

KROMOGEENISTEN VIRTSAVILJELYMALJOJEN VERTAILUTUTKIMUS

Sanna Kortelainen

Jenni Ylinen

Opinnäytetyö
Huhtikuu 2013
Bioanalytiikan koulutusohjelma
Tampereen ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

KORTELAINEN, SANNA & YLINEN, JENNI:
Kromogeenisten virtsaviiljelymaljojen vertailututkimus

Opinnäytetyö 43 sivua, joista liitteitä 1 sivu
Huhtikuu 2013

Tutkimus on tehty Keski-Suomen sairaanhoitopiiri laboratoriolikelaite KESLABin pyynnöstä. Vertailututkimuksen tavoitteena oli löytää malja, jolta voitaisiin silmämääräisesti havaita yleisimmät virtsatieinfektioita aiheuttavat bakteerit suoraan bakteeripesäkkeiden väristä. Viljelimme 106 virtsanäytettä, joista jokainen viljeltiin kolmelle eri valmistajan maljalle.

Virtsaviiljelyä tehdään virtsatieinfektioiden toteamista ja seurantaan varten. Virtsatieinfektion yleisin aiheuttaja on *E. coli* (*Escherichia coli*) –bakteeri, joka aiheuttaa jopa 90 % tapauksista. Virtsatieinfektioiden diagnostiikassa ja hoidossa on näytteen laadulla, säilytyksellä ja kuljetuksella erittäin tärkeä osa. Nämä tekijät vaikuttavat luotettavan tuloksen saamiseen.

Virtsan bakteeriviljelyllä pyritään löytämään uropatogeeni eli virtsatieinfektioita aiheuttavia bakteereja. Virtsaviiljelyn tarkoituksena on saada bakteeri kasvamaan selvästi erillisenä pesäkkeenä maljalla, josta bakteerin tunnistuskoe ja mikrobilääkkeen herkkyysmääritys on helppo suorittaa. Eri bakteereista muodostuu maljan elatusaineen pinnalle erilaisia pesäkkeitä.

Tutkimuksessa vertailtiin kolmen erilaisen kromogeenisen maljan differentiaaleja ominaisuuksia bakteeripesäkkeiden kasvun määrän ja värin perusteella. Kromogeenisten maljojen elatusaineena on käytetty agaria eli polysakkaridiseosta. Agariin on lisätty väriä muodostavia yhdisteitä, jotka entsyymi-substraattireaktion seurauksena värjäävät maljalla kasvavat bakteeripesäkkeet tietyn värisiksi.

Tutkimuksen perusteella viljelmien pesäkemorfologiassa ja kasvun määrässä ei havaittu huomattavia eroja maljojen välillä. Värireaktiot olivat tyypillisiä verrattaessa maljojen valmistajien esitteisiin. Tutkimuksen perusteella voi todeta, että nykyisin käytössä oleva CHROMagar™ Orientation malja oli näistä kolmesta vaihtoehdosta paras sekä viljeltävyyden että selkeimpien värireaktioiden muodostumisen vuoksi.

ABSTRACT

Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

KORTELAINEN, SANNA & YLINEN, JENNI:
A Comparative Study of Chromogenic Urine Culture Plates

Bachelor's thesis 43 pages, appendices 1 page
April 2013

This study was conducted at the request of Central Finland's Health Care laboratory KESLAB. The objective of this comparative study was to find a dish on which it would be possible to visually observe the color of the bacterial colony and directly find the most common bacteria causing urinary tract infection. A total of 106 urine samples were cultivated, each of them on three dishes from three different manufacturers.

Urine culture is done for the detection and monitoring of urinary tract infections. The most common cause of urinary tract infections is the *E. coli* (*Escherichia coli*) – bacteria, causing as many as 90 % of the cases. The urine samples' quality, storage and transport have an important role in the diagnosis and treatment of urinary tract infections. These factors have an impact on the reliability of the results.

With the help of urine culture it is possible to find uropathogenes in other words bacteria that cause urinary tract infections. The purpose of a urine culture is to make the bacteria grow on a dish as clearly separate colonies where the bacteria identification and their microbial drug susceptibility testing is easy to accomplish. Different bacteria form different kinds of colonies on the surface of the culture medium.

In our study we compared the differential features of three chromogenic dishes on the bases of bacterial colony growth in terms of their number and color. The medium used in the chromogenic dishes was agar which is also known as a polysaccharide mixture. The agar was supplemented with color-forming compounds which colored the bacterial colonies on the dish with a specific color as a result of an enzyme substrate reaction.

According to the results, there were no significant differences in the plantation colony morphology and in the extent of growth between different dishes. The color reactions were typical compared to the brochures of the dish manufactures. The study shows that CHROMagar™ Orientation dish, which the one used at this moment, was the best of these three options on its cultivation features and the clearest color-forming reaction.

Key words: urinary tract infection, cultivation of bacteria in urine, chromogenic dishes

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TAVOITE.....	6
3	TUTKIMUKSEN TAUSTA	7
4	TUTKIMUSASETELMA JA TUTKIMUSKYSYMYKSET.....	8
	4.1. Tutkimusasetelma	8
	4.2. Tutkimuskysymykset	8
5	KROMOGEENISET MALJAT	9
	5.1. CHROMagar™ Orientation.....	10
	5.2. Brilliance™ UTI	11
	5.3. ChromID™ CPS®	12
6	BAKTEERISOLUN RAKENNE JA TOIMINTA.....	13
7	YLEISIMMÄT VIRTSATIEPATOGEENIT	16
	7.1. Escherichia coli.....	16
	7.2. Enterokokki.....	17
	7.3. Proteukset.....	18
	7.4. Stafylokokit.....	19
	7.5. Klebsiellat	20
	7.6. Pseudomonakset.....	20
	7.7. Streptokokit.....	21
8	BAKTEERIVILJELY VIRTSASTA	22
	8.1. Puhdasviljely.....	23
	8.2. Virtsanäytteen kvantitatiivinen viljely.....	24
9	TUTKIMUSPROSESSI	26
	9.1. Pilottivaihe	27
	9.2. Tutkimuksen toteutus.....	28
10	TUTKIMUSTULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	30
11	TULOSTEN LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS.....	35
12	POHDINTA.....	37
	LÄHTEET.....	39
	LIITTEET	43
	Liite 1. Havainnointikaavake	43

1 JOHDANTO

Opinnäytetyössä vertaillaan kolmen erilaisen kromogeenisen virtsaviiljelymaljan differentiaaleja (erilaisia) ominaisuuksia bakteeripesäkkeiden kasvun määrän ja värin perusteella. Lisäksi työssä vertaillaan maljojen viljeltävyyttä ja muita ominaisuuksia, kuten kasvaako jollakin maljoista jotain bakteeria mitä muut maljat eivät havaitse. Tutkimuksen tavoitteena oli löytää ominaisuuksiltaan sellainen malja, joka nopeuttaisi virtsaviiljelyprosessia. Tarkoituksena oli löytää malja, jolta voisi suoraan bakteeripesäkkeiden väristä havaita yleisimmät virtsatieinfektiota aiheuttavat bakteerit. Tutkimuksessa verrattiin kolmea maljaa, jotka olivat CHROMagar™ Orientation (nykyisin käytössä oleva), Brilliance™ UTI ja chromID™ CPS®.

Virtsaviiljelyä tehdään virtsatieinfektioiden toteamista ja seurantaan varten potilaiden näytteistä, joilla epäillään virtsatietulehdusta tai tulehdusten ollessa toistuvia (Wuorela, Kouri, Laatu, Lipponen, Sammalkorpi, Uhari, Uusitalo & Vuento 2013.) Kromogeeniset viljelymaljat mahdollistavat eri bakteerilajien tunnistamisen pesäkkeiden värien perusteella. Kromogeenisissä maljoissa elatusaineeseen on lisätty substraatteja, joista vapautuu tiettyä väriainetta kasvavan bakteerin tuottaessa substraattia hajottavaa entsyymiä. Substraattia hajottava entsyymi on lajikohtainen, joten ainoastaan tietyn lajin bakteerit värjäytyvät. (Peltola 2010.) Kromogeenisistä maljoista on apua virtsaviiljelytutkimuksissa ja ne nopeuttavat tulosten saamista asiakkaille. (Ek, Kanerva ja Laakkonen 2007.)

Tutkimuksen toimeksiantajana toimii Keski-Suomen sairaanhoitopiirin laboratoriolaitoksen mikrobiologian laboratorio, joka suorittaa noin kolmen vuoden välein kromogeenisten maljojen vertailun eri valmistajien tuotteiden kesken. Laboratoriotyön suunnittelun, toteutuksen ja tulosten arvioinnin ohjasi KESLAB (Keski-Suomen sairaanhoitopiirin laboratoriolaitos).

2 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TAVOITE

Tutkimuksen tarkoituksena oli vertailla kolmea erilaista kromogeenistä valmismaljaa. Vertailu tehtiin, jotta löydettäisiin virtsatieinfektioita aiheuttavia bakteereja helposti erotteleva malja mikrobiologian laboratorion käyttöön. Vertailussa oli kolme erilaista maljaa, joita tutkimalla oli tarkoitus löytää nykyisin käytössä olevalle maljalle parempi vaihtoehto. Tavoitteena oli löytää silmämääräisesti selvimmin virtsatiepatogenejä erotteleva malja. Työ tehtiin KESLABin mikrobiologian laboratorion pyynnöstä. Halusimme löytää ominaisuuksiltaan maljan, joka voisi nopeuttaa virtsaviljelyprosessia ja helpottaa henkilökunnan jokapäiväistä työskentelyä mikrobiologian laboratoriossa. Bakteerilajien tunnistaminen maljalta helposti nopeuttaisi myös tutkimustulosten saamista.

Tutkimuksessa vertailimme bakteerilajien kasvun määrää eri maljoilla ja bakteeripesäkkeiden värireaktioiden tyypillisyyttä maljojen esitteisiin verraten. Pyrimme huomioidaan, kasvoiko jollakin maljoista sellaista bakteerilajia, mitä muilla maljoilla ei kasvanut ja ilmenikö maljoilla muita huomioon otettavia ominaisuuksia esimerkiksi viljeltävyydessä tai maljojen tasalaatuisuudessa. Bakteerikasvuston määrään kiinnitimme huomiota tarkkailemalla kasvoiko jollakin maljoista selkeästi runsaammin bakteereja kuin muilla maljoilla.

3 TUTKIMUKSEN TAUSTA

Virtsaviljelymaljoista on tehty muutamia opinnäytetöitä. Välitalon tekemässä tutkimuksessa 2011 vertailtiin laajakirjoisia beetalaktamaasia tuottavia bakteereja kasvatusmaljoilla. Työssä vertailtiin viittä erilaista maljaa ja käytettiin näyttemateriaalina ulostetta, virtsaa ja haavaeritteitä. Tutkimuksessa havaittiin, että Lapin keskussairaala saisi suurta hyötyä vaihtamalla ESBL-viljelyssä käytössä olleen CLED-maljan kromogeeniseen maljaan, sillä kromogeenisen maljan käyttöönotto toisi helpotusta ESBL kantojen tunnistukseen. (Välitalo 2011.)

Ek, Kanerva ja Laakkonen tekivät opinnäytetyön HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastualueen bakteriologian osaston virtsaviljelydiagnostiikkaan syksyllä 2007. Työ käsittelee kromogeenisten maljojen käyttöä virtsaviljelyssä. Työssään he vertailivat kolmea erilaista maljaa keskenään. Tutkimuksessa havaittiin, että kromogeenisten maljojen välillä ei ollut suuria eroja bakteerien kasvun tai pesäkemorfologian suhteen. Kaikki kromogeeniset maljat erottelivat tärkeimmät virtsatieinfektiota aiheuttavat bakteerit melkein yhtä hyvin. Laimennossarjoilla tutkittaessa kuitenkin löytyi maljoilta pieniä eroja. (Ek, Kanerva ja Laakkonen 2007.)

Lähdemäki ja Lonka tekivät opinnäytetyönä (2011) itseopiskelumateriaalin ”Bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu” patogeenisten bakteeripesäkkeiden tunnistuksen avuksi. Oppimateriaali sisältää kuvia ja teoretietoa erilaisista bakteeripesäkkeistä. Opinnäytetyön raporttiosa sisältää kattavasti tietoa muun muassa bakteriologian opinnoista, viljelymenetelmistä ja bakteerien kasvuvaatimuksista. Työ on suunnattu erityisesti bioanalyttikko-opiskelijoille tueksi bakteriologian opintoihin sekä kliinisen mikrobiologian harjoittelujaksolle. (Lähdemäki & Lonka 2011.)

4 TUTKIMUSASETELMA JA TUTKIMUSKYSYMYKSET

4.1. Tutkimusasetelma

Vertailevassa tutkimuksessa tarkastelun kohteiden ja havaintojen välillä voidaan pyrkiä löytämään eroavaisuuksia sekä yhtäläisyyksiä (Saukkonen.) Tutkimuksessa potilasnäytteiden rinnalla meillä oli 22 tunnettua erilaista bakteerikantaa. Viljelyt suoritimme 24 tunnin sisällä ja tulosten lukemisen 16–24 tunnin kuluessa viljelystä. Viljelyjä oli tarkoitus tehdä vähintään 100 kappaletta kahtena tai kolmena eri päivänä. Ensimmäisenä päivänä suoritimme itse viljelyt ja toisena päivänä luimme maljoilta kasvustot. Kaikkineen viljelykertoja tuli viisi.

4.2. Tutkimuskysymykset

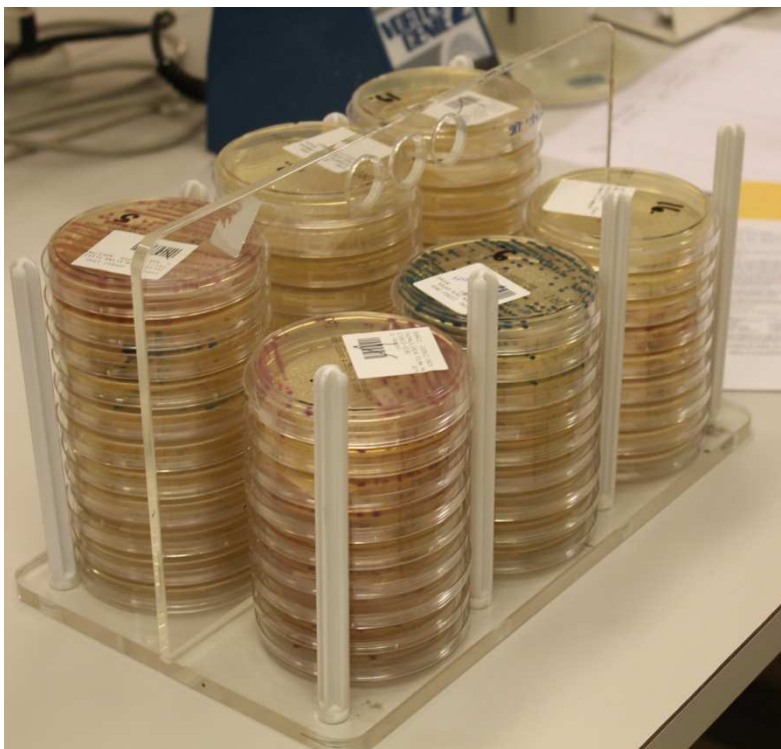
Työssä vertaillaan kromogeenisiä maljoja eri bakteerilajien tunnistuksessa. Tarkoituksena on selvittää, mikä maljoista on paras virtsatieinfektiota aiheuttavien bakteerien tunnistuksessa. Haluttiin selvitetä, mikä maljoista osoitti selvimmin bakteerilajin värireaktionsa perusteella.

Haimme vastauksia seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

- 1) Millä maljoista yleisimmät virtsatieinfektiota aiheuttavat lajit ovat parhaiten tunnistettavissa?
- 2) Onko vertailussa olevien maljojen välillä eroja kasvun määrän ja pesäkkeiden värin muodostuksen suhteen silmämääräisesti katsottuna?
- 3) Kasvaako jollakin maljoista bakteerilaji, jota muut maljat eivät tunnista?

5 KROMOGEENISET MALJAT

Bakteeriviljelymaljoja käytetään mikrobiologian laboratoriossa bakteerien viljelyyn. Virtsan viljely kromogeenisilla maljoilla (kuva 1.) helpottaa ja nopeuttaa bakteerilajien tunnistusta. (Meurman 2011, 108.) Kromogeenisilla maljoilla on elatusaineena käytetty agaria. Agar on polysakkaridiseos, joka sisältää 70 % agarosia. Agarosia käytetään lääketieteessä ja mikrobiologiassa mikrobien viljelyaineena sekä elintarviketeollisuudessa hyytelöimisaineena. Kromogeenisten maljojen elatusaineen koostumus on yleensä salaista tietoa, mutta mahdollinen selektiivinen tekijä ja entsyymi tiedetään. (Kärpänoja 2007, 39.) Agariin on lisätty väriä muodostavia yhdisteitä, jotka spesifisen entsyymisubstraattireaktion seurauksena saavat aikaan maljalle värillisen lopputuotteen. Bakteripesäke värjäytyy lajille ominaiseen tapaan ja voidaan näin tunnistaa. (Nissinen 2012.) Maljoilta voidaan tehdä alustava tai lopullinen mikrobien tunnistus, tai voidaan suorittaa vielä erillinen jatkotunnistustesti. (Kärpänoja 2007, 39.)



KUVA 1. Kromogeeniset maljat (Kortelainen & Ylinen 2013)

Maljojen tulee olla pinnaltaan kauniin kiiltäviä ja koostumukseltaan hieman kosteita. On tärkeää, että maljan pinnalla ei ole minkäänlaista kasvustoa, että pinta on ehyt, ja ettei elatusaine ole irronnut maljan reunoilta. Ennen viljelyä tulee tarkistaa, että maljat

ovat käyttökelpoisia ja että viimeinen käyttöpäivä ei ole umpeutunut. Maljoja säilytetään jääkaappilämpötilassa, mutta ennen viljelyn suorittamista maljat otetaan hyvissä ajoin huoneenlämpöön lämpenemään. Viljelyn jälkeen maljat toimitetaan mahdollisimman pian lämpö- tai hiilidioksidikaappiin. Kaapin lämpötilan tulee olla +35 °C. Viljeltyjä maljoja säilytetään kansipuoli alaspäin, elatusaineen puoli (maljan pohjapuoli) ylöspäin suunnattuna. Maljat nimikoidaan siten, että tunnistetarra on aina kiinnitettynä maljan pohjapuolelle eli elatusaineapuolelle, koska maljojen kansiosat saattavat vahingossa sekoittua. (Tuokko ym. 2008, 93.) Seuraavissa kappaleissa (5.1.–5.3.) esitellään opinäytetyössä käyttämämme kromogeeniset maljat.

5.1. CHROMagar™ Orientation

CHROMagar™ Orientation -malja tunnistaa useita virtsatiepatogenejä, joita voidaan havaita erivärisinä mikrobikasvustoina maljan pinnalla. Maljan agarissa on ravintoaine, joka erottelee bakteerit niiden värin perusteella. Se pystyy suoraan erottelemaan virtsatiepatogeneistä *E. coli* pinkit pesäkkeet, *Klebsiellan* metallinhohtavat siniset pesäkkeet, *Proteus mirabiliksen* kirkkaat pesäkkeet, joissa on ruskea kehä ympärillä, enterokokin turkoosit pesäkkeet, *Staphylococcus saprophyticuksen* läpinäkymättömät vaaleanpunaiset pesäkkeet, *Staphylococcus aureuksen* värittömät läpikuultamattomat pesäkkeet sekä *Candidan* kermanväriset pesäkkeet. *E. coli* sensitiivisyys on 99,3 % (Chromagar.)

TAULUKKO 1. Bakteeripesäkkeiden värit CHROMagar™ Orientation -maljalla lajeittain (Kortelainen & Ylinen 2013)

LAJI	PESÄKKEEN VÄRI
<i>E. coli</i>	Pinkki
<i>Klebsiella, Citrobacter</i>	Metallinhohto sininen
<i>Enterococcus</i>	Turkoosi
<i>Proteus mirabilis</i>	Kirkas, jossa ruskea kehä
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Vaaleanpun. läpikuultamaton
<i>Staphylococcus aureus</i>	Väritön läpikuultamaton
<i>Candida</i>	Kerman väriäinen

5.2. Brilliance™ UTI

Brilliance™ UTI -malja erottelee ja tunnistaa yleisimmät virtsatieinfektiota aiheuttavat bakteerit. Malja pystyy erottelemaan selvästi koliformiset bakteerit ja enterokokit. Maljalta voidaan tunnistaa muun muassa *Proteus*, *Morganella* ja *Providencia* – lajit. Bakteerin tunnistamiseen kuluu aikaa 16–24 tuntia. Brilliance™ UTI -kasvatusalustat sisältävät kahta kromogeenistä substraattia, jotka pilkkoutuvat *E. coli*-, enterokokkilajien ja koliformien tuottamalla β -galaktosidaasi- ja β -glukosidaasi -entsyymeillä. Nämä tietyt entsyymireaktiot hajottavat kromogeenin antaen valikoiman diagnostisia värejä. (Thermo Scientific.)

β -galaktosidaasin aktiivisuus näkyy *E. coli* kohdalla pinkkeinä pesäkkeinä, ja enterokokin tuottama β -glukosidaasi aktiivisuus näkyy maljalla turkooseina pesäkkeinä. Molempien entsyymien yhtäaikainen aktiivisuus antaa tumman sinisiä/ violetteja pesäkkeitä. Tryptofaani deaminaasigeenin aktiivisuus tuottaa *Proteus*, *Morganella* ja *Providencia* -lajien pesäkkeiden ympärille ruskean halo-alueen, joka näkyy maljalla pesäkkeen ympärille muodostuneena kehänä. *Staphylococcus saprophyticus* kasvaa violetteina pesäkkeinä. *Pseudomonas* näkyy maljalla läpikuultavana ruskean-vihreänä pesäkkeenä ja staphylokokki sekä streptokokki valkoisina pesäkkeinä. Useimmat muut organismit osoittavat niiden luontaisen pigmentaation. (Thermo Scientific.)

TAULUKKO 2. Bakteeripesäkkeiden värit Brilliance™ UTI -maljalla lajeittain (muokailen Thermo Scientific)

LAJI	PESÄKKEEN VÄRI
<i>E. coli</i>	Pinkki
<i>Enterococcus saprophyticus</i>	Turkoosi
Edelliset yhdessä	Tumman sininen
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> ja <i>Providencia</i>	Vaalea, jossa ruskea kehä
<i>Pseudomonas saprophyticus</i>	Läpikuultava ruskea/ vihreä
<i>Staphylococcus</i> ja <i>Streptococcus</i>	Ei-pigmentoitu valkoinen
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Violetti

5.3. ChromID™ CPS®

ChromID™ CPS® -maljaa käytetään bakteerien eristämisessä, laskennassa ja tunnistamisessa. Maljalta voidaan suoraan tunnistaa bakteeripesäkkeiden morfologian perusteella virtsatieinfektioita aiheuttavista bakteereista *E. coli*, *Proteus mirabilis*, enterokokki ja KESC-ryhmän bakteerit: *Klebsiella*, enterobakteeri, *Serratia* ja Citrobakteeri. Malja erottaa bakteeripesäkekäsvustot eri värein. *E. coli* pesäkkeet kasvavat maljalla pinkin/viininpunaisen värisinä pesäkkeinä, *Proteus mirabilis* beigen värisinä pesäkkeinä, joita ympäröi ruskea halo-alue, enterokokki turkoosin värisinä pesäkkeinä sekä KESC-ryhmän bakteerit sinivihreän/siniharmaan sävyisinä kasvustoina. Pesäkkeet erottuvat maljalta hyvin ja ovat helposti tunnistettavissa värien perusteella. Malja sisältää erityistä substraattia, joka havaitsee bakteerien tuottamat entsyymiaktiivisuudet herkästi. (Biomérieux 2011.)

TAULUKKO 3. Bakteeripesäkkeiden värit lajeittain chromID™ CPS® -maljalla (muokailtu Biomérieux)

LAJI	PESÄKKEEN VÄRI
<i>E. coli</i>	Pinkki
<i>Proteus</i>	Beige, jossa ruskea halo
<i>Enterococcus</i>	Turkoosi
KESC	Siniharmaa

6 BAKTEERISOLUN RAKENNE JA TOIMINTA

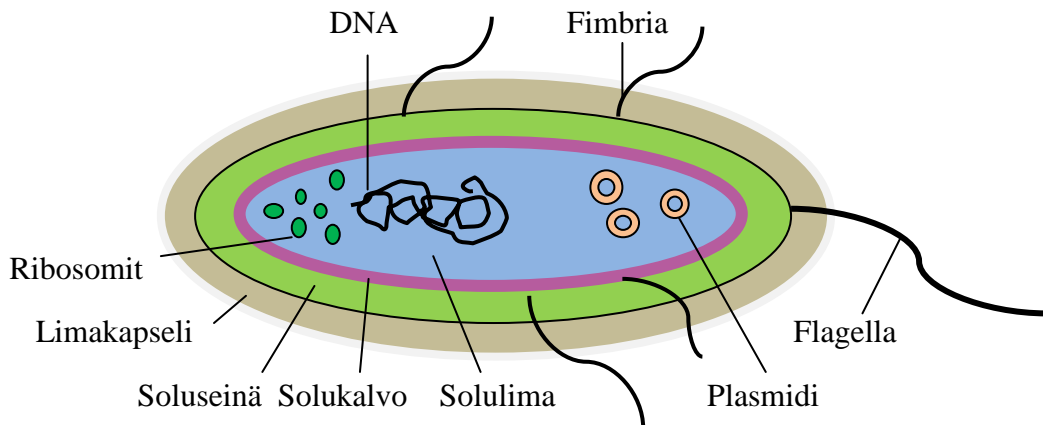
Bakteerit ovat yleisimpiä virtsatieinfektioiden aiheuttajia. Ne aiheuttavat tulehdusta silloin, kun ihmisen puolustusjärjestelmä on syystä tai toisesta heikko. (National Kidney and Urologic Diseases 2012.) Bakteerit ovat yksisoluisia yksinkertaisia organismeja, jotka ovat kooltaan mikroskooppisia. Paljain silmin voidaan havaita partikkeleita, jotka ovat halkaisijaltaan noin 100 mikrometriä. Useat bakteerit ovat tätä huomattavasti pienempiä, joten bakteerien tarkasteluun tarvitaan mikroskooppia. Kun bakteereja kasvatetaan kiinteällä ravintoalustalla, ne muodostavat pesäkkeitä, joita voidaan havaita silmin. Kussakin havaittavissa olevassa pesäkkeessä on miljoonia tai tuhansia miljoonia bakteerisoluja. (Vaara, Skurnik & Sarvas 2010, 14–15.)

Yleisimpiä taudinaiheuttajabakteereita on (*E. coli*, enterokokki ja *P. mirabilis*) kahdenlaisia, kapselittomia muotoja ja kapselillisiä muotoja. Kapselittomia bakteereja on useasti normaalifloorassa. (Vaara ym. 2010, 30.) Normaaliflooraa eli normaalisti esiintyvää bakteerikasvustoa esiintyy ihmisillä ylähengitysteissä ja suussa, iholla, ruoansulatuskanavassa ja sukupuolielimissä. Normaaliflooran mikrobikanta pyrkii suojaamaan elimistöä jatkuvan muutospaineen alla ulkopuolisilta bakteereilta, joita tulee muun muassa kosketustartuntana ympäristöstä ja ruuan mukana. (Hellstén 2004, 17–19.)

Kapselittomat bakteerit voivat aiheuttaa vain pinnallisia infektioita, kun taas kapselilliset muodot voivat aiheuttaa yleisinfektioita. Bakteeri tarttuu kapselimateriaalinsa avulla ympäristöönsä. Yleensä kapseli on erittäin hapanta polysakkaridia. Polysakkaridi käytättyy kuin liima, jolloin bakteeri ei ole kovin valikoiva tarttumispinnan suhteen. (Vaara ym. 2010, 30.)

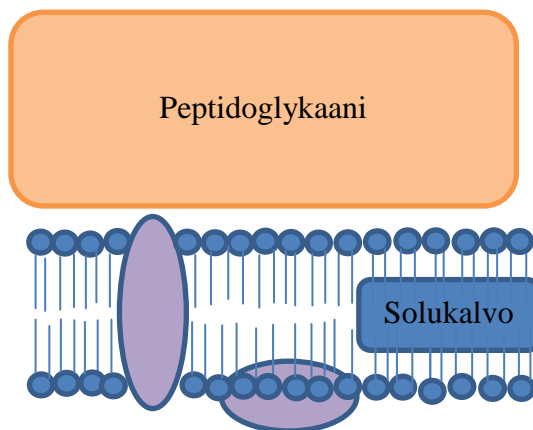
Bakteerin rakenteiden tunteminen on tärkeää, jotta ymmärtää bakteerin toimintaa. Bakteereilla on kyky takertua (adheroitua) kohteeseen (esimerkiksi limakalvolle) tarttumakarvojen (fimbrioiden) välityksellä (Vaara ym. 2010, 14–15.) Bakteerit voivat liikkua pitkän siimamaisen flagellan avulla (Behe 2006,70). Bakteeri pystyy siirtämään DNA:ta solusta toiseen paritutumisen (konjugaation) kautta. Bakteerilla on myös niin sanottu lepomuotoitiö, jonka avulla se selviää huonoina aikoina esimerkiksi kuivuuden ohi. Bakteerin rakenne on kuvattu alla (kuvio 1). Kaikilla bakteereilla ei ole kuvassa esitel-

täviä rakenteita. Eri bakteereilla on erilaisia rakenteita, joiden erot voivat olla muun muassa rakenteiden määrässä ja laadussa. (Vaara ym. 2010, 14–15.)

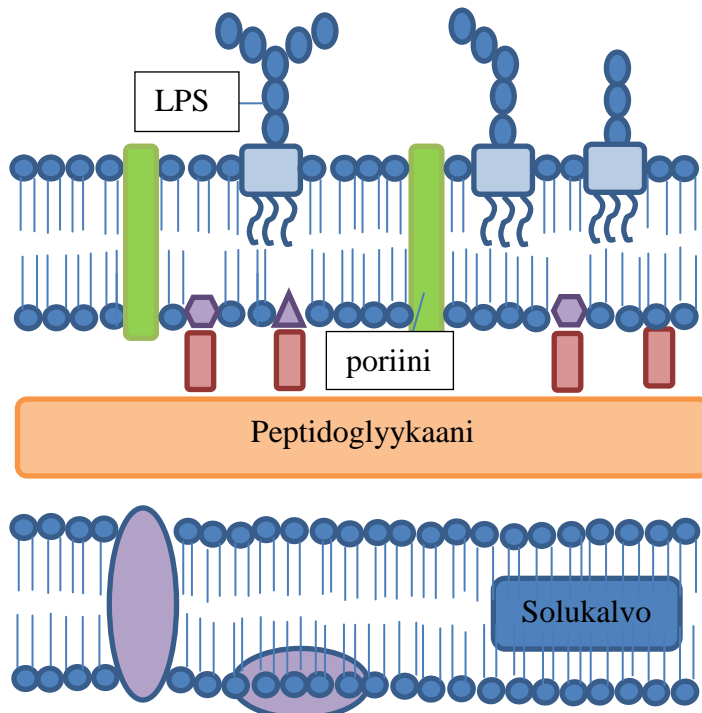


KUVIO 1. Bakterin rakenne (mukaiillen Vaara ym. 2010, 15)

Bakteerit poikkeavat eläinsoluista siten, että eläinsoluilla ulkopuolella on plasmamembraani ja bakteereilla on niin kutsuttu soluseinä. (Heikkilä ym. 2005, 33–34.) Bakteerien soluseinä antaa niille niiden ominaisen muodon; sauvamaisen, pallomaisen, korkkiruuvimaisen tai nauhamaisen. (Vaara ym. 2010, 21.) Gramnegatiivisten bakteerien soluseinän (kuvio 2b) rakenne on monimutkaisempi kuin grampositiivisten bakteerien (kuvio 2a). Erona on gramnegatiivisten bakteerien ulkomembraanikerros. (Heikkilä ym. 2005, 33–34.) Grampositiivisilla bakteereilla on paksu peptidoglykaanikerros eli seinämä, joka on niille tyypillinen, ja jonka johdosta ne ovat herkkiä mm. penisilliinille ja sen johdoksille. Bakteerilla on plasmamembraani ja peptidoglykaanikerroksen ulkopuolella spesiaali ulkomembraani eli biologinen kalvo. (Vaara ym. 2010, 25.)

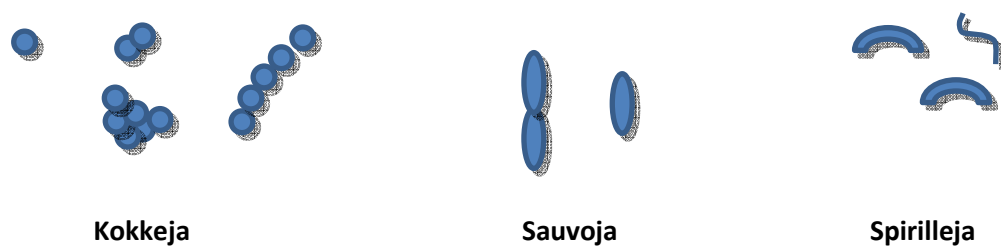


KUVIO 2a. Grampositiivisen bakteerin soluseinä (Vaara ym. 2010, muokattu)



KUVIO 2b. Gramnegatiivisen bakteerin soluseinä (Vaara ym. 2010, muokattu)

Bakteerilla voi olla hyytelömäinen polysakkaridista muodostunut kapseli, joka suojaa bakteeria komplementilta (järjestelmä joka muodostuu proteiineista, joka tappaa vieraita soluja) ja fagosytoosilta (solusyöinti). Bakteerit voidaan jaotella useaan ryhmään muotojensa perusteella, esimerkiksi pallomaisiksi kokkibakteereiksi (*coccus*) ja pitkänomaisiksi sauvabakteereiksi (*bacillus*) (kuvio 3.). Kokkeja esiintyy pareittain, ryhmissä ja eripituisina ketjuina, ja sauvoja taas esiintyy lyhyinä ketjuina. (Heikkilä ym. 2005, 31–32.)



KUVIO 3. Bakteerien muodot (Kortelainen & Ylinen 2013)

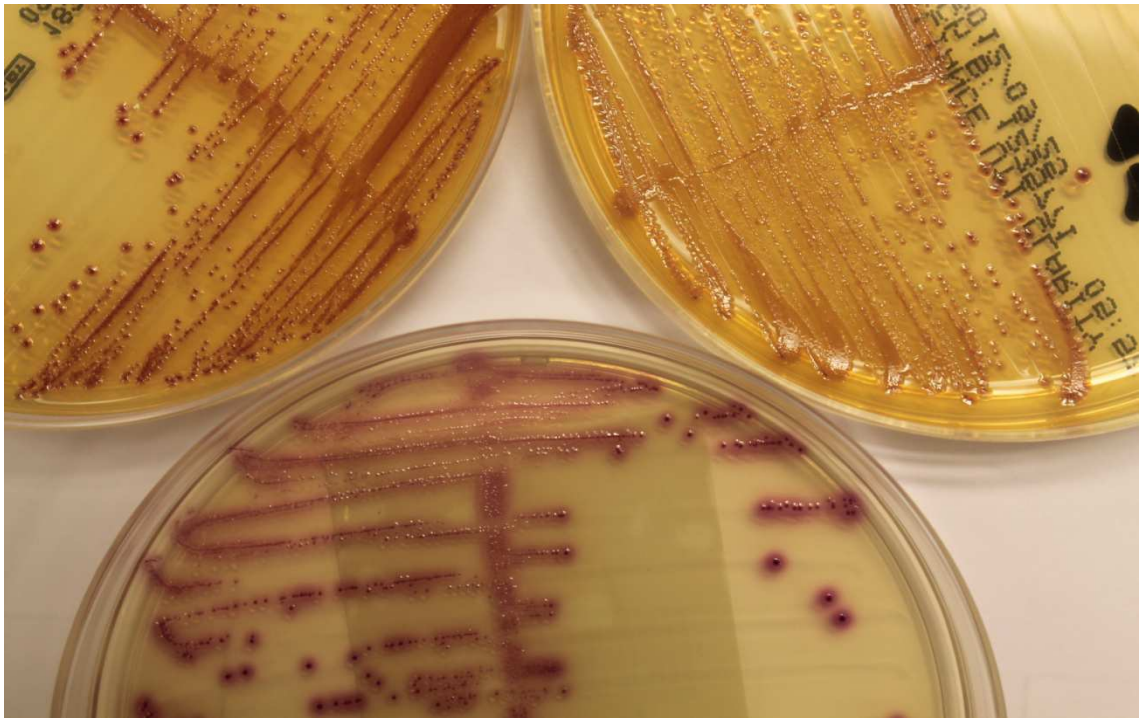
7 YLEISIMMÄT VIRTSATIEPATOGEENIT

Bakteerien tärkeimpiä luokittelukriteereitä ovat niiden morfologia, soluseinän ominaisuudet ja sitä myötä Gram-värjäytyvyys, energia-aineenvaihdunta, sokerifermentaatiot ja entsyymiaktiviteetit. Bakteerien luokittelu ei ole kovin yksinkertaista. Ryhmittely voidaan tehdä bakteerien samanlaisten ominaisuuksien pohjalta, jolloin valintakriteereinä käytetään niiden tiettyjä ominaisuuksia. Bakterikannat, joiden samankaltaiset ominaisuudet ylittävät tietyn rajan voidaan nimetä lajiksi tai suvuksi. Eerolan mukaan bakterikantojen, joiden DNA-homologia on yli 70 %, voidaan katsoa kuuluvan samaan lajiin. (Eerola 2003, 90–91.)

Bakteerityypityksessä käytettävät testit ovat edullisin ja yksinkertaisin tapa saada tyypitettyä yleisimmät patogeeniset bakteerit. Tavallisimmat bakteerit pystytään tyypittämään useissa laboratorioissa, mutta harvinaisempien bakteerilajien identifiointi onnistuu ainoastaan erikoislaboratorioissa. (Eerola 2003, 91–92.) Opinnäytetyössämme emme käsittele erilaisia bakteerien tunnistustestejä ja herkkyysmäärytyksiä, sillä tutkimuksemme tulokset pohjautuvat ainoastaan bakteerien silmämääräiseen tarkasteluun maljoilta. Seuraavissa kappaleissa on joitakin valokuvaamiamme otoksia bakteeripesäkkeistä eri maljoilla.

7.1. *Escherichia coli*

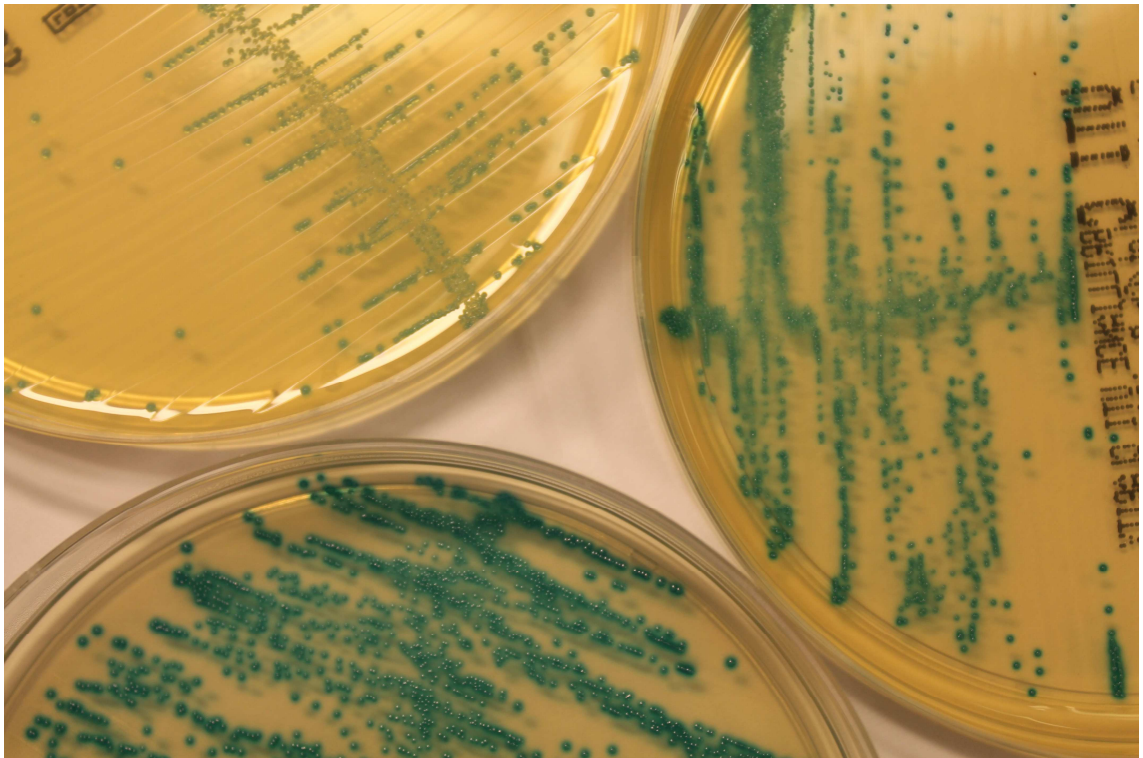
Escherichia coli (kuva 2.) kuuluu suoliston normaaliflooraan ja se sisältää monia erilaisia kantoja. *E. coli* – kannat kuuluvat aerobisiin bakteereihin, joita suolistossa esiintyy erittäin vähän. Ne ovat rakenteeltaan tyypillisiä gramnegatiivisia enterobakteereja. *E. coli* -kannat aiheuttavat infektioita, kun ne pääsevät limakalvojen vastustuskyvyn heikennyttyä tai vamman kautta kulkeutumaan suoliston ulkopuolelle. Kyseinen kanta aiheuttaa virtsatietulehduksista 90 %. Tartunta on tavallisesti aiheutunut omasta suoliston ja välilihan alueen normaalifloorasta, jolloin bakteerit pääsevät kulkeutumaan virtsaputkea pitkin virtsateihin. (Siitonen & Vaara 2003, 176–177.) *E. coli* on lääkeherkkä gramnegatiivisiin bakteereihin tehoaville lääkkeille. (Siitonen ym. 2003, 181.) *E. coli* on aerobinen gramnegatiivinen sauvabakteeri, joka muodostaa kromogeenisen maljan pinnalle pinkin värisiä pesäkkeitä.



KUVA 2. *E. coli* -kasvustoja kromogeenisilla maljoilla (Kortelainen & Ylinen 2012)

7.2. Enterokokki

Enterokokit (kuva 3.) ovat toiseksi yleisimpiä suoliston alueen bakteereja. Enterokokeista yli 95 % ovat joko *E. faecalis*- tai *E. faecium* – lajia. Enterokokit kykenevät aiheuttamaan infektiota ainoastaan silloin, kun ihmisen puolustuskyky on heikentynyt. Infektiot voivat saada alkunsa potilaan omasta mikrobifloorasta tai tartunnasta. Muun muassa syöpä, munuaisten vajaatoiminta, kirurgiset toimenpiteet ja antibioottihoito altistavat enterokokille. Yleisin enterokokin aiheuttama infektio on virtsatieinfektio. (Anttila & Suppola 2003, 129.) Enterokokit ovat grampositiivisia ketjukokkeja, jotka muodostavat kromogeenisille maljoille turkoosin värisiä pesäkkeitä.



KUVA 3. Enterokokki – kasvustoja kromogeenisilla maljoilla (Kortelainen & Ylinen 2012)

7.3. Proteukset

Proteus-, *Providencia*- ja *Morganella* – lajit kuuluvat *Proteeae* – ryhmään ja ovat *Enterobacteriaceae* – heimoa. Nämä lajit ovat ihmisen suoliston normaaliflooraa. (Tissari & Anttila 2003, 192.) *Proteus*-, *Providencia*- ja *Morganella* -lajit ovat taudinaiheuttamiskyvyltään opportunisteja eli voivat aiheuttaa tautia henkilöille joiden vastustuskyky on heikentynyt. Proteukset (kuva 4.) aiheuttavat usein virtsatieinfektioita, jotka voivat kroonistua ja olla olemukseltaan munuaisen parenkyymia tuhoavia. (Tissari ym. 2003, 194.) *Proteus* muodostaa kromogeeniselle maljalle vaaleanruskeita pesäkkeitä, joita ympäröi ruskea halo-alue (Biomérieux.) *Proteus mirabilis* on lajeista herkin antibiooteille (Tissari & Anttila 2003,194.)



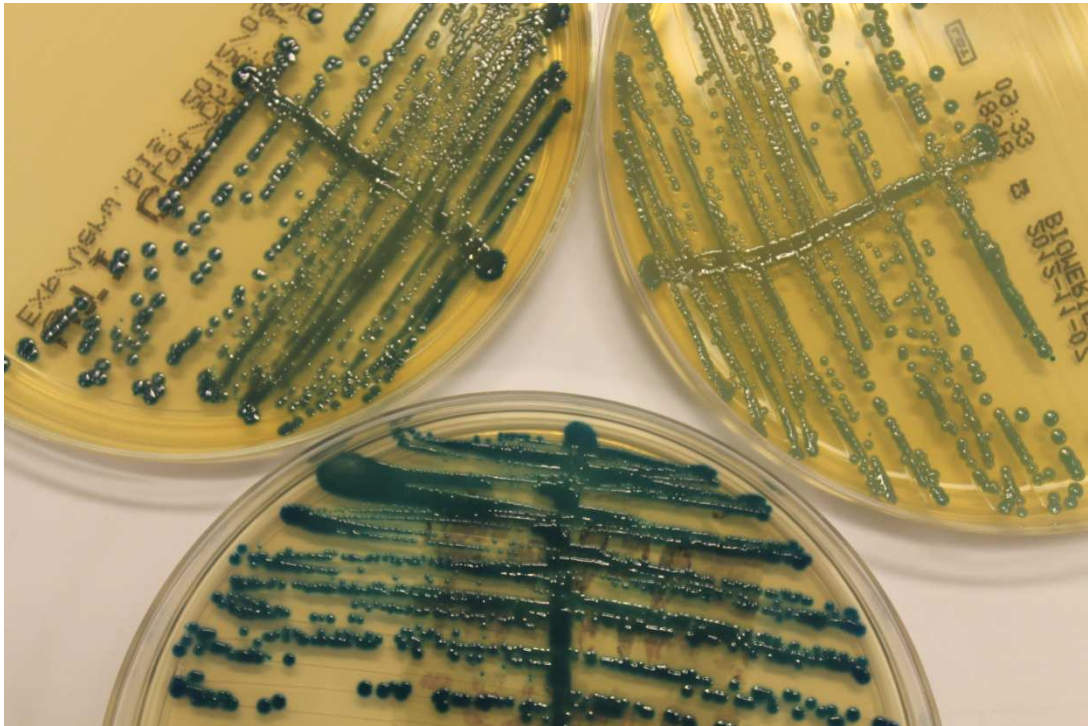
KUVA 4. *Proteus* – kasvustoja kromogeenisilla maljoilla (Kortelainen & Ylinen 2012)

7.4. Stafylokokit

Koagulaasinegatiivisia stafylokokki – lajeja on ihmisellä havaittu 15 erilaista, joista kliinisesti tärkeimpiä ovat *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus lugdunensis* ja *Staphylococcus schleiferi*. Kaikki koagulaasinegatiiviset stafylokokit kuuluvat ihmisen normaaliflooraan. Ne ovat yleisin vierasesineinfektioita aiheuttava mikrobiryhmä. *Staphylococcus saprophyticus* on yleisin akuuttien virtsatieinfektioiden aiheuttaja sukukypsillä nuorilla naisilla avohoidossa. Stafylokokin aiheuttama infektio vaatii jonkin altistavan tekijän, kuten limakalvon rikkoutumisen. (Lyytikäinen & Vuopio-Varkila 2003, 107–109.) *Staphylococcus aureus* on ainoa koagulaasipositiivinen (hyyydyttää plasman) stafylokokkilaji. Bakteeri esiintyy yksittäisinä kokkibakteereina, pareina tai pieninä rykelminä. Pesäkkeet ovat keltaisia. (Vuopio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2003, 98.) *Staphylococcus aureus* aiheuttaa sairaalainfektioita (Wuorela, Kouri, Laato, Lipponen, Lumio, Uhari & Vuento 2003.)

7.5. Klebsiellat

Klebsiella kuuluu *Enterobacteriaceae*-heimoon, ja se kuuluu ihmisen suoliston normaali-
liflooraan. Klebsiella on merkittävä sairaalainfektioiden aiheuttaja muun muassa virtsa-
tieinfektion aiheuttaja. Se aiheuttaa harvoin tautia perusterveille ihmiselle. Bakteri
muodostaa maljalle limaisia sinisen eri sävyisiä pesäkkeitä (kuva 5.), jotka ovat gram-
negatiivisia sauvoja. (Tissari & Anttila 2003, 192.)

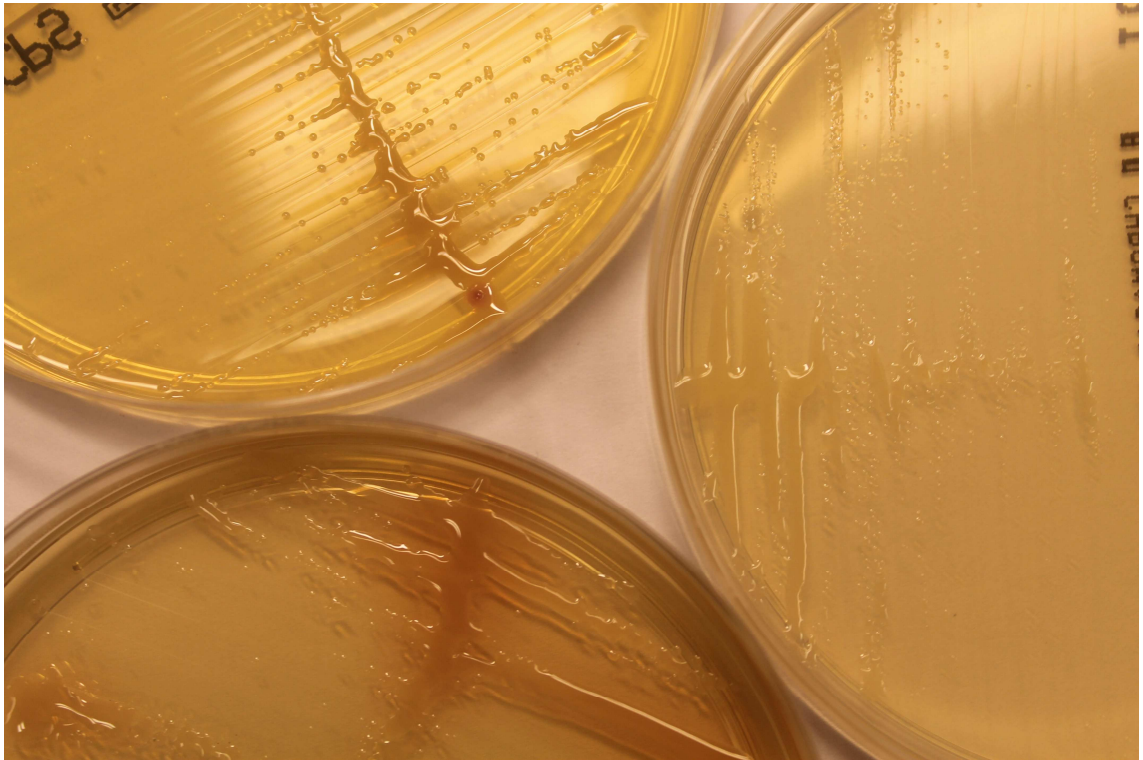


KUVA 5. Klebsiella-kasvustoja kromogeenisilla maljoilla (Kortelainen & Ylinen 2013)

7.6. Pseudomonakset

Pseudomonas-suvun bakteerit ovat liikkuvia bakteereita, jotka esiintyvät yleensä maa-
perässä ja vedessä. Ne ovat gramnegatiivisesti värjäytyviä sauvabakteereja, jotka aiheut-
tavat tyypillisesti infektioita sairaalapotilaille, joilla on immuunipuolustus heikentynyt.
Pesäkkeet ovat läpikuultavia kermanvärisestä beigeen (kuva 6.). *Pseudomonas*-sukuun
kuuluva *Pseudomonas aeruginosa* on kasvuvaatimuksiltaan vaatimaton gramnegatiivi-
nen sauvabakteeri, joka liikkuu yhden flagellan avulla ja viihtyy parhaiten kosteissa
oloissa, kuten uima-altaissa ja pesuvesissä sekä ihmisellä välilihan alueella, kainaloissa
ja korvissa. *P. aeruginosan* pesäkkeet ovat värillisiä, litteitä ja metallinhoitoisia. Lajin
tunnistaa sille tyypillisestä hedelmäisestä tuoksusta. Pesäkkeiden väri on yleensä sini-
nen, mutta riippuen kannasta ne voivat olla myös punaisia, vihreitä tai mustia. Bakteri

aiheuttaa virtsatieinfektiota yleensä sairaalapotilaille. (Tissari & Anttila 2003, 195–197.)



KUVA 6. *Pseudomonas* -kasvustoja kromogeenisilla maljoilla (Kortelainen & Ylinen 2012)

7.7. Streptokokit

B-ryhmän beetahemolyyttinen *Streptococcus agalactiae* kuuluu emättimen ja alemman suoliston normaaliflooraan. Jopa 5-40 % naisista voi kantaa sitä. B-streptokokit voivat virtsatie-tulehduksen lisäksi aiheuttaa muitakin infektiota, kuten sepsistä, niveltulehduksia ja aivokalvotulehduksia. Vastasyntynyt voi saada infektio-tartunnan äidin synnytyskanavasta. (Saxén & Vuopio-Varkila 2003, 118.) *Streptococcus faecalis* aiheuttaa 13 % urologisen toimenpiteen jälkeisistä kystiiteistä (rakkotulehdus) ja muut streptokokit 6 % (Talja 2009).

8 BAKTEERIVILJELY VIRTSASTA

Virtsan bakteeriviljely on tärkeä osa virtsatieinfektioiden diagnostiikassa ja hoidossa, jossa laadukas näyte, säilytys ja kuljetus takaavat luotettavan tuloksen. Virtsaviljelyllä pyritään löytämään uropatogeenejä eli virtsatieinfektioita aiheuttavia bakteereja. (Kouri ym. 1999, 19.)

Viljelyn tarkoituksena on saada bakteeri kasvamaan selvästi erillisenä pesäkkeenä maljalla. Maljalta on tarvittaessa helppo suorittaa bakteerin tunnistuskoe ja mikrobilääkkeen herkkyysmäärittäminen. (Kouri ym. 1999, 19.) Virtsanäyte viljellään kvantitatiivisella viljelymenetelmällä erottelevälle maljalle (KSSHP 2011). Näyte sekoitetaan huolellisesti ja viljellään maljalle, jonka jälkeen malja siirretään lämpökaappiin +35 °C:een. Inkubointi kestää 15–18 tuntia, jonka aikana mahdollinen bakteeri alkaa kasvaa. (Kouri ym. 1999, 44.) Kasvatusvaiheen jälkeen tarkastellaan maljaa erilaisten pesäkkeiden esiintyvyyden ja määrän havaitsemiseksi (KSSHP 2011). Jo vuorokauden sisällä voidaan aloittaa mikrobilääkehoito potilaan kliinisen tilan ja bakteerin alustavan nimen perusteella (Kouri ym. 1999, 19).

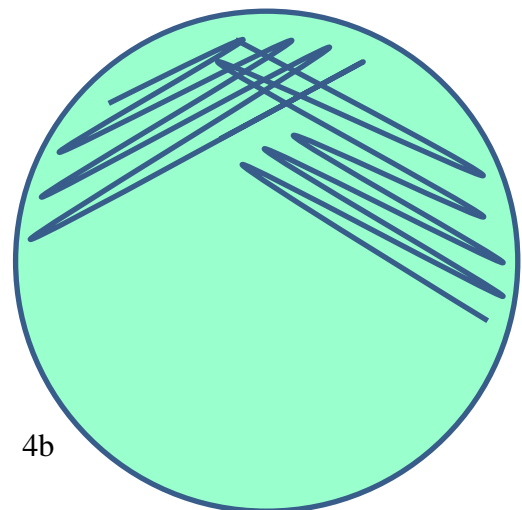
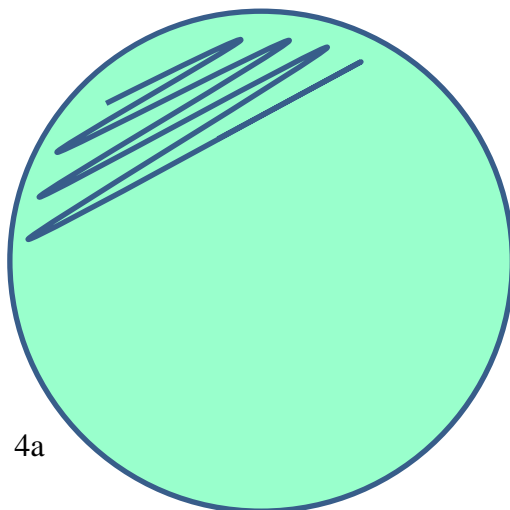
Elatusaineen koostumus maljalla on suunniteltu bakteerien kasvulle optimaaliseksi, jolloin ne alkavat lisääntyä jakautumalla. Maljalla silmin nähtävä pesäke, joka näkyy pieninä täplinä, sisältää noin miljardi bakteeria. Bakteeripesäkkeet ilmestyvät maljalle noin vuorokauden sisällä, jolloin voidaan saada alustava vastaus. Tuloksissa on huomioitava, että näytteestä löytyy aina jonkin verran bakteereita, sillä niitä tulee virtsaputken suulta pesusta huolimatta. Tulehduksen arviointiin tarvitaan tietoa bakteereiden määrästä, josta viljelmä yleensä kertoo riittävällä varmuudella. Pesäkkeiden ollessa samanlaisia, se merkitsee todennäköisesti tulehdusta, joka on yleensä aina yhden bakteerilajin aiheuttama. Näissä tapauksissa näyte lähetetään lisätutkimuksiin. Jos pesäkkeitä on useita erilaisia, se todennäköisesti merkitsee, että bakteerit ovat tulleet virtsaamisen yhteydessä. (Mustajoki & Kaukua 2008.)

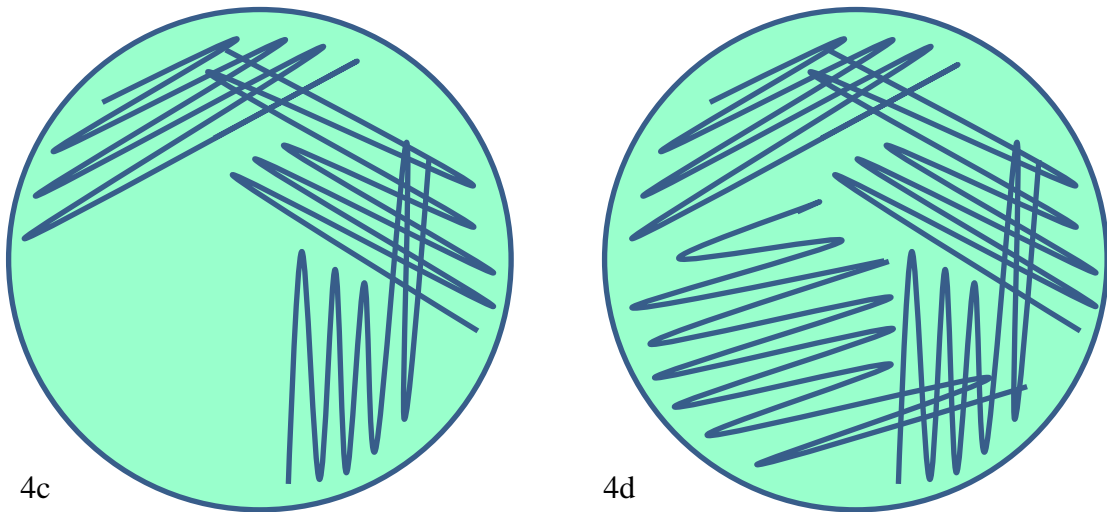
Käytännössä, mikäli näytteessä on yli 100 000 (10^5) bakteeria millilitrassa, on kyseessä aina tulehdus. Tuloksen ollessa 10 000–100 000/ml (10^4 – 10^5) viittaa se bakteeritulehdukseen, mutta ei voida varmuudella sanoa tulosta. Tuloksessa ilmoitetaan bakteerien määrä millilitrassa virtsaa. (Mustajoki ym. 2008.)

8.1. Puhdasviljely

Mikrobiologiassa käytetään puhdasviljelytekniikkaa, jonka periaate on saada mikrobi-
viljelynäyte hajalleen agarin pinnalle siten, että jokaisesta bakteerisolusta saadaan kas-
vamaan yksittäinen pesäke. Pesäkkeissä tulisi olla vain yhden bakteerin edustajia. (Sal-
kinoja-Salonen 2002, 80–81.)

Laimentaminen tehdään alkuperäisestä näytteestä kastamalla siirrostusväline näyttee-
seen ja vetämällä sillä siksak-kuviota maljan laidasta laitaa alaspäin suuntautuvien ve-
doin (kuvio 4a.). Seuraavaan vaiheeseen (kuvio 4b.) otetaan uusi puhdas siirrostusväline
ja toistetaan edellinen kuvio aloittamalla se edellisen siirrostuksen päältä. Sama kuvio
toistetaan kolmannen (kuvio 4c.) ja neljännen (kuvio 4d.) kerran maljalle. Näin saadaan
alkuperäisestä siirroksesta kolminkertainen laimennos maljan pinta-alalle, ja voidaan
olettaa, että saadaan aikaiseksi erillispesäkkeitä. Maljaa kasvatetaan lämpökaapissa
ylösalaisin käännettynä siitä syystä, etteivät maljan kanteen tiivistyneet vesipisarot tip-
pui viljelmän päälle. Erillispesäkkeitä kasvaa yleensä viimeiseksi vedetyssä siirrostuk-
sessa. Puhdasviljelmää varten siirretään vielä yksittäinen pesäke puhtaalle maljalle sa-
maa viljelytekniikkaa käyttäen. Puhdasviljelmä on saatu onnistumaan, jos kaikki pesäk-
keet uudella maljalla ovat samannäköisiä. (Salkinoja-Salonen 2002, 81.)

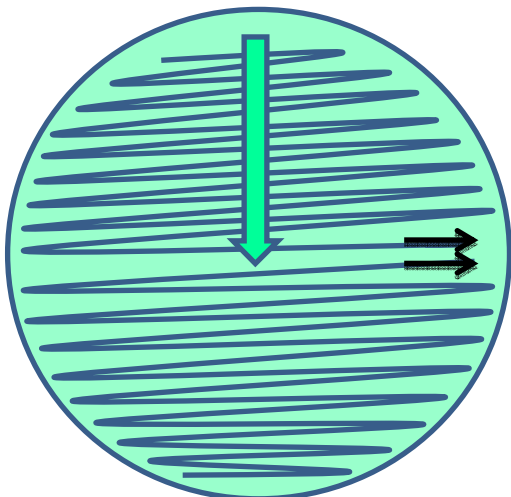




KUVIO 4a-d. Puhdasviljely (mukaiillen Cappuccino & Sherman 2005)

8.2. Virtsanäytteen kvantitatiivinen viljely

Suoritimme virtsanäytteiden kvantitatiivisen viljelyn maljoille KESLABin työohjeen mukaisesti. On tärkeää, että näyte sekoitetaan huolellisesti juuri ennen viljelyä kääntelemällä putkea ylösalaisin niin, että nestepinta kulkee putken päästä päähän. Putkea ei saa ravistaa, vaan tarkoituksena on saada putken pohjalle laskeutunut sakka sekoittumaan näytteeseen varovasti käännellen. Silmukka lasketaan putkeen ylösalaisella liikkeellä juuri nestepinnan alapuolelle niin, että silmukkaan saadaan kuperan muotoinen pisara silmukan molemmin puolin. Näytettä siirrostetaan maljalle silmukan avulla tekemällä veto maljan reunasta kohti keskustaa seuraavan kuvion (kuvio 5.) mukaisesti. (KSSHP 2011.)



KUVIO 5. Virtsanäytteen kvantitatiivinen viljely (mukaiillen Nissinen 2011)

Siirrostus levitetään maljalle edestakaisella siksak-liikkeellä maljan reunasta reunaan kulkevin vedoin. Vedot kulkevat samalla kohti maljan puoliväliä. Keskikohtaan tullessa käännetään malja sekä silmukka ympäri ja vedetään samanlaisin liikkein uusi siksak-hajotus maljan koskemattomalle puolelle. Tämän jälkeen kansi suljetaan, maljat pinoetaan ja siirretään telineissä lämpökaappiin kasvamaan. (KSSHP 2011.)

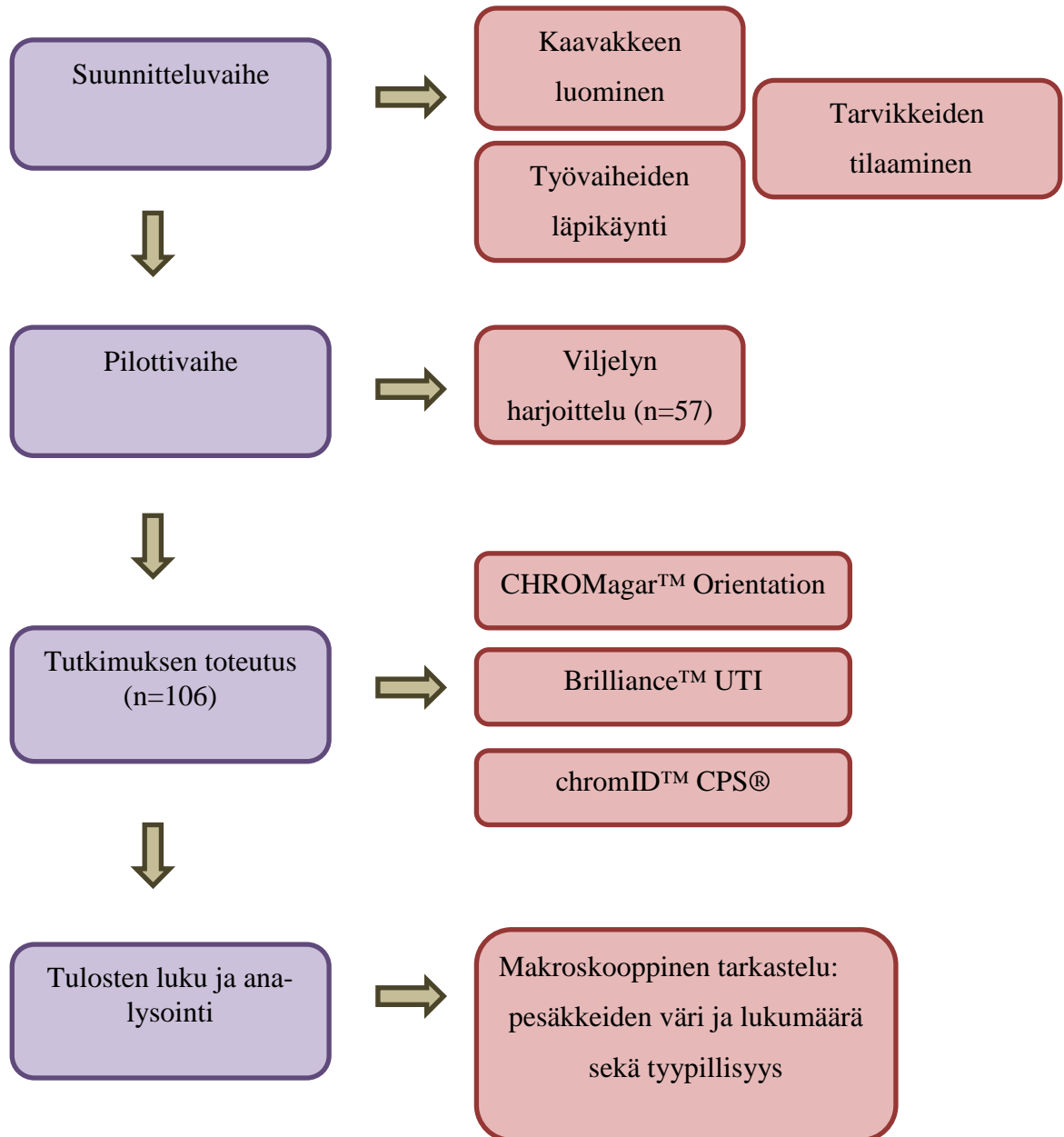
9 TUTKIMUSPROSESSI

Opinnäytetyön aiheen saimme KESLABin mikrobiologian laboratoriolta. Suunnitteluvaiheessa pidimme sairaalamikrobiologin kanssa palaverin tutkimuksen kulusta (kuvio 6.). Opinnäytetyömme suunnitteluvaiheessa kävimme läpi tulevat työvaiheet sekä laadimme havainnointikaavakkeen (liite 1.), johon merkkasimme tutkimuksessa ilmeneviä havaintoja (pesäkkeiden väri, -määrä ja -tyypillisuus). Ulkoista olemusta mittasimme bakteerikasvuston värireaktioiden perusteella, pesäkkeiden lukumäärää mittasimme suhteilla <10-, >50-, >100 pesäkettä ja tyypillisyyttä mittasimme plussilla [+++] = tyypillinen, [++] = lähes tyypillinen, [+] = heikko ja [-] = epätyypillinen/ei vastaa maljan odotuksia. Työelämänohjaajamme huolehti vertailtavien maljojen sekä muiden laboratoriotarvikkeiden tilaamisesta tutkimusta varten.

Pilottivaiheessa saimme tuntumaa sekä luotettavuutta viljelyiden suorittamiseen. Tällöin teimme puhtasviljelmät vertailtaville CHROMagar™ Orientation-, Brilliance™ UTI- sekä chromID™ CPS® -maljoille. Pilottivaiheessa puhtasviljelmiä oli 57 kappaletta (n=57). Saimme viljelyt ja maljojen lukemisen suoritettua yhden viikonlopun aikana. Ensimmäisenä päivänä viljelimme maljat ja seuraavana päivänä luimme tulokset.

Käytännön osion tutkimuksen suorituksesta saimme suoritettua kahden viikonlopun aikana. Viljelimme näytteitä viitenä eri päivänä, jolloin saimme tarvittavan 100 näytteen vähimmäismäärän täyteen. Yhteensä näytemääräksi tuli 106 näytettä (n=106). Suoritimme viljelyt KESLABin työohjeen mukaisesti suorittaen ensimmäisenä päivänä viljelyt ja toisena päivänä tulosten luvun.

Analysoimme tuloksia ja vertailimme maljojen ominaisuuksista tekemiämme huomioita seuraavina viikkoina. Tutkimuspäiväkirjan pitämisestä oli suurta apua teoriaosuutta tehtäessä. Tulosten analysoinnissa vertailimme pesäkkeiden tyypillisyyttä, värireaktioita, kasvun määrää sekä bakteerilajia maljojen valmistajien esitteisiin verraten. Tulosten analysoinnissa käytimme apuna Microsoft Office 2010 Excel-tilastointiohjelmaa. Laadimme saaduista tuloksista erilaisia kaavioita havainnollistamaan lukijalle maljojen välisiä eroja.



KUVIO 6. Tutkimusprosessin kulku (Kortelainen & Ylinen 2013)

9.1. Pilottivaihe

Pilottivaiheessa tarkoituksemme oli saada tuntumaa viljelytekniikkaan ja sen myötä luotettavuutta viljelyyn. Keski-Suomen keskussairaalan mikrobiologian laboratorion toimesta meille oli tehty 57 puhtasviljelmää, joista teimme hajotusviljelmät testattaville maljoille. Meillä oli yhteensä 22 eri lajia viljeltävänämmä. Suoritimme pilottivaiheen

kahtena peräkkäisenä päivänä. Ensimmäisenä päivänä viljelimme maljat ja seuraavana päivänä luimme maljoilta tulokset.

Keskenään vertailtavat kromogeeniset maljat olivat: CHROMagar™ Orientation, Brilliance™ UTI ja chromID™ CPS®. Numeroimme jokaisen viljeltävän maljan samalla juoksevilla numerolla kuin puhdasviljelmät oli numeroitu. Otimme yhden selvästi erilisen bakteeripesäkkeen puhdasviljelmämaljalta viljelysauvan avulla, ja siirsimme pesäkkeen testattavalle maljalle, josta tehtiin hajotusviljelmä. Viljelyiden loputtua veimme maljat kasvamaan +35 asteiseen lämpökaappiin.

Luimme tulokset viljelyn jälkeisenä päivänä, jolloin maljat olivat olleet inkuboitumassa optimilämpötilassa 23 tunnin ajan. Tarkkailimme kasvustojen ulkoista olemusta ja tyypillisyyttä esitteen lupaamiin tuloksiin verraten. Kirjasimme ylös kasvuston olemuksen ja tyypillisyyden laatimалlemme havainnointikaavakkeelle. Kasvustojen muodostamat värireaktiot olivat suurimmaksi osaksi selkeitä ja maljojen valmistajien esitteiden lupusten mukaisia.

9.2. Tutkimuksen toteutus

Tutkimukseen tarvittavat maljat oli tilattu valmiiksi viljelyiden suorittamista varten. Muut laboratoriotarvikkeet saimme mikrobiologian laboratoriosta. Virtsanäytteet tulivat Keski-Suomen keskussairaalan osastoilta anonymisti. Potilaiden anonymiteetti ja yksityisyydensuoja säilytettiin käsittelemällä potilasnäytteitä tutkimusnumeroin koko tutkimusprosessin ajan. KESLABin virtsapiste ”Urina” keräsi tutkimustamme varten päivän mittaan positiiviseksi leukosyyttien ja nitriitin osalta seulotut näytteet. Näytteet olivat säilöntäaineellisissa putkissa ja suoritimme niiden bakteeriviljelyt 24 tunnin sisällä näytteen annosta.

Viljelypäivinä mikrobiologian laboratorion henkilökunta oli huolehtinut meille maljat valmiiksi huoneenlämpöön. Ennen viljelyä tarkistimme maljojen päivämäärät ja eränumerot, jolla varmistimme maljojen olevan samaa erää. Valmistelimme työpisteen tarvittavista tarvikkeista aina ennen viljelyiden aloittamista. Numeroimme tutkittavat maljat juoksevilla numerojärjestelmällä ja viljelimme maljat noudattamalla laboratorion kirjallista työohjetta.

Huolehdimme, että näytteet sekoitettiin huolellisesti juuri ennen viljelyä ja, että siirrostus maljalle tapahtui oikeaoppisesti. Virtsaviljelyt tehtiin tutkittaville CHROMagar™ Orientation, Brilliance™ UTI ja chromID™ CPS® maljoille, jonka jälkeen virtsanäytteet hävitettiin asianmukaisella tavalla. Viljelyn jälkeen siirsimme maljat kasvamaan +35 asteiseen lämpökaappiin ja luimme tulokset seuraavana päivänä.

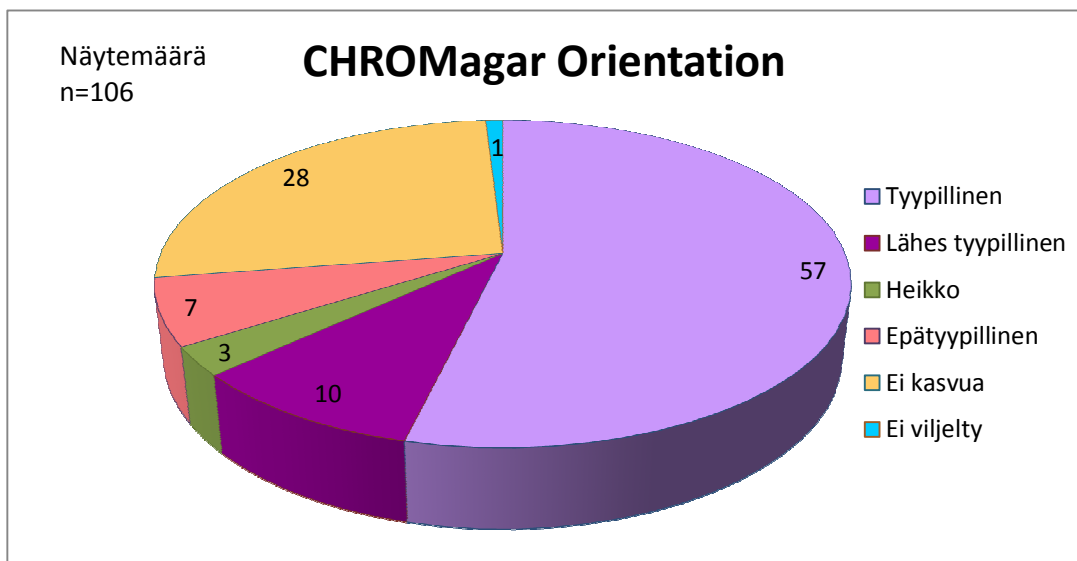
Havainnot kasvustoista ja maljan ominaisuuksista dokumentoitiin kaavakkeelle, jossa oli omat sarakkeet kullekin kohdalle. Maljoilta etsittäviä ominaisuuksia olivat värireaktiot, kasvun määrä ja kasvuston tyypillisuus. Tarvittavien tutkimustulosten saamiseksi oli tärkeää, että havainnointikaavakkeessa oli kaikki tarvittavat tiedot tulosten analysoimista varten. Lisäksi valokuvasimme kasvustoja maljoilta, jonka myötä saimme hyvin havainnollistavaa materiaalia tutkimustamme varten. Pidimme ohessa myös tutkimuspäiväkirjaa.

Tutkimuksen toteutusvaiheessa kiinnitimme huomiota myös maljojen muihin ominaisuuksiin. Huomasimme viljeltäessä, että Brilliance™ UTI – maljan pinta oli helpoiten rikkoutuva. Viljeltävyydeltään paras malja oli chromID™ CPS®, jonka pinta oli hie-
man liukkaampi kuin muiden. CHROMagar™ Orientation – malja tuotti eniten bakteeripesäkkeitä ja pesäkkeiden värit olivat selkeämmät kuin muilla maljoilla.

10 TUTKIMUSTULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

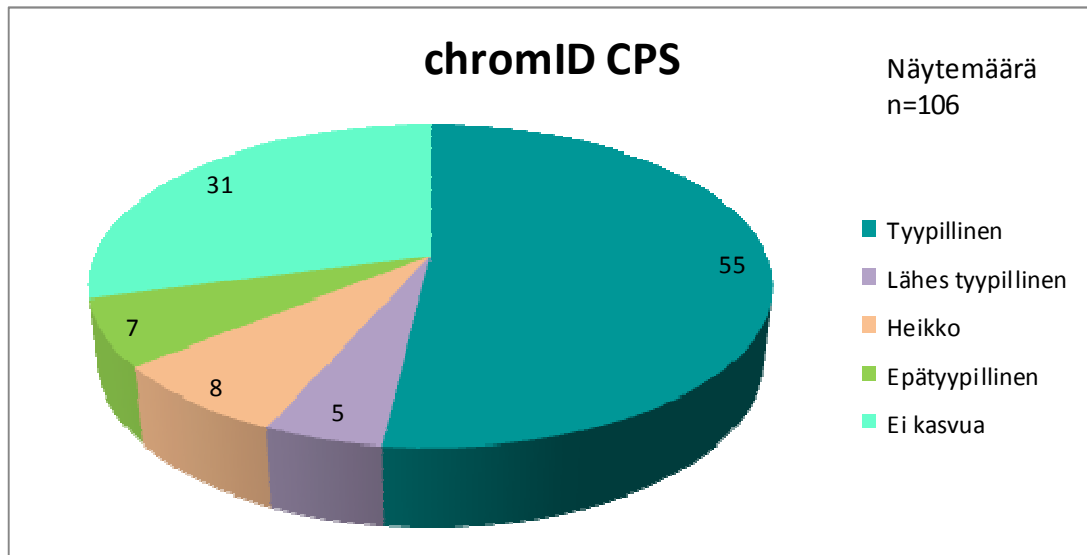
Suurimman osan virtsatieinfektioista aiheuttaa *E. coli*, ja tutkimuksessamme käyttämät maljat olivat omiaan tämän bakteerin tunnistuksessa. Värireaktiot olivat selkeitä ja vastasivat suurimmaksi osaksi valmistajan esitteen mukaisia tuloksia. Tulkinnessa on osattava kiinnittää huomiota myös pesäkkeiden ulkoiseen olemukseen eli morfologiaan. Näitä ominaisuuksia ovat pesäkkeen koko, väri, haju ja muoto. (Kouri ym. 1999, 21.)

Aineistoa käsiteltiin ja tuloksia havainnollistettiin Microsoft Office 2010 Excel-tilastointiohjelmaa apuna käyttäen saaden tuloksiksi erilaisia kaavioita. Kuviosta 7. voidaan nähdä, kuinka kasvustojen tyypillisuus 106 viljellyn näytteen välillä jakaantui. CHROMagar™ Orientation -maljoilta 57 viljellyistä näytteistä (n=106) tuotti tyypillisen näköisiä pesäkkeitä, joita on merkitty kaavakkeessa kolmella plussalla [+++]. Esitteeseen verrattuna pesäkkeistä 10 oli lähes tyypillisiä [++], 3 heikosti samankaltaisia [+], 7 epätyypillisiä ja 28 ei kasvanut ollenkaan. CHROMagar™ Orientation maljoista yksi oli jäänyt epähuomiossa viljelemättä kokonaan, joka tuli ottaa myös huomioon.



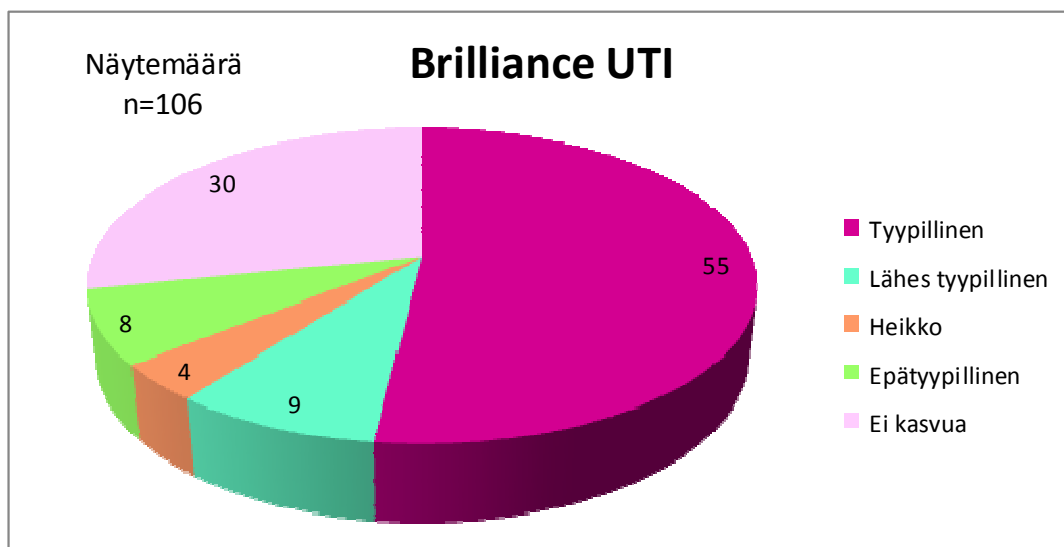
KUVIO 7. Kasvustojen samankaltaisuus (tyypillisuus) CHROMagar™ Orientation -maljoilla verrattuna valmistajan esitteeseen (Kortelainen & Ylinen 2013)

ChromID™ CPS® – maljoja viljeltiin yhteensä 106 kappaletta. Niiden kasvustoista (kuvio 8.) 55 olivat tyypillisiä [+++], 5 lähes tyypillisiä [++], 8 heikosti samankaltaisia [+] ja 7 epätyypillisiä [-] verrattaessa valmistajan esitteeseen. Näytteistä 31 eivät muodostaneet kasvustoa maljalla lainkaan.



KUVIO 8. Kasvustojen samankaltaisuus (tyypillisuus) chromID™ CPS® -maljoilla verrattuna valmistajan esitteeseen (Kortelainen & Ylinen 2013)

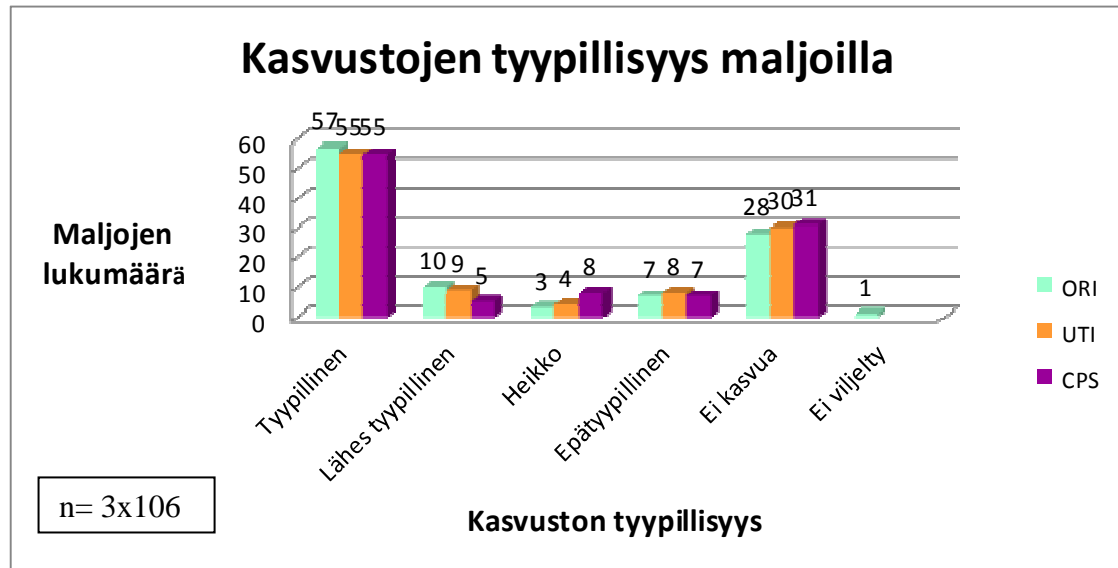
Kuviossa 9. nähdään, että viljellyistä maljoista (n=106) 55 olivat tyypillisiä [+++], 9 lähes tyypillisiä [++], 4 heikosti samankaltaisia [+] ja 8 epätyypillisiä [-] verrattaessa valmistajan esitteeseen. Maljoista 30 ei muodostanut kasvustoa ollenkaan.



KUVIO 9. Kasvustojen samankaltaisuus (tyypillisuus) Brilliance™ UTI -maljoilla verrattuna valmistajan esitteeseen (Kortelainen & Ylinen 2013)

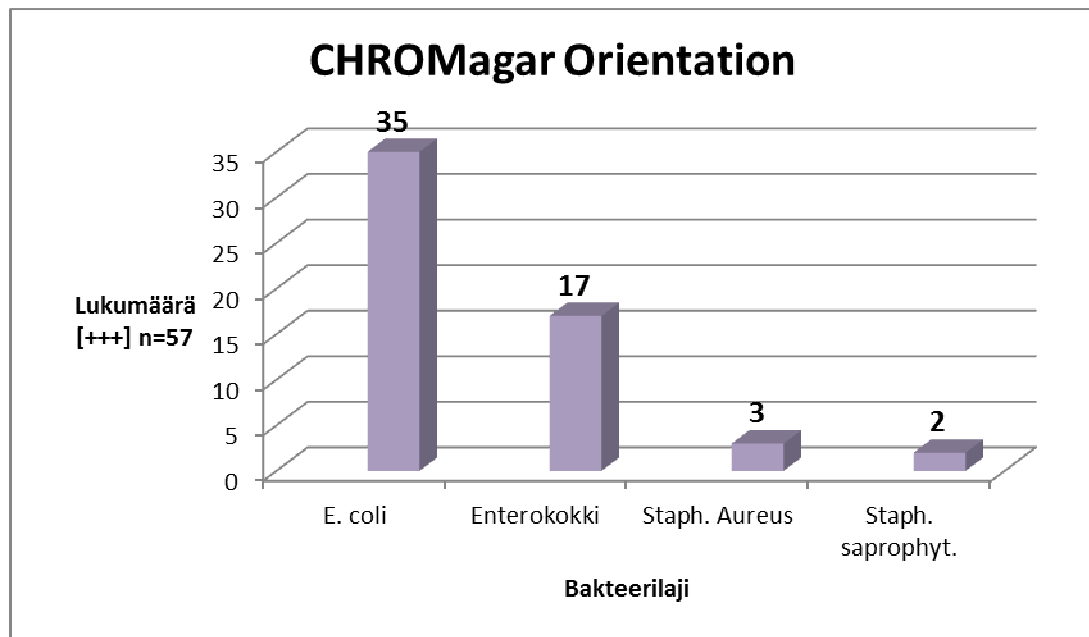
Tarkasteltaessa kaikkia kolmea maljaa rinnakkain pylväsdiagrammin (kuvio 10.) muodossa, nähdään, että kaikki maljat osoittivat tyypilliseksi [+++] luokitellut kasvustot lähes yhtä hyvin, CHROMagar™ Orientation – malja 57/106, Brilliance™ UTI –malja 55/106 ja chromID™ CPS® –malja 55/106. Myös muut saadut arvot olivat hyvin samankaltaisia keskenään. Eniten vaihtelua oli kasvuston ollessa heikosti samankaltainen

[+] kuin esitteessä, jossa CHROMagar™ Orientation –malja sai arvoksi 3/106, Brilliance™ UTI 4/106 ja chromID™ CPS® 8/106. Maljojen tyyppillisyyttä kuvattaessa ei voida sanoa, että joukossa olisi selkeästi huonointa tai selvästi parasta maljaa, sillä erot eivät olleet huomattavia.



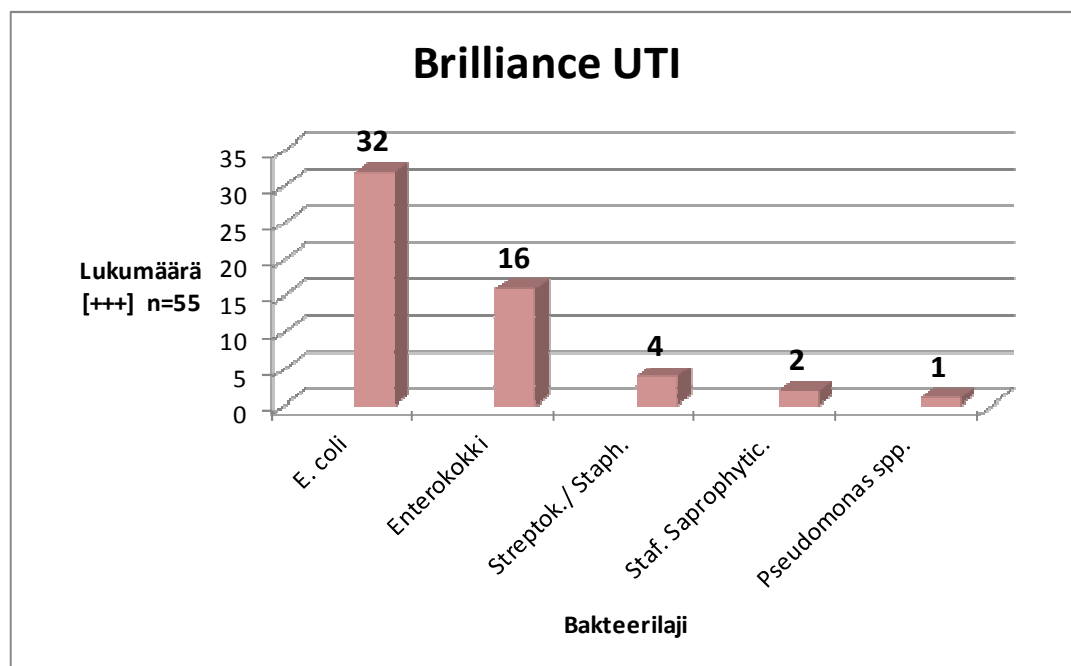
KUVIO 10. Kasvustojen tyyppisyys verrattaessa kaikkia kolmea maljaa rinnakkain (Kortelainen & Ylinen 2013)

Pylväsdiagrammikuvioista voidaan tarkastella mitä bakteerilajeja on tunnistettu silmämääräisesti maljoilta, jotka saivat kolmen plussan arvon [+++] eli olivat kasvustoista tyyppisimpiä. CHROMagar™ Orientation – maljoista 57 sai kolme plussaa (kuvio 11.). Näistä 35 kasvoi *E. colia*, 17 enterobakteeria, 3 *Staphylococcus aureusta* ja 2 *Staphylococcus saprophyticusta*.



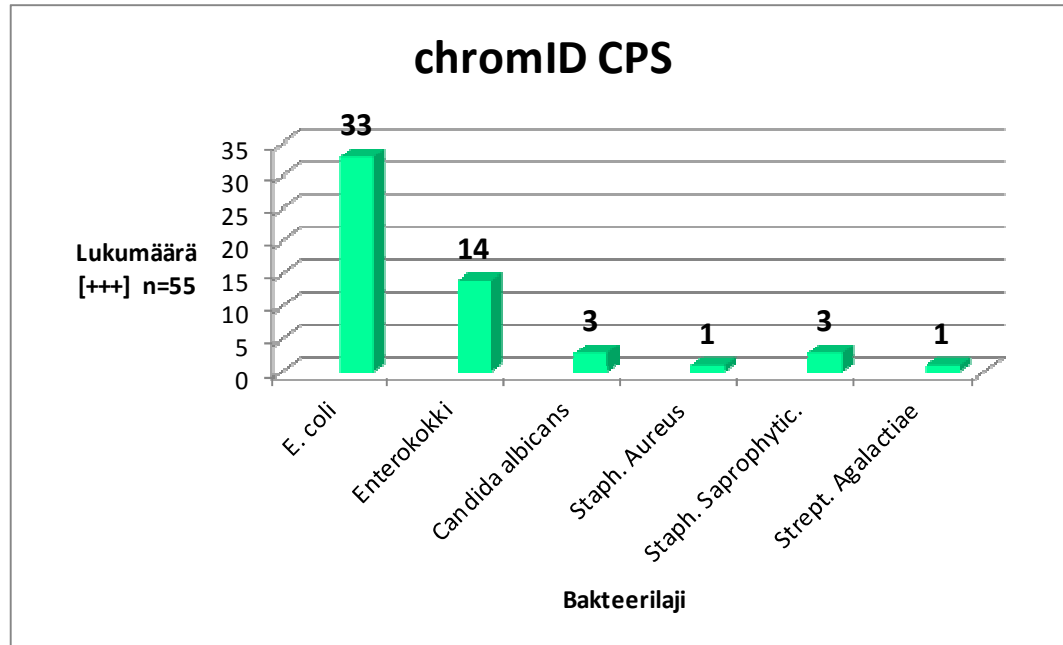
KUVIO 11. CHROMagar Orientation – maljoilla tyypillisen kolmen plussan arvon [+++] saaneet bakteerilajit (Kortelainen & Ylinen 2013)

Brilliance™ UTI – maljoilla tyypillisen kolmen plussan [+++] arvon sai 55 maljaa (kuvio 12.). Näistä 32 maljaa kasvoi *E. colia*, 16 enterokokkia, 4 Streptokokkia/Staphylokokkia, 2 *Staphylococcus saprophyticusta* ja 1 *Pseudomonas saprophyticusta*.



KUVIO 12. Brilliance UTI -maljoilla tyypillisen kolmen plussan arvon [+++] saaneet bakteerilajit (Kortelainen & Ylinen 2013)

ChromID™ CPS® -maljoista 55 sai kolme plussaa [+++] (kaavio 13.). Näistä 33 kasvoi *E. colia*, 14 enterokokkia, 3 *Candida albicansia*, 1 *Staphylococcus aureusta*, 3 *Staphylococcus saprophyticusta* ja 1 *Streptococcus agalactiae*.



KUVIO 13. ChromID CPS – maljoilla tyypillisen kolmen plussan arvon [+++] saaneet bakteerilajit (Kortelainen & Ylinen 2013)

11 TULOSTEN LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS

Tutkimusprosessissa luotettavuutta taattiin hyvällä suunnittelulla. Harjoittelimme viljelyn luotettavuutta ja toistettavuutta niin sanotun pilottivaiheen avulla. Tällä testivaiheella pyrimme selvittämään, olisiko viljelijän käsialalla merkitystä lopputulokseen. Yritimme huomioida pilottivaiheessa mahdollisia epäkohtia, joita olisi voinut kehittää ennen itse käytännön työn alkua. Testasimme muun muassa laatimaamme kaavaketta, johon kirjasimme huomioita ja tuloksia kasvustojen ja maljojen eroista. Havainnointikaavake todettiin tutkimukseen päteväksi.

Viljelimme molemmat suunnilleen saman verran näytteitä niin, että kumpikin viljeli yhden näytteen kerrallaan kolmelle erilaiselle maljalle. Suoritimme viljelyt K-SSHP:n virtsan bakteeriviljely –työohjeen mukaisesti. Viljelimme valmiiksi seulotut näytteet satunnaisessa järjestyksessä. Tutkimustulosten kannalta ei ollut merkittävää, missä järjestyksessä näytteet on viljelty tai kumpi on ne viljelty, sillä työelämässäkkin viljelyjä suorittavat eri henkilöt. Tutkimuksessa tulee huomioida kuitenkin se, että vaikka näytteet sekoitetaan aina hyvin ennen viljelyä, ei voida taata, että jokainen silmukallinen on täysin toistaan vastaava. Etenkin kun bakteerimäärä näytteessä on pieni, on sattuman kauppaa, kuinka bakteerit jakautuvat yhteen silmukallista näytettä.

Streptokokki- ja stafylokokki –lajien tunnistaminen kromogeenisilta maljoilta ei ole täysin luotettavaa, koska niiden erottaminen toisistaan silmämääräisesti on hankalaa. Tarkempien jatkotutkimusten avulla bakteerilajien tunnistaminen voitaisiin suorittaa loppuun saakka. Esimerkiksi stafylokokit ovat katalaasi-positiivisia. Tutkimuksessa meidän ei kuitenkaan ollut tarkoitus suorittaa jatkotunnistustestejä, vaan nimenomaan perustaa tulokset silmämääräiselle tarkastelulle.

Tulosten luotettavuutta paransi se, että omien tulosten tulkintojemme lisäksi sairaalamikrobiologi kävi läpi maljat jotka olimme viljelleet. Näin saimme toisen mielipiteen vahvistamaan tulosten luotettavuutta. Teimme muutaman korjauksen vastauksiimme hänen kommenttiansa myötä.

Luotettavuutta työhömmme saatiin keskittymällä myös näytteiden huolelliseen sekoittamiseen ennen viljelyiden suorittamista. Tällä pyrimme takaamaan sen, että bakteereita

tulisi silmukkaan. Tarkastimme myös ennen viljelyä maljalle, että silmukassa on neste-pinta molemmin puolin. Potilasnäytteet käsiteltiin anonymisti, poistamalla tai peittä-mällä henkilötietotarrat näyteputkista. Näin potilaan identiteettisuoja säilyi, joten heitä ei tarvinnut pyytää kirjallista lupaa virtsanäytteen käyttämisestä tutkimusaineistona. Tutkimuksessamme käyttämä näytemäärä (n) oli 106 näytettä. Näytemäärä oli riittävä. Tutkittava näytemateriaali vakioitiin rajaamalla otokseksi leukosyyttien ja bakteerien osalta positiivisiksi seulotut näytteet.

12 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia kromogeenisten maljojen differentiaaleja ominaisuuksia. Vertailimme CHROMagar™ Orientation- (nykyisin käytössä oleva), Brilliance™ UTI- ja chromID™ CPS®- maljoja keskenään. Tavoitteena oli löytää ominaisuuksiltaan sellainen malja, jolta voitaisiin suoraan bakteeripesäkkeiden väristä tunnistaa yleisimmät virtsatieinfektiota aiheuttavat bakteerilajit. Vertailimme myös olisiko eri maljojen välillä eroja kasvun määrän suhteen.

Mielestämme CHROMagar™ Orientation –maljalla bakteeripesäkkeet olivat selvimmin erottuvat sen muodostamien värireaktioiden perusteella. Kasvun määrien suhteen ei ollut havaittavissa tutkimuksemme kannalta merkittäviä eroja. Vaikka mikrobiologian laboratorio ei löytänyt käyttöönsä uutta parempaa maljaa, emme silti koe työmme menneen hukkaan. Säännöllisin väliajoin suoritettava vertailu on tärkeää, sillä vain sitä kautta saadaan arvokasta tietoa ja voidaan kehittää käytössä olevia menetelmiä. Tutkimuksen mukaan muutostarvetta virtsan kromogeeniselle maljalle ei ole.

Kirjallisuutta ja lähteitä työhömmme löytyi todella kattavasti ja monipuolisesti. Työssä käytimme monipuolisesti suomenkielisiä ja ulkomaalaisia lähteitä. Artikkeleita ja kirjallisuutta oli helposti löydettävissä. Internetlähteitä pyrimme käyttämään rajoitetusti. Käytimme työssämme myös itse laatimiamme kuvioita ja taulukoita, sekä itse otettua kuvamateriaalia. Lähteet ja lähdeviitteet on merkattu Tampereen ammattikorkeakoulun virallista raporttiohjetta noudattaen. Pyrimme käyttämään tuoreita lähteitä. Valtaosa lähteistämme oli alle kymmenen vuotta vanhoja.

Kehityimme kirjoitusprosessin aikana paljon niin kirjoittajina kuin tutkimusentekijöinä. Kehityimme tutkimustulosten tulkinnassa sekä analysoinnissa. Tekemämme kuviot, kuvat ja taulukot ovat mielestämme onnistuneita ja tukevat hyvin teoriaa. Opimme merkkamaan lähdeviitteet ja lähteet raporttiohjeen mukaisesti. Opimme maljoja vertailemme tunnistamaan perustasolla virtsatieinfektioita aiheuttavien bakteereiden pesäkkeet kromogeenisilta maljoilta. Tietotaitomme kehittyi tutkimusprosessin aikana.

Tutkimusprosessin teossa olimme tyytyväisiä tutkimusnäyttemäärään, joka ylittyikin muutamalla näytteellä tavoitemäärästä. Olimme tyytyväisiä mikrobiologian puolelta tulleeseen joustavuuteen muun muassa tutkimuksen suoritusaikojen suhteen. Positiivista

tutkimusprosessissa oli mahdollisuus edetä työssä omaan tahtiin. Jatkotutkimusaiheena voisi olla useamman maljan vertailu keskenään. Eri valmistajien maljoja voisi olla viisi tai kuusi. Jatkossa tutkimuksessa voisi käyttää lisäksi jatkotunnistustestejä ja herkkyysmäärityksiä varmistamaan bakteerilajien oikeellisuutta. Laimennossarjojen avulla voitaisiin tutkia maljojen sensitiivisyyttä (herkkyys). Voitaisiinko tulosten luotettavuutta lisätä käyttämällä viljelyautomaattia manuaalisen menetelmän sijaan? Automaatti hoitaa muun muassa näytteen sekoittamisen ja silmukkaviljelyn.

Yhteistyö laboratorion kanssa oli sujuvaa. Haluamme kiittää KESLABin mikrobiologian laboratorion henkilökuntaa sekä sairaalamikrobiologi Antti Nissistä hyvästä yhteistyöstä kanssamme. Yhteistyö opinnäytetyön tekijöiden kesken sekä ammattikorkeakoulun ja työelämän ohjaajien kanssa sujui hyvin.

LÄHTEET

Anttila, V.-J. & Suppola, J. 2003. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisiä kokkeja. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Biomerieux-usa. ChromID-CPS. Luettu 26.3.2012.

<http://www.biomerieux-usa.com/upload/ChromID-CPS-Microbial-Identification-1.pdf>

Behe, M.-J. 2006. Darwin's black box. The biochemical challenge to evolution. Free press. New York: Published Simon & Schuster.

Cappuccino, G. J. & Sherman, N. 2005. Techniques for Isolation of Pure Cultures. Microbiology: A Laboratory Manual. 9th Edition. Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings. San Francisco.

Chromagar. Clinical microbiology. Päivitetty 31.12.2010. Luettu 10.4.2012. <http://www.chromagar.com/products-chromagar-orientation-focus-on-urinary-tract-pathogens-25.html#.UVBMplfD7gw>

Eerola, E. 2003. Bakteereiden luokittelu. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Ek, H., Kanerva, M. & Laakkonen, T. 2007. Kromogeenisten maljojen käyttö virtsaviljelyssä. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Helsingin ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö. Luettu 12.3.2012. <http://www.doria.fi/bitstream/handle/10024/33704/stadia-1196853277-3.pdf?sequence=1>

Heikkilä, R., Hellstén, S., Koukila-Kähkölä, P., Kurkinen, T., Meurman, O., Nummelin, R., Pastila, S., Richardson, M. & Ylönen, H. 2005. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Hellstén, S. 2004. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Kouri, T., Anttinen, J., Icen, A., Ikäheimo, R., Irjala, K., Kontiainen, S., Koskimies, O., Lipponen, P., Penttilä, I., Siitonen, A. & Siukola, A. 1999. Näytteiden saaminen ja kuljetus. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. Erillisjulkaisu. Moodi 7.

Kouri, T. ym. 1999. Kemia ja morfologia. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. Erillisjulkaisu. Moodi 7.

Kouri, T. ym. 1999. Mikrobiologiset menetelmät. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. Erillisjulkaisu. Moodi 7.

Kouri, T. ym. 1999. Mikrobiologia. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. Erillisjulkaisu. Moodi 7.

Kuntaliitto. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. 2005. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Kärpänoja, P. 2007. Kromogeeniset maljat - Periaate ja tausta. Labquality-päivien esitelmäyhennelmät. Moodi 1.

Lyytikäinen, O. & Vuopio-Varkila, J. 2003. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Lähdemäki, S. & Lonka, S. 2011. Bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Tampereen ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö. Luettu 12.1.2013.

https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/39481/Lahdemaki_Sofia.pdf?sequence=2

Meurman, O. 2011. Kromogeeniset maljat primaariviljelyssä. Moodi 4.

Meurman, O. 2010. Gram-värjäykset. Luentolyhennelmät. Labquality-päivät. Moodi 1.

Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008. Virtsan bakteeriviljely (U-BactVi). Terveyskirjasto. © 2012 Kustannus Oy Duodecim. Duodecim 9.7.2008. Luettu 18.3.2012 http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03153

National Institute of Allergy and Infectious Diseases. 2012. Gram-negative bacteria. Luettu 12.4.2013. <http://www.niaid.nih.gov/topics/antimicrobialresistance/examples/gramnegative/Pages/default.aspx>

National Kidney and Urologic Diseases. 2012. Urinary tract infection in adults. Luettu 12.4.2013. <http://kidney.niddk.nih.gov/kudiseases/pubs/utiadult/>

Nissinen, A. 2011. Bakteeriviljely virtsasta. K-SSHP. Työohje.

Nissinen, A. 2012. Henkilökohtainen tiedonanto. KESLAB.

Peltola, J. 2010. Kromogeeniset virtsaviljelymaljat testauksessa keskus- ja yliopistosairaalassa. Labquality-päivät. Lapin keskussairaala. Luettu 8.3.2012. <http://www.labquality.fi/@Bin/2028909/Peltola+J++KROMOGEENISET+VIRTSAVILJELYMALJAT+TESTAUKSESSA.pdf>

Salkinoja-Salonen, M. 2002. Mikrobiologian perusteita. Mikrobiologian menetelmät. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Saukkonen, P. (toim.). Tutkielman teon tukisivut. Luettu 14.3.2013.
http://www.mv.helsinki.fi/home/psaukkon/tutkielma/Tutkimusasetelma%202.html#Vertaileva_tutkimus_

Siitonen, A. & Vaara, M. 2003. *Escherichia, Salmonella, Shigella* ja *Yersinia*. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Talja, M. 2009. Virtsatieinfektiot. Kustannus Oy Duodecim. Laadittu 19.1.2009. Luettu 28.3.2013. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=seh00099

Thermo Scientific. 2013. Oxoid Microbiology Products. Luettu 13.12.2012.
http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0949&c=UK&lang=EN

Tissari, P. & Anttila, V-J. 2003. Muu Enterobacteriaceae-heimo. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Tissari, P. & Anttila, V-J. 2003. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset suvut ja akinetobakteerit. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. &

Tuokko, S., Rautajoki, A., Lehto, L. 2008. Virtsanäytteet. Kliiniset laboratorionäytteet –opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

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

Valtonen, V. toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Vuento, R. & Lappalainen, M. 2007. Therapia Fennica. Infektiotaudit. Mikrobiologinen diagnostiikka. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Välitalo, M-E. 2011. Vertailututkimus laajakirjoista beetalaktamaasia tuottavien bakteerien kasvatusmaljoista. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Oulun seudun ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö. Luettu 12.3.2012
https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/35450/Valitalo_Mari-Ella.pdf?sequenc

Wuorela, M., Kouri, T., Laato, M., Lipponen, P., Sammalkorpi, K., Uhari, M., Uusitalo, L. & Vuento, R. 2013. Virtsatieinfektiot. Käypä hoito -suositus. Suomalainen Lääkäri-seura Duodecim. Laadittu 7.9.2011. Luettu 1.4.2012.
<http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suositukset/naytaartikkeli/.../hoi10050>

