

Annu Lipasti, Terhi Ylihärsilä

# Kasvatusmaljojen validointi Vitek<sup>®</sup>2 - analyssaattorille sekä bakteeri- ja hiivasieniviljelmien kasvatusaikojen vaikutukset tunnistusten tuloksiin

Tekijät Otsikko  Sivumäärä Aika	Annu Lipasti, Terhi Ylihärsilä Kasvatusmaljojen validointi Vitek <sup>®</sup> 2 -analysaattorille sekä bakteeri- ja hiivasieniviljelmien kasvatusaikojen vaikutukset tunnistusten tuloksiin 30 sivua + 6 liitettä 26.10.2011
Tutkinto	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto, Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaajat	Lehtori Tuula Kurkinen Bioanalyttikko Iira Roslund Bioanalyttikko Jaana Valve
<p>Teimme opinnäytetyömme HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastualueen bakteriologian osastolle. Työmme tarkoituksena oli validoida uusia kasvatusmaljoja käytettäväksi bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistukseen Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorilla sekä tutkia miten bakteeri- ja hiivasieniviljelmien kasvatusajan pituus vaikuttaa niiden tunnistukseen.</p> <p>Tutkimuksessa käytetyistä bakteeri- ja hiivasienikannoista teimme puhtasviljelmät suklaa-agar-, veriagar-, CLED-, Müller-hinton-, CHROMagar<sup>™</sup> Candida ja CHROMagar<sup>™</sup> ESBL kasvatusmaljoille, joilta valmistimme suspensiot. Suspensioita teimme Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorille yhden, kolmen ja kuuden päivän kasvatuksen jälkeen. Validoitavien kasvatusmaljojen ensimmäisen päivän reaktioita verrattiin suklaa-agar kasvatusmaljan ensimmäisen päivän reaktioihin, sillä suklaa-agar kasvatusmalja on jo validoitu. Kasvatusajan vaikutusta tutkittiin vertailemalla kolmannen ja kuudennen päivän reaktioita ensimmäisen päivän reaktioihin samalta kasvatusmaljalta.</p> <p>Validoitavilta kasvatusmaljoilta saatujen tulosten mukaan analysaattori tunnisti bakteeri- ja hiivasienilajien nimet pääosin oikeiksi korkeilla todennäköisyysprosentteilla. Biokemiallisten testien reaktiomuutosten määrässä oli kuitenkin suurta vaihtelua. Tutkittaessa kasvatusajan vaikutusta tuloksista havaitsimme tunnistettavan nimen muuttuvan herkimmin kuudennen päivän kohdalla ja reaktiomuutosten määrän kasvavan kasvatusajan pidentyessä. Huomasimme myös, että tietyt reaktiot olivat alttiimpia muutoksille kuin toiset.</p> <p>Uusien kasvatusmaljojen validoinnissa tulokset puoltavat niiden käyttöönottoa. Kasvatusajan pidentyessä muuttuva reaktio vaikuttaa enemmän tunnistukseen kuin reaktiomuutosten määrä. Kaikkien tulosten perusteella voimme suositella myös pidempiä kasvatusaikoja. Viimeisen valinnan validoinnissa sekä kasvatusaikojen suosituksissa tekevät kuitenkin bakteriologian osaston akateemiset vastuuhenkilöt.</p>	
Avainsanat	Vitek <sup>®</sup> 2, validointi, kasvatusmalja, kasvatusaika

Authors Title Number of Pages Date	Annu Lipasti, Terhi Ylihärsilä Validation for Plates and the Influence of Culture Age Using Vitek®2 Analyzer 30 pages + 6 appendices 26 October 2011
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Tuula Kurkinen, Senior Lecturer Iira Roslund, Biomedical Laboratory Scientist Jaana Valve, Biomedical Laboratory Scientist
<p>We made our final project in the Department of Bacteriology at HUSLAB, Helsinki, Finland. The purpose of our final project was to validate new plates to be used with Vitek®2 analyzer. Vitek®2 is used for identification of bacteria and yeasts, and it is already in routine use. Moreover, we studied how the culture age affected the identification.</p> <p>In our study, we had approximately ten different bacteria and yeasts for selected plates. Of these selected bacteria and yeasts, we made pure cultures which we allowed to grow six days. We analyzed the cultures on the first, third and sixth day. We compared the first day results of CLED, Müller-Hinton, CHROMagar™ Candida and CHROMagar™ ESBL plates to the first day results of an already validated chocolate agar plate. By studying the effects of the culture age to the reactions, we compared the results of the first day to the results of the third and sixth day from the same plate.</p> <p>The results showed that Vitek®2 analyzer identified the names of bacteria and yeasts mainly correct from all the plates that we validated. We found that the changes in the reactions increased in time. However, the type of reaction was more relevant than the number of changes. The results lead to conclusion that CLED, Müller-Hinton, CHROMagar™ ESBL and CHROMagar™ Candida plates may be used for the identification of bacteria and yeasts with Vitek®2. In addition we conclude that a longer culture age is suitable for the everyday use with Vitek®2 analyzer. The final decisions about the validation and culture age recommendation are made by the the academics of Department of Bacteriology.</p>	
Keywords	Vitek®2, validation, agar plate, culture age

## Sisällys

<b>1</b>	<b>Johdanto</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Tutkimuksessa käytetyt bakteeri- ja hiivasienikontrollikannat</b>	<b>2</b>
2.1	Kontrollikannat	3
2.2	Gramnegatiiviset sauvat	3
2.3	Grampositiiviset kokit	4
2.4	Hiivasienet	5
<b>3</b>	<b>Bakteerien kasvuvaatimukset ja kiinteät kasvatusalustat</b>	<b>6</b>
3.1	Kemialliset ja fysikaaliset kasvuvaatimukset	6
3.2	Kasvatusmaljat	7
<b>4</b>	<b>Bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistuksen työvaiheita</b>	<b>9</b>
4.1	Kontrollikantojen siirrostaminen	9
4.2	Bakteerien ja hiivasienten puhdasviljelmä, sen arviointi ja hajotustekniikka	10
4.3	Suspension valmistus	11
<b>5</b>	<b>Vitek<sup>®</sup>2 -analysointilaitteisto</b>	<b>12</b>
<b>6</b>	<b>Tavoitteet ja tutkimuskysymykset</b>	<b>15</b>
<b>7</b>	<b>Toteutus</b>	<b>15</b>
<b>8</b>	<b>Tulokset</b>	<b>17</b>
8.1	Tunnistetut nimet ja todennäköisyysprosentit	18
8.2	Reaktiomuutosten määrät	21
8.3	Muutokset reagenssikohtaisesti	23
<b>9</b>	<b>Työn ja työskentelytapojen luotettavuuden arviointi</b>	<b>24</b>
<b>10</b>	<b>Pohdinta</b>	<b>25</b>
	<b>Lähteet</b>	<b>28</b>
	<b>Liitteet 1–6</b>	

## 1 Johdanto

Bakteeritaksonomia eli bakteereita luokitteleva tieteenala tavoittelee mikrobien järjestämistä ryhmiin niiden samankaltaisuuden tai sukulaisuuden mukaan. Bakteerien luokittelu ja käytännön tunnistus ovat kaksi eri asiaa, ja niissä käytettäville menetelmille on asetettu erilaiset vaatimukset. Luokittelussa voidaan käyttää monimutkaisia testejä ja suuria muuttujajoukkoja, kun taas tunnistuksen pitää olla yksinkertaista, toistettavaa ja nopeaa. Käytännön infektiodiagnostiikassa menetelmien toimivuus perustuu myös kliinisten patogeenisten bakteerien suppeaan piiriin. (Lindholm – Eerola 2010: 57, 63–64.)

Tärkeimpänä mikrobien tunnistusmenetelmänä on gramvärjäys. Se on välttämätön esitesti identifioitaessa tuntemattomia bakteereita. Gramvärjäyksen perusteella bakteerit jaotellaan gramnegatiivisiin ja grampositiivisiin; ero perustuu erilaisiin soluseinäarakenteisiin. Värjäystulos tarkastellaan mikroskoopilla, jolla voidaan tutkia myös solumorfologiaa. (Puhakka – Salkinoja-Salonen 2002: 99.) Ennen värjäyksen tekoa täytyy näyte kiinnittää tiukasti lasille, jolta se mikroskopoidaan. Jos näyte kasvaa nesteessä, laitetaan nestettä pieni tippa lasille ja levitetään se. Jos näyte kasvaa kiinteällä alustalla esimerkiksi agar kasvatusmaljalla, otetaan pieni osa tutkittavaa näytettä ja sekoitetaan se tippaan vettä lasilla. (Bauman 2004: 106–108.) Nämä kiinteät kasvatusalustat ovat yksi tutkimuksemme kohteista.

Taudinaiheuttajat tunnistetaan bakteeriviljelystä kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa, alustavassa tunnistuksessa käytetään avuksi aisteja: katsotaan ja haistetaan kasvatusmaljalla kasvavia pesäkkeitä. Toisessa vaiheessa tapahtuva lajitunnistuksen varmennus tapahtuu biokemiallisin, serologisin tai geenitekniiikan menetelmin. (Nissinen 2008: 195.)

Bakteerin lajitunnistukseen voidaan käyttää biokemiallisiin reaktioihin perustuvia menetelmiä. Grampositiivisille bakteereille tyypillinen jatkotesti on esimerkiksi katalaasitesti ja gramnegatiivisille bakteereille oksidaasitesti. Bakteerien tunnistuksessa käytetään myös analysointoreita, jotka käyttävät muun muassa edellä mainittuja testejä avukseen. (Baron – Peterson – Finegold 1994: 97, 100–101, 138.)

Bakteerien nimeämis- ja antibioottiherkkyyslaite Vitek<sup>®</sup>2 on HUSLABin bakteriologian osastolla päivittäisessä käytössä, tiettyjä validoituja kasvatusmaljoja käyttäen. Tarkoituksenamme on validoida muita mahdollisesti Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorilla käytettäviä kasvatusmaljoja: bakteereille CLED, Müller-Hinton ja CHROMagar<sup>™</sup> ESBL sekä hiivasienille CHROMagar<sup>™</sup> Candida. Validoinnilla tarkoitetaan menetelmän kelpoisuuden osoittamista, jolloin varmistetaan, että käyttöönotettavan menetelmän tulokset ovat luotettavia ja toistettavissa. Tulee muistaa, että validoinnin jälkeenkin menetelmän toimivuutta on jatkuvasti seurattava sisäisin kontrollein ja ulkoisten laadunvalvontanäytteiden avulla. (Liimatainen 2002: 12–13.)

Bakteeriviljelmille Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorin laitevalmistaja bioMérieux on suositellut tiettyjä kasvatusaikoja. Työmme toisena tarkoituksena on selvittää bakteerien ja hiivasienien eri kasvatusaikojen vaikutusta analysaattorin tuloksiin, jota voitaisiin hyödyntää, mikäli kasvatusmaljan täytyy seistä viikonlopun tai pitkien pyhien yli. Tutkimukseemme käytettävät bakteeri- ja hiivasienikannat saimme bakteriologian osaston pitkäaikaisäilytyksestä pakastimesta.

Opinnäytetyömme toimeksiantaja on HUSLABin mikrobiologian vastuualueen bakteriologian osasto. Työelämän ohjaajina toimivat bioanalyytikot Iira Roslund ja Jaana Valve sekä opettajaohjaajana Tuula Kurkinen.

## **2 Tutkimuksessa käytetyt bakteeri- ja hiivasienikontrollikannat**

Seuraavassa kappaleessa kerrotaan yleisistä kontrollikannoista ja tutkimuksessamme käytetyistä bakteeri- ja hiivasienikannoista, jotka on esitetty liitteessä 1. Kaikki käyttämämme bakteeri- ja hiivasienikannat ovat bakteriologian osaston kontrollikantoja, joiden valintaperusteena oli niiden yleisyys sekä niissä havaittu vaihtelu. ESBL kasvatusmaljalle oli valittu tietyistä bakteereista sekä ESBL- että luonnollisesti resistenttejä kantoja. ESBL (extended-spectrum betalactamase) -kannat ovat resistenttejä tietyille antibiooteille, kolmannen polven kefalosporiineille (HUSLAB 2011b: 1). Osa bakteerikannoista oli ATCC-kontrollikantoja (American Type Culture Collection).

## 2.1 Kontrollikannat

Vertailu- eli kontrollikannat ovat tunnettuja mikrobikantoja, joita käytetään laboratorioissa mikrobiviljely- ja tunnistusmenetelmien sisäiseen laadunhallintaan sekä menetelmien validointiin. Kontrollikantoja käytetään varmistettaessa menetelmien toimivuutta, tulosten luotettavuutta ja toistettavuutta. (Mikrobiologiset vertailukannat 2005: 8–11.) Isoissa laboratorioissa vertailukantojen lukumäärä on suuri ja käyttö runsasta, joten on kannattavaa pitää omia kantakokoelmia (Mikrobiologiset vertailukannat 2005: 13).

Kontrollikannat ovat peräisin kansainvälisistä kantakokoelmista tai ovat muuten varmennettuja kantoja. Kantakokoelmat ovat kansainvälisesti hyväksytyjä ja avoimia kaikille asiakkaille. Tällainen yleiskokoelma on esimerkiksi ATCC, joka on maailmanlaajuisesti tunnetuin. (Mikrobiologiset vertailukannat 2005: 8–9.)

## 2.2 Gramnegatiiviset sauvat

*Enterobacteriaceae*-heimon bakteerit ovat gramnegatiivisia sauvoja, jotka muistuttavat toisiaan kasvuominaisuuksiltaan ja rakenteeltaan. Niitä kutsutaan usein yhteisnimellä enterobakteerit, sillä useimpien luonnollinen kasvuympäristö on ihmisen suolisto. Enterobakteereihin kuuluva *Escherichia coli* muodostaa suurimman osan ihmisen aerobisesta normaalifloorasta. (Siitonen – Vaara 2010: 177). *Escherichia coli* kuuluu opportunistisiin bakteereihin, jotka aiheuttavat infektioita vain huonokuntoiselle isännälle tai päästessään esimerkiksi trauman välityksellä kudoksiin. (Rhen – Kuusela – Vaara 2010: 68.) *Escherichia coli* aiheuttamista opportunisti-infektioista yleisimpiä ovat virtsatieinfektiot. *Escherichia coli* -kantoja on useita ja ne ovat virulenssitekijöiltään erilaisia. (Siitonen – Vaara 2010: 177–178.) Tutkimuksemme sisälsi neljä eri *Escherichia coli* -kantaa.

*Enterobacteriaceae*-heimosta tutkimuksemme kuuluivat myös *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* sekä kaksi *Enterobacter cloacae* -kantaa. Klebsiellat, enterobakteerit, ja proteukset kuuluvat myös suoliston normaaliflooraan. Niistä aiheutuu harvemmin tauteja perusterveille ihmisille, mutta sairaalainfektioiden aiheuttajina ne ovat merkittäviä. *Klebsiella pneumoniae*

aiheuttama tyypillinen infektio on lohkokeuhkokuume. *Klebsiella oxytoca* ohella se on tyypillinen löydös myös virtsatieinfektioissa. Enterobakteerit ovat opportunisteja ja vakavat perussairaudet altistavat lajin aiheuttamille sairaalainfektioille. Proteukset ja citrobakteerit ovat niin ikään opportunisteja bakteereita ja aiheuttavat virtsa- ja hengitystieinfektioita. Proteuksilla on usein leviävä pesäke. (Tissari – Anttila 2010a: 196–199.) ESBL (extended-spectrum betalactamase) -kannoilla on resistenssi kefalosporiineille eli tietyille antibiooteille. Resistenssi johtuu niiden kyvystä hajottaa kefalosporiineja laajakirjoisen beetalaktamaasin avulla. (HUSLAB 2011b: 1.) Tämä ESBL-ominaisuus on kliinisesti merkittävää mm. *Escherichia colin*, *Proteus mirabiliksen* ja klebsiellojen kohdalla (Kuusela 2005: 108). ESBL-kannat ovat yleistyneet Suomessa (Siitonen – Vaara 2010: 183).

*Stenotrophomonas maltophilia* on opportunistinen bakteeri, jonka aiheuttamille infektioille altistavat pitkä sairaalahoito, laajakirjoisten antibioottien käyttö sekä vierasesineet. Kasvuolosuhteiltaan *Stenotrophomonas maltophilia* on vaatimaton ja voi päästä leviämään hoitolaitoksissa kontaminoituneiden välineiden välityksellä aiheuttaen esimerkiksi keuhkokuumetta, bakteremiaa tai virtsatieinfektioita. Myös *Acinetobacter*-lajit ovat kasvuolosuhteiltaan vaatimattomia, ihon ja suoliston normaaliflooraan kuuluvia bakteereita. Immuunipuolustuksen heikentyminen lisää akinetobakteerin aiheuttamien infektioiden riskiä. (Tissari – Anttila 2010b: 202–205.) Tutkimuksessamme olivat mukana *Acinetobacter baumannii* sekä *Acinetobacter lwoffii*.

### 2.3 Grampositiiviset kokit

Stafylokokkien ryhmittelyyn käytetään koagulaasitestiä. Jos stafylokokin kasvatus plasman läsnä ollessa hyydyttää plasman, on se koagulaasiposiitivinen. Stafylokokkiryhmän bakteereista voidaan ainoana koagulaasiposiitivisena erottaa *Staphylococcus aureus*. Sen pesäkkeet voivat olla keltaisia, mutta usein väri puuttuu. *Staphylococcus aureuksen* aiheuttamista kliinisistä infektioista tärkeimpiä ovat märkäiset iho- ja pehmytkudosinfektiot, leikkaushaava-, luu- ja nivelinfektiot sekä vakavat yleisinfektiot. Muut stafylokokit ovat koagulaasinegatiivisia; kasvatus plasman läsnä ollessa ei saa plasmaa hyytymään. (Vuopio-Varkila – Kuusela – Kotilainen 2010: 83–86.) Koagulaasinegatiiviset stafylokokit muodostavat veriagar kasvatusmaljalla usein pieniä valkoisia pesäkkeitä. Nämä stafylokokit ovat opportunistimikrobeja ja



yleisin aiheuttajamikrobiryhmä erilaisissa vierasesineinfektioissa. (Lyytikäinen – Vuopio-Varkila – Kotilainen 2010: 98–99.) Koagulaasipositiivisista stafylokokkeista tutkimukseemme kuulu *Staphylococcus Aureus* ja koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista *Staphylococcus epidermidis* ja *Staphylococcus haemolyticus*.

*Enterococcus*-suvusta tutkimukseemme kuuluivat *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ja *Enterococcus gallinarum*. Enterokokit ovat kasvuvaatimuksiltaan joustavia. Ne muodostavat tärkeän osan ihmisen suolen normaalimikrobistosta ja ovat tyypillisiä opportunisteja. Tavallisin enterokokki-infektio on virtsatietulehdus ja enterokokin aiheuttamat infektiot liittyvät usein katetrien ja kanyylien käyttöön. (Rantakokko-Jalava – Anttila 2010: 126–127.)

#### 2.4 Hiivasienet

Hiivasolut ovat ohutseinäisiä soluja, jotka lisääntyvät silmikoitumalla emosolusta. Hiivasienet eivät välttämättä tarvitse sienien viljelyyn tarkoitettua kasvatusmaljaa, vaan kasvavat hyvin myös tavallisessa veriviljelypullossa tai agarkasvatusmaljoilla. Hiivasienisoluja voidaan nähdä natiivivalmisteessa, jossa kliininen näyte käsitellään Calcofluor white -fluoresenssivärillä ja tutkitaan mikroskooppisesti, sytologisessa näytteessä tai patologisissa sienivärjäyksissä. Natiivitutkimuksessa ei voida kuitenkaan määrittää sienilajia, vaan arvioida morfologian perusteella kuuluuko löydös hiiva- vai rihmasieniin. (Anttila – Koukila-Kähkölä – Richardson 2010: 307–308.) Tutkimukseessamme kaikki hiivasienet olivat *Candida*-sukuun kuuluvia kantoja. *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* ja *Candida tropicalis* ovat hiivasienistä yleisimmät infektionaiheuttajat (Anttila ym. 2010: 307).

*Candida* on yleisin hiivasienisuku, ja se aiheuttaa opportunistisia tauteja. *Candida albicans* esiintyy terveen ihmisen limakalvoilla ja on yleisin ihmisessä tavattava hiivasienilaji. Kandidainfektiot ovat yleensä lähtöisin henkilön normaalifloorasta. Vaikka hiivasienten taudinaiheuttamiskyky on huono, pystyvät ne aiheuttamaan infektioita, jos henkilön oma immuunipuolustus on heikentynyt. Limakalvojen hiivainfektioita ovat esimerkiksi suun infektioista sammus, *Candidan* aiheuttama esofagiitti ja genitaalialueen kandidaasit. Hiivainfektioita voi esiintyä myös iholla, jossa ne viihtyvät kosteissa ihon poimuissa ja taivealueilla, kuten nivusissa. Syviä kandidainfektioita

esiintyy yleensä henkilöillä, jotka ovat saaneet solusalpaajien aiheuttamia limakalvovaurioita tai kärsivät muista immuunipuutostiloista. (Anttila ym. 2010: 308–311.)

### **3 Bakterien kasvuvaatimukset ja kiinteät kasvatusalustat**

Monet bakteerit pystyvät lisääntymään erittäin nopeasti, vaikka ovat vaatimattomia ravintoaineidensa suhteen. Laboratorion käyttämät kasvatusmaljat on kuitenkin suunniteltava siten, että bakteerit saavat niistä kaiken kasvuun tarvitsemansa. (Vaara – Skurnik – Sarvas 2010: 33–34.) Kaikilla bakteerilajeilla on kasvun kannalta kolme tärkeintä ravintovaatimusta: hiilen, typen ja energian lähde. Ravintovaatimusten lisäksi bakteerin kasvuun vaikuttavat fysikaaliset vaatimukset: ilmaston happipitoisuus, lämpötila ja pH. (Bauman 2004: 168–172; Mahon – Manuselis 2000: 13–14.)

#### **3.1 Kemialliset ja fysikaaliset kasvuvaatimukset**

Bakteerien kemiallisista ravinteista yleisimmät ovat yhdisteet, jotka sisältävät hiiltä, happea, typpeä ja vetyä. Hiiltä bakteerit tarvitsevat solujen ainesosien rakentamiseen. Typpi on usein bakteerien kasvua rajoittava tekijä, jota tarvitaan proteiinien ja nukleotidien rakentamiseen, joten sen puuttuessa bakteerien rakennusaineenvaihdunta pysähtyy. Vetyä bakteerit tarvitsevat vetysidosten muodostamiseen ja elektronikuljetukseen. (Bauman 2004: 168–172).

Hapen käytön perusteella bakteerit jaetaan aerobeihin ja anaerobeihin. Obligatorisille eli ehdottomille aerobeille hapen käyttö on välttämätöntä, obligatoriset anaerobit eivät siedä happea lainkaan. Monilla bakteereilla on kyky selviytyä sekä hapekkaissa että hapettomissa oloissa, jolloin niitä kutsutaan fakultatiivisiksi aerobeiksi tai anaerobeiksi. (Mahon – Manuselis 2000: 15; Vaara ym. 2010: 35.) Tutkimuksemme sisälsi vain aerobisia bakteereita.

Bakteereiden kasvun varmistamiseksi niitä pyritään aina kasvattamaan niille optimaalisessa kasvuympäristössä. Väärä kasvatusatmosfääri voi pysäyttää bakteerin kasvun tai hidastaa sitä aiheuttaen väärän tuloksen. Normaali atmosfääri tarkoittaa

bakteerin kasvatusta normaalissa lämpö- tai laboratoriohuoneen kaasukoostumuksessa. (HUSLAB 2010a: 1.) Ilmakehässä on normaalisti hiilidioksidia noin 0,03 % (Arvonen – Levonen 2002: 127). Monet bakteerit kasvavat kuitenkin paremmin ilmastossa, jonka hiilidioksidipitoisuutta on lisätty, joten useimmissa laboratorioissa nämä bakteerit kasvatetaan 5–10 prosentin hiilidioksidipitoisuudessa. (Mahon – Manuselis 2000: 15.) Bakteriologian osaston hiilidioksidikaappien CO<sub>2</sub>-pitoisuus on 5 % (HUSLAB 2010a: 1).

Bakteerit lisääntyvät nopeimmin niille ominaisessa optimilämpötilassa (Bauman 2004: 174). Jos lämpötila laskee alle optimilämpötilan, kasvu hidastuu ja jopa pysähtyy. Liian korkea lämpötila taas tappaa bakteerit. (Niemelä 2002: 194.) Tautia aiheuttavien mikrobien optimilämpötila on yleensä lähellä ihmiskehon normaalia lämpötilaa +37 °C (Mahon – Manuselis 2000: 14; Niemelä 2002: 191–193). Tämän vuoksi bakteeriviljelmiä kasvatetaan laboratorioissa lämpötilassa +35 °C (Mahon – Manuselis 2000: 14).

Lämpötilan tavoin myös pH:n muutokset voivat saada kasvun pysähtymään (Salkinoja-Salonen 2002: 199). Vaikka bakteereita kasvaa luonnon pH-arvojen ääriolosuhteissa, on niillä yleensä suhteellisen kapea optimaalinen pH-alue. Useimpien bakteerien vaatimuksena on neutraali tai lievästi emäksinen kasvatusalusta. (Vaara ym. 2010: 37.) Tämän vuoksi kasvatusalustat onkin yleensä säädetty pH-tasolle 7,0–7,5 (Mahon – Manuselis 2000: 14).

### 3.2 Kasvatusmaljat

Työhömmme on valittu bakteerien kasvatusmaljoiksi suklaa-agar, veriagar, CLED, Müller-Hinton, CHROMagar™ ESBL ja CHROMagar™ Candida.

Suklaa-agar kasvatusmalja valmistetaan agar-agar leväpohjaan, johon lisätään eläimen verta. Kasvatusmalja lämmitetään niin suureen lämpötilaan, että punasolut hajoavat ja kasvatusmalja muuttuu ruskeaksi. Punasolujen hajoaminen tuo kaikki niiden sisällä olleet ravintoaineet helpommin bakteerien käytettäväksi. Jotkin bakteerilajit kuten *Haemophilus sp.* ja *Neisseria gonorrhoeae* kasvavat parhaiten suklaa-agar kasvatusmaljalla. (Forbes – Sahm – Weissfeld 1998: 153.)

Veriagar kasvatusmaljaa käytetään paljon kliinisten patogeeneiden tunnistuksessa, koska niistä suurin osa pystyy kasvamaan siinä. Kliinisessä työssä olevat henkilöt ovat myös oppineet tekemään johtopäätöksiä veriagar kasvatusmaljalla kasvavasta pesäkkeestä, sen morfologian ja käyttäytymisen puolesta. Veriagar kasvatusmaljan valmistukseen käytetään agar-agar levää ja eläimen verta, yleensä lampaan tai hevosen. Veriagar kasvatusmaljalla pystytään havaitsemaan joidenkin bakteerien aiheuttamat hemolyysit. Hemolyysijä on erilaisia: alfa, beeta ja gamma, mutta ne kaikki perustuvat bakteerin kykyyn rikkoa punasoluja. Hemolyysi näkyy veriagar kasvatusmaljalla valoa vasten katsottuna erisävyisenä vaaleampana alueena pesäkkeen ympärillä ja alla. (Forbes ym. 1998: 157.)

CLED-agar (Cystine, Lactose, Electrolyte-Deficient) kasvatusmaljaa käytetään yleisesti bakteerien tunnistukseen virtsasta. CLED-agar kasvatusmalja sisältää laktoosia, kystiiniä ja bromtymoli sinistä. Laktoosi toimii ravintona niille bakteereille, jotka pystyvät sitä käyttämään. Kystiini sallii kääpiöpesäkkeisten koliformien kasvun. Bakteerit jotka pystyvät käyttämään laktoosia ravinnokseen laskevat pH:ta, jolloin kasvatusmaljan väri muuttuu vihreästä keltaiseen, tässä reaktiossa bromtymoli sininen toimii pH-indikaattorina. Kasvatusmaljalla olevat elektrolyytit estävät proteusten voimakasta hunnutusta. (BD 2009: 1.)

Müller-Hinton kasvatusmaljaa käytetään antibioottiherkkyyismäärittelyyn. Bakteeri pystytään havaitsemaan 24 tunnin kasvatuksen jälkeen (+35 °C). Kasvatusmaljan toimivuutta pystytään kontrolloimaan muun muassa *Escherichia coli* ja *Staphylococcus aureus*lla, jotka näkyvät kasvatusmaljalla runsaana kasvuna. (Mueller-Hinton Agar 2009: 144.)

CHROMagar™ ESBL ja Candida ovat kromogeenisiä kasvatusmaljoja, joiden pohjana on käytetty agar-agar levää ja siihen on lisätty värinmuodostukseen tarvittavia yhdisteitä. Bakteerit kasvavat siinä värillisinä pesäkkeinä, jonka avulla niiden tunnistus helpottuu. Värillinen pesäke muodostuu spesifisen entsyymi-substraattireaktion lopputuotteena. Ensimmäisen polven kromogeeniset agarit pystyivät muodostamaan vain yhtä väriä, mutta toisen polven kromogeeniset agarit muodostavat eri värejä eri bakteerilajeille.

(Kärpänoja 2007: 39.) Käyttämämme kromogeeniset kasvatusmaljat pystyvät muodostamaan eri värejä eri bakteeri- ja hiivasienilajeille.

CHROMagar™ ESBL kasvatusmaljaa käytetään  $\beta$ -laktamaasia tuottavien bakteerien tunnistukseen (CHROMagar™ ESBL 2010: 2). Tämä ESBL-ominaisuus on kliinisesti merkittävää mm. *Escherichia coli*, *Proteus mirabilixen* ja klebsiellojen kohdalla (Kuusela 2005: 108). Kasvatusmalja sisältää normaalia kasvatusainetta (agar-agar + väriseos) ja sen lisäksi antibioottia, jotta vain kyseiselle antibiootille resistentit bakteerit kasvaisivat kasvatusmaljalla. Valmistajan mukaan bakteerien kasvatus yön yli (noin 18–24 tuntia) takaa riittävän kasvun. Eri bakteerit kasvavat kasvatusmaljalla erivärisinä pesäkkeinä. *Escherichia coli* kasvaa vaaleanpunaisina pesäkkeinä, klebsiellat, enterobakteerit ja citrobakteerit metallisen sinisinä pesäkkeinä ja proteukset ruskeana kehänä. (CHROMagar™ ESBL 2010: 2.)

CHROMagar™ Candida kasvatusmaljaa voidaan käyttää kolmen yleisimmän hiivasienen tunnistuksessa. Kasvatusmaljalle levitettyä hiivasientä kasvatetaan lämpökaapissa (+30–37 °C) 48 tuntia. *Candida albicans* kasvaa vihreänä pesäkkeenä, *Candida krusei* pinkkinä ja pörröisenä pesäkkeenä ja *Candida tropicalis* metallin sinisenä pesäkkeenä. (CHROMagar™ Candida 2010: 2.)

## **4 Bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistuksen työvaiheita**

### **4.1 Kontrollikantojen siirrostaminen**

Kontrollikantoja taltioidaan mahdollisia myöhempiä tutkimuksia varten, jolloin taltioitavan bakteerikannan on oltava puhdas ja tuore. Puhdasviljelmästä kerätään bakteerimassaa maitoglyseroliputkeen ja putki pakastetaan -70 °C:een. (HUSLAB 2009: 1.) Glyseroli toimii pakkasnesteenä ja estää viljelmän jäätyksen (Salkinoja-Salonen 2002: 194). Kun kontrollikantaa siirrostetaan pakastimesta, bakteerimassaa raaputetaan muovisauvalla putken pinnasta ja siirretään pieni määrä massaa kasvatusmaljalle. Hajotus tehdään muovisauvalla koko kasvatusmaljalle jota kasvatetaan bakteerin vaatimissa olosuhteissa. (HUSLAB 2009: 2.) Pakastettua viljelmäputkea ei sulateta jatkoviljelyä varten, vaan siirrostuksen jälkeen putki laitetaan

mahdollisimman nopeasti takaisin pakastimeen (HUSLAB 2009: 2; Salkinoja-Salonen 2002: 84.) Joka kerta kun pakastettuja mikrobikantoja siirrostetaan, todennäköisyys niiden ominaisuuksien muuttumiseen ja putken kontaminoitumiseen vieraalla mikrobikasvustolla kasvaa. Näistä syistä pyritään välttämään mikrobikantojen tarpeettoman tiheää siirrostamista. (Mikrobiologiset vertailukannat 2005: 13.)

Bakteriologian osastolla säilytetään tiettyjä bakteeri- ja hiivasienikantoja pakastimessa myöhempää käyttöä ja laadun hallintaa varten. Tällä hetkellä pakastetaan kaikki veriviljelyistä löytyneet bakteerilajit, moniresistentit bakteerilajit kuten MRSA ja ESBL -kannat sekä harvinaisempia löydöksiä. Pakastimesta löytyy myös kontrolleina käytettäviä bakteerilajeja, joista osa on kansainvälisiä kontrolleja, ja osa osaston omia kontrollikantoja. (Roslund 2011.) Kontrollikannat on merkitty taltiointinumerolla ja bakteerilajilla (HUSLAB 2009: 1).

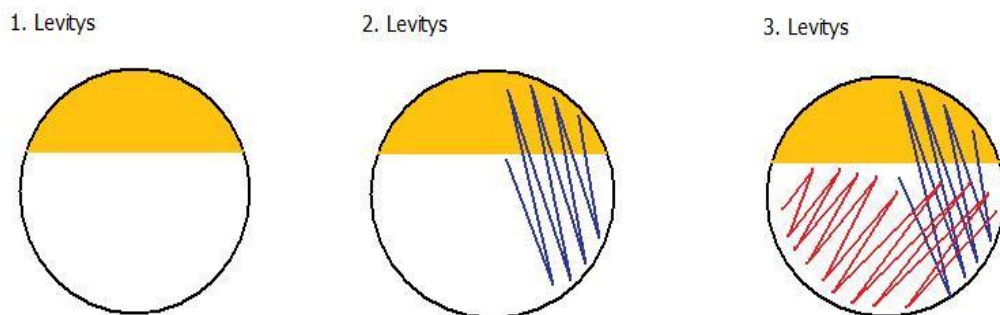
#### 4.2 Bakteerien ja hiivasienten puhdasviljelmä, sen arviointi ja hajotustekniikka

Puhdasviljelyä voidaan tehdä eri menetelmin esimerkiksi laimentamalla bakteeriseosta tai pintalevityksenä silmukalla. Kaikissa haluttuna lopputuloksena on kuitenkin se, että kasvatusmaljalla olisi erillisiä pesäkkeitä yhdestä tietystä mikrobista niin, etteivät niiden reunat koske toisiaan. Viljelmä on puhdas, kun siinä kasvaa vain yhdennäköisiä pesäkkeitä. Viljelmää ei saa kasvattaa pidempään kuin on välttämätöntä hyvän kasvuston saamiseksi. (Salkinoja-Salonen 2002: 80–81.)

Puhdasviljelmän teko perustuu steriileihin työvälineisiin ja kasvatusalustoihin. Mikrobin pintalevitykseen käytetään silmukkaa, joka on perinteinen työkalu mikrobiologiassa. Nykyään käytetään kaupallisia kertakäyttöisiä silmukoita, jotka ovat valmistettu muovista ja valmiiksi steriloituja. Siirrostaminen tapahtuu ottamalla siirrostettavaa bakteeria sauvalla ja viljelemällä se haluttuun alustaan. Sauva on vaihdettava jokaisen bakteerin kohdalla. (Salkinoja-Salonen 2001: 64, 80.)

Puhdasviljelyn hajotus tehdään viljelysauvaa käyttäen alla olevan kuvion 1 mukaisesti. Tavoitteena on saada mahdollisimman paljon erillispesäkkeitä. (HUSLAB 2010b: 1.) Puhdasviljelmää varten otetaan yksi pesäke, joka on erillään muista (Salkinoja-Salonen 2002: 81). Ensin näytettä levitetään kasvatusmaljan ensimmäiselle kolmannekselle

viljelysauvalla hangaten. Siirrostamista jatketaan viljelysauvalla kasvatusmaljan toiselle kolmannekselle käyden välillä ensimmäisellä alueella. Kolmas alue syntyy kasvatusmaljan viimeiselle kolmannekselle jatkamalla siirrostamista käymällä muutaman kerran alueella 2. (HUSLAB 2010b: 1.) Kasvatusmaljat käännetään lämpökaapissa ylösalaisin, jotta kanteen tiivistyvät vesipisarot eivät tippuisi pesäkkeiden päälle (Salkinoja-Salonen 2002: 81.)



Kuvio 1. Puhdasviljelyn hajotustekniikka

Puhdasviljelmää tehdessä on käytettävä mahdollisimman rikkaita kasvatusmaljoja, jotta kaikki erilaiset pesäkkeet näkyisivät. Jos jostain syystä on vaihdettava valikoivalle kasvatusmaljalle, on viimeinen puhtauden arviointi tehtävä rikkaalla kasvatusmaljalla. (Salkinoja-Salonen 2001: 81.) Työssämme rikkaina kasvatusmaljoina eli perämaljoina toimivat suklaa-agar kasvatusmaljat.

#### 4.3 Suspension valmistus

Näytteet laitetaan analysaattoriin suspension muodossa. Suspensio valmistetaan ottamalla puhdasviljelmästä tarvittava määrä pesäkkeitä steriilillä tikulla. Pesäkkeitä siirretään steriiliin suspensioliuokseen (0,45 % NaCl), kunnes saavutetaan haluttu sameus. (Pincus 2007: 4.) MacFarlandin standardit ovat laajimmin käytetty asteikko tarkasteltaessa suspension sameutta. Standardit sisältävät 1 %:sta rikkihappoa ja 1,175 %:sta bariumkloridia, joiden suhde riippuu siitä, kuinka vahva standardi on kyseessä. Vorteksoituja bakteri- tai hiivasienisuspensiota verrataan silmämääräisesti MacFarlandin standardiin, kunnes sameus on vastaava. (Mahon – Manuselis 2000: 68.) Yleisiä standardien vahvuuksia ovat muun muassa 0,5 ja 1 (Baron ym. 1994: 170).

Silmämääräiselle sameuden arvioinnille on vaihtoehtona myös sameuden määrittäviä laitteita (Mahon – Manuselis 2000: 68). Muun muassa densitometrin yksi käyttötarkoitus on sameuden mittaaminen ja tulos ilmoitetaan McFarlandin yksikössä. Laitteen periaate perustuu tiheyden tunnistukseen optisesti. Densitometrin toimintaa kontrolloidaan McFarlandin standardein. (Densitometers 2011: 1.)

## 5 Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattori

Bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistukseen käytettävät bioMérieuxin API<sup>®</sup> liuskat perustuvat biokemiallisiin pienoistesteihin, joiden tuloksia verrataan valmiiseen tietokantaan. Liuskan kuopat sisältävät kuivattuja substraatteja ja lisätessä kuoppaan bakteerisuspensiota, syntyy värimuutoksia. Reaktioiden tulkintaan käytetään lukutaulukkoa ja tulosten perusteella saadaan bakteerilajin tunnistus numeerisena profiilina. (API 2004: 1–2.)

Vitek<sup>®</sup>2 on automatisoitu bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistukseen käytettävä analysaattori. API<sup>®</sup> liuskojen tapaan tunnistus perustuu erilaisiin biokemiallisiin reaktioihin, jotka liittyvät eri bakteeri- ja hiivasienilajien ominaisuuksiin. Näitä biokemiallisissa reaktioita ovat esimerkiksi happamuuden muutokset, kasvu inhibiittorin läsnä ollessa ja entsyymituotanto. Analysaattori vertaa reaktioista saatuja tuloksia (+, -, , (+), (-) tai ?) ja niistä muodostunutta bionumeroa sekä muita todennäköisyyteen vaikuttavia tekijöitä automaattisesti laitteen valmistajan tietokantaan. Näiden tekijöiden perusteella analysaattori muodostaa nimen ja todennäköisyysprosentin tunnistettavalle kannalle. Jos tietokantaan verratessa analysaattori ei löydä sopivaa lajia, ehdottaa se mahdollisia vaihtoehtoja. Näiden vaihtoehtojen mukana tulee myös lista testeistä, joita käyttämällä voi täydentää tunnistusta. (Pincus 2007: 1–2, 6–8.)

Tietokanta on perustettu käyttämällä useita hyvin testattuja kantoja, muun muassa eri kasvatusolosuhteista sekä käyttämällä kliinisten laitosten ja yliopistojen tunnettuja kantoja (Pincus 2007: 6). Uudet tai harvinaiset kannat eivät välttämättä löydy Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorin tietokannasta ja se voi aiheuttaa bakteerin väärän tunnistuksen tai ettei analysaattori saa tunnistettua mikrobia. Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattoria kontrolloidaan tietyillä



ATCC-kannoilla ja näistä saatavia reaktioita verrataan suositusreaktioihin. (BioMérieux inc. 2008: 77.) Tulostettavassa tuloksessa näkyy nimen ja todennäköisyysprosentin lisäksi myös bionumero ja tapahtuneet reaktiot liitteen 3 mukaisesti. Vitek<sup>®</sup>2 -analysointori arvioi tunnistuksen luotettavuutta alla olevan taulukon mukaisesti.

Taulukko 1. Tunnistuksen luotettavuus

Tunnistuksen luotettavuusaste	Vaihtoehdot lkm	Todennäköisyys %
Excellent	1	96 -99
Very Good	1	93 -95
Good	1	89 -92
Acceptable	1	85 -88
Low Discrimination	2-3	Prosentti määrä kertoo jatkotestien perusteella valitun bakteerilajin todennäköisyyden
Inconclusive or Unidentified organism	>3	

Vitek<sup>®</sup>2 -analysointori käyttää kolorimetrisen periaatteeseen perustuvaa menetelmää tunnistessaan biokemiallisten reaktioiden aiheuttamat värimuutokset. Värien muutokset tapahtuvat kun bakteeri tai hiivasieni käyttää reagenssikortin läpinäkyvissä kaivoissa olevaa substraattia. Valon aallonpituuden muutokset mitataan fotodiodilla. (Baron ym. 1994: 139–140.)

Biokemialliset reaktiot tapahtuvat Vitek<sup>®</sup>2 -analysointorin reagenssikortin kaivossa. Reagenssikorttia käytetään vain yhden näytteen tunnistukseen ja niitä on erilaisia: gramnegatiivisille ja -positiivisille bakteereille, hiivasienille sekä kasvuolosuhteiltaan vaativille bakteereille. (Pincus 2007: 3–4.) Työssämme on käytössä gramnegatiivisille bakteereille (GN), grampositiivisille bakteereille (GP) ja hiivasienille (YST) tarkoitetut reagenssikortit. GN-reagenssikortti (kuviokuva 2) sisältää 47 reaktioihin tarvittavaa reagenssia sekä yhden negatiivisen kontrollin. Sillä voidaan tunnistaa 135 eri gramnegatiivista bakteerilajia ja tunnistus kestää noin 10 tuntia. GP-reagenssikortti antaa vastauksen kahdeksan tunnin sisällä, käyttäen apunaan 43 eri reagenssia. Sillä

voi tunnistaa 115 eri grampositiivista bakteerilajia. YST-reagenssikortilla tunnistetaan 49 eri hiivasienilajia ja se käyttää reagenssikortista 46 kaivoa reaktioihin. Tunnistus kestää noin 18 tuntia. (Pincus 2007: 8-9, 19.) Korttien reagenssit löytyvät liitteestä 2.



Kuvio 2. Vitek®2 -analysaattorin GN-reagenssikortti

BioMérieuxin suositusten mukaan GN-reagenssikortilla analysoitavien bakteereiden tulisi kasvaa ennen analysointia suositelluilla kasvatusmaljoilla 18–24 tuntia lämpökaapissa, jossa ei ole hiilidioksidia. GP-reagenssikortilla analysoitavien bakteereiden tulisi kasvaa 12–48 tuntia lämpökaapissa, 5–10 % hiilidioksidin läsnä ollessa. Hiivasienten, joita analysoidaan YST-reagenssikortilla, tulisi kasvaa suositelluilla kasvatusmaljoilla 18–72 tuntia ei-hiilidioksidia sisältävässä lämpökaapissa. Kaikkien suspensioiden suositusikä on enintään 30 minuuttia ennen analysaattoriin asettamista. (BioMérieux inc. 2008: 93, 120, 164.) Näytteenä ei voida käyttää suoraan potilasnäytteitä, kuten virtsaa, koska ne voivat sisältää sekaflooraa ja muuttaa näin saatavia tuloksia (BioMérieux inc. 2008: 82).

Näytteet laitetaan analysaattoriin suspension muodossa. GN- ja GP-reagenssikortteihin tarkoitetun suspension vahvuus on 0.50–0.63 McFarlandin asteikolla ja YST-reagenssikortilla vastaava luku on 1.80–2.20. Vahvuus tarkistetaan densitometrillä. (Pincus 2007: 4.) Suspensioputki ja reagenssikortti asetetaan näytetelineeseen vierekkäin, niin että reagenssikortissa oleva putki asetetaan suspensioon. Analysaattori imee vakuun avuksi käyttäen suspension putkea pitkin reagenssikorttiin, jolloin

kaikkiin kaivoihin tulee näytettä tarvittava määrä. Analysaattorissa oleva mekanismi katkaisee reagenssikortin putken ja sinetöi reagenssikortin kiinni. Tämän jälkeen reagenssikortit jäävät analysaattoriin ja siirtyvät inkubaattorikaruselliin. Inkubaation aikana analysaattori siirtää jokaisen kortin 15 minuutin välein luettavaksi optiseen järjestelmään, josta tulevaa tietoa kerätään koko inkubaation ajan. (Pincus 2007: 4–5.)

## **6 Tavoitteet ja tutkimuskysymykset**

Bakteriologian osasto käyttää työssään useita erilaisia kasvatusmaljoja tutkimuksiinsa. Jotta kasvatusmaljoja voidaan käyttää luotettavasti Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorilla, on ne validoitava käyttöön. Työhömmme on valittu yleisimpiä käytössä olevia kasvatusmaljoja. Tavoitteenamme on selvittää, saadaanko validoitavilta CLED-, Müller-Hinton-, CHROMagar<sup>™</sup> ESBL ja CHROMagar<sup>™</sup> Candida kasvatusmaljoilta samankaltaisia tuloksia verrattuna jo validoituun suklaa-agar kasvatusmaljaan.

Laitevalmistaja on suositellut tiettyjä kasvatusaikoja tunnistettaville bakteeri- ja hiivasieniviljelmille. Joskus nämä suositukset voivat tuottaa ongelmia esimerkiksi pitkien pyhien tai viikonloppujen takia. Tästä johtuen bakteriologian osasto haluaa tutkia kasvatusaikojen vaikutuksia. Toisena tavoitteenamme on selvittää eri ikäisten bakteeri- ja hiivasienikantojen biokemiallisten reaktioiden muutoksia vertailemalla 1, 3 ja 6 päivää kasvaneita bakteeri- ja hiivasienikantoja Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorin tulosten perusteella. Tavoitteiden pohjalta muodostuivat seuraavat tutkimuskysymykset:

1. Voidaanko Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorilla käyttää myös CLED-, Müller-Hinton-, CHROMagar<sup>™</sup> ESBL- ja CHROMagar<sup>™</sup> Candida kasvatusmaljoja?
2. Saadaanko Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorilla luotettavia tuloksia myös pidempään kasvaneilla bakteeri- ja hiivasieniviljelmillä?

## **7 Toteutus**

Esitutkimuksen suoritimme tutustumalla Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorin käyttöön kahden päivän ajan työelämän ohjaajamme opastuksella. Tänä aikana suoritimme kymmenen

näytteen tunnistuksen jo analysoiduilla potilasnäytteillä ja perehdyimme bakteriologian osaston yleisiin työskentelytapoihin ja käytäntöihin. Työn suoritus kokonaisuudessaan selkeni suspension valmistamisesta tulosten ja perämaljojen tarkasteluun esitutkimuksen avulla.

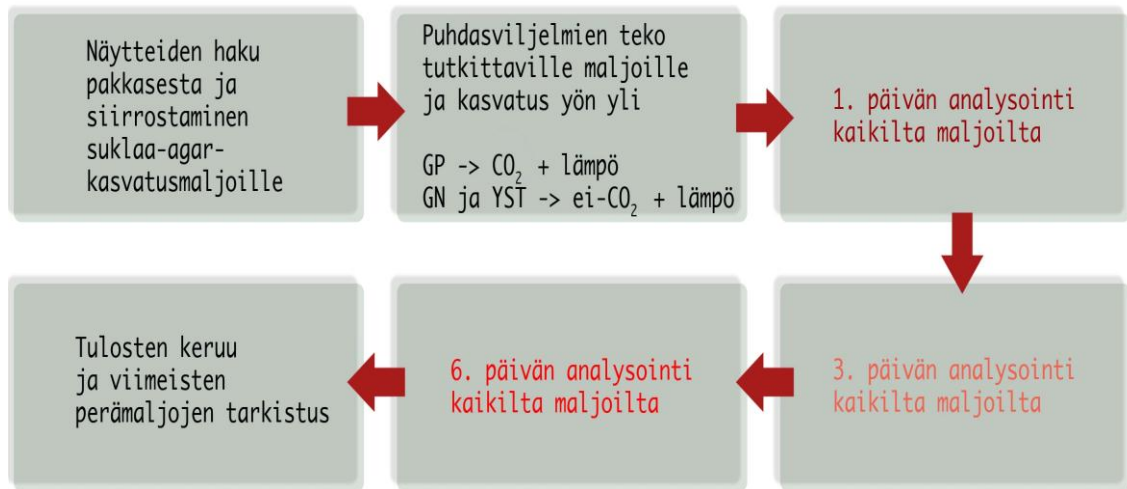
Työtämme varten tarvittavat bakteeri- ja hiivasienikannat haimme pakkasesta taltiointinumeroiden perusteella. Siirrostimme haluttuja kantoja pakasteampulleista suoraan kasvatusmaljoille, joita kasvatimme yön yli hiilidioksidipitoisessa lämpökaapissa kasvun varmistamiseksi. Kaikki bakteerikannat kasvatimme suklaamaljoille ja hiivasienikannat kromogeenisille Candida kasvatusmaljoille. Seuraavana päivänä teimme puhtasviljelmät kaikille tutkittaville kasvatusmaljoille kaikista tutkittavista kannoista, käyttäen silmukkaa pintalevitykseen. Näitä kasvatusmaljoja kasvatimme yön yli, gramnegatiivisia bakteereita ja hiivasieniä lämpöhuoneessa ja grampositiivisia bakteereita hiilidioksidipitoisessa lämpökaapissa.

Kun bakteeri- ja hiivasienikannat olivat kasvaneet yön yli tutkittavilla kasvatusmaljoilla, teimme jokaiselta kasvatusmaljalta oman suspension, jonka syötimme reagenssikortin (GN, GP ja YST) kanssa Vitek<sup>®</sup>2 -laitteen analysoitavaksi. Vitek<sup>®</sup>2 -analysointilaitteen käyttöön tarvitsimme suspensioita, jotka vastasivat laitevalmistajan suosittelemia vahvuuksia. Suspensioiden vahvuutta mittasimme bioMérieuxin Densichek<sup>®</sup>-laitteella ja sen luotettavuuden tarkistimme kaupallisilla kontrolleilla.

Työtämme ei normaalista poiketen täytynyt aloittaa gramvärjäyksellä, josta tarvittava reagenssikortti selviäisi, koska tutkittavat bakteeri- ja hiivasienikannat olivat ennalta tunnistettuja. Ensimmäisen päivän analysoinnin jälkeen kasvatusmaljat kasvoivat huoneenlämmössä ja normaaleissa sisäilman olosuhteissa, eikä lämpökaapissa. Kolmen ja kuuden vuorokauden kasvatuksen jälkeen tehtiin kasvatusmaljoilta uudet suspensiot, jotka analysoitiin laitteella.

Laitteen siirrettyä suspension reagenssikorttiin, se syötti jäljelle jääneen nesteen ulos laitteesta. Kaikista jäljelle jääneistä suspensioista teimme rikkaille kasvatusmaljoille eli perämaljoille viljelyt, joilta mahdolliset kontaminaatiot selvisivät. Perämaljoina toimivat suklaa-agar kasvatusmaljat. Perämaljat kasvoivat yön yli hiilidioksidipitoisessa lämpökaapissa, jotta kaikki mahdolliset kontaminaatiot tulisivat ilmi. Perämaljat tehtiin

kaikkien eri päivien suspensioista. Tarkastettuamme viimeistenkin tulosten luotettavuuden perämaljoilta, keräsimme kaikkien analysointien tulokset tulostamalla ne Vitek<sup>®</sup>2 -analysointilaitteelta. Kuviossa 3 on kuvattu tutkimuksemme kulku pääpiirteittäin.



Kuvio 3. Tutkimuksen kulku

## 8 Tulokset

Tutkittaessa bakteerien ja hiivasienien kasvuajan vaikutusta tunnistukseen vertailimme ennalta tunnettua bakteeri- tai hiivasienilajin nimeä Vitek<sup>®</sup>2 -analysointilaitteen antamaan nimeen yhden, kolmen ja kuuden päivän kohdalla. Uusia kasvatusmaljoja validoitaessa vertasimme ensimmäisen päivän tunnistuksen tuloksia CLED-, Müller-Hinton- ja kromogeeniseltä ESBL kasvatusmaljoilta suklaa-agar kasvatusmaljojen ensimmäisen päivän tunnistuksen reaktioihin. Kromogeenisille Candida kasvatusmaljoille meillä ei ollut ensimmäisen päivän vertailukohtetta suklaa-agar kasvatusmaljoilla, koska alkuperäisestä suunnitelmasta poiketen emme saaneet vertailukohtiksi tuloksia aiemmista tunnistuksista näille kannoille. Veriagar kasvatusmalja oli mukana tutkimuksessamme vain kasvatusajan tutkimisen takia.

Tuloksista havaitsimme, että tutkimuksessamme on kolme eri tekijää, ensimmäisenä tunnistetut nimet ja niiden todennäköisyysprosentit, toisena reaktiomuutostenmäärät reagenssikortissa ja kolmantena tiettyjen yksittäisten biokemiallisten reaktioiden

muutokset. Näistä on tekstin ohessa esitetty taulukot, joihin on poimittu tärkeimmät tulokset liitteistä 4–6.

### 8.1 Tunnistetut nimet ja todennäköisyysprosentit

Liitteessä 4 on esitetty nimien muutokset verrattuna ennalta tunnettuihin nimiin sekä tunnistettujen nimien todennäköisyysprosentit. Kyllä-vaihtoehdossa analysaattori on tunnistanut bakteeri- tai hiivasienilajin nimen samaksi kuin ennalta tunnettu nimi. Ei-vaihtoehdossa analysaattori ei ole saanut bakteerille tai hiivasienelle mitään nimeä. Low discrimination -vaihtoehdossa analysaattori on ehdottanut nimivaihtoehtoja, joista olemme valinneet ennalta tunnetun nimen. Väärä-vaihtoehto tarkoittaa, että analysaattori on tunnistanut bakteerin tai hiivasienen erinimiseksi kuin ennalta tunnettu nimi. Taulukossa 2 on esitetty nimien muutokset ja todennäköisyysprosentit ensimmäiseltä päivältä.

Tarkasteltaessa liitteen 4 tuloksia ensimmäisen päivän kohdalla voidaan todeta, että analysaattori tunnistaa bakteeri- ja hiivasienilajit hyvin, yli 91 prosentin todennäköisyydellä muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta. *Klebsiella oxytoca* laite on ensimmäisen päivän kohdalla tunnistanut ainoastaan veriagar kasvatusmaljalta. Suklaa-agar- ja CLED kasvatusmaljoilla analysaattori on kuitenkin tarjonnut kyseistä bakteeria low discrimination -vaihtoehdossa. Müller-Hinton kasvatusmaljalla analysaattori on tunnistanut bakteerilajin vääräksi. *Enterococcus gallinarum* analysaattori on tunnistanut suklaa-agar kasvatusmaljalta low discrimination -vaihtoehdossa. Sama low discrimination -vaihtoehto on tullut *Candida krusei* kohdalla kromogeenisellä candida kasvatusmaljalla.

Taulukko 2. Nimien muutokset ja todennäköisyysprosentitensimmäiseltä päivältä

## Suklaa-agar kasvatusmalja

Nimi	1. päivä	1. päivä %
<i>K. oxytoca</i>	Low discrimination	97 (valittu)
<i>E. gallinarum</i>	Low discrimination	97 (valittu)

## CLED kasvatusmalja

Nimi	1. päivä	1. päivä %
<i>K. oxytoca</i>	Low discrimination	94 (valittu)

## Müller-Hinton kasvatusmalja

Nimi	1. päivä	1. päivä %
<i>K. oxytoca</i>	väärä	98 (väärä)

## CHROMagar™ Candida

Nimi	1. päivä	1. päivä %
<i>C. krusei</i>	Low discrimination	94 (valittu)

*Acinetobacter lwoffii* kuuluu niihin muutamiin bakteereihin, jotka eivät välttämättä reagoi GN-reagenssikortissa (Pincus 2007: 13). Myöskään tutkimamme kanta ei antanut millään kasvatusmaljalla tulosta minkään päivän kohdalla. *Escherichia coli* ESBL (108311) kohdalla puhtasviljelmä on todennäköisesti epäonnistunut, koska kasvu oli kasvatusmaljalla erittäin vähäistä, eikä erillispesäkkeiden puhtautta voitu arvioida. Kyseisen bakteerin kohdalla jätimme siis analysoinnit tekemättä.

Kolmannen päivän kohdalla nimet pitivät edelleen pääosin paikkaansa ja todennäköisyysprosentit olivat bakteerien kohdalla yli 91 ja hiivojen kohdalla yli 87. *Klebsiella oxytoca* kohdalla veriagar- ja CLED kasvatusmaljoilta analysaattori oli tunnistanut bakteerin low discrimination -vaihtoehdossa. Veriagar kasvatusmaljalla oli *Staphylococcus epidermidis* tunnistettu vääräksi. Hiivasienistä *Candida krusei* oli tunnistettu low discrimination -vaihtoehdossa. Taulukossa 3 on esitetty nimien muutokset ja todennäköisyysprosentit kolmannen päivän kohdalta.

Taulukko 3. Nimien muutokset ja todennäköisyysprosentit kolmannelta päivältä

## Veriagar kasvatusmalja

Nimi	3. päivä	3. päivä %
<i>K. oxytoca</i>	Low discrimination	96 (valittu)
<i>S. epidermidis</i>	Väärä	89 (väärä)

## CLED kasvatusmalja

Nimi	3. päivä	3. päivä %
<i>K. oxytoca</i>	Low discrimination	97 (valittu)

## CHROMagar™ Candida

Nimi	3. päivä	3. päivä %
<i>C. krusei</i>	Low discrimination	96 (valittu)

Kuudennen päivän kohdalla suurin osa tunnistetuista nimistä pitää paikkaansa, mutta todennäköisyysprosentit ovat hieman laskeneet verrattuna aikaisempien päivien todennäköisyysprosentteihin. *Klebsiella oxytoca* on tunnistettu CLED kasvatusmaljalla low discrimination -vaihtoehdossa. *Acinetobacter baumannii* Müller-Hinton kasvatusmaljalta ja *Candida dubliniensis* (103645) kromogeeniseltä candida kasvatusmaljalta ovat jääneet analysaattorilta tunnistamatta. Stafylokokkien kohdalla oli tunnistuksessa ongelmia sekä suklaa-agar- että veriagar kasvatusmaljoilla. *Staphylococcus aureus* (110600) suklaa-agar kasvatusmaljalta tunnistettaessa antaa low discrimination -vaihtoehdon. Suklaa-agar kasvatusmaljalla sekä *Staphylococcus epidermidis* että *Staphylococcus haemolyticus* tunnistettiin vääriksi. Veriagar kasvatusmaljalla *Staphylococcus haemolyticus* antoi väärän nimen ja *Staphylococcus epidermidistä* ei tunnistettu lainkaan. Taulukossa 4 on esitetty nimien muutokset ja todennäköisyysprosentit kuudennen päivän kohdalta.



Taulukko 4. Nimien muutokset ja todennäköisyysprosentit kuudennelta päivältä

## CLED kasvatusmalja

Nimi	6. päivä	6. päivä %
<i>K. oxytoca</i>	Low discrimination	95 (valittu)

## Müller-Hinton kasvatusmalja

Nimi	6. päivä	6. päivä %
<i>A. baumannii</i>	ei tunnistusta	0

## CHROMagar™ Candida

Nimi	6. päivä	6. päivä %
<i>C. dubliniensis</i>	ei tunnistusta	0

## Veriagar kasvatusmalja

Nimi	6. päivä	6. päivä %
<i>S. haemolyticus</i>	väärä	98 (väärä)
<i>S. epidermidis</i>	ei tunnistusta	0

## Suklaa-agar kasvatusmalja

Nimi	6. päivä	6. päivä %
<i>S. epidermidis</i>	väärä	93 (väärä)
<i>S. haemolyticus</i>	väärä	98 (väärä)

## 8.2 Reaktiomuutosten määrät

Liite 5 sisältää reaktiomuutosten lukumäärät. Kolmannen ja kuudennen päivän tuloksia on verrattu ensimmäisen päivän tuloksiin samalta kasvatusmaljalta. Ensimmäisen päivän kohdalla olevat lukumäärät on saatu vertaamalla validoitavien kasvatusmaljojen ensimmäisen päivän reaktioita suklaa-agar kasvatusmaljan ensimmäisen päivän reaktioihin kyseisen bakteerin kohdalla. Veriagar kasvatusmaljan ensimmäisen päivän reaktioita emme verranneet suklaa-agar kasvatusmaljan ensimmäisen päivän

reaktioihin, sillä veriagar kasvatusmalja on jo validoitu. Osalle kromogeenisillä ESBL kasvatusmaljoilla kasvaneille bakteereille sekä kromogeenisillä Candida kasvatusmaljoilla kasvaneille hiivasienille ei ole vertailukohtia suklaa-agar kasvatusmaljalla, joten kasvatusmaljojen toimivuutta arvioidaan pelkästään vertaamalla ensimmäisen päivän nimeä ennalta tunnettuun nimeen. Taulukkoon 5 on laskettu reaktiomuutosten lukumäärät sekä kasvatusmalja- että päiväkohtaisesti.

Taulukko 5. Reaktiomuutokset ensimmäiseen päivään verrattuna

Suklaa-agar kasvatusmalja		Müller-Hinton kasvatusmalja	
3. päivä	6. päivä	3. päivä	6. päivä
41 kpl	55 kpl	26 kpl	42 kpl

Veriagar kasvatusmalja		CHROMagar™ Candida	
3. päivä	6. päivä	3. päivä	6. päivä
49 kpl	75 kpl	24 kpl	37 kpl

CLED kasvatusmalja		CHROMagar™ ESBL	
3. päivä	6. päivä	3. päivä	6. päivä
19 kpl	23 kpl	18 kpl	23 kpl

Validoitavien kasvatusmaljojen ensimmäisen päivän reaktioita vertailtiin suklaa-agar - kasvatusmaljan ensimmäisen päivän reaktioihin. Muutosten määrät on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. 1. päivän reaktioiden muutokset

CLED kasvatusmalja	Müller-Hinton kasvatusmalja	CHROMagar™ ESBL
22 kpl	5 kpl	12 kpl

### 8.3 Muutokset reagenssikohtaisesti

Liitteessä 6 on eritelty reagenssikorteittain tapahtuneet reaktiomuutokset. Olemme laskeneet, kuinka monta kertaa tietty reaktiomuutos esiintyy kultakin kasvatusmaljalta tehdyssä tunnistuksessa kolmen ja kuuden päivän kohdalla sekä kaikkien kasvatusmaljojen tunnistusten yhteen laskettu tulos. Vertailukohtana olivat ensimmäisen päivän reaktiot samalta kasvatusmaljalta tehdystä tunnistuksesta.

Liitteestä 6 havaitaan GN-reagenssikortin kohdalla yleisimpien muuttuvien reaktioiden tapahtuvan TyrA-, URE- ja PHOS-reagenssien kohdalla. Lisäksi taulukosta erottui kuudentena päivänä Müller-Hinton kasvatusmaljalta reaktiomuutosten suuri määrä ProA:n kohdalla sekä veriagar kasvatusmaljalta SUCT:n kohdalla. Tarkasteltaessa GP-reagenssikortissa tapahtuvia reaktiomuutoksia havaitaan, että AGLU-, ILATk-, NAG-, BACI- ja O129R-reagenssien läsnä ollessa tapahtuu eniten muutoksia. Eniten reaktiomuutoksia YST-reagenssikortissa tapahtui TyrA-, NAGa-, NO3a-, GRTas- ja dGNTa-reagenssien kohdalla. Taulukoissa 7–9 näkyy reagenssikorttikohtaisesti tapahtuneet muutokset ja niiden yhteenlasketut lukumäärät.

Taulukko 7. GN-reagenssikortissa tapahtuneet muutokset (n=108)

TyrA	49 kpl muutoksia kaikilta kasvatusmaljoilta
URE	18 kpl muutoksia kaikilta kasvatusmaljoilta
PHOS	24 kpl muutoksia kaikilta kasvatusmaljoilta
ProA	8 kpl Müller-Hinton kasvatusmaljalla
SUCT	6 kpl veriagar kasvatusmaljalla

Taulukko 8. GP-reagenssikortissa tapahtuneet muutokset (n=28)

AGLU	8 kpl muutoksia
ILATk	7 kpl muutoksia
NAG	6 kpl muutoksia
BACI	6 kpl muutoksia
O129R	6 kpl muutoksia

Taulukko 9. YST-reagenssikortissa tapahtuneet muutokset (n=20)

TyrA	6 kpl muutoksia
NO3a	5 kpl muutoksia
GRTas	5 kpl muutoksia
NAGa	6 kpl muutoksia
dGNTa	5 kpl muutoksia

## 9 Työn ja työskentelytapojen luotettavuuden arviointi

Laatu laboratoriossa ja niissä tehtävissä analyyseissä on jo pitkään ollut hyvin tärkeää. Laatuun vaikuttavat kaikki analysoinnin vaiheet preanalyttisestä, analyttisen vaiheen kautta postanalyttiseen vaiheeseen, ja kaikki näistä ovat yhtä tärkeitä. (Mahon – Manuselis 2000: 106.) Meidän työssämme analyttinen vaihe on tulosten kannalta kaikista vaikuttavin, koska esimerkiksi postanalyttisiä tekijöitä ei ole. Työssämme olemme pyrkineet työskentelemään mahdollisimman laadukkaasti ja toistettavasti.

Laboratorion laatujärjestelmän on sisällettävä lämpötilojen tarkkailu, laitteiden, kasvatusaljien ja reagenssien kontrollointi sekä henkilökunnan ammattitaidon varmistaminen (Mahon – Manuselis 2000: 107). Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorilla on oma kontrollointilomake, johon päivän ensimmäinen käyttäjä kirjaa optiikan toimivuuden, karusellin lämpötilan, pipetinkärkien ja NaCl-liuoksen määrän (HUSLAB 2011a: 8–9). Tästä lomakkeesta voi jokainen käyttäjä tarkistaa, että analysaattori toimii luotettavasti. Kasvatusaljoihin on merkitty viimeiset käyttöpäivät, mutta tarkistimme vielä lisäksi, ettei kasvatusaljalla kasva mitään ennen viljelyä, ja että kasvatusalja on oikean värinen ja kostea. Yksittäisiä reagensseja emme itse voineet testata, koska ne ovat valmiiksi reagenssikorteissa, mutta reagenssikortit olivat oikein säilytettyjä kylmähuoneessa ja ne sisältävät yhden kontrollin. Jokainen uusi reagenssikorttien LOT-erä kontrolloidaan käyttöönoton yhteydessä (Valve 2011).

Mahdollisia virhelähteitä työssämme voivat olla kontaminaatiot työskentelyn eri vaiheissa, minkä olemme pyrkineet ottamaan huomioon mahdollisimman tarkasti. Mahdollinen kontaminaatio voi tulla jo pakasteampullista, jolloin se huomataan jo

ensimmäisellä kasvatusaljalla. Tehtäessä puhdasviljelmää ensimmäiseltä kasvatusaljalta voidaan kontaminantin läsnä ollessa epäonnistua siinä. Puhdasviljelämä on äärimmäisen tärkeä tunnistuksen jatkoon kannalta. Jos suspensio on valmistettu useamman kuin yhden kannan pesäkkeistä, ei tulos ole luotettava. Suspension puhtautta voidaan edistää käyttämällä steriilejä välineitä. Analysointivaiheiden ja suspension kontaminaatiot tulevat esiin perämaljalla. Jokainen perämalja tarkastettiin alkuperäistä kantaa vastaavaksi.

Sujuvan ja huolellisen työskentelyn analysaattorilla varmistimme esitutkimuksemme avulla sekä noudattamalla osaston käytäntöjä ja työskentelytapoja. Kuten Nissinenkin (2008: 196) artikkelissaan toteaa, ovat bakteerien tunnistusautomaatit ammattilaisten apuvälineitä ja ilman tätä ammattitaitoa voitaisiin bakteerilaji tunnistaa täysin vääräksi ja potilas saattaisi saada vääränlaista hoitoa.

## 10 Pohdinta

Tiedonhaku koskien aiheesta tehtyjä aikaisempia tutkimuksia osoittautui haastavaksi. Tutkimukset, joita löysimme, eivät olleet hyödynnettävissä tai eivät vastanneet tutkimuksemme aiheita. Etsimme myös tutkimuksia koskien API<sup>®</sup> liuskoja, johon Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattorin reaktiot perustuvat, mutta tämä osoittautui yhtä hyödyttömäksi.

Etsiessämme aiempia tutkimuksia koskien kasvatusaljojen validointia oletusarvona oli että niitä löytyisi ja paljon. Tiedonhaun edetessä selvisi kuitenkin, että jostain syystä kasvatusaljojen validoinnista ei ollutkaan paljoa tutkimuksia. Tiedonhaun tuloksena esiintyi paljon erilaisia validointeja koskien Vitek<sup>®</sup>2 -analysaattoria, mutta tieto koski muun muassa reagenssikorttien validointia ja analysaattorin soveltuvuutta tiettyjen bakteerien tunnistukseen, eikä eri kasvatusaljojen soveltuvuutta. Tietoa etsimme eri tietokannoista esimerkiksi seuraavista: Linda, Arto, Helka, Cinahl ja pubmed. Hakusanoja, joita käytimme tiedonhaussa, olivat esimerkiksi validointi, kasvatusaljojen validointi, validointi vitek 2, validation, validation growth medium, evaluation vitek 2 ja validation vitek 2.

Aiempiä tutkimuksia etsiessä, koskien bakteerien kasvatusaikoja, tietoa löytyi melko paljon. Suurin osa tutkimuksista koski kuitenkin elintarvikkeiden säilytystä ja niissä esiintyvien bakteerien kasvuun liittyvää aikaa. Käytimme samoja tietokantoja kuin etsiessä tietoa kasvatusmaljojen validoinnista. Hakusanoja, joita käytimme, olivat muun muassa bakteerien kasvatusaika, kasvatusaika, maljojen kasvatusaika, culture age ja bacteria age. Englanninkielisiä hakusanoja yritimme keksiä lisää työpajassa informaattikon kanssa ja käyttäen apuna mikrobiologian englannin sanakirjaa.

Tutkimuksemme käytännön suoritus sujui ongelmitta. Ainoa asia, jonka tekisimme toisin, olisi kasvattaa vertailukohtat suklaa-agar kasvatusmaljalle kaikista validoitavien kasvatusmaljojen kannoista. Työstämme puuttuivat vertailukohtat osalle kromogeenisillä ESBL kasvatusmaljoilla kasvaneista kannoista sekä kaikille hiivasienille. Alkuperäisen suunnitelman mukaan olisimme saaneet vertailukohtiksi tulokset aiemmista tunnistuksista näille kannoille.

Ensimmäisenä tavoitteenamme oli selvittää, soveltuvatko CLED-, Müller-Hinton-, kromogeeniset ESBL- ja Candida kasvatusmaljat käytettäväksi bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistukseen Vitek<sup>®</sup>2 -analysointilaitteella. Kun validoitavien kasvatusmaljojen ensimmäisen päivän reaktioita vertailtiin suklaa-agar kasvatusmaljan ensimmäisen päivän reaktioihin, voidaan todeta, että reaktiomuutoksia tapahtuu enemmän CLED- ja ESBL kasvatusmaljoilla kasvaneilla bakteereilla kuin Müller-Hinton kasvatusmaljoilla kasvaneilla. Tuloksia tarkasteltaessa voidaan kuitenkin mielestämme todeta kasvatusmaljojen soveltuvan käytettäväksi. Muutamasta poikkeuksesta huolimatta tunnistus on mielestämme onnistunut.

Toisena tavoitteena oli selvittää, saadaanko luotettavia tuloksia myös vanhemmilla bakteeri- ja hiivasienikannoilla. Tarkasteltaessa kaikilla kasvatusmaljoilla kasvaneiden bakteeri- ja hiivasienilajien reaktiomuutosten määrää kolmen ja kuuden päivän osalta (liite 5), voidaan havaita, että kuudennen päivän kohdalla määrä on kasvanut verrattuna kolmanteen päivään, paitsi ESBL kasvatusmaljoilla määrä on pysynyt samana.

Kasvatusaikoja tutkittaessa muutokset laitteen antamissa nimissä ovat vähäisiä. On kuitenkin huomattavissa, että nimien muutokset lisääntyvät ajan kuluessa. Muuttuvalla

reaktiolla on suurempi vaikutus nimen ja todennäköisyysprosentin muutokseen kuin reaktiomuutosten lukumäärällä. Tietyt reaktiot ovat havaitusti herkempiä muuttumaan kasvatusajan pidentyessä. Kaiken kaikkiaan tulokset on kuitenkin pääosin tunnistettu oikein vielä kolmen ja kuuden päivän kasvatusajan jälkeen. Mielestämme tulokset viittaisivat myös pidempien kasvatusaikojen sopivan bakteeri- ja hiivasienilajien tunnistukseen.

Bakteriologian osastolla ei ole valmiina standardoituja validointikriteereitä. Viimeisen päätöksen kasvatusmaljojen käyttöönotosta ja pidempien kasvatusaikojen käytöstä tekevät bakteriologian osaston akateemiset vastuuhenkilöt.

Tarkasteltaessa tuloksia, havaitsemme niiden olevan mielestämme kelvollisia vastaamaan tutkimuskysymyksiimme. Uusien suositusten tekeminen, koskien käytettäviä kasvatusmaljoja ja kasvatusaikoja, tutkimuksemme perusteella vaatisi kuitenkin lisätutkimuksia. Tutkimuksemme kattavuutta parantaa se, että siihen sisältyvistä bakteeri- ja hiivasienilajeista on valittu useita ominaisuuksiltaan erilaisia kantoja. Toistettavuutta voitaisiin vielä parantaa suorittamalla jatkotutkimuksia esimerkiksi rinnakkaisanalyysin.

## Lähteet

- Anttila, Veli-Jukka – Koukila-Kähkölä, Pirkko – Richardson, Malcolm 2010. *Candida*-hiivat. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 307–314.
- API 20 E 2004. Tunnistusmenetelmä enterobakteereille ja muille tavallisille Gram-negatiivisille sauvoille. Käyttöohje. BioMérieux.
- Arvonen, Arto – Levonen, Hannu 2002. Ammattikorkeakoulun kemia. 1–2. painos. Helsinki: Otava
- Baron, Ellen Jo – Peterson, Lance R. – Finegold, Sydney M. 1994. Diagnostic Microbiology. Missouri: Mosby.
- Bauman, Robert W. 2004. Microbiology. San Francisco: Pearson Education.
- BD 2009. Instructions for use-ready-to-use plated media. BD™CLED agar. Verkkodokumentti. <<http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8967>>. Luettu 29.9.2011.
- BioMérieux Inc. 2008. Vitek 2 systems product information. North Carolina.
- CHROMagar™ Candida 2010. CHROMagar. Verkkodokumentti. <[www.chromagar.com/fiche-produit.php?PARAM\\_NAVIGATION=clinical&PDT\\_ID=22](http://www.chromagar.com/fiche-produit.php?PARAM_NAVIGATION=clinical&PDT_ID=22)>. Luettu 4.5.2011.
- CHROMagar™ ESBL 2010. CHROMagar. Verkkodokumentti. <[www.chromagar.com/fiche-produit.php?PARAM\\_NAVIGATION=clinical&PDT\\_ID=31](http://www.chromagar.com/fiche-produit.php?PARAM_NAVIGATION=clinical&PDT_ID=31)>. Luettu 4.5.2011.
- Densitometers 2011. Biosan. Verkkodokumentti. <[http://www.biosan.lv/eng/datasheets/DEN-1%20and%20DEN-1B\\_eng.pdf](http://www.biosan.lv/eng/datasheets/DEN-1%20and%20DEN-1B_eng.pdf)>. Luettu 24.10.2011.
- Forbes, Betty A. – Sahm, Daniel F. – Weissfeld, Alice S. 1998. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Missouri: Mosby inc.
- HUSLAB 2009. Kantojen taltiointi. Työohje. Bakteriologian osasto. Kliinisen mikrobiologian vastuualue.
- HUSLAB 2010a. Kasvatusatmosfäärit. Työohje. Bakteriologian osasto. Kliinisen mikrobiologian vastuualue.
- HUSLAB 2010b. Hajotusviljely, bakteerien kvantitaatio. Työohje. Bakteriologian osasto. Kliinisen mikrobiologian vastuualue.



- HUSLAB 2011a. Vitek 2. Työohje. Bakteriologian osasto. Kliinisen mikrobiologian vastuualue.
- HUSLAB 2011b. ESBL- testaukset. Työohje. Bakteriologian osasto. Kliinisen mikrobiologian vastuualue.
- Kuusela, Pentti 2005. Mikrobiologian diagnostinen "peruspaketti". Suomen sairaalahygienialehti 3/2005.
- Kärpänoja, Pauliina 2007. Kromogeeniset maljat. Periaate ja tausta. Moodi 1/2007.
- Liimatainen, Oili 2002. Menetelmien validointi ja verifiointi kliinisen mikrobiologian laboratoriossa: yleisiä periaatteita. Moodi 1/2002.
- Lindholm, Laura – Eerola, Erkki 2010. Bakteerien luokittelu ja tyypittäminen. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 63–64.
- Lyytikäinen, Outi – Vuopio-Varkila, Jaana – Kotilainen, Pirkko 2010. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 98–101.
- Mahon, Connie R. – Manuselis, George 2000. Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Mikrobiologiset vertailukannat. 2005. Mittatekniikan keskus. Metrologian neuvottelukunta. Mikrobiologian työryhmä. 1/2005. Verkkodokumentti. <[http://www.mikes.fi/documents/upload/j1\\_05\\_mikrobiologiset\\_kantakoelmat.pdf](http://www.mikes.fi/documents/upload/j1_05_mikrobiologiset_kantakoelmat.pdf)>. Luettu 29.9.2010.
- Mueller-Hinton Agar 2009. Sigma Aldrich. Verkkodokumentti. Luettu 4.5.2011. <[http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/Usage/70191\\_2\\_mueller\\_hinton\\_agar\\_broth.Par.0001.File.tmp/70191\\_2\\_mueller\\_hinton\\_agar\\_broth.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/Usage/70191_2_mueller_hinton_agar_broth.Par.0001.File.tmp/70191_2_mueller_hinton_agar_broth.pdf)>.
- Niemelä, Seppo 2001. Lämpötila. Teoksessa Salkinoja-Salonen, Mirja (toim.): Mikrobiologian perusteet. Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Helsingin Yliopisto. 191–195.
- Nissinen, Antti 2008. Bakteerien ja hiivojen tunnistus ja herkkysmääritykset automaateilla. Moodi 5/2008.
- Pincus, David H. 2007. Microbial identification using the BioMérieux Vitek®2 system. Verkkodokumentti. <[https://store.pda.org/bookstore/TableOfContents/ERMM\\_V2\\_Ch01.pdf](https://store.pda.org/bookstore/TableOfContents/ERMM_V2_Ch01.pdf)> Luettu 4.5.2011.

- Puhakka, Jaakko – Salkinoja-Salonen, Mirja 2002. Bakteerien solukuori. Teoksessa Salkinoja-Salonen (toim.): Mikrobiologian perusteet. Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Helsingin Yliopisto. 98–111.
- Rantakokko-Jalava, Kaisu – Anttila, Veli-Jukka 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 122–129.
- Rhen, Mikael – Kuusela, Pentti – Vaara, Martti 2010. Bakteerien virulenssitekijät. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 68–75.
- Roslund, Iira 2011. Bioanalyttikko. Helsinki. Kirjallinen tiedonanto 19.9.2011.
- Salkinoja-Salonen, Mirja 2002. Mikrobiologian perusteet. Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Helsingin Yliopisto.
- Siitonen, Anja – Vaara, Martti 2010. Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 178–195.
- Tissari, Päivi – Anttila, Veli-Jukka 2010a. Muu *Enterobacteriaceae*-heimo. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 196–199.
- Tissari, Päivi – Anttila, Veli-Jukka 2010b. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 200–205.
- Vaara, Martti – Skurnik, Mikael – Sarvas, Matti 2010. Bakteerisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 14–40.
- Valve, Jaana 2011. Bioanalyttikko. Helsinki. Suullinen tiedonanto 21.9.2011.
- Vuopio-Varkila, Jaana – Kuusela, Pentti – Kotilainen, Pirkko 2010. *Staphylococcus aureus*. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Mikrobiologia, Immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Duodecim. 83–97.

**Käytettävät bakteeri- ja hiivasienikannat eri kasvatusmaljoilla****SM/VM/CLED/MH -malja 1/3/6-päivän kasvatusaika**

talletusnro	mikrobi
9112	E.coli ATCC 25922
90840	E.coli ESBL
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL
109565	Klebsiella oxytoca
106581	Citrobacter freundii
109242	Enterobacter cloacae
109055	Enterobacter cloacae
107278	Acinetob.baumannii
27612	Acinetob.cal.v.lwoffii
102002	Stenotroph.maltoph

**ESBL -malja 1/3/6-päivän kasvatusaika**

talletusnro	mikrobi
90840	E.coli ESBL
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL
109242	Enterobacter cloacae
109055	Enterobacter cloacae
102002	Stenotroph.maltoph
104537	E.coli ESBL
109001	Klebsiella pneumoniae ESBL
104586	Enterobacter cloacae ESBL
103487	Proteus mirabilis ESBL
108311	E.coli ESBL
109624	Acinetob.baumannii

**SM/VM -malja 1/3/6-päivän kasvatusaika**

talletusnro	mikrobi
110603	Staph.aureus
110600	Staph.aureus
110511	Staph.epidermidis
109765	Staph. haemolyticus
110569	Enterococcus faecalis
110416	Enterococcus faecium
105046	Enterococcus gallinarum

**Candida -malja 1/3/6-päivän  
kasvatusaika**

talletusno	mikrobi
102746	Candida albicans kasvaa maljalla vihreänä
102877	Candida albicans kasvaa maljalla valkoisena
1782	Candida albicans fluko=Resistentti
103654	C. dubliniensis
110599	C. dubliniensis
109716	C. glabrata
110465	C. glabrata
102301	C. tropicalis
104294	C. parapsilosis
110231	C. krusei

**Reagenssikorttien reagenssit**

## GN-reagenssikortin reagenssit

Kaivo	Reagenssi	Lyhenne
2	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	APPA
3	ADONITOL	ADO
4	L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	PyrA
5	L-ARABITOL	IARL
7	D-CELLOBIOSE	Dcel
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL
10	H2S PRODUCTION	H2S
11	BETA-N-ACETYL-GUCOSAMINIDASE	BNAG
12	Glutamyl Arylamidase pNA	AGLTp
13	D-GLUCOSE	Dglu
14	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	GGT
15	FERMANTATION/GLUCOSE	OFF
17	BETA-GLUCOSIDASE	BGLU
18	D-MALTOSE	dMAL
19	D-MANNITOL	dMAN
20	D-MANNOSE	Dmne
21	BETA-XYLOSIDASE	BXYL
22	BETA-alanine arylamidase pNA	BAlap
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA
26	LIPASE	LIP
27	PALATINOSE	PLE
29	Tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA
31	UREASE	URE
32	D-SORBITOL	Dsor
33	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC
34	D-TAGATOSE	Dtag
35	D-TREHALOSE	Dtre
36	CITRATE (SODIUM)	CIT
37	MALONATE	MNT
39	5-KETO-D-GLUCONATE	5KG

40	L-LACTATE alkalisation	ILAKT
41	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU
42	SUCCINATE alkalisation	SUCT
43	Beta-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA
44	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL
45	PHOSPHATASE	PHOS
46	Glycine ARYLAMIDASE	GlyA
47	ORNITHINE DECARBOXYLASE	ODC
48	LYSINE DECARBOXYLASE	LDC
52	DECARBOXYLASE BASE	ODEC
53	L-HISTIDINE assimilation	IHISa
56	COUMARATE	CMT
57	BETA-GLUCORONIDASE	BGUR
58	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	O129R
59	gly-gly-arg-ARYLAMIDASE	GGAA
61	L-MALATE assimilation	IMLTa
62	ELLMAN	ELLM
64	L-LACTATE assimilation	ILATa

(Pincus 2007: 17)

## GP-reagenssikortin reagenssit

Kaivo	Reagenssi	Lyhenne
2	D-AMYGDALIN	AMY
4	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	PIPLC
5	D-XYLOSE	Dxyl
8	ARGININE DIHYDROLASE 1	ADH1
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL
11	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU
13	Ala-Phe-Pro ARMYLAMIDSE	APPA
14	CYCLODEXTRIN	CDEX
15	L-Aspartate ARYLAMIDASE	AspA
16	BETA GALACTOPYRANOSIDASE	BGAR

17	ALPHA-MANNOSIDASE	AMAN
19	PHOSPHATASE	PHOS
20	Leucine ARYLAMIDASE	LeuA
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA
24	BETA GLUCURONIDASE	BGURr
25	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL
26	L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE	PyrA
27	BETA GLUCURONIDASE	BGUR
28	Alanine ARYLAMIDASE	AlaA
29	Tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA
30	D-SORBITOL	dSOR
31	UREASE	URE
32	POLYMIXIN B RESISTANCE	POLYB
37	D-GALACTOSE	dGAL
38	D-RIBOSE	dRIB
39	L-LACTATE alkalinization	ILATk
42	LACTOSE	LAC
44	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	NAG
45	D-MALTOSE	dMAL
46	BACITRACIN RESISTANCE	BACI
47	NOVOBIOCIN RESISTANCE	NOVO
50	GROWTH IN 6.5% NaCl	NC6.5
52	D-MANNITOL	dMAN
53	D-MANNOSE	dMNE
54	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	MBdG
56	PULLULAN	PUL
57	D-RAFFINOSE	dRAF
58	O/129 RESISTANCE	O129R
59	SALICIN	SAL
60	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC
62	D-TREHALOSE	dTRE
63	ARGININE DIHYDROLASE 2	ADH2s
64	OPTOCHIN RESISTANCE	OPTO

(Pincus 2007: 18)

## YST-reagenssikortin reagenssit

Kaivo	Reagenssi	Lyhenne
3	L-Lysine-ARYLAMIDASE	lysA
4	L-MALATE assimilation	IMLTa
5	Leucine-ARYLAMIDASE	LeuA
7	ARGININE GP	ARG
10	ERYTHRIOL assimilation	ERYa
12	GLYSEROL assimilation	GLYa
13	tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA
14	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG
15	ARBUTIN assimilation	ARBa
18	AMYGDALIN assimilation	AMYa
19	D-GALACTOSE assimilation	dGALa
20	GENTIBIOSE assimilation	GENa
21	D-GLUCOSE assimilation	dGLUa
23	LACTOSE assimilation	LACa
24	METHYL-A-D-GLUCOPYRANOSIDE	MAdGa
26	D-CELLOBIOSE assimilation	dCELa
27	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	GGT
28	D-MALTOSE assimilation	dMALa
29	D-RAFFINOSE assimilation	dRAFa
30	PNP-N-acetyl-BD-galactosaminidase	NAGA1
32	D-MANNOSE assimilation	dMNEa
33	D-MELIBIOSE assimilation	dMELa
34	D-MELEZITOSE assimilation	dMLZa
38	L-SORBOSE assimilation	ISBEa
39	L-RHAMNOSE assimilation	IRHAa
40	XYLITOL assimilation	XLTa
42	D-SORBITOL assimilation	dSORa
44	SACCHAROSE/SUCROSE assimilation	SACa
45	UREASE	URE
46	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU



47	D-TURANOSE assimilation	dTURa
48	D-TREHALOSE assimilation	dTREa
49	NITRATE assimilation	NO3a
51	L-ARABINOSE assimilation	IARa
52	D-GALACTURONATE assimilation	dGATa
53	ESCULIN HYDROLYSIS	ESC
54	L-GLUTAMATE assimilation	IGLTa
55	D-XYLOSE assimilation	dXYLa
56	DL-LACTATE assimilation	LATa
58	ACETATE assimilation	ACEa
59	CITRATE (SODIUM) assimilation	CITa
60	GLUCORONATE ASSIMILATION	GRTas
61	L-PROLINE assimilation	IPROa
62	2-KETO-D-GLUCONATE assimilation	2KGa
63	N-ACETYL-GLUCOSAMINE assimilation	NAGa
64	D-GLUCONATE assimilation	dGNTa

(Pincus 2007: 22)

## Vitek 2 -analysoittorin antamat tulokset

Identification Information		Card:	GN	Lot Number:	241190140	Expires:	Feb 27, 2012 12:00 EET																																																																																																																																																								
Selected Organism		Completed:	Jun 1, 2011 16:48 EEST	Status:	Final	Analysis Time:	3.75 hours																																																																																																																																																								
SRF Organism		96% Probability		Escherichia coli		Confidence: Excellent identification																																																																																																																																																									
Analysis Organisms and Tests to Separate:		Bionumber: 0405610740566601																																																																																																																																																													
Analysis Messages:																																																																																																																																																															
Contraindicating Typical Biopattern(s)		Escherichia coli URE(2),																																																																																																																																																													
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="8">Biochemical Details</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2</td><td>APPA</td><td>-</td><td>3</td><td>ADO</td><td>-</td><td>4</td><td>PyrA</td><td>-</td><td>5</td><td>IARL</td><td>-</td><td>7</td><td>dCEL</td><td>-</td><td>9</td><td>BGAL</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>10</td><td>H2S</td><td>-</td><td>11</td><td>BNAG</td><td>-</td><td>12</td><td>AGLTp</td><td>-</td><td>13</td><td>dGLU</td><td>+</td><td>14</td><td>GGT</td><td>-</td><td>15</td><td>OFF</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>17</td><td>BGLU</td><td>-</td><td>18</td><td>dMAL</td><td>+</td><td>19</td><td>dMAN</td><td>+</td><td>20</td><td>dMNE</td><td>+</td><td>21</td><td>BXYL</td><td>-</td><td>22</td><td>BAIap</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>23</td><td>ProA</td><td>-</td><td>26</td><td>LIP</td><td>-</td><td>27</td><td>PLE</td><td>-</td><td>29</td><td>TyrA</td><td>+</td><td>31</td><td>URE</td><td>+</td><td>32</td><td>dSOR</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>33</td><td>SAC</td><td>-</td><td>34</td><td>dTAG</td><td>-</td><td>35</td><td>dTRE</td><td>+</td><td>36</td><td>CIT</td><td>-</td><td>37</td><td>MNT</td><td>-</td><td>39</td><td>5KG</td><td>-</td> </tr> <tr> <td>40</td><td>ILATk</td><td>+</td><td>41</td><td>AGLU</td><td>-</td><td>42</td><td>SUCT</td><td>+</td><td>43</td><td>NAGA</td><td>-</td><td>44</td><td>AGAL</td><td>+</td><td>45</td><td>PHOS</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>46</td><td>GlyA</td><td>-</td><td>47</td><td>ODC</td><td>+</td><td>48</td><td>LDC</td><td>+</td><td>53</td><td>IHISa</td><td>-</td><td>56</td><td>CMT</td><td>+</td><td>57</td><td>BGUR</td><td>+</td> </tr> <tr> <td>58</td><td>O129R</td><td>-</td><td>59</td><td>GGAA</td><td>-</td><td>61</td><td>IMLTa</td><td>-</td><td>62</td><td>ELLM</td><td>+</td><td>64</td><td>ILATa</td><td>-</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </tbody> </table>								Biochemical Details								2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+	10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+	17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-	23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	+	33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-	40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+	46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+	58	O129R	-	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-			
Biochemical Details																																																																																																																																																															
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+																																																																																																																																														
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+																																																																																																																																														
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-																																																																																																																																														
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	+																																																																																																																																														
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-																																																																																																																																														
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+																																																																																																																																														
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+																																																																																																																																														
58	O129R	-	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-																																																																																																																																																	
bioMerieux Customer: System #:				Laboratory Report				Printed Jun 7, 2011 16:26 EEST Printed by: labadmin																																																																																																																																																							
Patient Name: Isolate Group: 1SM9112-1				Patient ID:																																																																																																																																																											
Bionumber: 0405610740566601 Selected Organism: <u>Escherichia coli</u> %																																																																																																																																																															
Comments:																																																																																																																																																															

Installed VITEK 2 Systems Version: 04.02  
MIC Interpretation Guideline:  
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:  
AES Parameter Last Modified:

**Tunnistetut nimet ja todennäköisyysprosentit**

talletusno	mikrobi	Oikea nimi			Todennäköisyys%		
		1. pv	3. pv	6. pv	1. pv	3. pv	6. pv
<b>SUKLAAMALJA</b>							
9112	E.coli ATCC 25922	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
90840	E.coli ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	94	98	94
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
109565	Klebsiella oxytoca	Low discrimination	kyllä	kyllä	97 (valittu)	99	94
106581	Citrobacter freundii	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
109242	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	95	95	94
109055	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	96	93	93
107278	Acinetob. baumannii	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	97
27612	Acinetob. cal.v. lwoffii	ei	ei	ei	0	0	0
102002	Stenotroph. maltoph	kyllä	kyllä	kyllä	95	95	87
110603	Staph.aureus	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	96
110600	Staph.aureus	kyllä	kyllä	Low discrimination	95	95	87 (valittu)
110511	Staph.epidermidis	kyllä	kyllä	väärä	99	96	93 (väärä)
109765	Staph. haemolyticus	kyllä	kyllä	väärä	98	98	98 (väärä)
110569	Enterococcus faecalis	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
110416	Enterococcus faecium	kyllä	kyllä	kyllä	97	93	98
105046	Enterococcus gallinarum	Low discrimination	kyllä	kyllä	97 (valittu)	99	99

<b>VERIMALJA</b>							
9112	E.coli ATCC 25922	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
90840	E.coli ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	94	94	98
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
109565	Klebsiella oxytoca	kyllä	Low discrimination	kyllä	99	96 (valittu)	94
106581	Citrobacter freundii	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
109242	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	96	94	94
109055	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	97	94	94
107278	Acinetob. baumannii	kyllä	kyllä	kyllä	99	95	96
27612	Acinetob. cal.v. lwoffii	ei	ei	ei	0	0	0
102002	Stenotroph. maltoph	kyllä	kyllä	kyllä	95	95	95
110603	Staph.aureus	kyllä	kyllä	kyllä	99	95	98
110600	Staph.aureus	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
110511	Staph.epidermidis	kyllä	väärä	ei	97	89 (väärä)	0
109765	Staph. haemolyticus	kyllä	kyllä	väärä	98	98	98 (väärä)
110569	Enterococcus faecalis	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
110416	Enterococcus faecium	kyllä	kyllä	kyllä	92	91	93
105046	Enterococcus gallinarum	kyllä	kyllä	kyllä	97	97	97

<b>CLED</b>							
9112	E.coli ATCC 25922	kyllä	kyllä	kyllä	95	94	96
90840	E.coli ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	95	94	93
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
109565	Klebsiella oxytoca	Low discrimination	Low discrimination	Low discrimination	94 (valittu)	97 (valittu)	95 (valittu)
106581	Citrobacter freundii	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
109242	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	98	96	95
109055	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	93	93	93
107278	Acinetob. baumannii	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
27612	Acinetob. cal.v.lwoffii	ei	ei	ei	0	0	0
102002	Stenotroph. maltoph	kyllä	kyllä	kyllä	99	95	95

<b>MÜLLER-HINTON</b>							
9112	E.coli ATCC 25922	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
90840	E.coli ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	94	95	93
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
109565	Klebsiella oxytoca	väärä	kyllä	kyllä	98 (väärä)	99	94
106581	Citrobacter freundii	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
109242	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	95	95	94
109055	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	96	93	92
107278	Acinetob. baumannii	kyllä	kyllä	ei	99	99	0
27612	Acinetob. cal.v.lwoffii	ei	ei	ei	0	0	0
102002	Stenotroph. maltoph	kyllä	kyllä	kyllä	95	95	95

<b>ESBL</b>							
90840	E.coli ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	95	93	92
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
109242	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	98	95	95
109055	Enterobacter cloacae	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	97
102002	Stenotroph.maltoph	kyllä	kyllä	kyllä	99	95	95
104537	E.coli ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	99	98	94
109001	Klebsiella pneumoniae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	95	99	99
104586	Enterobacter cloacae ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	97	96	96
103487	Proteus mirabilis ESBL	kyllä	kyllä	kyllä	98	98	98
109624	Acinetob.baumannii	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	96

<b>CANDIDA</b>							
102746	Candida albicans chrom vihreä	kyllä	kyllä	kyllä	94	98	99
102877	Candida albicans chrom valk	kyllä	kyllä	kyllä	99	97	93
1782	Candida albicans fluko=R	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	96
103654	C. dubliniensis	kyllä	kyllä	ei	94	87	0
110599	C. dubliniensis	kyllä	kyllä	kyllä	93	87	91
109716	C. glabrata	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	96
110465	C. glabrata	kyllä	kyllä	kyllä	99	99	99
102301	C. tropicalis	kyllä	kyllä	kyllä	96	96	92
104294	C. parapsilosis	kyllä	kyllä	kyllä	91	92	96
110231	C. krusei	Low discrimination	Low discrimination	kyllä	94 (valittu)	96 (valittu)	96

**Reagenssimuutosten määrät**

talletusno	mikrobi	Reaktiot	muutokset	
		1. pv	3. pv	6. pv
<b>SUKLAAMALJA</b>				
9112	E.coli ATCC 25922		2	
90840	E.coli ESBL		5	5
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883		1	5
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL		0	2
109565	Klebsiella oxytoca		6	5
106581	Citrobacter freundii		0	2
109242	Enterobacter cloacae		2	3
109055	Enterobacter cloacae		4	5
107278	Acinetob. baumannii		0	2
27612	Acinetob. cal. v. lwoffii		2	1
102002	Stenotroph. maltoph		2	4
110603	Staph. aureus		1	4
110600	Staph. aureus		5	5
110511	Staph. epidermidis		0	6
109765	Staph. haemolyticus		2	2
110569	Enterococcus faecalis		2	1
110416	Enterococcus faecium		4	1
105046	Enterococcus gallinarum		3	2
	Muutosten määrä yht.		41	55

<b>VERIMALJA</b>				
9112	E.coli ATCC 25922		0	4
90840	E.coli ESBL		2	5
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883		1	5
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL		0	2
109565	Klebsiella oxytoca		6	5
106581	Citrobacter freundii		6	8
109242	Enterobacter cloacae		7	5
109055	Enterobacter cloacae		4	5
107278	Acinetob. baumannii		1	3
27612	Acinetob. cal. v. lwoffii		0	0
102002	Stenotroph. maltoph		1	2

110603	Staph.aureus	5	5
110600	Staph.aureus	1	4
110511	Staph.epidermidis	11	12
109765	Staph. haemolyticus	2	4
110569	Enterococcus faecalis	1	3
110416	Enterococcus faecium	1	2
105046	Enterococcus gallinarum	0	1
	Muutosten määrä yht.	49	75

<b>CLED</b>				
9112	E.coli ATCC 25922	2	0	3
90840	E.coli ESBL	4	3	3
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	0	0	1
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	0	0	0
109565	Klebsiella oxytoca	5	4	3
106581	Citrobacter freundii	2	1	3
109242	Enterobacter cloacae	2	3	2
109055	Enterobacter cloacae	4	5	4
107278	Acinetob.baumannii	1	1	1
27612	Acinetob.cal.v.lwoffii	0	1	2
102002	Stenotroph.maltoph	2	1	1
	Muutosten määrä yht.	22	19	23

<b>MÜLLER-HINTON</b>				
9112	E.coli ATCC 25922	0	2	4
90840	E.coli ESBL	1	4	4
15505	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	0	1	6
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	0	0	2
109565	Klebsiella oxytoca	4	6	3
106581	Citrobacter freundii	0	2	2
109242	Enterobacter cloacae	0	2	3
109055	Enterobacter cloacae	0	5	8
107278	Acinetob.baumannii	0	1	4
27612	Acinetob.cal.v.lwoffii	0	1	4
102002	Stenotroph.maltoph	0	2	2
	Muutosten määrä yht.	5	26	42



<b>ESBL</b>				
90840	E.coli ESBL	5	4	5
34678	Klebsiella pneumoniae ESBL	0	0	1
109242	Enterobacter cloacae	3	2	3
109055	Enterobacter cloacae	3	1	3
102002	Stenotroph.maltoph	1	3	2
104537	E.coli ESBL		2	2
109001	Klebsiella pneumoniae ESBL		1	2
104586	Enterobacter cloacae ESBL		1	2
103487	Proteus mirabilis ESBL		0	1
109624	Acinetob.baumannii		4	2
	Muutosten määrä yht.	12	18	23

<b>CANDIDA</b>				
102746	Candida albicans chrom vihreä		1	2
102877	Candida albicans chrom valk		4	4
1782	Candida albicans fluko=R		0	0
103654	C. dubliniensis		4	9
110599	C. dubliniensis		7	10
109716	C. glabrata		2	2
110465	C. glabrata		0	2
102301	C. tropicalis		0	1
104294	C. parapsilosis		5	5
110231	C. krusei		1	2
	Muutosten määrä yht.		24	37
		kpl	kpl	kpl

**Muutokset reagenssikohtaisesti**

GN	SM		VM		CLED		MH		ESBL		yht.	
	3. pv	6. pv	3. pv	6. pv	3. pv	6. pv	3. pv	6. pv	3. pv	6. pv		
APPA												
ADO												
PyrA												
IARL												
Dcel		1	1	1				1		1	5	
BGAL		1						1		1	3	
H2S												
BNAG	2	2	1	1			2	2	1	1	12	
AGLTp								2		1	1	4
Dglu												
GGT	1	1	2	1				1		1	1	8
OFF												
BGLU		1		1				1			2	5
dMAL		2		1				2				5
dMAN												
Dmne												
BXYL			1									1
BAIap												
ProA	2		2	2	1	1	1	7				16
LIP												
PLE												
TyrA	5	5	3	6	5	6	6	7	3	3		49

<b>GN</b>	<b>SM</b>		<b>VM</b>		<b>CLED</b>		<b>MH</b>		<b>ESBL</b>		<b>yht.</b>
URE	2	1	2		3	4	2	1	4	4	
Dsor											
SAC											
Dtag						1					1
Dtre											
CIT			1	1		1	1	2			6
MNT								1			1
5KG	1	1	1	1				1			5
ILAKT		2	2	3				1			8
AGLU	1	1							1	1	4
SUCT	1	4		6		1	1	1		1	15
NAGA											
AGAL		1	2	2				1		1	7
PHOS	2	3	3	2	3	2	2	3	2	2	24
GlyA	2	3	2	2	2	1	3	3		1	19
ODC											
LDC											
ODEC											
IHISa	1	2	1	1	1	1	1	1	1		10
CMT		4	1	4	1	1	1	3	1	1	17
BGUR	1	2			1	1	1	1	2	1	10
O129R				1		1		2	1		5
GGAA	1		1	1			1	1	1	1	7
IMLTa	1	2	2	3	2	1	2	1	1	1	16
ELLM	1	1				1	1	2		1	7
ILATa	1		1	1			1		1		5

GP	SM		VM		yht.
	3. pv	6. pv	3. pv	6. pv	
AMY		1	1	1	3
PIPLC					
Dxyl					
ADH1		1	1	1	3
BGAL					
AGLU	1	2	2	3	8
APPA					
CDEX	1	1	1	1	4
AspA	1			2	3
BGAR	1				1
AMAN			1		1
PHOS		1	1	1	3
LeuA	2			1	3
ProA					
BGURr			1	1	2
AGAL			1	1	2
PyrA					
BGUR					
AlaA	1	1			2
TyrA	1				1
dSOR					
URE					
POLYB		2	1	2	5
dGAL	2		1	1	4
dRIB	1	1	1	1	4

<b>GP</b>	<b>SM</b>		<b>VM</b>		<b>yht.</b>
ILATk		3	2	2	7
LAC	1		1	2	4
NAG	1	2	1	2	6
dMAL			1	1	2
BACI	1	2	1	2	6
NOVO	1				1
NC6.5				1	1
dMAN					
dMNE			1	1	2
MBdG		1			1
PUL					
dRAF		1			1
O129R	1	1	1	3	6
SAL					
SAC					
dTRE					
ADH2s	1	1	1		3
OPTO				1	1

YST	CANDIDA		yht.
	3 pv.	6. pv	
lysA			
IMLTa			
LeuA			
ARG			
ERYa	1	1	2
GLYa	1	3	4
TyrA	3	3	6
BNAG			
ARBa			
AMYa	1	2	3
dGALa			
GENa			
dGLUa			
LACa			
MAdGa			
dCELa			
GGT			
dMALa			
dRAFa			
NAGA1		2	2
dMNEa			
dMELa			
dMLZa			
ISBEa	1	1	2
IRHAa			

<b>YST</b>	<b>CANDIDA</b>		yht.
XLTa	1	1	2
dSORa			
SACa			
URE	1	2	3
AGLU			
dTURa			
dTREa	1	1	2
NO3a	2	3	5
IARa		1	1
dGATa	2	2	4
ESC			
IGLTa	1		1
dXYLa	1	3	4
LATa			
ACEa			
CITa			
GRTas	3	2	5
IProa			
2KGa	1	2	3
NAGa	3	3	6
dGNTa	1	4	5