

Iida Silvo, Sabina Wright

ReaScan® Strep A -vieritestin validointi

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

10.12.2012

Tekijät Otsikko	Iida Silvo, Sabina Wright ReaScan® Strep A-vieritestin validointi
Sivumäärä Aika	28 sivua + 2 liitettä 10.12.2012
Tutkinto	Bioanalytiikka (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaajat	Lehtori Tuula Kurkinen Sairaalamikrobiologi Terhi Miikkulainen-Lahti
Työn tarkoituksena oli validoida Reagenan ReaScan® Strep A -vieritesti eli selvittää, kuinka se soveltuu käyttötarkoitukseensa. Vieritestistä saatuja tuloksia verrattiin referenssimenetelmään eli viljelyyn. Työ suoritettiin HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastuualueen bakteriologian osastolla. Tutkimme 200 jo aikaisemmin viljeltyä ja vastattua potilasnäytettä. Lisäksi tutkimme muutamia mahdollisia ristireaktion aiheuttajia puhtailla ATCC-kannoilla. Teimme suspension geelikuljetusputken näytetikussa olevasta näytemateriaalista, josta teimme uuden viljelyn CO-maljalle ja varsinaisen vieritestin. Testi perustuu immunokromatografiaan ja antaa ReaScan® Reader -laitteella kvantitatiivisen tuloksen. Analysoimme saaduista tuloksista testin sensitiivisyyttä, spesifisyyttä, positiivista ja negatiivista ennustearvoa sekä kliinistä tehokkuutta. Testin sensitiivisyydeksi saatiin 100 %, spesifisyydeksi 82 %, positiiviseksi ennustearvoksi 69 % ja negatiiviseksi ennustearvoksi 100 %. Kliininen tehokkuus oli näyteotoksemme mukaan 87 %. Testi löysi kaikki A-ryhmän streptokokkia sisältävät näytteet. Vääriä positiivisia tuloksia se antoi 26:lle tutkituista näytteistä. Osassa näistä näytteistä kasvoi viljelyn perusteella runsaasti enterokokkeja, B-, C- ja G-ryhmän streptokokkia sekä St.aureusta. Työn tulosten perusteella ReaScan® Strep A -testi soveltuu hyvin A-ryhmän streptokokin alustavaan vieritestidiagnostiikkaan. Vieritestivastaus tulisi silti aina varmistaa luotettavammalla menetelmällä, tässä tapauksessa viljelyllä.	
Avainsanat	ReaScan® Strep A- vieritestin validointi, A-ryhmän streptokokki, mikrobiologisen menetelmän validointi.

Authors Title Number of Pages Date	Ilida Silvo, Sabina Wright Validation of ReaScan® Point-of-Care Test for Streptococcus A 28 pages + 2 appendices 10 December 2012
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Tuula Kurkinen, Senior Lecturer Terhi Miikkulainen-Lahti, Hospital Microbiologist
The object of our study was to validate the Reagentia ReaScan® Point-of-Care test for streptococcus A and to find out if it worked as it should. Results from the ReaScan® test were compared to a reference method, which is culture. Our study was carried out in the HUSLABs bacteriology laboratory, Helsinki, Finland. We analysed 200 patient samples that were cultured at the laboratory earlier. In addition, we analysed few possible causes for a cross-reaction with clean ATCC-strains. We made a suspension of the material in a Transpocult tube from which we made a new culture to a CO-plate and an point-of-care test. The test was based on immunochromatographia and it gave a quantitative result when it was analysed by the ReaScan® rapid test reader. We analyzed the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and clinical efficiency as well. The sensitivity of the test was 100% and the specificity 82%, the positive predictive value 69% and the negative predictive value was 100%. The clinical efficiency of the test was 87% according to our samples. The test found all samples containing group A streptococcus. The number of false positives was 26. In part of these samples, according to the culture, had a strong number of enterococcus, groups B, C and G streptococcus and the St. aureus. Based on the results, the ReaScan® Strep A-test works well with the point-of-care group A streptococcus diagnostics. However, the point-of-care test results should still be confirmed by a more reliable method, which is a throat culture.	
Keywords	Validation of Reascan® Strep A Point-Of-Care test, streptococcus A, point-of-care test, validation of microbiological method

Sisällys

1	Johdanto	2
2	Validointi	3
2.1	Validoinnin parametrit	4
3	Streptococcus pyogenes	6
4	Vieritestaus	7
4.1	ReaScan® Strep A -testi	9
4.2	Reagenan ReaScan® Strep A -testin menetelmäperiaate	10
4.3	Ristireaktiot	14
5	Tutkimusasetelma	15
6	Tulokset	15
7	Tulosten tulkinta	17
8	Luotettavuus	21
8.1	Eettisyys	22
9	Pohdinta	23
	Lähteet	27

Liitteet

Liite 1. Viljelystä sekä ReaScan® Strep A-testillä saadut tulokset

Liite 2. Positiiviset viljelytulokset ja ReaScan® Readerin tulos

1 Johdanto

A-ryhmän β -hemolyyttinen streptokokki on yleisin bakteerien aiheuttamien nielutulehduksien syynä oleva mikrobi ja useat yritykset ovat tuoneet markkinoille sen osoittamiseen soveltuvia vieritestejä. A-ryhmän β -hemolyyttinen streptokokki aiheuttaa erityisesti infektoita lapsille ja nuorille aikuisille. (Vuopio-Varkila – Syrjänen – Kotilainen 2011:103.) Streptokokkien aiheuttamat infektiot – erityisesti A-ryhmän beetahemolyyttisen streptokokin aiheuttama tonsilliitti – vaatii antibioottihoitoa, minkä takia vieritestidiagnostiikka on perusteltua. (Lehtonen 2000: 52.) Mikrobiologisilla vieritesteillä haetaan potilaasta saadusta näytteestä tiettyä taudinaiheuttajamikrobia tai spesifisiä vasta-aineita. Mikrobiologisella vieritestillä saadaan siis vain positiivinen tai negatiivinen tulos. A-streptokokin osoittaminen vieritestillä on haasteellista, koska edes bakteeriviljelyllä ei voida löytää kuin 80-90% positiivisista näytteistä. Tämä asettaa suuria haasteita vieritesteille, jotta ne olisivat tarpeeksi herkkiä ja tarkkoja. Haaste koskee myös testien tekijöitä. Nielunäytteitä ottaessa on monia virhelähteitä, jotka saattavat aiheuttaa vääriä negatiivisia tuloksia, joten näytteen tulisi olla edustava ja testin suoritus ja tulkinta oikea. (Nissinen 2009: 21–22.)

Tutkimuksessamme selvitimme, miten ReaScan® Strep A -testi soveltuu A-ryhmän streptokokin tunnistamiseen nielunäytteestä. Validoinnin tarkoituksena oli osoittaa testin sensitiivisyys, spesifisyys, positiivinen ennustearvo, negatiivinen ennustearvo ja kliininen tehokkuus. (Ehder 2005: 25–53.) Selvitimme myös testin suorittamisvaiheessa ilmenneitä ristireaktioita.

Opinnäytetyömme toteutuksen suoritimme HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastuualueen bakteriologian laboratoriossa ja työn ohjaajina toimi bakteriologian puolelta sairaalamikrobiologi Terhi Miikkulainen-Lahti ja koulun puolelta Tuula Kurkinen. Reagenan yhteyshenkilönä toimi Kati Ryyänen. Aloitimme opinnäytetyön tekemisen suorittamalla esitutkimuksen 2.5.2012 ja itse työn suoritimme 21.8-14.9.2012.

2 Validointi

Nykyään kilpailukykyiset laboratoriot ovat akkreditoituja ja niiden toiminta perustuu laatujärjestelmään. Laboratoriotoimintaa ohjaa hyväksytyt kansainväliset ja kansalliset standardit, suositukset ja ohjeet, joita valvoo Suomessa Suomen Standardisoimisliitto SFS ry. Laatujärjestelmät ovat usein sertifioituja, jotka perustuvat kansainvälisiin standardeihin ja suosituksiin. Standardit ja suositukset laatii kansainvälinen standardijärjestö ISO (International Organization for Standardization) ja CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Laatujärjestelmän tarkoituksena on taata tulosten laatu ja pyrkiä vähentämään virheellisiä ja epätarkkoja tuloksia. Akkreditoinnin tarkoituksena on virallistaa laatujärjestelmä ja todeta sen pätevyys. Suomessa FINAS on akkreditointielin, joka toteaa laboratorioille niiden pätevyyden. (Linko 2003: 28.) Laatujärjestelmää testataan auditoinnein kerran vuodessa ja auditoinnin suorittaa ulkopuolinen taho. Auditointien tarkoituksena on parantaa laboratorion toimintaa ja puuttua mahdollisiin virheisiin. (Linko – Ahonen – Eirola – Ojala 2000: 150–158.)

Laboratorion laatua voidaan myös tarkkailla laboratorioden välisillä vertailumittauksilla, joissa on mukana kaksi tai useampi laboratorio. Ulkoisissa laaduntarkkailuissa samasta näytteestä tehdään samat ennalta määrätyt määritykset, joiden tuloksista laboratorio voi kontrolloida analyysimenetelmiensä toimintakykyä omiin ja ulkoisiin vaatimuksiin nähden. Akkreditointi edellyttää, että laboratorio osallistuu laboratorioden välisiin vertailututkimuksiin ja tästä on olemassa kirjallista informaatiota. Sisäisellä laadunohjauksella varmistetaan, että tulokset ovat luotettavia ja sen merkitys laadunvalvonnassa on merkittävä. Sisäisellä laadunvalvonnalla saadaan selville mahdolliset reagensseista lähtöisin olevat virhelähteet tai kontaminaatiot. Sisäisellä laadunvalvonnalla tarkkaillaan myös menetelmän toimivuutta. (Ehder 2005: 45–53.)

Laboratorion käytössä olevat menetelmät tulee olla validoitu eli niiden oikeellisuus ja tulostaso on tarkistettu alueen väestöä vastaavalla potilasryhmällä. (Labqualityn asiantuntijasuositus 2009: 286–294.)

Validointi on menetelmän kelpoisuuden määrittämistä kun taas vertifiointilla osoitetaan, että tulostiedot täyttävät lähtötietojen asettamat vaatimukset. Validointi on laaja prosessi, jossa osoitetaan menetelmän toimivuus, sopivuus käyttötarkoitukseensa, luotettavuus (reliability) ja kuinka pätevä (validity) menetelmä on. Uutta, validoitavaa menetelmää verrataan laboratoriossa käytössä olevaan menetelmään ns.

referenssimenetelmään. (Ehder 2005: 25–53; Linko 2003: 37.) Referenssimenetelmä on menetelmä, jonka ominaisuudet tunnetaan tarkasti ja jonka on osoitettu antavan oikeita ja toistettavia tuloksia. (Heikkilä 2008.)

Validointia ohjaa standardi SFS-EN ISO 15189:2007, jossa määritetään erityisvaatimukset laadulle ja pätevyydelle kliinisissä laboratorioissa. Standardi määrittelee ja ohjaa laboratorioiden toimintaa, joiden mukaan niiden tulee validoida menetelmänsä varmistaen, että tutkimusmenetelmä soveltuu käyttötarkoitukseensa. (Linko 2003: 24.) Validoinnin laajuuteen vaikuttaa validoinnin tarkoitus eli halutaanko menetelmässä muuttaa jotakin tekijää vai onko menetelmä täysin uusi. (Ehder 2005: 26).

Validoinnin periaate yksinkertaisuudessaan on tuottaa joukko vertailuarvoja suureille, jotka ovat ennalta suunniteltuja mittaamaan menetelmän luotettavuutta. Testeistä saadut tulokset kuvaavat sitä, miten menetelmä toimii ja soveltuuko se tulevaan käyttötarkoitukseensa. Validoinnissa otetaan myös kantaa siihen, ovatko menetelmien tutkimustulokset vertailukelpoisia referenssimenetelmään nähden sekä toisten laboratorioiden kesken (Heikkilä 2008.)

Validoinnista laaditaan kirjallinen raportti, josta ilmenee työn toteutus, tavoitteet sekä käytetyt välineet ja materiaalit sekä mittaustulokset. Raportin tarkoituksena on selvittää menetelmän kelpoisuus ja kartoittaa mahdolliset virhelähteet sekä parannustoimet. Validoinnista kirjataan menetelmäohje, josta selviävät saadut tulokset ja laadunvarmistusmenettelyt. (Ehder 2005: 25–53.) Validointiraportissa tulee käydä ilmi mittausten menetelmän ja laitteen tekninen ja kemiallinen periaate sekä mahdolliset vaatimukset olosuhteiden suhteen laitteen tai testin käytölle. Laite tulee olla kalibroitu valmistajan toimesta ja raportissa tulee ilmetä käyttäjän suorittamat eräkohtaiset säädöt. Kaikki määritysrajat on oltava dokumentoitu. Raportissa tulee käydä ilmi testin tulostason vastaavuus laboratorion menetelmään verrattuna, sekä siinä tulee määritellä tulosten luotettavuus sekä mahdollisen mittausepävarmuuden vertaaminen kliiniseen käyttötarpeeseen. (Labqualityn asiantuntijasuositus 2009: 286–294.)

2.1 Validoinnin parametrit

Kliinisessä mikrobiologiassa validointi asettaa haasteita, koska bakteerit ovat eläviä organismeja, joiden tarkkaa pitoisuutta ei voida määrittää. Mikrobiologian validoinnissa

voidaankin tutkia seuraavia parametreja: herkkyys, spesifisyys, toistettavuus sekä uusittavuus. Mikrobiologisia näytteitä validoitaessa tulee validointiraportissa selvittää kvalitatiivisissa tutkimuksissa menetelmän toteamisraja sekä virheelliset positiiviset- ja negatiiviset tulokset. Kvantitatiivisessa menetelmässä raportissa tulee selvittää pitoisuuksien yhteneväisyys ja lineaarisuus. (Ehder 2005: 25–53; Heikkilä 2008.)

Herkkyys määritetään vertaamalla tuloksia luotettavaan, tunnettuun menetelmään (Heikkilä 2008). Herkkyyden avulla osoitetaan, kuinka hyvin oikeat taudin aiheuttajan suhteen positiiviset tulokset löydetään. Mikrobiologiassa antigeeniosoituksen vertailumenetelmänä käytetään viljelyä. (Linko 2009: 22–23.) Sensitiivisyys voidaan laskea alla olevalla kaavalla:

$$\frac{\textit{oikea negatiivinen}}{\textit{oikea negatiivinen} + \textit{väärä negatiivinen}}$$

Spesifisyydellä tarkoitetaan testin kykyä löytää vain oikeat taudinaiheuttajat näytteestä muista häiriötekijöistä huolimatta. Spesifinen menetelmä on täysin selektiivinen tutkittavalle mikrobille, mutta vain harvat menetelmät täyttävät tämän kriteerin. (Heikkilä 2008; Linko 2009: 22–23.) Spesifisyys voidaan laskea alla olevalla kaavalla:

$$\frac{\textit{oikea negatiivinen}}{\textit{oikea negatiivinen} + \textit{väärä positiivinen}}$$

Toistettavuus tarkoittaa, että sama henkilö tekee testin uudestaan mahdollisimman standardoiduissa olosuhteissa lyhyen ajan sisällä. Menetelmän toistettavuus määritetään suorittamalla rinnakkaisia tutkimuksia näytteistä, joissa on eri pitoisuudet tutkittavaa mikrobia. Saaduista tuloksista lasketaan tulosten välinen vaihtelu eli hajonta mittaussarjojen sisällä sekä eri mittaussarjojen välillä. (Ehder 2005: 37; Heikkilä 2008.)

Uusittavuus kuvastaa, miten samalla menetelmällä ja samoista näytteistä tehdyt mittaustulokset korreloivat keskenään, kun ne suoritetaan muuntuneissa olosuhteissa. Vertailumittauksilla laboratorioden välillä voidaan tarkkailla menetelmien toistettavuutta ja uusittavuutta sekä todeta menetelmien systemaattisia virheitä. Vertailumittaukset ovat tarpeen uuden menetelmän validoinnin yhteydessä tai kun halutaan arvioida käytössä olevan menetelmän suorituskykyä. (Ehder 2005: 37,45–46.)

Positiivinen ennustearvo kuvaa todennäköisyyttä, että henkilöllä on diagnosoinnin kohteena oleva tauti sillä ehdolla, että testitulos on ollut positiivinen. (Sarna 2012: 7).

$$\frac{\textit{oikea positiivinen}}{\textit{oikea positiivinen} + \textit{väärä positiivinen}}$$

Negatiivinen ennustearvo kuvaa todennäköisyyttä, että henkilöllä ei ole diagnosoinnin kohteena olevaa tautia silloin kun testitulos on negatiivinen. (Sarna 2012: 7).

$$\frac{\textit{oikea negatiivinen}}{\textit{oikea negatiivinen} + \textit{väärä negatiivinen}}$$

Kliinisellä tehokkuudella kuvataan oikeasti sairaiden osuutta tutkituista henkilöistä (Labqualityn asiantuntijasuositus 2009: 292).

$$\frac{\textit{oikea positiivinen} + \textit{oikea negatiivinen}}{\textit{oikea positiivinen} + \textit{oikea negatiivinen} + \textit{väärä positiivinen} + \textit{väärä negatiivinen}}$$

3 Streptococcus pyogenes

Streptococcus pyogenes on beetahemolyyttinen bakteeri, joka on fakultatiivisesti lisääntyvä grampositiivinen kokkibakteeri. Sen tuottamat eksoentsyymit ja toksiinit lisäävät taudinaiheuttamiskykyä. Soluseinän uloin kerros koostuu hyaluronihaposta, jota löytyy myös ihmisen sidekudoksesta. Näin ollen se on huonosti immunogeeninen ja osaltaan suojaa bakteeria fagosytoosilta. Toinen kerros koostuu proteiineista, joista M-proteiini on bakteerin tärkein virulenssitekijä. M-proteiineja on yli 80:tä eri antigeenityyppiä ja vasta-aineet niitä kohtaan suojaavat infektiolta. Kolmannessa kerroksessa sijaitsee solun ryhmäspesifinen polysakkaridi eli C-polysakkaridi (Vuopio-Varkila – Syrjänen – Kotilainen 2011:102.)

15–30 % bakteeritonsilliiteistä on Streptococcus pyogenesin aiheuttamia. Oireina tällaisessa infektiossa on kuume, kaulan imusolmukkeiden turpoaminen ja aristaminen sekä kivun tunne nieltäessä. Oireisiin voi kuulua myös päänsärkyä ja mahakipua. Nielun limakalvo punoittaa ja nieluun on saattanut syntyä myös petekkioita eli pieniä verenpurkauksia. (Ruuskanen. 2011: 433.) A-ryhmän streptokokki voi edetä myös nielusta limakalvoa pitkin eteenpäin ja aiheuttaa välikorvan tulehdusta, nenän

sivuontelon tulehdusta ja keuhkokuumetta. Vakavana komplikaationa streptokokki-infektiossa on peritonsillaarinen absessi eli kurkkupaise sekä sepsis. Erytrogeenistä toksiinia erittävät A-streptokokkikannat voivat aiheuttaa tulirokkoa, mikäli potilaalla ei ole vasta-aineita toksiinia kohtaan. Nieluinfektion jälkitautina voi esiintyä reumakuumetta ja glomerulonefriittiä. (Mattila 2007.)

Nieluinfektioiden diagnostiikassa streptokokki A:n aiheuttamien nielutulehdusten löytäminen on tärkeää, sillä se voi aiheuttaa vakavia jälkitauteja. Diagnoosin perustana on streptokokki A:n antigeenitesti, jonka etuna on sen nopeus. Mikrobiologisella vieritestillä etsitään taudin aiheuttajaa, tosin testin positiivisen tuloksen odotusarvo on kuitenkin vain 50 %, joten negatiivista tulosta ei voida koskaan perustellusti pitää vääränä. Testin tulee olla hyvin herkkä ja tarkka ja näytteen tulee olla edustava. (Nissinen 2009: 21–22.) Diagnoosin voi vielä varmistaa viljelyllä, joka sekään ei kuitenkaan löydä kuin 80–90% positiivisista näytteistä. (Mattila 2007; Nissinen 2009: 21–22). A-ryhmän beetahemolyyttisen streptokokin aiheuttamien tonsilliittien hoidossa käytetään penisilliiniä, kefalosporiineja, makrolideja sekä klindamysiiniä. (Vuopio-Varkila – Syrjänen – Kotilainen 2011:107.)

4 Vieritestaus

Vieritestit eli niin sanotut Point-of-Care-testit ovat yleistyneet ja mahdollistaneet vastauksien nopeamman saannin lääkärille sekä nopeuttaneet potilaan hoidon aloittamista. On kuitenkin tärkeää arvioida vieritestin tekemisen tarpeellisuus, koska useimmat vieritestit ovat kalliimpia kuin normaali laboratoriodiagnostiikka. Koska vieritestin vastaus ohjaa potilaan hoitoa välittömästi, on tärkeää huomioida vieritestien analyyttinen laatu. (Linko 2009: 22–23.)

Vieritestauksen laadunvarmistuksessa on tärkeää ammattitaitoiset testin suorittajat, oikeanlaiset ja luotettavat testit, kontrollointi, tulosten jäljitettävyys sekä siirrettävyys. Ennen testin käyttöönottoa on testille tehtävä validointi, joka on suunniteltu ja toteutettu huolella. Tästä tulee laatia raportti. Laatukriteerien täyttämiseksi vieritestauksen tulee täyttää samat laatukriteerit kuin laboratoriossakin tehtävien tutkimusten. Laadukkaassa vieritestauksessa testin suorittaja tulee olla perehdytetty tehtävään sekä testin tulee soveltua käyttötarkoitukseensa. Testin tekemiseen on oltava olemassa pätevät ohjeet ja testin luotettavuus tulee olla varmistettu sekä laatua täytyy seurata jatkuvasti.

Tulokset kirjataan ja tallennetaan sekä niitä tulee osata tulkita oikein. (Labqualityn asiantuntijasuositus 2009: 286–294.)

Mikrobiologiset testit luokitellaan tartuntavaarallisiksi ja niiden suorittaminen on luvanvaraista toimintaa. Tartuntatautilaki 1543/2009, 10§ määrittää, millä perusteilla luvat myönnetään. Aluehallintovirasto hyväksyy mikrobiologisia tutkimuksia suorittavat laboratoriot ja valvoo niiden toimintaa yhteistyössä Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitoksen kanssa. (Tartuntatautilaki 1543/2009.)

Vieritestauksessa, erityisesti antigeeniosoitustesteissä preanalyttiset tekijät vaikuttavat lopputulokseen, samoin kuin testin suorittamiseen perehtyminen (Labqualityn asiantuntijasuositus 2009: 286–294). Näytettä otettaessa ja analysoitaessa tulee huomioida ne tekijät, jotka vaikuttavat tulokseen, jotta mahdolliset virheiden aiheuttajat saadaan eliminoidua. Ennen nielunäytteen ottamista ruokailua ja juomista tulee välttää, koska joissain tapauksissa ne saattavat vaikuttaa tulokseen. Suu- ja nielutulehdukseen tarkoitettuja lääkkeitä ei saa ottaa, koska ne ovat tarkoitettu tappamaan bakteerit limakalvojen pinnalta. Näytettä otettaessa nielusta ei näytetikku saa kontaminoitua ihon tai limakalvojen normaaliflooralla. Näyte tulisi ottaa voimakkaasti tikkua painaen ja pyörittäen nielurisoissa, jotta saataisiin riittävä määrä tutkittavaa mikrobia luotettavaan analyysiin. (Tuokko 2008: 90–99; Hilla 2009: 1–2.)

Tutkimuspyynnöstä tulee selvittää potilastiedot, näytteen laatu, ottoaika ja haluttu tutkimus. Henkilökunnan tulee olla perehtyneitä laitteeseen niin, että vieritestin oikeaoppinen käyttö on mahdollista. Testin suorittajan tulee olla perehtynyt testin periaatteeseen ja käyttöön, jotta tulokset tulkitaan ja kirjataan oikein. Tulokset tulee lähettää ja arkistoida oikeaoppisesti. Testin mukana tulevat reagenssit ja liuskat tulee säilyttää oikein, eivätkä ne saa olla vanhentuneita. Testi tulee säännöllisin väliajoin kontrolloida, jotta voidaan luottaa siihen, että testi toimii luotettavasti. (Hilla 2009: 1–2; Tuokko 2008: 90–99; Tang 2002: 67–92.)

Laboratoriotutkimusten moninaisuus ja monimutkainen nimikkeistö kuuluvat tutkimuspyyntöä valittaessa suuriksi virhelähteiksi. Tutkimuksen tilaajan tulisi olla selvillä mitä tutkimuksella halutaan selvittää, jotta tutkimus ajaisi potilaan kannalta oikeaa tarkoitusta. (Lehtonen 2000: 53; Tang 2002: 67–92.)

Vieritutkimuksia tulisi suorittaa koulutetut laboratorion ammattilaiset, jotka hallitsevat diagnostiikan luotettavuuden kannalta keskeiset asiat kuten laadunvalvonnan, laitteiden huollon, tulosten dokumentoinnin ja yleisesti tulosten luotettavuuden varmistamisen. On kuitenkin todettava, että käytännössä useimmiten vieritestejä tekevät muut kuin laboratorion henkilöstö. Tämän on osoitettu vaikuttavan laatuun ja näin tulosten luotettavuuteen. Usein vieritestin tekijän puutteet johtuvat puutteellisesta koulutuksesta. (Weber 2000: 37.) Streptokokki A:n vieritestien luotettavuuteen vaikuttaa erittäin paljon näytteenottajan ammattitaito. Erityisesti heikosti positiivisten näytteiden kohdalla laboratorion henkilökunnan osaaminen on huomattavasti parempaa kuin hoitohenkilökunnan. Testin suorittajan tulisi ymmärtää suorittamansa tutkimuksen virhelähteet ja osata arvioida saatua mittaustulosta. (Nissinen ym. 2008: 17; Lehtonen 2000: 53.)

4.1 ReaScan® Strep A -testi

Testin valmistaja on suorittanut testille jo aikaisemmin validoinnin ja myös muita tutkimuksia testin soveltuvuudesta käyttötarkoitukseensa on tehty. Työssämme saamiamme tuloksia vertasimme Parviaisen ym. (2011: 143–145) tutkimukseen, jossa verrattiin ReaScan® Strep A -testiä ja toista viestitestiä (TestPack Strep A) viljelyyn. Heidän tutkimuksessaan ReaScan® Strep A -testin spesifisyys, herkkyys sekä negatiivinen ja positiivinen odotusarvo olivat korkeita ja päätelmänä tästä testi on heidän mielestään luotettava ja nopea streptokokki A:n nielutulehdusten osoittaja. Myös muita tutkimuksia testin toimivuudesta on tehty, mutta emme saaneet kyseisiä tutkimuksia käyttöömmme. Näiden tutkimusten pohjalta testi soveltuisi kliiniseen käyttöön ja se onkin jo käytössä muutamissa Suomen terveyskeskuksissa.

Työssä tarvittavat näytteet kerättiin Huslabin kliinisen mikrobiologian bakteriologian laboratorioon tulleista geelikuljetusputkissa olevista näytteistä 27.8-11.9.2012 välisenä aikana. Näytteet oli jo viljelty kertaalleen bakteriologian osastolla. Tutkittavat näytteet oli otettu korkeintaan 6 päivää aikaisemmin ennen vieritestien tekemistä. Näytteitä otettiin mukaan 200, joista 56 oli positiivisia streptokokki A:n suhteen. Mukana oli myös viljelyistä varmistuneita streptokokki C:tä ja G:tä sekä St. aureusta sisältäviä näytteitä sekä runsaasti enterokokkeja sisältäviä näytteitä. Varmistimme streptokokit agglutinaatiotestillä ja enterokokeista teimme jatkoviljelyn BEM-maljalle. Kokeilimme myös mahdollisia ristireaktioita enterokokkeja ja St. aureusta kohtaan puhtailla ATCC kannoilla.

Nielun streptokki A:n vieritestimäärityksissä olisi suotavinta käyttää testin valmistajan suosittelemaa näytetikkaa, sillä niiden on tutkittu olevan kaikkein luotettavimpia ja sensitiivisimpiä testin suorittamiseen (Lasseter 2011: 92). Koska omassa tutkimuksessamme näytteet oli otettu geelikuljetusputkeen eikä valmistajan suosittelemalla Copanin® nukkatikulla, käsittelimme näytteet ennen testin suorittamista. Teimme geelikuljetusputken näytetikusta suspension 1 ml:aan 0.9 %:sta NaCl:a ja sekoitimme sen hyvin. Tästä suspensiosta otimme vanutikulla näytettä viljelyyn sekä testipakkauksen Copanin nukkatikulla näytettä vieritestiä varten. Näin saimme testin oman näytetikunkin mukaan tutkimukseen. Vieritestin valmistaja toivoi, että testin mukana olevaa näytetikkaa käytettäisiin validoinnissa, jolloin testaus vastaisi paremmin oikeaa näytteenotto-tilannetta. Vertasimme vieritestituloksia suspensioista tehtyihin viljelyvastauksiin. Koska geelikuljetusputken tikusta oli jo kertaalleen tehty viljely, oli näytettä jo mahdollisesti mennyt hukkaan. Tekemällä suspension ja sekoittamalla sen huolellisesti saimme näytetikusta mahdollisimman paljon jäljelle jäänyttä näytettä. Näin myös uudestaan suspensiosta tekemässämme viljelyssä ja vieritestissä oli oletettavasti suurin piirtein sama määrä mahdollista A-ryhmän streptokokkia.

Ennen uuden testipaketin käyttämistä teimme testillä positiivisen kontrollin, jolla kontrolloimme testin ja reagenssien toimivuutta. Lukulaitteen toimivuutta kontrolloimme mukana tulleella kontrollinäyteketilla.

Näytteitä käsiteltäessä oli muistettava näytteiden tartuntavaarallisuus sekä näytteiden laatukäsikirjan mukainen hävittäminen. Huslabin ohjeiden mukaisesti näytetikut säilytettiin seitsemän päivää näytteenottohetkestä, jonka jälkeen ne hävitettiin biologiseen jätteeseen. Näytteet viljelimme laminaarivirtauskaapissa käyttäen suojakäsineitä ja suspensioiden ylijäämät laitoimme välinehuollon puhdistettavaksi ja autoklavoitavaksi, koska teimme ne uudelleen käytettäviin lasiputkiin. Testistä syntyneet näytejätteet hävitimme biologiseen jätteeseen samoin kuin näytemateriaalia sisältävät testikasetit.

4.2 Reagenan ReaScan® Strep A -testin menetelmäperiaate

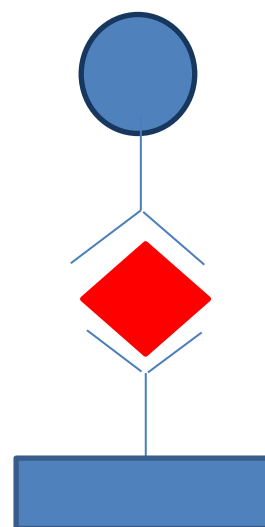
Immunologisissa vieritesteissä käytetään nitroselluloosakalvolla päällystettyä liuskaa, johon spesifinen vasta-aine on kiinnitettynä. Liuska on päällystetty materiaalilla, jolla ehkäistään epäspesifistä tarttumista vasta-aineeseen. Kun näyte tiputetaan liuskan

vapaaseen päähän, se muodostaa kromatografian liikkuvan faasin ja nitroselluloosa toimii kiinteänä faasina. Nesteessä on oltava mukana myös värillisiä partikkeleita, jotka voivat testistä riippuen olla lateksimuovipartikkeleita tai kultapartikkeleita. Liuskan loppuun on yleensä laitettu myös kontrollijuova, joka perustuu anti-immunoglobuliinivasta-aineeseen. Sen tarkoituksena on kiinnittää tarttumattomat partikkelit ja näin osoittaa nesteen kulkeneen loppuun asti kalvolla. (Seppälä 2011: 97.)

Kultapartikkeliin kiinnitetty vasta-aine

Näytteen GAS- antigeeni

Testikaivoon sitoutunut GAS vasta-aine

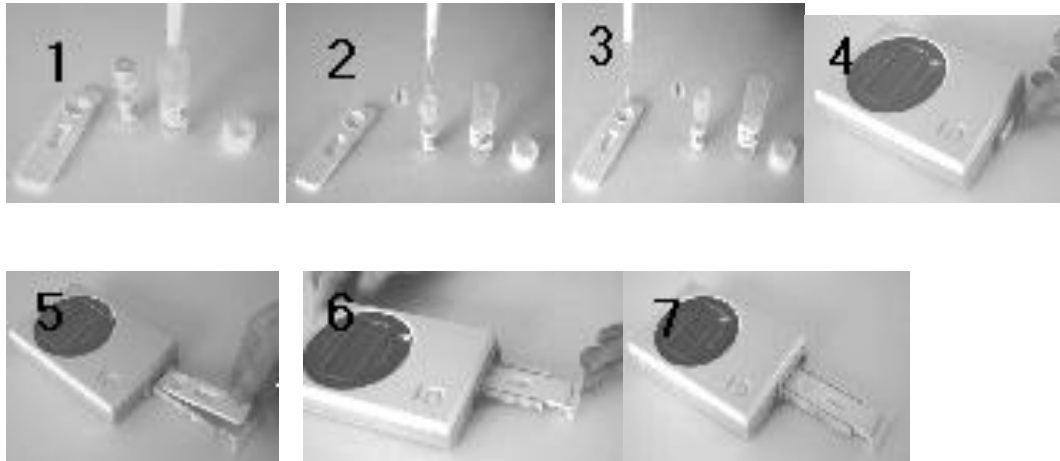


Kuvio 1. ReaScan® testin periaate

ReaScan® Strep A -testissä tarvitaan testipaketin sisältämät välineet eli testikasetti, kolme eri reagenssia, konjugaattiputki, uuttoputki sekä näytetikku ja lukulaite. Lisäksi tarvitaan vielä pipetti, jolla pystytään luotettavasti pipetoimaan 80–100 µl.

Testi aloitetaan (kuvio 2) uuttamalla mahdollinen GAS- antigeeni näytteenottotikusta pakkauksessa olevilla reagensseilla. Uttoreagenssi 1 sisältää natriumnitriittiä, joka reagoi uuttoreagenssi 2 sisältämän hapon kanssa. Tällöin syntyy typpihappoa, jolla saadaan ryhmäspesifiset antigeenit esille, sillä streptokokilla ne sijaitsevat vasta soluseinän kolmannessa kerroksessa. Uttoreagenssi 3:lla neutraloidaan liuos. Tämän jälkeen uutetun näytteen annetaan reagoida kultapartikkeilla leimattujen GAS-antigeeniä tunnistavien vasta-ainekonjugaattien kanssa. Mikäli näytteessä on A-streptokokkia, sitoutuvat vasta-ainekonjugaatti ja antigeeni toisiinsa (kuvio 1). Näytteseos siirretään testikasetille, jossa se reagoi GAS spesifisen vasta-aineen kanssa, jos näytteessä on antigeeniä. Positiivinen tulos voidaan lukea punaisesta

testiviivasta, jonka intensiteetti on verrannollinen antigeenin määrään näytteessä. (Reagen 2011a.)



Kuvio 2. ReaScan® -testin suorittaminen (Reagen 2006).

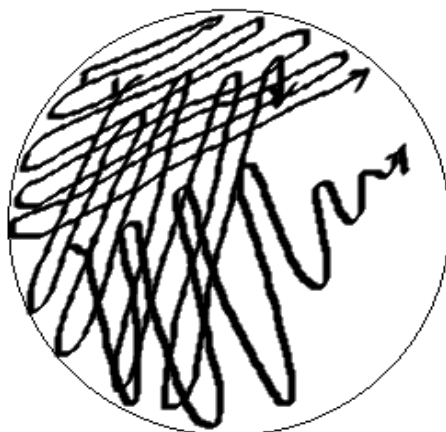
Testin tulos saadaan myös kvantitatiivisena käyttäen ReaScan® lukulaitetta (kuvio 3), jolloin vähennetään testin tekijästä johtuvia virhelähteitä. Laite mittaa valon maksimiheijastumista sekä testikalvolta, että testiviivalta. Valon heijastuminen on mitattu 45° kulmassa membraaniin nähden. Laite vähentää automaattisesti taustan intensiteetin R testiviivan intensiteetistä T. Näin tulokseksi saadaan R-T, josta saadaan numeerinen arvo, joka on verrannollinen testiviivan intensiteettiin. (Reagen 2011b.)



Kuvio 3. ReaScan® -lukulaite, testikasetti ja konjugaattiputki (Reagen 2006).

A-streptokokin löytämiseen varmin menetelmä on viljely. Viljely on mikrobiologisten antigeeniosoitusten referenssimenetelmä eli ns. golden standard. (Linko 2009: 22–23.) Streptokokit lisääntyvät hyvin verimaljalla ja mielellään hiilidioksidipitoisessa ympäristössä. Kasvulämpötilan tulee olla noin 35–37 °C:sta. Omassa työssämme viljelimme näytteet CO-maljoille ja kasvatimme niitä noin vuorokauden hiilidioksidilämpökaapissa. Hajotusviljelmän (kuvio 4) tarkoituksena on saada bakteerien määrä vähenemään tasaisesti hajotusalueelta toiselle. Kolmasosalle maljasta pyöritetään näytetikkua voimakkaasti, tarkoituksena saada näytetikusta mahdollisimman paljon mikrobeja maljalle. Tämän jälkeen toinen alue hajotetaan steriilillä viljelysauvalla edestakaisin hakien näytettä ensimmäiseltä alueelta. Kolmas alue hajotetaan samalla tavalla kuin toinen alue, mutta hakien näytettä toiselta hajotusalueelta. Kolmannen alueen tarkoituksena on saada mahdollisimman monta yksittäispesäkettä erottumaan. A-streptokokki aiheuttaa verimaljalla beetahemolyysiä, jolla se voidaan alustavasti tunnistaa. (Tuokko-Rautajoki-Lehto 2008: 94.) Viljelyä tulkittaessa määrän havainnollistamiseen käytimme yleistä ohjeistusta siitä, kuinka nieluviljelyitä tulkitaan. Jos hemolyysiä on vain viljelyalueella yksi, viittaisi se niukkaan yhden plussan mikrobimäärään. Jos taas hemolyysiä on paljon ensimmäisellä viljelyalueella ja osittain hajotusviljelmäalueella kaksi, viittaisi se kohtalaiseen kahden plussan mikrobimäärään. Kolmen plussan eli vahva positiivinen näyte on hemolysoitunut ensimmäisestä hajotusalueesta kolmanteen. Koska ReaScan® -lukulaite antaa numeerisen vastauksen perustuen testiliuskan testiviivan intensiteettiin, pystyimme myös vertailemaan viljelyvastauksien mikrobimääriä ReaScan® lukuarvoihin. Testivalmistajan mukaan tuloksen ollessa yli 61, on kyseessä varma streptokokki A infektiio. Alle 20 numeerinen arvo tarkoittaa negatiivista ja tältä väliltä mahdollista A-ryhmän streptokokin aiheuttamaa infektiota.

Harjoittelimme nieluviljelynäytteiden tulkitsemista harjoittelujaksollamme HUSLABin bakteriologian osastolla, mikä auttoi työtä tehdessämme. Varmistimme kaikki beetahemolyysiä aiheuttaneet bakteerit agglutinaatiotestillä. Näin varmistuimme, että hemolyysiä aiheuttanut mikrobi oli A-ryhmän beetahemolyttinen streptokokki.



Kuvio 4. Hajotusviljelmä

4.3 Ristireaktiot

Vasta-aineet sitoutuvat yleensä spesifisesti tiettyyn epitooppiin eli antigeenin osaan. Toisinaan eri antigeeneillä on hyvin samankaltainen rakenne, jolloin yksittäinen vasta-aine saattaa sitoutua samantyyppiselle pinta-alueelle, kuin missä sen varsinainen antigeeni on. Jos vasta-aineen affiniteetti on korkea kahteen eri epitooppiin, puhutaan ristireaktiosta, jotka saattavat vaikeuttaa tulosten tulkintaan joissain diagnostisissa testeissä (Jokiranta-Seppälä 2011: 101–104.)

Normaaliflooran bakteerit voivat aiheuttaa vieritesteissä ristireaktioita. Ihmisen suussa on laaja kirjo erilaisia bakteereja, viljelyllä on saatu eroteltua jopa 500 erilaista bakteerilajia. Nielun normaaliflooraan kuuluu mm. pneumokokkeja, stafylokokkeja, hemofiluksia ja enterobakteereja. Ihmisen normaaliflooran tarkoituksena on suojata ihmistä ulkopuolisilta taudinaiheuttajilta, mutta joskus ne saattavat olla opportunisteja ja muuttua patogeenisiksi. (Jalava 2011: 78.)

Testin valmistaja on testannut ristireaktioita seuraavien bakteerikantojen osalta: Streptokokki B, C, F, G, S ja milleri (anginosus, constellatus ja intermedius) sekä Enterokokki C ja F, Staphylococcus aureus ja A. haemolyticus (ReaScan® Strep A -käyttöohje 2011). Osaltaan vääriä positiivisia tuloksia omissa näytteissämme saattoi aiheuttaa testin ristireaktiot joidenkin muiden mikrobien kuin streptokokki A:n kanssa.

5 Tutkimusasetelma

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli selvittää, soveltuuko Reagenan ReaScan® Strep A -testi A-ryhmän streptokokin vieritestianalytiikkaan. Tarkoituksena oli selvittää testin herkkyyttä ja spesifisyyttä juuri A-ryhmän streptokokkia kohtaan. Lisäksi selvitimme myös testin positiivisen odotusarvon, negatiivisen odotusarvon sekä kliinisen tehokkuuden.

Ennen työn varsinaista suorittamista teimme esitutkimuksen 2.5.2012, jonka tarkoituksena oli opetella testin sujuva suorittaminen sekä huomata mahdolliset ongelmakohdat ajoissa, jotta niihin ehdittäisiin puuttua ennen varsinaisen tutkimuksen suorittamista. Analysoimme esitutkimuksessa 20 näytettä, joissa mukana oli myös G- ja C-ryhmän streptokokkeja. Esitutkimuksessa saimme muutamista näytteistä eriäviä tuloksia aiemmin tehdyn viljelyn kanssa, joten päätimme varsinaisen tutkimuksen kohdalla tehdä näytteestä suspension, josta teimme uuden viljelyn. Näin saimme paremmin vieritestin kanssa vertailtavan vastauksen. Suspension teko mahdollisti myös testin oman näytetikun käyttämisen vieritestin tekemiseen, mikä oli testin valmistajan toive.

6 Tulokset

Työn suorittamisessa lähdimme vastaamaan kysymykseen, soveltuuko testi osoittamaan A-ryhmän streptokokin nielunäytteestä ja vertasimme testin tulosta viljelyyn. Suoritimme tutkimuksen kvantitatiivisena tutkimuksena, jonka avulla saadaan selville määriin ja prosenttiosuuksiin liittyviä kysymyksiä. Omassa tutkimuksessamme otoksemme koko oli 200 näytettä, joista 56 oli A-streptokokin suhteen positiivisia. Otoksena tämä määrä oli riittävän suuri ja tilastollisesti merkittävä, joten tuloksista voi tehdä luotettavia päätelmiä testin luotettavuudesta.

Tulokset kirjasimme taulukkoon (liite 1), johon merkitsimme viljelyn tulokset ja ReaScan® -laitteella saadun arvon. Viljelyvastausvaihtoehtoina oli negatiivinen tai positiivinen. Positiiviset vastaukset luokiteltiin vielä kolmeen ryhmään positiivisen bakteerikasvun määrän mukaan;+,++,+++.

Tuloksia emme juurikaan käsitelleet tilasto-ohjelmilla, koska viljelyvastaukset saatiin kvalitatiivisina ja vieritestivastaukset kvantitatiivisina. Näin ollen tilasto-ohjelmien käyttö

ei ollut perusteltua. Lisäksi suoritettavat laskutoimitukset onnistuivat helposti ilman ohjelmien käyttöä.

Lukulaite antaa numeraalisia arvoja, joille on asetettu rajat negatiiviselle ja positiiviselle tulokselle. Lukulaitteella saatu tulos 0–19 tarkoittaa negatiivista tulosta eli potilaalla ei ole streptokokki A:n aiheuttamaa infektiota tai bakteerimäärä näytteessä on liian pieni testin havaittavaksi. Arvot 20–60 merkitsevät matalaa positiivista, joka tarkoittaa, että potilaalla on mahdollisesti A-ryhmän streptokokin aiheuttama infektio. Positiivinen tulos, eli lukuarvo on yli 61, kertoo varmasta streptokokki A -infektiosta.

Taulukossa 1 on verrattu viljelystä saatuja positiivisia sekä negatiivisia vastauksia vieritestistä saatujen negatiivisten ja positiivisten vastauksien määrään.

Taulukko 1. ReaScan® Strep A vieritestin vastausten ja viljelyvastauksien vertailua.

	ReaScan Strep A positiiviset	ReaScan Strep A negatiiviset	n
Viljely positiiviset	57	0	57
Viljely negatiiviset	26	117	143
n	83	117	200

Tulokset laskimme kappaleessa 2.1 esitettyjen kaavojen mukaan. Saadut tulokset on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Validoinnista saadut parametrit

Sensitiivisyys	100 %
Spesifisyys	82 %
Positiivinen ennustearvo	69 %
Negatiivinen ennustearvo	100 %
Kliininen tehokkuus	87 %

Näytemateriaalissamme ei ollut yhtään väärää negatiivista, joten testin sensitiivisyydeksi tuli jopa 100 prosenttia. Spesifisyydeksi näytemateriaalillamme saimme 82 %. Johtuen melko suuresta määrästä väärä positiivisia tuloksia, jää testin

positiivinen ennustearvo melko alhaiseksi, vain 69 prosenttiin. Negatiiviseksi ennustearvoksi saimme 100 prosenttia eli negatiivinen vastaus on 100 prosentin todennäköisyydellä negatiivinen. Testin kliininen tehokkuus tällä näytemateriaalilla on 87 %.

7 Tulosten tulkinta

Saimme omassa tutkimuksessamme testin herkkyudeksi 100 % kun aikaisemmin tehdyssä Parviaisen ym.(2011:145) validoinnissa testin herkkyudeksi saatiin 92,1 %, joten testin herkkyyttä voidaan pitää erinomaisena eli testi löytää taudin aiheuttajan suhteen positiiviset tulokset erittäin luotettavasti. Spesifisyydeksi saimme 82 %, kun Parviaisen ym.(2011: 145) tutkimuksessa spesifisyys oli 96,9 %. Mahdollisia vääriä positiivisia voi aiheuttaa esimerkiksi näytteessä olevat muut mikrobit. Taulukossa 3 on esitelty väärien positiivisten antamat ReaScan® -lukuarvot. Vääristä positiivisista (n=26) kuitenkin vain 4 antoi lukuarvoksi yli 61, mikä merkitsee testin valmistajan mukaan varmaa streptokokki A:n aiheuttamaa infektiota.

Taulukko 3. Väärien positiivisten ReaScan® arvot. (n=26,max=371,min=20,mean=64)

Viljelyvastaus	ReaScan® arvo
neg	33
neg	95
neg	20
neg	284
neg	36
neg	20
neg	25
neg	27
neg	36
neg	20
neg	217
neg	40
neg	24
neg	33
neg	46
neg	49
neg	22
neg	41
neg	33
neg	27

neg	22
neg	21
neg	27
neg	63
neg	371
neg	32

Taulukkoon 4 on koottu mahdolliset ristireaktioita aiheuttaneet näytteistä löytyneet mikrobit. 6 G-ryhmän streptokokkia sisältävää näytettä antoi positiivisen tuloksen ja näistäkin neljä antoivat ReaScan® Reader laitteella arvoksi alle 60. Testivalmistajan mukaan alle 60 arvot viittaavat mahdolliseen streptokki A:n aiheuttamaan infekioon.

Myös 1 positiivinen C-ryhmän streptokokki antoi ReaScan® arvoksi vain 20, eli juuri matalan positiivisen raja-arvon. B-ryhmän streptokokin positiivinen tuloskin oli laitteella mitattuna vain 27. St. aureuksen kaikki positiiviset tulokset niin näytteistä kuin ATCC-kannoista olivat myöskin lukuarvoltaan alle 60. Myös kaikki enterokokkeja sisältävät näytteet antoivat lukuarvoksi alle 60. Näin pienet arvot herättävätkin epäilyksen, onko kyseessä oikeasti streptokokki A:n aiheuttama infektio vai ei, koska A-ryhmän streptokokki aiheutti selvästi suurempia lukuarvoja muutamia poikkeuksia lukuunottamatta.

Taulukko 4. Viljelyistä löytyneitä mahdollisia ristireaktioita aiheuttavia mikrobeja.

21 G-ryhmäistä	6 positiivista
6 C-ryhmäistä	1 positiivinen
2 B-ryhmäistä	1 positiivinen
1 St. Aureus	1 positiivinen (+2 ATCC kannasta tehtyä, molemmat positiivisia)
3 Enterokokkia	3 positiivista (+4 ATCC kannasta tehtyä, ei yhtään positiivista)

Näiden tulosten perusteella emme voi varmasti sanoa, että juuri nämä näytteissä olleet mikrobit olisivat aiheuttaneet positiiviset tulokset, sillä nielunäytteissä on myös paljon muita mikrobeja. Esimerkiksi enterokokkien kohdalla positiivisen tuloksen johtuminen juuri enterokokista vaikuttaa epätodennäköiseltä, sillä puhtaista kannoista tehdyissä vieritesteissä ReaScan® antoi negatiivisen vastauksen. St. aureuksen kohdalla sen

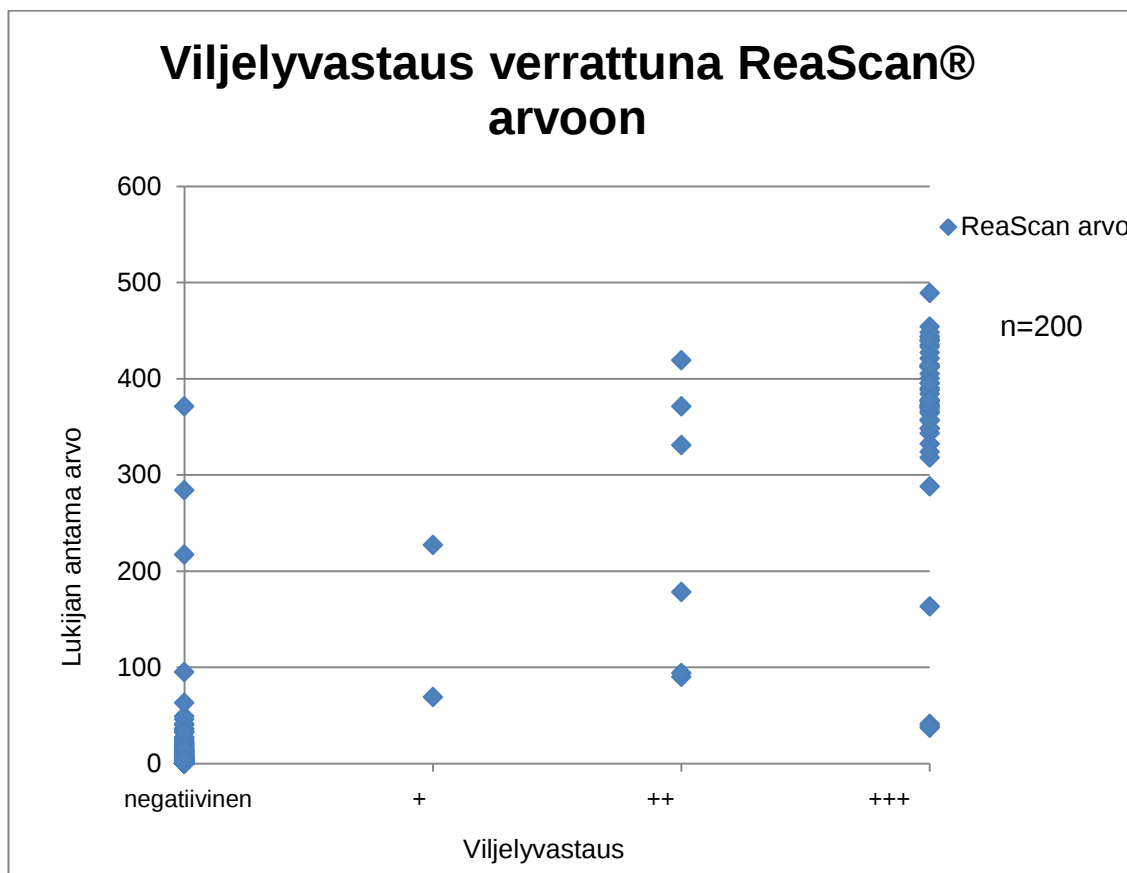
sijaan myös puhtaista kannoista tehdyissä vieritesteissä ReaScan® antoi positiivisen tuloksen, mikä kertoo vahvasti ristireaktiosta.

Viljelimme näytteet vain CO-maljoille, joissa kaikki mikrobit eivät kasva. Näin ollen mahdolliset ristireaktioita aiheuttavat mikrobit ovat myös tämän takia saattaneet jäädä löytymättä. *St. aureus* ei kasva pääasiallisesti CO-maljalla ja sen kasvamista näytteessä emme voineet havaita, mikä saattaakin olla selityksenä muutamalle väärälle positiiviselle tulokselle. Viljelimme noin kymmenestä epäselvästä väärästä positiivisesta suklaamaljat ja teimme BEM-maljan löytääksemme enterokokit. Tehdyistä suklaamaljoista emme kuitenkaan löytäneet yhtään *St. aureus*ta, mutta BEM-malja antoi kolme positiivista enterokokkia. Kuten edellä mainitsimme, on kuitenkin epätodennäköistä, että enterokokit olisivat olleet väärän positiivisen tuloksen takana.

Positiiviseksi odotusarvoksi saimme 69 %, mikä johtui suuresta määrästä vääriä positiivisia tuloksia. Toisaalta mikrobiologisten vieritestien positiivisen tuloksen odotusarvo yleensäkin on vain 50 %, joten siihen verrattuna saatu odotusarvo on korkea (Nissinen 2009: 21–22). Parviaisen ym. (2011: 145) positiivinen ennustearvo oli 85,4 %, joten tähän tutkimukseen verrattuna eroa on jonkin verran.

Negatiiviseksi odotusarvoksi saimme 100 prosenttia. Näyttemateriaalimme perusteella voi todeta, että ReaScan® Strep A -testi löytää erinomaisesti A-streptokokin suhteen negatiiviset näytteet. Parviaisen ym. (2011: 145) tekemässä tutkimuksessa negatiivinen ennustearvo oli 98,4 %, eli negatiivinen ennustearvo on hyvin samaa luokkaa kuin aikaisemmassa tutkimuksessa. Näiden tutkimusten perusteella voidaankin sanoa, että testin antama negatiivinen tulos on hyvin todennäköisesti oikea.

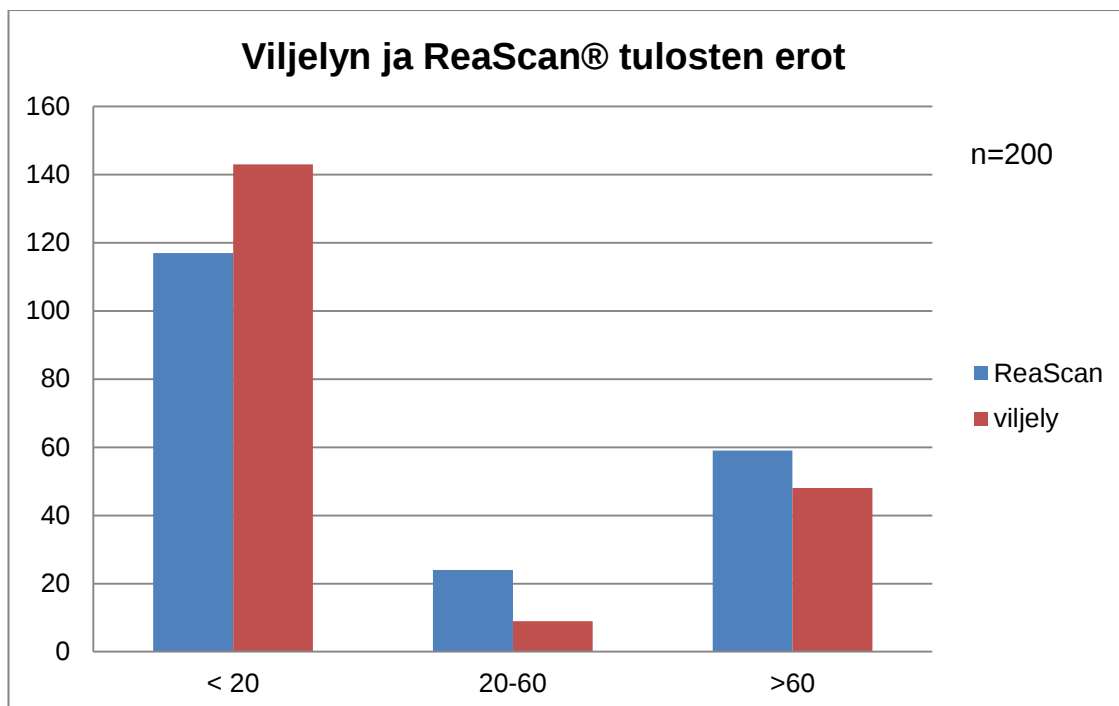
Kuvio 5. Viljelyvastauksen mikrobimäärä verrattuna ReaScan® -Readerin antamaan arvoon



Kuviossa 5 kuvataan ReaScan® laitteella saatuja arvoja ja verrataan niitä tehtyihin viljelyvastauksiin. Numeeriset arvot pääosin korreloivat viljelyvastauksiin, varsinkin voimakkaasti positiivisissa näytteissä. Joitakin poikkeuksia mahtui joukkoon, mutta ne voivat selittyä esimerkiksi näytteen huonosta uuttamisesta tai epätasalaatuisesta suspensiosta. Viljelyistä saimme hyvin vähän heikommin positiivisia näytteitä, joten niitä emme voineet tarkastella kovinkaan tilastollisesti luotettavasti.

Kuviossa 6 nähdään, että ReaScan® -Readerin kanssa saatuja negatiivisia tuloksia oli 117 ja viljelyssä taas 143. Heikosti positiivisia arvoja ReaScan® -Reader sai 24, kun viljelystä niitä tuli vain 9 kappaletta. Vahvoja positiivisia ReaScan® -Readerin kanssa saimme 59, kun viljelyssä selvästi kolmella plussalla olevia positiivisia arvoja oli 48. Liitteessä 2 voimme huomata, että ReaScan® Readerin tulokset vaihtelivat 39:stä 489:n, kun sitä verrattiin viljelyssä saatuun vahvaan positiiviseen +++:n arvoon.

Kuvio 6. ReaScan® -Readerin (sininen) ja viljelyn (punainen) antamien tulosten vertailua.



8 Luotettavuus

Luotettavuus eli reliabiliteetti tarkoittaa tulosten tarkkuutta. Tutkimuksessa saadut tulokset eivät saa olla sattumanvaraisia vaan luotettavalla tutkimuksella vaaditaan, että toistettaessa tutkimus tuloksien tulisi olla samankaltaisia (Heikkilä 2001:30.) Luotettavuuden parantamiseksi pyrimme saamaan mahdollisimman kattavan otoksen, jotta tulokset eivät olisi sattumanvaraisia.

Numeroimme jokaisen tarvittavan näyteputken, jotta sekaannusta näytteiden välillä ei tapahtuisi missään työvaiheessa. Luotettavuutta lisäsimme tekemällä uuden viljelyn suspensiosta, emmekä luottaneet aikaisemmin tehtyyn viljelyyn. Alkuperäisessä viljelyssä olisi voinut kasvaa A-ryhmän streptokokkia, mutta vieritestissä tulos olisi voinut olla negatiivinen, koska streptokokit olisivat voineet kuolla säilytyksen aikana tai mikrobeja olisi ollut tikussa niin vähän, ettei niitä olisi vieriteistiin enää riittänyt. Saimme myös muutaman alkuperäisessä viljelyssä negatiivisen, mutta uudessa omassa viljelyssämme positiivisen tuloksen. Tämä tukee päätöstämme tehdä uusi viljely suspensiosta.

Viljelytulokset luimme ristiin minimoidaksemme tulkinnalliset erot. Agglutinaatiotestillä varmistimme positiiviset tulokset. Testin tulkitsemiseen tarkoitetun lukulaitteen tarkoituksena on myös poistaa testin tekijästä aiheutuvaa tulkintavirhettä.

Vaikka teimmekin työtä testin valmistajan pyynnöstä, suhtauduimme tutkimukseen puolueettomasti emmekä kaunistelleet tai muutenkaan muokanneet tuloksia.

Testin valmistaja on luetellut testin käyttöön liittyviä mahdollisia virhelähteitä. Epäkelpo näyte eli väärin otettu tai jälkeensä kontaminoitunut näyte voi aiheuttaa virheellisen tuloksen. Omassa työssämme näytteenotto ei vaikuta testin tulokseen, sillä tutkimme suspensiossa olevia mikrobeja, emmekä varsinaisia diagnostisia näytteitä. Suspensioista näytettä otettaessa kontaminaatoriski on hyvin pieni.

Uutetun näytteen huono sekoittaminen voi myös aiheuttaa vääriä tuloksia, sillä näyte on tällöin epätasalaatuinen. Tämän virhelähteen minimoimme sekoittamalla uutetut näytteet huolellisesti. Uuttovaiheessa reagenssien oikea määrä on myös tärkeää testin luotettavuuden kannalta. Tässä testissä reagensseja lisättiin jokaista 3 tippaa, joten määrä oli helppo muistaa. Kun oikeaa reagenssia on lisätty oikea määrä, myös uutosseoksen väri muuttuu reagensseissa mukana olevan pH-indikaattorin ansiosta. Tämä puolestaan kontrolloi oikean reagenssimäärän käyttöä.

Virheelliset pipetointimäärät aiheuttavat myös vääriä tuloksia. Käytimme kalibroitua ja toimivaa pipettiä, joten tätäkään virhettä ei työssämme pitäisi olla. Pipetoinnit suoritti sama ihminen, jotta pipetointijälki olisi samanlaista kaikkien näytteiden kohdalla. Seurasimme myös, että näytteet liukenivat täysin testikasettiin. Laittevalmistajan mukaan testi tulee lukea ReaScan® -lukulaitteella 14–16 minuutin sisällä. (Reagena 2011a: 2). Tämän virheen vältimme ajastimen käytöllä. Laitteen toimivuuden testasimme joka päivä laitteen omalla kontrollitestikasetilla ja tulokset olivat aina tavoiterajoissa. Myös testipakettien positiivinen kontrollinäyte oli tavoitearvoissaan, joten myös konjugaatin, testiliuskojen ja reagenssien toimivuus oli varmistettu.

8.1 Eettisyys

Eettisesti ajatellen testi on hyvin ympäristöä kuormittava, sillä jo yhden testin tekemisestä syntyy melko suuri jätemäärä. Näytetikku sekä testikasetti ovat erikseen pakattuja minkä lisäksi mukana ovat vielä erikseen pakattu uuttoputki sekä

konjugaattiputki. Testiä suorittaessa tarvitaan pipettiä, joten myös pipetin kärjistä aiheutuu jätteitä. Reagensseista ReaScan Strep A Extraction reagent 1 sisältää natriumnitriittiä, joka on myrkyllistä, hapettavaa ja ympäristölle vaarallista ja on ongelmajätettä (ReaScan® Strep A Extraction Reagent 1 2011: 1–4).

Potilaan oikeuksiin kuuluu oikeus hyvään hoitoon, mikä sisältää myös oikeuden luotettaviin laboratoriotutkimuksiin. Bioanalyytikon velvollisuutena on huolehtia laboratoriotutkimusten luotettavuudesta ja puuttua mahdollisiin virhelähteisiin.

Tämän takia menetelmien validointi on tärkeää, jotta voidaan varmistua käytettävien tutkimusmenetelmien ja tässä tapauksessa vieritestin toimivuudesta sekä soveltuvuudesta käyttötarkoitukseensa. Potilaan oikeuksiin kuuluu myös saada tulokset ilman turhaa viivettä. Vieritestien yleistyminen nopeuttaa potilaan vastausten ja hoidon saamista (Suomen Bioanalyttikko ry. 2006.)

Käsittelimme potilasnäytteitä ilman henkilötietoja, yksilöimme näytteet numeroimalla ne 1-200. Noudatimme tällä tavoin potilastietojen salassapitovelvollisuutta emmekä tarvinneet erillistä suostumusta potilailta näytteiden tutkimiseen. Potilaista ei myöskään tarvinnut ottaa ylimääräisiä näytteitä, jolloin emme tarvinneet erillistä eettistä lupaa eikä potilaille aiheutunut ylimääräistä näytteenottokertaa.

9 Pohdinta

Tehdyn aineiston perusteella voidaan sanoa, että ReaScan® Strep A -testi soveltuu tarkoitukseensa. Sen herkkyys, spesifisyys, positiivinen ja negatiivinen ennustearvo sekä kliininen tehokkuus vastaavat vieritesteille tyypillisiä lukuja sekä aikaisempia tutkimuksia. Spesifisyydessä ja positiivisessa ennustearvossa esiintyi hieman poikkeavuuksia verrattuna aikaisempaan tutkimukseen. Vaikka vääriä positiivisia tulikin suhteellisen paljon, näistä vääriä positiivisia antavista näytteistä löytyi myös C- ja G-ryhmän streptokokkia. C- ja G-ryhmän streptokokit aiheuttavat tonsilliittia ja hoitoon käyvät samat antibiootit kuin A-ryhmän streptokokin hoitoon. Näin ollen vaikka antibioottikuuri annettaisiinkin ”väärän” vieritestivastauksen perusteella, ei se välttämättä olisi turha. Jatkotutkimuskohteina voisi mahdollisesti yrittää selvittää, mitkä mikrobit aiheuttavat vääriä positiivisia tuloksia. Näitä voisi yrittää selvittää viljelemällä näytteet useammalle eri selektiiviselle maljalle. Cohenin ym. (2012: 1) kongressiabstractin sekä vielä julkaisemattoman suomalaisen tutkimuksen alustavana

tutkimustuloksena on saatu selville, että *St. aureus* aiheuttaisi viljelyssä vääriä negatiivisia tuloksia. Näissä tutkimuksissa vieritestiä verrattiin GAS-PCR menetelmään. Viljely ei muutenkaan olisi paras referenssimenetelmä streptokokki A:n tunnistamisessa omien virhelähteidensä ja esimerkiksi muiden bakteerien eston takia.

Vertaamalla testin ja itse tekemämme viljelyn tuloksia alkuperäiseen viljelyyn, huomasimme myös itse, ettei viljelykään ole 100-prosenttisen varma menetelmä streptokokki A:n tunnistamiseen. Muutamissa näytteissä alkuperäinen viljely oli vastattu negatiivisena, mutta saimme omasta viljelystämme ja vieritestistä vahvat positiiviset tulokset.

Toisaalta taas emme saaneet yhtäkään väärää negatiivista eli testi löysi kaikki A-streptokokin suhteen positiiviset näytteet. Tämä on erityisen tärkeää, jotta potilas saa hoitoa mahdollisimman nopeasti. Vieritestien käyttö onkin perusteltua, kun hoitoa tarvitaan nopeasti ja positiivisen vastauksen saama hyöty on suurempi kuin sen kustannus. Vieritestien ansioista potilas voi saada hoitoa jo yhdellä lääkärikäynnillä ja näin säästetään sekä aikaa että rahaa.

Testin käytön koimme melkoisen monimutkaiseksi ottaen huomioon, että kyseessä pitäisi olla helppo ja nopea vieritesti, jota käyttävät myös muut kuin laboratorion henkilökunta. Työvaiheita oli aikaisemmin käyttämiimme streptokokin antigeeniosoitustesteihin verrattuna paljon ja kahden eri tilavuuden pipetointikin tuo lisää työvaiheita sekä virhelähteitä. Näytetikkua tuli myös uuttaa minuutin ajan voimakkaasti uutosputkeen, mikä tuntui ergonomisesti huonolta käden ja sormien rasittumisen vuoksi. Ergonomiaa ajatellen myös reagenssien annostuspurkit olivat hyvin jäykkiä ja vaativat suurta puristusvoimaa sekä pipetointi rasitti kättä, ainakin suuria näytemääriä tehdessä. Lukulaite oli toisinaan tarpeeton, koska vahva positiivinen oli selkeä ja viidentoista minuutin odotus tuntui turhalta. Mutta matalissa, niin sanotuissa ”haaleissa” positiivisissa tuloksissa oli silmämääräisesti paljon tulkinnanvaraa, jolloin lukulaitteen käyttö oli perusteltua.

Toistettavuuden toteamiseksi meidän olisi pitänyt testata sama näyte kahteen kertaan, jotta olisimme varmistuneet siitä, että testi antaa molemmilla kerroilla saman tuloksen. Ajan puutteen sekä testin aiempien tutkimusten takia emme testanneet näytteitä kahteen kertaan vaan tyydyimme ensimmäiseen vastaukseen. Tulokset olivat hyvin

samankaltaisia aikaisempaan Parviaisen ym. (2011: 145) tutkimukseen verrattuna, joten voimme olettaa, että testin toistettavuus on hyvä.

Oma tutkimuksemme ei kovin hyvin kuvastanut oikeaa tilannetta eikä esimerkiksi testin näytteenottotikun toimivuutta. Paremmin todellisuutta kuvastavaan tutkimukseen olisi tarvittu näytteenottotilanteessa otettu erillinen vieritestinäyte ja viljelynäyte. Mikäli tarvetta testin toimivuuden testaamiseen vielä on, olisi tutkimus parempi suorittaa oikeaa tilannetta paremmin kuvaavasti.

Tutkimuksessa suurimpana huolena ennen työn aloittamista oli epäily siitä, saammeko tarpeeksi positiivisia näytteitä, jotta tulokset olisivat tilastollisesti merkittäviä. Onneksemme positiivisia näytteitä tuli kuitenkin runsaasti.

Opinnäytetyöprosessimme aikana työn tarkoitukset hieman muuttuivat, koska työelämäohjaajamme vaihtui juuri ennen työn käytännön suorittamista. Ajatukset työn toteuttamisesta muuttuivat tällöin hieman uuden ohjaajan myötä. Alun perin näytteet oli tarkoitus saada Hyksin Lasten ja nuorten klinikalta ja näin olisimme voineet verrata vieritestituloksia myös toiseen vieritestiin, koska Lasten ja nuorten klinikalla käytetään A-ryhmän streptokokin tunnistamiseen vieritestiiä. Tämän toteuttaminen olisi ollut kuitenkin hyvin monimutkaista, koska Lastenkliniikka tutkii lähes kaikki nielunäytteensä itse eivätkä lähetä niitä Huslabin kliinisen mikrobiologian bakteriologian osastolle.

Empiirisen tutkimusosion suoritimme hyvin itsenäisesti, sillä testin tekeminen oli kuitenkin vieritestille tyypillisesti yksinkertaista ja selvisimme siitä hyvin. Saimme kuitenkin tarvittaessa apua esimerkiksi viljelyvastauksien tulkintaan työelämän ohjaajaltamme. Työn suorittamisen kannalta oli tarpeellista ja hyödyllistä, että pääsimme harjoittelemaan nieluviiljelyiden analysointia ja viljelyä ennen työn suorittamista. Saamamme opetus oli tarpeellista, sillä koulussa saatu opetus ei laajuudeltaan vastannut sitä tietoa, jota työssämme tarvitsimme.

Työtä tehdessämme opimme paljon hyödyllisiä asioita tulevaa työelämää ajatellen. Uusien menetelmien ja laitteiden validointi on osa laboratorion toimintaa ja työtä tehdessämme saimme käsityksen, mitä kaikkea uuden menetelmän käyttöönotto sisältää. Oli myös erittäin avartavaa huomata, miten pienet muutokset testissä olisivat parantaneet ergonomiaa ja helpottaneet testin käyttöä.

Työn tekemisen motivaatioita olisi varmasti lisännyt tieto siitä, että testi otettaisiin käyttöön validointimme perusteella. Teimme keväällä 2012 esitutkimuksen, jonka tarkoituksena oli opetella testin sujuva suoritus sekä selvittää, kuinka suurissa sarjoissa näytteitä olisi hyvä käsitellä. Esitutkimuksessamme saamiemme näytteiden tulokset kuitenkin saivat meidät epäileväisiksi testin toimivuuden suhteen. Saimme tuolloin paljon vääriä positiivisia tuloksia. Emme tällöin tehneet rinnakkaista viljelyä, jolla olisimme voineet varmistaa tulosten oikeellisuuden. Oli kuitenkin mukavaa huomata, että ennakko-odotukset testin toimivuudesta esitutkimuksen perusteella olivat tarpeettomia ja testi osoittautui toimivaksi.

Lähteet

Cohen, J. – Cohen, R. – Bidet, P. – Levy, C. – Depert, P. – d'Humières, C. – Liguon, S. – Corrad, F. – Mariani, P. – Chalumeau, M. – Bingen, E. 2012. False-positive results of rapid antigen detection tests (RADT) for group A streptococcus (GAS) pharyngitis: a Case-control study. Kongressiabstracti. ESPID. Thessaloniki, Kreikka. 11.5.2012

Ehder, T. (toim.) 2005. Kemian metrologian opas. Metrologian neuvottelukunta, Kemian ja mikrobiologian jaosto, Kemian työryhmä. Julkaisu J6/2005 Helsinki. 24–53.

Heikkilä, P. 2008. Biologisten menetelmien validointi. Luentomateriaali FINAS-päiviltä 24.1.2008. Verkkodokumentti. <http://www.mikes.fi/documents/upload/finas-paiva2008_heikkila.pdf>. Luettu 14.2.2012.

Hilla, R. 2009. Preeanalytiikan käsikirja. Bakteriologiset näytteet, Nielun bakteeri- ja sieniviljelynäyte. HUSLAB. Päivitetty 27.10.2009.

Hänninen, H. – Ruismäki, M. – Seikola, A. – Slöör, Sari 2007. Labo-ra-toriotyön perusteet. Helsinki: Edita.

Jalava, J. 2011. Ihmisen normaali mikrobisto ja sen merkitys. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 2. Helsinki: Duodecim.

Jokiranta, S. – Seppälä, I. J.T. 2011. Vasta-ainevälitteinen immunitetti. Porvoo: Duodecim.

Labqualityn asiantuntijasuositus 2009. Vieritestaus terveydenhuollossa. Moodi 6/2009. 286–294.

Lasseter, G. M. – McNulty, C. A. – Hobbs, F. D. R. – Mant, D. – Little, P. 2011. Effect of swab type on the analytical sensitivity of five point-of-care tests for group A streptococci. British Journal of Biomedical Science 68 (2). 91–94.

Lehtonen, M. 2000. Mikrobiologinen vieridiagnostiikka. Kliin lab 17 (2). 53.

Linko, S. 2003. Measurement tools for quality assurance in medical laboratories. Väitöskirja. Helsinki: Helsingin Yliopisto. 23–24.

Linko, L. – Ahonen, E. – Eirola, R. – Ojala, M. 2000. Laboratoriopalvelut hoitotyön tukena. Porvoo: WSOY.

Linko, S. 2009. Kompromissit vieritestien laatukriteereissä. Moodi 1/2009. 22–23.

Mattila, P. 2007. Nielu. Terapia Fennica. Verkkodokumentti. <<http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=Nielu>>. Luettu 13.2.2012.

Nissinen, A. – Strandén, P. – Myllys, R. – Takkinen, J. – Björkman, Y. – Leinikki, P. – Siitonen, A. 2008. Point-of-care testing of group A streptococcal antigen: performance evaluated by external quality assessment. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 28 (1). 17 – 20.

Nissinen, A. 2009. Pikatestaus tartuntataudeissa. Moodi 1/2009. 21–22.

Parviainen, M. – Koskela, M. – Ikäheimo, I. – Kelo, E. – Sirola, H. – Ryynänen, K. – Mononen, I. 2011. A Novel Strep A Test for a Rapid Test Reader Compared with Standard Culture Method and a Commercial Antigen Assay. *European Infectious Disease* 5 (2). 143–145.

Reagenia 2011a. ReaScan® Strep A. Käyttöohje. 1–2.

Reagenia 2011b. ReaScan® Lukulaite. Käyttöohje.

Reagenia 2006. Kotisivut. <<http://www.reagenia.fi/www/en/>> Luettu 1.9.2012.

ReaScan® Strep A Extraction Reagent 1 2011. Käyttöturvallisuustiedote. 1–4.

Ruuskanen, O. – Heikkinen, T. 2011. Ylähengitystieinfektiot ja otiitti. *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet* 3. Helsinki: Duodecim.

Sarna, S. 2012. Kliinisen biostatiikan peruskurssi. Opetusmateriaali. Verkkodokumentti. <<http://www.kttl.helsinki.fi/sarna/sanasto.pdf>> Luettu 1.10.2012.

Seppälä, I. J.T. – Meri, S. 2011. Immunologiset tutkimukset. *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet* 3. Helsinki: Duodecim.

Suomen Bioanalytiikka ry. 2006. Bioanalytiikan, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Hyväksytty Suomen Bioanalytiikkoliiton liittohallituksen kokouksessa 1.9.2006 ja liittokokouksessa 18.11.2006.

Tang, Z. – Louie, R. F. – Kost, G. J. 2002. Principles and performance of Point-of-Care Testing Instruments. Teoksesta Kost, G. J. (ed.). *Principles & practice of point-of-care testing*. Lippincott Williams & Wilkins.

Tartuntatautilaki 1543/2009. Annettu Helsingissä 22.12.2009.

Tuokko, S. – Rautajoki, A. – Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet-opas näytteiden ottoa varten. *Mikrobiologiset näytteet*. Helsinki. Tammi.

Vuopio-Varkila, J. – Syrjänen, J. – Kotilainen, P. 2011. A-ryhmän streptokokki. *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet* 1. Helsinki: Duodecim.

Weber, T. 2000. Vieritutkimukset hyödyt ja riskit. *Kliin lab* 17 (2). 37.

Viljelystä sekä ReaScan® Strep A-testillä saadut tulokset

Column1	Column2	Column3
	Viljelyvastaus	ReaScan arvo
Näyte 1	neg	0/neg
Näyte 2	neg	0/neg
Näyte 3	neg	0/neg
Näyte 4	neg	1/neg
Näyte 5	neg	0/neg
Näyte 6	G+++/-neg	0/neg
Näyte 7	A+/pos	227/pos
Näyte 8	A++/pos	178/pos
Näyte 9	A+++/-pos	163/pos
Näyte 10	neg	0/neg
Näyte 11	A++/pos	90/pos
Näyte 12	St.Aureus/-neg	33/pos
Näyte 13	neg	13/neg
Näyte 14	A+/pos	69/pos
Näyte 15	A+++/-pos	454/pos
Näyte 16	A+++/-pos	489/pos
Näyte 17	neg	10/neg
Näyte 18	A++/pos	371/pos
Näyte 19	G++/-neg	95/pos
Näyte 20	A+++/-pos	440/pos
Näyte 21	G+++/-neg	20/pos
Näyte 22	C+++/-neg	0/neg
Näyte 23	A++/pos	331/pos
Näyte 24	G+++/-neg	284/pos
Näyte 25	G+++/-neg	0/neg
Näyte 26	A+++/-pos	412/pos
Näyte 27	A++/pos	41/pos
Näyte 28	A+++/-pos	378/pos
Näyte 29	G+++/-neg	0/neg
Näyte 30	A+++/-pos	370/pos
Näyte 31	G+++/-neg	4/neg
Näyte 32	G++/-neg	36/pos
Näyte 33	A+++/-pos	366/pos
Näyte 34	A+++/-pos	395/pos
Näyte 35	A+++/-pos	421/pos
Näyte 36	A+++/-pos	390/pos

Näyte 37	A+++/pos	443/pos
Näyte 38	A+++/pos	364/pos
Näyte 39	G++/neg	20/pos
Näyte 40	G+/neg	2/neg
Näyte 41	A+++/pos	348/pos
Näyte 42	G+++/neg	7/neg
Näyte 43	G++/neg	17/neg
Näyte 44	A+++/pos	37/pos
Näyte 45	G+++/neg	10/neg
Näyte 46	G+++/neg	16/neg
Näyte 47	A+++/pos	427/pos
Näyte 48	C+++/neg	1/neg
Näyte 49	neg	19/neg
Näyte 50	neg	25/pos
Näyte 51	B/neg	27/pos
Näyte 52	neg	0/neg
Näyte 53	neg	19/neg
Näyte 54	A+++/pos	444/pos
Näyte 55	C+++/neg	6/neg
Näyte 56	G+/neg	36/pos
Näyte 57	A+++/pos	400/pos
Näyte 58	A++/pos	419/pos
Näyte 59	neg	0/neg
Näyte 60	G++/neg	1/neg
Näyte 61	neg	0/neg
Näyte 62	G/neg	1/neg
Näyte 63	neg	6/neg
Näyte 64	neg	0/neg
Näyte 65	neg	0/neg
Näyte 66	C+++/neg	0/neg
Näyte 67	G+++/neg	13/neg
Näyte 68	A+++/pos	435/pos
Näyte 69	G+/neg	6/neg
Näyte 70	C+++/neg	20/pos
Näyte 71	neg	2/neg
Näyte 72	C+++/neg	0/neg
Näyte 73	A+++/pos	377/pos
Näyte 74	A+++/pos	376/pos
Näyte 75	A+++/pos	405/pos
Näyte 76	neg	0/neg
Näyte 77	neg	217/pos
Näyte 78	neg	7/neg
Näyte 79	enterokokki	40/pos

Näyte 80	neg	13/neg
Näyte 81	neg	1/neg
Näyte 82	enterokokki	24/pos
Näyte 83	neg	33/pos
Näyte 84	neg	0/neg
Näyte 85	neg	10/neg
Näyte 86	neg	46/pos
Näyte 87	neg	49/pos
Näyte 88	neg	0/neg
Näyte 89	neg	0/neg
Näyte 90	neg	11/neg
Näyte 91	neg	7/neg
Näyte 92	neg	0/neg
Näyte 93	neg	3/neg
Näyte 94	A+++/pos	369/pos
Näyte 95	neg	17/neg
Näyte 96	neg	8/neg
Näyte 97	neg	22/neg
Näyte 98	neg	7/neg
Näyte 99	neg	2/neg
Näyte 100	neg	6/neg
Näyte 101	neg	5/neg
Näyte 102	neg	2/neg
Näyte 103	A+++/pos	332/pos
Näyte 104	nrg	0/neg
Näyte 105	neg	7/neg
Näyte 106	A+++/pos	440/pos
Näyte 107	A+++/pos	412/pos
Näyte 108	A+++/pos	39/pos
Näyte 109	A+++/pos	414/pos
Näyte 110	A+++/pos	433/pos
Näyte 111	A+++/pos	448/pos
Näyte 112	A+++/pos	356/pos
Näyte 113	A+++/pos	343/pos
Näyte 114	A+++/pos	373/pos
Näyte 115	G+++neg	0/neg
Näyte 116	neg	41/pos
Näyte 117	neg	0/neg
Näyte 118	neg	9/neg
Näyte 119	neg	33/pos
Näyte 120	neg	9/neg
Näyte 121	neg	0/neg
Näyte 122	neg	4/neg

Näyte 123	neg	2/neg
Näyte 124	enterokokki	27/pos
Näyte 125	neg	22/pos
Näyte 126	neg	10/neg
Näyte 127	A++/pos	94/pos
Näyte 128	neg	0/neg
Näyte 129	neg	0/neg
Näyte 130	neg	0/neg
Näyte 131	A+++/pos	348/pos
Näyte 132	neg	0/neg
Näyte 133	neg	0/neg
Näyte 134	neg	0/neg
Näyte 135	neg	13/neg
Näyte 136	neg	21/pos
Näyte 137	neg	5/neg
Näyte 138	neg	0/neg
Näyte 139	A+++/pos	318/pos
Näyte 140	A+++/pos	384/pos
Näyte 141	A+++/pos	357/pos
Näyte 142	neg	1/neg
Näyte 143	neg	13/neg
Näyte 144	neg	0/neg
Näyte 145	neg	1/neg
Näyte 146	neg	12/neg
Näyte 147	neg	17/neg
Näyte 148	neg	4/neg
Näyte 149	neg	0/neg
Näyte 150	A+++/pos	288/pos
Näyte 151	A+++/pos	414/pos
Näyte 152	neg	14/neg
Näyte 153	A+++/pos	388/pos
Näyte 154	neg	0/neg
Näyte 155	A+++/pos	370/pos
Näyte 156	neg	27/pos
Näyte 157	neg	9/neg
Näyte 158	A+++/pos	372/pos
Näyte 159	neg	13/neg
Näyte 160	neg	3/neg
Näyte 161	A+++/pos	439/pos
Näyte 162	A+++/pos	372/pos
Näyte 163	G+++/neg	0/neg
Näyte 164	neg	2/neg
Näyte 165	neg	5/neg

Näyte 166	neg	19/neg
Näyte 167	neg	0/neg
Näyte 168	neg	9/neg
Näyte 169	neg	0/neg
Näyte 170	neg	4/neg
Näyte 171	neg	13/neg
Näyte 172	neg	63/pos
Näyte 173	neg	0/neg
Näyte 174	neg	0/neg
Näyte 175	neg	4/neg
Näyte 176	neg	9/neg
Näyte 177	neg	0/neg
Näyte 178	B+++/-neg	0/neg
Näyte 179	A+++/-pos	324/pos
Näyte 180	neg	0/neg
Näyte 181	neg	0/neg
Näyte 182	neg	2/neg
Näyte 183	neg	0/neg
Näyte 184	A+++/-pos	413/pos
Näyte 185	neg	11/neg
Näyte 186	neg	14/neg
Näyte 187	neg	0/neg
Näyte 188	neg	0/neg
Näyte 189	neg	14/neg
Näyte 190	A+++	395/pos
Näyte 191	neg	371/pos
Näyte 192	neg	14/neg
Näyte 193	neg	10/neg
Näyte 194	neg	0/neg
Näyte 195	neg	32/pos
Näyte 196	neg	15/neg
Näyte 197	neg	0/neg
Näyte 198	A+++/-pos	377/pos
Näyte 199	neg	0/neg
Näyte 200	neg	4/neg

Positiiviset viljelytulokset ja ReaScan® Readerin tulos.

A+++	A++	A+
163	178	227
454	90	69
489	371	
440	331	
331	41	
412	419	
378	94	
370		
366		
395		
421		
390		
443		
364		
348		
427		
444		
400		
453		
377		
376		
405		
369		
332		
440		
412		
39		
414		
443		
448		
356		
343		
373		
348		
318		
384		
357		
288		
414		
388		
370		

327
439
372
324
413
395
377