

Opinnäytetyö (AMK)  
Bioanalytiikka  
Kliininen mikrobiologia  
2012

Viivi Liukko

# OIREETTOMIEN STREPTOKOKKI-A-KANTAJIEN KARTOITTAMINEN NIEUVILJELYLLÄ



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

Turun ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka | Mikrobiologia

Helmikuu 2013| 36+6

Annika Brandt, Leila Tiilikka & Mika Venojärvi

Viivi Liukko

## OIREETTOMIEN STREPTOKOKKI-A-KANTAJIEN KARTOITTAMINEN NIELUVILJELYLLÄ

*Streptococcus pyogenes* on tärkein ja tavallisin nielu- ja nielurisatulehduksen aiheuttaja ja sen löytyminen oireilevan potilaan nielusta on aina kliinisesti merkitsevää. Infektion hoitaminen on ensisijaisen tärkeää hoitamattomasta infektiosta aiheutuvien vaikeusasteeltaan vaihtelevien jälki- ja seurannaistautien takia. *S. pyogenes* aiheuttaa infektioita lähinnä leikki-ikäisillä lapsilla sekä nuorilla aikuisilla, mutta myös vanhuksilla.

*S. pyogenes*in oireeton nielukantajuus on yleisintä leikki-ikäisillä lapsilla, joilla se voi olla jopa 15 – 20 % luokkaa. Aikuisilla oireeton nielukantajuus on kuitenkin oleellisesti harvinaisempaa sen ollessa alle 5 %. Oireeton nielukantaja on itse täysin oireeton, mutta levittää silti bakteeria tehokkaasti.

Opinnäytetyö on osa Turun ammattikorkeakoulun Agricola – hanketta, jonka tarkoituksena on yhdessä Turun AMK:n bioalojen sekä diagnostiikka-alan yritysten kanssa diagnosointimenetelmien kehittäminen sekä hoitoprosessien nopeuttaminen. Opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia nieluviljelyn avulla *S. pyogenes*in oireettoman nielukantajuuden esiintymistä Turun AMK:n terveysalan opiskelijoilla ja henkilökunnalla. Tarkoituksena on myös suorittaa menetelmävertailua nieluviljelyn, PCR – menetelmän sekä antigeeninosoitustestin välillä.

Aineistosta (n=109) löytyi nieluviljelyllä kaksi (1,8 %), antigeeninosoitustestillä kuusi (5,5 %) ja PCR – menetelmällä 57 (52,3 %) positiivista näytettä, joista oireettomiksi kantajiksi todettiin kuusi koehenkilöä.

Tutkimustulosten perusteella voidaan nieluviljelyä pitää edelleen parhaana menetelmänä taudin kliinisessä diagnostiikassa. Nieluviljely ja antigeeninosoitustesti korreloivat hyvin keskenään, vaikkakaan kaikkien antigeeninosoitustestillä saatujen positiivisten tulosten kohdalla ei voida olla varmoja, oliko osa niistä väärää positiivisia tuloksia. PCR – menetelmä ei tutkimuksen mukaan ollut vielä valmis kliiniseen käyttöön ja sitä tulee vielä jatkossa kehittää luotettavampien tulosten aikaansaamiseksi.

ASIASANAT:

*Streptococcus pyogenes*, nielunäytteenotto, oireeton nielukantajuus, nieluviljely

Viivi Liukko

## DETECTING ASYMPTOMATIC CARRIERS OF GROUP A STREPTOCOCCI WITH THROAT CULTURE

*Streptococcus pyogenes* is the most common and the most important bacterium causing tonsillitis and pharyngitis and it is always a significant finding when having symptoms related to these infections. It is also very important to treat the infection because of the large number of the possible sequelae. *S. pyogenes* most commonly causes infections among preschoolers and youths but also among senior citizens.

Asymptomatic throat carriage of *S. pyogenes* is most common among preschoolers of whom even 15 – 20 % are carriers. Throat carriage of adults is significantly less common, only less than 5 %. Asymptomatic throat carrier has no symptoms but still spreads the bacteria effectively causing diseases among other people.

The Bachelor's thesis is a part of a project Agricola, a project of Turku University of Applied Sciences (TUAS), which aim is together with degree programme of Bio Technology and diagnostic companies to develop diagnostic methods and to rush the treatment process. The aim of this study is to detect asymptomatic carriers of *S. pyogenes* among healthcare students and staff of TUAS. The aim is also to compare the results of throat culture, antigen detection test and PCR – method with each other.

By analyzing the data (n=109) two positive results (1,8 %) were found with throat culture, six (5,5 %) with antigen detection test and 57 (52,3 %) with PCR – method. Six of the testees were given a call about the positive result of the throat carriage.

According to the results of the study, throat culture can be held as the best method of diagnosing tonsillitis and pharyngitis in clinical work. The results of throat culture and antigen detection test correlated well with each other although it may be that some of the positive results of the antigen detection test were wrong positive results. Also according to the results, PCR – method was not ready to be used in clinical work and it should be developed in order to get more reliable results.

### KEYWORDS:

Streptococcus pyogenes, throat sampling, asymptomatic throat carriage, throat culture

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>6</b>
<b>2 STREPTOCOCCUS PYOGENEKSEN DIAGNOSOIMINEN NIELUVILJELYLLÄ</b>	<b>8</b>
2.1 Streptococcus pyogeneksen rakenne ja virulenssitekijät	8
2.2 Tartuntatavat, hoito ja immuniteetti	9
2.3 Nielunäytteen tutkimusprosessi	10
<b>3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT</b>	<b>15</b>
<b>4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS</b>	<b>16</b>
4.1 Tutkimusaineiston kerääminen	16
4.2 Näytteiden käsittely ja analysointi	19
4.2.1 Nieluviljely	19
4.2.2 Streptokokkiagglutinaatiotesti	20
4.2.3 mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustesti	21
4.2.4 RT-qPCR – menetelmä	21
4.3 Metodologiset lähtökohdat	22
4.4 Eettisten näkökohtien tarkastelu	23
<b>5 TULOKSET</b>	<b>25</b>
<b>POHDINTA</b>	<b>30</b>
<b>LÄHTEET</b>	<b>35</b>

## LIITTEET

- Liite 1. Opinnäytetyön toimeksiantosopimus
- Liite 2. Tutkimuksen suostumuslomakepohja

## KUVAT

Kuva 1. Kurkkukivun Mclsaac-oirepisteytys	11
Kuva 2. Nielunäytteen näytteenottokohdat	12
Kuva 3. Viljelymalli	20
Kuva 4. <i>Streptococcus pyogenes</i> (näyte 43) lampaanverimaljalla.	25
Kuva 5. C – streptokokki (näyte 36) lampaanverimaljalla.	26

## KUVIOT

Kuvio 1. Aineiston ikäjakaumuokittelu.	17
Kuvio 2. Aineiston sukupuolijakauma.	17
Kuvio 3. Negatiivisten ja positiivisten näytteiden prosenttiosuudet ja lukumäärät	27

## TAULUKOT

Taulukko 1. Poikkeamat esivalmisteluissa ja näytteenotossa.	19
Taulukko 2. Useammalla kuin yhdellä menetelmällä saadut positiiviset tulokset.	28
Taulukko 3. PCR:llä löydetyt positiiviset näytteet verrattuna muilla menetelmillä löytyneisiin muihin hengitystiepatogeeneihin.	29

# 1 JOHDANTO

Kurkkukipu on sekä lasten että aikuisten yleisin lääkärin vastaanotolle hakeutumisen syy. Kurkkukipu johtuu usein nielu- tai nielurisatulehduksesta, joita voivat aiheuttaa sekä bakteerit että virukset. Nielutulehdus on todennäköisimmin kyseessä silloin, kun potilaan hengitystieinfektioon liittyvät oireet rajoittuvat kurkkukipuun ja kuumeeseen. Tärkein ja tavallisin nielu- tai nielurisatulehduksen aiheuttaja on A – ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki, *Streptococcus pyogenes* (GABHS). (Jalanko 2009; Alho ym. 2012.) GABHS:n löytyminen oireilevan potilaan nielusta on aina merkitsevää ja taudin hoitaminen erityisen tärkeää, sillä hoitamattomasta infektiosta voi seurata monia vaikeusasteeltaan vaihtelevia jälki- ja seurannaistauteja, kuten kurkkupaisetta, poskiontelo- ja korvatulehdusta sekä harvinaisempia reumakuumetta ja munuaiskerästulehdusta (Ozturk ym. 2004; Tarnainen ym. 2012). GABHS aiheuttaa tauteja pääasiassa leikki-ikäisillä lapsilla sekä nuorilla aikuisilla, mutta myös vanhuksilla (Heikkilä ym. 2005; Vuopio-Varkila ym. 2010). Aikuisten nieluinfektioista GABHS aiheuttaa noin 5 – 10 %. Alle kolmevuotiailla beetahemolyyttisten streptokokkien aiheuttamat taudit ovat sen sijaan harvinaisia. (Alho ym. 2012.)

GABHS:n oireettomia kantajia on tutkittu olevan noin 5 – 15 % väestöstä (Ozturk ym. 2004; Rijal ym. 2009). Kouluikäisistä oireettomia kantajia voi olla jopa 15 – 20 %, mutta aikuisten kantajuus on oleellisesti harvinaisempaa (Vuopio-Varkila ym. 2010.) Nielutulehduksen esiintymisessä on havaittavissa vuodenaikaisvaihtelua, sillä talvikuukausien aikana GABHS:n aiheuttamia infektioita esiintyy enemmän kuin kesäkuukausien aikana. Lisäksi geologisella sijainnilla ja valtion kehitysasteella on havaittu olevan vaikutusta oireettoman kantajuuden esiintymiseen väestössä. (Ozturk ym. 2004; Rijal ym. 2009; Vuopio-Varkila ym. 2010.) Kehitysmaissa GABHS:n oireeton kantajuus ja sen aiheuttamat lieväoireiset infektiot sekä jälkitaudit ovat erittäin yleisiä tai vähintäänkin tavallisia (Vuopio-Varkila ym. 2010). Sekä oireilevat potilaat että

oireettomat kantajat levittävät bakteeria, mutta oireettomien kantajien kohdalla hoito ei ole välttämätön, ellei heistä aiheudu GABHS – kierrettä yhteisöissä (Jalanko 2009; Vuopio-Varkila ym. 2010).

Opinnäytetyö on osa Agricola – hanketta, jonka tarkoituksena on tutkia oireettoman GABHS – kantajuuden esiintymistä Turun ammattikorkeakoulun terveysalan opiskelijoilla ja henkilökunnalla kolmella eri menetelmällä: perinteisellä nieluviljelyllä, mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä sekä PCR – menetelmällä. Opinnäytetyön tarkoituksena on lisäksi selvittää eri menetelmien herkkyys GABHS:n diagnosoinnissa. Koehenkilöt olivat tutkimushetkellä täysin terveitä. Aikaisemmat tutkimukset osoittavat nieluviljelyn olevan hitaudestaan huolimatta pikatestejä herkempi tapa tutkia GABHS:n esiintymistä nielussa (Uhl ym. 2002; Lee ym. 2008). PCR – menetelmä ja nieluviljely ovat tutkimusten mukaan lähes yhtä spesifejä menetelmiä GABHS:n esiintyvyyden tutkimiseen kaupallisten pikatestien antaessa huomattavasti huonompia tuloksia (Uhl ym. 2002). Tutkimuksen tavoitteena on tuottaa tietoa eri menetelmien herkkyydestä, jotta tulevaisuudessa osattaisiin valita paras menetelmä GABHS:n tunnistamiseksi.

## 2 STREPTOCOCCUS PYOGENEKSEN DIAGNOSOIMINEN NIELUVILJELYLLÄ

### 2.1 Streptococcus pyogeneksen rakenne ja virulenssitekijät

A – ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki (GABHS) eli *Streptococcus pyogenes* on grampositiivinen ketjukokki, joka kasvaa parhaiten hiilidioksidipitoisissa olosuhteissa vaatimatta niitä kuitenkaan ehdottomasti (Heikkilä ym. 2005; Vuopio-Varkila ym. 2010). Grampositiiviset bakteerit värjäytyvät gramvärjäyksessä sinivioleteiksi, sillä niiden soluseinä on gramnegatiivisia bakteereja yksinkertaisempi (Liimatainen 2000; Heikkilä ym. 2005). Grampositiivisten bakteerien rakenne koostuu kapselista, teikkohappoja, proteiineja sekä polysakkarideja sisältävästä kerroksesta, gramnegatiivisia bakteereja paksummasta peptidoglykaanista sekä plasmamembraanista. Peptidoglykaani antaa solun seinälle jäykkyyttä, muotoa sekä mekaanista suojaa. Mikrobilääkkeiden toiminta perustuu niiden kykyyn häiritä peptidoglykaanin synteesiä tappaen bakteerin vahingoittamatta ihmisen soluja. (Heikkilä ym. 2005.)

A – streptokokin tärkein virulenssitekijä on kapselin alla olevan proteiinkerroksen M – proteiini. M – proteiinit on pystytty tyypittämään yli 80 antigeenityyppiin, joiden perusteella A – streptokokit voidaan jakaa serotyyppeihin. Kolmannessa kerroksessa kapselista katsoen sijaitsee ryhmäspesifinen polysakkaridi, eli niin sanottu C – polysakkaridi, joka on kiinnittynyt peptidoglykaanin mukopeptidikerrokseen. Peptidoglykaaniin kiinnittyneet lipoteikkohapot auttavat bakteeria kiinnittymään epiteelisolujen pintaan. Vastikään on myös pystytty tunnistamaan soluun kiinnittyvä peptidaasi, joka pilkkoo C5a:ta ja Sic – proteiini, joka estää komplementin toimintaa. (Vuopio-Varkila ym. 2010.)

A – streptokokin tuottamilla eksoentsyymeillä ja –toksiineilla on myös merkitystä bakteerin taudinaiheuttamiskykyyn. Sen tuottamat hemolysiinit O ja

S aiheuttavat verimaljalla havaittavan hemolyysin, eli punasolujen hajoamisen. Fibrinolyysiä aiheuttava streptokinaasi, hyaluronidaasi sekä neljä erilaista deoksiribonukleaasia edesauttavat bakteerin etenemistä kudoksessa. A – streptokokkikannat tuottavat lisäksi pyrogeenisia eksotoksiineja, joista erytrogeeninen toksiini tyyppi A:ta tavataan usein toksisen sokkioireyhtymän sekä vakavan tulirokon yhteydessä. (Vuopio-Varkila ym. 2010.)

## 2.2 Tartuntatavat, hoito ja immuniteetti

A-streptokokki leviää tavallisesti pisaratartuntana lähikontaktissa sekä eritteiden välityksellä esimerkiksi märkäisen infektion yhteydessä. Läheinen kontakti esimerkiksi perheissä, päiväkodeissa ja armeijassa lisää tartuttavuutta. A-streptokokki voi levitä myös mikrobilla kontaminoituneen ruuan välityksellä, josta seurauksena voi olla nielutulehdusepidemia. (Vuopio-Varkila ym. 2010; Alho ym. 2012.) Epidemiaksi luetaan tilanne, jossa kuukauden sisällä 15 – 20 prosenttia ryhmästä sairastuu streptokokin aiheuttamaan nielutulehdukseen. Tärkeintä tällaisessa tilanteessa on epidemian nopea tunnistaminen ja sairastuneiden yhtäaikainen hoito. Lisäksi kaikilta ryhmän jäseniltä, sekä oireilevilta että oireettomilta, otetaan nielunäytteet, minkä lisäksi myös lähipiirin oireilevat henkilöt tulisi tutkia. (Alho ym. 2012.) Epidemioiden yhteydessä havaitaan usein jälkitauteja sekä kohonneita AST – arvoja, mitkä voidaan selittää A-streptokokin virulentimmalla kannalla (Vuopio-Varkila 2010).

Hoidon tavoitteena on lievittää potilaan oireita ja estää komplikaatioiden syntymistä hävittämällä A-streptokokki nielusta (Alho ym. 2012). A-streptokokki-infektion hoidossa käytetään muun muassa penisilliinejä, kefalosporiineja, makrolideja sekä klindamysiiniä, joista penisilliini on nielutulehduksen hoidossa yleisimmin käytetty mikrobilääke, jota kohtaan resistenssiä ei ole vielä ilmaantunut. Tetrasykliiniresistenssi on sitä vastoin yleistynyt vuosien kuluessa, minkä vuoksi kyseinen lääkeaine ei kuulu enää taudinhoitoon suositeltavien mikrobilääkkeiden ryhmään. (Vuopio-Varkila ym. 2010.) Mikrobilääkityksellä nopeutetaan A-streptokokki-infektion oireiden ja kliinisten löydösten häviämistä sekä estetään epidemioiden syntyminen. Jälkitautilien ennaltaehkäisyssä

antibioottien käytöllä ei ole havaittu olevan juuri minkäänlaista merkitystä. Ne vähentävät kuitenkin reumakuumeen sekä mahdollisesti glomerulonefriitin ilmaantuvuutta. (Alho ym. 2012.)

A-streptokokki-infektiota hoidetaan kymmenen vuorokauden mittaisella mikrobilääkityksellä (Vuopio-Varkila ym. 2010). Tavallisesti hoito tehoaa A-streptokokin aiheuttamaan tulehdukseen jo muutamassa päivässä (Alho ym. 2012). Syy hoidon epäonnistumiseen löytyy yleensä lähipiiristä, josta mikrobilääkkeitä syövä potilas on saanut hoidon aikana uuden infektion. Jos infektiokierre jatkuu, potilaalta on syytä ottaa uusi nielunäyte ja oireettomilta läheisiltä nieluviiljelyt. Oireettomia läheisiä voidaan tällaisessa tilanteessa hoitaa myös antibiooteilla. Tavallisesti oireettomien kantajien hoitaminen on tarpeetonta, mikäli kyseessä ei ole esimerkiksi hoitotyötä tekevä henkilö tai mikäli kantajan perheenjäsen ei ole aiemmin sairastanut reumakuumetta. (Vuopio-Varkila ym. 2010.)

A-streptokokki-infektion aikana potilaalle kehittyy vasta-aineita bakteerin eri komponentteja vastaan. Oireeton kantajuus taas ei oletettavasti käynnistä vasta-ainetuotantoa, vaikka subkliinisen infektion yhteydessä vasta-aineita on havaittu jo muodostuvan. Vasta-aineita ei muodostu myöskään silloin, kun antibioottihoito aloitetaan heti infektion alussa. M-proteiinivasta-aineet opsonisoivat ja suojaavat ihmistä uusilta infektioilta. Sairastuvuus vähenee kuitenkin vasta jatkuvan immunisoitumisen myötä, sillä M-proteiineja on kymmeniä eri serotyyppiä. (Vuopio-Varkila ym. 2010).

### 2.3 Nielunäytteen tutkimusprosessi

Nieluviiljely on varmin keino osoittaa A-streptokokki nielunäytteestä ja epidemia-aikaan se onkin ainut käytettävä menetelmä taudinaiheuttajan tunnistamiseksi (Vuopio-Varkila ym. 2010; Alho ym. 2012). Laadukkaan nielunäytteen takaamiseksi potilaan ei tulisi juoda, syödä, imeskellä kurkkutabletteja eikä käyttää desinfiioivia suuhuuhteita vähintään tuntiin ennen näytteenottoa. Jopa pelkän veden juominen vähentää nielun bakteerien määrää ja heikentää siksi saadun näytteen laadukkuutta. (Heikkilä ym. 2005.) Menetelmänä nieluviiljely on

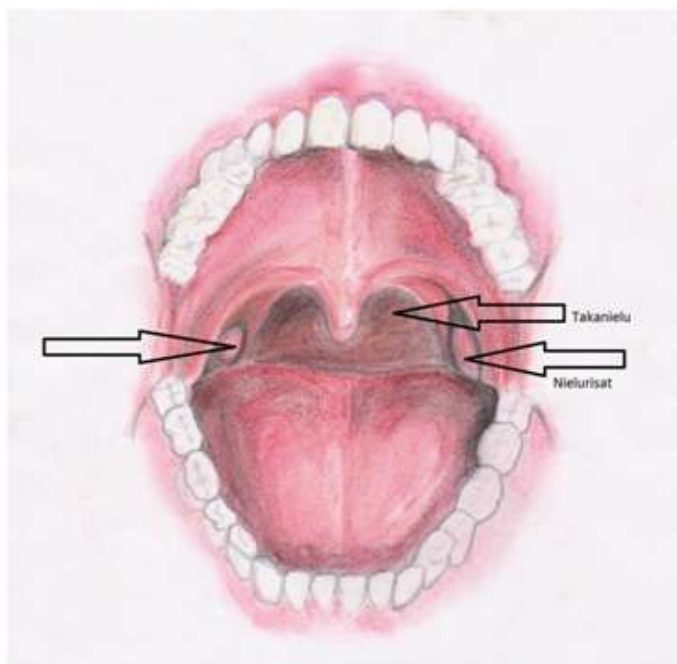
helppo ja teknisesti ottaen yksinkertainen, mutta viljelmien tulkinta vaatii paljon kokemusta ja ammattitaitoa (Vuopio-Varkila ym. 2010; Alho ym. 2012).

Nielunäytettä ei tarvitse ottaa potilailta, jotka saavat jonkin muun infektion takia streptokokkiinkin tehoavaa mikrobilääkettä. Näyte otetaan tavallisimmin potilailta, joilla epäillään streptokokin aiheuttamaa infektiota Mclsaac – oirepisteytyksen perusteella. Pisteytys on validoitu avohoidossa eri ikäryhmille ja sen herkkyys A-streptokokin osoittamiseksi on 85 % ja spesifisyys 92 %. Mitä enemmän potilas siis saa oirepisteitä sitä varmemmin hän sairastaa juuri streptokokin aiheuttamaa infektiota. (Alho ym. 2012.)

Esitietoihin perustuva tai mitattu kuume yli 38 °C	1 piste
Yskän puuttuminen	1 piste
Leuanalusimusolmukkeiden turvotus	1 piste
Nielurisojen turvotus tai peitteet	1 piste
Ikä alle 15 vuotta	1 piste
Ikä vähintään 45 vuotta	-1 piste

Kuva 1. Kurkkukivun Mclsaac-oirepisteytys (Alho ym. 2012).

Nielunäyte otetaan vanutikulla. Näytetikkoa pyöritetään napakasti painaen potilaan nielurisoissa sekä takanielun limakalvolla tarvittavan näytemäärän varmistamiseksi. Jos potilaan nielurisojen pinnalla havaitaan valkeita peitteitä, näytetikkoa tulisi pyöritellä näillä alueilla. Näytetikulla tulee välttää kontaktia suun muiden limakalvojen sekä kielen kanssa, jotta näyte ei kontaminoituisi normaaliflooralla. (Heikkilä ym. 2005; Vuopio-Varkila ym. 2010.)



Kuva 2. Nielunäytteen näytteenottokohdat (Meriluoto 2012a; mukailtu).

Nielunäytteen viljelyalustana käytetään tavallisesti punaista lampaanverimaljaa, jolla streptokokit kasvavat hyvin  $+35 - +37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa (Heikkilä ym. 2005; Vuopio-Varkila ym. 2010). Alustana voidaan käyttää myös juuri streptokokkien viljelyyn tarkoitettua lampaanverimaljaa. Näyte voidaan lisäksi viljellä kaupallisesti saatavalle Streptocult® - aluslevylle. Aluslevyn kanssa menetellään samalla tavalla kuin tavalliselle maljalle viljelyn näytteen kanssa. Jos maljoja tai aluslevyjä ei ole käytettävissä, näyte tulee ottaa geelikuljetusputkeen ja lähettää tutkittavaksi tukilaboratorioon mahdollisimman nopeasti. Geelikuljetusputkea käytettäessä näyte tulee säilyttää jääkaapissa, mikäli sitä ei saada viljeltyä vuorokauden kuluessa näytteenotosta. (Heikkilä ym. 2005; TYKSLAB 2011.) Useat laboratoriot käyttävät tarvittaessa selektiivisiä elatusaineita streptokokkien löytämisen helpottamiseksi (Vuopio-Varkila ym. 2010).

Vanutikusta nielunäyte viljellään viljelyalustalle hajotusviljelytekniikkaa käyttäen. Aluksi näytteenottotikulla pyyhitään noin neljäsosa maljasta tihein vedoin. Tämän jälkeen tehdään ensimmäinen hajotus, joka tapahtuu viljelysauvaa tai -silmukkaa käyttäen. Maljaa käännetään noin neljännes ja pumpulitikulla tehty

viljely hajotetaan siten, etteivät vedot kosketa toisiaan. Ensimmäisellä hajotuksella viljellään noin puolet maljan pinta-alasta. Ennen toista hajotusta sauva käännetään ja se viedään vain pariin kertaan ensimmäisellä hajotuksella tehdyn viljelyn ylitse, minkä jälkeen sauvalla tehdään ”häntä”, josta yksittäiset bakteeripesäkkeet inkuboinnin jälkeen erottuvat. (Heikkilä ym. 2005.)

Beetahemolyyttinen streptokokki erotetaan maljalta muusta bakteerikasvustosta kirkkaan hemolyysin ansiosta jo 18 – 24 tunnin kuluttua näytteen viljelystä. A-streptokokin erottaminen muista beetahemolyttisista streptokokeista vaatii kuitenkin kokemusta. (Alho ym. 2012; Vuopio-Varkila ym. 2010.) Mikäli viljelytulos on vuorokauden inkuboinnin jälkeen negatiivinen, näytettä kasvatetaan vielä seuraavaan päivään, jolloin kasvu vielä tarkistetaan mahdollisen positiivisen tuloksen löytämiseksi (Alho ym. 2012).

Bakteerin ryhmä voidaan määrittää joko agglutinaatiotestillä tai basitrasiinikiekon avulla. Latex–agglutinaatiotesti on helppo ja nopea tapa ryhmittää beetahemolyyttinen streptokokki. (Vuopio-Varkila ym. 2010.) Kaupallisesti saatavalla pakkauksella voidaan määrittää A-, B-, C-, D-, F- ja G-ryhmän streptokokit. Eri ryhmien streptokokit pystytään erottamaan toisistaan eri streptokokeille ominaisten hiilihydraattiantigeenien avulla. Pakkauksen reagenssit sisältävät jokainen latex-partikkeleita, jotka on päällystetty eri ryhmien ryhmäspesifeillä vasta-aineilla. Ryhmäspesifit vasta-aineet reagoivat bakteerisuspensiossa vastaavien ryhmäspesifien antigeenien kanssa muodostaen silmällä havaittavan sakan. Jos suspensio ei sisällä etsittyä pinta-antigeeniä, sakkaa ei synny. (Thermo Scientific 2012.)

Basitrasiinitestissä basitrasiiniherkkyyskiekko asetetaan joko alkuperäiselle nieluviljelylle tai primaariviljelystä eristetyille puhtasviljelmälle. Basitrasiinitesti ei ole kuitenkaan varmuudeltaan sataprosenttinen, sillä A-ryhmän streptokokeista noin 97 prosenttia mutta myös 6 – 8 prosenttia C- ja G-ryhmän streptokokeista on sille herkkiä. Tällöin osa C- ja G-streptokokeista diagnosoidaan virheellisesti A-streptokokeiksi. (Vuopio-Varkila ym. 2010.) Basitrasiinitestin epävarmuuden takia, kaikki streptokokkikasvustot tulisi lisäksi tutkia agglutinaatiomenetelmällä

(Blomberg 2012). Basitrasiinitestin herkkyuden *Streptococcus pyogeneksen* tunnistamiseksi on todettu olevan 100 % (Nissinen 1998).

Negatiiviset löydökset on varsin helppo karsia positiivisista, minkä lisäksi runsas *S. pyogenes* - kasvusto on suhteellisen helposti tulkittavissa. Positiiviset ja epäselvät alustat olisi hyvä lähettää tukilaboratorioon jatkoviljelyyn streptokokin ryhmän varmistamiseksi. (Vuopio-Varkila ym. 2010.) Nieluviljelyn A-streptokokkilöydös katsotaan aina nielutulehduksen aiheuttajaksi. Positiivinen tulos ei kuitenkaan kerro, onko kyseessä akuutti A-streptokokki-infektio vai bakteerin krooninen kantajuus. (Alho ym. 2012.)

### 3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia oireettomien *Streptococcus pyogeneksen* kantajien esiintymistä pääasiassa terveillä nuorilla aikuisilla kolmella eri menetelmällä: PCR – menetelmällä, mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä sekä perinteisellä nieluviljelyllä. Edellä mainittuja menetelmiä ja niillä saatuja tuloksia on myös tarkoitus vertailla keskenään. Tutkimuksen tarkoituksena on myös selvittää, montako oireetonta kantajaa löydetään käyttämällä menetelmänä nieluviljelyä, eli kuinka herkkä nieluviljely on *S. pyogeneksen* diagnosoimiseksi.

Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa luotettavaa tutkimustietoa, jonka perusteella voidaan vertailemalla tehdä päätelmiä siitä, mikä menetelmä tuottaa herkintä tietoa taudinaiheuttajan tai sen oireettoman kantajuuden diagnosoimiseksi.

Opinnäytetyön tutkimusongelmat ovat:

- Kuinka monta *Streptococcus pyogeneksen* kantajaa löytyy nieluviljelyllä verrattuna muihin menetelmiin?
- Korreloivatko nieluviljelyllä saadut tulokset muilla menetelmillä tuotettujen tulosten kanssa?

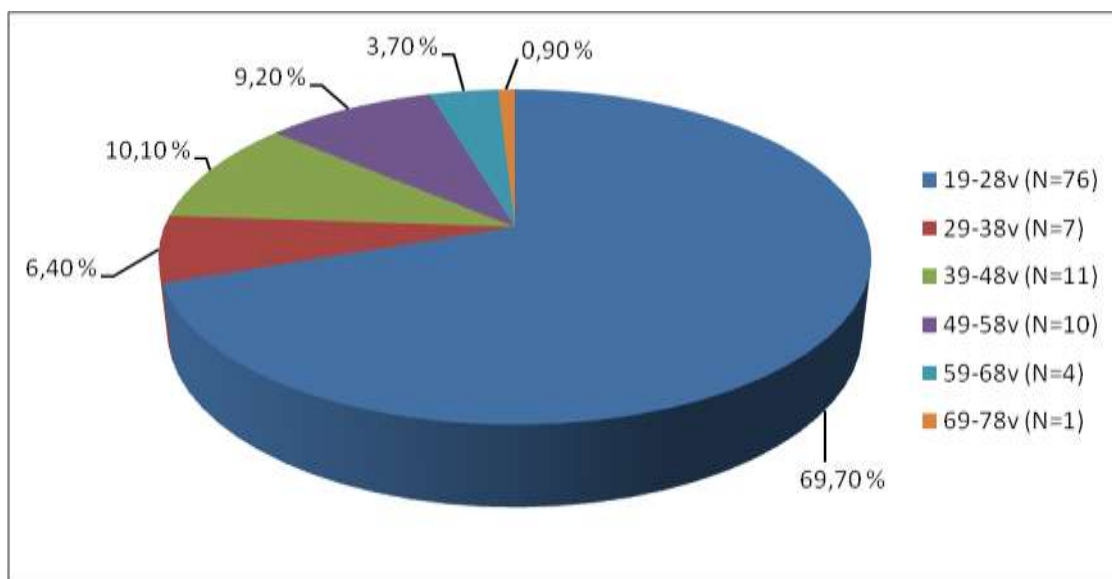
## 4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

Opinnäytetyö on osa Turun ammattikorkeakoulun Agricola – hanketta, jonka tarkoituksena on kehittää non-invasiivisia näytteenottomenetelmiä terveyden edistämiseksi. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia *Streptococcus pyogenes*in oireettoman nielukantajuuden esiintymistä. Agricola – hanke pitää sisällään kolme opinnäytetyötä, joissa jokaisessa tutkitaan oireetonta nielukantajuutta eri menetelmällä. Tässä opinnäytetyössä oireetonta nielukantajuutta on tutkittu nieluviilijellyllä. Opinnäytetyön toimeksiantosopimus allekirjoitettiin toukokuussa 2012 koulutuspäällikkö Leila Tiilikan sekä ArcDia:n edustajan Janne Koskisen kanssa. Opinnäytetyön ohjaajina toimivat Turun ammattikorkeakoulun lehtorit Mika Venojärvi ja Annika Brandt. Toimeksiantosopimus liitteenä.

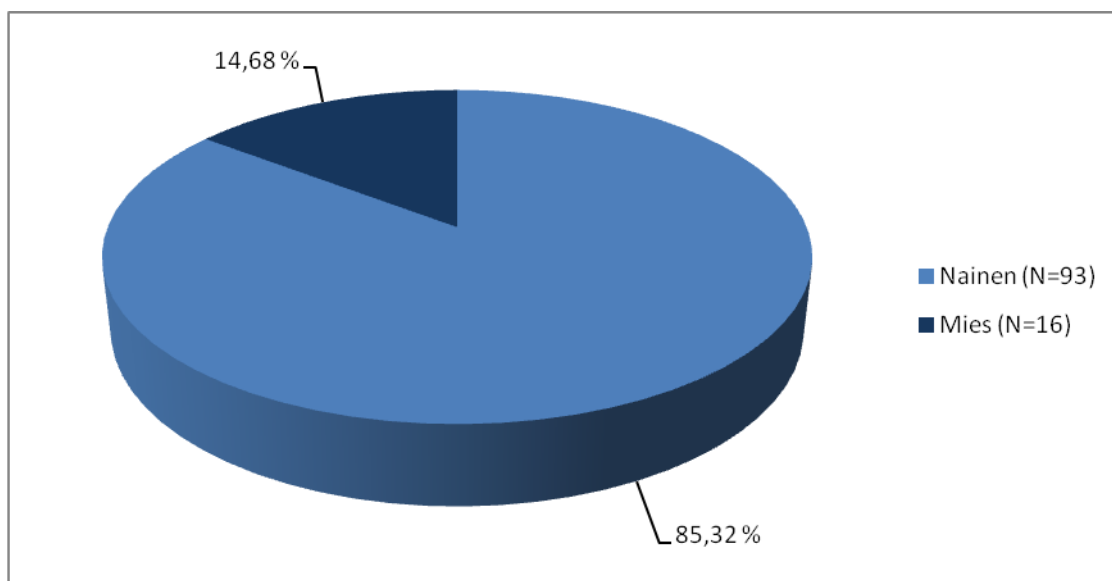
### 4.1 Tutkimusaineiston kerääminen

Tutkimusaineisto kerättiin Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen tiloissa tiistaina 8.5.2012 sekä maanantaina 14.5.2012 klo 8 – 16 välisenä aikana. Tutkimukseen osallistuvat olivat vapaaehtoisia ja pääasiassa Turun ammattikorkeakoulun terveystalon opiskelijoita. Heidän lisäksi tutkimukseen osallistui muita Turun ammattikorkeakoulun opiskelijoita sekä henkilökuntaa. Opinnäytetyön tutkimusaineiston keräämisestä informoitiin Ruiskadun toimipisteen opiskelijoita sähköpostilla, minkä lisäksi näytteenottopäivinä seinille oli kiinnitetty tiedotteita näytteenottoa koskien. Näytteenottoa varten tehtiin kirjalliset suostumuslomakkeet, jotka käytiin jokaisen koehenkilön kanssa suullisesti läpi ennen näytteenoton toteuttamista. Lomakkeesta löytyy tutkijoiden yhteystiedot mahdollisia kysymyksiä ja ongelmia varten. Lopuksi suostumuslomakkeita allekirjoitettiin kaksin kappalein jokaisen koehenkilön kanssa. Koehenkilölle jäi toinen kappale suostumuslomakkeesta toisen jäädessä tutkijoille. Suostumuslomakkeen mallipohja löytyy liitteenä opinnäytetyön lopusta. Nuorin koehenkilö oli iältään 19 – vuotias ja vanhin

puolestaan 69 – vuotias (Kuvio 1). Koehenkilöiden keski-ikä oli 29,9 vuotta ja iän mediaani 23 vuotta. Suurin osa koehenkilöistä oli naisia (Kuvio 2).



Kuvio 1. Aineiston ikäjakaumaluokittelu.



Kuvio 2. Aineiston sukupuolijakauma.

Ennen näytteenoton toteuttamista saatiin lisäkoulutusta nielunäytteenotosta Turun ammattikorkeakoulun mikrobiologian opettaja Seija Kirkko-Jaakkolalta. Kirkko-Jaakkolan kanssa kerrattiin nielunäytteenoton perusteita ja käytiin läpi

näytteenottokohdat sekä muun muassa esivalmisteluohjeet. Näytteenottajina toimivat Viivi Liukko ja Sari Soittu. Siiri Meriluoto ja Marika Vesalainen kävivät koehenkilöiden kanssa suostumuslomakkeet läpi ja varmistivat, että esivalmisteluohjeita oli noudatettu.

Näytteet otettiin kahta nielunäytteenottoon tarkoitettua näytteenottotikkua, tehdaspuhdasta pumpulitikkua sekä Copan Flocked Swap – nukkatikkua, käyttäen. Näytteen saamisen helpottamiseksi apuna käytettiin myös spaattelia, jonka avulla kieltä painamalla saatiin näyte otettua molemmista nielurisoista sekä mahdollisuuksien mukaan myös takanielusta näytteenottotikkuja napakasti pyörittämällä. Näyte otettiin molemmilla näytteenottotikuilla samanaikaisesti.

Copan Flocked Swap – nukkatikkua käytettiin sekä mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestin että PCR – tutkimuksen toteutukseen, minkä vuoksi nukkatikku pakastettiin päivän päätteeksi – 20 asteeseen. Vuorokauden kuluttua Eppendorf – putkiin katkaistut nukkatikut siirrettiin – 80 asteeseen, jossa ne säilytettiin näytteiden analysointiin saakka.

Tehdaspuhtaalla pumpulitikulla tehtiin nieluviiljelyt. Nieluviiljelyihin käytettiin Tammer-tutkan lampaanverimaljoja, joille näytteet viljeltiin välittömästi näytteenoton tapahduttua hajotusviljelymenetelmää käyttäen. Nielumaljat siirrettiin näytteenoton jälkeen Ruiskadun toimipisteen mikrobiologian luokan lämpökaappiin kasvamaan yhteensä kahdeksi vuorokaudeksi.

Näytteitä saatiin kahden näytteenottopäivän aikana kerättyä yhteensä 109 kappaletta ja kaikki näytteet tutkittiin jokaisella menetelmällä. Näytteenotossa ja esivalmistelujen noudattamisessa tapahtuneet poikkeamat kirjattiin ylös myöhempää käyttöä varten (Taulukko 1). Koehenkilöt saivat jättää yhteystietonsa suostumuslomakkeisiin, jos halusivat kuulla mahdollisesta positiivisesta tuloksesta. Positiivisista tuloksista ilmoitettiin koehenkilöille marraskuussa 2012 puhelimitse.

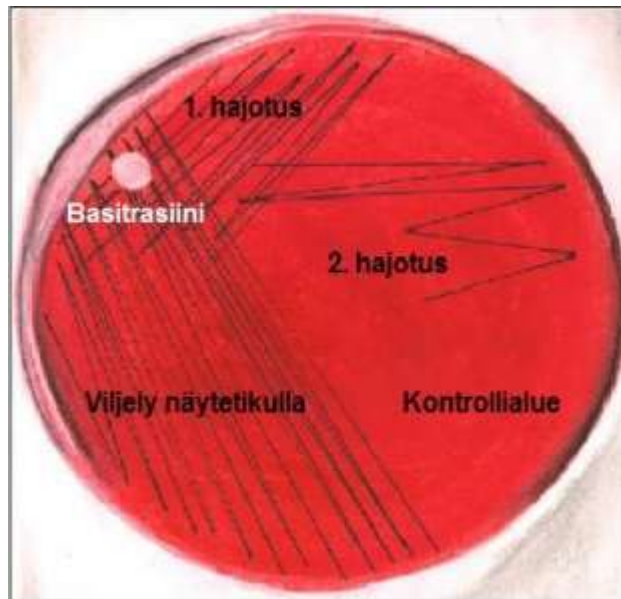
Taulukko 1. Poikkeamat esivalmisteluissa ja näytteenotossa.

<b>Näytenro 12</b>	Koehenkilö juonut kahvia ennen näytteenottoa
<b>Näytenro 34</b>	Koehenkilöllä mahdollisesti allergista nuhaa
<b>Näytenro 52</b>	Koehenkilöllä allergisia oireita
<b>Näytenro 59</b>	Koehenkilöllä ollut nuuska huulessa ennen näytteenottoa
<b>Näytenro 65</b>	Koehenkilö ollut hieman flunssainen, kurkku turvoksissa
<b>Näytenro 78</b>	Näytteenottotikut otettu peräkkäin
<b>Näytenro 81</b>	Koehenkilöllä allergisia oireita
<b>Näytenro 88</b>	Koehenkilö syönyt hieman ennen näytteenottoa

## 4.2 Näytteiden käsittely ja analysointi

### 4.2.1 Nieluviljely

Nieluviljelystä viljeltiin välittömästi näytteenoton jälkeen lampaanverimaljoille. Viljelyn toteutukseen käytettiin hajotusviljelyä. Pumpulitikkuja maljalla pyörittelemällä viljeltiin noin 50 prosenttia lampaanverimaljan pinta-alasta. Pumpulitikku vaihdettiin viljelysauvaan, jolla tehtiin ensimmäinen hajotus. Ensimmäisellä hajotuksella viljeltiin noin neljännes maljan pinta-alasta vedoilla, jotka kulkivat pumpulitikulla viljelyn alueen halki eivätkä koskeneet toisiaan. Viljelysauva käännettiin ja toisella hajotuksella tehtiin maljalle häntä, joka oli noin neljänneksen maljan pinta-alasta. Maljalle jäi noin 25 prosenttia sen pinta-alasta oleva kontrollialue, jolle ei viljelty mitään. Lopuksi jokaiselle maljalle asetettiin basitrasinikiekko kohtaan, jossa sekä pumpulipuikon että viljelysauvan vedot kohtaavat.



Kuva 3. Viljelymalli (Meriluoto 2012b; mukailtu).

Viljellyt maljat numeroitiin liukuvasti. Maljat vietiin näytteenoton jälkeen Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen mikrobiologian luokan lämpökaappiin kasvamaan. Lämpökaapin lämpötilaa kontrolloitiin lämpömittarin avulla, jolloin varmistettiin kasvulle suotuisat olosuhteet. Kaapin lämpötila pysyi jatkuvasti 36 – 37 asteessa.

Nielumaljat analysoitiin ensimmäisen kerran vuorokauden kuluttua näytteenotosta. Tämän jälkeen maljat laitettiin takaisin lämpökaappiin ja annettiin kasvaa vielä toiset 24 tuntia. Maljat analysoitiin seuraavan vuorokauden kuluttua vielä toiseen kertaan, minkä jälkeen ne hävitettiin asianmukaisesti tartuntavaarallisten jätteiden mukana.

#### 4.2.2 Streptokokkiagglutinaatiotesti

Agglutinaatiotesti suoritettiin ainoastaan  $\beta$  – hemolyyttisten basitrasiiini negatiivisten maljojen kohdalla. Alkuperäisiltä nielumaljoilta eristettiin viljelysilmukan avulla muutamia yksittäisiä  $\beta$  – hemolyyttisiä bakteeripesäkkeitä, jotka viljeltiin uudelle Tammer-tutkan lampaanverimaljalle viljelysilmukan avulla.

Puhdasviljelmä viljeltiin hajotusviljelymenetelmää käyttäen. Maljojen annettiin kasvaa lämpökaapissa vuorokauden ajan.

Streptokokkiagglutinaatiotestin reagenssit otettiin seuraavana päivänä ajoissa huoneenlämpöön. Puhdasviljelmästä eristettiin bakteeripesäkkeitä, jotka suspensoitiin 0,2 – 0,4 millilitraa streptokokki-Extraction – entsyymiä sisältävään lasiseen koeputkeen. Bakteeria suspensoitiin putkeen, kunnes liuos oli sameaa. Suljettuja koeputkia inkuboitiin lämpökaapissa kymmenen minuuttia. Reaktiokortin jokaiseen ympyrään tiputettiin tippa kutakin latex – reagenssia, minkä jälkeen bakteerisuspensiota pipetoitiin pasteur – pipetillä tippa jokaisen latex – reagenssitipan viereen. Tipat sekoitettiin keskenään käyttäen muovisia sauvoja. Reaktiokortteja kallisteltiin edestakaisin noin minuutin ajan, minkä jälkeen agglutinaatio näkyi selvärakenteisena sakkana reaktiokorttia vasten.

#### 4.2.3 mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustesti

Soittu (2012) analysoi otettuja nielunäytteitä toukokuussa 2012 Turun ammattikorkeakoulun Lemminkäisenkadun toimipisteessä sijaitsevan ArcDia International Oy:n toimitiloissa. Näytteet analysoitiin kahdella eri laitteella käyttäen mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestiä. Päivää ennen analysointia näytteet siirrettiin – 80 asteen lämpötilasta – 20 asteeseen. Pakastimesta näytteet siirrettiin jääkaappilämpötilaan sulamaan analysointipäivän aamuna. Näytteiden analysointi tapahtui sulamisen jälkeen testimenetelmän valmistajan ohjeiden mukaisesti. Tulosten valmistuttua näytteet pakastettiin jälleen – 80 asteeseen PCR – menetelmää varten. (Soittu 2012.)

#### 4.2.4 RT-qPCR – menetelmä

Meriluoto ja Vesalainen (2012) analysoivat näytteet lokakuussa 2012 RT-qPCR-menetelmällä. Näytteet analysoitiin Turun ammattikorkeakoulun Lemminkäisenkadun toimipisteen laboratoriossa. Tarvittavat reagenssit valmistettiin, näytteet sulatettiin ja solut sentrifugoitiin putkien pohjalle.

Supernatantti laimennettiin ja näytteet analysoitiin PCR – menetelmällä valmistajan ohjeiden mukaisesti. (Meriluoto & Vesalainen 2012.)

#### 4.3 Metodologiset lähtökohdat

Opinnäytetyöhön liittyvä tutkimus on kvantitatiivinen menetelmävertailututkimus. Kvantitatiivista eli eksperimentaalista tutkimusta käytetään paljon sosiaali- ja yhteiskuntatieteissä. Kvantitatiivisen tutkimuksen keskeisiä piirteitä ovat muun muassa aiemmat tutkimukset ja niistä tehtävät johtopäätökset, aiemmat teoriat, hypoteesien esittäminen, käytettyjen käsitteiden määrittely, koejärjestelyjen ja aineiston keruun suunnitelmallinen toteuttaminen, koehenkilöiden tai tutkittavien henkilöiden valinta siten, että aikaansaadaan mahdollisimman edustava otos, aineiston saattaminen tilastollisesti käsiteltävään muotoon sekä päätelmien perustaminen tilastolliseen analysointiin. (Hirsjärvi ym. 2009.)

Kvantitatiivista tutkimusta voidaan nimittää myös tilastolliseksi tutkimukseksi, sillä tavallisimmin sen avulla saadut tulokset esitetään lukumäärinä tai prosenttiosuuksina. Kvantitatiivisessa tutkimusmenetelmässä riittävän suuri ja edustava otos on tutkimuksen onnistumisen kannalta erittäin tärkeää. Asioita ja tuloksia kuvataan määrällisessä tutkimuksessa tavallisesti numeerisesti ja saatuja tutkimustuloksia voidaan tarvittaessa havainnollistaa käyttäen apuna erilaisia taulukoita tai kuvioita. Kvantitatiivisen tutkimuksen avulla voidaan selvittää myös eri asioiden välisiä riippuvuuksia sekä tutkittavassa ilmiössä tapahtuneita muutoksia. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkimukseen soveltuvista henkilöistä käytetään sopivaa otosta ja saatuja tuloksia pyritään yleistämään koskemaan suurempaa joukkoa käyttämällä apuna tilastollisia menetelmiä. Kvantitatiivisen tutkimuksen avulla saadaan tavallisesti tietoa vallitsevasta tilanteesta, mutta sitä käyttämällä ei pystytä selvittämään asioiden syitä. (Heikkilä 2008.)

Opinnäytetyön aineistona käytettiin Turun sosiaali- ja terveystieteiden opiskelijoilta ja henkilökunnalta kerättyjä nielunäytteitä, koska haluttiin tutkia pääasiassa nuorien aikuisten A – ryhmän streptokokin oireetonta nielukantajuutta. Aineiston koko oli loppujen lopuksi 109 näytettä.

#### 4.4 Eettisten näkökohtien tarkastelu

Tieteellinen tutkimus tulee aina suorittaa hyvän tieteellisen käytännön edellyttämällä tavalla. Vain ja ainoastaan tällöin tutkimus voi olla eettisesti hyväksyttävä ja luotettava ja saadut tulokset voivat olla uskottavia. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012.) Opinnäytetyössä huolehdittiin rehellisyydestä ja yleisestä huolellisuudesta, minkä lisäksi tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa sekä esittämisessä ja arvioinnissa oltiin huolellisia. Lähdeaineistoa käytettiin ja tulkittiin huolellisesti eikä opinnäytetyön teossa käytetty plagiointia. Muiden tutkijoiden tutkimuksille annettiin asianmukaista arvoa.

Opinnäytetyön tutkimus suunniteltiin ja toteutettiin sekä saatu aineisto säilytettiin ja hävitettiin asianmukaisella ja määrättyllä tavalla. Opinnäytetyön toteutusta varten hankittiin myös tarvittava tutkimuslupa ja toimeksiantosopimus.

Koska tutkimukseen osallistuvien koehenkilöiden tiedot ovat luottamuksellisia, pitää tutkijan pystyä käsittelemään aineistoa säilyttäen koehenkilön anonymiteetin (Hirsijärvi ym. 2002). Opinnäytetyössä koehenkilöiden henkilötietoja ei käytetty tutkimuksen aikana, vaikka heidän tietonsa suostumuslomakkeelle pyydettiin. Tutkimuslomakkeet sekä koottu aineisto numeroitiin juoksevilla numeroinnilla ja näytteitä analysoitaessa tunnistukseen käytettiin ainoastaan näitä numeroita. Henkilötietolakia (523/1999) noudattaen koehenkilöiden henkilötietoja käsiteltiin huolellisesti ja ne säilytettiin tutkimuksen loppuun asti. Henkilötietoja käytettiin soitettaessa koehenkilöille, jotka halusivat tiedon mahdollisesta positiivisesta tuloksestaan. Tutkimuksen päätyttyä suostumuslomakkeet hävitettiin asianmukaisesti. Henkilötietolain nojalla tutkijoita koskee myös ehdoton vaitiolovelvollisuus, jota on noudatettu.

Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta (488/1999) asettaa omat eettiset näkökohtansa tutkimuksen toteutukseen. Opinnäytetyön tutkimuksessa koehenkilöiden edut ja hyvinvointi otettiin huomioon, minkä lisäksi tutkimuksesta koituvat riskit ja haitat torjuttiin. Koehenkilöille kerrottiin ennen tutkimukseen

osallistumista tutkimuksen kulusta ja tarkoituksesta ja heille kerrottiin heidän oikeudestaan keskeyttää tutkimus milloin tahansa. Heille myös painotettiin, ettei tutkimuksen keskeyttämisestä koituisi heille mitään seurauksia. Tämän jälkeen koehenkilöt sekä tutkijat allekirjoittivat vielä suostumuslomakkeen, josta ilmenee potilaan vapaaehtoisuus ja myöntöväisyys tutkimuksen suorittamiseen.

Tutkimuksen luotettavuus voi kärsiä silloin, kun koehenkilöitä houkutellaan paikalle palkkiolla (Mäkinen 2006). Opinnäytetyötä tehtäessä koehenkilöitä ei lahjottu osallistumaan tutkimukseen, jolloin osallistuminen perustui täysin vapaaehtoisuuteen ilman minkäänlaisia taka-ajatuksia. Jos palkkiota olisi esitelty esimerkiksi lähetetyssä sähköpostiviestissä, paikalle olisi saattanut saapua henkilöitä, jotka suostuvat mukaan ainoastaan palkkion toivossa.

Lakiin ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä (101/2001) nojaten koehenkilöt saivat myös tiedon sekä näytteiden että tulosten käyttötarkoituksesta.

## 5 TULOKSET

Tässä opinnäytetyössä analysoidaan nieluviljelyllä saatuja tutkimustuloksia, minkä lisäksi viljelyllä tuotettuja tuloksia vertaillaan projektin kahden muun opinnäytetyön (Meriluoto & Vesalainen 2012; Soittu 2012) tuottamiin tuloksiin.

Näytteitä kerättiin kaiken kaikkiaan 109 kappaletta ja jokainen näyte analysoitiin kaikilla kolmella menetelmällä: bakteeriviljelyllä, mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä sekä RT-qPCR-menetelmällä.

Bakteeriviljelyllä löydettiin kaksi  $\beta$  – hemolyyttisiä bakteereja kasvavaa näytettä, joissa havaittiin myös vaadittava ja säännönmukainen basitrasiniekon ympärille muodostuva estorengas. Estorengaan koon tulee olla yli 15 millimetriä, jotta näyte voidaan luokitella basitrasini positiiviseksi (Peltoniemi & Lepistö 2010). Nämä näytteet analysoitiin  $\beta$  – hemolyyttisinä *Streptococcus pyogenes* – kasvustoina. Positiivisten näytteiden osuus kaikista näytteistä oli 1,8 %.



Kuva 4. *Streptococcus pyogenes* (näyte 43) lampaanverimaljalla.

Lisäksi bakteeriviljelyssä löytyi kaksi  $\beta$  – hemolyyttistä bakteerikasvustoa, joissa  $\beta$  – hemolyyttiset bakteeripesäkkeet kasvoivat kiinni basitrasiniekossa. Nämä näytteet olivat basitrasini negatiivisia ja analysoitiin sen vuoksi  $\beta$  – hemolyyttisinä, ei A – streptokokkeina. Maljoista tehtiin puhdasviljelmät ja streptokokkien ryhmät määritettiin agglutinaatiotestillä. Testin tuloksena  $\beta$  – hemolyyttisen kasvun aiheuttajana oli toisella maljalla C – streptokokki ja toisella maljalla G – streptokokki.

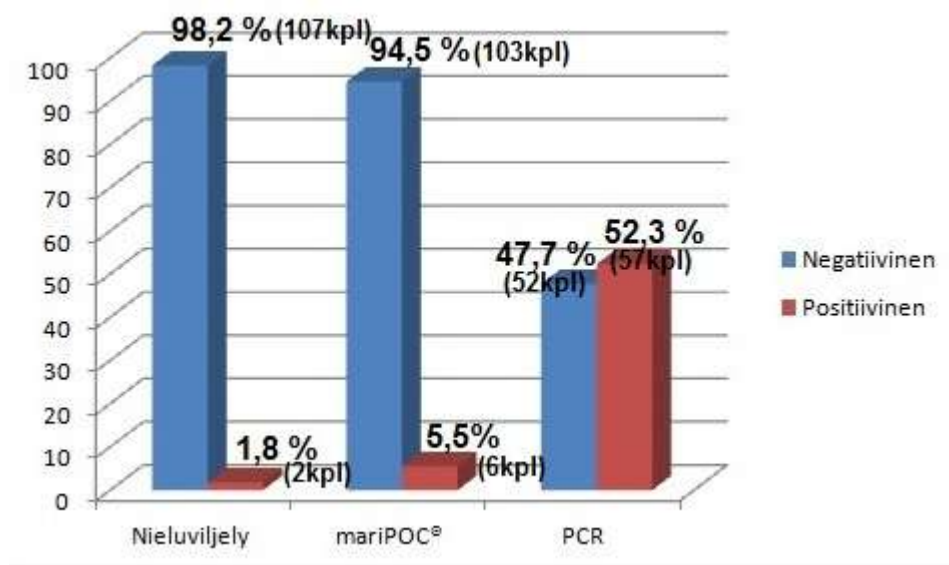


Kuva 5. C – streptokokki (näyte 36) lampaanverimaljalla.

Loput 105 bakteeriviljelyä olivat yksiselitteisen negatiivisia ja kasvoivat nielun normaaliflooraa.

MariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä löydettiin yhteensä kuusi heikosti positiivista näytettä. Positiivisten näytteiden osuus kaikista näytteistä oli 5,5 %. Lisäksi mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustesti löysi yhden *Streptococcus pyogenes* sisältävän näytteen (näyte 65), jonka antigeenin määrä oli kuitenkin niin pieni, että testi määritteli näytteen kliinisesti negatiiviseksi. RT-qPCR-menetelmällä näytteitä analysoitaessa löydettiin 57

heikosti positiivista näytettä (52,3 %). Positiivisten ja negatiivisten näytteiden prosenttiosuudet ja lukumäärät on esitetty kuviossa 3.



Kuvio 3. Negatiivisten ja positiivisten näytteiden prosenttiosuudet ja lukumäärät

Viljelyllä saaduista positiivisista näytteistä kumpikaan ei ollut positiivinen sekä mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä että RT-qPCR-menetelmällä. Näin ollen tutkimuksessa ei löydetty yhtään positiivista tulosta, joka olisi ollut positiivinen kaikilla kolmella menetelmällä. Näyte 43 oli positiivinen sekä viljelyllä että mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä, kun taas näyte 100 oli positiivinen vain viljelyllä ja RT-qPCR-menetelmällä.

MariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestillä löydettiin yhteensä viisi näytettä, jotka olivat viljelyn mukaan negatiivisia (näytteet 1, 7, 11, 45 ja 53) yhden näytteen ollessa positiivinen kummallakin menetelmällä (näyte 43). RT-qPCR-menetelmällä taas löydettiin 56 näytettä, jotka olivat positiivisia viljelyiden jäädessä yksiselitteisen negatiivisiksi. RT-qPCR-menetelmällä ja viljelyllä löydettiin yksi molemmilla menetelmillä positiivisen tuloksen antanut näyte (näyte 100).

MariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestin kuudesta positiivisesta näytteestä neljä (näytteet 1, 7, 11 ja 45) oli positiivisia myös RT-qPCR-

menetelmällä. Jälkimmäisellä menetelmällä löydettiin kuitenkin 53 positiivista tulosta, jotka olivat antigeeninosoitustestin mukaan negatiivisia. RT-qPCR-menetelmä taas ei tunnistanut kahta antigeeninosoitustestin mukaan positiivista näytettä positiivisiksi.

Positiiviset tulokset, jotka olivat positiivisia useammalla kuin yhdellä menetelmällä, on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Useammalla kuin yhdellä menetelmällä saadut positiiviset tulokset.

<b>Näytenumero</b>	<b>Viljely</b>	<b>mariPOC®</b>	<b>PCR</b>
<b>1</b>	-	+	+
<b>7</b>	-	+	+
<b>11</b>	-	+	+
<b>43</b>	+	+	-
<b>45</b>	-	+	+
<b>100</b>	+	-	+

Taulukosta nähdään antigeeninosoitustestillä saaduista kuudesta positiivisesta näytteestä viiden olleen positiivinen myös jommalla kummalla muulla menetelmällä. Myös näyte (näyte 65), jonka mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustesti määritteli kliinisesti negatiiviseksi, osoittautui positiiviseksi RT-qPCR-menetelmällä.

Antigeeninosoitustestillä löydettiin näytteistä myös muita hengitystieinfektioita aiheuttavia patogeeneja. Testillä löydettiin seitsemän erittäin heikosti positiivista pneumokokkia (näytteet 51, 56, 60, 63, 69, 78 ja 102). Kolme löydetyistä pneumokokeista oli positiivisia myös RT-qPCR-menetelmällä. Myös bakteeriviljelyllä löydettiin kaksi muuta hengitystiepatogeenia. G – ryhmän streptokokin (näyte 28) RT-qPCR – menetelmä määritteli positiiviseksi. C – ryhmän streptokokki (näyte 36) ei kuitenkaan ollut positiivinen antigeeninosoitusmenetelmällä eikä RT-qPCR-menetelmällä. RT-qPCR-

menetelmällä löydetyt positiiviset näytteet verrattuna muilla menetelmillä saatuihin muihin hengitystiepatogeeneihin on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. PCR:llä löydetyt positiiviset näytteet verrattuna muilla menetelmillä löytyneisiin muihin hengitystiepatogeeneihin.

<b>Näyttenumero</b>	<b>Viljely</b>	<b>mariPOC®</b>	<b>PCR</b>
<b>28</b>	G	-	A
<b>36</b>	C	-	-
<b>51</b>	-	Pneumokokki	-
<b>56</b>	-	Pneumokokki	A
<b>60</b>	-	Pneumokokki	A
<b>63</b>	-	Pneumokokki	-
<b>65</b>	-	A	A
<b>69</b>	-	Pneumokokki	-
<b>78</b>	-	Pneumokokki	A
<b>102</b>	-	Pneumokokki	-

## POHDINTA

Opinnäytetyön tutkimuksessa nieluviiljelyillä löydettiin ainoastaan kaksi *Streptococcus pyogeneksen* suhteen positiivista näytettä 109 näytteestä. Positiivisten näytteiden osuus kaikista näytteistä jäi siis tutkimuksessa alhaisemmaksi, kuin aiempien tutkimusten perusteella olisi voitu olettaa (Ozturk ym. 2004; Rijal ym. 2009). Aikuisten nielukantajuuden on kuitenkin todettu olevan huomattavasti kouluikäisten lasten nielukantajuutta harvinaisempaa (Vuopio-Varkila ym. 2010). Se voi siis osaltaan selittää opinnäytetyön tutkimuksissa saatuja tuloksia. *Streptococcus pyogeneksen* kasvu maljalla saattaa kuitenkin estyä joissakin tapauksissa, kuten *S. aureuksen* aiheuttaman inhibition seurauksena. Tällöin nieluviiljely jää negatiiviseksi, mutta antigeeninosoitustesti antaa positiivisen tuloksen. (Cohen ym. 2012.) Tämä saattaisi selittää myös ristiriitaisuuksia nieluviiljelyiden ja antigeeninosoitustestin tulosten välillä.

Jos suomalaisten nielukantajuuden oletetaan olevan alle viisi prosenttia, mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustesti pääsi löytämillään tuloksilla, kaikki kolme menetelmää huomioiden, lähimmäksi todellisuutta (Siljander 2009). Antigeeninosoitustesti ei vaadi positiivisen tuloksen löytämiseksi eläviä mikrobeja. Antigeeninosoitus – menetelmässä laite tunnistaa näytteestä bakteeriproteiineja, jotka voivat olla peräisin joko elävistä tai jo kuolleista bakteereista. (UTULab 2009.) Testillä saatu heikko positiivinen tulos luokitellaan kuitenkin kliinisesti merkitykselliseksi silloin, kun potilaalla on angiinan oireita.

Kaikkein kauimmaksi hypoteesin mukaisesta prosenttiluvusta jäi RT-qPCR-menetelmä, jonka saamien positiivisten tulosten mukaan yli puolet koehenkilöistä olisi *Streptococcus pyogeneksen* oireettomia kantajia. PCR – ajoa tehtäessä käytössä oli kuitenkin liian lyhyt koetin, jonka kanssa olisi tullut käyttää uniikkeja alukkeita, jolloin tulokset olisivat saattaneet olla lähempänä todellisuutta. Pidemmällä koettimella menetelmää olisi myös saatu huomattavasti spesifimmäksi *Streptococcus pyogeneksen* suhteen. Tällöin olisi

mahdollisesti pystytty vähentämään vääriä positiivisia tuloksia näytteen sisältäessä jotain *Streptococcus pyogeneks*en lähisukuisia lajeja. (Meriluoto & Vesalainen 2012.) PCR – menetelmässä käytettiin samaa nukkatikkua kuin antigeeninosoitustestissä, eli tikku oli PCR – ajon alkaessa jo kertaalleen käytetty. On mahdollista, että käyttämätön tikku olisi toiminut näytteiden analysoinnissa käytettyä nukkatikkua paremmin. PCR on menetelmänä myös hyvin sensitiivinen, minkä vuoksi sen toteuttamiseksi tarvitaan muun muassa puhdistilat työskentelyä varten. PCR- menetelmää käytettäessä ja varsinkin pieniä DNA – määriä tutkittaessa pitää työskentelyssä olla erityisen varovainen, jottei näyte kontaminoituisi vieraalla DNA:lla. Näytteeseen joutunut vieras DNA saattaa peittää kokonaan alleen halutun DNA:n, mikä aiheuttaa vääriä negatiivisia tuloksia. (Suominen ym. 2010.) Tämän vuoksi PCR ei ehkä menetelmänä ole kaikkein paras vaihtoehto kliiniseen työhön.

Tutkimukseen liittyvä näytteenotto oli vakioitu, mikä lisää näytteen reliabiliteettia (Hirsjärvi ym. 2012). Molemmat näytteenottajat olivat saaneet opiskelun ja työharjoitteluiden yhteydessä harjoitusta nielunäytteiden ottamista varten. Lisäksi ennen tutkimuksen toteuttamista näytteenottajat saivat lisäkoulutusta ja kertausta Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen mikrobiologian lehtorilta. Näytteet otettiin TYKSLAB:n näytteenotto-ohjeiden (TYKSLAB 2010) mukaisesti nielurisoista, minkä lisäksi näyte otettiin mahdollisuuksien mukaan myös potilaan takanielusta. Poikkeamat näytteenotossa kirjattiin suostumuslomakkeisiin myöhempää tarkastelua varten. Näytteenotto jouduttiin sen nopeuttamiseksi jakamaan kahden eri näytteenottajan kesken, mikä lisää vaihtelua näytteenottoon sekä saatujen näytteiden laatuun. Olisikin ollut parempi käyttää näytteenottoon yhtä siihen hyvin perehtynyttä henkilöä, jolloin näytteet olisi otettu joka kerta samalla tavalla, samoista paikoista ja samalla tekniikalla.

Näytteenotossa käytettiin myös samaan aikaan kahta eri näytteenottovälinettä, tehdaspuhdasta vanutikkua sekä Copan Flocked Swap – nukkatikkua. Kahden tikun käyttäminen samaan aikaan näytteenottotilanteessa loi oman vaikeusasteensa toimenpiteeseen. Olisi mahdollisesti ollut parempi ottaa

kumpikin näytteenottotikku erikseen, jolloin tikut olisi varmasti saatu pyöriteltyä napakasti näytteenottoalueilla. Vaikka näytteet otettiin nytkin tikkuja napakasti näytteenottoalueella pyörittelemällä, ei silti voida olla täysin varmoja, että molemmat näytteenottotikut ovat osuneet alueille samassa suhteessa. Yhtä tikkua näytteenottoon kerrallaan käyttämällä olisi näytteenoton onnistumiseen voitu keskittyä paremmin. Näytteenottotikkuihin ei myöskään välttämättä ole saatu tarttumaan näytettä suuria määriä, jolloin viljely jää negatiiviseksi mutta antigeeninosoitustestillä saadaan heikko positiivinen tulos.

Kaksi tutkijaa suoritti näytteiden viljelyn lampaanverimaljoille. Jos näytteen olisi viljellyt vain yksi tutkija, viljelytekniikka ei olisi vaihdellut maljojen välillä. Viljelytekniikalla ei kuitenkaan ollut oleellista merkitystä tutkimuksen lopputulokseen, sillä jokaisella maljalla kasvava bakteerimäärä oli riittävä. Maljojen kasvatusta lämpökaapissa onnistui hyvin eikä kaapin lämpötila tippunut kasvatuksen aikana alle 37 asteen. Maljat luettiin vuorokauden sekä kahden vuorokauden kuluttua näytteenotosta ja tulokset kirjattiin asianmukaisesti taulukkoon myöhempää käyttöä varten. Maljojen kasvatusta ja lukua onnistuivat moitteettomasti. Myös käytetyt basitrasiinikiekot toimivat moitteettomasti muodostaen positiivisessa näytteessä säännöllisen pyöreän estorenkkaan, jolloin näytteiden analysointi oli yksinkertaista ja yksiselitteistä.

Koehenkilöiden esivalmistelussa tapahtuneet poikkeamat saattoivat myös osaltaan vaikuttaa tutkimustuloksiin ja niiden tulkintaan. Syömisen, juomisen, kurkkutablettien imeskelyn sekä desinfioivien suuvesien käytön ennen näytteenottoa on todettu heikentävän tutkimuksessa saatujen tulosten luotettavuutta (TYKSLAB 2010). Kolme koehenkilöistä oli syönyt tai juonut ennen näytteenottoa, jolloin bakteerien määrä nielussa on saattanut vähentyä huomattavastikin. Yksi koehenkilöistä oli käyttänyt nuuskaa juuri ennen näytteenottoa, minkä vaikutuksista tutkimustuloksiin ja niiden tulkintaan ei ole tietoa. Lisäksi kolmella koehenkilöllä oli allergisia oireita, joiden vaikutuksesta tuloksiin ei myöskään voida olla varmoja. Kaikkein parasta olisi ollut pidättäytyä kokonaan näytteenotosta allergiaoireisten potilaiden kohdalla. Yhden koehenkilön kohdalla lähiviikkoina sairastettu flunssa selvisi vasta näytteenoton

jälkeen, jolloin näyte päätettiin viljellä ja analysoida normaalisti, mutta flunssasta kirjattiin tieto suostumuslomakkeeseen. Näyte oli positiivinen RT-qPCR-menetelmän mukaan. PCR – menetelmän todettiin kuitenkin ristireagoineen monien näytteiden kohdalla lähisukuisten bakteerilajien kanssa, jolloin myös flunssasta parantuneen koehenkilön näytteen positiivinen tulos saattoi olla ristireaktio jonkin muun bakteerin kanssa. On myös mahdollista, että näytteestä löytyi juuri *Streptococcus pyogeneksen* DNA:ta, jolloin potilaalla on joko voinut olla kyseisen bakteerin aiheuttama infektio tai hän on bakteerin oireeton kantaja.

Tutkimuksessa käytetyn aineiston koko jäi aineiston keruun myöhäisen ajankohdan takia suhteellisen pieneksi. Tavoitteena oli kerätä yli sata näytettä, missä kuitenkin onnistuttiin. Hypoteesin mukaan *Streptococcus pyogeneksen* oireettomia kantajia löytyy aikuisväestöstä alle viisi prosenttia, minkä takia on selvää, että suurempi näytemäärä olisi antanut oikeampia ja luotettavampia tuloksia.

Opinnäytetyötä tehdessä käytettiin tuoreita lähteitä työn luotettavuuden säilyttämiseksi. Oireettomasta *Streptococcus pyogeneksen* kantajuudesta on tehty suhteellisen vähän tutkimuksia ja tehdyt tutkimukset käsittelivät suurimmaksi osaksi kouluikäisten lasten oireetonta nielukantajuutta Etelä-Euroopassa ja Aasiassa (Ozturk ym. 2004; Rijal ym. 2009). Tehtyjen tutkimusten ja muiden lähdemateriaalien arviot aikuisten oireettomasta nielukantajuudesta olivat kuitenkin samansuuntaiset, jolloin lähteitä saattoi pitää luotettavina hypoteesien tekoa varten.

Koehenkilöt saivat jättää suostumuslomakkeeseen yhteystietonsa mahdollisen positiivisen tuloksen löytymisen varalta. Tutkimusryhmä päätti luokitella kantajiksi ne koehenkilöt, joiden näytteestä saatiin positiivinen tulos kahdella eri menetelmällä. Asetettujen kriteerien mukaan aineistosta löytyi kuusi *Streptococcus pyogeneksen* oireetonta nielukantajaa.

Tutkimustulokset eivät ainakaan RT-qPCR-menetelmän osalta korreloineet juuri keskenään. PCR – menetelmää tulisikin kehittää lisää ja koettimen pituutta

pitäisi kasvattaa ristireaktioiden ja väärin positiivisten tulosten minimoimiseksi. Antigeeninosoitustestiä tulisi myös testata edelleen väärin positiivisten tulosten poissulkemiseksi. Nieluviljelyssä saatuja positiivisia tuloksia voisi myös basitrasiiinitestin lisäksi testata agglutinaatiotestillä, jolloin voitaisiin varmistua bakteerin oikeasta ryhmittelystä. Jatkossa tehtävissä tutkimuksissa aineiston kokoa kannattaa myös ehdottomasti kasvattaa entistä luotettavampien tutkimustulosten aikaansaamiseksi. Tutkimustulosten perusteella nieluviljelyä ja mariPOC® pharyngitis – antigeeninosoitustestiä voidaan kumpaakin käyttää taudinaiheuttajien kliiniseen diagnosointiin.

## LÄHTEET

Alho, A.; Blomberg, H.; Huovinen, P.; Kotilainen, H.; Liukko, T.; Mäkelä, M.; Sarkkinen, H.; Tissari, P. & Vuorio, A. 2012. Käypä hoito – suositus. Nielutulehdus. Viitattu 23.7.2012 <http://www.terveyskirjasto.fi/xmedia/hoi/hoi38020.pdf>

Blomberg, H. 2012. Käypä hoito. Mikrobiologisen diagnostiikan porrastus. Viitattu 19.2.2013 <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suosituksset/naytaartikkeli/tunnus/nix01744>

Cohen, J.; Cohen, R.; Bidet, P.; Levy, C.; Deberdt, P.; d'Humieres, C.; Liguori, S.; Corrad, F.; Mariani, P.; Chalumeau, M. & Bingen, E. 2012. False-positive Results of Rapid Antigen Detection Tests (RADT) FOR Group A Streptococcus (GAS) Pharyngitis: A Case-Control Study. Tiivistelmä.

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. 15 – 16., uudistettu painos. Helsinki: Tammi.

Heikkilä, R.; Hellstén, S.; Koukila-Kähkölä, P.; Kurkinen, T.; Meurman, O.; Nummelin, R.; Pastila, S.; Richardson, M. & Ylönen, H. 2005. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2., uudistettu painos. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy. 36 – 37

Heikkilä, T. 2008. Tilastollinen tutkimus. 7. uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy. 16 – 22

Henkilötietolaki 22.4.1999/523.

Jalanko, H. 2009. Pipi – 100 kysymystä lastenlääkärille. Nielutulehdus. Viitattu 31.5.2012 [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=skl00016](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=skl00016)

Laki ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä 2.2.2001/101.

Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.1999/488.

Lee, J.; Uhl, J.; Cockerill, F.; Weaver, A. & Orvidas, L. 2008. Real-Time PCR vs Standard Culture Detection of Group A  $\beta$ -Hemolytic Streptococci at Various Anatomic Sites in Tonsillectomy Patients. Viitattu 5.5.2012 <http://archotol.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=409486>

Liimatainen O. 2000. Gramvärjäys. Moodi vsk 24 no. 4 – 5, 126 – 128.

Meriluoto, M. 2012a. Nielunäytteen näytteenottokohdat. Kuva mukailtu.

Meriluoto, M. 2012b. Viljelymalli. Kuva mukailtu.

Meriluoto, S. & Vesalainen, M. 2012. Oireettomien A-ryhmän streptokokin kantajien kartoittaminen RT-qPCR-menetelmällä. Turku: Kirjasitomo Kluutti Oy.

Mäkinen, O. 2006. Tutkimusetiikan A B C. Helsinki. Tammi

Nissinen, A. 1998. Voiko A-ryhmän streptokokin tunnistaa basitrasiiinestien avulla?. Moodi 6, 226 - 227.

Ozturk, C.; Yavuz, T.; Kaya, D. & Yucel, M. 2004. The Rate of Asymptomatic Throat Carriage of Group A Streptococcus in School Children and Associated ASO Titers in Duzce, Turkey. Viitattu 31.5.2012 <http://www0.nih.go.jp/JJID/57/271.pdf>

Peltoniemi, T. & Lepistö, K. 2010. Bakteriologia – Oppimateriaali mikrobiologian opintoihin bioanalytiikka – opiskelijoille. Streptococcus pyogenes. Turku: Painosalama Oy. 20 – 22.

Rijal, KR.; Dhakal, N.; Shah, RC.; Timilsina, S.; Mahato, P.; Thapa, S. & Ghimire, P. 2009. Antibiotic susceptibility of group A Streptococcus isolated from throat swab culture of school children in Pokhara, Nepal. Viitattu 31.5.2012 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20635601>

Siljander, T. 2009. Molecular and Epidemiological Aspects of Streptococcus pyogenes Disease in Finland: Severe Infections and Bacterial, Non-necrotizing Cellulitis. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos, tutkimus 23. Helsinki. University Print: 1 – 90.

Soittu, S. 2012. Oireettomien streptokokki A – kantajien kartoittaminen antigeeniosoitustestillä. Viitattu 28.2.2013 <http://publications.theseus.fi/> > Turun ammattikorkeakoulu > Bioanalytiikan koulutusohjelma > Oireettomien streptokokki A –kantajien kartoittaminen antigeeniosoitustestillä

Suominen, I.; Pärssinen, R.; Haajanen, K. & Pelkonen, J. 2010. Geenitekniikka. Saarijärvi: Saarijärven Offset Oy. 165 – 166.

Tarnainen, K.; Blomberg, H. & Vuorio, A. 2012. Käypä hoito. Nielutulehdukset (mm. nielutulehdus, angiina, adenovirusinfektio ja mononukleosi). Viitattu 31.5.2012 [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi) > Potilaalle > 57. Nielutulehdukset (mm. nielutulehdus, angiina, adenovirusinfektio ja mononukleosi)

Thermo Scientific 2012. Diagnostic Reagents. Streptococcal Grouping Kit. Viitattu 30.7.2012 [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com) > Products by Category > Clinical > Diagnostic Reagents > Streptococcal Grouping Kit

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsittely Suomessa. Viitattu 13.2.2013 [www.tenk.fi](http://www.tenk.fi) > Ohjeet ja julkaisut > Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsittely Suomessa. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohje 2012 (pdf).


TYKSLAB 2011. Tutkimusohjekirja. Streptokokki, viljely, nielueroituksesta. Viitattu 30.7.2012 [ohjekirja.tykslab.fi](http://ohjekirja.tykslab.fi) > Hakemisto tutkimusten nimien mukaan > Streptokokki, viljely, nielueroituksesta

TYKSLAB 2010. Tutkimusohjekirja. Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. Viitattu 15.2.2013 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/> > Yleisohteet > Mikrobiologisten näytteiden ottaminen

Uhl, J.; Adamson, S.; Vetter, E.; Schleck, C.; Harmsen, W.; Iverson, L.; Santrach, P.; Henry, N. & Cockerill, F. 2002. Comparison of LightCycler PCR, Rapid Antigen Immunoassay, and Culture for Detection of Group A Streptococci from Throat Swabs. Viitattu 5.5.2012 <http://jcm.asm.org/content/41/1/242.full.pdf+html?sid=ce033a71-a9a9-4995-8952-0796ac024308>

UTULab 2009. Tutkimusmenetelmät. Viitattu 14.2.2013 [www.med.utu.fi/ylab](http://www.med.utu.fi/ylab) > Yleisiä ohjeita > Tutkimusmenetelmät > Tutkimusmenetelmät

Vuopio-Varkila, J.; Syrjänen J. & Kotilainen P. 2010. Mikrobiologia – Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. A-ryhmän streptokokki. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 102 – 10



**TURUN AMMATTIKORKEAKOULU**  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**OPINNÄYTETYÖN**  
**TOIMEKSIANTOSOPIMUS**

1

---

**OPISKELIJAN TIEDOT**

Nimi Viivi Liukko

Osoite Kotimäenkatu 1 as 3, 20540 Turku

Puhelin koti 044-3206554 Puhelin työ \_\_\_\_\_

Sähköposti viivi.liukko@students.turkuamk.fi

Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma

**OPINNÄYTETYÖ**

Aihe/ työnimi Aineenamme on tutkia oireettomien streptokokki-A:n kantajien esiintymistä pääasiassa bioanalytiikka-opiskelijoiden keskuudessa. Oppinnäytetyöni koskee nieuunijelviä löydettyjen kantajien esiintymistä. Työn nimi: oireettomien streptokokki-A-kantajien kartoittaminen nieuunijelviä.

Aikataulu toteutetaan kevään ja syksyn 2012 aikana

**TOIMEKSIANTAJA**

Organisaatio Arctia Oy

Työn ohjaaja / yhteysthenkilö Janne Koskinen

Osoite Lamminkaisenkatu 30, 20520 TKU

Puhelin 650-374987 Sähköposti janne.koskinen@arctia.com

**OHJAAVAN OPETTAJAN YHTEYSTIEDOT**

Ohjaava opettaja Mika Venojärvi

Puhelin 044-9075479 Sähköposti mika.venojarvi@turkuamk.fi

---

Turun ammattikorkeakoulu  
Joukahaisenkatu 3 A, 20520 Turku  
puh. 02 263 350 faksi 02 2633 5791  
posti etunimi.sukunimi@turkuamk.fi



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

## OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTOSOPIMUS

2

### OPINNÄYTETYÖN SOPIMUSEHDOT

#### OHJAUS JA VASTUUT

Vastuu opinnäytetyön tekemisestä ja tuloksesta on opiskelijalla. Turun ammattikorkeakoulu vastaa opinnäytetyön ohjauksesta. Toimeksiantaja sitoutuu antamaan opiskelijan käyttöön kaikki opinnäytetyön tekemisessä tarvittavat tiedot ja välineet sekä ohjaamaan opinnäytetyötä toimeksiantajaorganisaation näkökulmasta.

#### OIKEUDET

Opinnäytetyön tekijänoikeus kuuluu tekijälle eli opiskelijalle. Tekijänoikeuden lisäksi myös muiden immateriaalioikeuksien osalta noudatetaan kulloinkin voimassa olevaa kyseessä olevaa oikeutta koskevaa lainsäädäntöä.

#### TYÖSUHDE JA KUSTANNUKSET

Mahdollisesta työsuhteesta, työstä maksettavasta palkkiosta ja työstä mahdollisesti aiheutuvien kustannusten korvaamisesta toimeksiantaja ja opinnäytetyön tekijä sopivat erikseen.

#### TULOSTEN JULKISTAMINEN JA LUOTTAMUKSELLISUUS

Opinnäytetyöstä laaditaan Turun ammattikorkeakoulun ohjeen mukainen kirjallinen raportti.

Kirjallinen raportti luovutetaan toimeksiantajalle ja asetetaan kirjaston kokoelmiin tai julkaistaan elektronisessa muodossa verkkokirjastossa.

Julkaistava opinnäytetyöraportti on laadittava niin, ettei se sisällä liike- tai ammattisalaisuuksia tai muita julkisuuslaissa (laki viranomaisen toiminnan julkisuudesta) salassa pidettäväksi määrittyjä tietoja, vaan ne jätetään työn tausta-aineistoon. Opinnäytetyön arvioinnissa otetaan huomioon sekä julkaistava että salassa pidettävä osa.

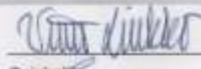
Opinnäytetyön toimeksiantaja ja opiskelija sitoutuvat pitämään salassa kaikki opinnäytetyön tekemisessä ja sitä edeltävissä tai sen jälkeisissä neuvotteluissa esiintyvät luottamukselliset tiedot ja asiakirjat.

Toimeksiantajan edustajalle varataan mahdollisuus tutustua opinnäytetyöraporttiin viimeistään neljäntenä (14) päivää ennen aiotun julkaisemista. Toimeksiantaja antaa työstä ennen edellä mainittua julkaisemisajankohtaa lausunnon, jossa voidaan määritellä opinnäytetyöraporttiin mahdollisesti sisältyvät liike- tai ammattisalaisuudet, joita ei julkaista.

Mitä liike- tai ammattisalaisuuksia liittyviä asioita ei esitetä opinnäytetyöraportissa?

### OLEMME YHTEISESTI SOPINEET OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUKSESTA YLLÄ ESITETTYLLÄ TAVALLA

23/5 2012

  
Opiskelija


24/5 2012

  
Toimeksiantaja

LIITE : OPINNÄYTETYÖSUUNNITELMA

Tulosta lomake

Turun ammattikorkeakoulu  
Joukahaisenkatu 3 A, 20520 Turku  
puh. 02 263 350 faksi 02 2633 5791  
posti: etunimi.sukunimi@turkuamk.fi



**TURUN AMMATTIKORKEAKOULU**  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**OPINNÄYTETYÖN**  
**TOIMEKSIANTOSOPIMUS**

1

---

**OPISKELIJAN TIEDOT**

Nimi Viivi Liukko

Osoite Kotimäenkatu 1 as 3, 20540 Turku

Puhelin koti 044-3206554 Puhelin työ \_\_\_\_\_

Sähköposti viivi.liukko@students.turkuamk.fi

Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma

**OPINNÄYTETYÖ**

Aihe/ työnimi Mineenamme on tutkia oireettomien streptokokki-A:n kantajien esiintymistä pääasiassa bioanalytiikka-opiskelijoiden keskuudessa. Oppinnäytetyöni koskee nielunliukeystä löydettyjen kantajien esiintymistä. Työn nimi: oireettomien streptokokki-A-kantajien kantotilainen nielunliukeystä.

Aikataulu toteutetaan kevään ja syksyn 2012 aikana

**TOIMEKSIANTAJA**

Organisaatio ArcDia Oy / TURKUAMK

Työn ohjaaja / yhteysthenkilö Leila Tiihonen

Osoite \_\_\_\_\_

Puhelin \_\_\_\_\_ Sähköposti \_\_\_\_\_


**OHJAAVAN OPETTAJAN YHTEYSTIEDOT**

Ohjaava opettaja Mika Venojani

Puhelin 044-9075479 Sähköposti mika.venojani@turkuamk.fi

---

Turun ammattikorkeakoulu  
Joukahaisenkatu 3 A, 20520 Turku  
puh. 02 263 350 faksi 02 2633 5791  
posti etunimi.sukunimi@turkuamk.fi



**TURUN AMMATTIKORKEAKOULU**  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTOSOPIMUS**

2

---

**OPINNÄYTETYÖN SOPIMUSEHDOT**

**OHJAUS JA VASTUUT**

Vastuu opinnäytetyön tekemisestä ja tuloksista on opiskelijalla. Turun ammattikorkeakoulu vastaa opinnäytetyön ohjauksesta. Toimeksiantaja sitoutuu antamaan opiskelijan käyttöön kaikki opinnäytetyön tekemisessä tarvittavat tiedot ja aineistot sekä ohjaamaan opinnäytetyötä toimeksiantajaorganisaation näkökulmasta.

**OIKEUDET**

Opinnäytetyön tekijänoikeus kuuluu tekijälle eli opiskelijalle. Tekijänoikeuden lisäksi myös muiden immateriaalioikeuksien osalta noudatetaan kulloinkin voimassa olevaa kyseessä olevaa oikeutta koskevaa lainsäädäntöä.

**TYÖSUHDE JA KUSTANNUKSET**

Mahdollisesta työsuhteesta, työstä maksettavasta palkki-osta ja työstä mahdollisesti aiheutuvien kustannusten korvaamisesta toimeksiantaja ja opinnäytetyön tekijä sopivat erikseen.

**TULOSTEN JULKISTAMINEN JA LUOTTAMUKSELLISUUS**

Opinnäytetyöstä laaditaan Turun ammattikorkeakoulun ohjeen mukainen kirjallinen raportti.

Kirjallinen raportti luovutetaan toimeksiantajalle ja esitetään kirjaston kokoelmiin tai julkaistaan elektronisessa muodossa verkkokirjastossa.

Julkaistava opinnäytetyöraportti on laadittava niin, ettei se sisällä liike- tai ammattisalaisuuksia tai muita julkisuuslaissa (iki viranomaisten toiminnan julkisuudesta) salassa pidettäväksi määrättyjä tietoja, vaan ne jätetään työn tausta-aineistoon. Opinnäytetyön arvioinnissa otetaan huomioon sekä julkaistava että salassa pidettävä osa.

Opinnäytetyön toimeksiantaja ja opiskelija sitoutuvat pitämään salassa kaikki opinnäytetyön tekemisessä ja sitä edeltävissä tai sen jälkeisissä neuvotteluissa esiin tulevat luottamukselliset tiedot ja asiakirjat.

Toimeksiantajan edustajalle varataan mahdollisuus tutustua opinnäytetyöraporttiin viimeistään neljätoista (14) päivää ennen aiotua julkaisemista. Toimeksiantaja antaa työstä ennen edellä mainittua julkaisemisajankohtaa lausunnon, jossa voidaan määrätä opinnäytetyöraporttiin mahdollisesti sisältyvät liike- tai ammattisalaisuudet, joita ei julkaista.

Mitä liike- tai ammattisalaisuuksia sisältäviä asioita ei esitetä opinnäytetyöraportissa?

**OLEMME YHTEISESTI SOPINEET OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUKSESTA YLLÄ ESITETTYLLÄ TAVALLA**

23.5 2012

24.5 2012

Viivi Liukko VIIVI LIUKKO  
Opiskelija

Lena Tiirikainen LENA TIIRIKAINEN  
Toimeksiantaja

**LIITE : OPINNÄYTETYÖSUUNNITELMA**

**Tulosta lomake**

**Turun ammattikorkeakoulu**  
Joukahaisenkatu 3 A, 20520 Turku  
puh. 02 263 350 faksi 02 2633 5791  
sposti etunimi.sukunimi@turkuamk.fi

## **Turun ammattikorkeakoulu Sosiaali- ja terveystieteiden Koehenkilötiedote ja suostumuslomake**

**OIREETTOMIEN STREPTOKOKKI-A-KANTAJIEN KARTOITTAMINEN  
NIELUVILJELYLLÄ, PIKATESTILLÄ SEKÄ PCR – MENETELMÄLLÄ  
TIEDOTE TUTKITTAVILLE JA SUOSTUMUS TUTKIMUKSEEN  
OSALLISTUMISESTA**

### **1 Tutkijoiden yhteystiedot**

Liukko Viivi, viivi.liukko@students.turkuamk.fi  
Meriluoto Siiri, siiri.meriluoto@students.turkuamk.fi  
Soittu Sari, sari.soittu@students.turkuamk.fi  
Vesalainen Marika, marika.vesalainen@students.turkuamk.fi

### **2 Tutkimuksen taustatiedot**

Opinnäytetyöt tehdään Turun ammattikorkeakoulun Agricola-hankkeeseen. Opinnäytetyöt on tarkoitus tehdä kevään ja syksyn 2012 aikana.

### **3 Tutkimuksen tarkoitus, tavoite ja merkitys**

Opinnäytetöiden tarkoituksena on kartoittaa nieluviljelyllä, pikatestillä ja PCR-menetelmällä oireettomien streptokokki-A:n kantajien määrää. Tavoitteena on saada selville menetelmien heikkoudet sekä vahvuudet vertailemalla niitä toisiinsa.

### **4 Menettelyt, joiden kohteeksi tutkittavat joutuvat**

Tutkittavilta henkilöiltä otetaan nielunäytteet nieluviljelyä, pikatestiä ja PCR-menetelmää varten. Näytteistä tutkitaan edellä mainituilla menetelmillä A-ryhmän beetahemolyyttisen streptokokin olemassaolo.

### **5 Tutkimuksen hyödyt ja haitat tutkittaville**

Tutkimuksesta ei koidu näennäistä haittaa tutkittaville. Tutkittavilla on mahdollisuus saada tietoonsa omat tutkimustuloksensa. Positiivinen tulos ilmoitetaan tutkittavalle, jos hän ilmoittaa yhteystietonsa seuraavalle sivulle.

### **6 Miten ja mihin tutkimustuloksia aiotaan käyttää**

Tutkimustuloksia käytetään opinnäytetöihin.

### **7 Tutkittavien oikeudet**

Osallistuminen tutkimukseen on täysin vapaaehtoista. Tutkittavilla on tutkimuksen aikana oikeus kieltäytyä mittauksista ja keskeyttää testit ilman, että siitä aiheutuu mitään seuraamuksia. Tutkimuksen järjestelyt ja tulosten raportointi ovat luottamuksellisia. Tutkimuksesta saatavat tiedot tulevat ainoastaan tutkittavan ja tutkijaryhmän käyttöön ja tulokset julkaistaan tutkimusraporteissa siten, ettei yksittäistä tutkittavaa voi tunnistaa. Tutkittavilla on oikeus saada lisätietoa tutkimuksesta tutkijaryhmän jäseniltä missä vaiheessa tahansa.

## 8 Tutkittavan suostumus

Olen perehtynyt tämän tutkimuksen tarkoitukseen ja sisältöön, tutkittaville aiheutuviin mahdollisiin haittoihin sekä tutkittavien oikeuksiin ja vakuutusturvaan. Suostun osallistumaan mittauksiin ja toimenpiteisiin annettujen ohjeiden mukaisesti. En osallistu mittauksiin flunssaisena, kuumeisena, toipilaana tai muuten huonovointisena. Voin halutessani peruuttaa tai keskeyttää osallistumiseni tai kieltäytyä mittauksista missä vaiheessa tahansa. Tutkimustuloksiani saa käyttää tieteelliseen raportointiin (esim. julkaisuihin) sellaisessa muodossa, jossa yksittäistä tutkittavaa ei voi tunnistaa.

Tutkittavan nimi		Syntymäaika
Tutkittavan puhelinnumero		
Päiväys	Tutkittavan allekirjoitus	Paikka
Päiväys	Tutkijan allekirjoitus	Paikka
Päiväys	Tutkijan allekirjoitus	Paikka
Päiväys	Tutkijan allekirjoitus	Paikka
Päiväys	Tutkijan allekirjoitus	Paikka