistaa parhaiten luentoja ja muita puhuttuja esityksiä (University of Eastern Finland). Tiedon prosessointi ääneen itselleen, pienryhmässä tai luokkakeskusteluissa sopii auditiiviselle oppijalle. Visuaalinen oppimistyyli eli näkemällä oppija muistaa parhaiten erilaisia kuvia, videoita ja kaavioita. Visuaaliselle oppijalle hiljaa lukeminen voi tuottaa parempaa tulosta kuin kuunteleminen. (Jyväskylän yliopiston kielikeskus 2016.) Kinesteettinen oppimistyyli eli liikunnallinen oppija oppii parhaiten, kun saa samalla liikkua mukana tai testata asioita liikkumalla. Usein kinesteettiseksi oppijaksi mielletään myös taktiilinen oppija eli kokemusaistien avulla oppiva. (University of Eastern Finland.) Taktiiliselle oppijalla oppiminen on helpompaa käsillä tekemisen kautta, kuten kirjoittamalla ja piirtämällä (Jyväskylän yliopiston kielikeskus 2016).

Oppijat voidaan jakaa oppimistyylin perusteella myös aktiivisiin osallistujiin, käytännön toteuttajiin, loogisiin ajattelijoihin sekä harkitseviin tarkkailijoihin. Aktiivinen osallistuja oppii saadessaan haastavia tehtäviä ja projektitöitä, kun taas käytännön toteuttaja seuraa muiden työtä ja harjoittelee ja tekee sitten itse. Looginen ajattelijana oppii teorioiden ja käsitteiden kautta tutkimalla ja päättellessä tilanteissa, joissa on mahdollista kysellä ja kokeilla. Harkitseva tarkkailija oppii parhaiten itseopiskellessa, jolloin asioita on mahdollista seurata ja analysoida sivusta. (University of Eastern Finland.)

7 TYÖN TARKOITUS JA TAVOITE

Tarkoituksenamme on tuottaa bioanalyytikko-opiskelijoille ajankohtainen tietopaketti parasiittien tutkimisesta, jota voidaan hyödyntää kliinisen parasitologian opintojaksoilla Savonia-ammattikorkeakoulussa sekä itsenäisen opiskelun tukena. Internetjulkaisun lisäksi tulostamme työohjeita laboratorioluokkiin kaikkien käytettäväksi. Koimme itse parasitologian harjoitustunneilla tarvetta työohjeelle, jossa kerrottaisiin tutkimuksen suoritus vaiheittain ja esiteltäisiin erilaisia löydöksiä ulostenäytteestä, joihin omia löydöksiä mikroskoopissa voisi verrata.

Työohjeen on tarkoitus auttaa opiskelijoita ymmärtämään tutkimuksen kulku vaihe vaiheelta ja helpottaa kertaamaan jo aikaisemmin opittuja asioita. Pyrimme tekemään ohjeesta mahdollisimman selkeän ja helppolukuisen, jotta sitä olisi hyvä käyttää harjoitustöiden ohessa. Pyrimme siihen, että lukemalla työohjetta opiskelija pystyisi suorittamaan tutkimuksen myös itsenäisesti ja toivomme, että ohjeemme auttaa näin uusia opiskelijoita ja on osaltaan apuna myös opettajalle opetustilanteissa.

Tavoitteenamme on edistää ja tukea bioanalyytikko-opiskelijoiden osaamista ja oppimista kliinisen parasitologian opintojaksolla työohjeen (Liite 1.) avulla, luoden samalla tietopohjaa syventävää harjoittelua varten. Samalla kehitämme kliinisen parasitologian opintojakson sisältöä.

8 TYÖN TOTEUTUS

Aiheen opinnäytetyöllemme saimme Savonia-ammattikorkeakoulun esittämästä tarpeesta kyseiselle työohjeelle. Aiheesta olisi mahdollista tehdä hyvinkin laaja työ, mutta päädyimme rajaamaan aihetta ensin suolistoparasiitteihin ja myöhemmin vielä yleisimpiin Suomessa esiintyviin parasiitteihin sekä niiden tutkimiseen. Tutkimisen osalta opinnäytetyöhömmme valikoitui F-Para-O -tutkimuksen lisäksi jodi-, krypto- ja amebavärjäys, joista tuotokseemme valitsimme tehtäviksi jodivärjäyksen lisäksi myös kryptovärjäyksen.

8.1 Toiminnallinen opinnäytetyö

Opinnäytetyömme on toiminnallinen opinnäytetyö, joka tuotoksena on työohje parasiittien tutkimiseen ja tunnistamiseen Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille parasitologian kurssille oppimisen tueksi. Toiminnallinen opinnäytetyö on yksi ammattikorkeakoulun opinnäytetyön muoto (Airaksinen 2009, 6). Toimeksiantajana opinnäytetyölle toimii Savonia-ammattikorkeakoulu.

Toiminnallinen opinnäytetyö on kehittämistyö, jonka tavoitteena on esimerkiksi käytännön toiminnan kehittäminen ja ohjeistaminen. Toiminnallisen opinnäytetyön voi toteuttaa esimerkiksi laatimalla oppaan tai kirjan. Se koostuu toiminnallisesta osuudesta eli produktista sekä opinnäytetyöraportista. Toiminnallisen opinnäytetyön tuotoksen tulee perustua teoreettiseen tietoon. Opinnäytetyön tuotoksen toteutustapa valitaan kohderyhmän mukaan: tavoitteena on, että tuotoksella päästään viestinnällisin ja visuaalisin keinoin tavoiteltuun päämäärään. (Lumme, Leinonen, Leino, Falenius ja Sundqvist 2006.) Opinnäytetyöraportissa tulee näkyä opinnäytetyöprosessin dokumentointi ja arviointi tutkimusviestinnän keinoin (Airaksinen 2009, 10).

Opinnäytetyössä tekstin tulee olla teoreettiseen tietoon perustuvaa, hyvin perusteltua ja koulutusalan näkökulmat huomioivaa. Opinnäytetyöraportissa olisi hyvä näkyä opinnäytetyön lähtökohdat, merkitys, tarkoitus ja tavoitteet, teoreettinen viitekehys ja käytettävät menetelmät, tuotoksen valmistaminen sekä pohdinta ja arviointi. (Airaksinen 2009, 18–20.)

8.2 Työohje opinnäytetyön tuotoksena

Tuotosta varten kuvasimme ulostenäytteen konsentroidin, jodivärjäyksen ja kryptovärjäyksen koulun mikrobiologian laboratorioluokassa keväällä 2016. Koululle tilattiin tarvittavat välineet ja reagenssit työtämme varten. Kuvasimme työvaiheet itse omalla kameralla. Lisäksi koululle tilattiin Labquality Oy:ltä ulostenäytteitä, joissa tiedettiin olevan haluttuja parasiitteja. Näin saimme kuvattua opinnäytetyössämme käsiteltäviä parasiitteja työohjetta varten nopeasti ja helposti. Labquality Oy:n näytteet värjättiin jodilla, jonka jälkeen pystyimme mikroskopoimaan ne. Kuvasimme löydöksiä omalla kameralla mikroskoopin okulaarien läpi.

Aiheesta haimme tietoa internetistä suomeksi sekä englanniksi. Tarkistimme aina lähteistä niiden kirjoittajan, julkaisuvuoden ja -paikan, jonka perusteella valitsimme lähteet käytettäviksi. Aineistoa

keräsimme internetin lisäksi alan suomen- ja englanninkielisestä kirjallisuudesta. Käytimme apunamme informaattikkoa lähteiden luotettavuuden takaamiseksi. Savonia-ammattikorkeakoulun kirjaston lisäksi haimme teoksia myös Oulun yliopiston lääketieteen kirjastosta.

Kokosimme keväällä 2016 työohjeemme ensimmäisen osan eli konsentroidiohjeen. Toimitimme tämän alustavan ohjeen tarkasteltavaksi bioanalyttikko-opiskelijoille, joilla oli mikrobiologian ja parasitologian kurssi menossa. Laitoimme mukaan myös paperiset palautekyselyt, joiden avulla arvioimme alustavan työohjeen hyödyllisyyttä, selkeyttä sekä rakennetta. Saimme opiskelijoilta hyviä parannusehdotuksia. Muokkasimme työohjettame näiden palautteiden avulla mm. merkkamalla ohjeita myös kuviin sanallisten ohjeiden lisäksi. Syksyllä 2016 jatkoimme loppujen ohjeiden tekoa konsentroidiohjeesta saamiemme palautteiden pohjalta.

Suunnittelimme aluksi tekevämme yhden suuren ohjeen, jossa olisi kerrottu kaikki näytteen konsentroidinnista jodivärjäyksen, krypto- ja amebavärjäyksen kautta mikroskopointiin. Päätimme kuitenkin jakaa ohjeen useammaksi pieneksi ohjeeksi, jotta työohjetta voisi käyttää helpommin myös osissa silloin, kun tarkoituksena ei ole tehdä koko prosessia alusta loppuun. Jaoimme ohjeen viiteen pienempään osaan: konsentroidintiin, jodivärjäykseen, krypto- ja amebavärjäykseen sekä mikroskopointiin. Uskomme, että näin saimme ohjeesta selkeämmän ja helppolukuisemman. Nyt tekemästämme Ulosteen parasiittien tutkiminen -työohjeesta löytyy siis viisi osiota oikeassa työjärjestyksessään.

Työohjeessamme (Liite 1.) ohjeistamme työn vaiheet kuvien ja tekstin avulla. Koska kohderyhmäämme ovat bioanalytiikan opiskelijat, olemme käyttäneet tekstissämme myös alan sanastoa. Mielestämme teksti on siitä huolimatta helppolukuista ja että kuvat lisäävät sen ymmärrettävyyttä. Kuvien avulla havainnollistetaan, millaiselta näytteen tulisi prosessin eri vaiheissa näyttää. Kuvien lisäksi tekstissä numeroidut työvaiheet käydään läpi kohta kohdalta. Konsentroidiohjeen alussa on lueteltu myös tarvittavat työvälineet. Mielestämme värjäyksissä työn voi tehdä välineiden puolesta monella tapaa, joten emme luetelleet käyttämiämme välineitä värjäysohjeisiin. Itse värjäsimme vain yhden lasin kerrallaan, mutta harjoitustunnilla värjättäviä laseja on todennäköisesti useampi. Myös tämä vaikuttaa tarvittaviin välineisiin.

9 POHDINTA

Valitsimme opinnäytetyöksemme kyseisen aiheen sen kiinnostavuuden ja hyödyllisyyden takia. Koululla ei myöskään ole ollut aikaisempaa työohjetta bioanalyttikko-opiskelijoiden käyttöön esimerkiksi harjoitustunneille. Lisäksi saamme itse opinnäytetyöstämme sekä tekemästämme työohjeesta hyödyllistä tietoa työelämään.

Valitsimme opinnäytetyössämme käsiteltävät parasiitit niiden yleisyyden perusteella Suomessa. Alkuperäisestä suunnitelmasta poiketen emme valitettavasti pystyneet itse mikroskopoimaan ja kuvaamaan työohjetta varten *Dientamoeba fragilista*, sillä sen saaminen Labquality Oy:ltä ei ollut mahdollista. Rajasimme käsiteltävien parasiittien määrää myös niiden tutkittavuuden mukaan: päätimme esimerkiksi olla tekemättä trikromivärjäystä, sillä se on erikoisempi värjäys, jota tehdään Suomen laboratorioista vain HUSLAB:ssa. Tällöin aiheestamme olisi tullut liian laaja ja yksityiskohtiin pureutuva, kun nyt annamme bioanalyttikko-opiskelijoille mielestämme sopivan kokoisen tietopaketin Suomessa esiintyvistä parasiiteista sekä niiden tutkimisesta.

Päädyimme tekemään toiminnallisen opinnäytetyön, jonka tuotoksena on kirjallinen työohje. Aluksi pohdimme toteutustapaa posterin ja ohjelehtisen välillä, mutta päädyimme lopulta ohjelehtiseen sen helppokäyttöisyyden vuoksi. Ohjelehtisen muodossa oleva kirjallinen työohje on helppo ottaa lähettyville töitä tehdessä ja selattavaksi mikroskoppoinnin yhteydessä.

9.1 Eettisyys ja luotettavuus

Yhteiskunnassa terveydenhuollon etiikan ja arvoperustan muodostumista mahdollisimman korkeatasoiseksi pyritään edistämään mm. lainsäädännön, erilaisten strategisten kannanottojen sekä kansallisten ohjelmien avulla. Lähes jokaisella koulutetulla terveydenhuollon ammattiryhmällä on myös ammattikunnan eettinen ohjeistus. (Repo, Hupli, Salminen, Suhonen ja Leino-Kilpi 2014, 2.) Tällaisen ohjeistuksen on laatinut Suomen Bioanalyttikkoliitto. Bioanalyttikkoliiton kirjaamiin ohjeisiin sisältyvät bioanalyttikon/laboratoriohoitajan velvollisuudet ammattikunnalle, johon kuuluvat mm. ammatin luottamuksen ja arvostuksen ylläpito, koulutuksen kehitys sekä asiantuntija-avun antaminen (Suomen Bioanalyttikkoliitto 2006).

Ammatillinen koulutus on myös yksi keino välittää tietoa ammatin eettisestä perustasta tuleville ammattilaisille. Savonia-ammattikorkeakoulussa bioanalytiikan tutkinto-ohjelmassa eettinen osaaminen on yksi kompetenssialueista eurooppalaisen tutkintojen ja osaamisen viitekehyksen (EQF) mukaisesti. Koulutuksen aikana hankittu osaaminen vastaa viitekehyksen mukaisia osaamisen tasokuvauksia. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2016b.)

Opinnäytetyötä tehdessä eettisyys näkyy kriittisenä asenteena saatavilla olevia tietolähteitä ja valilla olevia käytäntöjä kohtaan. Se merkitsee tapaa, jolla opinnäytetyön tekijät suhtautuvat työhön ja sen tekemiseen. Eettisillä ratkaisuilla pyritään mm. vuorovaikutuksen tasa-arvoisuuteen ja oikeuden-

mukaisuuden korostamiseen. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2016a.) Työohjeessa sekä tässä opin-
näytetyöraportissa olemme pyrkineet käyttämään ajankohtaista ja luotettavaa tietoa. Tiedonhaussa
saimme apua kirjaston informaattikolta ja huomasimme, että tietoa parasiiteista on kaiken kaikkiaan
vielä yllättävän vähän. Emme pystyneet juurikaan käyttämään esimerkiksi ulkomaalaisia tiedeartik-
keleita lähteenämme, sillä niitä ei juuri löytynyt tai löytynyt materiaali meni aiheemme ohi. Löy-
simme paljon samojen kirjoittajien tekstejä eri vuosilta, jolloin käytimme uusimpia julkaisuja, jotta
tieto olisi mahdollisimman ajankohtaista. Huomasimme löytämiemme tietojen olevan luotettavia, sillä
sama tieto löytyi useammasta eri lähteestä.

Aiheemme tuli Savonia-ammattikorkeakoulun tarpeesta kyseiselle työohjeelle, josta mielestämme on
hyötyä koululle jatkossa. Aihe rajattiin siten, että opinnäytetyössä pystyttiin keskittymään Suomessa
tavattaviin, merkityksellisiin suolistoparasiitteihin, joista bioanalyttikko-opiskelijoiden olisi hyvä op-
pia. Ennen työn aloitusta varmistimme opinnäytetyömme tilaajalta, eli Savonia-ammattikorkeakou-
lulta, olemmeko samaa mieltä siitä, mitkä ovat yleisimmät suolistoparasiitit ja halutaanko työohjeen
käsittelevän niitä. Työohjetta varten halusimme toteuttaa ensin koko tutkimusprosessin itse, jotta
voimme osoittaa kokoamamme teoriaiedon todeksi ja kertoa näin luotettavasti, kuinka tutkimus ta-
pahtuu. Olemme ottaneet itse opinnäytetyöhömmme kuvia Labquality Oy:ltä saamistamme uloste-
näytteistä. Näistä kuvista ei tule mitenkään ilmi, kenen näytteet ovat. Itsekään emme tiedä näyttei-
den alkuperää, vaan olemme käsitelleet näytteitä numeroiden avulla. Koko opinnäytetyöprosessin
ajan olemme toimineet huolellisesti ja tarkasti, jotta tämä opinnäytetyö olisi luotettava.

9.2 Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu

Olemme opinnäytetyötä tehdessämme saaneet paljon sellaista lisätietoa parasitologiasta, jota opis-
keluaikana ei normaalisti ehtisi saamaan. Olemme päässeet perehtymään ulostenäytteiden tutkimi-
seen, erilaisiin värjäyksiin ja ennen kaikkea hyvin tarkasti Suomessa yleisimmin esiintyviin parasiittei-
hin. Mielestämme opinnäytetyöstä saamamme tietotaito on erityislaatuista ja uskomme, että tämän
opinnäytetyön tekemisestä on tulevaisuudessa hyötyä meille työelämässä. Maahanmuuton lisäänty-
essä tulevat parasiitti-infektiot myös lisääntymään ja alan tietämystä tullaan todennäköisesti tulevai-
suudessa tarvitsemaan. Parasitologian tietämys on mikrobiologian alallakin erityisosaamista, jota
kaikki eivät hallitse.

Työtä tehdessä olemme joutuneet vertailemaan eri menetelmiä, esimerkiksi erilaisia värjäyksiä, ja
etsimään niistä kaikista luotettavimmat ja ajankohtaisimmat. Tietojen vertailu eri lähteistä on opet-
tanut meitä tarkastelemaan kriittisesti saatavilla olevaa tietoa.

Työskentely yhdessä on toiminut kohdallamme erittäin hyvin. Työn tekeminen yhdessä on opettanut
meitä myös ryhmätyöskentelystä ja tehtävien jakamisesta. Olemme saaneet jaettua tehtävät tasa-
puolisesti ja aikataulumme ovat sopineet hyvin yhteen.

9.3 Hyödynnettävyys ja jatkokehitysmahdollisuudet

Joistakin parasiiteista tiedetään vielä vähän, joten uutta tietoa sekä uusia tutkimusmenetelmiä tulee varmasti tulevaisuudessa. Jotta työohjeemme pysyisi ajan tasalla, halusimme antaa Savonia-ammattikorkeakoululle oikeuden muokata ja päivittää työohjetta. Näin sen sisältämä tieto pysyy myös luotettavana.

Opinnäytetyötämme pystyisi jatkokehittämään ja laajentamaan tekemällä kuvallisen työohjeen myös amebavärjäyksestä, minkä tässä opinnäytetyössä kävimme läpi vain teoriassa. Kyseinen värjäys on tosin jo erityisosaamista, mutta voisi olla hyödyllinen lisä työohjeeseen. Myös mikroskopointiosuutta voisi laajentaa koskemaan useampia parasiitteja ja niiden eri muotoja. Parasitologian opintojaksolle voisi suunnitella myös harjoitustunnit jodivärjäyksestä ja ulostenäytteen mikroskopoinnista.

LÄHTEET

- AIRAKSINEN, Tiina 2009. Toiminnallisen opinnäytetyön kirjoittaminen. Toiminnallinen opinnäytetyö tekstinä [verkkojulkaisu]. [Viitattu: 2016-04-20] Saatavissa: <http://www.slideshare.net/TiinaMarjatta/toiminnallinen-opinnytety-tekstin>
- AZIZ, Hassan ja ZEIBIG, Elizabeth 2013. The amebas. Julkaisussa: ZEIBIG, Elizabeth 2013. Clinical Parasitology. 2. painos. Elsevier Inc, 48.
- BJÖRKNÄS, Hans, MARKKULA, Henrik ja MÄKELÄ, Rauli 1995. Giardiaasi varteenotettava mutta harvinainen suolistoinfektio Suomessa. Julkaisussa: Suomen lääkärilehti - Finlands läkartning vol. 50 no. 35, 3813–3814.
- FORBES, Betty, SAHM, Daniel ja WEISSFELD, Alice 2002. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11. Painos. St. Louis: Mosby, 652.
- GRAETER, Linda ja ZEIBIG, Elizabeth 2013. The flagellates. Julkaisussa: ZEIBIG, Elizabeth 2013. Clinical Parasitology. 2. painos. Elsevier Inc, 89.
- HUSLAB TUTKIMUSOHJEKIRJA 2016a. Entamoeba histolytica -antigeeni ulosteesta. [Viitattu: 2016-09-14] Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/8533.html>
- HUSLAB TUTKIMUSOHJEKIRJA 2016b. Ameeba, värjäys. [Viitattu: 2016-03-17.] Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/4088.html>
- HUSLAB TUTKIMUSOHJEKIRJA 2016:c. Giardia/Cryptosporidium, antigeenit ulosteesta. [Viitattu: 2016-03-23.] Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/17748.html>
- HYKS MYRKYTYSTIETOKESKUS, 2011. Käyttöturvallisuustiedote, formaliini. [Viitattu 2016-02-26.] Saatavissa: <http://www.schetelig.com/documents/12427/353950/FORMALIINI%2030-4%20UN%202209.pdf>
- IMMUUNIPUUTOSPOTILAIEN YHDISTYS RY 2016. [Viitattu 2016-02-10.] Saatavissa: <http://www.immuunipuutospotilaidenyhdistys.fi/>
- ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN WEB-OHJEKIRJA 2016a. Ameeba, värjäys. [Viitattu 2016-03-15.] Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islahohje/labohje.csp?indeksi=3768>
- ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN WEB-OHJEKIRJA 2016b. Cryptosporidium, värjäys ulosteesta. [Viitattu 2016-03-15.] Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islahohje/labohje.csp?indeksi=1687>

ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN WEB-OHJEKIRJA 2016c. Parasiitit, ulosteesta. [Viitattu 2016-02-26.] Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp?indeksi=733>

JOKIRANTA, Sakari 2012. Malariadiagnostiikka ja ameebojen toteaminen – tunnistusseminaari. Labquality-päivät. Helsingin yliopisto. Yhtyneet Medix laboratoriot Oy. [Viitattu: 2016-03-21.] Saatavissa: http://www.labquality.fi/@Bin/2306909/LQ_tunnistusseminaari_20120210.pdf

JOKIRANTA, Sakari 2012. Parasitologia [verkkojulkaisu]. Helsingin yliopisto. [Viitattu 2016-03-16.] Saatavissa: http://dspace2.lib.helsinki.fi:8082/dikk/bitstream/handle/2455/138298/L3_muut_alkuelaimet_20121112m.pdf?sequence=1

JOKIRANTA, Sakari, SIIKAMÄKI, Heli ja MERI, Seppo 2010. Madot. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2010. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 382–417.

JOKIRANTA, Sakari ja MERI, Seppo 2010. Mikä tekee parasiitista patogeenin? Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2010. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 334-337.

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTON KIELIKESKUS 2016. Oppimistyylit [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2016-02-11.] Saatavissa: <https://kielikompassi.jyu.fi/opioppimaan/oppimistyylit.htm>

KOTILAINEN, Hannele ja LOUNAMO, Kari 2009. Cryptosporidium. Julkaisussa: Takiainen 2, Tartuntatautiliitto Ry, 4-9.

LOUNAMO, Kari 2008. Giardia Suomessa. Julkaisussa: Takiainen 3, Tartuntatautiliitto Ry, 4-8.

LUMIO, Jukka 2013a. Kihomato [verkkojulkaisu]. Lääkärikirja Duodecim. [Viitattu 2016-09-14.] Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00427

LUMIO, Jukka 2013b. Heisimadot, lapamato, ekinokokkoosi [verkkojulkaisu]. Lääkärikirja Duodecim. [Viitattu 2015-12-08.] Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00627

LUMIO, Jukka 2014a. Alkueläinten aiheuttamat suolistoinfektiot (Giardia, Entamoeba histolytica, Cryptosporidium) [verkkojulkaisu]. Lääkärikirja Duodecim. [Viitattu 2016-02-11.] Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_osio=&p_artikkeli=dlk01172

LUMIO, Jukka 2014b. Piiskamato ja suolinkainen [verkkojulkaisu]. Lääkärikirja Duodecim. [Viitattu 2016-03-18.] Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk01165

LUMME, Riitta, LEINONEN, Rauni, LEINO, Mia, FALENIUS, Mia ja SUNDQVIST, Leena 2006. Moni-
muotoinen/toiminnallinen opinnäytetyö. VirtuaaliAMK. [Viitattu: 2015-12-14.] Saatavissa:

<http://www2.amk.fi/digma.fi/www.amk.fi/opintojak-sot/030906/1113558655385/1154602577913/1154670359399/1154756862024.html>

MATHUR, Heli 2011. Dientamoeba fragilis -alkueläinten ameebavärjäys formaliini kiinnitetystä uloste-
näytteestä, Huslab parasitologian yksikkö. Metropolia ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö, 9-11, Liite
2. [Viitattu: 2016-03-17.] Saatavissa: https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/35678/Mathur_Heli.pdf?sequence=1

MATIKAINEN, Anna-Mari, MIETTINEN, Marja ja WASSTRÖM, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja.
Helsinki: Edita Prima Oy, 106.

MERI, Taru 2014. Alkueläimet elintarvikeväliaineiden epidemioiden aiheuttajina. Julkaisussa: MOODI
4.-5. Labquality Oy, 140–142.

MERI, Taru 2012. Dientamoeba fragilis-suolistoparasiitti [verkkójulkaisu]. Helsingin yliopisto. [Viitattu
2015-11-10.] Saatavissa: http://www.labquality.fi/@Bin/2306906/Dientamoeba_Labquality2012.pdf

MERI, Taru 2007. Suoliston ameebat ja niiden mikroskopiadiagnostiikka. Julkaisussa: MOODI 4,
Labquality Oy, 153–159.

MERI, Taru 2000. Värjäysmenetelmät parasitologisessa diagnostiikassa. Julkaisussa: MOODI 4-5,
Labquality Oy, 116-124.

MERI, Taru ja JOKIRANTA, Sakari 2011. Onko Dientamoeba fragilis yleisin Suomessa tavattava pato-
geeninen suolistoparasiitti? Julkaisussa: MOODI 5. Labquality Oy, 165–166.

MERI, Taru ja LAVIKAINEN, Antti 2012. Perä pörisee – bongaa parasiitti [verkkójulkaisu]. Lääketie-
tellinen aikakauskirja Duodecim. [Viitattu 2016-03-15.] Saatavissa: http://www.duodecim-lehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_action=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&viewType=viewArticle&tunnus=duo10364

MERIDIAN BIOSCIENCE EUROPE 2016. ParaPak® CON-Trate® Stool Concentration Kit System. Pak-
kausseloste. [Viitattu: 2016-04-06.] Saatavissa: http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/PackInsert/8.50%20x%2011_ENGLISH%20ONLY_SN10650%20Para-Pak%20Con-Trate%20PI_REV%2007-14%20Clean.pdf

NIIRANEN, Kati 2012. Cryptosporidium-alkueläimen diagnostiikka ja esiintyminen vasikoilla. Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma. Helsingin yliopisto. [Viitattu: 2015-03-31.] Saatavissa: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/34997/NiiranenKati.pdf?sequence=1>

NISSI, Ulla 2009a. Mistä lukijan lukukokemus muodostuu? [verkkoaineisto] VirtuaaliAMK. [Viitattu: 2016-09-12.] Saatavissa: <http://www2.amk.fi/digma.fi/eetu/www.amk.fi/opintojak-sot/030905/1116425173436/1117079857643/1117089079959/1117089196613.html>

NISSI, Ulla 2009b. Mitä ohjeen laatijan pitää ottaa huomioon? [verkkoaineisto] VirtuaaliAMK. [Viitattu 2016-02-11.] Saatavissa: <http://www2.amk.fi/digma.fi/eetu/www.amk.fi/opintojak-sot/030905/1116425173436/1117079857643/1117089079959/1117094587251.html>

NISSI, Ulla 2009c. Milloin ohje on lukijan kannalta helppokäyttöinen? [verkkoaineisto] VirtuaaliAMK. [Viitattu: 2016-09-12.] Saatavissa: <http://www2.amk.fi/digma.fi/eetu/www.amk.fi/opintojak-sot/030905/1116425173436/1117079889682/1117096445579/1117097997493.html>

REKHA, K. M. H., PUTTALAKSHMAMMA, G. C. ja D'SOUZA, Placid E. 2016. Comparison of different diagnostic techniques for the detection of cryptosporidiosis in bovines [verkkójulkaisu]. Veterinary World. [Viitattu: 2016-09-08.] Saatavissa: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.9/February-2016/18.pdf>

REPO, Hanna, HUPLI, Maija, SALMINEN, Leena, SUHONEN, Riitta ja LEINO-KILPI Helena 2014. Eettisiä kysymyksiä hoitotyössä ja terveydenhuollossa - katsaus hoitotieteellisiin opinnäytetutkimuksiin Turun yliopistossa. Turun yliopisto. Hoitotieteen laitoksen julkaisuja, tutkimuksia ja raportteja. Sarja A70. Turku: Juvenes Print, 2.

ROBERTS, Lauren ja ZEIBIG, Elizabeth 2013. Specimen collection and processing. Julkaisussa: ZEIBIG, Elizabeth 2013. Clinical Parasitology. 2. painos. Elsevier Inc, 22-23.

SAVONIA-AMMATTIKORKEAKOULU 2016a. Opinnäytetyön eettisyys ja luotettavuus. [Viitattu: 2016-09-27.] Saatavissa: <https://reppu.savonia.fi/opinnaytetyo/amkutkinnot/Sivut/eettisyys-ja-luotettavuus.aspx>

SAVONIA-AMMATTIKORKEAKOULU 2016b. Opetussuunnitelmat. TB13S, Bioanalytiikan koulutusohjelma. Osaamistavoitteet. [Viitattu 2016-09-27.] Saatavissa: <http://portal.savonia.fi/amk/fi/opiskelijalle/opetussuunnitelmat?yks=KS&krtid=87&tab=2>

SIIKAMÄKI, Heli 1994. Suoliston parasiittitautien hoito [verkkójulkaisu]. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim. [Viitattu 2016-03-17.] Saatavissa: http://duodecimlehti.fi/web/guest/artisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&viewType=viewArticle&tunnus=duo40295&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_auth=

SIIKAMÄKI, Heli, KYRÖNSEPPÄ, Hannu ja JOKIRANTA, Sakari 2002. Suoliston parasiitti-infektiot. Duodecim [digilehti] 118, 1235-47. [Viitattu 2015-10-15.] Saatavissa: <http://www.terveyskirjasto.fi/xmedia/duo/duo93006.pdf>

SIIKAMÄKI, Heli, JOKIRANTA, Sakari ja MERI, Seppo 2010. Alkueläimet. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2010. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 337-381.

SUOMEN BIOANALYYTIKKOLIITTO RY 2006. Bioanalyytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. [Viitattu: 2016-09-27.] Saatavissa: [http://www.bioanalyyttikoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+\(1\).pdf](http://www.bioanalyyttikoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+(1).pdf)

SUOMEN BIOANALYYTIKKOLIITTO RY 2016. Kliininen mikrobiologia. [Viitattu: 2016-03-13.] Saatavissa: http://www.bioanalyyttikoliitto.fi/bioanalyytikon_ammatti/erikoisalat/kliininen_mikrobiologia/

SUOMEN KUNTALIITTO 2005. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. painos. Jyväskylä: Gummerus kirjapaino Oy, 83, 85-88.

TERVEYDEN JA HYVINVOINNIN LAITOS 2016. Tartuntatautirekisterin tilastotietokanta, raportointiryhmät vuosittain. [Viitattu 2016-03-29.] Saatavissa: [https://sampo.thl.fi/sampo_prod/cgi-bin/cognos.cgi?b_action=powerPlayService&ui.action=run&TARGET=%2Fcontent%2Ffolder\[%40name%3D%27amor_prod%27\]%2Ffolder\[%40name%3D%27ttr%27\]%2Fpackage\[%40name%3D%27amor_ttr_yleis_kaikkirr_fi_prod%27\]](https://sampo.thl.fi/sampo_prod/cgi-bin/cognos.cgi?b_action=powerPlayService&ui.action=run&TARGET=%2Fcontent%2Ffolder[%40name%3D%27amor_prod%27]%2Ffolder[%40name%3D%27ttr%27]%2Fpackage[%40name%3D%27amor_ttr_yleis_kaikkirr_fi_prod%27])

TIILIKAINEN, Anja, VAARA, Matti ja VAHERI, Antti 1997. Lääketieteellinen mikrobiologia. 8. painos. Kustannus Oy Duodecim, Helsinki.

TIETEEN TERMIPANKKI 2013. Kochin postulaatit. [Viitattu 2016-03-15.] Saatavissa: http://tieteen-termipankki.fi/wiki/Mikrobiologia:Kochin_postulaatit

VERSALOVIC, James, CARROLL, Karen C., FUNKE, Guido, JORGENSEN, James H., LANDRY, Marie Loïuse ja WARNOCK, David W. 2011. Manual of Clinical Microbiology, Volume 2. 10. painos. ASM Press. Washington, DC, 2066-68.

UNIVERSITY OF EASTERN FINLAND. Tunnistatko oppimistyyliisi? [verkköjulkaisu] Koulutus ja kehittämispalvelu Aducate. [Viitattu 2016-02-11.] Saatavissa: <https://www.uef.fi/web/aducate/oppimistyyliit>

ULOSTEEN PARASIITTIE TUTKIMINEN

F-Para-O

F-CrypVr

F-AmebVr

Työohje bioanalyttikko-opiskelijoille



Titta Tuhkanen ja Henna Karhunen TB13S

SISÄLLYSLUETTELO

Saatteeksi.....	3
1. Ulostenäytteen konsentroidi.....	4
2. Jodivärjäys.....	12
3. Kryptovärjäys.....	15
4. Amebavärjäys teoriassa.....	19
5. Mikroskopointi ja tunnistaminen.....	21
5.1 Alkueläimet.....	22
5.2 Madot.....	24
Lähteet.....	27

SAATTEEKSI

Tämä työohje on tehty opinnäytetyönä Savonia-ammattikorkeakoululle ja se on suunnattu bioanalyttikko-opiskelijoiden käyttöön parasitologian opintojaksolle. Työohjeen tarkoituksena on ohjeistaa ulosteen parasiittien tutkimusprosessi kohta kohdalta aina näytteen konsentroinnista sen mikroskopointiin ja näytteestä mahdollisesti löytyvien parasiittien tunnistukseen.

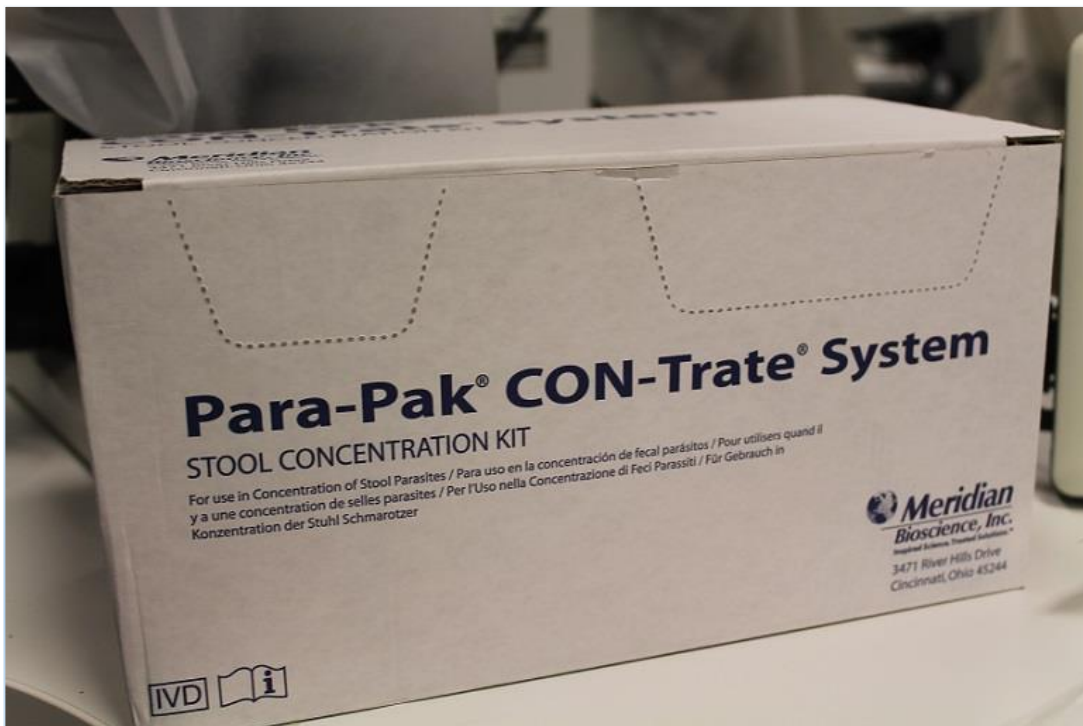
Parasiittien tutkiminen ulosteesta (F-Para-O) sisältää ulostenäytteen konsentroidin ja näytteen jodivärjäyksen. Niiden lisäksi olemme käyneet tässä työohjeessa läpi ulostenäytteen kryptovärjäyksen (F-CrypVr). Harvinaisempi ulostenäytteen amebavärjäys (F-AmebVr) esivalmisteluineen on ohjeessa käyty läpi vain teoriassa.

Tunnistusosio sisältää alkueläimistä *Entamoeba histolytica* ja *Giardia lamblia* sekä madoista *Ascaris lumbricoideksen*, *Diphyllobothrium latumin* ja *Trichuris trichiuran*. Koska *Dientamoeba fragilixen* trofotsoitteja eikä *Cryptosporidiumia* pystytään havaitsemaan jodivärjäyksellä, jätimme ne pois parasiittien tunnistusosiosta.

Kaikki ohjeessa käytetyt kuvat ovat itse ottamiamme tai piirtämiämme.

1. ULOSTENÄYTTEEN KONSENTOINTI

Formaliini-etyyliasetattikonsentraatio ParaPak® CON-Trate® -ulosteen konsentrintiki-
tillä formaliinikiinnitetyille ulostenäytteille



Parasiitteja tutkitaan formaliiniin sekoitetusta konsentroidusta ulostenäytteestä. Ulostenäytteen konsentroidi on tärkeää varsinkin, mikäli näytteeseen olisi sattunut tulemaan vain vähän parasiitteja. Konsentroidinnissa parasiitit “kerätään” mahdollisimman pieneen määrään näytettä ja samalla pyritään poistamaan näytteestä ylimääräistä jätettä. Konsentroidinnan jälkeen näytteestä voidaan tutkia parasiittien kystia, oookystia, munia sekä toukkia. Parasiittien trofotsoittimuodot eivät yleensä kestä konsentroidinkäsittelyä.



KONSENTOINTIIN TARVITTAVAT VÄLINEET:

- koeputket
- koeputkien korkit
- filterit
- CON-Trate Reagenssi A
- CON-Trate Reagenssi B
- natriumkloridia (0,9 %)
- 10 % formaliiniin kiinnitetty ulostenäyte
- puisia vanutikkuja

Työ tulee tehdä vetokaapissa suojahansikkaita käyttäen. Formaliinijätettä ei saa kaataa viemäriin, vaan se tulee kerätä erilleen ja toimittaa hävitettäväksi. Formaliiniin kiinnitetty ulostenäyte tulee hävittää asianmukaisesti ongelmajätteen mukana. Työskentelyn jälkeen vetokaappi ja muut käytetyt pinnat on hyvä puhdistaa alkoholilla.

1. Lisää 4 tippaa CON-Trate Reagenssi A:ta formaliiniulostenäytteeseen.
Mikäli näyte on hyvin limainen, reagenssia voi lisätä kahdeksaan tippaan asti.



2. Laita näytepurkin kansi tiiviisti kiinni ja ravista näytettä, jotta sisältö sekoittuu hyvin.

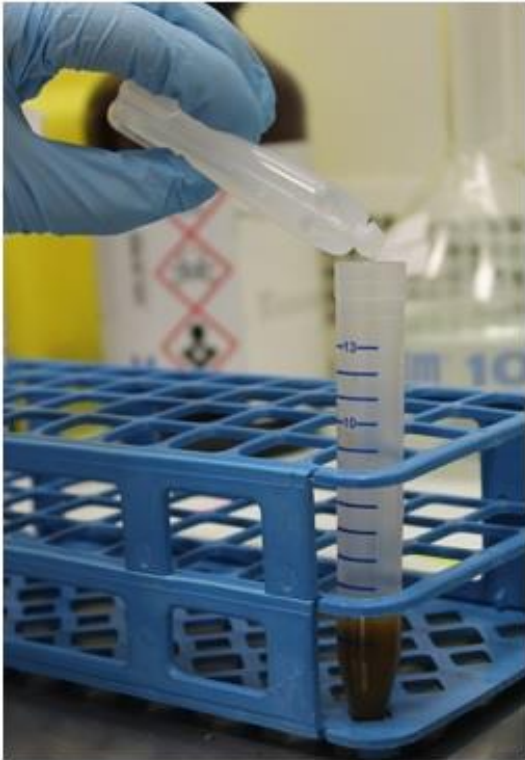
3. Aseta CON-Trate filteri sentrifugointiputken päälle.

4. Kaada 3 ml näytettä filterin läpi putkeen. Mikäli näyte on laihaa, sitä voi laittaa enemmän.

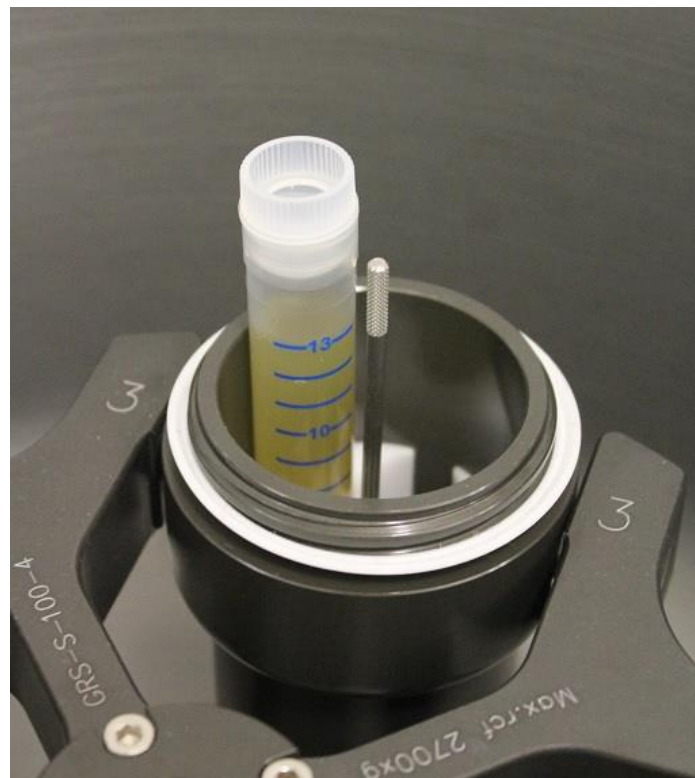


7 (27)

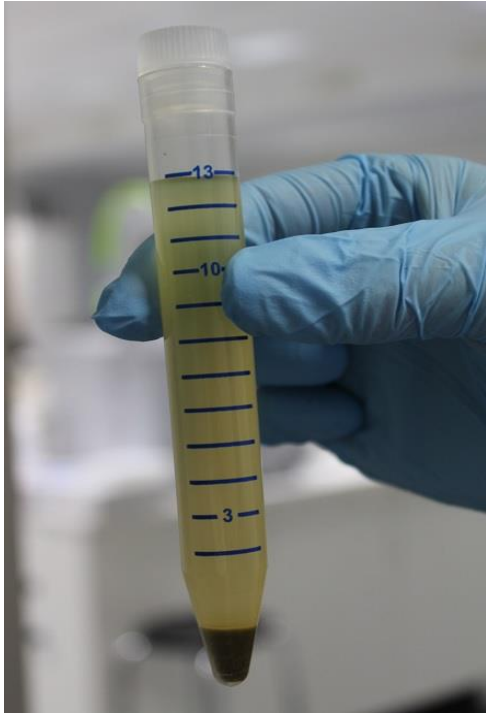
5. Poista filttteri putken päältä ja lisää näytteeseen 10 ml natriumkloridia. Laita korkki kiinni.



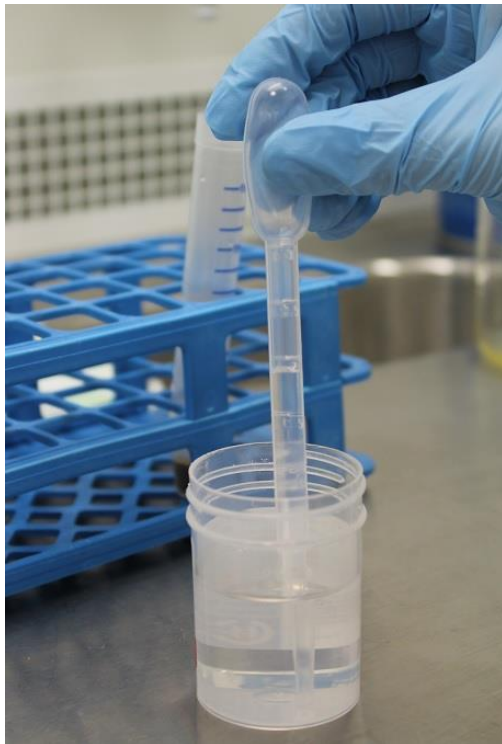
6. Sentrifugoi näytettä 10 minuuttia 1800–2200 rpm.



7. Sentrifugoinnin jälkeen poista supernatanttiliuos sedimentin päältä, jolloin putkeen jää vain sedimentti.

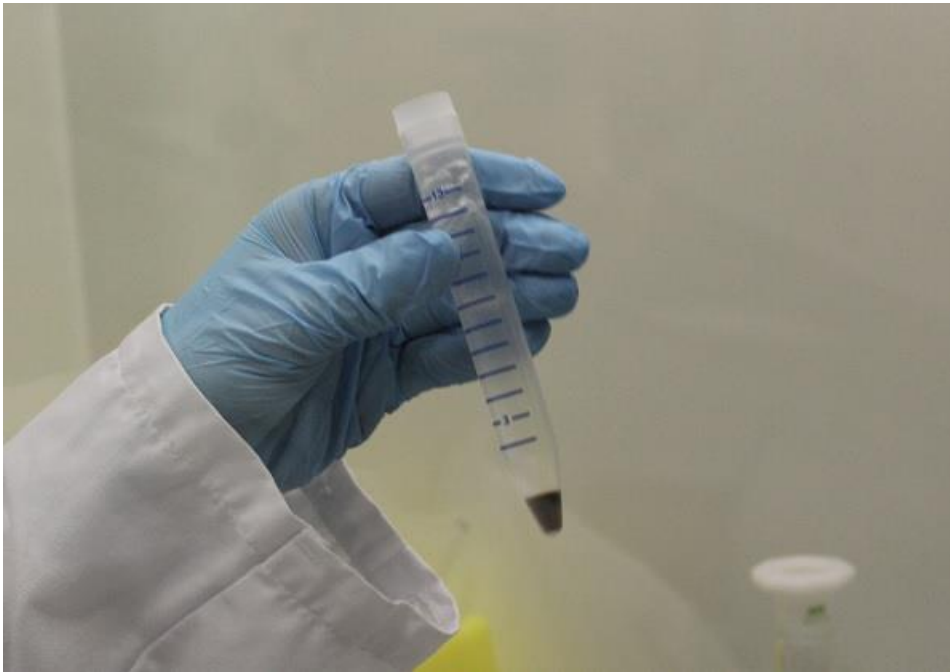


8. Resuspensoi sedimentti 9 ml:aan 10 % formaliinia ja lisää noin 3 ml CON-Trace Reagenssi B:tä

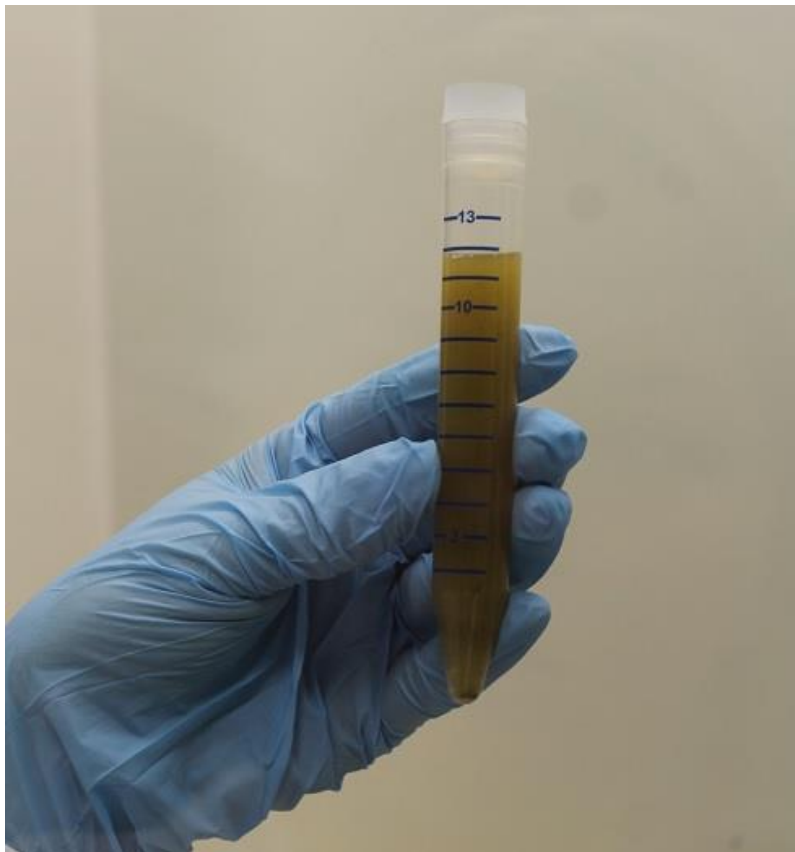


9 (27)

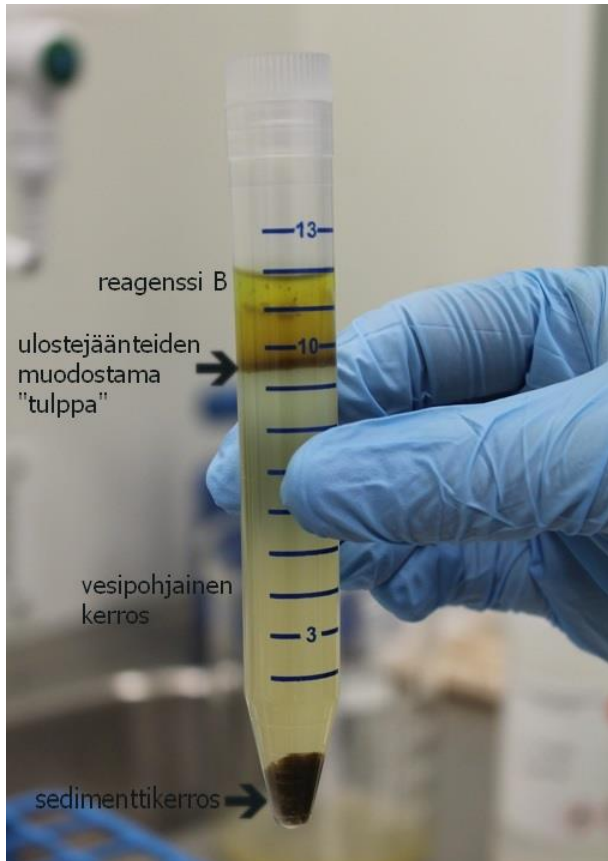
9. Laita korkki kiinni ja ravista putkea 30 sekuntia. Kääntele putkea ravistelun aikana. Ravistellessa putkeen voi kertyä painetta, jonka voi vapauttaa avaamalla korkin varovasti.



10. Sentrifugoi näytettä 10 minuuttia 1800–2200 rpm.

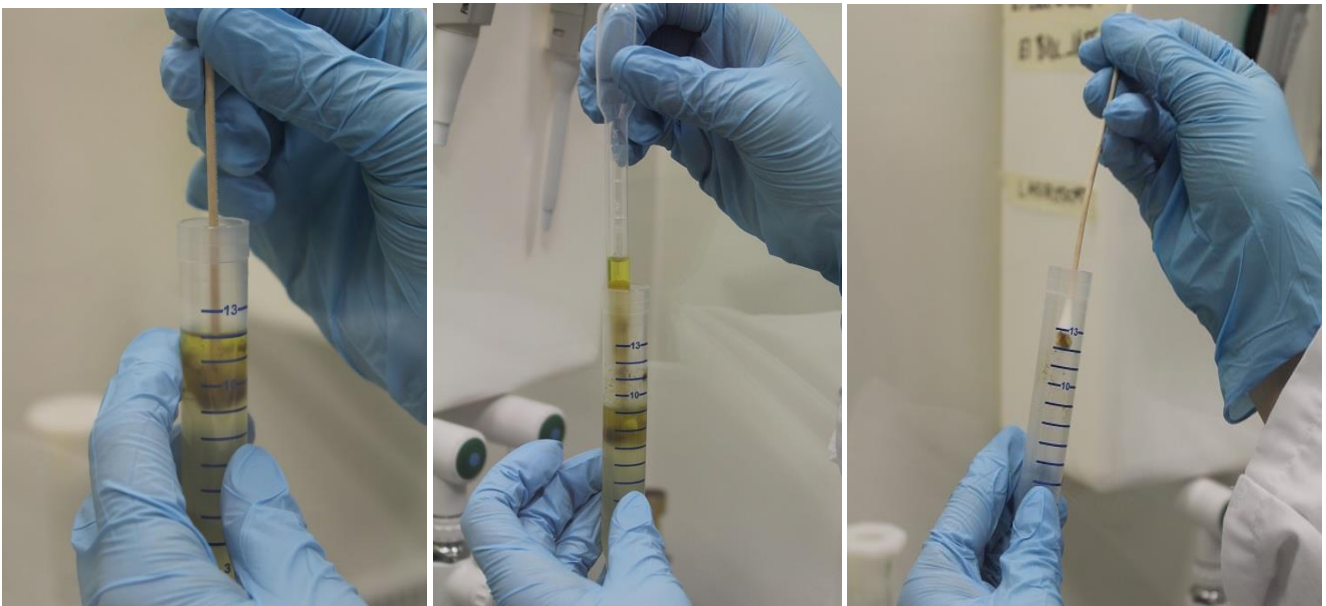


11. Sentrifugoinnin jälkeen näytteessä tulisi olla neljä kerrosta:

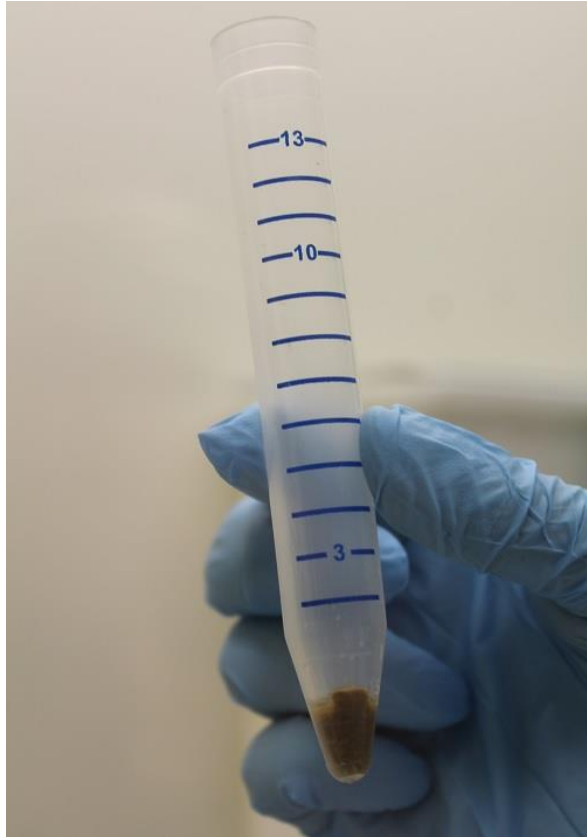


- Ylin kerros sisältää Reagenssi B:n
- Ulostejätteiden muodostama "tulppa"
- Väritön, vesipohjainen kerros
- Alimpana sedimenttikerros, joka sisältää mahdolliset parasiitit.

12. Pidä putkea pystyasennossa ja hajota ulostejätteen tulppa puutikun avulla. Poista supernatanttiliuos sedimentin päältä kaatamalla tai pasteuripipetin avulla. Mikäli poistat supernatantin kaatamalla, älä nosta putkea takaisin pystyasentoon, ennen kuin olet puhdistanut putken seinät ulostejätteistä vanutikun avulla.

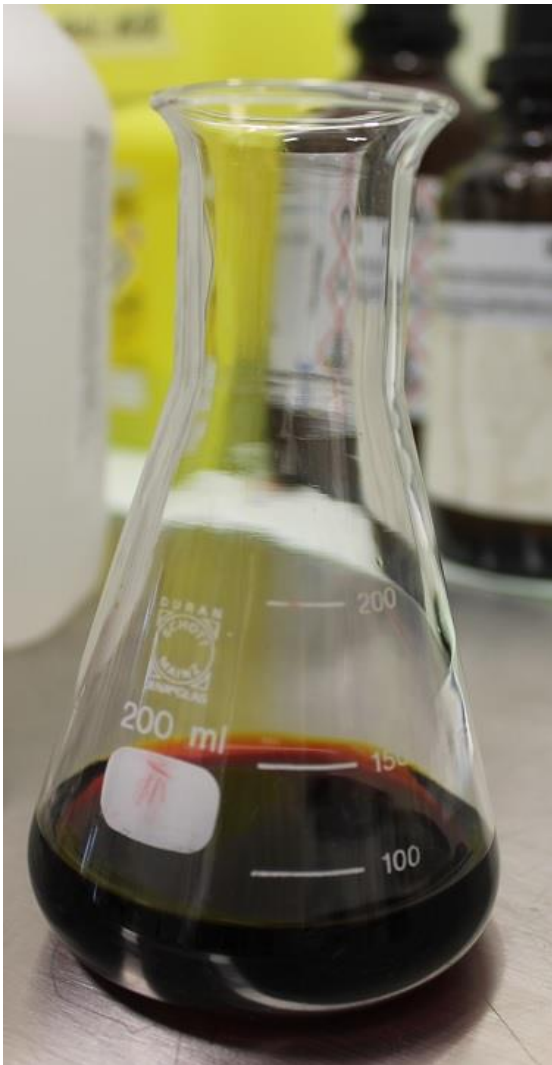


13. Näyte on valmis siirrettäväksi objektilasille.



2. JODIVÄRJÄYS

Jodivärjäys on rutiinivärjäys parasitologian tutkimuksissa. Sen avulla parasiittien kystat saadaan erottumaan helpommin mikroskoopilla tarkasteltaessa. Ulosteen parasiitteja tutkittaessa näytteet voidaan mikroskopoida joko natiivina tai jodilla värjättyinä.



Jodiliuoksen valmistus:

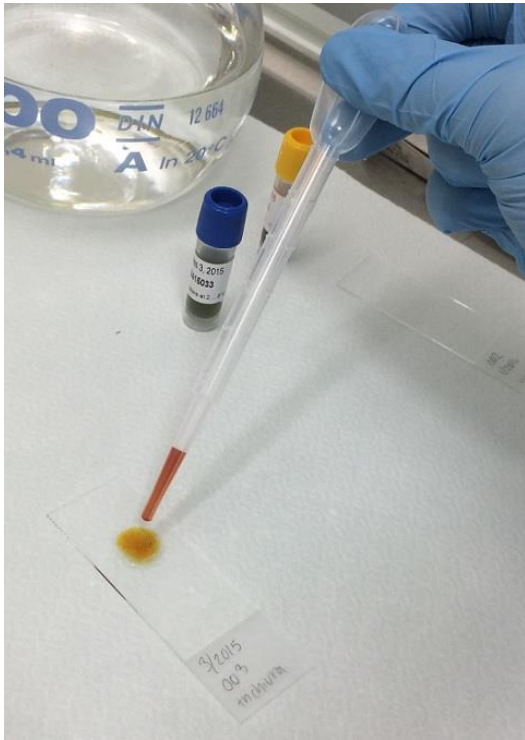
100 ml tislattua vettä

10 g kaliumjodidia

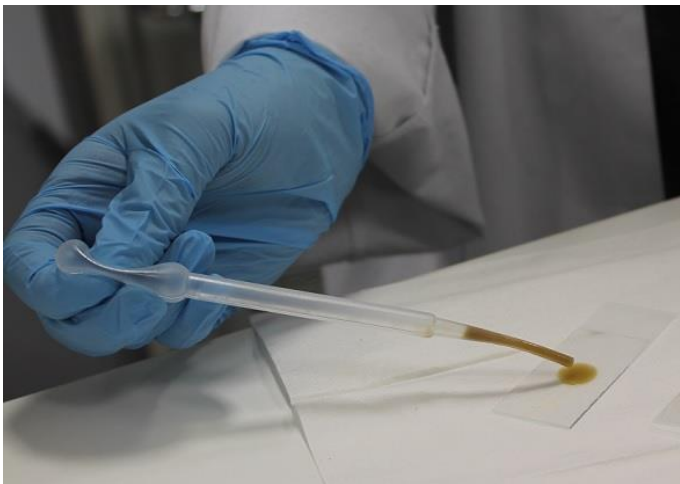
5 g jodikiteitä

Liuta 10 g kaliumjodidia 100 millilitraan tislattua vettä. Lisää vähitellen jodikiteet, samalla koko ajan sekoittaen. Jätä jodikiteet liukenemaan esimerkiksi yön ajaksi valolta suojattuna. Kun kiteet ovat liuennet, suodata liuos. Suodatetusta liuksesta eli kantaliuksesta laimennetaan tislattulla vedellä käyttöliuos suhteessa 1:5, jonka jälkeen väriliuos on valmiista käytettäväksi.

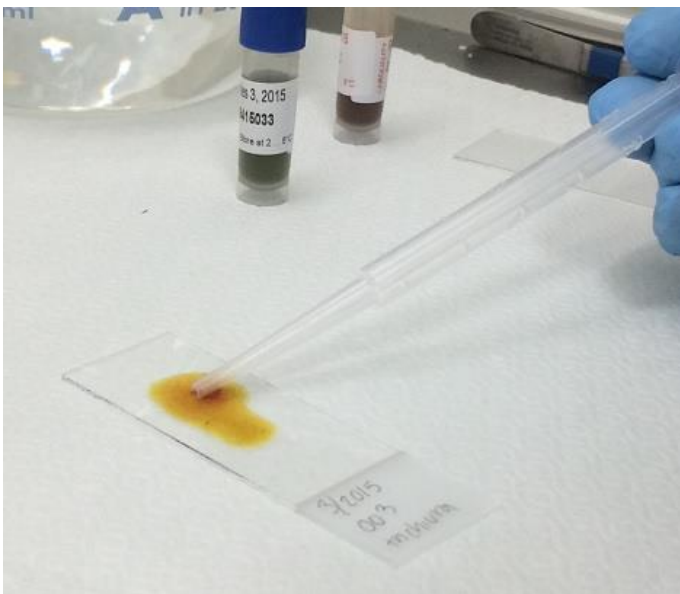
Liuosta tulee säilyttää tummassa astiassa valolta suojattuna. Se on käyttökelpoista niin kauan, kun liuoksen pohjalla näkyy jodikiteitä.

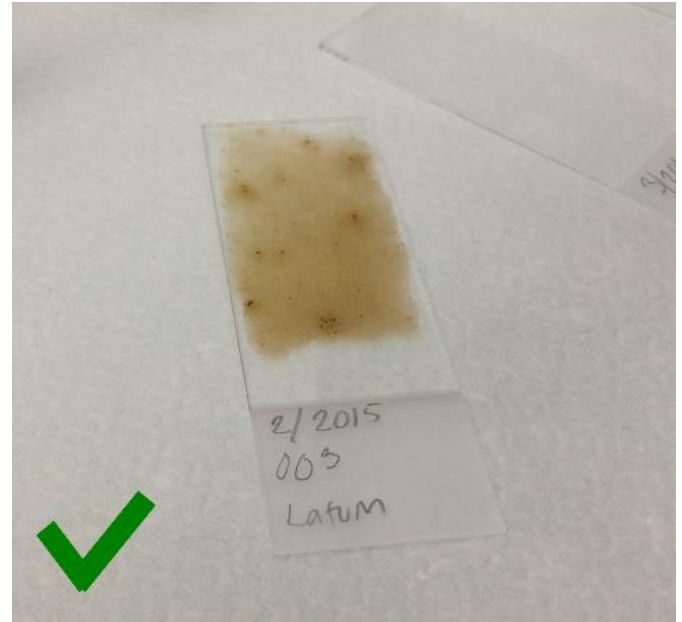
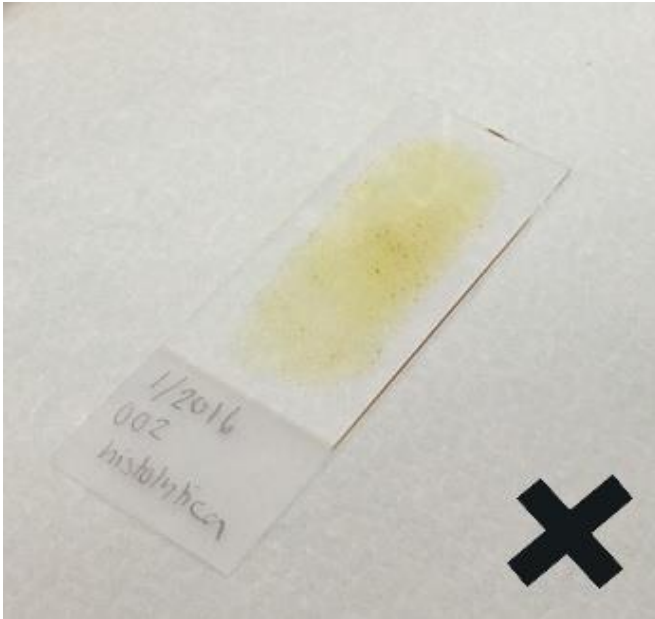


1. Tiputa objektilasille pipetillä yksi tippa jodiväriin käyttöliuosta.

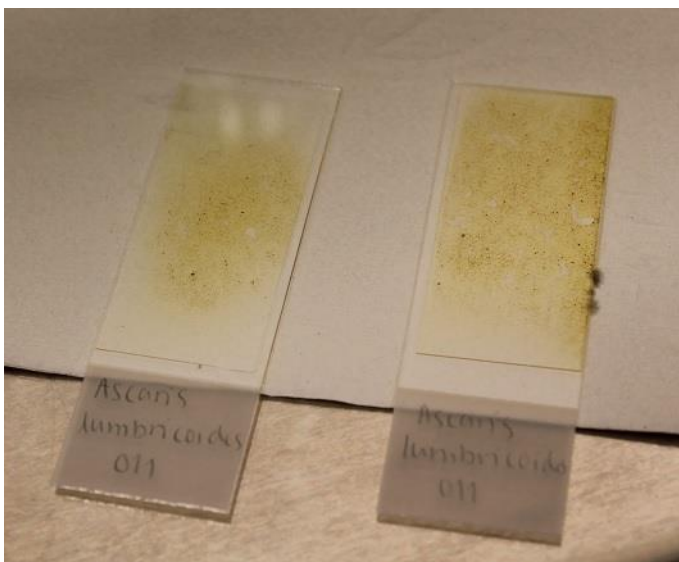


2. Lisää tämän jälkeen lasille pieni määrä ulostenäytettä. Sekoita jodiväri ulostenäytteeseen, kunnes seos on homogeeninen. Jodi värjää ulostenäytteen välittömästi.





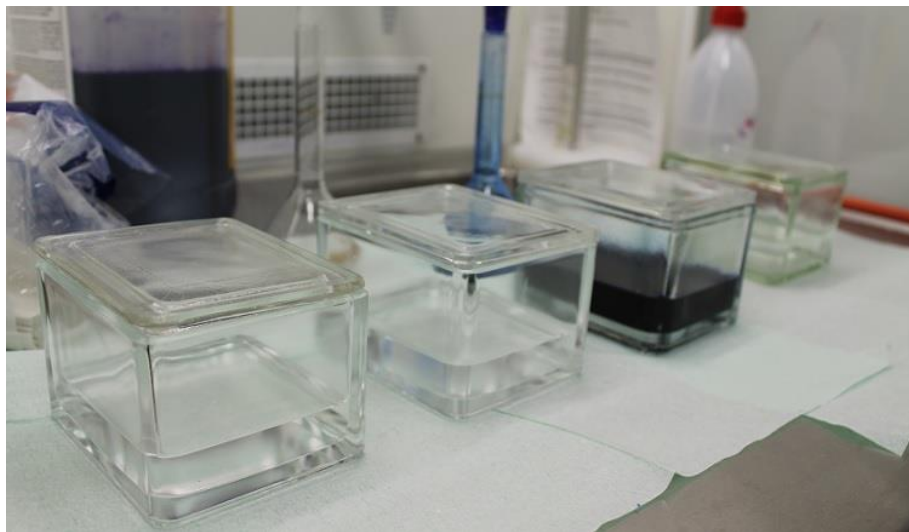
Jos näytettä on liian vähän, mikroskopointi voi olla hankalaa.



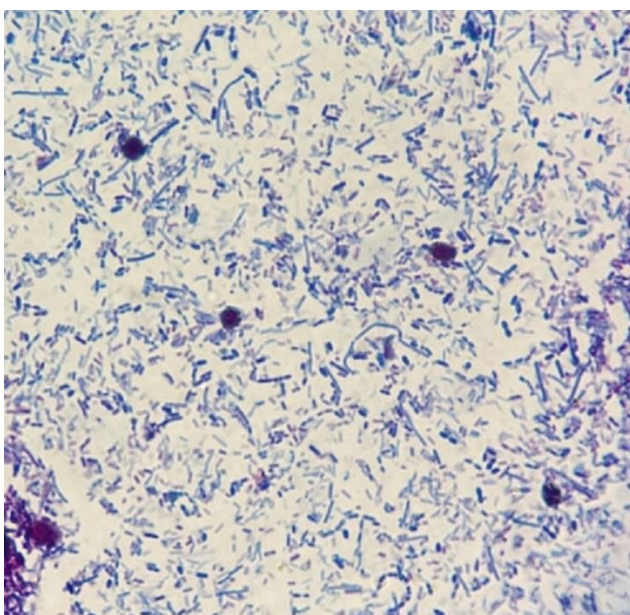
3. Aseta objektilasin päälle peitinlasi.
Näyte on nyt valmis tarkasteltavaksi mikroskoopilla.

3. KRYPTOVÄRJÄYS

Kinyon/Ziehl-Neelsen-värjäys formaliiniinnitetylle ulostenäytteelle
(F-CrypVr)



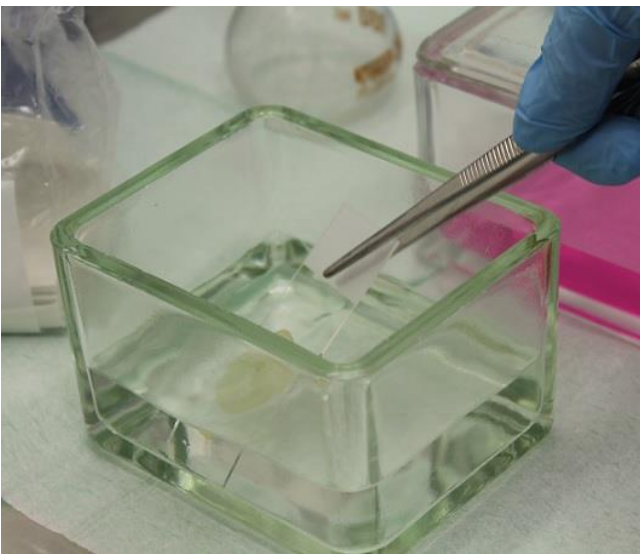
Kryptovärjäystä käytetään *Cryptosporidium*, sekä *Isoospora Bellin* ja *Cyclospora*, ookystien osoittamiseen ulostenäytteestä. Indikaatio tutkimukselle on ripulitauti immunisuppressiopotilailla tai ulkomaanmatkan jälkeen.



Cryptosporidium vaatii erikoisvärjäyksen, jossa värinpoistoa käytetään vähemmän kuin muissa haponekstavärjäyksissä. Väriaineina värjäyksessä käytetään karbolifuksiinia ja metyyliisineä. Värjäyksen tehostamiseksi voidaan käyttää näytteen lämmittämistä: lämmön lisäys Kinyon/Ziehl-Neelsen-värjäyksessä helpottaa karbolifuksiinin pääsyä organismien sisälle värjäten ne punaisiksi tai vaaleanpunaisiksi. Muu kuin haponekstävä aine, kuten hiivat, bakteerit ja sieni-itiöt värjäytyvät metyyliisinen vaikutuksesta siniseksi. Näin punertavaksi värjäytyvät ookystat saadaan paremmin esille taustasta. Ookystat ovat pyöreitä ja halkaisijaltaan ne ovat noin 4–6 µm.

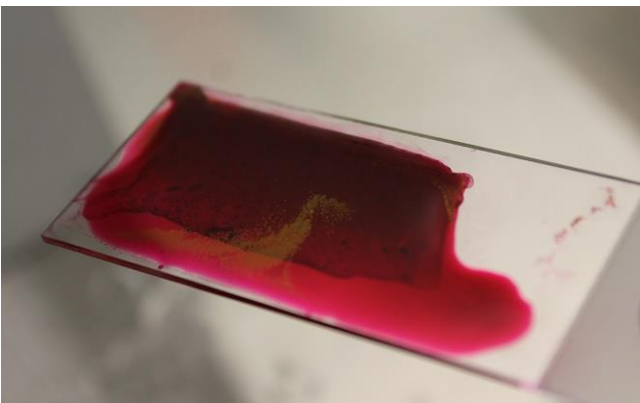


Tiputa objektilasille 1-2 tippaa konsentroitua ulostenäytettä. Anna kuivua.



1. Metanoli
(1 min)

Fiksoi ensiksi näytettä absoluutissa metanolissa minuutin ajan.

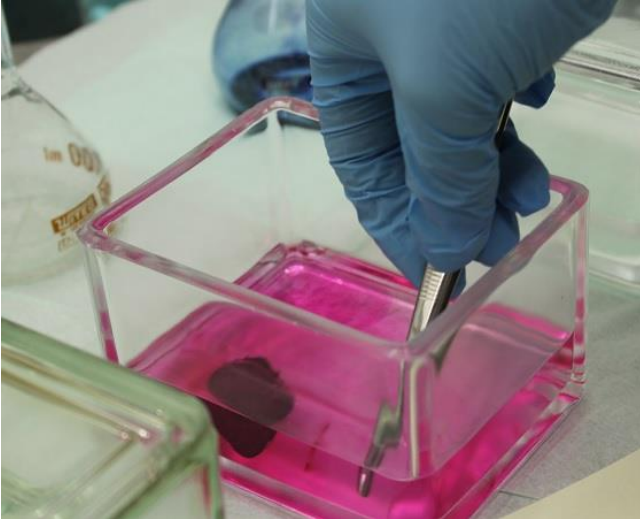


2. Karbolifuksiini
(5 min)

Lisää lasille karbolifuksiinia niin, että näytealue peittyy. Anna vaikuttaa viisi minuuttia. Lasia voidaan tässä vaiheessa lämmittää värjäyksen tehostamiseksi: mikäli lämmität lasia, jäähdytä se varovasti vedellä ennen seuraava vaihetta.

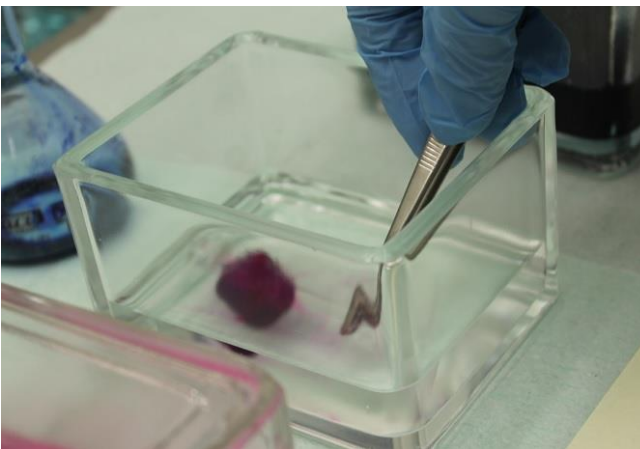
3. 50 % etanoli

Huuhtele objektilasi 50 % etanolissa.



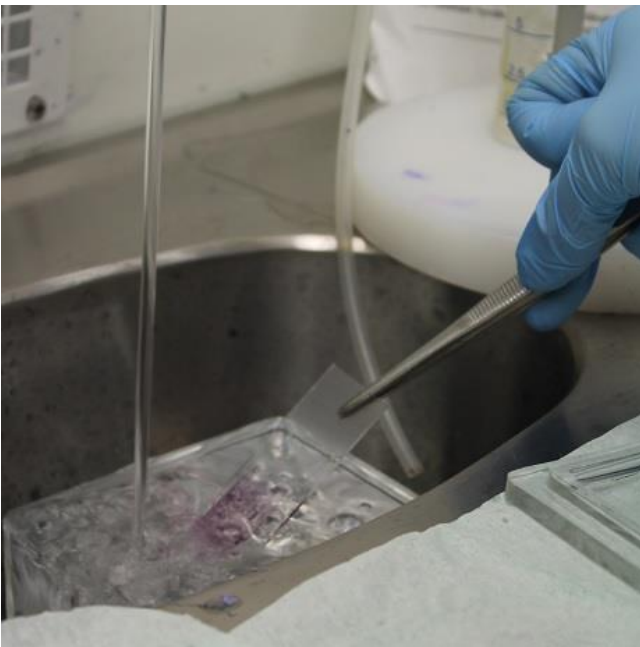
4. 1 % rikkihappo
(2 min)

Siirrä lasi 1 % rikkihappoliuokseen
kahdeksi minuutiksi.

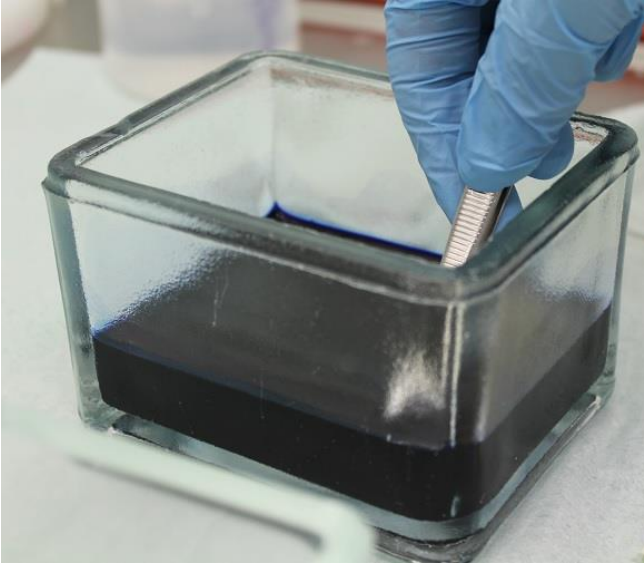


5. Huuhtelu vedellä

Huuhtele ylimääräinen väri pois la-
silta juoksevan veden alla varoen,
niin ettei laskeva vesi huuhto näy-
tettä pois.

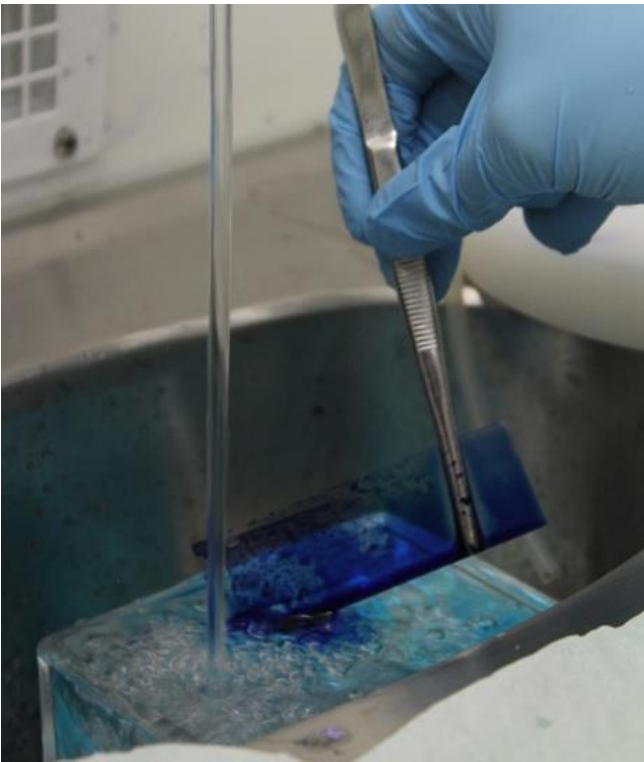


18 (27)



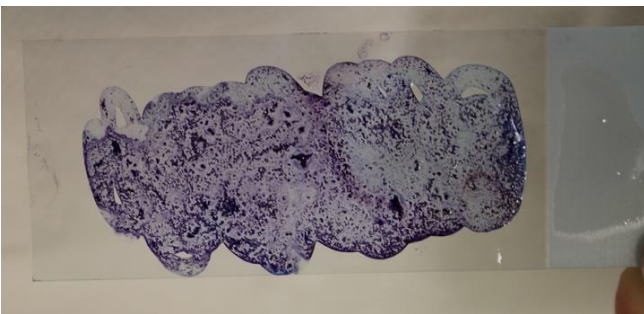
6. Metyleenisini
(1 min)

Siirrä lasi värjäytymään metyleenisinien minuutin ajaksi.



7. Huuhtelu vedellä

Huuhtele objektilasia samoin kuin kohdassa 5.



Ilmakuivauksen jälkeen värjätty näyte on valmis tarkasteltavaksi mikroskoopissa.

4. AMEBAVÄRJÄYS TEORIASSA

Näytteen kestokiinnitys, jodi-alkoholikäsittely,
jodi-trikomivärjäys ja rauta-hematoksyleenivärjäys
(F-AmebVr)

Amebavärjäykseen (F-AmebVr) turvaudutaan silloin, kun potilaalla on jatkuvaa ja voimakasta ripulia ja jodivärjäyksellä ei ole löydetty amebaa, ja epäillään *Dientamoeba fragilista*. Värjäys voidaan tehdä ulosteesta, kudospalasta, kauhä näytteestä tai absessiapiraatista.

Amebavärjäystä varten näyte tulee olla **polyvinyylialkoholikiinnitetty** (PVA), sillä esimerkiksi *D.fragilixen* trofotsoiitit ovat herkkiä ja saattavat hajota formaliinissa. Tällainen kiinnite on esimerkiksi EcoFix®.

- Näyte kiinnitetään sekoittamalla noin 1 ml ulostetta 5-10 ml kiinnitettä
- Näytteen tulee kiinnittyä vähintään 30 minuuttia ennen objektilasille siirtämistä
- Kun näyte on kiinnittynyt, se tulee sekoittaa huolellisesti
- Yksi pisara näytettä levitetään objektilasille toisen lasin avulla. Tämän jälkeen yhä toista lasia apuna käyttäen näyte viivoitetaan, jotta saadaan eri vahvuisia näytealueita
- Lasin annetaan kuivua huoneenlämmössä vähintään kaksi tuntia

Amebavärjäykseen voidaan käyttää joko trikromivärjäystä tai rauta-hematoksyleenivärjäystä. Mikäli käytetty kiinnite sisältää elohopeakloridia, näytteille voidaan tehdä **jodi-alkoholikäsittely**, joka poistaa elohopeakloridin korvaamalla sen ensin jodilla. Usein kiinnitykseen käytetty EcoFix® sisältää hyvin vähän elohopeakloridia, jolloin jodi-alkoholikäsittelyä ei tarvitse tehdä.

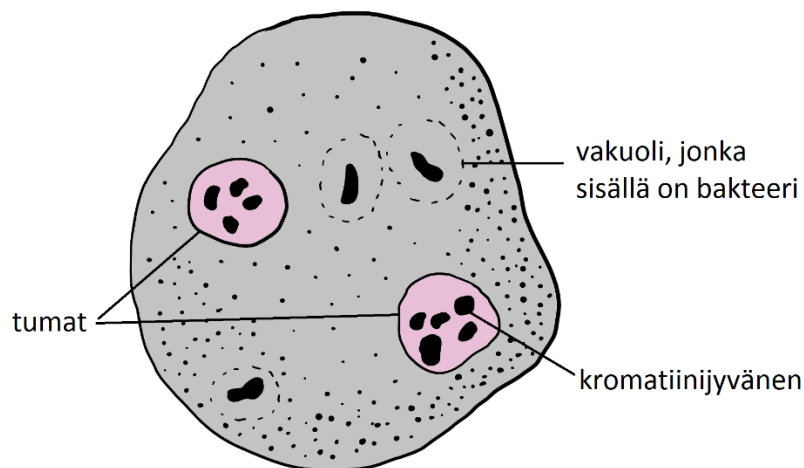
- Jodi-alkoholikäsittelyssä lasit upotetaan ensin 70 % etanoliin 5 minuutiksi
- Seuraavaksi lasit käytetään 70 % jodi-alkoholiliuoksessa 5 minuutin ajan
- Lopuksi laseja pidetään vielä uudestaan 70 % etanolissa 5 minuutin ajan

Trikromivärjäys on yksinkertainen ja vie aikaa noin tunnin. Sillä värjäytyvät alkueläimet, hiivat, ihmisen solut sekä artefakta. Alkueläinten sytoplasma värjäytyy pH:sta johtuen sinivihreäksi tai punertavaksi. Kystista tulee usein punertavia.

- Prosessoidut lasit upotetaan 70 % etanoliin 5 minuutin ajaksi
- Seuraavaksi ne laitetaan trikromiväriin 10 minuutiksi
- Trikromivärin jälkeen lasit huuhdellaan nopeasti (1–3 sekuntia) 90 % etanoli-etikkahappoliuoksessa (=absoluuttinen alkoholi, tislattu vesi, jäätikka)
- Lasit käytetään useita kertoja absoluuttisessa etanolissa, jonka jälkeen lasit jätetään absoluuttiseen etanoliin kaksi kertaa kolmen minuutin ajaksi (3min + 3min)
- Lopuksi lasit viedään vielä ksyleeniin kaksi kertaa 5–10 minuutin ajaksi (5–10min + 5–10min)
- Lasit peitetään peitinlaseilla ja niiden annetaan kuivua yön yli huoneenlämmössä tai tunnin ajan + 37 °C:ssa ennen mikroskopointia

Rauta-hematoksyleenivärjäyksessä alkueläinten trofotsoiitit värjäytyvät siniharmaiksi tai mustiksi ja taustasta tulee vaaleanharmaa tai sinertävä.

- Lasit upotetaan 70 % etanoliin 5 minuutiksi
- Laseja huuhdellaan juoksevan veden alla 10 minuutin ajan
- Huuhtelun jälkeen laseja värjätään rauta-hematoksyleni-käyttöliuoksella viisi minuuttia
- Lopuksi laseille tehdään nouseva alkoholisarja, joka alkaa laittamalla lasit viideksi minuutiksi 70 % etanoliin.
- Laseja pidetään seuraavaksi 95 % etanolissa 5 minuuttia
- Absoluuttisessa etanolissa laseja pidetään kaksi kertaa 5 minuuttia
- Viimeiseksi laseja pidetään ksyleenissä kaksi kertaa viisi minuuttia
- Näyte peitetään peitinlasilla ja se on heti valmis mikroskopoitavaksi



D. fragilixen trofotsoiitti on 5–15 µm kokoinen aiotumainen solu, jolla on yleensä kaksi tumaa.

Tumissa on tavallisesti 5–8 kromatiinijyvää.

5. MIKROSKOPOINTI JA TUNNISTAMINEN

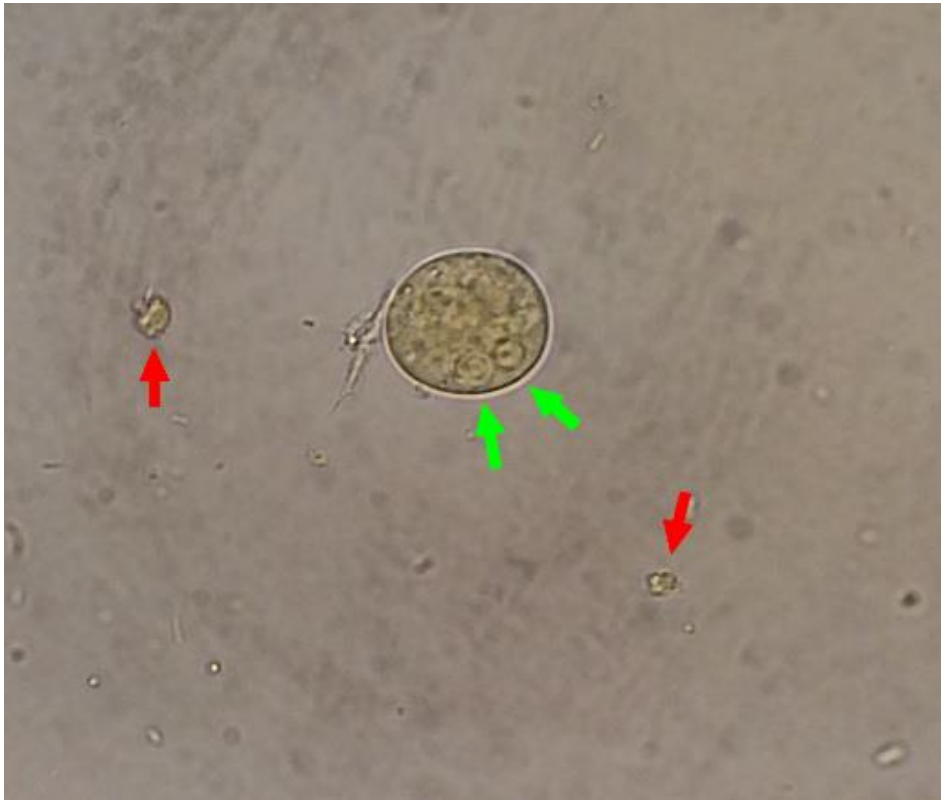
Parasiitteja mikroskopoidessa täytyy olla kärsivällinen ja huolellinen. Jodivärjätysnäytteessä näkyy mahdollisten madonmunien lisäksi paljon roskaa sekä muuta ainesta. Yleensä madonmunien tunnistus on helpompaa kuin alkueläinten kystien. Jodivärjättyä näytettä mikroskopoidaan ensin 100-kertaisella suurennoksella, jolla tarkastellaan näytteen yleiskuvaa. Jos ja kun löytyy mahdolliselta munalta tai kystalta näyttävää, tarkastellaan kohdetta lähemmin 400-kertaisella suurennoksella.

Trikromi- eli amebavärjättyjä laseja tarkastellaan myös ensin 100-kertaisella suurennoksella yleiskuvan selvittämiseksi. Laseja voi tarkastella tarkemmin 500- ja 1000-kertaisilla immersioöljyobjektiveilla. Amebavärjättyiltä laseilta voi löytyä kystien ja trofotsoiittien lisäksi siitepölyä, kuitua, kasvien siemeniä, hiivoja, sekä valko- ja punasoluja.

Tässä ohjeessa olevat kuvat ovat jodivärjätystä näytteistä. Näytteitä on katsottu mikroskoopissa 500- ja 1000-kertaisilla suurennoksilla, jonka jälkeen kuvia on vielä suurennettu mahdollisimman havainnollistavien kuvien aikaansaamiseksi.

5.1. ALKUELÄIMET

Entamoeba histolytica



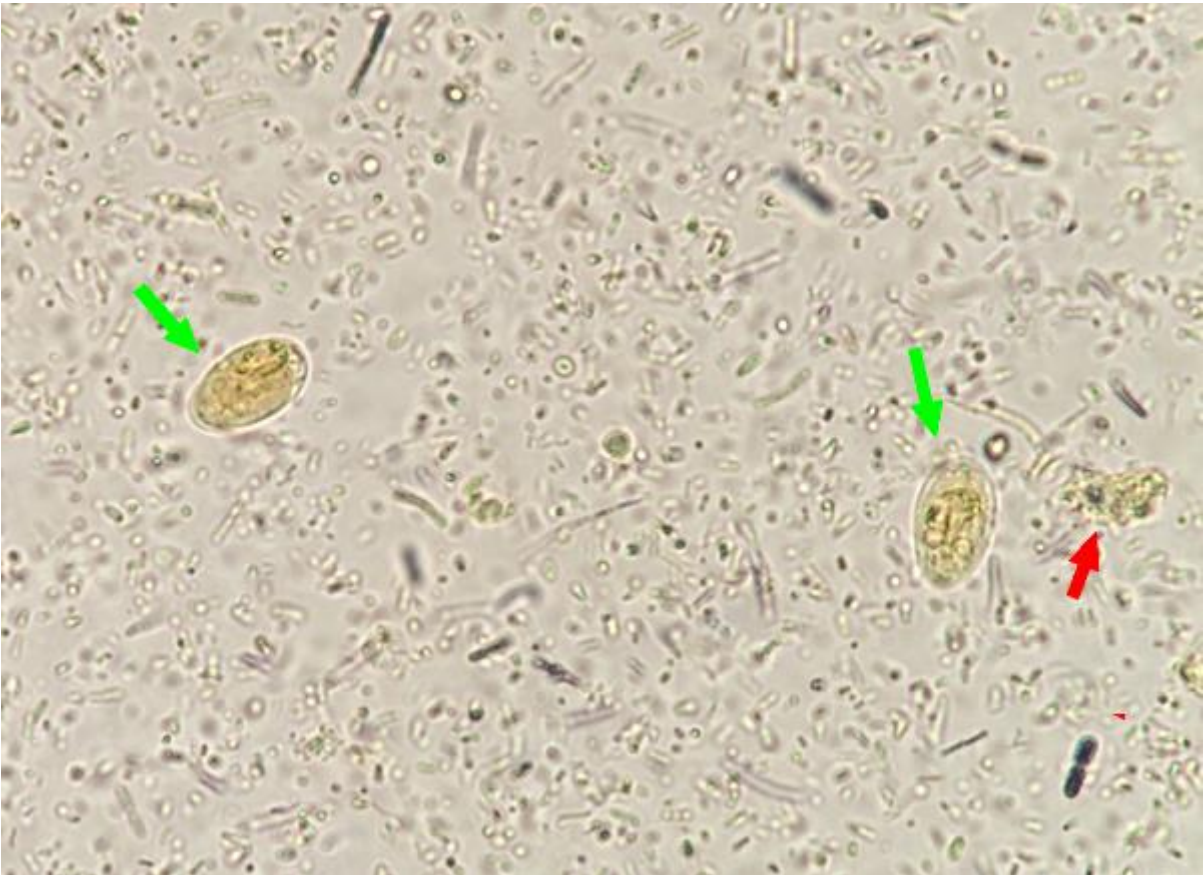
- *Entamoeba histolytica* kysta on pyöreä ja sen halkaisija on noin 12–15 μm .
- Kypsässä kystassa on neljä tumaa. Tuman keskellä on pieni karyosomatäpliä.

Kuvassa vihreät nuolet osoittavat kystan kahta tumaa ja niiden sisällä olevia karyosomatäpliä.

Punaiset nuolet osoittavat näytteessä olevia roskia.

Giardia lamblia

- Kystat ovat pyöreitä tai ovaalinmuotoisia, yleensä 8–19 µm kokoisia. Niillä on neljä tummaa ja kystan jakaa kahtia aksoneema eli pitkittäinen raita.

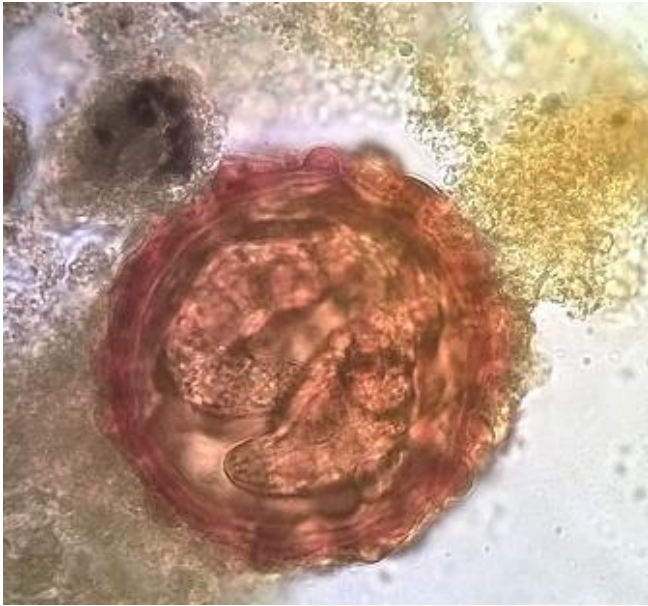


Kuvassa vihreät nuolet osoittavat *Giardia lamblian* kystia, punainen nuoli osoittaa roskakasa.

Näytteessä on paljon muutakin roskaa ja sakkaa.

5.2. MADOT

Ascaris lumbricoides



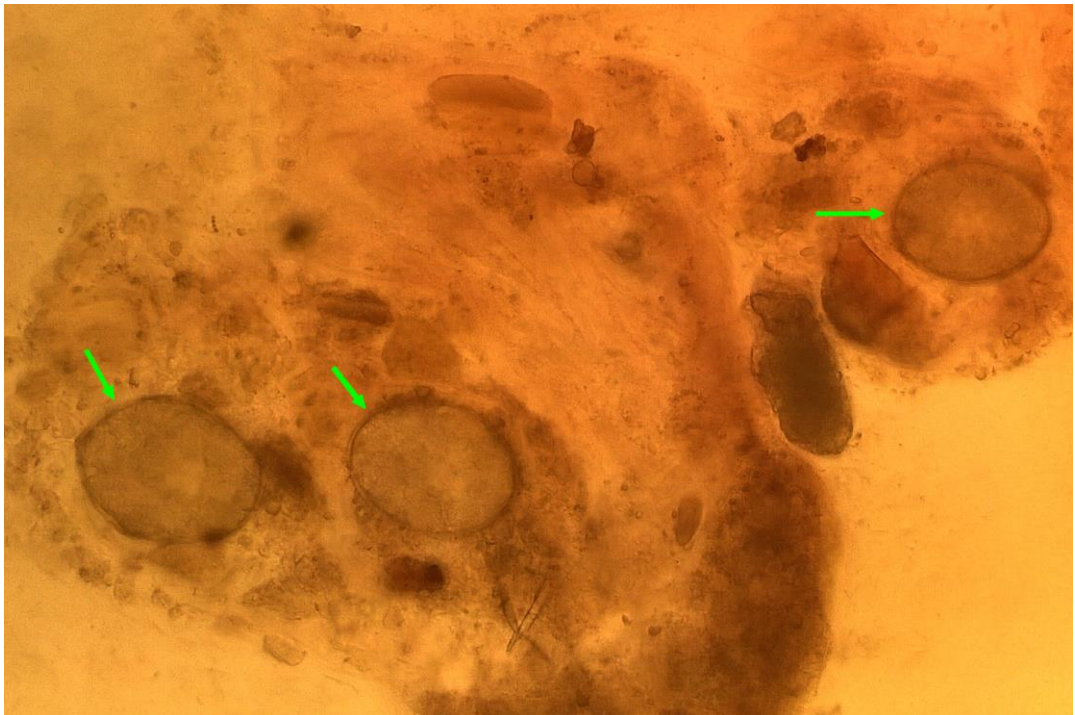
- Näytteestä voidaan löytää suojakuorellisia, suojakuorettomia tai hedelmöittymättömiä muna.
- Suojakuorikerroksinen muna on noin 55–75 μm pitkä ja 35–50 μm leveä, hedelmöittymättömän muna taas on noin 90 μm pitkä ja 45 μm leveä.



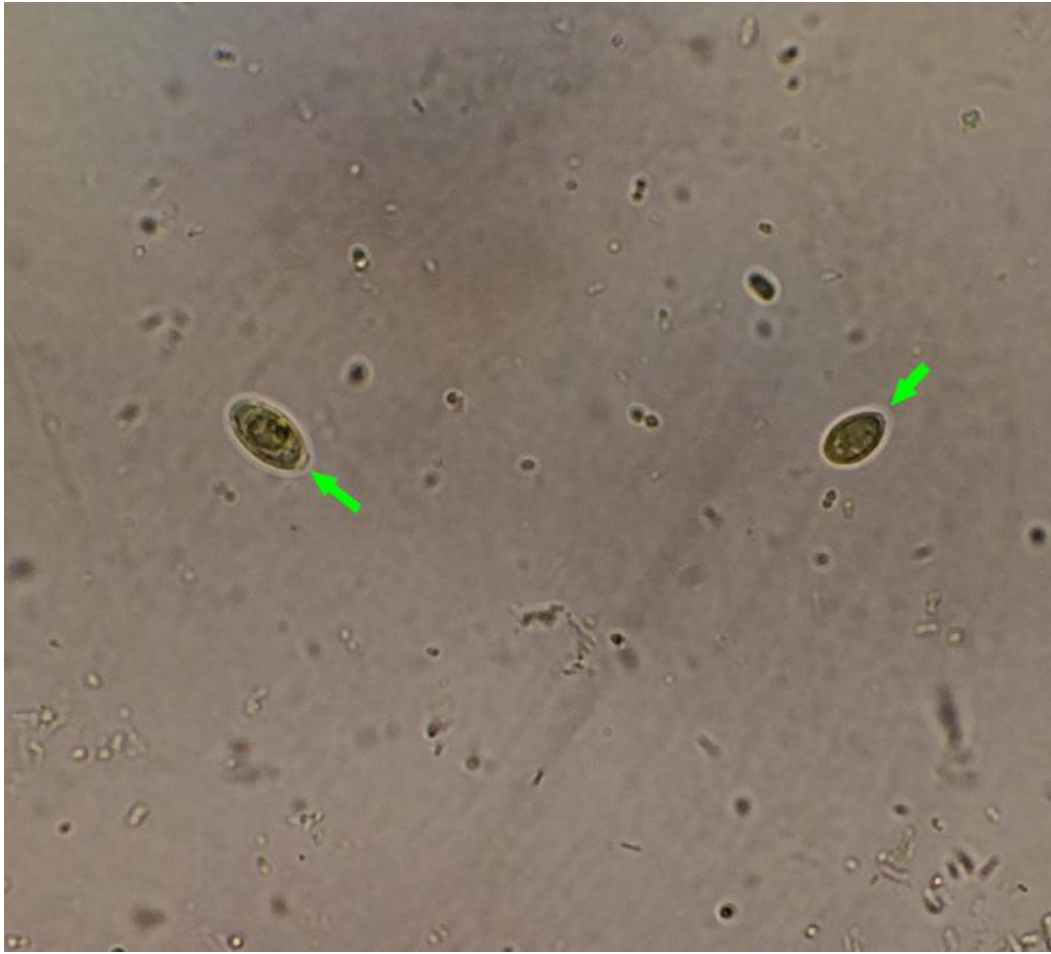
Ylemmässä kuvassa madon rakenne näkyy rullalla munan sisällä.
Alemmassa munaan on tullut reikä ja näyttäisi, että mato on tullut munasta ulos.

Diphyllobothrium latum

- Munat ovat yleensä noin 58–75 x 40–50 µm kokoisia ja soikeita.
- Munan toisessa päässä on yleensä kohouma ja toisessa kannen ura.



Alemmassa kuvassa vihreät nuolet osoittavan *Diphyllobothrium latum*in munia muun sakan seassa.

Trichuris trichiura

- Muna on 50–55 x 22–24 μm kokoinen.
- Munan päissä on usein vaaleammat nyykät.

Kuvassa vihreät nuolet osoittavat munien päissä olevia nyyköitä.

LÄHTEET

FORBES, Betty, SAHM, Daniel ja WEISSFELD, Alice 2002. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11. Painos. St. Louis: Mosby, 652.

HUSLAB TUTKIMUSOHJEKIRJA 2016:a. Ameeba, värjäys. [Viitattu: 2016-09-12] Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/4088.html>

JOKIRANTA, Sakari 2012. Malariadiagnostiikka ja ameebojen toteaminen – tunnistusseminaari. Labquality-päivät. Helsingin yliopisto. Yhtyneet Medix laboratoriot Oy. [Viitattu: 2016–09- 07] Saatavissa: http://www.labquality.fi/@Bin/2306909/LQ_tunnistusseminaari_20120210.pdf

JOKIRANTA, Sakari, SIIKAMÄKI, Heli ja MERI, Seppo 2010. Madot. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2010. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 382–417.

MATHUR, Heli. Dientamoeba fragilis -alkueläinten ameebavärjäys formaliiniikiinnitetystä ulostenäytteestä, Huslab parasitologian yksikkö. Metropolia ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö, 9-11, Liite 2. [Viitattu: 2016-09- 07] Saatavissa: https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/35678/Mathur_Heli.pdf?sequence=1

MERI, Taru 2012. Dientamoeba fragilis-suolistoparasiitti [verkojulkaisu]. Helsingin yliopisto. [Viitattu 2015-11-10.] Saatavissa: http://www.labquality.fi/@Bin/2306906/Dientamoeba_Labquality2012.pdf

MERIDIAN BIOSCIENCE EUROPE 2016. ParaPak® CON-Trate® Stool Concentration Kit System. Pakkausseloste. [Viitattu: 2016-04-06]. Saatavissa: http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/PackInsert/8.50%20x%2011_ENGLISH%20ONLY_SN10650%20Para-Pak%20Con-Trate%20PI_REV%2007-14%20Clean.pdf

MERI, Taru 2007. Suoliston ameebat ja niiden mikroskopiadiagnostiikka. Julkaisussa: MOODI 4, Labquality Oy, 153–159.

MERI, Taru 2014. Alkueläimet elintarvikeväliaineiden epidemioiden aiheuttajina. Julkaisussa: MOODI 4.-5. Labquality Oy, 140–142.

ROBERTS, Lauren ja ZEIBIG, Elizabeth 2013. Specimen collection and processing. Julkaisussa: ZEIBIG, Elizabeth 2013. Clinical Parasitology. 2. painos. Elsevier Inc, 22-23.

VERSALOVIC, James, CARROLL, Karen C., FUNKE, Guido, JORGENSEN, James H., LANDRY, Marie Loïse ja WARNOCK, David W. 2011. Manual of Clinical Microbiology, Volume 2. 10. painos. ASM Press. Washington, DC, 2066-68.