

Sanna-Kaisa Rantanen, Janette Tuominen

# Etanolin ja klooriheksidiinin vaikutukset ihon normaaliflooraan

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko AMK

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

15.4.2013

Tekijät Otsikko  Sivumäärä Aika	Sanna-Kaisa Rantanen, Janette Tuominen Etanolin ja klooriheksidiinin vaikutukset ihon normaaliflooraan  29 sivua + 2 liitettä 15.4.2013
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	
Ohjaajat	Laboratoriohoitaja, kliininen asiantuntija Risto Hilla Lehtori Tuula Kurkinen
<p>HUSLABin bakteriologian laboratorion yksi tärkeimmistä diagnostiikkamenetelmistä on veren bakteeriviljely. Veriviljelyn positiivisina kasvavat näytteet menevät jatkotutkimuksiin, joiden avulla mikrobien lajitunnistus on saavutettavissa. Osa jatkotutkimuksiin menevistä näytteistä osoittautuvat niin sanotuiksi vääriksi positiivisiksi tuloksiksi johtuen näytteen kontaminoitumisesta. Väärät positiiviset tulokset ovat maailmanlaajuisesti yleinen ongelma veriviljelydiagnostiikassa.</p> <p>Työn tarkoituksena oli tehdä vertailututkimus kahden yleisesti käytössä olevan antiseptin, etanolin ja klooriheksidiinin, vaikutuksista ihon normaaliflooraan ja selvittää onko niiden välillä merkittäviä eroja. Tavoitteena oli selvittää olisiko etanoli yksinään riittävä veriviljelynäytteenoton antiseptiksi ja voitaisiinko harkita klooriheksidiinista luopumista. Työ suoritettiin HUSLABin kliinisen mikrobiologian laboratorion bakteriologian osastolla.</p> <p>Tutkimuksemme aineisto koostui eSwab®-kuljetusputkiin otetuista ihon bakteerinäytteistä, joita yhteensä kertyi 200 kappaletta. Otoksemme koostui 50 tutkittavasta, jotka olivat pääosin nuoria aikuisia. Jokaiselta tutkittavalta otimme neljä näytettä: nollanäytteet sekä näytteet etanoli- ja klooriheksidiinipuhdistuksien jälkeen.</p> <p>Tuloksissa tarkastelimme etanolin ja klooriheksidiinin normaaliflooran mikrobeja tuhoavia vaikutuksia vertailemalla nollanäytteiden ja puhdistuksien jälkeen otettujen näytteiden kasvustoja. Lisäksi vertailimme onko toisella antiseptillä saatu mikrobikasvustoa merkittävästi pienemmäksi tai esiintyikö niiden joukossa lajeja, joihin vain toinen antisepti oli tehonnut. Selvitimme myös yleisesti tutkittavien normaaliflooran koostumusta.</p> <p>Saatujen tulosten perusteella etanoli ja klooriheksidiini vähensivät normaaliflooraa miltei yhtä paljon eikä klooriheksidiini osoittanut ylivertaisuutta etanoliin nähden. Kuitenkin lisätutkimuksia etanolin soveltuvuudesta veriviljelynäytteenottoon olisi suositeltavaa tehdä isommalla otoksella ja laajemmalla ikäjakaumalla, jotta voitaisiin varmasti sanoa sen toimivan tarkoituksessa yhtä hyvin kuin klooriheksidiini. Lisäksi etanolin tehoa olisi hyvä testata oikeiden veriviljelynäytteiden yhteydessä.</p>	
Avainsanat	vertailututkimus, etanoli, klooriheksidiini, ihon normaalifloora, veriviljelynäytteenotto

Authors Title	Sanna-Kaisa Rantanen, Janette Tuominen The Effects of Ethanol and Chlorhexidine on Human Skin Microbiome
Number of Pages Date	29 pages + 2 appendices 15 April 2013
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Risto Hilla, Laboratorian, Clinical expert Tuula Kurkinen, Principal Lecturer
<p>Blood culture is one of the most important diagnostic methods at the Clinical Bacteriology Laboratory of the HUSLAB, Helsinki, Finland. From the positive growing blood culture samples, further research is needed to achieve the microbial identification. Some of the samples occur to be so called false-positive results due to contamination. Falsely positive results are a common problem in the blood culture diagnostic around the world.</p> <p>The purpose of this study was to make a comparative study of the effects of two commonly used antiseptics, ethanol and chlorhexidine, on human skin microbiome and observe if there were significant differences. The goal was to study if ethanol alone was sufficient antiseptic for blood culture sampling and if replacing chlorhexidine should be considered. The study was performed in the Clinical Microbiology Laboratory of the HUSLAB, Helsinki, Finland.</p> <p>The samples of our study were bacterial samples of the skin which were collected by using the eSwab® transport system. Overall 200 samples were collected. The examinee group consisted of 50 young adults from whom we collected four samples each: samples before and after the disinfections of ethanol and chlorhexidine.</p> <p>We examined the antimicrobial effects of ethanol and chlorhexidine by comparing the growth of the samples collected before and after the disinfection. We also compared if the microbial growth was significantly lower with either one of the antiseptics or if there was microbes which only one antiseptic had effect on. In addition, we observed the skin microbiome consistency of the examinee group.</p> <p>The results showed no significant differences in the antimicrobial effectiveness of these two antiseptics against human skin microbiome. However, further research using ethanol as skin antiseptic during blood culture sampling would be recommended with a larger examinee group consisting people of all ages.</p>	
Keywords	comparative study, ethanol, chlorhexidine, skin microbiome, blood culture collection

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Veriviljely	2
3	Antiseptit	4
3.1	Etanoli	4
3.2	Klooriheksidiini	5
4	Ihon normaalifloora	5
5	MALDI-TOF	7
6	Aikaisemmat tutkimukset aiheesta	9
7	Tutkimusasetelma	10
8	Tutkimustyö	11
8.1	Esitutkimus	11
8.2	Näytteenotto	11
8.3	Analysointi	13
8.4	Tulokset	14
9	Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset	20
10	Työn luotettavuuden arviointi	21
11	Pohdinta	24
	Lähteet	27
	Liitteet	
	Liite 1. Tutkittavien esitiedot	
	Liite 2. Näytteissä esiintyneet bakteerit	

## 1 Johdanto

Veriviljely on yksi tärkeimmistä vakavien infektioiden laboratoriodiagnostiikan menetelmistä ja sen tulos on usein tärkeässä osassa potilaan hoidossa ja jatkotoimenpiteiden suorittamisessa (Malani ym. 2007: 894). Menetelmällä pystytään rikastamaan yksikin bakteeri, minkä vuoksi on erityisen tärkeää, ettei näytteeseen pääse mikrobeja veren ulkopuolelta esimerkiksi näytteenoton yhteydessä. (Forbes – Sahm – Weissfeld 1998: 290–291.) Kaikki mikrobit, jotka ovat peräisin muualta kuin verestä, luokitellaan kontaminanteiksi (Caldeira – David – Sampaio 2011: 223). Kontaminaatiot puolestaan aiheuttavat niin sanottuja veriviljelyn vääriä positiivisia tuloksia, joista aiheutuu paljon turhaa työtä ja lisäkustannuksia.

Kontaminaatiota aiheuttavat mikrobit voivat olla peräisin huoneilmasta, hoitajasta tai kontaminoituneista välineistä (Caldeira ym. 2011: 223). Suurin osa kontaminanteiksi osoittautuvista bakteereista on kuitenkin lähtöisin potilaan ihon normaalifloorasta. Menetelmän herkkyuden vuoksi pienikin määrä iholta peräisin olevia bakteereita kasvaa veriviljelypulloissa, mistä johtuen huolellinen näytteenottoalueen ihon desinfiointi on olennainen osa näytteen kontaminaation riskin minimoinnissa (Anttila ym. 2010: 59). Vielä ei kuitenkaan ole löydetty optimaalisinta ihon desinfiointi menetelmää (Malani ym. 2007: 894).

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli tehdä vertailututkimus kahden yleisesti käytössä olevan antiseptin vaikutuksista ihon normaaliflooraan sekä selvittää niiden soveltuvuutta veriviljelynäytteenottoon. Tutkimuksessamme käytetyt antiseptit olivat 80-prosenttinen etanoli ja Klorhexol® -niminen klooriheksidiinivalmiste. Tarkoituksena oli selvittää riittäisikö etanoli yksinään veriviljelynäytteenoton antiseptiksi ja voitaisiinko harkita klooriheksidiinistä luopumista. Työn suoritimme HUSLABin kliinisen mikrobiologian laboratorion bakteriologian osastolla keväällä 2013. Tutkimuksessa käytetyt antiseptit on valittu HUSLABin bakteriologian laboratorion työelämän edustajien ehdotuksena.

## 2 Veriviljely

Infektioiden yhteydessä on usein laaja kirjo mahdollisia infektion aiheuttajia. Tämän vuoksi minkään spesifisen, yksittäisiä bakteereja tunnistavan tutkimusmenetelmän, kuten nukleiinihappo- tai antigeeniosoitustestin suorittaminen, ei ole järkevää, vaan on hyvä käyttää menetelmiä, joissa mahdollisimman monet mikrobikannat tulevat ilmi. (Anttila ym. 2010: 59.) Bakteriviljely muodostaakin bakteriologisen diagnostiikan perustan ja on yksi mikrobiologian laboratorion perusmenetelmistä. Näytteiden värjäysten ja mikroskopoinnin myötä voidaan saada nopea arvio näytteen sisältämistä bakteereista, joiden ominaisuuksia voidaan tutkia tarkemmin erilaisia tunnistustestejä käyttäen. Lisäksi bakteerien mikrobilääkeherkkyudet on määritettävissä. (Carlson – Koskela 2011: 37–40.)

Veriviljelyllä tarkoitetaan verestä tehtävää bakteriviljelyä ja terveellä ihmisellä sen tuloksen tulisi olla negatiivinen (Blood Culture: The Test; HUSLAB-tutkimusohjekirja). Sillä etsitään mahdollisia taudinaiheuttajia, jotka ovat päässeet verenkiertoon ja se on yksi tärkeimpiä menetelmiä vakavien infektioiden diagnostiikassa (Blood Culture: The Test; Malani ym. 2007: 894). Veriviljely on niin kutsuttu rikastus- eli monistusviljely, joka on kehitetty niin tarkaksi, että se pystyy rikastamaan yhdenkin bakteerin viljelyssä havaittavaksi kasvustoksi (Forbes ym. 1998: 290–291). Tämän vuoksi kontaminanttien välttäminen näytteenoton yhteydessä on erityisen tärkeää. Näytteet otetaan aseptisesti suoraan veriviljelytutkimukseen tarkoitettuihin aerobi- ja anaerobipulloihin, jotka sisältävät nestemäistä erikoiselatusainetta sekä veren hyytymistä estävää antikoagulanttia (Mahon – Manuselis 2000: 575; Carlson ym. 2011: 41). Pullojen sisältämät elatusaineet edesauttavat näytteiden mikrobiologista kasvua ja nopeuttavat positiivisten tulosten havainnointia (Riedel – Carroll 2010: 304). Näytteitä kasvatetaan 1–5 vuorokautta niille tarkoitetuissa erityisissä automaateissa, jotka pystyvät havaitsemaan mahdolliset näytteiden sisältämät bakteerit mittaamalla jatkuvasti niiden hapenkulutusta tai kasvun aiheuttamaa hiilidioksidituotantoa (Carlson ym. 2011: 41). Veriviljelytutkimuksen indikaatioita ovat meningiitin, bakteremian sekä sepsiksen epäilyt, minkä vuoksi mikrobien määrittäminen verestä onkin yksi tärkeimmistä mikrobiologisen laboratorion tehtävistä (HUSLAB-tutkimusohjekirja; Riedel ym. 2010: 301).

Yksi veriviljelyiden suurimmista ongelmista on kontaminaatioiden aiheuttamat positiiviset tulokset, joita tässä työssä kutsutaan vääriksi positiivisiksi tuloksiksi. Maailmalla

tehtyjen tutkimusten mukaan jopa 35–50 % kaikista positiivisista veriviljelytuloksista on kontaminaatioiden aiheuttamia (Kim ym. 2011: 145). Kontaminanteiksi luokitellaan kaikki ne mikrobit, jotka ovat päässeet näytteeseen muualta kuin verestä kuten esimerkiksi huoneilmasta tai potilaan ihon normaalifloorasta (Caldeira ym. 2011: 223). Jokaisella positiivisella veriviljelytuloksella voi olla erittäin tärkeä rooli potilaan hoidossa, jonka vuoksi tulokset on saatava mahdollisimman nopeasti (Riedel ym. 2010: 306). Kuitenkin veriviljelyiden positiivisten tulosten aiheutuminen kontaminanteista ja oikeista patogeeneistä on haastava selvittää (Kim – Rosenberg 2011: 202).

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ja muut ihon normaaliflooran bakteerit, kuten mikrokokit, differoidit sekä bacillus- ja propionibacterium-lajit, ovat yleisimpiä veriviljelyn kontaminanteja, mutta ne voivat olla myös merkittäviä taudinaiheuttajia (Geffer – Farr 2005: 507–509; Veriviljelypositiiviset sairaalainfektiot). Tämä hankaloittaa oikeiden patogeenien erottamista kontaminanteista ja voi viivästyttää vastauksia. Esimerkiksi jos sepsiksen diagnostiikassa vain yhdessä pullossa esiintyy positiivinen löydös, on hyvin vaikea sanoa varmasti, onko kyseessä kontaminaatio vai todellinen patogeeni. Diagnoosia hankaloittaa etenkin jos eristetty bakteeri on bakteeri, joka on osa ihon normaalimikrobistoa. (Rintala – Valtonen 2011: 596–597.) Lisäksi väärät positiiviset tulokset voivat johtaa potilaan pidennettyyn sairaalassaoloaikaan tai aiheettomaan antibioottialitukseen aiheuttaen paljon turhaa työtä sekä merkittäviä lisäkustannuksia: laboratorikustannusten on arvioitu nousevan noin 20 % väärin positiivisten veriviljelynäytteiden myötä (Malani ym. 2007: 892; Kim – Rosenberg 2011: 202).

Koska suurin osa veriviljelynäytteiden kontaminaatiota aiheuttavista mikrobeista on peräisin potilaan ihon normaalifloorasta, on huolellinen ihon desinfiointi yksi keskeisimmistä asioista kontaminaatioiden välttämiseksi. (Kim – Rosenberg 2011: 202; Ramirez-Arcos – Goldman 2010: 59). Huolimattomalla puhdistuksella iholta siirtyy potilaan normaalia mikrobistoa näytteeseen, joka on yleisin väärä positiivisia tuloksia aiheuttava tekijä (Veriviljelypositiiviset sairaalainfektiot). Huolellisen ihon puhdistuksen myötä ei kontaminaatiota voida kuitenkaan kokonaan estää, sillä noin 20 % ihon mikrobeista sijaitsee ihon syvemmissä kerroksissa, joihin antiseptit eivät voi vaikuttaa (Calfree – Farr 2002: 1660).

### 3 Antiseptit

Antiseptit ovat aineita, jotka tuhoavat mikrobeja tai pysäyttävät mikrobien kasvun. Niiden vaikutus kohdistuu paikallisesti elävään kudokseen, eli ihoon tai limakalvoihin. Antisepteilla pitäisi olla laaja antimikrobinen vaikutus ja nopea teho eivätkä ne saisi aiheuttaa allergisoitumista. Antisepteja on monenlaisia ja aineryhmät ovat hyvinkin monimuotoisia. Tästä johtuen niiden vaikutusmekanismien kirjo on laaja. Yleisin vaikutustapa antisepteilla on valkuaisaineiden jonkinasteinen denaturaatio, jolloin niiden entsyymijärjestelmät kärsivät tai mikrobien seinämän läpäisevyys kasvaa. (Raasmaja – Mänistö 2007: 913–915.) Käytettävän antiseptin tyyppin lisäksi ihon desinfioinnin tehokkuuteen vaikuttavat sen konsentraatio sekä antiseptin ja ihon välinen kontaktiaika (haude) (Ramirez-Arcos ym. 2010: 59).

#### 3.1 Etanoli

Etanoli kuuluu alkoholien ryhmään, joita käytetään laajalti desinfektio-, sterilointi- ja säilöntäaineina välineille ja pinnoille. Se on yksi yleisimmin käytössä olevista antisepteista ja sitä käytetään usein puhdistusaineena injektoiden yhteydessä. Tehokkaimmillaan se on 60–70 -prosenttisena liuksena, jolloin se tuhoaa useimmat bakteerit ja virukset. Fungisidina etanoli on kuitenkin epäluotettava eikä se kykene tuhoamaan sienien itiöitä eikä bakteerien endosporeja eli bakteeri-itiöitä. (Raasmaja ym. 2007: 917; Strelkauskas – Moszyk-Strelkauskas 2010: 423; Franklin – Snow 2005: 49.) Jotta alkoholin antiseptinen vaikutus olisi optimaalinen, tulee sen seassa olla hieman vettä. Täten se pystyy tehokkaasti läpäisemään ja denaturoimaan proteiineja. Näin ollen 70-prosenttinen alkoholi on mikrobeja vastaan tehokkaampi kuin 99-prosenttinen. (Strelkauskas ym. 2010: 419) Tutkimuksessamme käytettiin 80-prosenttista etanolia, koska se on yleisesti käytössä veriviljelynäytteenoton yhteydessä.

Alkoholit denaturoivat proteiineja sekä häiritsevät solun plasmamembraanin toimintaa. Lyhytketjuisten alkoholien, kuten etanolin vaikutus perustuu todennäköisesti hydroksyyli-ryhmän polaariseen toimintaan, joka pystyy muodostamaan vetysidoksen solun plasmamembraanin rasvahappojen esteriryhmän kanssa. (Franklin ym. 2005: 49.) Etanoli haihtuu helposti, joten se häviää iholta nopeasti. Nopeasta haihtumisesta voi kuitenkin olla myös haittaa: neste saattaa haihtua ennen kuin se on ehtinyt tappaa kaikki puhdistusalueen mikrobit. (Raasmaja ym. 2007: 917; Strelkauskas ym. 2010: 421–423.)



### 3.2 Klooriheksidiini

Klooriheksidiini on tehokas biguanidirakenteinen antisepti ja se kuuluu kationisten antiseptien ryhmään. Sen vaikutus kohdistuu sekä grampositiivisiin että useisiin gramnegatiivisiin bakteereihin, mutta viruksiin klooriheksidiini ei tehoa. (Raasmaja ym. 2007: 920; Franklin ym. 2005: 49–50.) Klooriheksidiinin teho perustuu epäspesifiseen reagointiin happamien fosfolipidien kanssa bakteerin solukalvolla, jonka myötä bakteerin solukalvon läpäisevyys muuttuu. Erityisesti *Streptococcus mutans* -ryhmän bakteerit ovat herkkiä klooriheksidiinille. (Meurman 2011: 374.) Tutkimuksessamme käytettiin Klorhexol® -nimistä klooriheksidiini valmistetta, jonka vaikuttavana aineena toimii klooriheksidiinidiglukonaatti (5 mg/ml). Apuaineina kyseisessä valmisteessa toimivat 96-prosenttinen etanoli, isopropanoli, tertiaarinen butyylialkoholi ja puhdistettu vesi. (Klorhexol® 5mg/ml, väritön liuos.)

Nykyisten tutkimustulosten mukaan klooriheksidiinin on havaittu aiheuttavan vakavia allergisia reaktioita kirurgisten toimenpiteiden yhteydessä, mutta ihoa se allergisoi vain vähän (Saksala – Somerharju 2010: 231). Lisäksi klooriheksidiinin tehokkuutta ja etuja antiseptina on jonkin verran selvitetty. Se vähentää tehokkaasti ihon normaaliflooraa ja tämä vähentävä vaikutus kestää jopa tunteja. Lisäksi klooriheksidiinin kuivumisaika on lyhyt, mikä nopeuttaa näytteenottoa. Kuitenkin varsinaisia tutkimuksia sen soveltuvuudesta veriviljelynäytteenottoon on tehty vain muutamia. (Marlowe ym. 2010: 171–176.)

## 4 Ihon normaalifloora

Iho on elimistömme suurin pintakudos ja sen ensisijainen tehtävä on toimia fyysisenä esteenä suojaen ihmistä vieraiden mikrobien potentiaaliselta hyökkäykseltä. Iho on jatkuvasti yhteydessä ympäristöön, minkä vuoksi sitä kolonisoivat monipuolinen joukko mikro-organismeja: on arvioitu, että keskimäärin ihon pinnalla elää noin  $10^{12}$  mikrobia. Tätä kolonisoivaa mikrobistoa kutsutaan ihon normaaliflooraksi, joka koostuu useista bakteereista ja joistakin sienistä. Useimmat näistä mikro-organismeista ovat harmittomia ja joissakin tilanteissa voivat tarjota isännälle tärkeitä toimintoja kuten esimerkiksi tuottaa vitamiineja. (Grice – Serge 2011: 244; Willey – Sherwood – Woolverton 2008: 735; Strelkauskas ym. 2010: 8.)

Normaaliflooran bakteerit voivat olla vakituisia, tilapäisiä ja jopa patogeenisia organismeja. Kaikki edellä mainitut ovat kuitenkin harmittomia, elleivät ne löydä tietä ihon lävitse. (Strelkauskas ym. 2010: 118.) Tilapäiset mikrobit esiintyvät osana normaalimikrobistoa lyhyen aikaa. Ne eivät vakiinnu eivätkä kykene lisääntymään. (Willey ym. 2010. 735.) Kuitenkin tilapäisten ja vakituisten mikrobien erottaminen toisistaan on vaikeaa ihon ollessa jatkuvassa yhteydessä ympäristön kanssa (Grice ym. 2011: 247). On tärkeää muistaa, että monet normaalisti harmittomat ihon mikrobit ovat opportunisteja patogeeneja. Ne ovat niiden normaaleilla alueilla harmittomia mutta päästessään muualle elimistöön, missä niitä ei normaalisti esiinny, voivat ne aiheuttaa infektioita. (Strelkauskas ym. 2010: 119.)

Suurin osa ihon mikrobeista elää isäntänsä kanssa kommensaaliosuudessa: toinen osapuoli hyötyy, mutta toiseen suhde ei vaikuta mitenkään. Kommensaaleja ihon mikrobeja ovat muun muassa *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, corynebakteerit ja candidalajit. Joidenkin mikrobien on todettu elävän isäntänsä kanssa mutualistisessa suhteessa eli suhteessa, jossa molemmat osapuolet hyötyvät. Ravintoaineiden ja asuinpaikan vastineeksi jotkin mikrobit tarjoavat isännälleen esimerkiksi K- ja B-vitamiineja. (Strelkauskas ym. 2010: 118–119.) Lisäksi normaaliflooran mikrobit suojelevat elimistöä patogeenisempien ja haitallisten mikrobin invaasiolta (Grice ym. 2011: 244). Yksi mekanismi on mikrobinen antagonismi, jolla tarkoitetaan mikrobin reviirin suojelemista ulkopuolisilta. Koska normaaliflooran mikrobit ovat isännässä hyvin vakiintuneita, on tämä erittäin helppoa: mikrobit käyttävät kaiken saatavilla olevan ravinnon ja hapen, jolloin niitä ei jää patogeeneille. (Strelkauskas ym. 2010: 119.)

Historiallisesti ensisijaisina ihoa kolonisoivina bakteereina on pidetty *Staphylococcus epidermidis* ja muita koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja. Muita mikrobeja, joita pidetään yleisesti ihon normaaleina mikrobeina, ovat aktinobakteerit *Corynebacterium*, *Propionibacterium* ja *Brevibacterium* sekä mikrokokkilajit. Lisäksi normaalifloorasta voi löytyä joitakin streptokokkilajeja ja koagulaasipositiivisia stafylokokkeja kuten *Staphylococcus aureus*. Myös muita mikrobeja kuin bakteereita on eristetty iholta. Esimerkiksi yleisin iholla esiintyvä sienilaji on *Malassezia spp.*, jonka on todettu kattavan 53–80 % kaikista ihon sienikannoista. (Grice ym. 2011: 247–248; Willey ym. 2008: 736.)

Ihon anatominen ja fysiologinen rakenne vaihtelee kehon alueittain, minkä vuoksi sen normaaliflooran koostumuskin vaihtelee. Useimmat ihon bakteerit löytyvät pinnallisista

solukoista, kolonisoimassa kuolleita soluja tai läheltä tali- ja hikirauhasia. Ihon rauhaset tarjoavat mikrobeille vettä, aminohappoja, ureaa, elektrolyyttejä sekä tiettyjä rasvahappoja, jotka toimivat ravintoaineina erityisesti *Staphylococcus epidermidikselle* ja aerobisille corynebakteereille. Kaikista yleisin bakteeri talirauhasissa on kuitenkin grampositiivinen, anaerobinen sauvabakteeri *Propionibacterium acnes*, joka on usein harmiton, mutta liittyy ihotautiin nimeltä akne. (Willey ym. 2008: 735–737.) *P. acnesin* on todettu vapauttavan iholle rasvahappoja, jotka ovat osallisena ihon pinnan hapanta pH:ta (~5). Kyseinen pH estää useiden yleisten patogeenien, kuten *S. aureuksen* ja *Streptococcus pyogenesin* kasvua. Corynebakteerit ja koagulaasinegatiiviset stafylokokit puolestaan suosivat kyseistä happamuutta. (Grice ym. 2011: 245.)

Ihon normaalimikrobisto voi sisältää sekä aerobisia että anaerobisia mikrobeja. Monet niistä ovat kuitenkin fakultatiiveja anaerobeja, eli niiden metabolia voi toimia aerobisesti tai anaerobisesti. Ne kasvavat hyvin hapellisissa olosuhteissa, mutta kun happea ei ole saatavilla, voivat ne yhä kasvaa, mutta kasvu on hitaampaa. (Strelkauskas ym. 2010: 35.)

Tutkimukset ovat osoittaneet monen eri tekijän vaikuttavan yksilön normaaliflooran koostumukseen. Näitä niin sanottuja isännästä johtuvia tekijöitä ovat ikä, sukupuoli sekä monet ympäristötekijät. Muun muassa hiki-, tali- ja hormonituotanto ovat osana sukupuolten välisten mikrobistojen eroavaisuuksien määrittämistä. Lisäksi monet ympäristötekijät kuten ammatti, vaatetus, kosmetiikka, hygieniatuotteet sekä antibioottien käyttö voivat muokata ihon normaaliflooraa. (Grice ym. 245–246.)

## 5 MALDI-TOF

Tutkimuksemme löydökset tunnistettiin MALDI-TOF -menetelmää (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometer) hyödyntäen Vitek® MS -analysointilaitteella (kuvio 1). Kyseinen laite on mikrobien, kuten bakteerien ja sienten, nopeaan tunnistukseen tarkoitettu massaspektrometri. Se tutkii proteiinien rakenteita suoraan tunnistettavasta mikrobista ja pystyy havaitsemaan alhaisen molekyyllisen painon omaavia peptidejä tarvittavalla herkkyydellä ja tarkkuudella. Teknologian avulla saatuja proteiinispektrejä verrataan Vitek® MS:n tietokantaan, jonka myötä tarkka mikrobiin tunnistus on saavutettavissa. Kyseinen tietokanta koostuu yli 25 000 kliinisesti merkittävän mikro-organismien tunnetusta spektristä. (Vitek® MS: Automated microbial identi-

fication within minutes; Vitek® MS: What is mass spectrometry & MALDI-TOF; Fan ym. 2012.)

Mikrobien tunnistus MALDI-TOF -menetelmää hyödyntäen on nopeaa ja helppoa. Mikrobiviljelmästä otetaan pieni määrä näytettä menetelmää varten kehitetylle näytelevylle (kuvio 2) ja levitetään ohueksi kerrokseksi yhdelle spotille. Näytteen päälle lisätään välittömästi 1µl matriksia, annetaan kuivua ja laitetaan näytelevy Vitek® MS-laitteeseen. Kerrallaan laite pystyy käsittelemään korkeintaan neljä näytelevyä, joista jokaisella on paikkoja 48 näytteelle. Näin ollen yhden ajon aikana voidaan tunnistaa jopa 192 näytettä. Yhden mikrobien tunnistustulos saadaan minuuttien sisällä. (Vitek® MS: Automated microbial identification within minutes.)



Kuvio 1. VITEK® MS



Kuvio 2. Näytelevy

Tunnistuksen aikana näytteeseen kohdistuu useita lasersäteiden osumia. Näytteen päälle lisätty matriksi absorboi lasersäteitä ja höyrystyy yhdessä näytteen kanssa aiheuttaen ionisaatiota. Sähkökentät ohjaavat varautuneet ionit TOF-spektrometriin, niiden kokonsa määräämällä vauhdilla ja jokaisen ionin määrä mitataan. Lopputuloksena saadaan proteiinispektri, joka vastaa näytteen molekyyleistä irronneita fragmentteja. Mikrobi saadaan tunnistettua, jos sitä vastaava spektri löytyy Vitek® MS:n tietokannasta. (Vitek® MS: What is mass spectrometry & MALDI-TOF.)

## 6 Aikaisemmat tutkimukset aiheesta

Aikaisempia tutkimuksia klooriheksidiinin ja etanolin antiseptisten tehokkuuksien vaikutuksista veriviljelynäytteiden kontaminaatioiden määrään ei ole Suomessa tehty. Ulkomailla samankaltaisia tutkimuksia on tehty muutamia. Tutkimusten tavoitteena on ollut löytää veriviljelynäytteenottoon soveltuvin antisepti ja täten vähentää väärin positiivisten tulosten määrää mahdollisimman pieneksi. Vaikka erilaisia tutkimuksia on vuosien mittaan tehty, ei optimaalisinta antiseptistä menetelmää ole vielä löydetty (Malani ym. 2007: 892–895).

Useat tutkimukset ovat osoittaneet klooriheksidiinin tuottavan vähemmän kontaminaatiota kuin monet muut käytössä olevat antiseptit. 1990-luvun loppupuolella Yhdysvalloissa on tehty tutkimus, jossa verrattiin klooriheksidiinin sekä povidoni-jodidin antiseptisten ominaisuuksien vaikutuksia veriviljelyn kontaminaatioiden määrään: "*Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture*". Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, onko klooriheksidiini povidoni-jodidia tehokkaampi antisepti veriviljelynäytteenoton suorittamiseen ja sen mittana käytettiin tutkittavien veriviljelyiden kontaminaatioiden määrää. Lopputuloksena klooriheksidiinin todettiin vähentävän kontaminaatioiden määrää enemmän kuin povidoni-jodidin: povidoni-jodidia käytettäessä kaikista näytteistä kontaminoituneita oli 3,3 % ja klooriheksidiiniä käytettäessä 1,4 %. Otos koostui 403 potilaasta ja veriviljelynäytteitä tutkittiin yhteensä 2041. (Mimoz ym. 1999: 834–837.)

Uudempi vertailututkimus klooriheksidiinin ja povidoni-jodidin vaikutuksista on tehty Philadelphiassa vuosina 2004–2008: "*Blood culture contamination rates after skin antisepsis with chlorhexidine gluconate versus povidone-iodine in a pediatric emergency department*". Tutkimuksessa testattiin kyseisten antiseptien soveltuvuutta otettaessa veriviljelynäytteitä pieniltä lapsilta (2–36 kk). Lopputuloksena päädyttiin samaan kuin kymmenen vuotta aikaisemmin aikuisille suoritetussa tutkimuksessa: kontaminanttien määrä klooriheksidiiniä käytettäessä oli merkittävästi pienempi. Tutkimuksen mukaan siirryttäessä povidoni-jodidin käytöstä klooriheksidiiniin, alentuisi kontaminoituneiden näytteiden määrä jopa 30 %. (Marlowe ym. 2010: 171–176.)

Lisäksi tutkimukset ovat osoittaneet kontaminaatioiden määrän vähentymistä käytettäessä alkoholia sisältäviä antiseptejä. 2000-luvun alussa Yhdysvalloissa Calfee ja Farr suorittivat tutkimuksen, jossa he vertasivat neljän eri antiseptin vaikutuksia veriviljely-

den kontaminaatioiden määrään: *"Comparison of Four Antiseptic Preparations for Skin in the Prevention of Contamination of Percutaneously Drawn Blood Cultures: a Randomized Trial"*. Tutkimuksessa käytetyt antiseptit olivat jodiuute, 10 % povidoni-jodidi, 70 % isopropyylialkoholi sekä povidoni-jodidi yhdistettynä 70 % etanoliin. Lopputuloksena ei havaittu tilastollisesti merkittäviä ryhmien välisiä eroja, mutta tulokset osoittivat alkoholia sisältävien antiseptien tuottavan alhaisimmat kontaminaatiotulokset. (Calfee ym. 2002: 1660–1665.)

Caldeira, David ja Sampaio ovat aikaisempia tutkimuksia tarkastellessaan tulleet siihen johtopäätökseen, että alkoholilla saattaa olla tärkeä rooli kontaminoituneiden veriviljelyiden määrän vähentämisessä. Heidän mielestään olisikin hyvä verrata alkoholin ja alkoholi-klooriheksidiinin vaikutuksia keskenään ja selvittää olisiko alkoholi yksinään riittävä antisepti vai auttaako klooriheksidiinin lisääminen tuottamaan alhaisempia kontaminanttituloksia. (Caldeira ym. 2011: 223–232.)

## 7 Tutkimusasetelma

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia, onko etanolin ja klooriheksidiinin ihon normaaliflooraa vähentävissä vaikutuksissa merkittäviä eroja. Tavoitteena oli selvittää olisiko etanoli yksinään riittävä antisepti vähentämään ihon normaalimikrobistoa ja voitaisiinko harkita klooriheksidiinista luopumista. Testattavina antisepteina toimivat 80-prosenttinen etanoli ja Klorhexol® -niminen klooriheksidiinivalmiste. Tutkimuksessamme testasimme näiden kahden antiseptin normaaliflooraa vähentäviä puhdistusvaikutuksia vakioituissa olosuhteissa. Tutkimus toteutettiin keväällä 2013.

Työtämme ohjasivat seuraavat tutkimuskysymykset:

1. Onko etanolin ja klooriheksidiinin normaaliflooraa vähentävissä vaikutuksissa merkittäviä eroja?
2. Soveltuuko etanoli veriviljelynäytteenoton antiseptiksi?
3. Esiintyykö mikrobilajeja, joihin vain toinen antisepti tehoaa?
4. Mitä mikrobeja tutkittavien ihon normaalifloorassa kasvaa?

## 8 Tutkimustyö

Tutkimustyö suoritettiin HUSLABin bakteriologian laboratoriossa keväällä 2013. Työn avulla tarkastelimme etanolin ja klooriheksidiinin normaaliflooran mikrobeja tuhoavia vaikutuksia vertailemalla ennen puhdistusta ja sen jälkeen otettujen näytteiden elatusmaljojen kasvustoja. Lisäksi määritimme tutkittavien normaaliflooran koostumusta tunnistamalla kasvustoista yhdestä kolmeen valtakasvua VITEK® MS-analysaattorilla. Ennen varsinaista tutkimusta suoritimme tutkimusta kuvaavan esitutkimuksen.

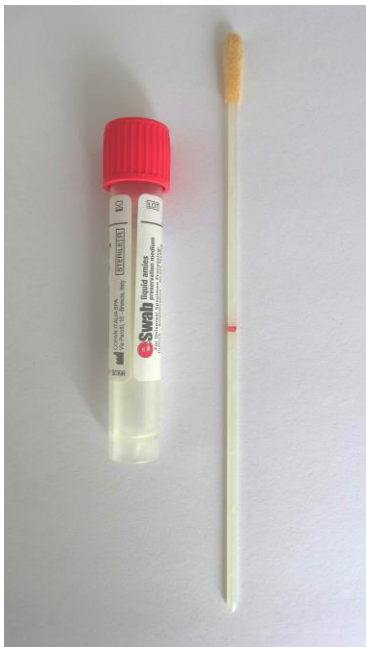
### 8.1 Esitutkimus

Esitutkimus suoritettiin HUSLABin kliinisen bakteriologian laboratoriossa helmikuussa 2013. Otokseen valittiin kuusi tutkittavaa, joilta jokaiselta otimme neljä näytettä: nolla näytteet molemmista käsistä sekä näytteet etanoli- ja klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen. Esitutkimuksen tarkoituksena oli testata, miten varsinainen tutkimus tulisi toteuttamaan ja pitäisikö suunnitelmaan tehdä muutoksia. Ennen varsinaista tutkimusta oli myös hyvä perehtyä näytteenoton prosessiin, jotta oppi kiinnittämään huomiota sen asettamiin aseptisiin vaatimuksiin. Näytteet käsittelimme samalla tavalla kuin varsinaisessa tutkimuksessa eikä alkuperäiseen suunnitelmaan tullut muutoksia.

### 8.2 Näytteenotto

Tutkimuksemme aineisto koostui eSwab® -kuljetusputkiin (kuvio 3) otetuista ihon bakteerinäytteistä, jotka keräsimme Metropolia Ammattikorkeakoulun opiskelijoista kyseisen ryhmän ollessa meille hyvin tavoitettavissa. Tutkittavien rekrytointi tapahtui muutamaa päivää ennen näytteenottoa Metropolia Ammattikorkeakoulun tiloissa. Tarkoituksena oli saada tutkimukseemme miehiä ja naisia saman verran eli kumpaakin sukupuolta 25 kappaletta. Lopulta otoksemme kuitenkin koostui 37 naisesta ja 13 miehestä. Tutkittavilta kirjasimme ylös muutamia esitietoja: sukupuolen, iän ja tunnit edellisestä peseytymisestä (Liite 1). Rekrytoinnin yhteydessä jaoimme kaikille tutkimukseen tuleville tiedotteen, jossa kerroimme keitä olemme, mitä olemme tekemässä, näytteenotto-päivämäärät, paikan ja yhteystietomme. Näytteet käsittelimme nimettöminä ja ne merkittiin tunnistetarroin. Tarroista selvisi tutkittavan numero sekä näytteenlaatu: oliko näyte etanolin tai klooriheksidiinin nollanäyte vai puhdistuksen jälkeen otettu näyte.

Näytteenotto ajoittui kahdelle eri päivälle, joina kumpanakin keräsimme näytteitä 25 tutkittavasta. Koska jokaiselta tutkittavalta otimme neljä näytettä, ennen etanoli- ja kloorihexidiinipuhdistusta ja molempien antiseptien puhdistuksen jälkeen, kertyi näyteputkia yhteensä 200. Näytteenotto tapahtui Metropolia Ammattikorkeakoulun näytteenoton tiloissa. Näytteenotto-olosuhteet pyrimme vakioimaan mahdollisimman tarkasti, jotta tulokset olisivat mahdollisimman hyvin verrattavissa toisiinsa. Tähän liittyi erityisesti puhdistusaineiden vaikutusajat. Molempia puhdistusaineita käyttäen puhdistimme ihon kahta eri taitosta käyttäen: ensimmäisellä yksi pyyhkäisy ja toisen annoimme vaikuttaa noin 15–20 sekunnin ajan. Itse näytteenotto tapahtui yksinkertaisesti hieromalla näyte-tikkua tutkittavan kyynärtaipeeseen (kuvio 4). Puhdistuksen jälkeen otettujen näytteiden kanssa tuli olla erityisen tarkka siitä, että näytettä otettiin ainoastaan puhdistetulta alueelta.



Kuvio 3. eSwab® -kuljetusputki



Kuvio 4. Näytteenotto

Tutkimustulosten luotettavuuden kannalta erityisesti aseptiikan huomioiminen näytteenoton yhteydessä oli tärkeää: mikrobeja ei saanut päästä näytteeseen muualta kuin tutkittavan iholta. Tämän toteutimme puhdistamalla kaikki käytössämme olevat pinnat 96-prosenttisellä alkoholilla ennen näytteenottoa, käyttämällä näytteenotossa steriilejä taitoksia sekä desinfioimalla kätemme jokaisen tutkittavan välillä. Lisäksi vältimme puhumista näytteenoton aikana ja ohjeistimme myös tutkittavia tähän samaan.



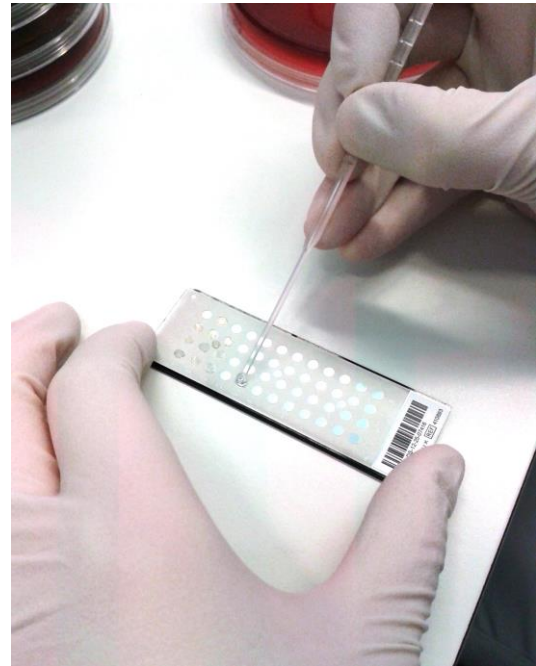
### 8.3 Analysointi

Näytteet analysoimme HUSLABin kliinisen mikrobiologian bakteriologian laboratoriossa. Koska näytteet viljeltiin WASP® -viljelyautomaatilla, joita laboratoriossa oli ainoastaan yksi kappale, tuli meidän ajoittaa viljely laboratorion toiminnan mukaan. 100 näytteen viljelemiseen kului noin kaksi tuntia, minkä aikana ei varsinaisia potilasnäytteitä voitu automaattilla viljellä. Tästä johtuen veimme näyteputket näytteenottopäivänä laboratorion jääkaappiin odottamaan seuraavana päivänä tapahtuvaa viljelyä. Näytteet käsiteltiin 100 putken erissä kahtena peräkkäisenä viikkona.

Näytteet viljeltiin WASP® -viljelyautomaatilla suklaa- ja faa-maljoille kolmikenttä hajotuksena. Viljelyautomaatti lukee näyteputkien tunnistetarroissa olevat viivakoodit ja tekee vastaavat tunnisteet maljoille. Tämä nopeutti työtämme huomattavasti ja maljojen käsitteleminen pareittain ja järjestyksessä oli helppoa. Viljelyn jälkeen maljat vietiin suoraan niiden kasvatusympäristöihin: faa-maljat kasvatettiin anaerobiastioissa lämpöhuoneessa ja suklaamaljat hiilidioksidikaapissa +35 °C -lämpötilassa. Maljat saivat kasvaa viisi vuorokautta, jotta hitaampikasvuisetkin mikrobilajit ehtivät niillä kasvaa. Kasvatusajan jälkeen tarkastelimme maljojen kasvustoja ja kirjasimme jokaisen maljaparin kokonaiskasvun ylös. Tämän jälkeen valitsimme silmämääräisesti maljoilta tunnistettavat pesäkkeet: yhdestä kolmeen eri lajia.



Kuvio 5. Pesäkkeen ottaminen maljalta



Kuvio 6. Pesäkkeen laittaminen näytelevylle

Tunnistus tapahtui MALDI-TOF -menetelmää hyödyntäen VITEK® MS-analysointilaitteella. Mikrobin tunnistus tällä menetelmällä oli helppoa eikä meidän tarvinnut jäädä paikan päälle odottamaan tuloksia vaan pystyimme tarkastamaan ne seuraavana päivänä. Analysointia varten otimme yhden mikrolitran silmukalla pienen määrän bakteerimassaa jokaisesta tunnistettavasta pesäkkeestä (kuviot 5) ja levitimme näytelevyn spoteille ohuiksi kerroksiksi (kuviot 6). Yhdelle näytelevylle mahtui 48 näytettä ja jokaista 16 näytteen sarjaa kohti oli oma kontrollinsa (*E. coli* -kanta).

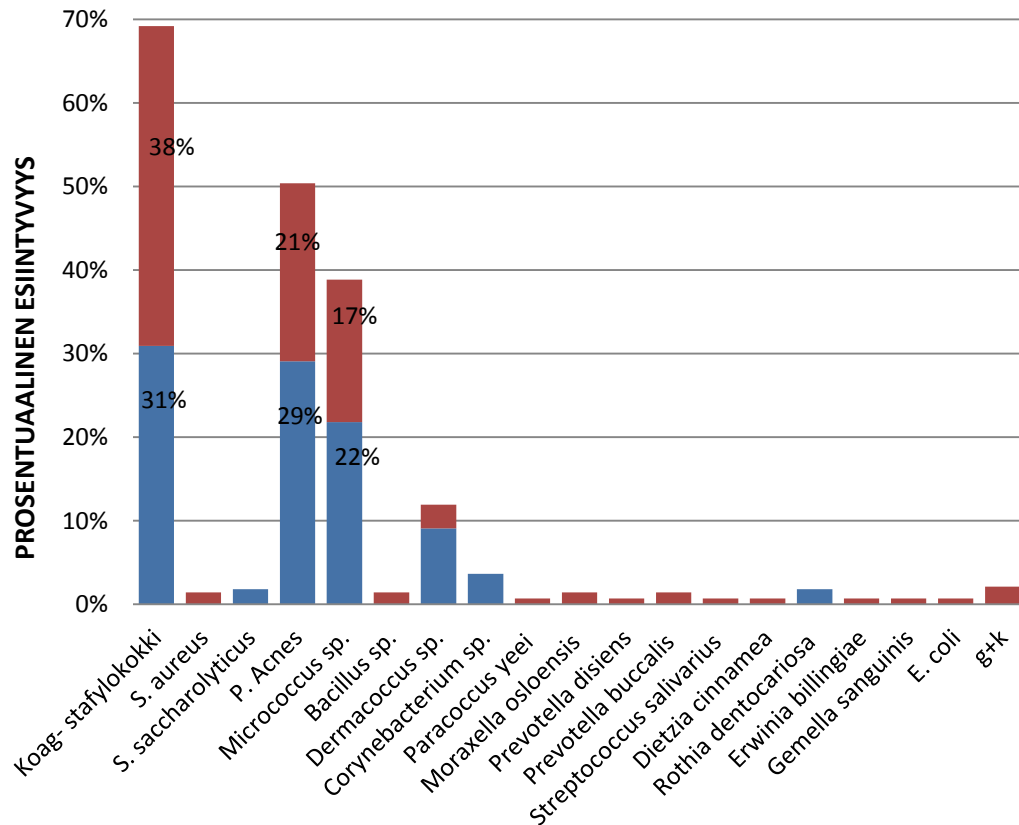
#### 8.4 Tulokset

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, onko etanolin ja klooriheksidiinin ihon normaali-flooraa vähentävissä vaikutuksissa merkittäviä eroja. Tutkimuskysymyksiin vastaamme tulosten tarkastelussa ja johtopäätöksissä. Tässä kappaleessa käsittelemme laajemmin kaikkia tutkimuksessamme saatuja tuloksia.

Tuloksia käsitelimme Excel -taulukko-ohjelmalla ja SPSS PASW -tilasto-ohjelmalla. Excel-ohjelmaa käytimme esimerkiksi esitetietojen, löydösten sekä pesäkemäärien kirjaamiseen. SPSS-ohjelmaa käytimme erityisesti crosstabs-taulukointiin, jonka avulla saimme helposti määritettyä esimerkiksi sukupuolten välisiä mikrobilajien eroavaisuuksia. Ohjelmien avulla saimme laskettua bakteerien prosentuaalisia määriä ja pystyimme tekemään kaavioita ja diagrammeja yleisimmistä bakteereista, joita tutkimuksessamme esiintyi. Laskimme yleisimpien löydösten prosenttiosuudet erikseen etanolin ja klooriheksidiinin nollanäytteistä (E0 ja K0 -näytteet) sekä molempien antiseptien puhdistuksen jälkeen (EP ja KP -näytteet). Vertailimme myös kasvun määrää sekä eritelimme naisten ja miesten näytteissä yleisimmin kasvaneet bakteerilajit. Tässä työssä negatiivisella näytteellä tarkoitetaan näytettä, jossa ei ollut bakteerikasvua.

Miehillä yleisimmät löydökset olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki (31 %), *Propionibacterium acnes* (29 %) sekä *Micrococcus luteus/lylae* (22 %). Yhteensä nämä kattoivat 82 % kaikista miehillä esiintyneistä löydöksistä. Lisäksi miehillä esiintyi seuraavia bakteerilajeja: *Dermacoccus nishinomyaensis* (9 %), *Corynebacterium glucuronolyticum* (4 %), *Staphylococcus saccharolyticus* ja *Rothia dentocariosa* (2 %). Naisilla yleisimmät löydökset olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki (38 %), *Propionibacterium acnes* (21 %), *Micrococcus luteus/lylae* (17 %). Lisäksi naisilla esiintyi seuraavia bakteerilajeja: *Dermacoccus nishinomyaensis* (3 %), grampositiivinen kokkibakteeri (2 %), *Bacillus cereus*, *Paracoccus yeei*, *Moraxella osloensis*, *Prevotella di-*

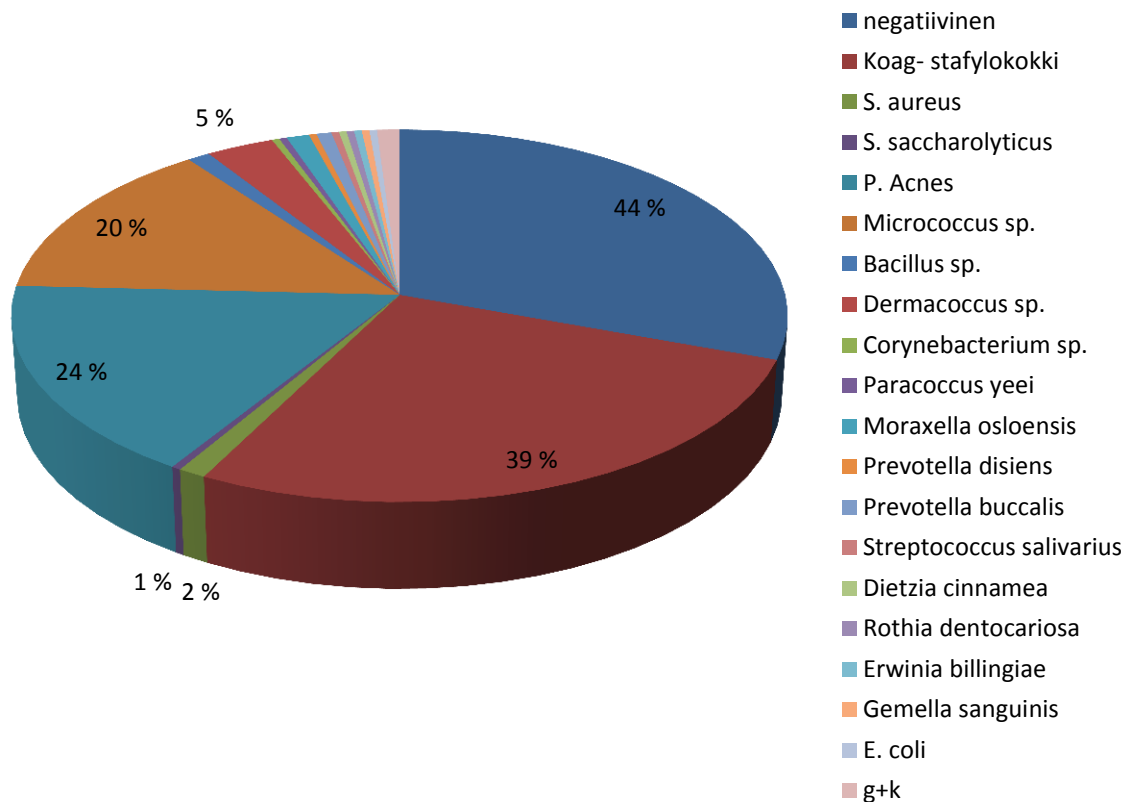
*siens*, *Prevotella buccalis*, *Streptococcus salivarius*, *Dietzia cinnamea*, *Erwinia billingiae*, *Gemella sanguinis* ja *Escherichia coli* (kutakin 1 %). Naisten ja miesten yleisimmät bakteerit olemme esittäneet diagrammin muodossa (ks. kuvio 7).



Kuvio 7. Yleisimmät bakteerilajit naisilla ja miehillä

Yhteensä kaikista näytteistä negatiivisia oli 44 %, koska ihon puhdistuksen jälkeen otetuissa näytteissä ei kuulu kasvaa mitään. Ennen puhdistusta otetuista näytteistä ainoastaan yksi oli negatiivinen. Kaikissa näytteissä yleisimmin esiintyi koagulaasinegatiivisia stafylokokkilajeja, jotka yhdessä kattoivat 39 % kaikista löydöksistä. Muita yleisesti esiintyneitä bakteereita olivat *Propionibacterium acnes* (24 %) ja *Micrococcus luteus/lylae* (20 %). Mikrobin osuudet kaikissa näytteissä on esitetty diagrammina (ks. kuvio 8).

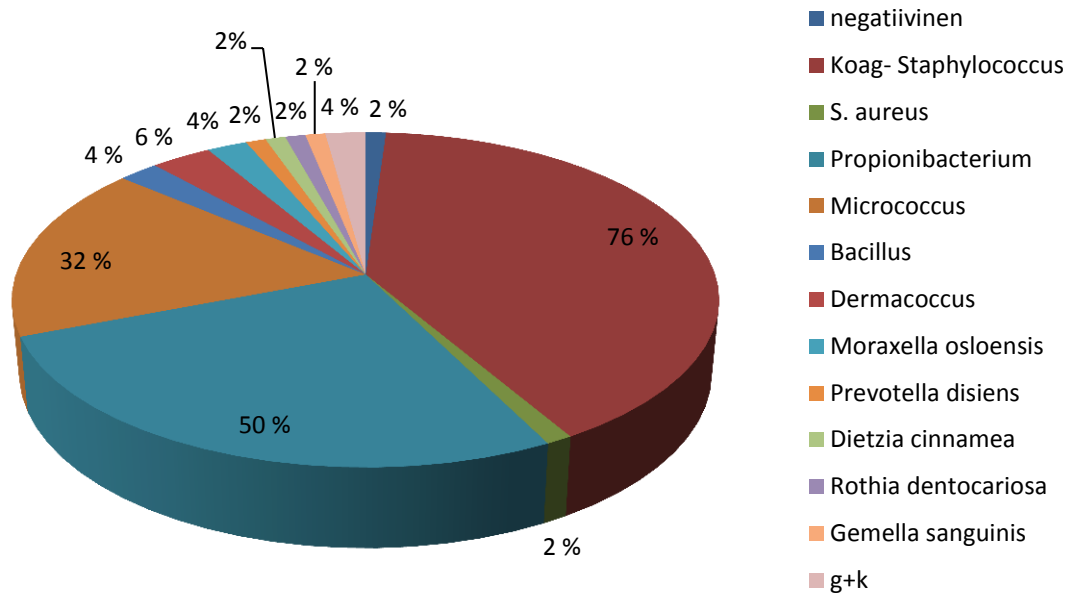
## Mikrobien osuudet kaikista näytteistä



Kuvio 8. Mikrobien osuudet kaikista näytteistä

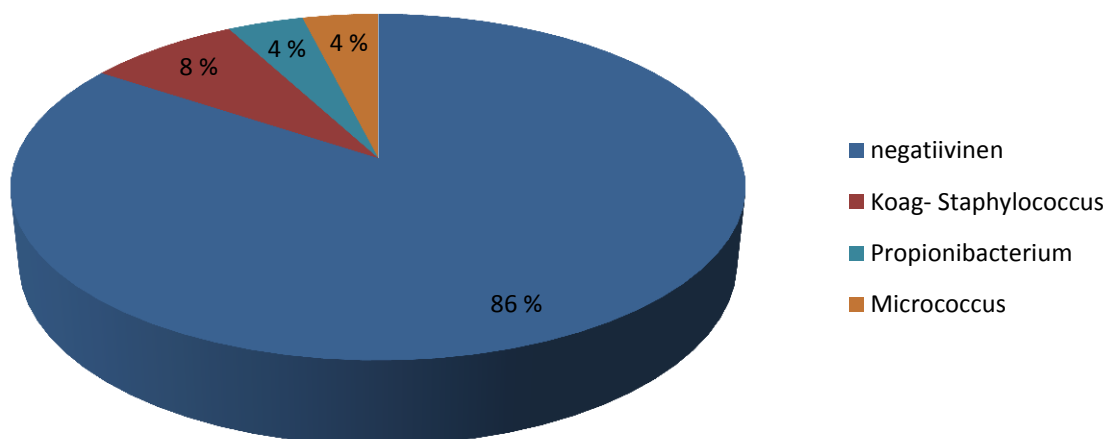
Yleisimmät bakteerit, jotka tutkimuksessamme esiintyivät ennen etanolipuhdistusta, olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki (76 %), *Propionibacterium acnes* (50 %) ja *Micrococcus luteus/lylae* (32 %). Etanolipuhdistuksen jälkeen negatiivisia näytteitä oli 86 %. Esiintyneitä bakteerilajeja puolestaan olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki (8 %), *Propionibacterium acnes* ja *Micrococcus luteus/lylae* (4 %). Ennen klooriheksidiinipuhdistusta otetuissa näytteissä esiintyviä bakteereita olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki (64 %), *Propionibacterium acnes* (42 %), *Micrococcus luteus/lylae* (40 %) ja *Dermacoccus nishinomyaensis* (12 %). Klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen negatiivisia näytteistä oli 86 %. Positiivisten näytteiden löydökset puolestaan olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki (6 %), *Micrococcus luteus/lylae* (4 %), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* sekä *Moraxella osloensis* (2 %). Kaikki edellä mainitut tulokset olemme esittäneet diagrammien muodoissa (ks. kuvio 9, kuvio 10, kuvio 11 ja kuvio 12).

## E0-näytteet



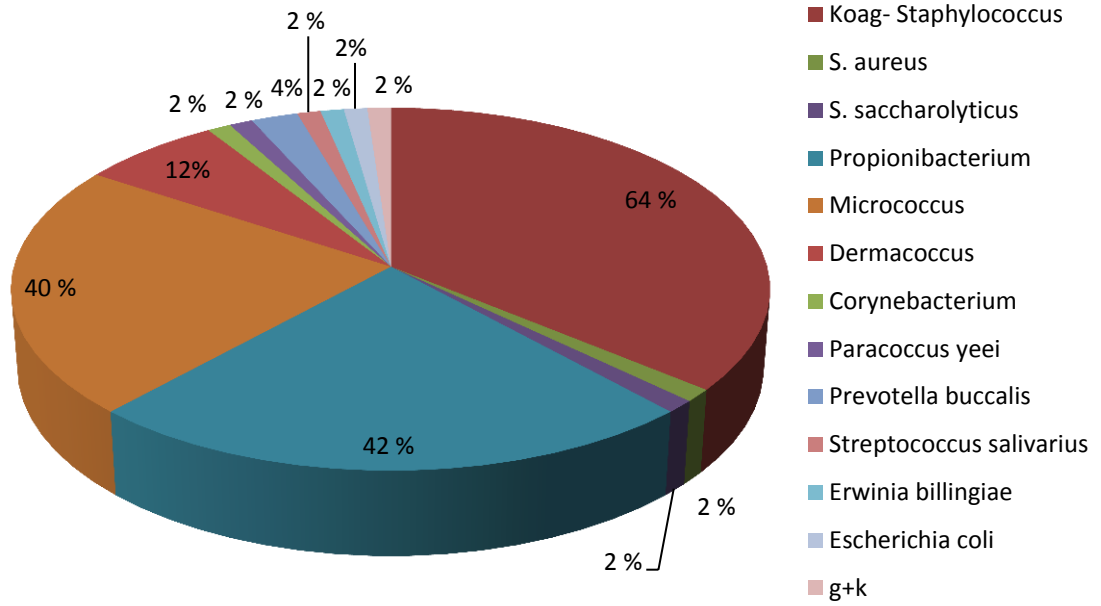
Kuvio 9. Bakterilajit ennen etanolipuhdistusta

## EP-näytteet



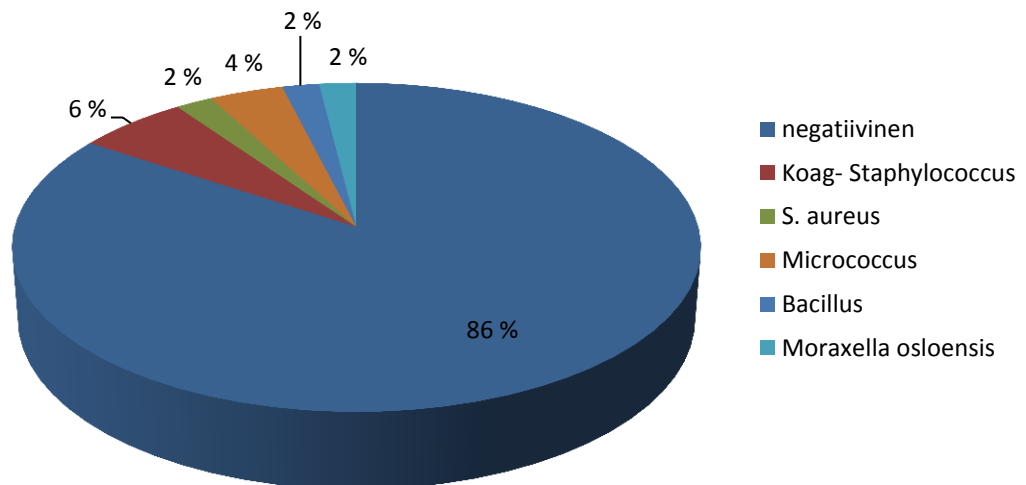
Kuvio 10. Bakterilajit etanolipuhdistuksen jälkeen

## KO-näytteet



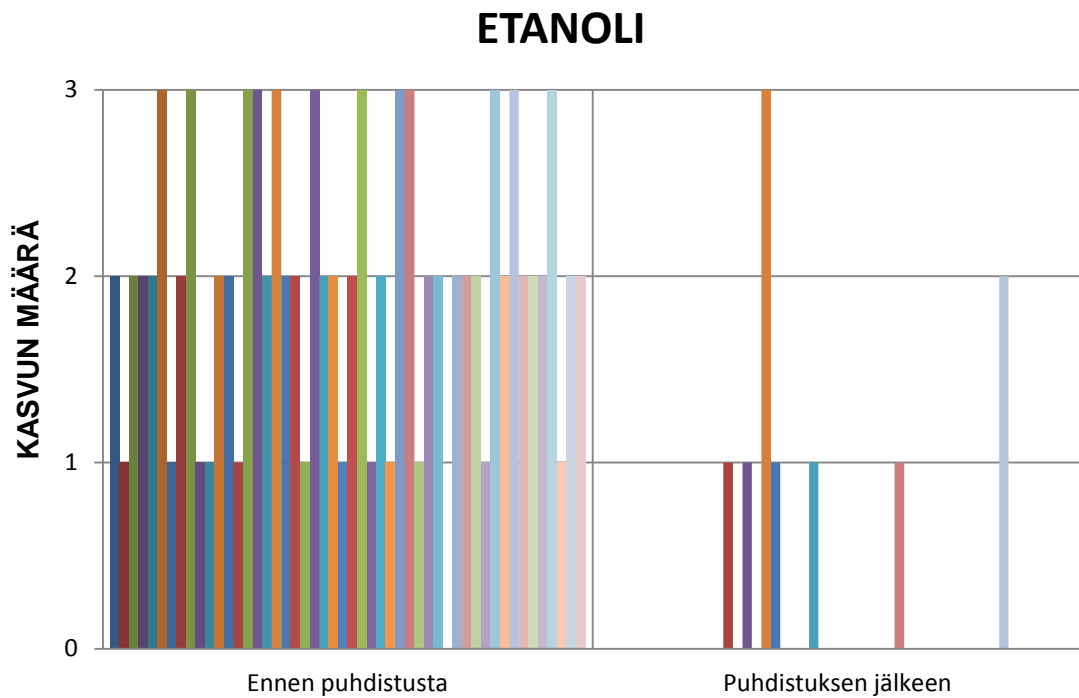
Kuvio 11. Bakterilajit ennen klooriheksidiinipuhdistusta

## KP-näytteet

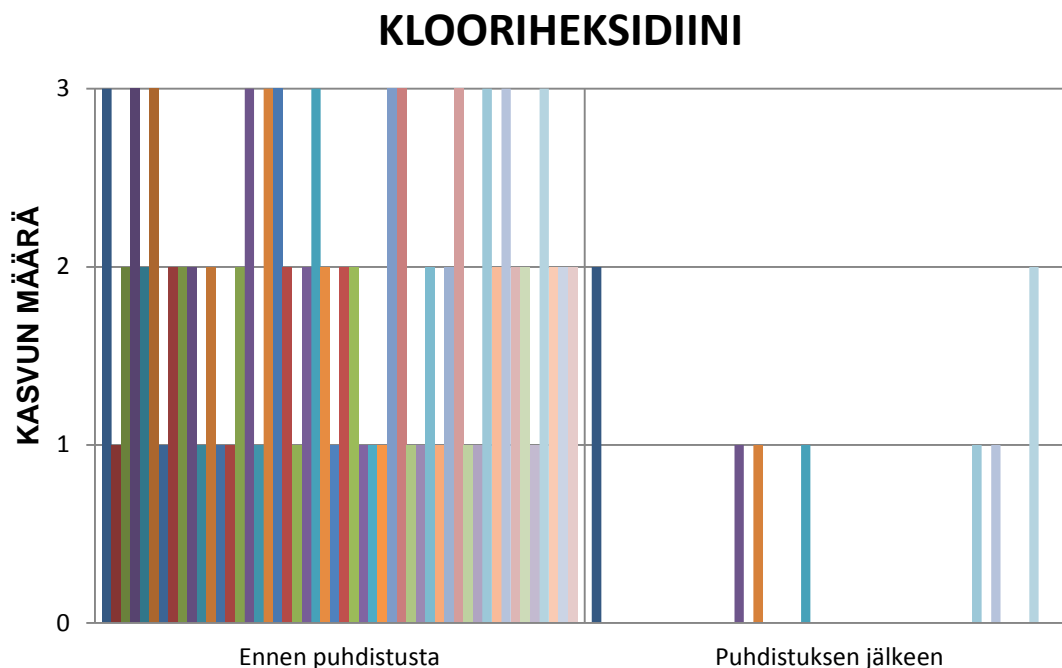


Kuvio 12. Bakterilajit klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen

Kasvun olemme luokitelleet yhdestä kolmeen. Kun kasvu on yksi, maljalla on kasvanut bakteereita alle kymmenen pesäkettä. Kasvun ollessa kaksi, maljalla kasvoi 10–100 pesäkettä ja kolme, >100 pesäkettä. Ennen etanolipuhdistusta otetuissa näytteissä ainoastaan yksi oli negatiivinen eli kasvu oli 0. Muissa näytteissä ennen puhdistusta kasvu oli yhdestä kolmeen ja hyvin analysoitavissa. Etanolipuhdistuksen jälkeen viidessä näytteessä kasvu oli niukkaa (alle kymmenen pesäkettä), yhdessä näytteessä kasvoi 10–100 pesäkettä ja yhdessä näytteessä kasvu oli runsas (>100 pesäkettä). Ennen klooriheksidiinipuhdistusta otetuissa näytteissä kaikissa näytteissä kasvoi jotain. Kasvu oli yhdestä kolmeen. Klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen viidessä näytteessä kasvu oli niukkaa (alle 10 pesäkettä) ja kahdessa näytteessä kasvu oli 10–100 pesäkettä. Kasvujen määrää ja niiden määrän laskemista ennen puhdistusta ja sen jälkeen otettujen näytteiden välillä olemme kuvanneet oheisilla pylväsdiagrammeilla (ks. kuvio 13 ja kuvio 14).



Kuvio13. Kasvun määrä ennen etanolipuhdistusta ja puhdistuksen jälkeen



Kuvio 14. Kasvun määrä ennen klooriheksidiinipuhdistusta ja puhdistuksen jälkeen

## 9 Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset

Saatujen tulosten perusteella etanoli ja klooriheksidiini vähensivät normaaliflooraa miltei yhtä paljon eikä klooriheksidiini osoittanut ylivertaisuutta etanolin nähden. Tutkimuskysymyksemme olivat: onko etanolin ja klooriheksidiinin normaaliflooraa vähentävissä vaikutuksissa merkittäviä eroja? Soveltuuko etanoli veriviljelynäytteen-oton antiseptiksi? Esiintyykö mikrobilajeja, joihin vain toinen antisepti tehoaa? Mitä mikrobeja tutkittavien ihon normaalifloorassa kasvaa?

Tutkimustulostemme perusteella etanolin ja klooriheksidiinin normaaliflooraa vähentävissä vaikutuksissa ei ollut merkittäviä eroja. Seitsemässä näytteessä sekä etanolipuhdistuksen että klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen oli kasvua ja näin ollen myös negatiivisia näytteitä oli yhtä paljon. Puhdistuksen jälkeen otettujen näytteiden positiiviset kasvustot selittyvät luultavimmin niin, että näytteenottovaiheessa näytetikulla on käyty puhdistetun alueen ulkopuolella. Tämän perusteella voimme sanoa antiseptien puhdistustehon olevan samanlainen.



Tämän tutkimuksen perusteella ei voida sanoa, esiintyykö ihon normaalifloorassa mikrobilajeja joihin vain toinen antisepti tehoaa. Klooriheksidiini- sekä etanolipuhdistuksen jälkeen otetuissa näytteissä kasvoi koagulaasinegatiivinen stafylokokki ja mikrokokki. Etanolipuhdistuksen jälkeen otetuissa näytteissä kasvoi edellä mainittujen lisäksi propionibakteeri. Klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen otetuissa näytteissä kasvoi koagulaasinegatiivisen stafylokokin ja mikrokokin lisäksi *Stafylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ja *Moraxella osloensis*. Puhdistuksen jälkeen otettujen näytteiden joukossa tulisi olla enemmän positiivisia tuloksia, jotta voitaisiin varmuudella sanoa tehoaako toinen antisepti paremmin. Klooriheksidiinipuhdistuksen jälkeen esiintyi useampaa bakteerilajia kuin etanolipuhdistuksen jälkeen, mutta löydökset olivat yksittäisiä. Samoja mikrobilajeja tulisi esiintyä useamman tutkittavan puhdistusnäytteissä, jotta voitaisiin todeta antiseptin toimimattomuus sitä vastaan.

Tutkimuksessamme saatujen tulosten perusteella esiintyneitä mikrobilajeja oli yhteensä 25 (Liite 2). Koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja oli yhteensä kahdeksan eri lajia, mutta tuloksissa käsittelemme niitä yhtenä ryhmänä. Yleisimmin esiintyneet koagulaasinegatiiviset stafylokokit olivat *Staphylococcus epidermidis* ja *Staphylococcus hominis ssp. hominis*. Kaikissa näytteissä yleisimmät bakteerilajit olivat koagulaasinegatiivinen stafylokokki, *Propionibacterium acnes* ja *Micrococcus luteus/lylae*. Sekä naisilla että miehillä yleisin löydös oli koagulaasinegatiivinen stafylokokki.

Tämän tutkimuksen mukaan etanolin käyttö antiseptina veriviljelynäytteenoton yhteydessä on perusteltua, sillä sen puhdistusteho oli yhtä hyvä kuin klooriheksidiinilla. Klooriheksidiini on jonkin verran allergisoiva ja näytteenotossa työskentelevät altistuvat sille jatkuvasti, minkä vuoksi sen käytöstä olisi hyvä päästä eroon. Kuitenkin tutkimuksemme otoksen ollessa kohtalaisen pieni (50 tutkittavaa), voimme pitää tuloksia ainoastaan suuntaa antavina. Tämän vuoksi olisi hyvä tehdä laajempi tutkimus suuremmalla otoksella ja oikeassa työympäristössä. Lisäksi puhdistustehojen vaikutuksia olisi hyvä tutkia oikeiden veriviljelynäytteiden yhteydessä.

## 10 Työn luotettavuuden arviointi

Työn luotettavuuden kannalta erityisesti aseptiikkaan tuli näytteenottovaiheessa kiinnittää huomiota, sillä mikrobeja ei saanut päästä näytteeseen muualta kuin tutkittavien iholta. Lisäksi luotettavuuden kannalta oli oleellista, että näytteet oli oikein merkitty ja

kasvatusolosuhteet olivat oikeanlaiset. Jotta tuloksista voidaan antaa minkäänlaisia johtopäätöksiä, on tärkeää, että osataan arvioida tutkimuksen onnistumista.

Yksi tärkeä osa tutkimuksen luotettavuutta oli näytteiden oikeanlainen merkintä. Koska näytteenottovaiheessa työskentelimme samanaikaisesti, tuli meidän kiinnittää erityistä huomiota siihen, että merkitsimme kunkin näytteen oikeanlaisella tunnistetarralla. Yhden tutkittavan jokaisen näytteen tuli sisältää sama näytenumero, jotta tuloksia tarkasteltaessa pystyttiin vertaamaan yhden tutkittavan nollanäytteiden ja puhdistuksien jälkeen otettujen näytteiden kasvustoja luotettavasti. Lisäksi oli erittäin tärkeää, että nollanäytteisiin ja kummankin puhdistuksen jälkeen otettuihin näytteisiin kiinnitettiin juuri kyseistä näytelaatua kuvaava tunnistekoodi (E0, K0, EP tai KP).

Koska viljelimme näytteet viljelyautomaatilla, oli viljelyn jälki jokaisen näytteen yhteydessä samanlainen. Tämä helpotti esimerkiksi näytteiden kokonaiskasvun arvioinnissa, kun jokainen näyte oli käsitelty samalla tavalla. Tulosten luotettavuutta ja toistettavuutta pystyimme helposti tarkkailemaan nollanäytteiden avulla. Koska yhdestä tutkittavasta otettiin aina kaksi nollanäytettä, oli meidän helppo verrata antiseptien puhdistusvaikutuksia aina yhden ihmisen normaaliflooraan. Lisäksi yhdestä tutkittavasta otettujen nollanäytteiden koostumukset olivat hyvin lähellä toisiaan: valtakasvu oli useimmiten sama. Nollanäytteet oli tärkeä ottaa molemmista käsistä myös normaaliflooran vaihteluuden vuoksi. Näin saatiin useampia yksittäisiä mikrobilajeja mukaan tutkimukseemme ja antiseptien tehokkuutta näitä mikrobikantoja vastaan oli mahdollista selvittää.

Lisäksi työn luotettavuutta tukevat negatiivisten näytteiden osuudet sekä nolla- että puhdistuksen jälkeen otetuissa näytteissä. Nollanäytteiden joukossa ei ollut kuin yksi ainoa negatiivinen näyte, mutta puhdistuksen jälkeen otettujen näytteiden negatiivisten prosenttiosuudet sekä etanolia että klooriheksidiinia käytettäessä oli 86. Tämä negatiivisten näytteiden jakautuminen nollanäytteiden ja puhdistusten jälkeen otettujen näytteiden välillä kuvaa myös näytteiden merkinnän oikeellisuutta. Kuitenkin muutamassa puhdistuksen jälkeen otetussa näytteessä kasvu oli huomattavan runsasta (>100 pesäkettä). Todennäköisin syy tähän on näytteenottovaiheessa tapahtunut lipsahtaminen puhdistusalueen ulkopuolelle. Teoriaa tukee se, että kaikissa positiivisissa puhdistuksen jälkeen otetuissa näytteissä, joissa pesäkemäärä oli 10–100 tai enemmän, kasvoi samaa bakteeria kuin kyseisen näytteen nollanäytteessä. Tämän perusteella nämä näytteet eivät kuvaa antiseptien puhdistusvaikutuksia ja ovat tutkimuksen virhelähteitä.

Lisäksi kaikissa positiivisissa näytteissä, jotka oli otettu puhdistuksien jälkeen, esiintyi ainoastaan mikrobeja, jotka nollanäytteissä esiintyivät useasti.

Tutkimuksemme elatusmaljoina käytettiin suklaa- ja faa-maljoja, jotka kasvatettiin erilaisissa olosuhteissa: suklaamaljat hiilidioksidikaapissa +35 °C -lämpötilassa ja faa-maljat anaerobiastioissa lämpöhuoneessa. Hiilidioksidikaapin toimivuutta kontrolloitiin laboratorion toimesta päivittäin ja anaerobiatmosfäärin muodostumista kontrolloitiin siihen tarkoitettujen indikaattorien avulla. Indikaattori oli toiminut jokaisen anaerobiastian yhteydessä, minkä vuoksi voimme luottaa anaerobikasvatuksen onnistumiseen. Suurin osa tutkimuksessamme esiintyneistä mikrobeista olivat fakultatiivisia anaerobeja, eli ne pystyvät kasvamaan sekä hapellisissa, että hapettomissa olosuhteissa. Kuitenkin iholta voi löytyä joitakin anaerobeja, joten tutkimuksen luotettavuuden kannalta oli tärkeää tietää anaerobiatmosfäärin onnistuneen.

Tuloksia tarkasteltaessa suurin osa löydöksistä on mikrobeja, joiden on normaalistikin todettu löytyvät ihmisen ihon normaalifloorasta. Kuitenkin joukossa oli joitakin yksittäisiä löydöksiä, jotka normaalisti kuuluvat esimerkiksi suun mikrobeihin. Kyseisiä bakteereita olivat esimerkiksi *Rothia dentocariosa* ja *Gemella sanguinis*. Lisäksi yksi löydös, *Erwinia billingiae*, osoittautui mikrobiksi, jonka on todettu löytyvän usein kasvien pinnoilta (Kube ym. 2010: 1). Näiden mikrobien löytyminen kyynärtaipeesta ei kuitenkaan ole mahdotonta. Suun mikrobilöydökset voivat selittyä esimerkiksi tutkittavan aivastuksen suuntaamisesta käsivarteeseen. On kuitenkin hyvin mahdollista, että kyseisiä mikrobeja on päässyt näytteeseen näytteenoton aikana puhumisen yhteydessä. Myös mikrobeja, joita esiintyy luonnossa, voi hetkellisesti esiintyä iholla. Tämä johtuu yksinkertaisesti siitä, että iho on jatkuvasti yhteydessä ympäristöön. Kuitenkin kaikki edellä mainitut normaalisti ihon normaaliflooraan kuulumattomat bakteerit löytyivät nollanäytteistä ja löydökset olivat yksittäisiä. Tästä johtuen kyseiset löydökset eivät ole tutkimuksen luotettavuuden kannalta merkittäviä.

Tunnistusvaiheen luotettavuutta tukee onnistuneet kontrollit sekä tunnistusta kuvaavat prosentit: suurimman osan mikrobeista VITEK® MS -analysointilaitteella tunnistettiin 99,9 % tarkkuudella. Poikkeuksiakin oli ja erityisesti *Bacillus cereuksen* tunnistusprosentti oli huomattavan alhainen: 33,3 %. Luotimme kuitenkin tunnistustulokseen pesäkemorfologian ja gramvärjäyksen perusteella. Analysointilaitteen antamien tulosten luotettavuutta ja toistettavuutta tukee myös se, että samankaltaisina kasvavista pesäkkeistä saatiin sama tunnistustulos. Esimerkiksi näytteissä yleisimmin esiintynyt *Staphylococcus epidermi-*

*d*is, jonka analyysoija tunnistoi melkein poikkeuksetta 99,9 % tarkkuudella, kasvoi suklaamaljalla vaaleankellertävänä pesäkkeenä ja sitä ympäröi tummanharmaa vyöhyke. Lisäksi kyseinen analyysoija oli ollut hyvän aikaa osana bakteriologian laboratorion analytiikkaa ja sen antamat tulokset oli todettu luotettaviksi. Muutamista näytteistä emme saaneet tunnistustulosta VITEK® MS -analysoijalla. Näistä näytteistä teimme gramvärjäykset, jonka myötä ne osoittautuivat yleisimmin grampositiivisiksi kokkibakteereiksi. Lajitunnistuksen jätimme kuitenkin auki ja vastasimme löydökset grampositiivisina kokkeina.

## 11 Pohdinta

Tämä opinnäytetyö oli alusta alkaen todella mielenkiintoinen. Ihmisen normaaliflooran bakteereita ei opintojen yhteydessä paljoakaan käsitellä, joten tämän tutkimuksen tekeminen toi paljon uutta tietoa ihmisen normaalin mikrobiston koostumuksesta. Opinnäytetyön aihe tuli työelämästä ja olimme siitä heti kiinnostuneita. Työssämme mukana olleet ohjaajat olivat itsekäin kiinnostuneita aiheesta ja saimme tarvittaessa apua tutkimuksen suunnittelussa ja toteutuksessa. Tutkimussuunnitelmamme muuttui monta kertaa ja työn toteutukselle esitettiin monia vaihtoehtoja. Lopulta saimme laadittua hyvän suunnitelman joka oli realistinen toteuttaa.

Aiheemme oli melko haastava ja lähdeaineisto hankalasti löydettävissä. Lopulta kuitenkin löysimme yllättävänkin paljon tuoreita ja luotettavia lähteitä. Koska monet lähteet olivat ulkomaisia, toi niiden ymmärtäminen ja suomentaminen lisähaasteita. Kokonaisuudessaan opinnäytetyömme onnistui hyvin. Opinnäytetyön onnistumista kuvaa erityisesti se, että laadittuihin tutkimuskysymyksiin löydettiin vastaukset. Saimme siis tutkimuksesta irti se mitä haettiin. Meillä oli suunniteltuna yhteiset tavoitteet ja olimme useimmiten asioista yhtä mieltä, mikä helpotti opinnäytetyön suorittamista. Jaoimme usein työn aiheita, mutta lopulta muokkasimme niitä yhdessä, jotta työ ei antaisi irrallista vaikutelmaa. Mielestämme työstä tuli yhdenmukainen eikä kahden tekijän käsialaa ole huomattavissa.

Tutkimuksen suorittamista ja raportin kirjoittamista varten teimme tarkan aikataulun siitä milloin aioimme mitään tehdä. Näin pysyimme hyvin aikataulussa ja kirjoittamiseen ja viimeistelyyn jäi riittävästi aikaa. Opinnäytetyömme sujuvuuteen vaikutti paljon bakteriologian laboratorion joustavuus. Meitä avustettiin esimerkiksi viljelyautomaatin

käytössä ja näytteidemme viljelyyn oli varattu reilusti aikaa, jolloin potilasnäytteitä ei viljelty lainkaan. Opimme myös jonkin verran käyttämään viljelyautomaattia, mikä on tulevaisuudessa suuri etu. Lisäksi näytteemme vei jonkin verran tilaa laboratorion hiilidioksidikaapeista ja lämpöhuoneesta, sillä kerrallaan kasvatimme kummassakin 100 maljaa viiden vuorokauden ajan. Myös tässä asiassa laboratorion henkilökunta oli myönteinen ja auttoi meitä löytämään vapaita kasvatustiloja. Merkitsimme näytteemme selvästi opinnäytetyömateriaaleiksi, jotta henkilökunnalle ei tullut epäselvyyksiä mitä näytteitä kaapeissa oli.

Tutkittavien saaminen opinnäytetyöhömmä onnistui melko hyvin. Tässä vaadittiin sosiaalisia taitoja ja rohkeutta käydä luokissa ja käytävillä rekrytoimassa opiskelijoita tutkimukseemme. Keräsimme listaa, jotta tiesimme kuinka moni oli tulossa näytteenottoon. Monet olivat todella myönteisiä osallistumaan tutkimukseen ja rekrytoiminen sujui ongelmitta. Tutkittavien saamista helpotti se, että emme ottaneet verinäytteitä. Kuitenkaan kaikki luvanneet eivät saapuneet näytteenottoon, minkä vuoksi otoksemme muuttui alkuperäisestä suunnitelmasta. Miehiä emme saaneet niin paljon kuin olisimme halunneet.

Tutkimuksen eettisyyteen liittyi tutkittavien ja tulosten yhdistettävyyys. Tämän huomioimme tutkimuksessa näytteille laadittujen tunnistetarrojen avulla, jotka koodasivat tutkittavia numeroin. Tarrassa ei siis ollut tutkittavan henkilötietoja, mistä johtuen näytettä ja henkilöä ei voinut mitenkään yhdistää. Rekrytoinnissa keräämiämme nimiä ei käytetty tutkimuksessamme, eivätkä ne olleet järjestyksessä siihen nähden, milloin tutkittavat tulivat näytteenottoon. Esitietoihin keräsimme vain iän, sukupuolen ja tunnit edellisestä peseytymisestä. Alkuperäisenä tarkoituksena oli saada vakioitua tutkittavien peseytyvyys eli tunnit siitä, kun he olivat viimeksi käyneet suihkussa. Tämä osoittautui odotettua haastavammaksi etenkin kun jouduimme osan tutkittavista rekrytoimaan näytteenottopäivänä. Tuloksia tarkasteltaessa emme kuitenkaan huomanneet merkittäviä eroja nollanäytteiden välillä.

Aikaisemmat tutkimukset ovat osoittaneet alkoholeja sisältävien antiseptien tehokkuutta veriviljelynäytteenoton yhteydessä. Caldeira, David ja Sampaio ovatkin suositelleet vertailemaan keskenään alkoholia sisältävän klooriheksidiinin ja pelkän alkoholin vaikutuksia veriviljelynäytteiden kontaminaatioiden määrään. Heidän mielestään olisi hyvä selvittää, onko klooriheksidiinin lisäämisestä hyötyä vai riittäisikö pelkkä alkoholi veriviljelynäytteenoton antiseptiksi. Tämän tutkimuksen tuloksena puhdistusvaikutus 80-

prosenttisella etanolilla ja Klorhexol® -valmisteella oli yhtä hyvä, minkä perusteella voisimmekin sanoa etanolin soveltuvan tarkoitukseen yhtä hyvin kuin klooriheksidiini. Suosittelemme kuitenkin jatkotutkimusten suorittamista.

Opinnäytetyömme perusteella HUSLABin nykyinen ohje veren bakteeriviljelynäytteenotosta on antiseptien osalta pätevä eikä sitä ole syytä muuttaa. Kuitenkin tutkimustulosten perusteella olisi hyvä tehdä jatkotutkimuksia etanolin soveltuvuudesta veriviljelynäytteenottoon, jotta voitaisiin mahdollisesti suositella klooriheksidiinin käytöstä luopumista. Olisi esimerkiksi hyvä tehdä tutkimus suuremmalla otoksella, jossa ikäkaumakin olisi laaja. Lisäksi olisi hyvä suorittaa tutkimuksia varsinaisen veriviljelynäytteenoton yhteydessä sekä terveillä, että sairailta henkilöillä. Näin voitaisiin vertailla ihon normaalifloorassa esiintyneiden mikrobien esiintyvyyttä veriviljelypulloissa ja esimerkiksi käyttää terveitä ihmisiä vertailuryhmänä.

Ihon normaalifloorassa on bakteerien lisäksi todettu kasvavan joitakin hiivasienilajeja, mutta tässä tutkimuksessa yhtäkään sienilajia ei osunut kohdalle. Koska etanolin on todettu olevan epäluotettava fungisidi, olisikin hyvä tehdä vielä varsinainen tutkimus sen vaikutuksista ihon normaalifloorassa esiintyviin hiivoihin. Olisi myös hyvä kartoittaa kuinka paljon hiivaa keskimäärin kynärtaipeen alueella esiintyy ja selvittää onko veriviljelyn kannalta olennaista, että antisepti tehoaa niihin. Jos hiivaa ei esiinny useasti kynärtaipeen alueella, ei meidän mielestämme ole mitään syytä huomioida niitä antiseptin valinnassa. Tämä antaisi lisäinformaatiota etanolin soveltuvuudesta veriviljelynäytteenoton antiseptiksi.

On myös hyvä muistaa, että veriviljelynäytteiden kontaminaatioiden määrään vaikuttavat tehokkaan puhdistuksen lisäksi monet muut asiat. Haluammekin painottaa perehdytyksen tärkeyttä veriviljelynäytteitä ottavalle henkilökunnalle. Hyvän ammattitaidon ja oikeiden näytteenottomenetelmien avulla kontaminaatioiden aiheuttamat positiiviset tulokset voidaan saada mahdollisimman vähäisiksi.

## Lähteet

Anttila, Veli-Jukka – Hellsten, Soile – Rantala, Arto – Routamaa, Marianne – Syrjälä, Hannu – Vuento, Risto (toim.) 2010. Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. Porvoo: Suomen Kuntaliitto. 59.

Blood Culture: The Test. 2009. American Association for Clinical Chemistry. LabTests Online. Verkkodokumentti. Päivitetty 22.12.2011. <<http://labtestsonline.org/understanding/analytes/blood-culture/tab/test>>. Luettu 4.12.2012.

Caldeira, D. – David, C. – Sampaio, C. 2011. Skin antiseptics in venous puncture-site disinfection for prevention of blood culture contamination: systematic review with meta-analysis. *Journal of Hospital Infection* 77 (3): 223–232.

Calfee, David P. – Farr, Barry M. 2002. Comparison of Four Antiseptic Preparations for Skin in the Prevention of Contamination of Percutaneously Drawn Blood Cultures: a Randomized Trial. *Journal of Clinical Microbiology* 40 (5): 1660–1665.

Carlson, Petteri – Koskela, Markku 2011. Bakteriologian tutkimukset. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): *Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3.* Helsinki: Duodecim. 37–53.

Fan, Nai-Jun – Gao, Chun-Fang – Wang, Xiu-Li – Zhao, Guang – Liu, Qing-Yin – Zhang, Yuan-Yao – Cheng, Bao-Guo 2012. Serum Peptidome Patterns of Colorectal Cancer Based on Magnetic Bead Separation and MALDI-TOF Mass Spectrometry Analysis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 1–2.

Forbes, Betty A. – Sahm, Daniel F. – Weissfeld, Alice S. 1998. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Mosby, Inc. 290–291.

Franklin, T. J. – Snow, G. A. 2005. *Biochemistry and Molecular Biology of Antimicrobial Drug Action*. Springer. 49–50.

Geffers, Christine – Farr, Barry M. 2005. Positive predictive value of a percutaneously drawn blood culture growing skin flora varies markedly by organism. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 26 (6): 507–509.

Grice, Elizabeth A. – Serge, Julia A. 2011. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology* 9 (4): 244–253.

HUSLAB-tutkimusohjekirja. 2012. Bakteeri, veriviljely, seulomaton näyte. HUSLAB, Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/1153.html>>. Luettu 4.12.2012.

Kim, Ji Yeon – Rosenberg, Eric S. 2011. The Sum of the Parts Is Greater Than the Whole: Reducing Blood Culture Contamination. *Annals of Internal Medicine* 154 (3): 202–203.

Kim, Nak-Hyun – Kim, Moonsuk – Lee, Shinwon – Yun, Na Ra – Kim, Kye-Hyung – Park, Sang Won – Kim, Hong Bin – Kim, Nam-Joong – Kim, Eui-Chong – Park, Wan Beom – Oh, Myoung-don 2011. Effect of routine sterile gloving on contamination rates in blood culture. *Annals of internal medicine* 154 (3).145–151.

Klorhexol® 5mg/ml, väritön liuos. 2005. Valmisteyhteenveto. Leiras.

Kube, Michael – Migdoll, Alexander M. – Gehring, Isabel – Heitmann, Katja – Mayer, Yvonne – Kuhl, Heiner – Knaust, Florian – Geider, Klaus – Reinhardt, Richard 2010. Genome comparison of the epiphytic bacteria *Erwinia billingiae* and *E. tasmaniensis* with the pear pathogen *E. pyrifoliae*. *BMC Genomics* 393 (11). 1.

Mahon, Connie R. – Manuselis, George 2000. Textbook of Diagnostic Mikrobiology. 290-291

Malani, Anurag – Trimble, Kim – Parekh, Vikas – Chenoweth, Carol – Kaufman, Samuel – Saint, Sanjay 2007. Review of Clinical Trials of Skin Antiseptic Agents Used to Reduce Blood Culture Contamination. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 28 (7): 892–895.

Marlowe, Lauren – Mistry, Rakesh D. – Coffin, Susan – Leckerman, Kateri H. – McGowan, Karin L. – Dai, Dingwei – Bell, Louis M. – Zaoutis, Theoklis 2010. Blood culture contamination rates after skin antisepsis with chlorhexidingluconate versus povidone-iodine in a pediatric emergency department. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 31 (2).171–176.

Meurman, Jukka H. 2011. Suunsairaudet. Teoksessa Neuvonen, Pertti J. – Backman, Janne T. – Himberg, Jaakko-Juhani – Huupponen, Risto – Keränen, Tapani – Kivistö, Kari T (toim.): Kliininen farmakologia ja lääkehoito. 2. painos. Helsinki: Kandaattikustannus Oy. 374.

Mimoz, Oliver – Karim, Amal – Mercat, Alain – Cosseron, Marie – Falissard, Bruno – Parker, Fabrice – Richard, Christian – Samii, Kamran – Nordmann, Patrice 1999. Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture. *Annals of internal medicine* 131 (11). 834–837.

Raasmaja, Asto – Männistö, Pekka M. 2007. Farmakologia ja toksikologia. Kuopio: Medicina. 913–924.

Ramirez-Arcos, Sandra – Goldman, Mindy 2010. Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplantation results. *Transfusion* 50 (1): 59–64.

Riedel, Stefan – Carroll, Karen C. 2010. Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother* 16 (5): 301–316.

Rintala, Esa – Valtonen, Ville 2011. Sepsis. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Duodecim. 592–599.

Saksala, Piia – Somerharju, Liisa 2010. Sosiaali- ja terveysalan Fysiikka ja kemia. Helsinki: Edita. 231.



Strelkauskas, Anthony – Moszyk-Strelkauskas, Danielle 2010. Microbiology: a clinical approach. Garland Science. 8, 35, 117–119, 421–423.

Veriviljelypositiiviset sairaalainfektiot. Seurantakäsikirja. Sairaalainfektio-ohjelma (SIRO). Kansanterveyslaitoksen julkaisuja C11/2005.

Vitek® MS: Automated microbial identification within minutes. Biomérieux Clinical Diagnostics. Verkkodokumentti. <[http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?doc=CNL\\_CLN\\_PRD\\_G\\_PRD\\_CLN\\_72](http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?doc=CNL_CLN_PRD_G_PRD_CLN_72)>. Luettu 22.3.2013.

Vitek® MS: What is mass spectrometry & MALDI-TOF. Biomérieux Clinical Diagnostics. Verkkodokumentti. <[http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-osticdiagns/dynPage?open=CNL\\_CLN\\_PRD&doc=CNL\\_CLN\\_PRD\\_G\\_PRD\\_CLN\\_72&pubparams.sform=1&lang=en](http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-osticdiagns/dynPage?open=CNL_CLN_PRD&doc=CNL_CLN_PRD_G_PRD_CLN_72&pubparams.sform=1&lang=en)>. Luettu 22.3.2013.

Willey, Joanne M. – Sherwood, Linda M. – Woolverton, Christopher J. 2008. Prescott, Harley, and Klein's Microbiology. New York : McGraw-Hill Higher Education. 735–737.

## Tutkittavien esitiedot

TUTKITTAVA	SUKUPUOLI	IKÄ	PESEYTYMINEN
1	nainen	31	13
2	nainen	22	24
3	mies	28	12
4	mies	30	12
5	mies	23	14
6	mies	21	15
7	mies	22	14
8	mies	23	5
9	nainen	29	24
10	nainen	19	14
11	nainen	20	13
12	nainen	23	4
13	nainen	20	4
14	nainen	28	15
15	mies	25	6
16	nainen	21	>24
17	nainen	22	15
18	nainen	39	3
19	mies	28	6
20	nainen	29	18
21	nainen	25	20
22	nainen	21	18
23	nainen	25	17
24	nainen	22	18
25	nainen	22	18

TUTKITTAVA	SUKUPUOLI	IKÄ	PESEYTYMINEN
26	mies	22	2
27	nainen	22	14
28	nainen	24	24
29	nainen	24	24
30	nainen	20	12
31	nainen	20	13
32	nainen	21	11
33	nainen	26	12
34	nainen	23	24
35	mies	22	12
36	nainen	27	13
37	mies	25	12
38	nainen	27	15
39	nainen	30	>24
40	nainen	32	5
41	nainen	44	5
42	nainen	24	25
43	nainen	25	4
44	nainen	21	6
45	mies	25	3
46	nainen	30	15
47	nainen	25	15
48	nainen	27	19
49	mies	27	12
50	nainen	22	17

## Näytteissä esiintyneet bakteerit

1. *Staphylococcus aureus* (koagpos) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
2. *Staphylococcus saccharolyticus* (koagpos) (g+ k, anaerobi)
3. *Staphylococcus epidermidis* (koagneg) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
4. *Staphylococcus saprophyticus* (koagneg) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
5. *Staphylococcus capitis* (koagneg) (g+ k, aerobi)
6. *Staphylococcus hominis* ssp *hominis* (koagneg) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
7. *Staphylococcus cohnii* ssp *urealyticus* (koagneg) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
8. *Staphylococcus warneri* (koagneg) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
9. *Staphylococcus haemolyticus* (koagneg) (g+ k, fakultatiivinen anaerobi)
10. *Staphylococcus lugdunensis* (koagneg) (g+ k, aerobi)
11. *Streptococcus salivarius* ssp *thermophilus* (g+ k, fakultatiivinen anaerobi, viridans laji, suun bakteeri)
12. *Dermacoccus nishinomiyaensis* (g+ k, aerobi)
13. *Micrococcus luteus*/lylae (g+ k, aerobi)
14. *Paracoccus yeei* (g- kokkibasilli, aerobi)
15. *Propionibacterium acnes* (g+ s, aerotolerant anaerobic)
16. *Corynebacterium glucuronolyticum* (g+ s, aerobi/fakultatiivinen anaerobi)
17. *Bacillus cereus* (g+ sauvamainen, fakultatiivinen anaerobi)
18. *Moraxella osloensis* (g- s, aerobi)
19. *Prevotella buccalis* (g- s, anaerobi, opportunistinenpatogeeni)
20. *Prevotella disiens* (g- s, anaerobi, opportunistinen patogeeni, suun mikrobeja)
21. *Erwinia billingiae* (g- s, kasvien pinnoilla)
22. *Dietzia cinnamea* (g+ muoto kokista sauvaan, aerobi)
23. *Gemella sanguinis* (g+ k, fakultatiivinen anaerobi, suun mikrobeja)
24. *Escherichia coli* (g- s)
25. *Rothia dentocariosa* (g+ muoto kokista sauvaan, aerobi, suun mikrobeja)