

Verimaljojen vertailu streptokokkien tunnistuksessa ja tunnistusta helpottavien tekijöiden hyödyllisyys

Metropolia ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma
Opinnäytetyö
13.4.2010

Yasmin Aydar
Minna Holmström

Koulutusohjelma		Suuntautumisvaihtoehto	
Bioanalytiikan koulutusohjelma			
Tekijä/Tekijät			
Yasmin Aydar ja Minna Holmström			
Työn nimi			
Verimaljojen vertailu streptokokkien tunnistuksessa ja tunnistusta helpottavien tekijöiden hyödyllisyys			
Työn laji		Aika	Sivumäärä
Opinnäytetyö		Kevät 2010	44 + 4 liitettä
TIIVISTELMÄ			
<p>Nieluinfektion aiheuttaa yleensä streptokokki, joka näkyy nieluviiljelymaljoilla betahemolyyttisinä pesäkkeinä. Yleisin näistä on A-ryhmän streptokokki. Nielun normaaliflooran bakteerit voivat myös aiheuttaa betahemolyysiä ja vaikeuttaa näin streptokokin tunnistusta verimaljalta. Myös alfa-hemolyysi voi häiritä betahemolyyttisten pesäkkeiden löytämistä puhtaana.</p> <p>Työ tehtiin HUSLABin kliinisen mikrobiologian bakteriologian osastolle. Työssä vertailtiin kolmen eri valmistajan nieluviiljelymaljoja streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa. Geelikuljetusputkissa olevista nieluviiljelynäytteistä tehtiin suspensio, jota viljeltiin pumpulitikulla viidelle eri merkkiselle lampaanverimaljalle. Näytteitä oli 107. Samalla tutkittiin nieluviiljelymaljoihin tehtävien pistojen ja sille laitettavan peitinlasin hyödyllisyyttä betahemolyysin tunnistuksessa lisäämällä ne jokaiselle maljalle. Tutkittavia maljoja viljeltiin 535, joista jokainen arvioitiin silmämääräisesti. Arvioinnissa otettiin huomioon betahemolyysi, nielun normaalifloora, hemolyysin kirkkkaus sekä pistojen ja peitinlasin hemolyyttisyys.</p> <p>Työn perusteella voitiin todeta, etteivät peitinlasit ja pistot yleensä auta betahemolyysin tunnistuksessa. Peitinlasia on muutenkin vaikea käyttää, joten siitä on oikeastaan enemmän haittaa kuin hyötyä. Maljojen vertailusta selvisi, että Ssa-malja soveltui huonoimmin streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistukseen. Muut maljat olivat keskenään tasavertaisempia, kuitenkin niin, että Tsa-maljalla kasvoi eniten tunnistusta häiritsevää muuta bakteerikasvustoa. HUSLABin oma malja toimi parhaiten. Tosin ero kolmeen muuhun ei ollut tilastollisesti merkitsevää.</p> <p>Työssä kartoitettiin myös basitrasinikiekon käytön yleisyyttä pääkaupunkiseudulla haastattelemalla kolmea laboratoriota, joihin tulee nieluviiljelynäytteitä. Basiitrasinikiekon käytön kartoituksessa selvisi, että suurin osa pääkaupunkiseudun laboratorioista käyttää basitrasinikiekkoa nieluviiljelymaljoissa.</p>			
Avainsanat			
betahemolyysi, nieluviiljely, streptokokki, basitrasini, verimalja			

Degree Programme in		Degree	
Biomedical Laboratory Science		Bachelor of Health Care	
Author/Authors			
Yasmin Aydar and Minna Holmström			
Title			
Comparison of Blood Media and Factors that Benefit the Identification of Streptococci			
Type of Work	Date	Pages	
Final Project	Spring 2010	44 + 4 appendices	
<p>ABSTRACT</p> <p>The cause of tonsillitis is usually streptococci which can be seen in blood medium as beta hemolytic colony. The most common type is streptococcus Group A. The bacteria in the normal throat flora can also cause beta and alpha hemolysis. These can make it harder to identify streptococci.</p> <p>The objective of this study was to compare five blood media from three companies for finding beta hemolytic colonies caused by streptococcus. At the same time the necessity of the stings and micro-glass were studied by adding them to the each medium. We also studied the use of bacitracin in the metropolitan area by interviewing three laboratories receiving pharyngeal samples. 106 samples were cultured from the suspension to all media. Beta hemolysis, normal throat flora, the brightness of hemolysis and the hemolysis of stings and micro-glasses were estimated on each media.</p> <p>The results showed that micro-glasses and stings did not usually help to find beta hemolysis. In addition, micro-glass was difficult to use. We also found out that Ssa-medium was the least suitable for the identification of beta hemolysis. The other media were more equal to each other, but the bacteria that grew in Tsa- media disturbed the identification of beta hemolysis the most. HUSLAB`s media was the best. The results showed that basitracin is used in most laboratories in the metropolitan area.</p>			
Keywords			
beta hemolysis, pharyngeal culture, streptococci, bacitracin, blood medium			

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	NIELUVILJELYNÄYTTEENOTTO - JA TUTKIMUS	1
2.1	Nielun stseptokokkiviljelyn näytteenotto	2
2.2	Nielun streptokokkiviljelynäytteen tutkiminen	2
2.3	Basitrasiiinitesti	3
2.4	Muut bakteerien tunnistustestit	4
3	HEMOLYYSI	5
4	VERIMALJAT	8
5	STREPTOKOKIT	10
5.1	Betahemolyttiset streptokokkilajit	11
5.1.1	A-ryhmän streptokokki	11
5.1.2	B-ryhmän streptokokki	12
5.1.3	C- ja G -ryhmän streptokokki	12
5.1.4	Anginosus- ryhmän streptokokit	12
6	TUTKIMUSASETELMA	13
6.1	Aikaisemmat tutkimukset	13
6.2	Tutkimusongelmat	13
7	TUTKIMUKSEN SUORITUS	14
7.1	Verimaljojen vertailu	14
7.2	Haastattelu basitrasiiinista, pistoista ja peitinlasista	18
8	TULOKSET	18
8.1	Kokeellisen työn tulosten käsittely	18
8.1.1	Mann-Whitney testi ja ristiintaulukointi	19
8.1.2	A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttama betahemolyysi	20
8.1.3	Nielun normaalifloora	21
8.1.4	Betahemolyysin kirkkaus	23
8.1.5	Hajotukset	24
8.1.6	Lisäkasvatukset	25
8.1.7	Agglutinaatio	26
8.1.8	Streptokokkiryhvät	28
8.1.9	Peitinlasin hyödyllisyys	29
8.1.10	Pistojen hyödyllisyys	31
8.1.11	Peitinlasin ja pistojen hyödyllisyyden vertailu	33
8.2	Haastattelun tulosten käsittely	34
8.2.1	Basitrasiiinikiekon käyttö pääkaupunkiseudulla	35
8.2.2	Pistojen ja peitinlasin käyttö pääkaupunkiseudulla	36
8.3	Yhteenveto tuloksista	36
9	TULOSTEN LUOTETTAVUUDEN ARVIOINTI	39
10	POHDINTA	41
	KIRJALLISUUS	44
	LIITTEET 1-4	

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön aiheena on ” Verimaljojen vertailu streptokokkien tunnistuksessa ja tunnistusta helpottavien tekijöiden hyödyllisyys”. Työ tehdään HUSLABin Kliinisen mikrobiologian bakteriologian osastolle. Pääasiallisena aiheena vertaillaan eri lampaanverimaljoja A-, G- ja C- ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa. Työssä käsitellään pistojen tarpeellisuutta sekä pistojen sijasta peitinlasi-menetelmää streptokokin betahemolyysin tunnistuksessa. Lisäksi kartoitetaan basitrasiniekon käytön yleisyyttä pääkaupunkiseudulla haastatteleamalla kolmea laboratorioita, jotka ohjeistavat alueensa laboratorioita. Työssä vertaillaan Bio- Radin, Becton Dickinsonin ja Oxoidin verimaljoja streptokokkien aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa. Becton Dickinsonilla on kolmea erilaista verimaljaa streptokokkien tunnistukseen, joten vertailtavia maljoja on yhteensä viisi.

Nieluviljelymaljoihin tehdään joskus pistoja näytteenoton yhteydessä. Pistojen uskotaan helpottavan betahemolyysin tunnistamista. Joskus harvoin käytetään pistojen sijasta peitinlasia, josta ei ole löydettävissä aikaisempaa tutkimustietoa helpottaako se betahemolyysin tunnistusta. Kokeellisessa osiossa selvitetään pistojen tarpeellisuutta. Pistojen ja peitinlasin tarkoituksena on luoda maljalle vähähappinen tila, jolla hemolyysi on paremmin tunnistettavissa. Betahemolyysin tunnistamisen helpottaminen keventäisi työmäärää huomattavasti ja nopeuttaisi diagnoosia.

Työ painottuu maljojen vertailuun, koska halutaan löytää streptokokkien tunnistukseen mahdollisimman hyvä malja ja oletetaan, että maljoilla on suurempi merkitys betahemolyysin tunnistamisessa kuin pistoilla ja peitinlasilla. Pistojen hyödyllisyyden selvittämisestä ei tulla saamaan paljoa uutta tietoa. Aiheesta on käytännön kokemuksella huomattu, että pistoista on hyötyä vain harvoin. Tästä on kuitenkin eriäviä mielipiteitä. Pistojen hyödyllisyydestä ei ole tehty aikaisempia tutkimuksia.

2 NIELUVILJELYNÄYTTEENOTTO - JA TUTKIMUS

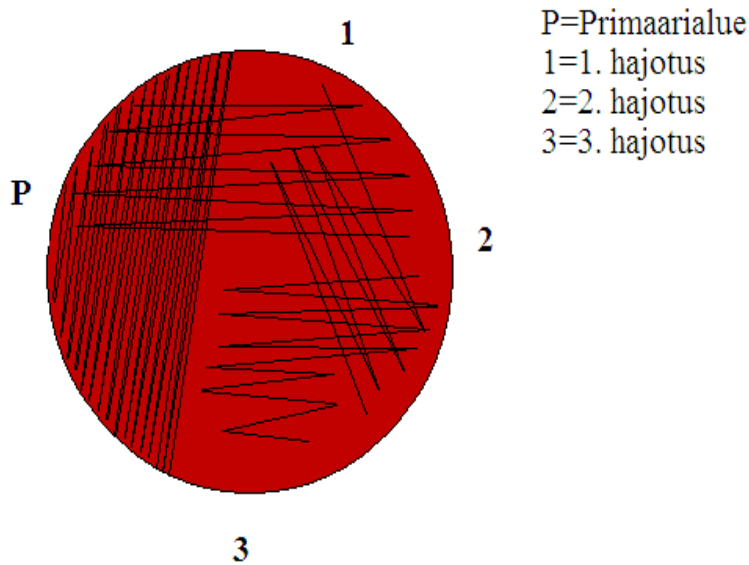
2.1. Nielun streptokokkiviljelyn näytteenotto

Nielun streptokokkiviljely tehdään kun tutkimusindikaationa on nielun streptokokkitonsilliitin epäily ylähengitysteiden oireiden perusteella. Tutkimuksen tarkoituksena on löytää nielutulehdusta aiheuttavia A (*Streptococcus pyogenes*)-, G- ja C-ryhmän beta-hemolyyttisiä streptokokkeja. (Jonsson – Karhumäki – Saros 2005: 192 - 193.) Ennen näytteenottoa potilaan on oltava syömättä ja juomatta ainakin tunnin. Myös desinfioivien huuhteiden ja kurkkupastillien käyttöä pitäisi välttää viimeisen tunnin aikana ennen näytteenottoa. (Ylönen 2002: 104.) Näin bakteerit eivät huuhtoudu pois nielusta. Näyte otetaan näytteenottotikulla tonsilloista varoen koskemasta suun muihin alueisiin. Muilla alueilla on normaaliflooraa, joka voi häiritä tuloksen tulkintaa. (Lehto – Rautajoki – Tuokko 2008: 93 - 94.)

Näyte voidaan laittaa geelikuljetusputkeen tai viljellä heti näytteenoton jälkeen verimaljalle. Jos näyte laitetaan kuljetusputkeen, se otetaan kuljetusputken korkissa kiinni olevalla pumpulitikulla. Kuljetusputkea voi säilyttää huoneenlämmössä, mikäli se ehtii vuorokauden kuluessa tutkivaan yksikköön. Jos kuljetusputki ei ehdi vuorokauden sisällä tutkittavaksi, säilytetään sitä jääkaapissa. (HUSLAB ohjekirja 2008.)

2.2. Nielun streptokokkiviljelynäytteen tutkiminen

Näyte viljellään huoneenlämpöiselle CO:lle eli kolistiinioksooliinihappoverimaljalle kolmikenttähajotustekniikalla (kuvio 1) niin, että aluksi levitetään vanutikulla näytettä tiheästi maljan ensimmäiselle kolmannekselle samalla näytetikkua pyöritellen. Geeli ei saa mennä viljelyn aikana rikki, sillä se haittaa tulosten tulkintaa. Vanupuikko vaihdetaan steriiliin viljelysauvaan. Sauvalla levitetään viljellyltä alueelta bakteereita vielä toiselle puolelle maljaa harvoin vedoin. Sauvalla jatketaan levittämistä niin, että sauvaa kuljetetaan harvojen alueiden läpi ja tehdään muutama harvempi veto lisää, niin etteivät ne kosketa jo viljeltyjä alueita. Näin saadaan kasvavat pesäkkeet toisistaan erilleen. (Miikkulainen-Lahti 2009.)



KUVIO 1. Näytteen viljeleminen verimaljalle kolmikenttähajoitustekniikalla (Aydar – Holmström 2010).

Basitrasiiniekkoa käytettäessä asetetaan se pinseteillä tiheästi viljellylle alueelle kevyesti painaen agariin (Lehto – Rautajoki – Tuokko 2008: 93–94). Geeliin tehdään joskus myös viljelysauvalla reikiä, joiden tarkoituksena on aiheuttaa vähähappinen tila, jossa streptokokit kasvavat paremmin ja betahemolyysi voimistuu. Viljeltyjä verimaljoja kasvatetaan yön yli lämpökaapissa, jossa on hiilidioksidiatmosfääri ja lämpöä 35–37 °C. (Kotilainen – Syrjänen – Vuopio-Varkila 2010: 106.) Maljoja pitää säilyttää maljan pohja ylöspäin, tunnistetiedot maljan pohjassa. (Lehto – Rautajoki – Tuokko 2008: 93–94). Seuraavana päivänä maljat tulkitaan. Maljoja tarkastellaan valoa vasten ja niistä on tarkoitus löytää betahemolyysiä. Positiivisiksi epäillyt maljat lähetetään bakteriologian laboratorioon jatkotutkimuksiin. (Jonsson – Karhumäki – Saros 2005: 192–193.) Epäselvissä tapauksissa tehdään jatkoviljelyjä kasvattamalla maljaa lämpökaapissa vielä toinen vuorokausi (Koskela – Lehtonen – Ojanen 1996: 264–267).

2.3. Basitrasiinitesti

Basitrasiini on rakenteeltaan monimutkainen peptidirakenteinen lääke, joka tappaa grampositiivisia bakteereita. Basitrasiinin vaikutus perustuu bakteerin soluseinän peptidoglykaanisynteesin estoon. Se on hyödyllinen paikallishoidossa, mutta liian toksinen systeemisesti käytettynä. (Huovinen – Vaara 1998: 393, 338.) Basitrasiinitestillä erote-

taan A-ryhmän streptokokki muista betahemolyyttisistä streptokokeista. Basitrasiinilla on kyky estää bakteerin kasvua verimaljalla. Maljalla se näkyy basitrasiinin ympäröivänä punaisena renkaana, josta punasolut eivät ole hajonneet ja A-ryhmän streptokokit eivät kasva. Basitrasiinikiekon virhelähteenä on kuitenkin se, että myös osa B-, C- ja G-ryhmän streptokokeista on sille herkkiä. Basitrasiinia käytetään, koska A-ryhmän streptokokit ovat sille herkkiä. (Kotilainen – Syrjänen – Vuopio-Varkila 2010: 107.)

Aiemmin kaikki A-ryhmän streptokokit olivat sensitiivisiä basitrasiinille. C- ja G-ryhmien streptokokit olivat taas pääasiallisesti resistenttejä sille. Silloin oli helpompaa löytää A-ryhmän streptokokit maljalta. (Miikkulainen-Lahti 2009.) Nykyään osa C- ja G-ryhmän streptokokeista on myös sensitiivisiä basitrasiinille ja jotkut A-ryhmän streptokokit taas resistentimpiä sille. Siten tulkinta on vaikeutunut ja tulokset vastataan pelkän basitrasiinitestin perusteella mahdollisena A-ryhmän streptokokkina. Testin käyttö on kyseenalaistettu, eivätkä kaikki laboratoriot enää käytä sitä. (Koskela – Lehtonen – Ojanen 1996: 264 - 267.) Ongelmana on myös se, että osa oireettomista kantaa nielussaan betahemolyyttisiä streptokokkeja, mutta voivat kuitenkin tartuttaa bakteerin toiseen henkilöön (Huovinen – Putto-Laurila: 1769.) Työssä kartoitetaan basitrasiinikiekon käytön yleisyyttä ja mielipiteitä sen käytön hyödyllisyydestä eri laboratorioissa. Perusteluna tälle kartoitukselle on se, että basitrasiini oli aiemmin varma A-ryhmän streptokokin osoittaja, mutta nykyään se on vain suuntaa-antava. Kartoituksessa halutaan osoittaa basitrasiinikiekon käyttö nykyään ja onko se muuttunut.

2.4 Muut bakteerin tunnistustestit

Streptokokin ryhmä määritetään agglutinaatiotestillä. Muutamasta puhtaasta tutkittavasta pesäkkeestä tehdään suspensio ekstraktioentsyymiputkeen ja putkea inkuboidaan 10 minuuttia lämpöhauteella 35 °C:ssa. Ekstraktiolla eli uuttamisella eristetään bakteerisolujen antigeenit (Oxoid 2009.) Reagenssien sisältämien muovipallojen pinnoissa on antigeenia tunnistavia vasta-aineita. Kun reagenssi sekoitetaan näytteeseen, nämä vastaaineet tarttuvat streptokokkien antigeeneihin ja saostuminen näkyy sakkana, jonka voi nähdä paljain silmin. (Mäkelä – Mäkelä 1994: 130.)

Voges- Proskauer eli Vp-testi erottaa *S.viridans* ryhmän streptokokit oikeista A-, G- ja C-ryhmän streptokokeista. Testin periaatteena on mikrobin kyky tuottaa puryvaatista asetoiniä. Asetoiini hapettuu diasetyyliksi hapen ja kaliumhydroksidin vaikutuksesta.

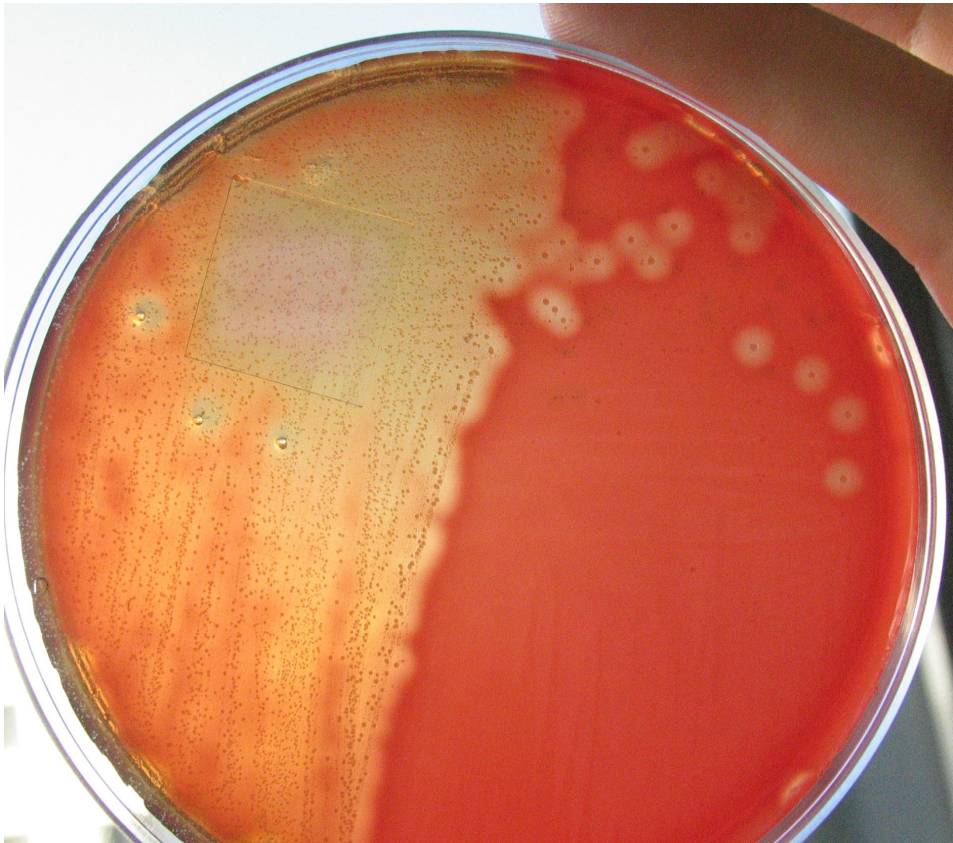
Diasteyyli muodostaa punaisen kompleksin. Alfaftolireagenssilla parannetaan testin herkkyyttä ennen kaliumhydroksidin lisäystä. Bakterista tehdään samea suspensio natriumkloridiputkeen, johon lisätään VP-kiekkko. Putkea inkuboidaan 35 °C:ssa 4 tuntia, jonka jälkeen lisätään reagenssit. Testissä *S. viridans* ryhmään kuuluvat bakteerit ovat positiivisia ja kliinisesti merkittävät streptokokit negatiivisia. Positiivisuus näkyy putkessa punaisena värinä.

Katalaasitestin periaattana on bakteerin kyky muodostaa vetyperoksidia hajottavaa katalaasientsyymiä. Testissä käytetty vetyperoksidi hajoaa katalaasientsyymien vaikutuksesta vedeksi ja hapeksi, joka ilmenee liuoksen kuohuntana. Katalaasitestillä erotetaan stafylokokit streptokokeista. Stafylokokit ovat katalaasipositiivisia ja streptokokit katalaasinegatiivisia. Maljalta otetaan hajotusalueelta muutama pesäke puutikulla tai silmukalla ja se kastetaan vetyperoksidiin. Jos bakteeri on katalaasipositiivinen, alkaa liuos heti kuplia. (Eviran työohje 2006: 1-3.)

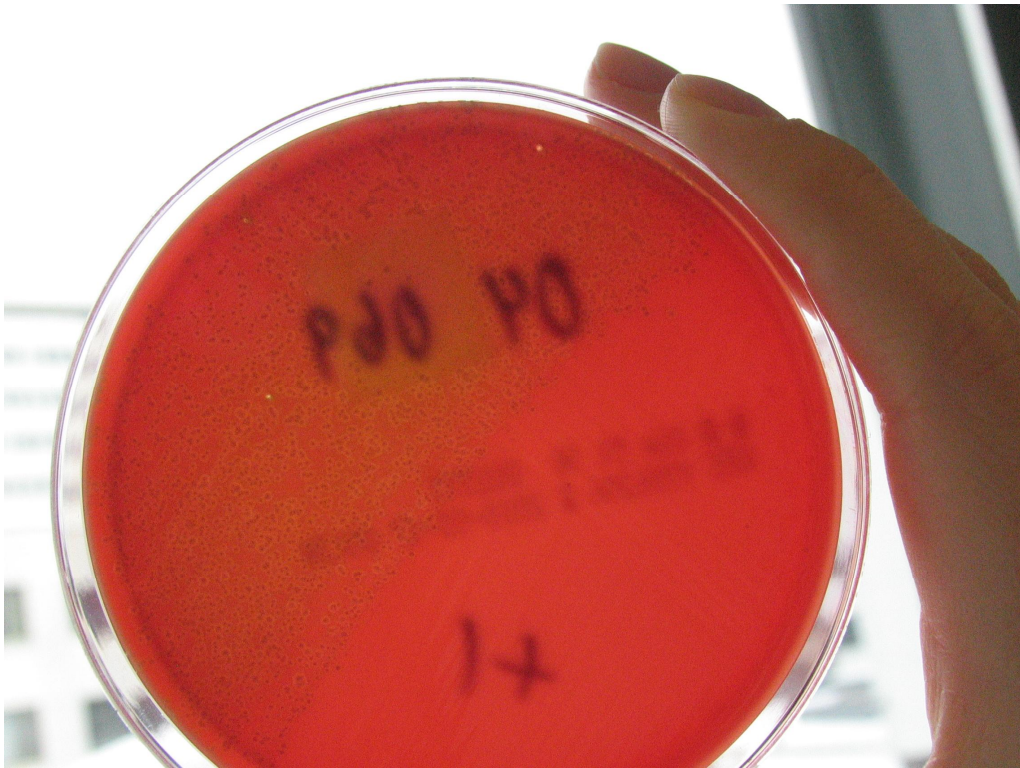
3 HEMOLYYSI

Betahemolyttiset streptokokit aiheuttavat anaerobisessa tilassa voimakkaammin hemolyysejä kuin aerobisessa tilassa. Hemolyysi näkyy maljalla kirkkaana alueena. Siinä ei ole punasoluja, koska ne ovat hajonneet. Streptokokit ja jotkin muut bakteerit tuottavat punasoluja hajottavia entsyymejä, jolloin verimaljalla syntyy hemolyysejä. (Leinonen – Sivonen – Vuopio-Varkila 1998: 396.)

Alfahemolyysi on epätäydellinen hemolyysi. Pesäkkeen ympärille muodostuu vihertävä pieni alue. Betahemolyysi taas on täydellinen hemolyysi. Siinä kaikki punasolut ovat hajonneet ja siten pesäkkeen ympärillä kirkas laaja kenttä (Kuvio 2). Kuviossa 2 on näkyvissä pääasiallisesti betahemolyysejä, mutta hajotusalueella näkyy myös vihertävää alfahemolyysejä. Kuviossa 3 on nähtävissä vain vihertävä alfahemolyysi. Gammahemolyysi on non-hemolyttinen hemolyysi eli siinä ei muodostu pesäkkeen ympärille kirkasta kenttää. (Leinonen – Sivonen – Vuopio-Varkila 1998: 396.)



KUVIO 2. Betahemolyysi verimaljalla (Aydar – Holmström 2010).

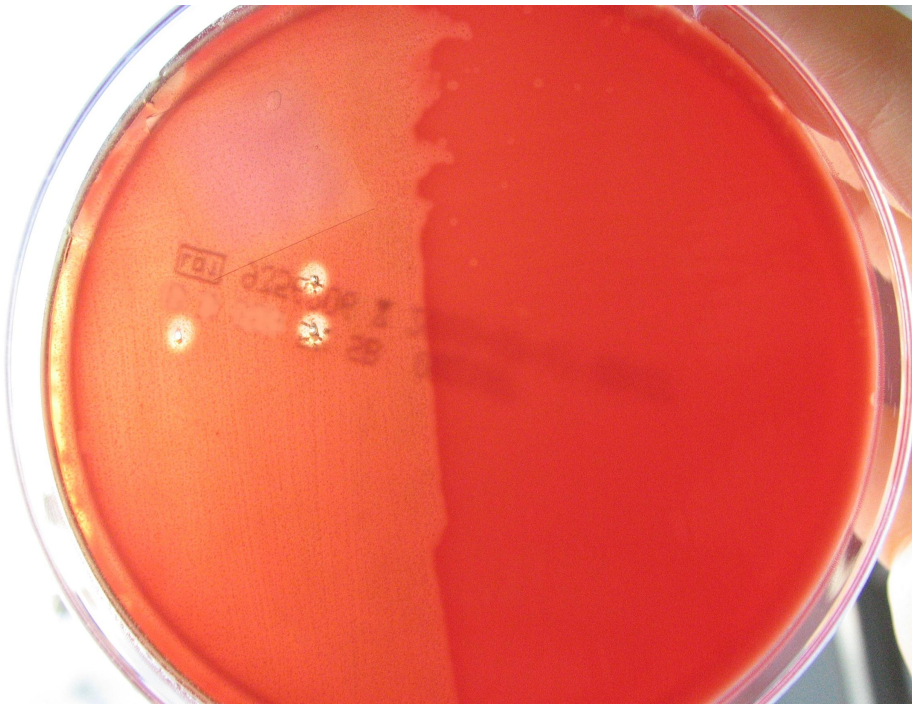


KUVIO 3. Alfahemolyysi verimaljalla (Aydar – Holmström 2010).

Pistojen tarkoituksena on aiheuttaa maljaan anaerobinen alue eli näytettä menee syvälle geeliin, jossa on pienempi happipitoisuus. Tämän oletetaan antavan vahvemman beta-hemolyysin. Samalla idealla on käytetty myös peitinlasia, joka aiheuttaa mikroaerofiilisen tilan. (Miikkulainen-Lahti 2009). Kuviossa 4 on nähtävissä tilanne, jossa peitinlasin alla oleva betahemolyysi korostuu. Kuviossa 5 taas on nähtävissä pistojen aiheuttama voimakas betahemolyysi muuhun maljaan verrattuna. Työssä tutkitaan näiden menetelmien käytön hyödyllisyyttä ja miten ne vaikuttavat tulokseen ja tulosten tulkintaan.



KUVIO 4. Peitinlasin alla näkyvä betahemolyysi verimaljalla (Aydar – Holmström 2010).



KUVIO 5. Pistojen vahvistama betahemolyysi verimaljalla (Aydar – Holmström 2010).

4 VERIMALJAT

Verimaljat ovat joko valmiita kaupallisia maljoja tai ne valmistetaan valmistajien lähettämistä jauheista mikrobiologian laboratoriossa. (Penttilä 2004: 352 - 356). Nieluviljelymaljoissa käytetään yleensä lampaan verta tai joskus myös hevosen verta. Maljojen pinnan on oltava ehjä, kostea ja kiiltävä. Maljojen on oltava tuoreita, joten päivämääriä pitää seurata. Maljoja säilytetään jääkaapissa, mutta näytteenoton aikana ja viljelyhetkellä niiden tulee olla huoneenlämpöisiä. (Lehto – Rautajoki – Tuokko 2008: 93-94). Nestemäinen elatusaine hyödytetään agarilla ja se valetaan petrimaljalle. Näin saadaan kiinteä elatusaine. Kiinteät verimaljat sisältävät defibrinoitua verta. Verimalja on kasvu- alusta monille aerobisille bakteereille. (Carlson – Koskela 2003: 23-24.)

Agar on punalevästä peräisin oleva sokeriyhdiste, jota käytetään muun muassa verimaljojen hyytelöimiseen (Tenhunen – Ulmanen – Yläne 2004: 160). Agar-agarin keksivät Fannie ja Walter Hess vuonna 1880 - 1881. Agar-agar on syrjäyttänyt aiemmin käytetyn liivatealustan, koska liivatealusta menettää jähmeytensä huoneenlämmön yläpuolella. Bakteerit eivät hajota agaria niin kuin ne pystyivät tekemään liivateelle. Agar liuotetaan veteen 95 celsiusasteen yläpuolella ja se jähmettyy 45 celsiusasteen alapuolella. Richard

Petri (1852 - 1921) keksi viljelymaljojen käytön. Agarin jähmettymisen ansiosta voitiin aloittaa bakteerien maljaviljelyt. (Salkinoja-Salonen 2002: 57 - 58.)

Becton Dickinson (BD) Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood eli Cna-malja on grampositiivisille kokeille tarkoitettu verimalja. Se sisältää 10 mg kolistiinia ja 15mg nalidiksiinihappoa litraa kohden. Siihen on lisätty 5 % lampaan verta. Malja tukee stafylokokin, hemolyyttisen streptokokin ja enterokokin kasvua kolistiinin ja nalidiksiinihapon ansiosta. Se estää *Proteus*-, *Klebsiella*- ja *Pseudomonas* -lajien kasvua. Malja sisältää myös haiman kaseiinia, pepsiiniä, hiivauutetta, lihauutetta, maissitärkkelystä, natriumkloridia. Maljan pH on 7.3. Maljalla on suhteellisen korkea hiilihydraattipitoisuus ja siten betahemolyttinen streptokokki voi aiheuttaa vihertävää hemolyysiä, jonka voi sekoittaa alfa-hemolyysiin. Tämä voi vaikeuttaa maljan tulkintaa ja positiiviset betahemolyysit voivat jäädä huomaamatta. (Becton Dickinson Diagnostics 2009: 1-2.)

BD Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) eli Ssa- malja on tarkoitettu *Streptococcus pyogeneksen* löytämiseen. Malja sisältää yhdistelmän selektiivisiä ainesosia, joiden on tarkoitus estää nielun normaaliflooran kasvua ja edistää siten *S. pyogeneksen* löytämistä. Malja sisältää haiman kaseiinia, soijapavun papaiinia, natriumkloridia, agaria, kasvutekijöitä, selektiivisiä aineita ja defibrinoitua lampaan verta. SsA-maljan pH on 7.4. (Becton Dickinson Diagnostics 2009: 1-2.)

BD Trypticase Soy Agar II with 5 % Sheep Blood eli Tsa- malja on tarkoitettu kasvuvaatimuksiltaan erilaisten bakteereiden löytämiseen ja hemolyyttisten reaktioiden havaitsemiseen. Se tarjoaa hyvän alustan betahemolyyttisille streptokokeille. Malja sisältää kaseiinia, soijapavun papaiinia, natriumkloridia, agaria, kasvutekijöitä ja defibrinoitua lampaan verta. Tsa-maljan pH on 7.3. (Becton Dickinson Diagnostics 2009: 1-2.)

Bio- Radin Columbia CNA +5 % Sheep Blood eli Csb- maljan sisältämä Cna yhdistelmä (kolistiini ja nalidiksiinihappo) on selektiivinen grampositiivisille kokeille. Se osoittaa myös hemolyyttiset reaktiot. Malja sisältää yhdistelmän peptoneita, tärkkelystä, natriumkloridia, nalidiksiinihappoa, kolistiinia, agaria ja defibrinoitua lampaan verta. (Bio-Rad Laboratories 2003: 1-2.)

HUSLABin bakteriologian laboratorion elatusaineisykkö valmistaa Oxoidin maljapohjasta CO- maljan, joka sisältää myös lampaanveren ja antibiootit. CO- malja on selektiiv-

vinen streptokokkimalja. Se sisältää kolistiiniliuosta, oksaliinihappoliuosta, agaria ja defibrinoitua lampaan verta. Maljan pH on 7.4 - 7.5. CO- malja estää gramnegatiivisten kokkien, stafylokokkien, basillusten ja difteroidien kasvua. Maljan sisältämä kolistiini estää sauvojen kasvun ja oksaliinihappo stafylokin kasvua. (Sivonen 2008: 1.)

5 STREPTOKOKIT

Streptokokit ovat grampositiivisia katalaasinegatiivisia kokkeja, jotka näkyvät mikroskoopissa usein ketjuina (Penttilä 2004: 352 - 356.) Grampositiiviset ja gramnegatiiviset bakteerit eroavat soluseinän rakenteen perusteella. Grampositiivisella bakteerilla on paksu peptidoglykaanikerros, kun taas gramnegatiivisilla bakteereilla on ohuen peptidoglykaanikerroksen ulkopuolella vielä ulkomembraanikalvo. (Sarvas – Skurnik – Vaara 2010: 25 - 26.) Streptokokit ryhmitellään hemolyysin perusteella alfa-, beta- ja gamma-hemolyyttisiin streptokokkeihin.

Streptokokkien lisäksi beetahemolyysiä saattavat aiheuttaa muun muassa myös enterokokit, *Streptococcus anginosus*- ryhmän streptokokit ja stafylokokit sekä muun muassa listeria ja arkanobakteeri. (Miikkulainen-Lahti 2009.) Streptokokit voidaan erottaa stafylokokkeista kataalasiestillä, jossa streptokokit ovat negatiivisia ja stafylokokit positiivisia. (Penttilä 2004: 352 - 356.)

Työssä keskitytään A-, C- ja G- ryhmän streptokokkien aiheuttamaan betahemolyysiin. On olemassa myös muita streptokokki ryhmiä kuten B ja F, jotka eivät ole streptokokki viljelyssä kliinisesti merkittäviä. B-ryhmän streptokokki on kuitenkin vastasyntyneille infektioita aiheuttava ryhmä ja siten tärkeä löydös. Muutkin kuin A-, C- ja G-ryhmän streptokokit aiheuttavat myös betahemolyysin, joten nämä on erotettava nielutulehdusta aiheuttavista A-, C- ja G-ryhmän streptokokeista. Normaalifloora aiheuttaa usein alfa-hemolyysiä, joka vaikeuttaa beetahemolyysin tunnistusta, koska ne saattavat muistuttaa toisiaan. Yleensä beetahemolyyttisen streptokokin ryhmä (A, C tai G) tunnistetaan agglutinaatiotestin avulla. Agglutinaatiotestiä varten bakteerin on oltava puhtaana eli se voidaan ottaa suoraan maljalta erillisestä pesäkkeestä. Puhdasviljelmä tehdään, jos maljalla ei ole erillisiä pesäkkeitä. Maljan avulla voidaan myös tarkistaa hemolyysin laatu eli beta- tai alfahemolyysi. (Miikkulainen-Lahti 2009.)

5.1 Betahemolyttiset streptokokkilajit

5.1.1 A-ryhmän streptokokki

A-ryhmän streptokokki eli *Streptococcus pyogenes* on grampositiivinen betahemolyttinen kokkibakteeri. Se aiheuttaa yleisimmin tonsilliittia, mutta myös useita erilaisia sairauksia iho- ja pehmytkudosinfektioiden ja vakavien yleisinfektioiden välillä. Vakavia yleisinfektioita voivat olla mm. pneumonia ja sepsis. A-streptokokki aiheuttaa eniten infektioita lapsille, nuorille aikuisille ja vanhuksille. Bakteeri tarttuu helposti pisara- ja kosketusteitse sekä oireettomasta että oireellisesta ihmisestä. (Kotilainen – Syrjänen – Vuopio-Varkila 2010: 102 - 103.)

Streptokokin soluseinä on hyaluronihappoa, joka on huonosti immunogeeninen, koska sitä on myös ihmisen sidekudoksessa. Siten bakteerisolun suojassa fagosytoosilta. Bakteerisolun M -proteiini on tärkein virulenssitekijä ja vasta-aineet sitä kohtaan suojaavat infektiolta opsonisoimalla. Opsonisaatiossa opsiinit päällystävät bakteerin pinnan, jolloin fagosytoosi tehostuu. (Kotilainen – Syrjänen – Vuopio-Varkila 2010: 102.) Bakteerin pinnalla on myös proteiineja, jotka sitoutuvat immunoglobuliinien Fc-päähän. Se estää vasta-aineiden vaikutusta sitomalla vasta-aineita pintaansa väärin päin. Ryhmäspesifinen polysakkaridi eli streptokokkeja alaryhmiin jakava C -polysakkaridi on rakenteeltaan polyramnoosia, jossa on sivuhaaroina N-asetyyli-glukosamiinia. (Sarvas – Skurnik – Vaara 2010: 25 - 26.) Bakteerin kiinnittymistä epiteelin pintaan auttaa lipoteikkohappo (LTA). Lipoteikkohappoja on grampositiivisten bakteerien soluseinässä ja ne huolehtivat solun ionitasapainosta. Soluun kiinnittynyt peptidaasi pilkkoo C5a:ta ja Sic-proteiini estää komplementin toimintaa. (Kotilainen – Syrjänen – Vuopio-Varkila 2010: 102.)

A-ryhmän streptokokin tuottamat eksoentsyymit ja -toksiinit parantavat sen mahdollisuuksia aiheuttaa tauti. Hemolysiini O ja S saavat aikaan hemolyyysin verimaljalla. Lisäksi C- ja G-ryhmän streptokokit tuottavat O-hemolysiiniä. Se voi siten vaikeuttaa A-streptokokin tunnistamista. Bakteeri tuottaa myös pyrogeenisia eli kuumetta aiheuttavaa eksotoksiineja ja erityisesti tyyppiin A liittyy toksisen sokin tyyppinen oireyhtymä sekä vakava tulirokko. Eksotoksiinien heikkous on superantigeneina toimiminen eli ne aktivoivat T-lymfosyyttejä ilman makrofagiin apua. (Kotilainen – Syrjänen – Vuopio-Varkila 2010: 102 - 103.)

5.1.2 B-ryhmän streptokokki

B-ryhmän streptokokki eli *Streptococcus agalactiae* on grampositiivinen betahemolyytinen kokkibakteeri. Sitä on tavallisesti emättimessä ja alemmassa suolistossa. B-streptokokki aiheuttaa infektioita vastasyntyneille. Bakteeri voi aiheuttaa aikuisilla muun muassa virtsatieinfektion, keuhkokuumeen, nivel tulehduksen, sepsiksen, aivokalvontulehduksen sekä ihon- ja pehmytkudosten infektion. Yli 60-vuoden ikä tai perustauti, kuten diabetes, maksasairaudet, HIV tai syöpäsairaudet voivat altistaa vakaville infektioille. Tartunta tapahtuu ihmisestä toiseen ja vastasyntynyt voi infektoitua äidin synnytyskanavan bakteerista. (Saxén – Vuopio-Varkila 2010: 110 - 111.) Bakteerilla on polysakkaridikapseli, joka parantaa sen taudinaiheuttamiskykyä. Kapselin rakenteen perusteella eri antigeenityyppeihin. Yleisimpiä ihmisten antigeenityyppejä ovat Ia, Ib, II ja III. (Saxén – Vuopio-Varkila 2010: 110.)

5.1.3 C- ja G -ryhmän streptokokki

C- ja G-ryhmän streptokokit ovat suuripesäkkeisiä betahemolyyttisiä streptokokkeja, joilla on Lancefieldin ryhmän C- tai G -antigeeni. Basitrasiinitestillä voidaan alustavasti tunnistaa A-ryhmän streptokokki, mutta joskus myös C- ja G-ryhmän streptokokit ovat sensitiivisiä basitrasiinille. G- ja C-ryhmän streptokokkeja on eri lajeja. Näistä esim. yleisesti infektioita ihmisille aiheuttaa *Str. equisimilis*. C- ja G-ryhmän streptokokkeja löytyy ihon ja nenänielun normaalifloorasta. Ne aiheuttavat yleensä nielutulehduksen sekä iho- ja pehmytkudosinfektioita. C- ja G-ryhmän streptokokit tuottavat streptolysiini O- eksotoksiinia, jonka takia ne voivat aiheuttaa kahden viikon kuluttua antistreptolysiini- tittereiden kasvun. (Anttila – Suppola 2003: 127.)

5.1.4 *Anginosus*-ryhmän streptokokit

Streptococcus anginosus ryhmään kuuluu alfa-, beta- ja ei -hemolyyttisiä kantoja. *S. anginosus* kasvaa pienempänä betahemolyyttisenä pesäkkeenä kuin *S. pyogenes*. Joillakin *S. anginosus* kannoilla on Lancefieldin F-, C- tai G-pinta-antigeeni. Joiltakin kannoilta se puuttuu. Agglutinaatiotesti saattaa välillä antaa nielun normaaliflooraan kuuluvista ei-patogeenisista streptokokeista C- tai G -ryhmän. Lisätestillä, ns. VP -testillä eli Voges-Proskauer- testillä tutkitaan onko C- tai G -ryhmän streptokokki patogeeninen

vai ei. (Anttila – Rantakokko-Jalava 2010: 124.) Betahemolyysin takia se voidaan kuitenkin joskus sekoittaa *S. pyogenekseen*.

6 TUTKIMUSASETELMA

6.1 Aikaisemmat tutkimukset

Aiheesta on löydettävissä hyvin vähän tutkimuksia. Yksi näistä tutkimuksista on ”Voiko A-ryhmän streptokokin tunnistaa basitrasiinitestin avulla?”, kirjoittanut Antti Nissinen. Tässä tutkimuksessa todettiin, että A-ryhmän lisäksi myös C- ja G-ryhmän streptokokit voivat olla herkkiä basitrasiinille. Yleisin basitrasiinille herkkä ryhmä oli A (67 %). Toiseksi yleisin ryhmä oli G (23 %) ja viimeisenä C-ryhmä (10 %). Tutkimustuloksissa todettiin, että basitrasiinitesti ei yksinään aina varmasti osoita onko kyseessä A-ryhmän streptokokki. Siksi kirjoittaja ehdottaa, että jos bakteeri on basitrasiinille herkkä, vastaan se ”todennäköinen A-ryhmän streptokokki”. Kirjoittajan mielestä ryhmä tulisi aina varmistaa agglutinaatiotestillä. (Nissinen 1998.) Nykyään tätä käytäntöä noudatetaan ja basitrasiinitestin avulla voidaan vastata alustavasti mahdollinen A-ryhmä.

6.2 Tutkimusongelmat

Työssä vertaillaan eri verimaljoja betahemolyysin tunnistuksessa. Tarkoituksena on selvittää, mikä on sopivin ja parhain malja nielutulehdusta aiheuttavien streptokokkien tunnistuksessa. Työssä selvitetään myös, hyödyttävätkö maljoihin laitettavat pistot ja peitinlasi betahemolyysin tunnistamisessa.

Työssä selvitetään basitrasiinikiekon sekä pistojen ja peitinlasin käytön laajuutta pääkaupunkiseudulla. Haastattelu pidetään kolmelle laboratoriolle kartoitusta varten. Jokaiselta laboratorion mikrobiologian asiantuntijalta kysytään, miten he edellä mainituista menetelmistä ohjeistavat omia laboratorioitaan, jotka lähettävät heille näytteitä. Se on kartoittava tutkimus.

Seuraaviin tutkimusongelmiin haetaan vastauksia:

- 1) Mikä verimaljoista Csb, Cna, Tsa-s, Ssa vai Co soveltuu parhaiten A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistukseen?

- 2) Miten nieluviljelymaljoihin tehtävät pistot vaikuttavat A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistukseen?
- 3) Miten nieluviljelymaljaan laitettava peitinlasi vaikuttaa A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistukseen?
- 4) Kuinka yleistä basitrasiinikiekon käyttö pääkaupunkiseudun laboratoriossa on?
- 5) Kuinka yleistä pistojen ja peitinlasin käyttö pääkaupunkiseudun laboratoriossa on?

7 TUTKIMUKSEN SUORITTAMINEN

Työssä on kaksi osaa, jotka ovat kokeellinen työ ja haastattelu. Kokeellisessa työssä vertailemme eri maljoja sekä pistojen ja peitinlasin tarpeellisuutta. Toisena osiona on haastattelu basitrasiinin, pistojen ja peitinlasin käytön yleisyydestä.

7.1 Verimaljojen vertailu

Maljojen vertailussa tutkimusmenetelmänä on kvantitatiivinen tutkimus. Kokeellisessa työssä saatiin tutkimustulokset vertailemalla maljoja toisiinsa. Työ on myös kartoittava, sillä siitä tiedetään hyvin vähän entuudestaan. Verimaljojen valmistajat lähettivät tutkimusmaljat hyvissä ajoin ennen tutkimuksen suorittamisen aloittamista, kuitenkin niin, etteivät ne ehtineet vanhentua ennen sitä. Tutkittavat bakteerinäytteet saatiin HUSLABin mikrobiologian laboratoriosta. Suurin osa bakteriologian laboratorioon lähetetyistä näytteistä on valmiiksi viljelty maljoille. Kokeellisessa työssä käytettiin kuitenkin vain geelikuljetusputkessa olevia näytteitä, joten näytteiden määrä oli rajallinen. Potilaiden henkilötiedot pysyivät salassa, kun työssä käytettiin vain näytteiden näyttenumeroita. Tulokset kirjattiin ylös näyttenumeron mukaan, mutta edes näyttenumeroita ei käytetty työssä. Työn tekoon varattiin muutama viikko aikaa.

Kustakin näytteestä valmistettiin bakteerisuspensio, jotta näytteet olivat samanvahvuisia. Yhteen millilitraan 0,9 % natriumkloridia sekoitettiin vortexilla näyte näytetikusta.

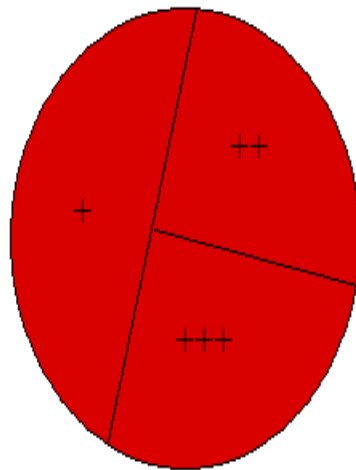
Kokeellisessa työssä oli ennen työn aloittamista tarkoitus viljellä noin 90 näytettä, mutta siinä viljeltiin kuitenkin 107 näytettä virheiden varalta. Näytteet viljeltiin kolmen valmistajan viidelle eri maljalle, joten maljoja viljeltiin yhteensä 535. Tuloksiin otettiin tehtyjen virheiden takia kuitenkin mukaan vain 528 maljan tiedot. Maljoja oli BD:ltä kolme erilaista ja kahdelta muulta valmistajalta yksi kultakin eli erilaisia maljoja oli yhteensä viisi. Viljelyvaiheessa näytteiden tulosta ei tiedetty etukäteen ja työn jälkeen ne tarkastettiin potilastietojärjestelmästä. Työhön toivottiin saatavan noin 40 positiivista näytettä, jotta se olisi luotettava. Työhön saatiin 54 positiiviseksi vastattua näytettä. Kolme näytettä oli vastattu negatiivisena, mutta niistä saatiin positiiviset vastaukset. Yksi näyte hylättiin, koska maljoilla ei kasvanut betahemolyyttisiä bakteeripesäkkeitä, vaikka näytteen olisi pitänyt olla positiivinen.

Näytteet viljeltiin jokaiselle eri maljalle laminaarivirtauskaapissa maljojen kontaminaation estämiseksi ja omaksi suojaksi. Suspensiosta viljeltiin jokaiselle maljalle puhtaalla pumpulitikulla primaarialue. Jokaiselle maljalle tehtiin hajotukset puhtaalla sauvalla, etteivät maljan sisältämät aineet päässeet siirtymään muille maljoille. Samoin pistot tehtiin aina puhtaalla sauvalla. Peitinlasit asetettiin primaarialueelle steriileillä pinseteillä kontaminaation estämiseksi. Pistojen hyödyllisyyttä maljalla selvitettiin siten, että tiheä alue jaettiin kahteen osaan. Toiselle puolelle tehtiin pistot ja lisättiin peitinlasi, mutta toiselle puolelle niitä ei laitettu. Maljalla käytettiin pientä peitinlasia (18 x 18 mm), joka mahtui primaarialueelle.

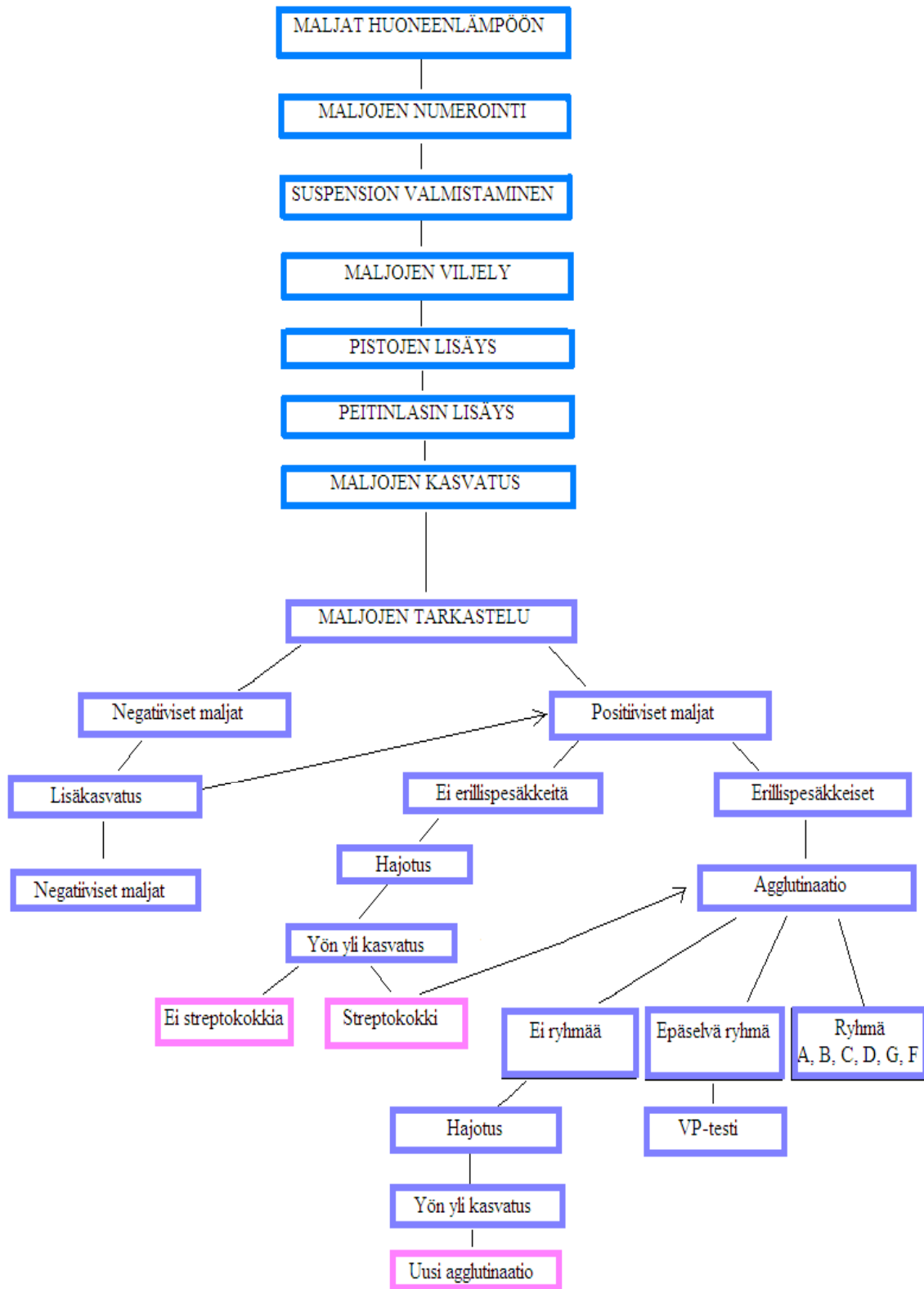
Näytteitä kasvatettiin yön yli hiilidioksidipitoisessa (pitoisuus 5 %) ja 35 °C:ssa lämpökaapissa. Seuraavana päivänä tulkittiin näytteet. Maljoilta tehtiin tarpeen vaatiessa hajotukset verimaljoille ja kasvatettiin toinen vuorokausi. Muutoin betahemolyyttisen pesäkkeen ryhmä määritettiin agglutinaatiotestillä. C-ryhmän patogeenisuus varmistettiin Voges Proskauer- testillä. Huonosti kasvaneita ja negatiivisia näytteitä kasvatettiin tarkastelun jälkeen vielä toinen vuorokausi. Yhden näytteen maljoja vertailtiin kerrallaan ja sen ominaisuudet kirjoitettiin taulukkoon. Maljoilta etsittäviä ominaisuuksia olivat streptokokkiryhmä, betahemolyysin ja normaaliflooran määrä, pistojen ja peitinlasin hemolyysi, hemolyysin koko ja kirkkaus sekä muut havainnot. Betahemolyysin ja normaaliflooran määrä ilmoitettiin plussilla. Yhdellä plussalla tarkoittaa, että bakteeripesäkkeitä oli vain primaarialueella, kahdella plussalla niitä oli primaarialueen lisäksi ensimmäisellä hajotusalueella ja kolmella plussalla niitä oli primaarialueella, ensimmäisellä ja toisella hajotusalueella (Kuvio 6). Muihin havaintoihin kirjoitettiin esimerkiksi

kuinka helppoa maljalta oli tehdä jatkotutkimuksia ja löytyikö maljalta muuta bakteeria kuin streptokokkia.

Stafylokokkiepäilyissä käytettiin katalaasitestiä. Lisäksi taulukkoon merkittiin oliko näytteelle tehty agglutinaatiotesti ja oliko näytteestä jouduttu tekemään hajotus tai lisäkasvattamaan primaarimaljaa. Apua saatiin bakteriologian laboratorion laboratoriohoitajilta ja mikrobiologilta. Epäselvissä tapauksissa testit toistettiin uudestaan. Tulokset kirjattiin ylös taulukkoon ja lopuksi niistä tehtiin tilastolliset tutkimukset SPSS-ohjelmalla. Seuraavalla sivulla on kaavio kokeellisen työn suorittamisesta (Kuvio 7). Kaaviossa jokainen päivä on kuvattu eri värillä. Sininen väriset palkit kuvastavat ensimmäisen päivän tapahtumia, violetit toisen päivän tapahtumia ja pinkit kolmannen päivän tapahtumia.



KUVIO 6. Bakteripesäkkeiden levinneisyys maljalla (Aydar – Holmström 2010).



KUVIO 7. Kaavio maljojen vertailun suorittamisesta (Aydar – Holmström 2010).

7.2 Haastattelu basitrasiiinista, pistoista ja peitinlasista

Kartoittavan tutkimusmenetelmän avulla selvitettiin basitrasiiiniekon käytön sekä pistojen ja peitinlasin yleisyyttä eri laboratorioissa. Kartoittava tutkimusmenetelmä selvittää vähän tunnettuja ilmiöitä ja etsii uusia näkökulmia. Työssä käytettiin aineistonkeruumenetelmänä kvalitatiivista eli laadullista haastattelua. Haastattelumuotona käytettiin strukturoitua haastattelua eli lomakehaastattelua. Haastattelun etuna on se, että lisäkysymyksillä voidaan saada epäselvään tai niukkaan vastaukseen selvyyttä. Ongelmana voi kuitenkin olla se, että haastattelijä voi tulkita eleiden ja äänenpainojen perusteella haastateltavan antamat vastaukset väärin ja siten antaa tutkimukseen virheellistä tietoa. Näin laadukkuus kärsii. Strukturoidussa haastattelussa kysymysten muoto ja järjestys on tarkkaan ennalta mietitty, joten aiheessa on helpompi pysyä kuin esimerkiksi avoimessa haastattelussa. Koska haastattelun tekeminen ja vastausten purku voi viedä paljon aikaa, soveltuu tämä haastattelumuoto parhaiten pienelle kohdejoukolle. (Hirsijärvi – Remes – Sajavaara 2009: 208– 212.) Työssä haastateltavia oli vain kolme. Haastattelu toteutettiin yksilöhaastatteluna ja haastateltavat pysyivät nimettöminä. Kun nimiä ei paljasteta, haastateltavat vastaavat todennäköisemmin totuudenmukaisesti.

Työssä haastateltiin kolmea laboratoriota, joihin tulee näytteitä pienemmistä sen alueen laboratorioista. Jokainen haastateltava laboratorio ohjeistaa alueensa laboratorioita tietyllä tavalla nielunäytteenoton jälkeisessä näytteen viljelyssä. Näin saatiin selville muutamalla haastattelulla suuri osa pääkaupunkiseudun laboratorioden käytännöistä. Liitteenä on haastattelukysymykset, jota käytettiin haastattelussa apuna (liite 1).

8 TULOKSET

8.1 Kokeellisen työn tulosten käsittely

Tulokset nielutulehdusta aiheuttavien streptokokkien tunnistuksesta käsiteltiin SPSS-ohjelmalla suuren aineiston takia. SPSS-ohjelma on tilasto-ohjelma ja sillä sai helposti laskettua prosenttiosuudet ja määrät eri muuttujille. Ohjelmalla saatiin selvitettyä, miten eri muuttujat jakautuivat eri maljoilla. Lisäksi selvisi tilastollinen merkitsevyys maljojen muuttujien välillä. Khiin neliötestin avulla. Monet työn tulokset on saatu silmämääräisesti arvioimalla, eikä suurimmasta osasta muuttujista voida määrittää mitään tarkkaa

arvoa, eikä tulos ole numeerinen. Siinä mielessä tilastolliseen merkitsevyyteen tulee suhtautua vain suuntaa antavana tietona. Kaikkia työssä saatuja tietoja ei ollut järkevää syöttää tilasto-ohjelmaan, joten niitä käsiteltiin kirjallisesti tilasto-ohjelmaan syötettyjen tietojen ohella.

8.1.1 Mann-Whitney testi ja ristiintaulukointi

SPSS- ohjelman Mann-Whitney testi on tarkoitettu kahden riippumattoman otoksen suuruuden vertailuun. Mann-Whitney- testiin voi syöttää arvoja, joilla on suuruusjärjestys. Tulosten purkamisessa päädyttiin käyttämään Mann-Whitney- testiä T-testin sijasta, sillä käytössä ei ollut parametrisesti mitattuja arvoja. Mann-Whitney -testi mittaa muuttujan mediaaneissa olevaa eroa. Mediaani on joukon keskimäinen luku. (Karjaluoto 2007.) SPSS- ohjelmalla testattiin Mann-Whitney- testillä maljojen välisiä eroja eri tekijöiden välillä. Siinä voi vertailla vain kahta eri maljaa kerrallaan, joten jokaista maljaa vertailtiin jokaisen maljan kanssa. Mann-Whitney- testin avulla tulkittiin muuttujia betahemolyysi, nielun normaalifloora ja betahemolyysin kirkkaus.

Ristiintaulukoimalla tutkitaan kahden muuttujan välistä riippuvuutta. Khiin neliötestillä selvitetään, kuinka paljon odotetut ja havaitut frekvenssit eroavat toisistaan. Odotettu frekvenssi tarkoittaa sitä, että frekvenssien välillä ei ole eroja. Jos odotettujen ja havaittujen frekvenssien erot ovat tarpeeksi suuret, voidaan olettaa, että havaitut erot pätevät myös perusjoukossa. Näin erot eivät johdu pelkästään sattumasta. (KvantiMOTV 2004). Khiin neliötestissä odotetuista frekvensseistä korkeintaan 20 % saa olla alle viisi ja yksikään niistä ei saa olla alle yksi. P-arvo kertoo tilastollisen merkitsevyyden testisuureiden eroavaisuuksien välillä. Ero on tilastollisesti erittäin merkitsevä kun $p \leq 0,001$. Ero on tilastollisesti merkitsevä kun $0,001 < p \leq 0,01$ ja $0,01 < p < 0,05$ ero on tilastollisesti melkein merkitsevä. Jos p-arvo on $0,05 < p < 0,1$ on ero tilastollisesti oireellinen eli suuntaa antava.

Tutkimuskysymyksenä on ”Mikä verimaljoista Csb, Cna, Tsa, Ssa vai Co soveltuu parhaiten betahemolyysin tunnistukseen?” Halutaan siis tietää, onko maljojen välillä eroja. Mahdolliset erot saadaan selville ristiintaulukoimalla ja Khiin neliötestillä, joita tässä työssä käytetään.

8.1.2 A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttama betahemolyysi

Ristiintaulukoimalla selvitettiin, millä maljalla A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttamaa betahemolyysiä esiintyi eniten, millä vähiten ja millä siltä väliltä. Taulukon 1. ”Ei hemolyysiä” tarkoittaa, että maljalla ei ollut A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttamaa betahemolyysiä. ”Yhdellä plussalla” tarkoittaa, että nielutulehdusta aiheuttavien streptokokkien aiheuttamaa betahemolyysiä oli maljan primaarialueella. ”Kahdella plussalla” tarkoittaa, että vastaavaa betahemolyysiä oli myös ensimmäisellä hajotusalueella ja ”kolmella plussalla”, että sitä oli toisella hajotusalueella primaarialueen ja ensimmäisen hajotusalueen lisäksi. Taulukon ”S. anginosus” tarkoittaa, että maljalla kasvoi *S. anginosus* ryhmään kuuluvaa bakteeria tai kliinisesti merkityksettömien streptokokkien aiheuttamaa betahemolyysiä. Taulukon tiedot on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 2, kuvio 1).

TAULUKKO 1. A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin esiintyvyys eri maljoilla

	Betahemolyysi						Yhteensä	
	Ei hemolyysiä	Yhdellä plussalla	Kahdella plussalla	Kolmella plussalla	S. anginosus			
Malja	cna	n	29	11	35	12	19	106
		%	27,4%	10,4%	33,0%	11,3%	17,9%	100,0%
	csb	n	27	9	27	22	20	105
		%	25,7%	8,6%	25,7%	21,0%	19,0%	100,0%
	tsa	n	32	9	32	18	15	106
		%	30,2%	8,5%	30,2%	17,0%	14,2%	100,0%
	ssa	n	51	17	16	11	11	106
		%	48,1%	16,0%	15,1%	10,4%	10,4%	100,0%
	co	n	28	11	22	26	19	106
		%	26,4%	10,4%	20,8%	24,5%	17,9%	100,0%
Yhteensä		n	167	57	132	89	84	529
		%	31,6%	10,8%	25,0%	16,8%	15,9%	100,0%

Yllä olevasta taulukosta (taulukko 1) nähdään, että Ssa-maljalla esiintyi vähiten betahemolyyttisiä pesäkkeitä ja se oli huonoin malja betahemolyysin löytämiseen. Muut maljat olivat keskenään aika lailla samaa tasoa, mutta Co-maljalta löytyi eniten betahemolyysiä kolmella plussalla ja oli siten paras malja betahemolyysin havaitsemiseen. Cna-, Csb- ja Co- maljalta löytyi lähes saman verran *S. anginosuksen* tai kliinisesti merkityksettömien streptokokkien aiheuttamaa betahemolyysiä. Tsa-maljalta sitä löytyi vähän vähemmän, mutta tilanne saattaa olla todellisuudessa toinen. Tämä siksi, että Tsa-maljalla kasvoi usein runsaasti stafylokokkia, joka on saattanut peittää alleen kliini-

sesti merkityksetöntä betahemolyysiä ja näin vääristää taulukon tuloksia. Vähiten *S. anginosuksen* tai kliinisesti merkityksettömien streptokokkien aiheuttamaa betahemolyysiä oli Ssa-maljalla. Khiin neliötestin mukaan viiden maljan välinen ero yhdessä on tilastollisesti erittäin merkitsevä (P-luku 0,002). Tämä tarkoittaa, että jossakin maljojen välillä on ero, mutta kaikkien maljojen välillä ei välttämättä ole merkitsevää eroa.

Mann-Whitney testin perusteella Co-maljalla oli eniten A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttamaa betahemolyysiä kaikista tutkituista maljoista, toiseksi eniten sitä oli Csb-maljalla ja kolmanneksi eniten Tsa-maljalla. Toiseksi vähiten betahemolyysiä oli Cna-maljalla ja Ssa-maljalta sitä löytyi kaikkein vähiten. Khiin neliötestin mukaan Cna- ja Ssa -maljojen, Csb- ja Ssa-maljojen, Tsa- ja Ssa-maljojen sekä Co- ja Ssa- maljojen välinen ero betahemolyysin suhteen oli tilastollisesti erittäin merkitsevä (P-luku 0,000).

Nielutulehdusta aiheuttavien streptokokkien aiheuttamaa betahemolyysin määrää vertailtiin sen mukaan kuinka laajasti se oli levinnyt maljalle ja löytyikö sitä ylipäättänsä maljalta. Pelkkä betahemolyysin levinneisyys maljalla ei kuitenkaan kerro koko totuutta A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin määrästä. Taulukko 1 ei paljasta kuinka tiheästi pesäkkeitä kasvoi maljalla, mutta antaa suuntaa antavan tuloksen siitä, onko etsittyä betahemolyysiä löytynyt maljalta paljon vai vähän suhteessa muihin maljoihin.

8.1.3 Nielun normaalifloora

Nieluviljelymaljoille joutuu usein varsinkin huonosti otetun näytteen takia normaaliflooraa, joka voi häiritä patogeenisen streptokokin löytämistä. Ristiintaulukoimalla selvitetiin, millä maljalla nielun normaaliflooraa esiintyi eniten, millä vähiten ja millä siltä väliltä. Mitä vähemmän normaaliflooraa kasvaa maljalla sen parempi. Pelkkä normaaliflooran levinneisyys maljalla ei kuitenkaan kerro koko totuutta sen oikeasta määrästä maljalla. Taulukossa 2 ”Ei normaaliflooraa” tarkoittaa, että maljalla ei ollut nielun normaaliflooraa. ”Yhdellä plussalla” tarkoittaa, että normaaliflooraa oli maljan primaari-alueella. ”Kahdella plussalla” tarkoittaa, että normaaliflooraa oli ensimmäisellä hajotus-alueella ja ”kolmella plussalla”, että sitä on ollut toisella hajotusalueella. Taulukko 2 ei paljasta kuinka tiheästi pesäkkeitä kasvoi maljalla, mutta antaa suuntaa antavan tuloksen siitä, onko normaaliflooraa löytynyt maljalta paljon vai vähän suhteessa muihin maljoi-

hin. Taulukon tiedot normaalifloorasta on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväs-kuviona (liite 2, kuvio 2).

TAULUKKO 2. Nielun normaaliflooran esiintyvyys eri maljoilla

			Normaalifloora				Yhteensä
			Ei normaaliflooraa	Yhdellä plussalla	Kahdella plussalla	Kolmella plussalla	
Malja	cna	n	15	3	50	38	106
		%	14,2%	2,8%	47,2%	35,8%	100,0%
	csb	n	18	3	51	33	105
		%	17,1%	2,9%	48,6%	31,4%	100,0%
	tsa	n	17	3	48	38	106
		%	16,0%	2,8%	45,3%	35,8%	100,0%
	ssa	n	39	51	13	3	106
		%	36,8%	48,1%	12,3%	2,8%	100,0%
	co	n	20	17	36	33	106
		%	18,9%	16,0%	34,0%	31,1%	100,0%
Yhteensä		n	109	77	198	145	529
		%	20,6%	14,6%	37,4%	27,4%	100,0%

Yllä olevasta taulukosta (taulukko 2) voidaan nähdä, että Ssa-maljalta löytyi vähiten normaaliflooraa, joka häiritsi A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin havaitsemista. Ssa-maljalla betahemolyysi oli siis puhtaimpana. Taulukon kolme ensimmäistä maljaa Cna, Csb ja Tsa olivat hyvin samankaltaisia normaaliflooran esiintyvyyden suhteen. Co-maljalla oli normaaliflooraa yhdellä plussalla eniten Ssa-maljan jälkeen ja vähemmän kahdella plussalla kuin Cna-, Csb- ja Tsa-maljoilla. Näin Co-maljan normaalifloora jäi useammin primaarialueelle kuin Cna-, Csb- ja Tsa-maljoilla. Co-maljan hajotusalueella oli siis vähiten normaaliflooraa häiritsemässä streptokokkipesäkkeiden poimimista jatkotutkimuksia varten. Khiin neliötestin mukaan viiden maljan välinen ero yhdessä on tilastollisesti erittäin merkitsevä (P-luku 0,000).

Mann-Whitney testin mukaan nielun normaaliflooraa esiintyi eniten Cna-maljalla ja seuraavaksi eniten Tsa-maljalla. Csb-maljalla oli kolmanneksi eniten normaaliflooraa, Co-maljalla toiseksi vähiten ja Ssa-maljalla vähiten. Maljojen erot normaaliflooran suhteen eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä lukuun ottamatta joitakin maljoja. Khiin neliötestin mukaan Cna - ja Ssa-maljojen, Csb- ja Ssa -maljojen, Tsa- ja Ssa-maljojen sekä Co- ja Ssa-maljojen välinen ero nielun normaaliflooran suhteen oli tilastollisesti erittäin merkitsevä (P-luku 0,000).

8.1.4 Betahemolyysin kirkkaus

Maljalla olevan betahemolyysin kirkkaus arvioitiin pesäkkeen ympärillä olevan beta-hemolyysin suuruudesta ja kirkkaudesta. Mitä parempi kirkkaus on, sitä helpommin voidaan betahemolyysi havaita ja löytää streptokokki normaaliflooran seasta. Selvittämällä betahemolyysin kirkkaus saatiin tietää, oliko betahemolyysi selvempi jollain tietyllä maljalla. Kirkkauden arvioiminen voi riippua aika paljon henkilöstä, joka sitä arvioi ja se ei siksi anna täysin luotettavaa kuvaa betahemolyysin todellisesta kirkkaudesta.

Mann-Whitney testin mukaan Csb-maljalta löytyi selkeämpiä eli suurempia ja kirkkaampia betahemolyysejä kuin muilta maljoilta. Cna-maljalta löytyi selkeämpiä eli suurempia ja kirkkaampia betaemolyysejä kuin Tsa-, Ssa- ja Co-maljalta. Tsa- ja Co-maljojen hemolyysit olivat kirkkaampia kuin Ssa-maljalla. Tsa-maljan hemolyysi oli miltei yhtä kirkas kuin Co-malja, mutta kirkkaampi.

Csb-maljalta löytyi siis suurempia ja kirkkaampia betahemolyysejä kuin millään muulla maljalla. Seuraavaksi kirkkain oli Cna-maljan betahemolyysi, kolmanneksi Tsa-malja, neljänneksi Co-malja ja vähiten hemolyysin kirkkautta löytyi Ssa-maljalta. Khiin neljöstestien mukaan Cna- ja Ssa-maljojen, Csb ja Ssa-maljojen, Tsa- ja Ssa-maljojen sekä Co- ja Ssa-maljojen välinen ero betahemolyysin kirkkauden suhteen oli tilastollisesti erittäin merkitsevä (P-luku on 0,000). Kaikkien muiden maljojen välillä kirkkauden ero oli niin pieni, että sillä ei ollut tilastollista merkitystä.

TAULUKKO 3. Betahemolyysin kirkkaus eri maljoilla

			Kirkkaus				Yhteensä
			Ei kirkas	Vähän kirkas/ pieni hemolyysi	Kirkas	Erittäin kirkas/ iso hemolyysi	
Malja	cna	n	37	15	23	29	104
		%	35,6%	14,4%	22,1%	27,9%	100,0%
	csb	n	34	17	24	28	103
		%	33,0%	16,5%	23,3%	27,2%	100,0%
	tsa	n	37	20	24	23	104
		%	35,6%	19,2%	23,1%	22,1%	100,0%
	ssa	n	58	31	13	3	105
		%	55,2%	29,5%	12,4%	2,9%	100,0%
	co	n	34	22	30	18	104
		%	32,7%	21,2%	28,8%	17,3%	100,0%
Yhteensä		n	200	105	114	101	520
		%	38,5%	20,2%	21,9%	19,4%	100,0%

Taulukosta 3 voidaan havaita, että Ssa-maljalla betahemolyysin kirkkaus poikkeaa muista maljoista suuresti. Ssa-maljalta löytyi eniten sellaisia pesäkkeitä, joissa ei ollut betahemolyysiä. Lisäksi Ssa-maljalta löytyi eniten vähän kirkkaita ja halkaisijaltaan pieniä betahemolyysejä. Kolme ensimmäistä maljaa olivat hyvin samankaltaisia kirkkauden suhteen, mutta Co-maljalla kirkas hemolyysi oli yleisempi kuin erittäin kirkas. Mikään maljoista ei ollut ylivoimainen kirkkauden suhteen. Khiin neliötestin mukaan viiden maljan välinen ero yhdessä on tilastollisesti merkitsevä. Taulukosta 3 voidaan nähdä, että Ssa-malja eroaa suuresti muista maljoista. Muiden maljojen välillä ei juuri ole eroja. Taulukon tiedot betahemolyysin kirkkaudesta on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 2, kuvio 3).

8.1.5 Hajotukset

Työssä merkittiin ylös kaikki tarvittavat hajotukset eri maljoille. Ristiintaulukoimalla maljojen välisistä hajotusten eroista saatiin tulokset. Hajotuksia eli puhtasviljelmiä tarvittiin, kun maljalla oli liian vähän betahemolyyttisiä pesäkkeitä, joista olisi voinut tehdä jatkoja tai jos streptokokki pesäkkeet olivat normaaliflooran joukossa. Mitä vähemmän hajotuksia maljasta jouduttiin tekemään, sen parempi malja.

Cna-malja vaati enemmän hajotuksia kuin muut maljat. Csb-malja vaati enemmän hajotuksia kuin Tsa-, Ssa- ja Co-malja. Tsa-malja vaati enemmän hajotuksia kuin Ssa- ja

Co-malja. Ssa-malja ja Co-malja vaativat miltei yhtä paljon hajotuksia, mutta Ssa-malja hiukan enemmän.

Cna-malja vaati siis eniten hajotuksia, toisena Csb, kolmantena Tsa, neljäntenä Ssa ja viimeisenä Co-malja. Co-malja oli siis parhain malja turhan työn ja ajan tuhlaamisen välttämiseksi ja Cna-malja maljoista huonoin.

TAULUKKO 4. Eri maljoilta tehdyt hajotukset

			Hajotus			Yhteensä
			Ei tarvittu hajotusta	Tehty hajotus	Tehty 2 hajotusta	
Malja	cna	n	65	38	3	106
		%	61,3%	35,8%	2,8%	100,0%
	csb	n	66	34	5	105
		%	62,9%	32,4%	4,8%	100,0%
	tsa	n	68	35	3	106
		%	64,2%	33,0%	2,8%	100,0%
	ssa	n	78	25	3	106
		%	73,6%	23,6%	2,8%	100,0%
	co	n	78	27	1	106
		%	73,6%	25,5%	,9%	100,0%
Yhteensä		n	355	159	15	529
		%	67,1%	30,1%	2,8%	100,0%

Yllä olevasta taulukosta (taulukko 4) näkee, että hajotuksen tulokset ovat kaikilla maljoilla melko yhteneväiset. Ssa- ja Co-malja vaativat vähiten hajotuksia eli ne kasvoivat puhtaimmin. Taulukon tiedot tehdyistä hajotuksista on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 2, kuvio 4).

8.1.6 Lisäkasvatukset

Normaalisti nieluvielijelymaljoja kasvatetaan kaksi vuorokautta hiilidioksidikaapissa, mutta tuloksen voi saada jo yhden vuorokauden jälkeen näytteen viljelemisestä. Haluttiin selvittää, mitkä maljat vaativat harvemmin ja mitkä useammin toisen vuorokauden kasvatuksen eli niin sanotun lisäkasvatuksen ennen tuloksen saamista. Niillä maljoilla, joilla streptokokit kasvoivat niukemmin, piti kasvattaa vielä toisen vuorokauden ajan. Kaikki muut maljat vaativat enemmän lisäkasvatuksia kuin Cna-malja. Csb-malja vaati enemmän lisäkasvatuksia kuin Tsa- ja Co-malja. Ssa-malja vaati enemmän lisäkasvatuksia kuin kaikki muut maljat. Co-malja vaati enemmän lisäkasvatuksia kuin Tsa-malja.

Ssa-malja vaati siis eniten lisäkasvatuksia kaikista maljoista ja se vei siten eniten aikaa tuloksen löytämisessä. Seuraavaksi eniten lisäkasvatuksia vaati Csb-malja, kolmanneksi Co-malja, neljänneksi Tsa-malja ja viimeiseksi Cna-malja. Täten Cna-maljaa tarvitsi lisäkasvattaa vähiten ja se oli paras malja nopeuden suhteen. Khiin neliötestin mukaan Cna- ja Ssa maljojen välinen ero lisäkasvatuksen suhteen oli tilastollisesti merkitsevä (P-luku on 0,006). Tsa- ja Ssa-maljojen välinen ero on lisäkasvatuksen suhteen tilastollisesti merkitsevä (P-luku on 0.009).

TAULUKKO 5. Eri maljojen lisäkasvatukset

			Lisäkasvatukset		Yhteensä
			Ei lisäkasvatusta	1 lisäkasvatus	
Malja	cna	n	62	44	106
		%	58,5%	41,5%	100,0%
	csb	n	54	51	105
		%	51,4%	48,6%	100,0%
	tsa	n	61	45	106
		%	57,5%	42,5%	100,0%
	ssa	n	42	64	106
		%	39,6%	60,4%	100,0%
	co	n	59	47	106
		%	55,7%	44,3%	100,0%
Yhteensä		n	278	251	529
		%	52,6%	47,4%	100,0%

Yllä olevasta taulukosta (taulukko 5) voidaan nähdä, että maljojen lisäkasvatukset olivat yhteneväiset lukuun ottamatta Ssa-maljoja, joita jouduttiin lisäkasvattamaan eniten. Khiin neliötesti osoitti, ettei muuttujien eroissa ollut tilastollista merkitsevyyttä. Taulukon tiedot lisäkasvatuksista on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 2, kuvio 5).

8.1.7 Agglutinaatio

Jokaiselta maljalta arvioitiin, kuinka helposti niistä pääsi selvittämään streptokokin ryhmän agglutinaatiotestillä ja kuinka usein agglutinaatiotesti piti toistaa. Taulukosta 6. selviää myös, kuinka eri maljoilta on saatu ryhmä, vaikka näyte on ollut negatiivinen. Taulukossa 6. ”Ei tarvittu agglutinaatiota” tarkoittaa sitä, ettei maljalla kasvanut streptokokin aiheuttamia betahemolyyttisiä pesäkkeitä. Taulukossa ”Agglutinaatio päivänä 1” tarkoittaa sitä, että ryhmä saatiin selville yhden vuorokauden kasvatuksen jälkeen.

”Agglutinaatio toisena päivänä” taas tarkoittaa sitä, että ryhmä saatiin selvitettyä vasta kahden vuorokauden kasvatuksen jälkeen. Kohta ” Ei agglutinoinut päivänä 1” tarkoittaa sitä, että agglutinaatiotesti on päästy tekemään yhden vuorokauden kasvatuksen jälkeen, mutta ei saatu tulosta. ”Ei agglutinoinut toisena päivänä” tarkoittaa taas sitä, että on päästy agglutinoimaan vasta toisen vuorokauden kasvatuksen jälkeen, mutta ei saatu tulosta. Taulukon ”Negatiivinen näyte, mutta saatu ryhmä, päivä 1” tarkoittaa, että yhden vuorokauden kuluttua viljelystä on saatu jokin ryhmistä B, väärä C, D tai F eli näyte on kuitenkin ollut negatiivinen. Agglutinaatiossa saadut C-ryhmät varmistettiin Voges Proskauer-testillä, koska väärä C on kliinisesti merkityksetön. ”Negatiivinen näyte, mutta saatu ryhmä, päivä 2” tarkoittaa samaa kuin edellinenkin kohta, mutta ryhmä on saatu selville vasta kahden vuorokauden kasvatuksen jälkeen.

TAULUKKO 6. Eri maljoille tehdyt agglutinaatiotestit

		Agglutinaatio							Yhteensä
		Ei tarvittu agglutinaatiota	Agglutinaatio päivänä 1	Agglutinaatio toisena päivänä	Ei agglutinoinut päivänä 1	Ei agglutinoinut toisena päivänä	Negatiivinen näyte, mutta saatu ryhmä, päivä1	Negatiivinen näyte, mutta saatu ryhmä, päivä2	
Malja cna	n	31	43	16	2	10	1	3	106
	%	29,2%	40,6%	15,1%	1,9%	9,4%	,9%	2,8%	100,0%
csb	n	29	40	25	1	4	2	4	105
	%	27,6%	38,1%	23,8%	1,0%	3,8%	1,9%	3,8%	100,0%
tsa	n	32	41	17	3	7	3	3	106
	%	30,2%	38,7%	16,0%	2,8%	6,6%	2,8%	2,8%	100,0%
ssa	n	46	30	13	5	4	4	4	106
	%	43,4%	28,3%	12,3%	4,7%	3,8%	3,8%	3,8%	100,0%
co	n	29	48	13	1	9	2	4	106
	%	27,4%	45,3%	12,3%	,9%	8,5%	1,9%	3,8%	100,0%
Yhteensä	n	167	202	84	12	34	12	18	529
	%	31,6%	38,2%	15,9%	2,3%	6,4%	2,3%	3,4%	100,0%

Yllä olevasta taulukosta 6. voidaan nähdä eri maljoille tehdyt agglutinaatiotestit. Muutujien välisissä eroissa ei ollut tilastollista merkitsevyyttä. Ssa- maljaa piti useimmiten kasvattaa kahden vuorokauden ajan, jotta saatiin tehtyä agglutinaatio. Usein lisäkasvatuksen jälkeenkään Ssa-maljalta ei saatu tehtyä agglutinaatiota pesäkkeiden puuttuessa. Näin maljoja jouduttiin hylkäämään ja siksi ”ei agglutinoinut toisena päivänä” - lukumäärä jäi pieneksi Ssa-maljan kohdalla. Ssa- malja siis aiheutti eniten turhaa työtä agglutinaatiotestiin liittyen ja tuloksen saaminen viivästyi. Ssa- maljalta saatiin harvemmin ryhmä agglutinoimalla ensimmäisenä päivänä kuin muilta maljoilta.

8.1.8 Streptokokkiryhvät

Työssä arvioitiin, kuinka eri maljoista saatiin streptokokkiryhmä agglutinaatiotestissä ja oliko maljojen antamissa ryhmissä eroja. Lisäksi arvioitiin, kuinka moni maljoista ilmensi vääriä ryhmiä ja aiheutti täten turhaa työtä. Taulukosta 7. voidaan nähdä eri streptokokkiryhmiä jakautuminen eri maljoilla.

TAULUKKO 7. Streptokokkiryhmiä jakautuminen eri maljoilla

	Ryhmä							Yhteensä
	Negatiivinen	A-ryhmä	B-ryhmä	C-ryhmä	D-ryhmä	Väärä C-ryhmä		
Malja cna	n	42	40	3	3	0	3	106
	%	39,6%	37,7%	2,8%	2,8%	,0%	2,8%	100,0%
csb	n	38	40	3	3	3	4	105
	%	36,2%	38,1%	2,9%	2,9%	2,9%	3,8%	100,0%
tsa	n	42	39	3	3	1	3	106
	%	39,6%	36,8%	2,8%	2,8%	,9%	2,8%	100,0%
ssa	n	56	39	7	0	0	0	106
	%	52,8%	36,8%	6,6%	,0%	,0%	,0%	100,0%
co	n	39	42	3	3	0	4	106
	%	36,8%	39,6%	2,8%	2,8%	,0%	3,8%	100,0%
Yhteensä	n	217	200	19	12	4	14	529
	%	41,0%	37,8%	3,6%	2,3%	,8%	2,6%	100,0%

Taulukosta 7 voidaan havaita, että Ssa-malja antoi agglutinaatiotestissä enemmän streptokokin B-ryhmää kuin muut maljat. Khiin neliötestin mukaan maljojen ero ei ollut tilastollisesti merkittävä. Maljat siis antoivat aikalailla yhtä usein samaa ryhmää eri näytteillä. Jokaiselta maljalta saatiin melkein yhtä paljon A-ryhmää. Ssa-malja antoi huomattavasti vähemmän G-ryhmää kuin muut maljat. Syy saattoi olla siinä, että Ssa-maljan ominaisuuksiin kuului se, että se on selektiivinen A-ryhmän streptokokeille. Taulukosta voidaan nähdä kuitenkin, että Ssa-malja löytää A-ryhmää saman verran kuin muutkin maljat, jotka eivät ole selektiivisiä pelkästään A-ryhmälle. Ssa-malja ei löytänyt yhtään C -ryhmän streptokokkia, mikä on huono asia, sillä C-ryhmän streptokokki on yksi haettavista nielutulehdusta aiheuttavista bakteereista. Vääriä C-ryhmiä ja D-ryhmiä se ei löytänyt, mikä oli Ssa-maljan hyvä puoli turhan työn välttämiseksi. Taulukon tiedot streptokokkiryhmistä on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 2, kuvio 6).

8.1.9 Peitinlasiin hyödyllisyys

Työssä selvitettiin, auttaako peitinlasi löytämään A-, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttamaa betahemolyysiä. Tulokset saatiin ristiintaulukoimalla. Mann-Whitney testi ei sopinut tähän testiksi, koska ominaisuuksia ei voinut tässä tapauksessa laittaa suuruusjärjestykseen.

Taulukossa 8 ”kirkas” tarkoittaa, että koko tai lähes koko peitinlasi oli kirkas, mutta ”kirkastumat” taas sitä, että lasin alla oli pieniä betahemolyyttisiä pesäkkeitä. Taulukon 8 ”auttaa” tarkoittaa sitä, että vain peitinlasiin alta löytyi betahemolyysiä ja siitä tehtiin hajotus, josta agglutinaatiotestin avulla löydettiin A-, C- tai G -ryhmän streptokokki. Sarakkeiden ”ei auta” tarkoittaa sitä, että peitinlasi ei auttanut nielutulehdusta aiheuttavan streptokokin löytämisessä, koska streptokokki pesäke oli nähtävissä maljalla ilman peitinlasiakin.

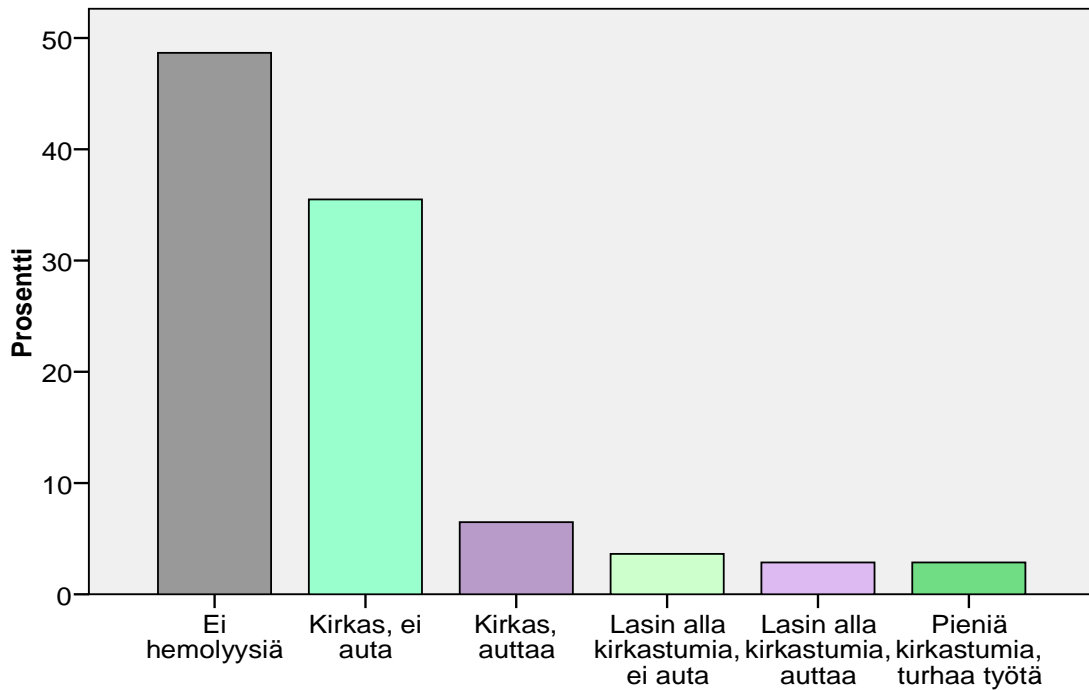
Taulukon 8 ”Pieniä kirkastumia, turhaa työtä” tarkoittaa, että peitinlasiin alta kirkastumista tehtiin hajotukset, mutta betahemolyyttisiä pesäkkeitä ei ilmaantunut hajotusmaljalle tai ne olivat *S. anginosus* ryhmään kuuluvia. Peitinlasiin alta tehtävät jatkotutkimukset veivät paljon aikaa, koska hajotusmaljoja piti kasvattaa vuorokauden verran ennen agglutinaatiotestin tekemistä. Lisäksi ne teettivät turhaa työtä silloin kun kyseessä ei ollutkaan nielutulehdusta aiheuttava streptokokki.

TAULUKKO 8. Peitinlasiin hyödyllisyys A-, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin havaitsemisessa eri maljoilla

		Peitinlasi						Yhteensä	
		Ei hemolyysiä	Kirkas, ei auta	Kirkas, auttaa	Lasin alla kirkastumia, ei auta	Lasin alla kirkastumia, auttaa	Pieniä kirkastumia, turhaa työtä		
Malja	cna	n	42	43	9	6	4	1	105
		%	40,0%	41,0%	8,6%	5,7%	3,8%	1,0%	100,0%
	csb	n	44	41	6	4	3	6	104
		%	42,3%	39,4%	5,8%	3,8%	2,9%	5,8%	100,0%
	tsa	n	45	40	12	4	2	2	105
		%	42,9%	38,1%	11,4%	3,8%	1,9%	1,9%	100,0%
	ssa	n	72	27	2	2	1	1	105
		%	68,6%	25,7%	1,9%	1,9%	1,0%	1,0%	100,0%
	co	n	52	35	5	3	5	5	105
		%	49,5%	33,3%	4,8%	2,9%	4,8%	4,8%	100,0%
Yhteensä		n	255	186	34	19	15	15	524
		%	48,7%	35,5%	6,5%	3,6%	2,9%	2,9%	100,0%

Taulukosta 8 voi nähdä, että peitinlasi ei yleensä auta betahemolyysin tunnistuksessa. 524 maljasta vain 49 maljalla peitinlasit auttoivat A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistusta. Maljoilla, joilla kasvoi eniten normaaliflooran pesäkkeitä (tsa- ja cna-maljat), peitinlasi auttoi useammin kuin muilla maljoilla. Koska normaaliflooran pesäkkeet häiritsivät muutenkin betahemolyysin havaitsemista näillä maljoilla, peitinlasi auttoi havaitsemaan betahemolyysin muun kasvuston seasta paremmin. Koska Ssa-maljalla taas ei oikein kasvanut muuta kuin betahemolyyttisiä pesäkkeitä, peitinlasista ei oikein ollut hyötyä, sillä betahemolyysi näkyi ilman peitinlasiakin. Co- ja Csb-maljojen peitinlasit aiheuttivat eniten turhaa työtä siten, että betahemolyysin aiheuttaja ei ollutkaan patogeeninen streptokokki. Peitinlasin alta jouduttiin turhaan tekemään hajotukset ja odottamaan taas yhden vuorokauden kasvatuksen takia. Khiin neliötestin mukaan maljojen väliset erot eivät ole tilastollisesti merkittäviä. Peitinlasin hyödyllisyyden selvittelyssä tarkoituksena ei varsinaisesti ollut selvittää millä maljalla peitinlasista oli eniten hyötyä. Työssä pohdittiin sitä, että voisiko maljoille laitettavat peitinlasit hyödyttää erilaisissa maljoissa paremmin kuin toisissa ja siksi peitinlasin hyödyllisyydestä on muodostunut eriäviä mielipiteitä. Taulukon tiedot peitinlasin hyödyllisyydestä on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 3, kuvio 1 ja 3).

Kuviosta 6 voidaan nähdä selkeästi kuinka harvoin peitinlasi auttoi A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa. Kuviossa ei ole eroteltu eri maljoja, vaan se on kaikkien maljojen yhteenveto peitinlasin hyödyllisyydestä. Maljojen vertailussa ei pyritty vertailemaan peitinlasin hyödyllisyyttä, vaan se on itsenäinen tutkimus. Peitinlasitutkimuksessa tärkeintä oli selvittää, auttaako peitinlasi ylipäätään A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa vai ei.



KUVIO 6. Peitinlasin hyödyllisyys A-, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttaman beta-hemolyysin havaitsemisessa

8.1.10 Pistojen hyödyllisyys

Csb- ja Co-maljalla pistojen ympärillä oli useammin kirkkautta kuin Cna-maljalla. Cna-maljalla oli useammin kirkkautta pistojen ympärillä kuin Tsa- ja Ssa-maljalla. Csb-maljalla oli useammin kirkkautta pistojen ympärillä kuin Tsa- ja Ssa-maljalla. Co-maljalla oli pistojen ympärillä useammin kirkkautta kuin Csb-, Tsa- ja Ssa-maljalla. Ssa-maljalla oli useammin kirkkautta pistojen ympärillä kuin Tsa-maljalla.

Co-maljalla oli siis useimmin kirkkautta pistojen ympärillä kuin muilla maljoilla. Toiseksi useimmin niitä oli Csb-maljalla ja kolmanneksi useimmin Cna-maljalla. Toiseksi harvimmin pistojen ympärillä kirkkautta oli Ssa-maljalla ja kaikista harvimmin Tsa-maljalla.

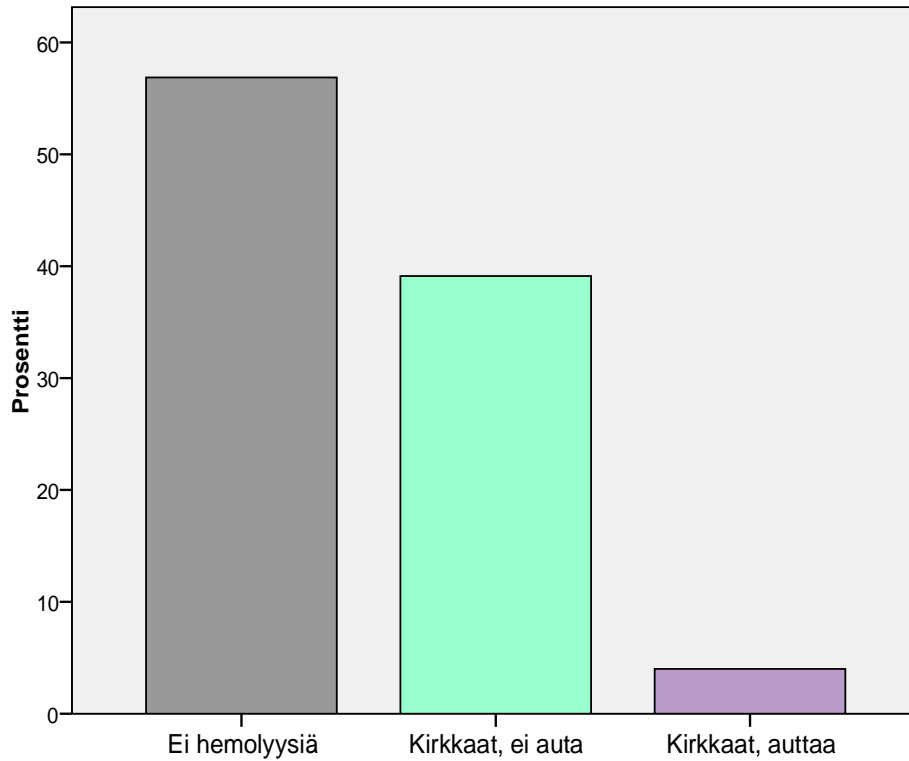
TAULUKKO 9. Pistojen hyödyllisyys A-, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin havaitsemisessa eri maljoilla

			Pistot			Yhteensä
			Ei hemolyysiä	Kirkkaat, ei auta	Kirkkaat, auttaa	
Malja	cna	n	62	37	6	105
		%	59,0%	35,2%	5,7%	100,0%
	csb	n	58	42	4	104
		%	55,8%	40,4%	3,8%	100,0%
	tso	n	65	35	5	105
		%	61,9%	33,3%	4,8%	100,0%
	ssa	n	63	38	4	105
		%	60,0%	36,2%	3,8%	100,0%
	co	n	50	53	2	105
		%	47,6%	50,5%	1,9%	100,0%
Yhteensä		n	298	205	21	524
		%	56,9%	39,1%	4,0%	100,0%

Yllä olevasta taulukosta (taulukko 9) voidaan nähdä, että pistot eivät juuri auta betahemolyysin tunnistusta. 524 maljasta vain 21 maljalla pistot auttoivat havaitsemaan betahemolyysin. Suuressa osassa maljoja pistot olivat kirkkaat, mutta eivät auttaneet tunnistamisessa, sillä betahemolyyttiset pesäkkeet olivat muutenkin nähtävissä maljalta. Khiin neliötestin mukaan maljojen väliset erot eivät ole tilastollisesti merkittäviä. Pistojen hyödyllisyyden selvittelyssä tarkoituksena ei varsinaisesti ollut selvittää millä maljalla pistoista oli eniten hyötyä. Työssä päädyttiin kuitenkin selvittämään sitä, koska jos työssä olisi löytynyt parempi malja betahemolyysin tunnistukseen, olisi pistojen merkitys voinut olla toinen kuin Co-maljalla. Työssä pohdittiin sitä, että voisiko maljoille laitettavat pistot hyödyttää erilaisissa maljoissa paremmin kuin toisissa ja siksi pistojen hyödyllisyydestä on muodostunut eriäviä mielipiteitä. Taulukon tiedot pistojen hyödyllisyydestä on esitetty havainnollisuuden vuoksi myös pylväskuviona (liite 3, kuvio 2 ja 4).

Kuviosta 7 näkyy, miten harvoin pistot auttavat betahemolyysin tunnistuksessa. Kuvion ”ei-hemolyysiä” tarkoittaa, ettei pistojen ympärillä ollut hemolyysiä. ”Kirkkaat, ei auta” tarkoittaa, että pistojen ympärillä oli betahemolyysiä, mutta niistä ei ollut apua betahemolyysin havaitsemisessa, sillä hajotusalueella oli betahemolyyttisiä pesäkkeitä, joista streptokokki oli muutenkin löydettävissä. ”Kirkkaat, auttaa” taas tarkoittaa, että pistojen ympärillä oli betahemolyysiä ja ne auttoivat betahemolyysin havaitsemisessa ja streptokokin löytämisessä. Kuviosta voidaan havaita, että useimmiten pistojen ympärillä

ei ollut betahemolyysiä tai pistot olivat kirkkaat mutta eivät auttaneet. Vain pieni osa kirkkaista pistoista auttoi betahemolyysin havaitsemisessa.



KUVIO 7. Pistojen hyödyllisyys A-, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttaman beta-hemolyysin tunnistuksessa

8.1.11 Peitinlasin ja pistojen hyödyllisyyden vertailu

Alla on vertailtu pistojen ja peitinlasin hyödyllisyyttä A-, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa. Alla olevista taulukoista voidaan nähdä kuinka monta prosenttia pistoista ja peitinlaseista auttavat tunnistuksessa ja kumpi niistä auttaa enemmän.

TAULUKKO 10. Peitinlasin hyödyllisyys määrinä ja prosentteina.

Peitinlasi		
	N	Prosentti
Ei hemolyysiä	255	48,1
Kirkas, ei auta	186	35,1
Kirkas, auttaa	34	6,4
Lasin alla kirkastumia, ei auta	19	3,6
Lasin alla kirkastumia, auttaa	15	2,8
Pieniä kirkastumia, turhaa työtä	15	2,8
Yhteensä	524	98,9
Puuttuu	6	1,1
Yhteensä	530	100,0

TAULUKKO 11. Pistojen hyödyllisyys määrinä ja prosentteina

Pistot		
	N	Prosentti
Ei hemolyysiä	298	56,2
Kirkkaat, ei auta	205	38,7
Kirkkaat, auttaa	21	4,0
Yhteensä	524	98,9
Puuttuu	6	1,1
Yhteensä	530	100,0

Taulukoista 10 ja 11 voidaan havaita, että peitinlasit autoivat A -, C- ja G -ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa useammin kuin pistot, vaikka ne autoivatkin vain harvoin. Taulukosta 10 ja 11 voidaan laskea, että auttavia peitinlaseja oli 9,2 % kun taas auttavia pistoja oli vain 4 %. Taulukossa 10 ”kirkas” tarkoittaa että koko tai lähes koko peitinlasi oli kirkas, mutta ”kirkastumat” taas sitä, että lasin alla oli pieniä betahemolyyttisiä pesäkkeitä. ”Pieniä kirkastumia, turhaa työtä” tarkoittaa, että peitinlasin alta kirkastumista tehtiin hajotukset, mutta betahemolyyttisiä pesäkkeitä ei ilmaantunut hajotusmaljalle tai ne olivat *S. anginosusta*. Peitinlasin jatkotutkimukset veivät paljon aikaa ja teettivät turhaa työtä.

8.2 Haastattelun tulosten käsittely

Kvalitatiivisista tekijöistä tehtiin sanallinen yhteenveto, josta tuli ilmi mahdolliset kehitysideoita. Työssä haastateltiin kolmea laboratoriota ja saatiin seuraavat tulokset. Ensimmä-

mäisenä haastateltavilta kysyttiin onko laboratoriolta jokin valmis ohje nielunäytteenoton jälkeiseen näytteen käsittelyyn eli ohje siitä, miten näytteen viljely maljalle tapahtuu. Kahdella laboratoriolta kolmesta oli olemassa siihen ohje. Laboratoriolta kysyttiin lupaa tulla haastattelemaan sähköpostin välityksellä ja haastatteluun osallistuminen oli vapaaehtoista. Haastateltavien tulokset luvattiin käsitellä työssä nimettömästi ja laboratoriot nimettiin kirjaimilla A, B ja C.

8.2.1 Basitrasiinikiekkon käyttö pääkaupunkiseudulla

Ensiksi kysyttiin ohjeistavatko laboratoriot alueensa laboratorioita käyttämään basitrasiinikiekkoa. Paikassa A ja B ohjeistetaan käyttämään basitrasiinikiekkoa, näin laboratoriot voivat antaa alustavan vastauksen mahdollisesti A. Paikka C valvoo laboratorion ohjeistusta ja ohjaa käyttämään basitrasiinikiekkoa, jolloin saadaan suuntaa antava tulos eli todennäköisesti A. Tämä jouduttaa asiakkaan hoitoa. Lisäksi kysyttiin miten he ovat päätyneet tähän käytäntöön ja onko heillä ollut aikaisempia tutkimuksia käytäntöön liittyen. Haastateltava A arveli, että basitrasiinikiekkon on huomattu käytännössä helpottavan ja nopeuttavan A-ryhmän streptokokin tunnistusta. Lisäksi tiedetään, että A-ryhmän streptokokki on herkkä basitrasiinille. Haastateltavilla ei ollut tietoa aikaisemmista tutkimuksista. Haastateltava B kertoi basitrasiinin käytön olevan Labqualityn suositus. Haastateltava C kertoi, että heille näytteitä lähettävillä laboratorioilla on oma ohje nieluviljelymaljan viljelyyn. Laboratorio C kertoi vain valvovansa laboratorioiden ohjeita, niin että ne ovat Käypähoitosuosituksen mukaisia. Jokaiselle maljalle, joka laboratorioon C tulee, laitetaan basitrasiinikiekkko. Jotkut laboratoriot seulovat maljat itse ja lähettävät positiiviset näytteet sitten laboratorioon C tarkistettavaksi, mutta jotkut lähettävät ne seulomattomana. Kaikkiin kolmeen laboratorioon (A, B ja C) tulee myös näytteitä geelikuljetusputkissa.

Haastateltavilta kysyttiin onko käytännössä jotakin kehitettävää. Paikat A ja B olivat sitä mieltä, että näytteen viljelemisen perehdytys on tärkeää, jotta basitrasiinikiekkko osataan laittaa oikealle kohdalle maljalla. Haastateltava A:n mielestä koulutuksessa on kehitettävää ja sitä pitäisi järjestää enemmän. Haastateltava B oli sitä mieltä, että heillä koulutus toimii hyvin, paitsi silloin kuin henkilökunta vaihtuu ja uusia työntekijöitä ei ole vielä ehditty perehdyttää. Lisäksi hän totesi, että yleisesti mikrobiologian laboratorioden tulisi panostaa enemmän perehdyttämiseen. Haastateltava C:n mielestä olisi pa-

rempi, jos heille lähetettäisiin kaikki nieluviiljelynäytteet geelikuljetusputkessa, jotta viljelyssä ja maljojen tulkinnessa ei tulisi virheitä.

8.2.2 Pistojen ja peitinlasin käyttö pääkaupunkiseudulla

Haastattelussa kysyttiin ohjeistavatko laboratoriot tekemään pistoja nieluviiljelymaljoille ja miksi. Laboratorio A ohjeistaa laittamaan pistot, mutta haastateltavan mielestä ohjeista voi tässä poiketa. Pistoja käytetään, koska käytännössä on huomattu, että ne helpottavat betahemolyysin tunnistusta esimerkiksi silloin kun betahemolyttinen pesäke on muun bakteerimassan alla. Paikat B ja C eivät ohjeista tekemään pistoja, koska niistä ei kokemuksen perusteella ole huomattu olevan hyötyä. Tutkimuksia pistojen hyödyllisyydestä ei missään haastateltavista laboratorioista ole ollut. Haastateltavilta kysyttiin löytyykö pistokäytäntöihin jotakin kehitettävää. Haastateltava A:n mielestä pistokäytäntöihin ei ole mitään kehitettävää ja pistot on tehty hyvin.

Lopuksi kysyttiin käyttävätkö laboratoriot peitinlaseja pistojen ohella. Mikään laboratorioista ei ohjeista käyttämään peitinlasia. Haastateltava A mainitsi lasien olevan työturvallisuusriski ja niitä on hankala käyttää. Peitinlasin käytöstä on haastateltavien A ja B mielestä enemmän haittaa kuin hyötyä.

8.3 Yhteenveto tuloksista

Maljoja arvioitiin erilaisten ominaisuuksien suhteen, jotta löydetäisiin paras malja A-, C- ja G-ryhmän streptokokin löytämiseen. Eri maljoista on kuvat liitteessä 4, kuvioissa 1-5. Co-maljalla esiintyi eniten A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttamaa betahemolyysiä kolmella plussalla, joten se oli paras malja tämän ominaisuuden suhteen. Co-maljalla betahemolyttisiä pesäkkeitä löytyi useimmin hajotusalueelta, joten pesäkkeiden poimiminen jatkotutkimuksiin oli helpointa. Muut kolme maljaa (Csb, Cna ja Tsa) olivat aika lailla samaa tasoa ja niistäkin oli helppo tehdä jatkotutkimuksia. Ssa-maljalla kasvoi vähiten betahemolyysiä ja pesäkkeet olivat hyvin pieniä. Kliinisesti merkityksettömien bakteerien aiheuttamaa betahemolyysiä löytyi maljoilta lähes saman verran, tosin Ssa-maljalta muita vähemmän.

Cna-, Csb- ja Tsa- malja olivat hyvin samankaltaisia normaaliflooran esiintyvyyden suhteen. Co-maljan normaalifloora jäi useammin primaarialueelle kuin Cna-, Csb- ja

Tsa-maljoilla. Co-maljan hajotusalueella oli siis vähiten normaaliflooraa häiritsemässä streptokokkipesäkkeiden poimimista jatkotutkimuksia varten. Ssa-maljalla kasvoi vähiten normaaliflooraa.

Maljat arvioitiin myös betahemolyysin kirkkauden suhteen. Ssa-maljalla oli selvästi vähiten kirkkaita ja kooltaan pienempiä betahemolyysijä ja sen ja jokaisen muun maljan välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero. Csb-maljalta löytyi suurempia ja kirkkaampia betahemolyysijä kuin miltään muulta maljalla, mutta Csb-maljan ero muihin maljoihin verrattuna ei ollut merkittävä. Kaikki maljat paitsi Ssa-malja olivat hyvin samankaltaisia betahemolyysin kirkkauden suhteen.

Ssa- ja Co-malja vaativat vähiten hajotuksia eli ne kasvoivat puhtaimmin. Co-maljalta saatiin tehtyä jatkotutkimukset nopeammin kuin muista maljoista. Ssa-maljalla kasvoi yleensä hyvin vähän betahemolyysia, joten siitä oli vaikea tehdä agglutinaatiotesti ja tunnistaa bakteeri silmämääräisesti. Mitä vähemmän hajotuksia maljasta jouduttiin tekemään, sen parempi.

Lisäkasvatusten suhteen maljojen lisäkasvatukset olivat muuten yhteneväiset, mutta Ssa- maljoja jouduttiin lisäkasvattamaan eniten kaikista muista maljoista, koska pesäkkeet olivat usein hyvin pieniä. Joskus muilla maljoilla saattoi olla kirkkaat betahemolyttiset pesäkkeet, kun Ssa-maljalla hemolyysia ei näkynyt ollenkaan. Tämän takia malja jouduttiin laittamaan vielä toiseksi vuorokaudeksi kasvamaan. Khiin neliötesti osoitti, ettei maljojen eroissa ollut tilastollista merkitsevyyttä.

Maljojen välisissä eroissa ei ollut agglutinaation suhteen tilastollista merkitsevyyttä eli maljat olivat samankaltaiset. Ssa-maljalta saatiin harvemmin ryhmä agglutinoimalla kasvatuksen jälkeisenä päivänä tai ryhmää ei saatu ollenkaan. Työssä arvioitiin, kuinka hyvin agglutinaatiotestissä saatiin ryhmä eri maljoista ja oliko maljojen antamissa ryhmissä eroja. Khiin neliötestin mukaan maljojen ero ei ollut tilastollisesti merkittävä. Maljat siis antoivat aikalailla yhtä usein samaa ryhmää. Ssa-malja antoi huomattavasti vähemmän G-ryhmää kuin muut maljat ja se antoi välillä B-ryhmää G-ryhmän sijaan.

Työssä päädyttiin siihen, että Cna- ja Csb-maljat olivat melko samanlaisia hemolyysien ja jatkotutkimusten suhteen. Cna- ja Csb-maljat vaativat yhtä paljon hajotuksia ja maljat

olivat muutenkin hyvin tasavahvuisia. Maljat toimivat hyvin betahemolyysin tunnistuksessa.

Tsa-maljalla kasvoi tiheästi nielun normaaliflooraa, joka vaikeutti betahemolyyttisten pesäkkeiden poimimista puhtaana agglutinaatiotesteihin. Havaintojen perusteella Tsa-maljalla kasvoi useimmin ja määrällisesti eniten stafylokokkia. Tämä vaikeutti streptokokki pesäkkeiden havaitsemista ja niiden poimimista puhtaana jatkotutkimuksia varten. Tästä huolimatta Tsa-maljalta saatiin tehtyä agglutinaatiotesti ja saatiin selville ryhmä lähes yhtä usein kuin Cna-, Csb- ja Co-maljalta. Tsa-maljalla kasvoi eniten streptokokki pesäkkeiden löytämistä häiritsevää bakteerikasvustoa.

Työssä päädyttiin siihen, että Ssa-malja on huonoin malja betahemolyysin tunnistukseen, koska siinä kasvoi vähiten betahemolyyttisiä pesäkkeitä eikä siitä aina löytynyt streptokokkia vaikka muilta maljoilta sitä löytyi. Normaaliflooraa ja kliinisesti merkittävien bakteerien aiheuttamaa betahemolyysiä esiintyi maljalla hyvin vähän, mikä oli Ssa-maljan parhain ominaisuus muihin verrattuna. Lisäksi betahemolyyttiset pesäkkeet olivat yleensä todella pieniä ja niistä oli vaikea selvittää ryhmä. Tämän takia maljaa jouduttiin kasvattamaan usein toisenkin vuorokauden ajan, mikä vei turhaan aikaa.

Co-malja oli paras malja A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin löytämiseen, sillä siinä oli eniten betahemolyyttisiä pesäkkeitä verrattuna muihin maljoihin ja siinä oli vähemmän normaaliflooraa kuin Csb, Cna- ja Tsa-maljoilla. Co-malja oli selkeä malja ja siitä sai tehtyä helposti jatkotutkimukset. Sitä ei tarvinnut kasvattaa toista vuorokautta yleensä sen useammin kuin Csb, Cna- ja Tsa-maljoja. Ssa-malja oli myös selkeä, mutta siitä ei saatu niin helposti tehtyä jatkotutkimuksia. Co-malja soveltuu parhaiten nielutulehdusta aiheuttavien streptokokkien tunnistukseen.

Työssä selvisi, etteivät pistot ja peitinlasi yleensä auta A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistuksessa. Peitinlasi auttoi useammin havaitsemaan betahemolyysiä kuin pistot. Peitinlasi koettiin kokeellisen työn aikana hankalaksi käyttää. Lisäksi siihen liittyy työturvallisuusongelmia lasin terävyyden takia ja peitinlasien käytöstä aiheutuisi lisää lasijätettä. Peitinlasi ja pistot vaikuttavat harvoin hyödyllisesti nielutulehdusta aiheuttavien streptokokkien tunnistuksessa.

Haastattelun perusteella kaikki laboratoriot, jotka lähettävät nielunäytteitä haastateltuihin laboratorioihin, käyttävät basitrasiinkiekkoa nieluviiljelymaljoilla. Suurin osa pääkaupunkiseudun laboratorioista siis käyttää basitrasiiniekkoa ja myös vastaa sen perusteella ”Todennäköisesti A-ryhmä”. Mikään haastatelluista laboratorioista ei ohjeistanut käyttämään peitinlasia. Pistoja maljoille ohjeistettiin tekemään vain yhdessä kolmesta laboratoriosta. Basitrasiiniekon käyttö on yleistä pääkaupunkiseudulla ja melko yleistä on myös pistojen käyttö.

9 TULOSTEN LUOTETTAVUUDEN ARVIOINTI

Kokeellisessa työssä pyrittiin viljelemään näytteet jokaiselle maljalle steriilein välinein ja samoissa olosuhteissa, jotta saatiin mahdollisimman luotettavat tulokset. Työtä varten saatiin paljon näytteitä, joka tuki tulosten luotettavuutta. Kokeelliseen osioon käytettiin enintään viikon vanhoja geelikuljetusputkessa olevia näytteitä, koska liian vanhoja näytteitä ei voida enää pitää luotettavina. Näytteitä tulee vain vähän geelikuljetusputkessa, joten tutkimukseen ei voitu käyttää aivan tuoreita näytteitä. Näytteistä oli tehty laboratoriossa jo viljelyt ja vasta sen jälkeen ne saatiin työhön mukaan. Näin näytteeseen voitiin tulla kontaminaatio vaikka näytteet viljeltäisiinkin huolellisesti laminaarivirtauskaapissa, jolloin tulosten luotettavuus voi kärsiä.

Viljelyä varten tehtiin suspensiot, josta sitten vasta viljeltiin bakteeria maljoille. Näin jokaiselle maljalle saatiin saman verran bakteereita. Jos viljely olisi suoritettu suoraan geelikuljetusputkesta, olisi näytettä tullut eniten ensimmäisille maljoille ja sitä ei olisi välttämättä enää riittänyt viimeisille. Suspensiot tehtiin aina juuri ennen viljelyn aloittamista, jotta ne eivät kontaminoituisi ja bakteerit pysyisivät elossa. Suspensio valmistettiin aina samaan natriumkloridi-määrään, jotta näyte ei laimenesi liikaa ja jokaiselle maljalle riittäisi näytettä.

Ennen viljelyn aloittamista sovittiin yhteinen viljelytyyli. Viljelyssä saattoi olla eroavaisuuksia, koska viljelijöitä oli kaksi ja viljelykokemusta ei ollut paljon. Viljely suoritettiin jokaiselle maljalle steriilillä pumpulitikulla, joka vaihdettiin jokaisen maljan välissä. Myös hajotus tehtiin jokaiselle maljalle aina steriiliä sauvaa vaihtaen. Samoin toimittiin pistojen kanssa. Näin estetettiin eri maljoilla olevien aineiden siirtyminen muille maljoille vääristämään tuloksia. Peitinlasi lisättiin steriileillä pinseteillä kontaminaation estämi-

seksi. Pinsetit vaihdettiin aina, kun ne likaantuivat esimerkiksi kosketettuaan näytettä. Viljeltäviä näytteitä viljeltiin aina jokin tietty määrä ja ne laitettiin kaikki samaan aikaan lämpökaappiin. Jokainen malja merkittiin näytenumerolla ja näytteiden viljelypäivämäärät merkittiin ylös. Seuraavana päivänä maljat tutkittiin silmämääräisesti ja tulokset kirjattiin taulukoihin. Maljat säilytettiin jääkaapissa, mutta ne nostettiin huoneenlämpöön hyvissä ajoin ennen viljelyn aloittamista. Maljoilta tarkastettiin silmämääräisesti, ettei niissä kasvanut mitään ennen viljelyä ja, että ne olivat muutenkin kunnossa. Lisäksi maljojen päivämäärä ja lot- numero tarkistettiin aina ennen viljelyä, jotta varmistettiin maljojen olevan aina samaa erää. Myös reagenssit olivat voimassa.

Tulkittamisessa vaikeuksia tuotti peitinlasin hemolyysin arviointi, sillä sen tulkittamisesta ei ollut ollenkaan kokemusta etukäteen. Vaikeuksia tuotti joissakin tilanteissa myös eri hemolyysien ja bakteeripesäkkeiden tunnistus kokemuksen vähyyden takia. Työtä edeltävä bakteriologian työharjoittelu kuitenkin antoi hyvän pohjan viljelyyn ja streptokokkien tunnistukseen. Maljat arvioitiin silmämääräisesti, joten ominaisuuksia ei voitu kirjoittaa niin tarkasti ja toinen arvioi aina hieman eri tarkkuudella kuin toinen. Tulokset eivät siis ole koskaan bakteriologiassa aivan tarkkoja kun on arvioitu silmämääräisesti. Katalaasitesti auttoi erottamaan stafylokokin streptokokeista tarvittaessa. Agglutinaatiotestiä varten suspensioputkia inkuboitiin oikea aika lämpöhauteella, jotta testi antaisi oikeat ryhmät. Työskentelyssä toimittiin huolellisesti ja noudatettiin tutkimuksen ohjeita tarkasti.

Työssä pyrittiin käyttämään luotettavia lähteitä vääristelemättä alkuperäistä tietoa ja teoriatietoon tutustuttiin etukäteen, jotta ymmärrettiin mitä oltiin tekemässä. Työn purkamisvaiheessa tuloksista tehtiin tilastollisia testejä. Testejä ei voida kuitenkaan pitää täysin luotettavina, sillä bakteriologinen maljojen arviointi on lähinnä sanallista eikä numeerista. Työssä tehtiin kuitenkin taulukoita, koska haluttiin verrata selkeästi eri maljojen eroja ja koska näytemäärä oli hyvin suuri.

Haastattelu tehtiin kasvotusten, sillä sähköpostilla olisi saattanut saada liian suppeita tai asian vierestä olevia vastauksia. Koska haastattelu oli suullinen, sai epäselviksi jääneet asiat varmistettua siinä samalla haastateltavalta, jolloin väärinkäsitykset minimoitiin. Samalla saatiin lisäselvitystä vastauksiin jos ne jäivät suppeiksi. Strukturoitu haastattelu onnistui, sillä haastattelussa oli mukana haastattelukysymykset, joiden avulla pysyttiin aiheessa ja eikä mitään jäänyt kysymättä. Kahden haastattelijan avulla saatiin paremmin

kysymysten vastaukset kirjoitettua ylös ja toinen saattoi täydentää toisen muistamia vastauksia. Näin vastauksista jäi vähemmän pois tietoa kuin jos haastattelijoita olisi ollut vain yksi. Myös yhden haastattelijan väärät käsitykset vastauksista ja haastattelijasta itsestään johtuvat tulkinnat vähenivät, sillä kaksi haastattelijaa yhdisti tulkintansa vastauksista.

10 POHDINTA

Opinnäytetyön aihe tarkentui mikrobiologin ja laboratoriohoitajan avustuksella pelkkien pistojen tutkimisesta maljojen vertailuun ja peitinlasin tutkimiseen. Myös basitراسiin, pistojen ja peitinlasin käytön kartoitus tuli osaksi opinnäytetyötä. Opinnäytetyössä pääpaino oli maljojen vertailussa, sillä pistoista ja peitinlasista ei oltu huomattu olevan paljoa hyötyä. Opinnäytetyö vahvisti pistojen ja peitinlasin hyödykkyyden oletuksen.

Työhön saatiin laaja näytemäärä ja paljon maljoja, koska viljelijöitä oli kaksi. Näin saatiin laajempi näytekirjo maljojen vertailulle. Viljeltäviä näytteitä oli 107, joista 54 oli positiivisia. Yhteistyössä on plussaa se, että toinen voi havaita virheen, jota toinen ei ole välttämättä huomannut. Lisäksi keskustelemalla voi yhdessä saada erilaisia näkökulmia työhön liittyen. Kun molemmat yhdistävät tietonsa ja taitonsa, saadaan aikaiseksi parempi kokonaisuus. Pistojen ja peitinlasin tutkiminen hoitui maljojen vertailun yhteydessä, joten siitä ei tarvinnut tehdä erillistä työtä.

Työssä selvitettiin, mikä oli paras malja A-, C- ja G-ryhmän streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistukseen. HUSLABin bakteriologian laboratorion oma Co-malja osoittautui parhaimmaksi kaikista maljoista, mutta se ei kuitenkaan ylivoimaisesti peitonnut muita maljoja. Työn tulosten perusteella todettiin, että siihen asti käytetty Co-malja oli laadullisesti hyvä, eikä maljaa tarvitse vaihtaa. Maljan vaihtaminen ei olisi muuttanut toimintatapoja, mutta se olisi aiheuttanut ylimääräistä työtä.

Toisena tutkimusongelmana oli pistojen ja peitinlasin hyödyllisyys nielutulehdusta aiheuttavan streptokokin betahemolyysin tunnistuksessa. Pistojen ja peitinlasien on havaittu hyödyttävän huonosti streptokokin aiheuttaman betahemolyysin tunnistusta ja tässä opinnäytetyössä se tulee vahvistettua. Haastattelun perusteella pistoja käyttää kuitenkin vielä moni pääkaupunkiseudun laboratorio. Haastattelun perusteella peitinlaseja

ei oikein enää käytetä pääkaupunkiseudulla, joten se on ilmeisesti vanhentunut vaihtoehtoinen käytäntö pistoille. Tämän perusteella voisi kuvitella, että pistot voisivat vielä joskus jäädä kokonaan pois maljoilta pääkaupunkiseudulla, jos niistä ei ole havaittu olevan kovinkaan paljoa hyötyä. Kokeellisessa osiossa peitinlasista oli enemmän hyötyä kuin pistoista, mutta silti pistot ovat vielä käytössä. Ilmeisesti pistot ovat vielä käytössä peitinlasin sijasta, koska pistojen tekeminen on helpompaa ja nopeampaa. Lisäksi sauvoista ei tule lisäkustannuksia, jos pistot tehdään samalla sauvalla kuin näyte on hajotettu.

Lopuksi haastattelemalla kartoitettiin, kuinka yleistä basitrasiiniekon käyttö on nielun streptokokkiviljelymaljoilla. Haastattelun perusteella suurin osa pääkaupunkiseudun laboratorioista käyttää basitrasiiniekkoa. Kartoitus tehtiin, koska ennen A-ryhmän streptokokki oli sensitiivinen basitrasiiniekolle, mutta nykyään osa niistä ei enää ole sille niin sensitiivisiä. Lisäksi aiemmin G- ja C-ryhmän streptokokit olivat resistenttejä basitrasiinille, mutta nykyään myös osa niistä on sensitiivisiä basitrasiinille. Kartoituksessa haluttiin tietää kuinka yleistä basitrasiiniekon käyttö tämän takia nykyään on.

Työssä selvitettiin monia epäselviksi jääneitä asioita, vaikka se ei muutakaan mitään laboratorion toiminnassa. Nähtäväksi jää, tullaanko pistoja käyttämään vielä pitkään tulevaisuudessa, vai tullaanko pistojen käyttöä miettimään uudestaan ja käytäntöä muuttamaan.

Työssä oltaisiin voitu tehdä toisin järjestämällä vähän useammin tapaamisia ohjaajien kanssa. Työelämäohjaajan kanssa olisi voinut järjestää useammin tapaamisia niin, että oltaisiin käyty läpi maljoilta saatuja tietoja kokeellisen työn alkuvaiheessa ja uudestaan kun aloitettiin tulosten tulkitseminen. Maljojen tutkimusvaiheessa maljoilta etsittiin erikseen alfa-hemolyyttiset ja ei-hemolyyttiset pesäkkeet. Tämä olisi voinut tehdä toisin, koska työssä jouduttiin jälkikäteen yhdistämään alfa-hemolyyttiset ja ei-hemolyyttiset pesäkkeet normaaliflooran pesäkkeiksi. Se vaati lisätyötä ja vei aikaa. Lisäksi ennen tulosten koodaamista SPSS-ohjelmaan olisi voitu kysyä apua ajoissa, kuinka tilastolliset testit pitäisi mainita tekstissä ja kuinka ne vaikuttavat tuloksiin. Loppuvaiheessa niitä jouduttiin muokkaamaan paljon, joten olisi päästy vähemmällä vaivalla kunnon suunnittelun ansiosta. Tästä opittiin, että suunnitelma pitäisi tehdä perusteellisemmin.

Kiitokset tämän työn avustamisesta kuuluu opinnäytetyön ohjaajalle Terttu-Liisa Lindellille ja työelämän ohjaajille Heli Nisoselle ja Terhi Miikkulainen- Lahlalle.

KIRJALLISUUS

- Anttila, Veli-Jukka – Rantakokko-Jalava, Kaisu 2010: Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 122 - 124.
- Bauman, Robert W. 2004: Microbiology. Amarillo College
- BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood: 2009. Käyttöohje. Becton Dickinson Diagnostics.
- BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA): 2009. Käyttöohje. Becton Dickinson Diagnostics.
- BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood: 2009. Käyttöohje. Becton Dickinson Diagnostics.
- Carlson, Petteri – Koskela, Markku 2003: Bakteriologian diagnostiikka. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.): Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II. Helsinki: Duodecim. 23–24.
- Columbia CNA +5% sheep blood: 2003. Käyttöohje. Bio-Rad Laboratories.
- Evira 2006: Työohje. Verkkodokumentti.
<http://www.evira.fi/attachments/elintauti_ja_elintarviketutkimus/mbi_ohjeet/mibi117_v1_katalaasitesti.pdf>. Luettu 30.3.2010.
- Heikkilä, Tarja 2004: Tilastollinen tutkimus. 5. uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy. 195.
- Hirsijärvi, Sirkka – Remes, Pirkko – Sajavaara, Paula 2009: Tutki ja kirjoita. 15., uudistettu painos. Hämeenlinna: Tekijät ja Kirjayhtymä Oy. 208–212.
- HUSLAB tutkimusohjekirja 2008. Verkkodokumentti.
<<http://huslab.fi/ohjekirja/2703.html>>. Luettu 27.10.2009.
- Huovinen, Pentti – Putto-Laurila, Anne 1992. Nielutulehdus. Duodecim 20. 1769.
- Huovinen, Pentti – Vaara, Martti 1998: Käytössä olevat bakteerilääkkeet. Teoksessa Tiilikainen, Anja S. – Vaara, Martti – Vaheri, Antti (toim.): Lääketieteellinen mikrobiologia. Helsinki: Duodecim. 393.
- Huovinen, Pentti – Vaara, Martti 1998: Yleistä bakteerilääkkeistä. Teoksessa Tiilikainen, Anja S. – Vaara, Martti – Vaheri, Antti (toim.): Lääketieteellinen mikrobiologia. Helsinki: Duodecim. 338.
- Jonsson, Anne – Karhumäki, Eliisa – Saros, Marita 2005: Mikrobit hoitotyön haasteena. 1. painos. Helsinki: Edita Prima Oy. 192–193.

- Karjaluoto, Heikki 2007: SPSS-opas markkinatutkijoille. Verkkodokumentti.
<<https://www.jyu.fi/econ/tutkimus/julkaisut/workingpaper/wp344>>. Luettu 23.3.2010.
- Koskela, Markku – Lehtonen, Olli-Pekka – Ojanen, Tarja 1996: Kliinisesti merkittävien β -hemolyyttisten streptokokkien osoittaminen nielunäytteestä. *Moodi* 6. 264–267.
- Kotilainen, Pirkko – Syrjänen, Jaana – Vuopio-Varkila, Jaana 2010: A-ryhmän streptokokki. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): *Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 102–109.
- KvantiMOTV 2004: Ristiintaulukointi. Verkkodokumentti. Päivitetty 6.5.2004.
<<http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/ristiintaulukointi/ristiintaulukointi.html>>. Luettu 26.3.2010.
- Lehto, Liisa – Rautajoki, Anja – Tuokko, Seija 2008: *Kliiniset laboratorionäytteet -opas näytteiden ottoa varten*. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi. 93–94.
- Leinonen, Maija – Sivonen, Aulikki – Vuopio-Varkila, Jaana 1998: Streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Tiilikainen, Anja S. – Vaara, Martti – Vaheri, Antti (toim.): *Lääketieteellinen mikrobiologia*. Helsinki: Duodecim. 396.
- Lepola – Muhli – Kanninen 2003: *Tilastomenetelmiä. SPSS 11.5 for Windows Perusteet*. Oulun yliopisto. 71-88.
- Miikkulainen-Lahti, Terhi 2009: Käynti HUSLABin Mikrobiologian laboratorion bakteriologian osastolla. Helsinki. 15.10.2010.
- Mäkelä, Jukka – Mäkelä, Pirjo Helena 1994: *Mikrobiantigeenin osoittaminen. Mikrobit ja tautien torjunta*. Porvoo: WSOY. 130.
- Nissinen, Antti 1998: Voiko A-ryhmän streptokokin tunnistaa basitrasiiinittestin avulla?. *Moodi* 6. 226– 227.
- Oxoid 2009: Streptococcal grouping kit. Verkkodokumentti.
<http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=DR0593&c=UK&lang=EN>. Luettu 7.4.2010.
- Penttilä, Ilkka 2004: *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. 1 painos. Porvoo: WSOY. 352-356.
- Salkinoja-Salonen, Mirja 2002: *Mikrobien elatusvaatimukset. Mikrobiologian perusteita*. Jyväskylä. Gummerus Kirjapaino Oy. 57–58.
- Sarvas, Matti - Skurnik, Mikael - Vaara, Martti 2010: *Bakteerisolun rakenne ja toiminta*. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti –

Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 25–26.

Saxén, Harri - Vuopio-Varkila, Jaana 2010: B-ryhmän streptokokki. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 110–111.

Sivonen, A 2008: HUSLAB elatusaineosaston työohje. Colistin-Oxolinic = CO- malja.

Tenhunen, Jukka – Ulmanen, Ismo – Yläne, Jari 2004: Biologia: Geeni ja biotekniikka. Porvoo: WSOY.160.

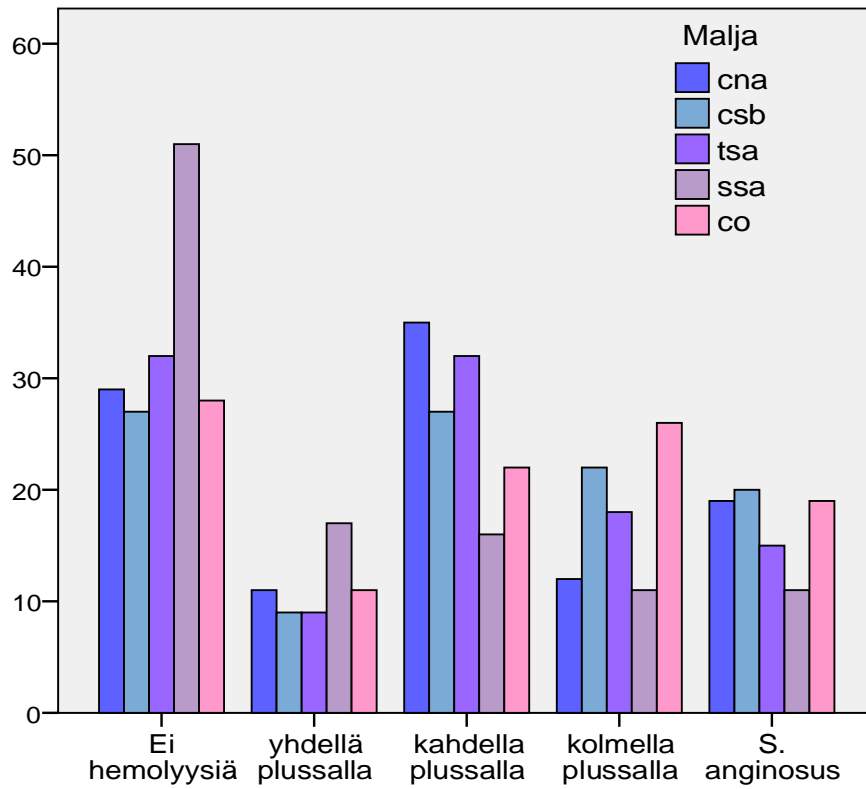
Ylönen, Helga 2005: Nielusta otettavat näytteet. Teoksessa Hellstén, Soile (toim.): Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. Jyväskylä: Gummerus.

HAASTATTELUKYSYMYKSET

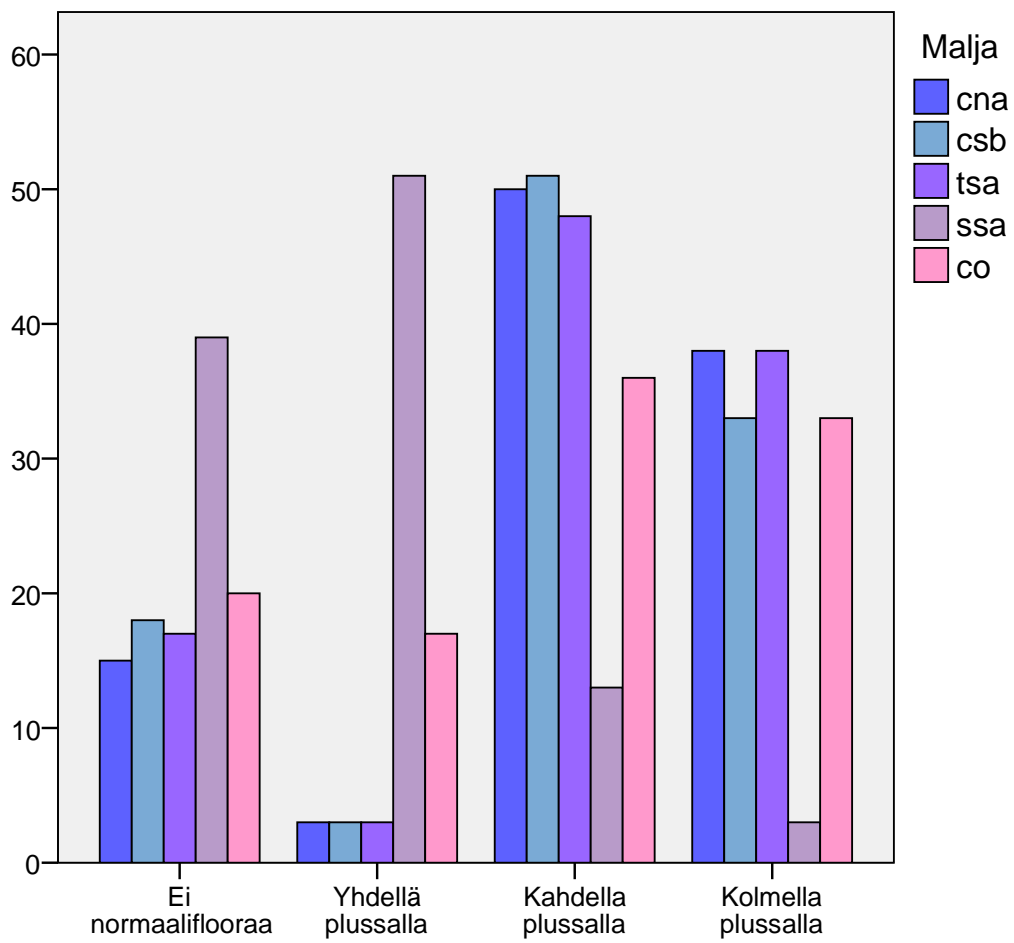
Laboratorioiden ohjeistus nielu streptokokkiviljelyyn

1. Onko teillä jokin valmis ohje alueenne laboratorioille nielunäytteenoton jälkeiseen näytteen käsittelyyn? Eli onko teillä ohje siitä, miten näytteen viljelyn maljalle tulee tapahtua?
2. Ohjeistatteko laboratorioita, jotka lähettävät teille nielumaljoja, käyttämään basitrasiinikiekkoa?
 - a. Miksi ohjeistatte käyttämään kiekkoa, miksi ette?
 - b. Miten olette päätyneet tähän, onko teillä ollut tutkimuksia tähän liittyen?
 - c. Löytyisikö käytäntöönne jotakin kehitettävää?
3. Ohjeistatteko alueenne laboratorioita tekemään pistoja nieluviiljelymaljoille?
 - a. Miksi ohjeistatte tekemään pistoja ja miksi ette? Helpottavatko nieluviiljelymaljoihin tehtävät pistot betahemolyysin tunnistusta?
 - b. Miten olette päätyneet tähän, onko teillä ollut tutkimuksia tähän liittyen?
 - c. Löytyisikö käytäntöönne jotakin kehitettävää?
4. Ohjeistatteko alueenne laboratorioita käyttämään peitinlaseja pistojen ohella nieluviiljelymaljoille?

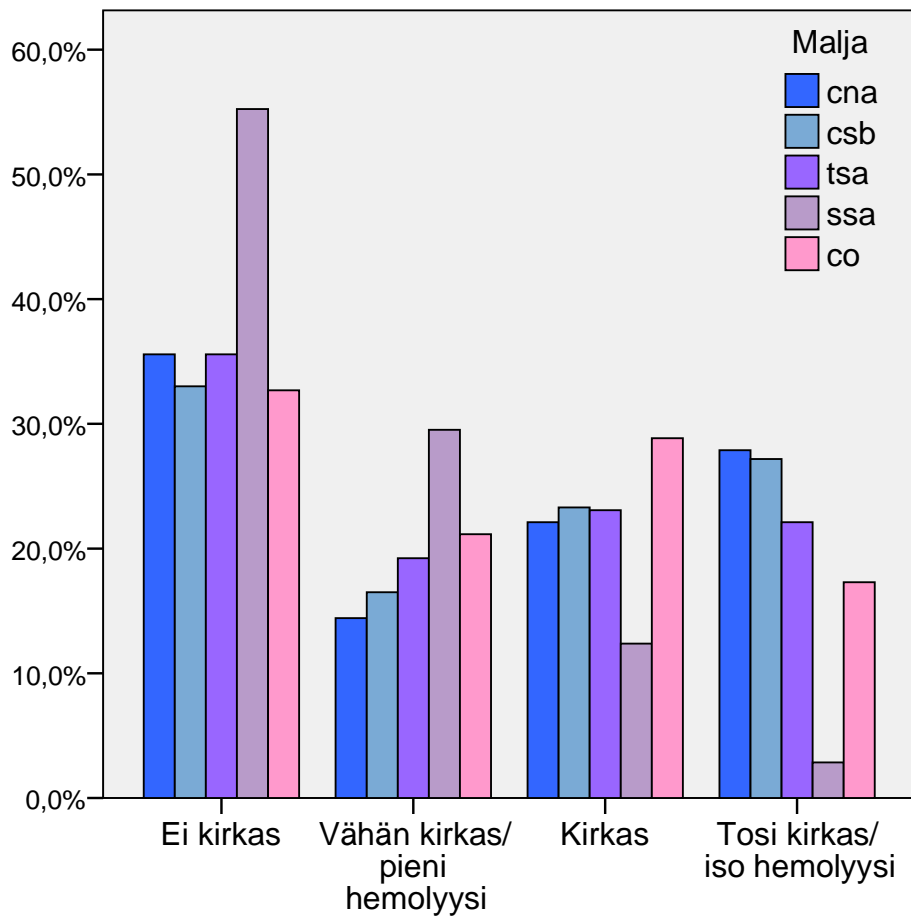
MALJOJEN VÄLISET EROT



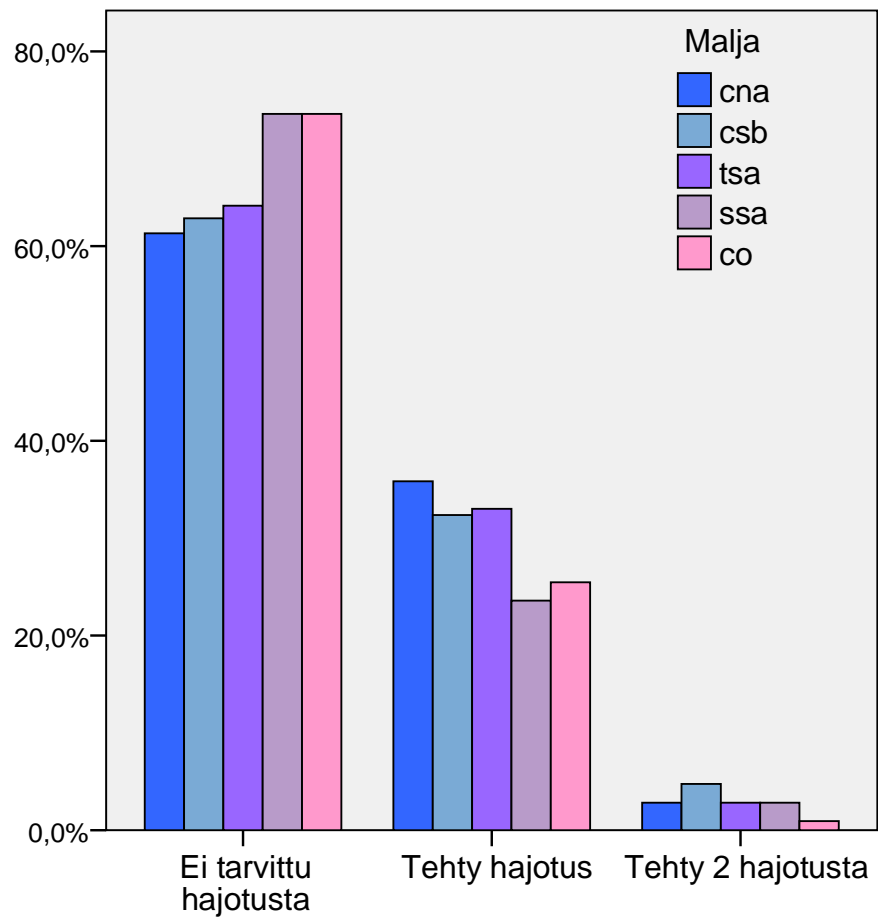
KUVIO 1. Betahemolyysi eri maljoilla



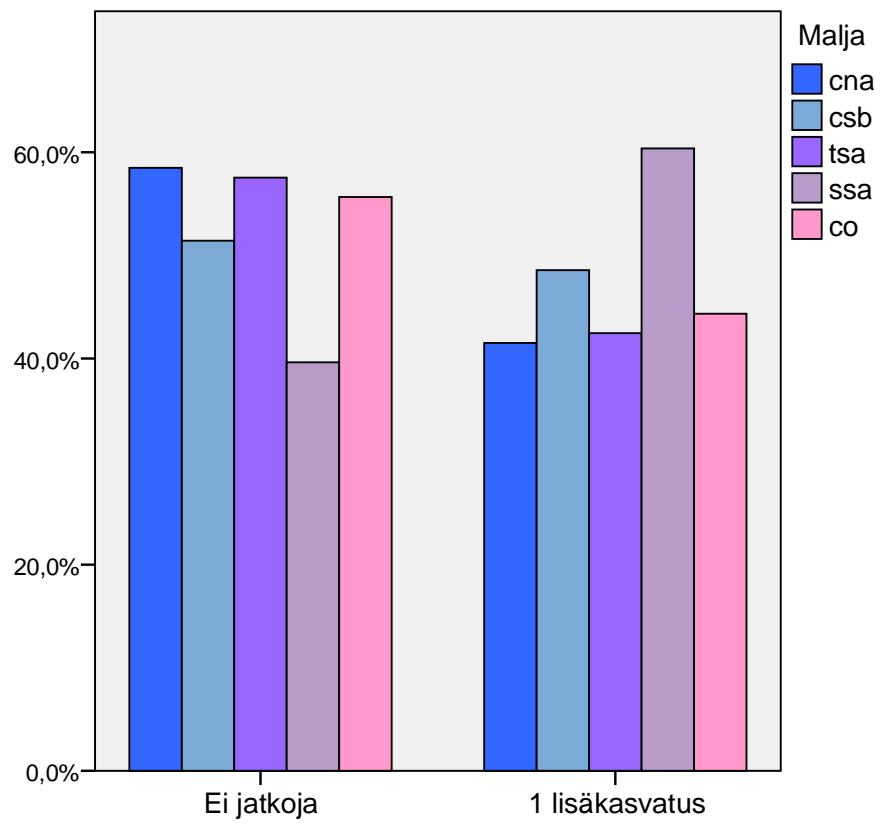
KUVIO 2. Normaaliflooran esiintyvyys eri maljoilla



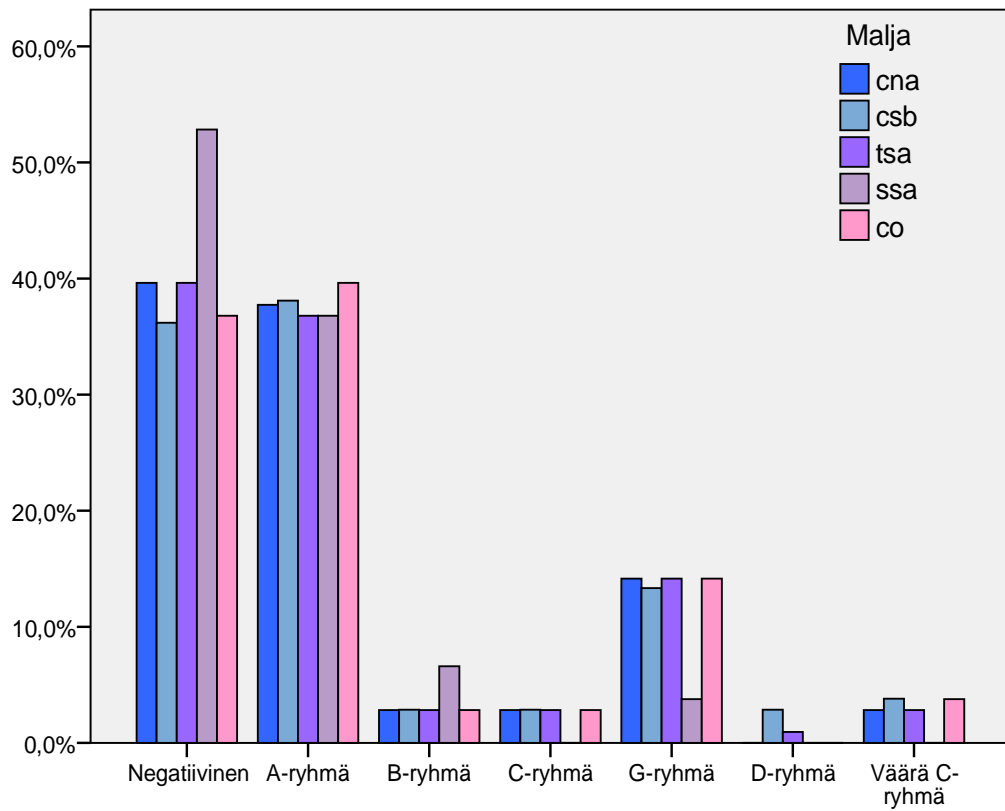
KUVIO 3. Eri maljojen betahemolyysin kirkkaus



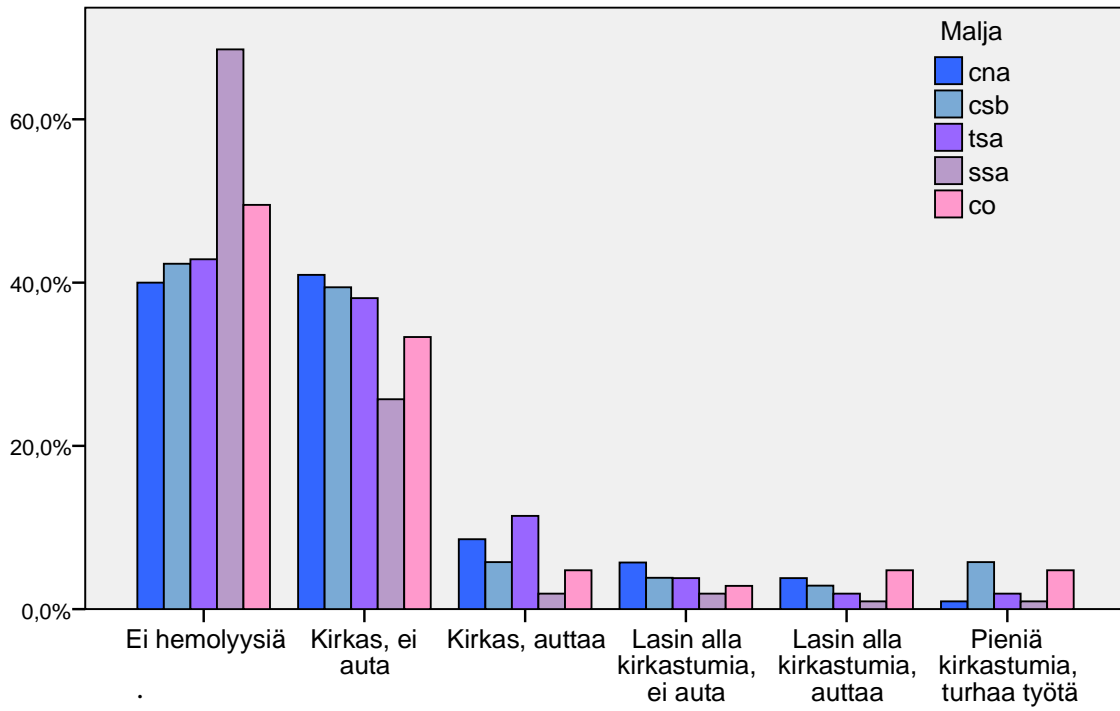
KUVIO 4. Eri maljoilta tehdyt hajotukset



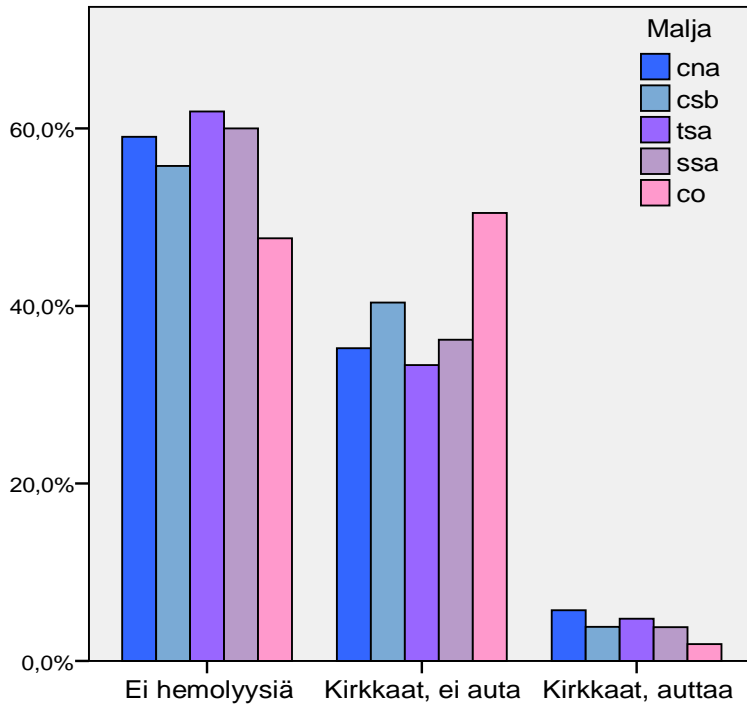
KUVIO 5. Eri maljojen lisäkasvatukset



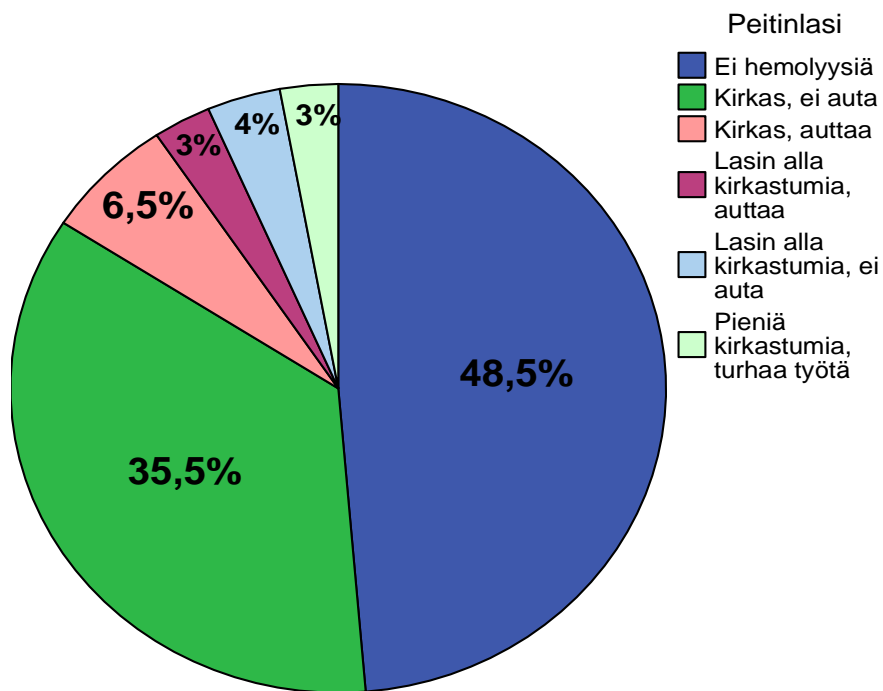
KUVIO 6. Streptokokkiryhmiä esiintyvyyttä eri verimaljoilla



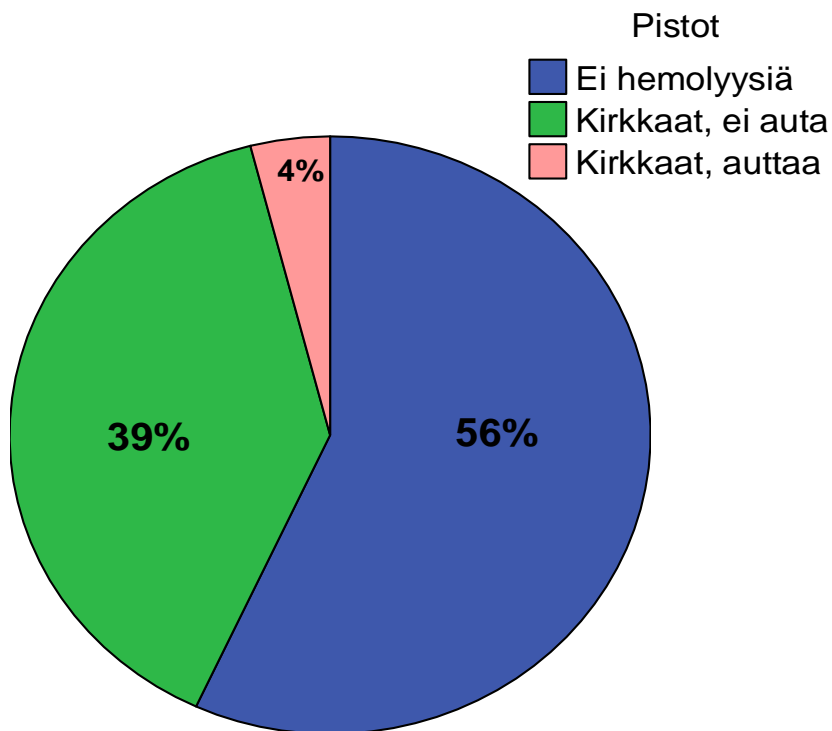
KUVIO 1. Peitinlasin alla olevan hemolyyysin esiintyvyys eri maljoilla



KUVIO 2. Pistojen aiheuttama hemolyyysi eri maljoilla

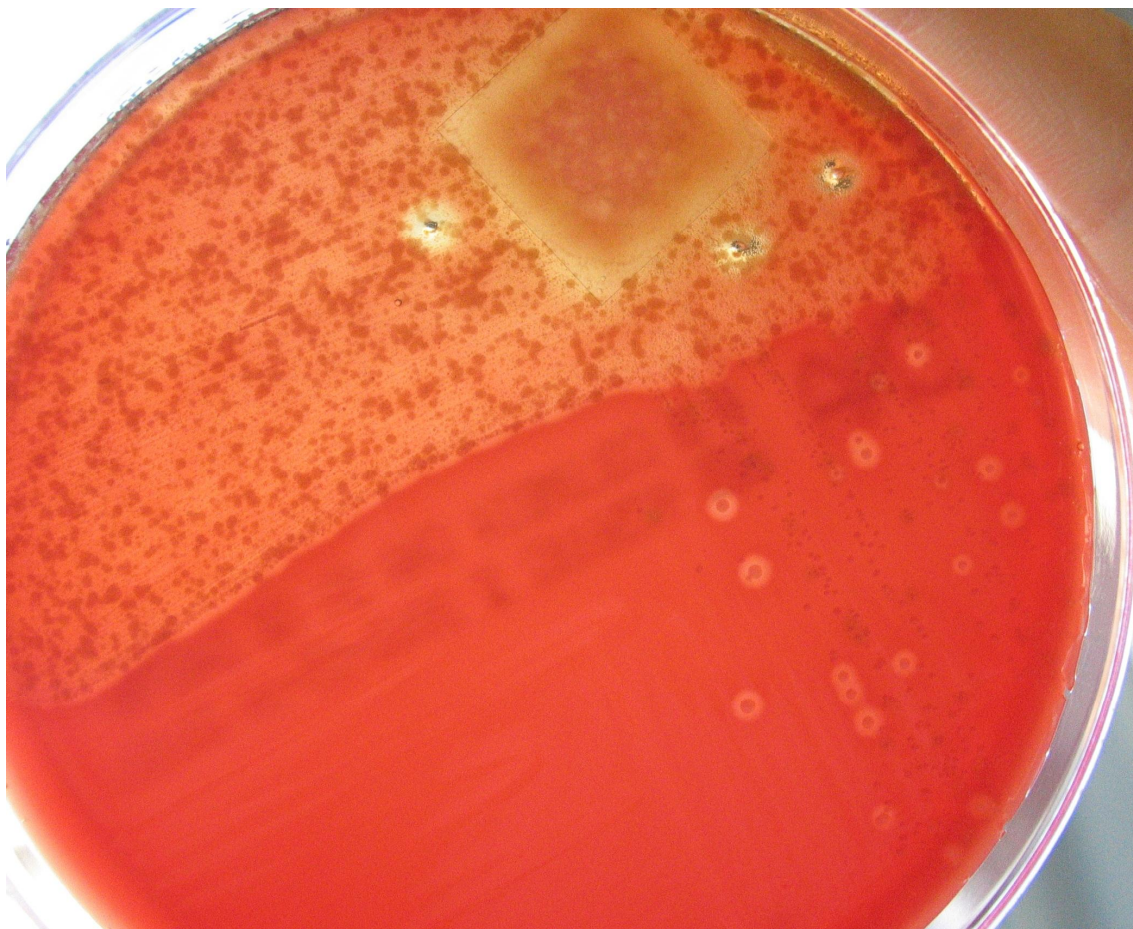


KUVIO 3. Peitinlasin alla olevan hemolyysin esiintyvyys eri maljoilla

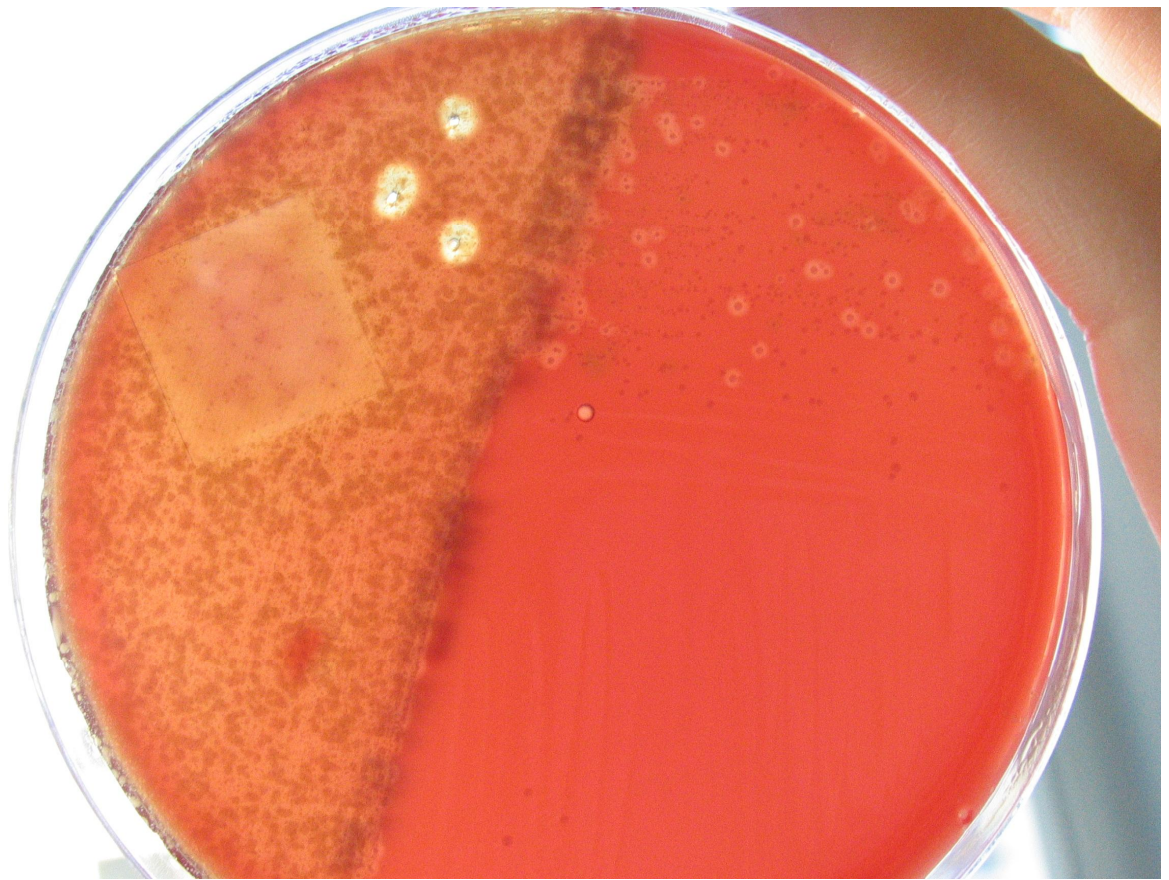


KUVIO 4. Pistojen aiheuttama hemolyysi eri maljoilla

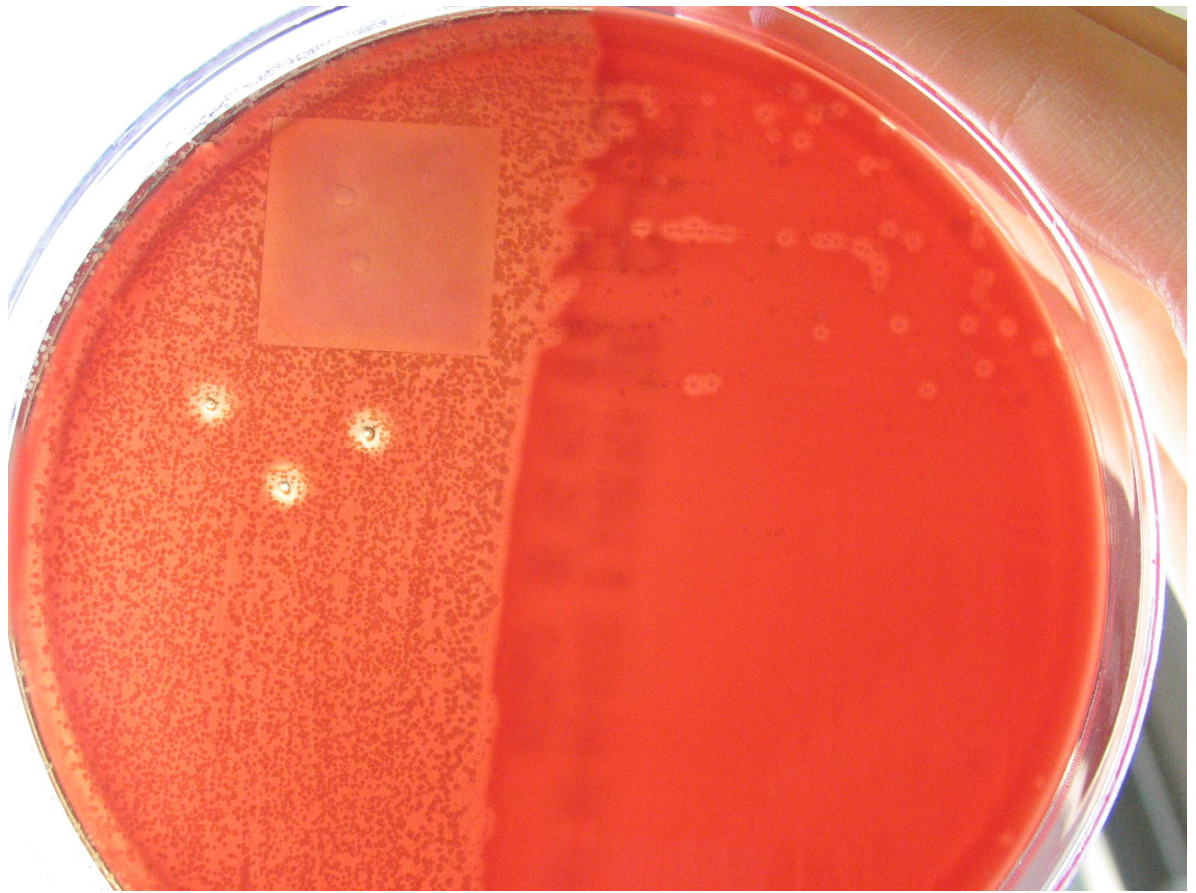
MALJOJEN VERTAILU



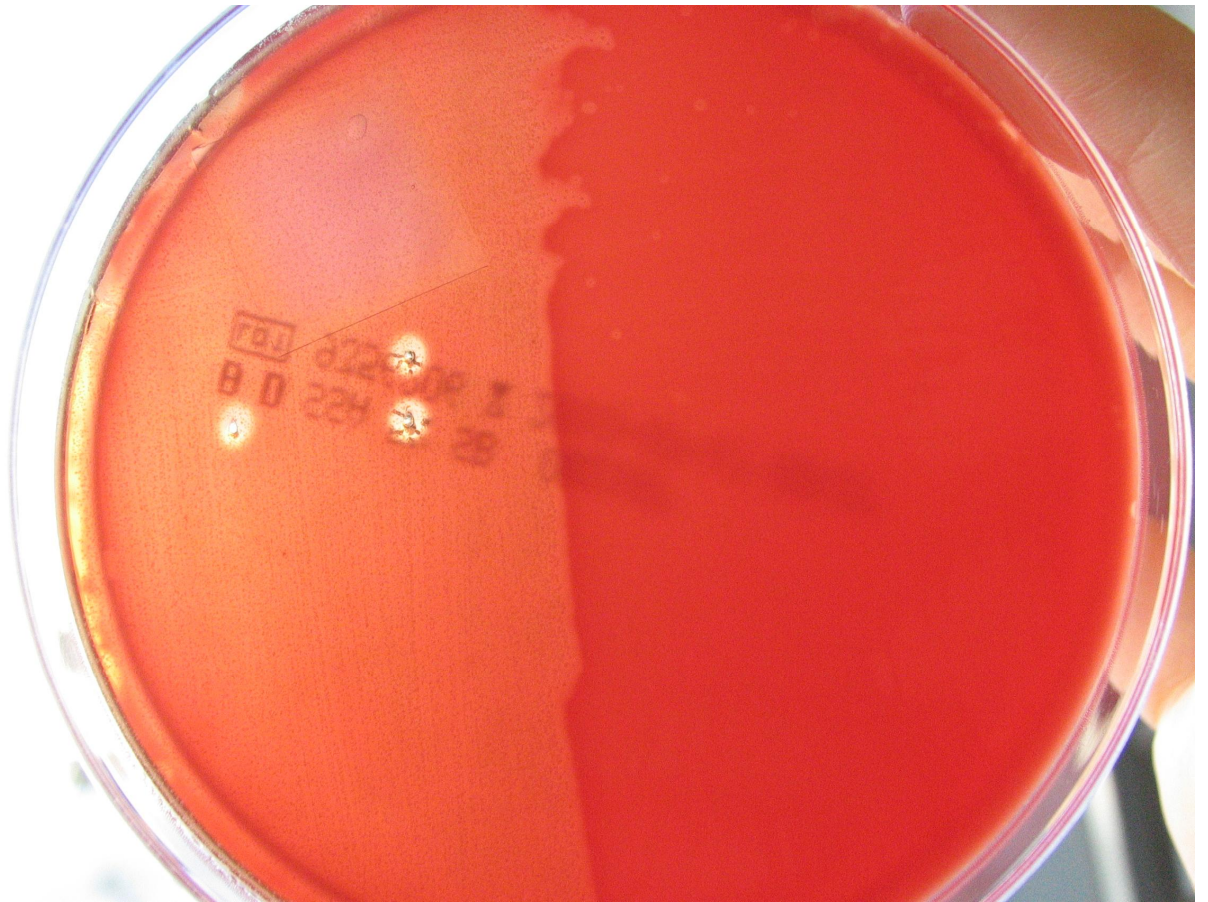
KUVIO 1. Cna- malja



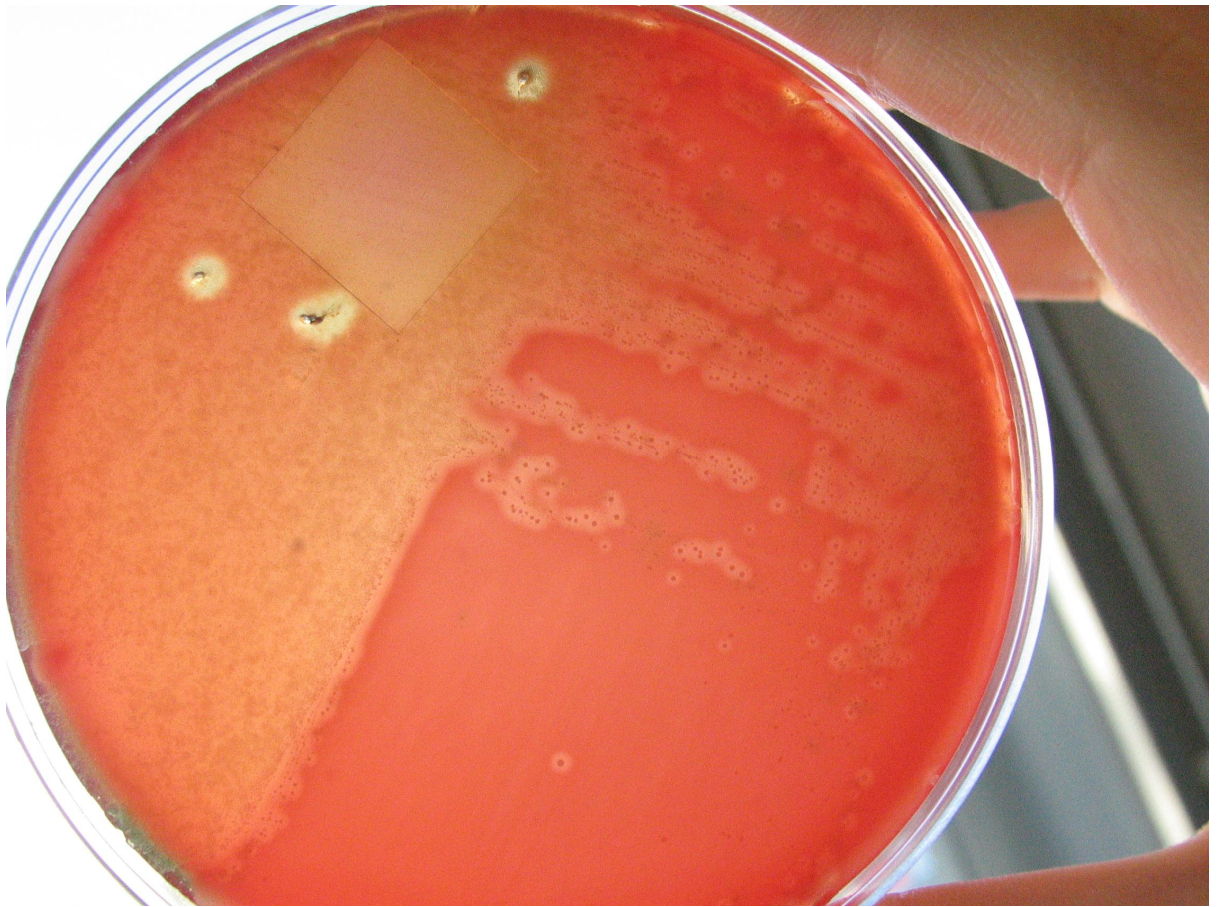
KUVIO 2. Csb-malja



KUVIO 3. Tsa- malja



KUVIO 4. Ssa-malja



KUVIO 5. Co-malja