

Rea Lukkarinen, Kimi Nurminen

Uimisen ja saunomisen yhteys bakteerien määrään kertakäyttöisissä piilolinssissä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko (AMK)

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

15.4.2015

Tekijä(t) Otsikko	Rea Lukkarinen, Kimi Nurminen Uimisen ja saunomisen yhteys bakteerien määrään kertakäyttöisissä piilolinssissä
Sivumäärä Aika	46 sivua + 3 liitettä 15.4.2015
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaaja(t)	Riitta Lumme, yliopettaja, Metropolia Risto Hilla, kliininen asiantuntija, HUSLAB
<p>Silmälääkärit ja optikot suosittelevat, että piilolinssijä ei tulisi käyttää uimisen tai saunomisen aikana piilolinssihin tarttuvien bakteerien aiheuttaman kohonneen silmätulehduksen riskin takia. Aiemmat tutkimukset ovatkin osoittaneet uima-altaassa käytettyihin piilolinssihin tarttuneen korkeampia bakteerimääriä kuin normaalisti uima-altaan ulkopuolella käytettyihin piilolinssihin.</p> <p>Opinnäytetyömme tavoitteena oli tuottaa lisätietoa näiden suositusten taustalle selvittämällä uimisen ja saunomisen yhteyttä piilolinssihin tarttuvien bakteerien määrään kertakäyttöisissä piilolinssissä suomalaisissa uimahalliolosuhteissa sekä tunnistamalla piilolinssihin tarttuneet bakteerilajit.</p> <p>Tutkimme kymmenen vapaaehtoisen tutkimushenkilön käyttämien piilolinssien bakteeripesäkemäärät piilolinssien normaalikäytön, uimisen ja saunomisen jälkeen sekä vertasimme uima-altaassa ja saunassa käytettyihin piilolinssihin tarttuneiden bakteereiden kokonaismäärää normaalisti käytettyihin piilolinssihin tarttuneiden bakteerien määrään. Lisäksi tutkimushenkilöiltä otettiin silmien sidekalvoilta bakteeriviljelynäytteet piilolinssinäytteistä löytyneiden bakteerilajien vertailukohdaksi. Piilolinssihin tarttuneet bakteerit irrotettiin piilolinssinäytteiden kuljetusnesteenä toimineeseen ESwab™-kuljetusputken nesteeseen voimakkaasti sekoittamalla ja kuljetusnestettä viljeltiin vakioitu määrä suklaa- ja FAAlmaljoille. Bakteeripesäkkeiden määrät laskettiin aerobi- ja anaerobiolosuhteissa kasvateuilta elatusainemaljoilta. Näytteistä löydetty bakteerilajit tunnistettiin Maldi-TOF-menetelmään perustuvalla VITEK®MS-laitteella. Näytteet analysoitiin HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastuualueen bakteriologian osastolla Risto Hillan ohjaamana.</p> <p>Opinnäytetyön tulokset osoittavat, että piilolinssihin voi tarttua bakteereita aina piilolinssijä käyttäessä. Uudessa ja saunoessa käytetyissä piilolinssissä ei kuitenkaan havaittu merkittävästi suurempia bakteerimääriä kuin normaalikäytössä pidetyistä piilolinssissä. Piilolinssinäytteistä tunnistettiin VITEK®MS-laitteella kahdeksan eri bakteerilajia, joista yleisimmät löydökset olivat silmän normaaliin mikrobistoon kuuluvat <i>Staphylococcus epidermidis</i> ja <i>Propionibacterium acnes</i>. Stafylokokkien lisäksi muita merkittäviä silmätulehdusten aiheuttajia ei opinnäytetyössä analysoiduista näytteistä löydetty.</p>	
Avainsanat	bakteerit, piilolinssit, saunominen, uinti

Author(s) Title	Rea Lukkarinen, Kimi Nurminen The Effect of Swimming and Sauna on the Amount of Bacteria in Disposable Contact Lenses
Number of Pages Date	46 pages + 3 appendices 15 April 2015
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructor(s)	Riitta Lumme, Principal Lecturer, Metropolia Risto Hilla, Clinical Expert, HUSLAB
<p>Ophthalmologists and opticians often recommend that contact lenses should not be used when swimming or having a sauna because of the increased risk of eye infections caused by bacteria adhering to the lenses. Previous studies have shown that contact lenses worn in a swimming pool have increased bacteria loads compared to contact lenses used in non-swimming conditions.</p> <p>The purpose of this thesis was to generate more information on the subject to back up the recommendations by researching the effect of swimming and sauna on the amount of bacteria in disposable contact lenses in Finnish public swimming pool conditions and by identifying the bacteria found on the lenses.</p> <p>We analyzed the total amount of bacterial growth found on the contact lenses worn by ten healthy volunteers in swimming, swimming & sauna and non-swimming conditions. The contact lenses were cultivated by placing the lens in an ESwab™ vial that was vortexed to release the adhered bacteria into the solution. An exact amount of the solution was spread on chocolate and FAA agars and incubated aerobically and anaerobically from which the total number of bacterial colonies was then counted. The bacteria were identified with the Maldi-TOF based VITEK®MS-system.</p> <p>The results of the thesis showed that it is possible for bacteria to adhere to the contact lenses in all conditions. However we did not find any significant difference in the total amount of bacteria found on the lenses between swimming, swimming & sauna and non-swimming conditions. We were able to identify eight different species of bacteria from the contact lenses with the VITEK®MS-system. Most of the bacterial growth belonged to <i>Staphylococcus epidermidis</i> and <i>Propionibacterium acnes</i> species that are known to be common in healthy eyes. We did not find any significant pathogenic bacteria other than staphylococci from the contact lenses.</p>	
Keywords	bacteria, contact lenses, sauna, swimming

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Silmän mikrobisto	2
2.1	Terveen silmän mikrobisto	2
2.1.1	Koagulaasinegatiiviset stafylokokit	4
2.1.2	Propionibacterium acnes	4
2.1.3	Micrococcus spp.	5
2.1.4	Corynebacterium spp.	5
2.2	Silmätulehdusten aiheuttajat	6
2.2.1	Staphylococcus aureus	6
2.2.2	Pseudomonas aeruginosa	7
2.2.3	Streptococcus spp.	8
2.2.4	Haemophilus influenzae	9
2.2.5	Moraxella spp.	10
3	Piilolinssit	10
4	Kuljetusvälineet ja kasvatusalustat	11
4.1	ESwab™-kuljetusputki ja geelikuljetusputki	11
4.2	Elatusainemaljat ja tioglykolaattiputki	11
5	VITEK®MS-laite ja Maldi-TOF-menetelmä	12
6	Uimahallin uima-allasveden vedenlaatu	13
7	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimusongelmat	15
8	Työn suoritus	16
8.1	Aikataulu	16
8.2	Käytännön toteutuksen suoritus ja työmenetelmät	16
8.2.1	Menetelmän testaus	17
8.2.2	Silmien mikroskopointi ja sidekalvonäytteet	18
8.3	Näytteiden analysointi	19
8.3.1	Sidekalvonäytteiden analysointi	19
8.3.2	Piilolinssinäytteiden analysointi	20
8.4	Käytännön toteutuksesta saatu aineisto	22

9	Tulokset	23
9.1	Uimisen ja saunomisen yhteys piilolinssihin tarttuneiden bakteerien kokonaismäärään	26
9.2	Piilolinssinäytteistä tunnistetut bakteerilajit ja niiden esiintyvyys	29
9.3	Sidekalvonäytteistä tunnistetut bakteerilajit ja niiden esiintyvyys	36
10	Johtopäätökset ja pohdinta	38
10.1	Tulosten tarkastelu	38
10.2	Luotettavuus ja eettisyys	41
10.3	Opinnäytetyöprosessi	42
	Lähteet	44
	Liitteet	
	Liite 1. Bakteeripesäkkeiden kokonaismäärät elatusainemaljoittain	
	Liite 2. Suklaamaljoilta tunnistetut bakteerilajit	
	Liite 3. FAA-maljoilta tunnistetut bakteerilajit	

1 Johdanto

Silmälääkärit ja optikot suosittelevat yleisesti, että piilolinssettä ei tulisi käyttää uimisen tai saunomisen aikana niihin tarttuvien mikrobien aiheuttaman kohonneen silmätulehdusriskin takia (U.S. Food and Drug Administration 2014). Aiemmat tutkimustulokset osoittavatkin, että piilolinssihin tarttuu bakteereita uudessa. Nämä tutkimukset ovat kuitenkin keskittyneet erilaisten linssimateriaalien vaikutukseen (Choo ym. 2005: 134–137.) sekä uimalasien antamaan suojaan (Wu ym. 2011: 456–460.). Piilolinssien uudessa ja saunoessa käyttämisen suoraa vaikutusta linssihin tarttuvien bakteerien määrään erityisesti suomalaisissa uimahalliolosuhteissa on tutkittu suhteellisen vähän näiden löytämiemme tutkimusten perusteella.

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli selvittää minkälainen yhteys uima-altaassa uimisella ja saunomisella on kertakäyttöisiin piilolinssihin tarttuvien bakteerien määrään. Tämä toteutettiin tutkimalla piilolinssihin tarttuneiden bakteerien kokonaismääriä ja tunnistamalla löytyneet bakteerit. Opinnäytetyössä emme huomioineet piilolinssihin mahdollisesti tarttuvia viruksia ja muita mikrobeja.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa tietoa, jota voidaan käyttää esimerkiksi optikoiden ja silmälääkärien suosituksissa piilolinssien käytöstä uimisen yhteydessä. Opinnäytetyö voi myös tuottaa lisätietoa piilolinssihin tarttuvista bakteereista ja viljelymenetelmistä HUSLABin bakteriologian osastolle ja auttaa näin laboratorion rutiinidiagnostiikkaan kuuluvia piilolinssi- ja piilolinssinestetutkimuksia.

Opinnäytetyö toteutettiin osittain yhteistyössä Metropolia Ammattikorkeakoulun optometrian koulutusohjelman opiskelijoiden Jenni Permanto, Erika Eskola ja Elina Syrjälä kanssa. Optometrian opiskelijat vastasivat tutkimushenkilöiden valinnasta ja tekivät kaikille valituille henkilöille silmien mikroskooppisen tutkimuksen ennen opinnäytetyön käytännön toteutusta. He vastasivat myös piilolinssien silmään asettamisesta ja poistamisesta käytännön toteutuksen aikana. Meidän osuutemme opinnäytetyöstä keskittyi näytteiden käsittelyyn, analysoimiseen ja raportointiin.

Toteutimme opinnäytetyön uinti- ja saunomiskoestuksen Helsingissä Mäkelänrinteen uintikeskuksessa. Opinnäytetyön analyttisen osuuden toteutimme HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastualueen bakteriologian osastolla.

Opinnäytetyön ohjaavana opettajana toimi yliopettaja Riitta Lumme. HUSLABin bakteriologian osaston puolelta opinnäytetyötä ohjasi kliininen asiantuntija Risto Hilla.

2 Silmän mikrobisto

Keskitymme tässä opinnäytetyössä pääasiassa silmän sidekalvon mikrobistoon, sillä kaikki opinnäytetyössä analysoidut näytteet tulevat olemaan sidekalvon alueelta peräisin. Tässä opinnäytetyön kappaleessa käytetty bakteerilajien jako terveeseen silmän mikrobistoon ja silmän patogeeneihin on keinotekoinen, sillä silmätulehduksen aiheuttaja on hyvin usein silmän normaaliin mikrobistoon kuuluva bakteeri. Käytetty jako perustuu kappaleessa käytettyihin kirjallisuuslähteisiin.

2.1 Terveen silmän mikrobisto

Silmän mikrobisto on normaalisti vaatimaton ja vähäinen kyynelnesteen sisältämien antimikrobisten aineiden johdosta (Wilson 2005: 116–119.) Jopa 49 % terveeseen silmän sidekalvolta otetuista bakteeriviljelynäytteistä on täysin negatiivisia. Positiivisista bakteeriviljelynäytteistä tavataan keskimäärin alle kolmea eri bakteerilajia. (Baron 1996) Negatiivisia silmän sidekalvon bakteeriviljelynäytteitä bakteerien 16S rRNA geenien PCR-moistukseen perustuvalla menetelmällä tutkiessa on kuitenkin havaittu, että näissäkin näytteissä usein on bakteereita, jotka eivät syystä tai toisesta tule viljeltäessä esille (Wilson 2005: 116). Terveen henkilön oikean ja vasemman silmän mikrobistot ovat keskenään hyvin samankaltaisia. Myöskään silmäluomen alapinnan ja silmän sidekalvon mikrobistojen välillä ei ole suurta eroa. Silmäluomen ulkopinnan mikrobisto taas vastaa ympäröivän ihon normaalia mikrobistoa. (Wilson 2005: 118–120.)

Eri bakteerilajien esiintyvyys silmän sidekalvolla vaihtelee hieman kirjallisuuslähteen mukaan (Taulukko 1). Valtaosan silmän sidekalvon bakteeristosta muodostavat koagulaasinegatiiviset stafylokokit, *Corynebacterium spp.* ja *Propionibacterium acnes* (Baron 1996; Holopainen – Immonen - Laatikainen 2011).

Taulukko 1. Bakteerien esiintyvyys terveiden silmien sidekalvolla (Wilson 2005: 118–119; Holopainen ym. 2011).

Bakteeri	Esiintyvyys (%) (Wilson 2005: 118–119)	Esiintyvyys (%) (Holopainen ym. 2011)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ja muut koagulaasinegatiiviset stafylokokit	30 - 83	75 - 90
<i>Corynebacterium spp.</i>	6 - 52	20 - 75
<i>Propionibacterium acnes</i>	44	50
Streptokokit	1 - 26	2 - 10
Mikrokokit	14 - 22	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 - 36	25 - 40
Gramnegatiiviset sauvat	4 - 10	0 - 5
Grampositiiviset anaerobiset kokit	6	-
<i>Neisseria spp.</i>	1 - 2	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	<1	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	5

Koagulaasinegatiivisten stafylokokkien joukko jakaantuu esiintyvyydellään seuraavasti: *Staphylococcus epidermidis* 57 %, *Staph. capitis* 13 %, *Staph. simulans* 9 %, *Staph. hominis* 2 %, *Staph. warneri* 2 %, *Staph. saprophyticus* 2 % ja muut stafylokokit 15 % (Wilson 2005: 118–119.)

Piilolinssien käytön on havaittu muuttavan silmän normaalia mikrobistoa sillä piilolinssin rakenne tarjoaa bakteereille uusia mahdollisuuksia tarttumiseen ja biofilmin muodostamiseen. Piilolinssin käyttö voi myös muuttaa esimerkiksi linssin alle jäävän kyynelnerroksen happipitoisuutta. Piilolinssien käytön on havaittu joissakin tilanteissa lisäävän silmän normaalin mikrobiston määrää ja lisäävän potentiaalisten silmäpatogeenien kuten *Pseudomonas*-, *Achromobacter*-, *Acinetobacter*-, *Klebsiella*-, *Serratia*- ja *Xanthomonas*-lajien esiintymistä. (Wilson 2005: 121.)

2.1.1 Koagulaasinegatiiviset stafylokokit

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat grampositiivisesti värjäytyviä, noin 1 µm:n kokoisia katalaasipositiivisia ryhmiin järjestäytyneitä kokkibakteereita, jotka ovat yleisiä löydöksiä ihmisen iholla ja limakalvoilla (Baron 1996.) Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat fakultatiivisia anaerobeja (Wilson 2005: 69–73.). Ne voidaan erottaa *Staphylococcus aureuksesta* ja muista koagulaasipositiivisista stafylokokkeista koagulaasireaktion perusteella, joka niillä on nimensä mukaisesti negatiivinen (Lyytikäinen - Vuopio-Varkila – Kotilainen 2010.) Koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja on tavattu yli 30 lajia, joista yli puolia on löydetty ihmisestä. Yleisin ja tärkein ryhmän laji on *Staphylococcus epidermidis*. (Wilson 2005: 69–73.) Muita ihmisen koagulaasinegatiivisia stafylokokkilajeja ovat mm. *Staphylococcus saprophyticus*, *Staph. haemolyticus*, *Staph. hominis*, *Staph. warneri*, *Staph. capitis*, *Staph. auricularis*, *Staph. cohnii* ja *Staph. lugdunensis*. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat pääasiassa vähäisen taudinaiheuttamiskyvyn omaavia opportunistisia patogeeneja ja niiden aiheuttamien kliinisten infektioiden syntyyn tarvitaan lähes aina jokin altistava tekijä kuten ihovaurio, vierasesine tai immunosuppressio. Ne ovat kuitenkin yleinen sairaaloissa esiintyvien vierasesineinfektioiden aiheuttaja. (Lyytikäinen ym. 2010.) Vaikka koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat yleisiä löydöksiä terveissäkin silmissä, *Staph. epidermidistä* pidetään myös yhtenä yleisimpänä silmätaulehdusten aiheuttajana (Holopainen ym. 2011).

Yli puolet sairaalainfektioita aiheuttavista koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista ovat nykyisin resistenttejä monille mikrobilääkkeille. Niiden resistenssi beetalaktaamiryhmän antibiooteille perustuu mecA-geenin tuottamaan muuntuneeseen penisilliiniä sitovaan proteiiniin. (Lyytikäinen ym. 2010.)

2.1.2 Propionibacterium acnes

Propionibacterium acnes on obligaatisti anaerobinen tai mikroaerofiilinen, hidaskasvuinen, katalaasipositiivinen grampositiivisesti värjäytyvä sauvabakteeri. Sitä tavataan yleisesti ihmisen iholla ja erityisesti ihon karvatupeissa, joissa happipitoisuus on ympäristöä pienempi. (Wilson 2005: 68–69.) *Propionibacterium acnesta* pidetään yhtenä tärkeimpänä aknen aiheuttajana. Tämän lisäksi sitä voidaan tavata myös monenlaisissa systeemisissä tai laajalle levinneissä opportunisti-infektioissa, kuten endokardiitissa, osteomyeliitissa, artriitissa ja keskushermostoinfektioissa. Lisäksi *Propionibacterium acnes*

tunnetaan yleisenä kroonisen leikkauksenjälkeisen endoftalmiitin aiheuttajana. (Holopainen ym. 2011.) Se on myös yleinen löydös konjunktiviittipotilaiden silmistä (Wilson 2005: 122). Se pystyy tuottamaan ympäristöönsä lipaaseja ja proteaaseja, jotka hajottavat rasvaa ja proteiineja bakteerin käyttöön (Wilson 2005: 68–69). Nämä hajoamistuotteet voivat tuoda paikalle myös muita bakteerilajeja sekä stimuloida ihmisen tulehdusreaktioita (Baron 1996.) *Propionibacterium acnes* pystyy kuitenkin estämään kilpailevien bakteerilajien kasvua tuottamalla ympäristöönsä mm. propionihappoa. Muita ihmisestä löydettyjä *Propionibacterium*-lajeja ovat *P. avidum*, *P. granulosum* sekä *P. propionicum*. (Wilson 2005: 68–69.)

2.1.3 *Micrococcus* spp.

Mikrokokeilla tarkoitetaan *Micrococcus*-sukuun kuuluvia 1–1,8 µm:n kokoisia grampositiivisia kokkibakteereita (Public Health Agency of Canada 2014.) Mikrokokit ovat oksidaasia tuottavia obligaatteja aerobeja. Monet aiemmin tunnetuista *Micrococcus*-suvun lajeista on nykyisin jaettu mm. *Kocuria*-, *Kytococcus*- ja *Dermacoccus*-sukuihin. Tärkeimmät mikrokokkilajit ovat *Micrococcus luteus*, *M. lylae* ja *M. antarcticus*, joista kahta ensimmäistä on tavattu myös ihmisen iholla. Mikrokokkien aiheuttamat infektiot ovat harvinaisia, mutta mikrokokit ovat mahdollisia opportunistisia patogeeneja immunosuppressiopotilaille (Wilson 2005: 73; Public Health Agency of Canada 2014). Mikrokokkeja ei pidetä yleisinä silmätulehduksien aiheuttajina (Holopainen ym. 2011).

2.1.4 *Corynebacterium* spp.

Corynebacterium-suvun lajit ovat grampositiivisia ja katalaasipositiivisia sauvabakteereita, jotka kuuluvat difteroideiksi tai koryneformeiksi kutsuttuun sekavaan joukkoon. Ne viihtyvät pääasiassa aerobisissa olosuhteissa osan lajeista ollessa obligaatteja aerobeja ja osan fakultatiivisia anaerobeja. Vaikka *Corynebacterium*-suvun lajeja tunnetaan yli 50, vain muutamaa niistä tavataan yleisesti ihmisen iholla. Ihmisen normaalimikrobistoon kuuluvat mm. seuraavat *Corynebacterium*-suvun lajit: *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. minutissimum* ja *C. xerosis*. (Wilson 2005: 65–68.) Näiden lajien tunnetaan aiheuttavan infektoita vain kun sekä potilaan yleinen että paikallinen vastustuskyky ovat heikentyneet (Carlson - Järvinen 2010). Vaikka suvun lajeja ei pidetä tärkeinä silmätulehdusten aiheuttajina, niiden aiheuttamat tulehdukset ovat silti mahdollisia (Eguchi 2013.)

Tunnetuin suvun laji *Corynebacterium diphtheriae* on difteriatoksiinia tuottava patogeeninen bakteeri, jonka aiheuttama sairaus, kurkkumätä, on ollut yksi historian pahimpia lastentauteja. Difтеріarokotteen käyttöönoton jälkeen *C. diphtheriae* tartunnat ja niiden aiheuttamat taudit ovat käyneet länsimaissa erittäin harvinaisiksi. (Lumio - Vuopio-Varikila 2010.)

2.2 Silmätulehdusten aiheuttajat

Silmän alueen tulehdukset ovat tavallisia ja niiden vaikeusaste vaihtelee lievästä silmän ärsytyksestä aina vaikeisiin arpeuttaviin sairauksiin ja näönmenetykseen asti. Yleisimmät silmän infektiot ovat sidekalvotulehdukset, eli konjunktiviitit, joista valtaosa paranee ilman hoitoa. Sarveiskalvotulehdukset ja esimerkiksi tapaturmien ja leikkausten jälkeiset silmänsisäiset tulehdukset ovat näköä uhkaavia ja vaativat tehokasta hoitoa. Silmätulehdusten aiheuttajina voivat olla virukset, bakteerit, sienet ja parasiitit. (Holopainen ym. 2011.) Tässä opinnäytetyössä keskitymme vain bakteeritulehduksiin.

Yleisimmät aikuisten bakteerisilmätulehdusten aiheuttajat ovat *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, koagulaasinegatiiviset stafylokokit, *Streptococcus pyogenes*, *Moraxella lacunata*, *Corynebacterium spp.* *Propionibacterium spp.* ja viridans-ryhmän streptokokit. (Holopainen ym. 2011; Wilson 2005: 122–125.) *Pseudomonas aeruginosa* on erityisesti piilolinssien käyttäjillä tavattu nopeasti etenevän sarveiskalvotulehduksen aiheuttaja. Myös silmätulehdukset, joiden aiheuttajana on *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* tai *Escherichia coli* ovat mahdollisia erityisesti laitoshoidossa olevilla. Sukupuolitauteja aiheuttavien *Neisseria gonorrhoeae* ja *Chlamydia trachomatis* aiheuttamat silmätulehdukset ovat myös mahdollisia. (Holopainen ym. 2011.)

Lasten silmätulehdusten aiheuttajana on usein *Str. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tai *Moraxella spp.* ja vastasyntyneellä *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *E. coli*, *Staph. aureus* tai *H. influenzae*. (Wilson 2005: 122.)

2.2.1 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus vastaa ulkoisilta ominaisuuksiltaan suurilta osin koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja, joista se voidaan erottaa koagulaasireaktion perusteella sillä

lähies kaikki *Staph. aureus*-kannat (ja muut koagulaasipositiiviset stafylokokit, jotka kuuluvat pääasiassa eläinten mikrobistoon) tuottavat koagulaasia (Vuopio-Varkila - Kuusela - Kotilainen 2010.) *Staph. aureus* on varsin yleisesti tavattu bakteeri erityisesti ihmisen nenässä ja nenänielussa sekä ihon taivealueilla ja sen katsotaankin kuuluvan ihmisen normaalimikrobistoon (Public Health Agency of Canada 2014.) *Staph. aureuksen* muita stafylokokkeja suurempi taudinaiheuttamiskyky perustuu sen tuottamiin moniin virulenssitekijöihin (Baron 1996.) *Staph. aureuksella* on ulkopinnallaan useita adhesiiniproteiineja, joiden avulla se voi tarttua ihmisen soluihin ja rakenteisiin. Se pystyy myös sitomaan elimistön tuottamia vasta-aineita pintaansa väärin päin, jolloin spesifiset vasta-aineet eivät pysty tarttumaan siihen ja elimistön puolustusreaktio häiriintyy. *Staph. aureus* tuottaa ympäristöönsä monia entsyymejä ja toksineja, jotka hajottavat elimistön rakenteita tuottaen bakteerille ravintoaineita ja aiheuttavat ihmiselle haittaa. (Vuopio-Varkila ym. 2010.)

Staph. aureus on yleinen kliinisten iho- ja pehmytkudosinfektioiden, leikkaushaava-, nivel- ja luuinfektioiden sekä vakavien yleisinfektioiden aiheuttaja (Vuopio-Varkila ym. 2010). Se tavataan usein myös erilaisten silmätulehdusten aiheuttajana (Holopainen ym. 2011).

Staph. aureus on kehittänyt resistenssiä lähes kaikkia kliinisessä käytössä olevia mikrobilääkeryhmiä kohtaan, mikä aiheuttaa ongelmia infektioiden hoidossa. Erityinen ongelma lääkehoidolle ovat nk. metisilliiniresistentit *Staph. aureus*-kannat, eli MRSA, jotka *mecA*-geenin tuottaman muuntuneen penisilliiniä sitovan proteiinin johdosta ovat resistenttejä kaikille beetalaktaamiryhmän antibiooteille. Ne ovat beetalaktaamien lisäksi usein myös resistenttejä useille muille mikrobilääkkeille jättäen ainoastaan glykopeptidi-antibiootit tehoaviksi lääkkeiksi. (Vuopio-Varkila ym. 2010.)

2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa on gramnegatiivisesti värjäytyvä, aerobinen, 1,5–3 µm:n pituinen hoikka sauvabakteeri. Se on oksidaasipositiivinen ja laktoosinegatiivinen bakteeri. Se pystyy liikkumaan solun päässä olevan yksittäisen flagellan avulla. (Baron 1996.) Se on kasvuvaatimuksiltaan vaatimaton ja sen johdosta yleinen löydös niin ihmisistä, eläimistä ja ympäristöstä. Se viihtyy erityisesti kosteissa olosuhteissa kuten uima-altaissa, pesuvesissä ja piilolasinesteissä. Tavallisimmat kolonisaatioalueet ihmisellä ovat väli-liha, kainalot ja korvat. (Tissari - Anttila 2010.) Lisäksi sitä voidaan tavata iholla, nielussa

ja ulosteessa (Baron 1996). *P. aeruginosa* on luonnostaan resistentti monille antimikrobilääkkeille sillä sen solun ulkomembraani toimii tehokkaana läpäisyesteenä. Tämän lisäksi sen soluseinässä on antibiootteja solusta ulos kuljettavia proteiineja. Se tuottaa myös beetalaktamaasientsyymejä. (Tissari - Anttila 2010.)

P. aeruginosa on opportunistinen patogeeni, joka voi aiheuttaa monimuotoisia infektioita erityisesti immunosuppressiopotilaille ja sairaalahoidossa oleville. Se on tavallinen ulkorovatulehdusten aiheuttaja, virtsaketrotroiturien virtsatieinfektioiden aiheuttaja sekä kroonista keuhkosairautta sairastavien keuhkokuumeen aiheuttaja. Näiden lisäksi se voi aiheuttaa myös monia muita paikallisia ja yleisinfektioita. (Tissari - Anttila 2010.)

P. aeruginosa on tavallinen keratiitin aiheuttaja erityisesti piilolinssien käyttäjillä, koska se on hyvä kolonisoimaan monia piilolinssimateriaaleja ja kykenee luomaan biofilmin piilolinssin pinnalle. Se pystyy elämään myös monissa piilolinssinesteissä puhdistusaineista huolimatta. (Wilson 2005: 121.) Se voi tuottamiensa solunulkoisten entsyymien takia aiheuttaa nopeasti etenevän ja sarveiskalvolle kudostuhoa aiheuttavan silmän perforoivan infektion, joka voi johtaa jopa näön menettämiseen. (Tissari - Anttila 2010.)

Muita ihmisellä tavattavia *Pseudomonas*-suvun lajeja ovat mm. *P. fluorescens*, *P. stutzeri* ja *P. putida* (Baron 1996).

2.2.3 Streptococcus spp.

Streptokokit ovat *Streptococcus*-sukuun kuuluvia fakultatiivisia tai obligaatteja anaerobeja, noin 1 µm:n kokoisia grampositiivisia kokkeja, jotka järjestäytyvät usein ketjuihin tai pareittain (Baron 1996.) Ne ovat katalaasinegatiivisia ja monet suvun lajeista kasvavat parhaiten korkeissa (5 %) hiilidioksidipitoisuuksissa (Wilson 2005: 146–150.) Niitä tavataan ihmisen suussa, ylähengitysteissä, suolistossa ja iholla (Baron 1996.) Streptokokit on perinteisesti jaoteltu ryhmiin niiden hemolyysireaktion mukaisesti (α-, β- ja non-hemolyttinen) sekä Lancefieldin ryhmiin (A, B, C, D...) niiden soluseinän sisältämän polysakkaridiantigeenin mukaisesti. Nämä luokittelutavat eivät kuitenkaan ole täydellisiä, sillä monelta streptokokkilajilta puuttuu Lancefieldin antigeeni kokonaan. (Wilson 2005: 146–150.)

Tärkeimmät ihmisen streptokokkilajit ovat *Streptococcus pyogenes* (A-ryhmän β -hemolyyttinen streptokokki), *Str. pneumoniae* (=pneumokokki, α -hemolyyttinen, ei Lancefieldin antigeeneja), *Str. agalactiae* (B-ryhmän β -hemolyyttinen streptokokki), *Str. dysgalactiae* ssp. *equisimilis* (C- tai G-ryhmän β -hemolyyttinen streptokokki) sekä viridans-ryhmän streptokokkeina tunnettu joukko pääasiassa α - ja non-hemolyyttisiä lajeja. Streptokokit ovat ihmiselle apatogeenisiä tai opportunistisia patogeeneja. (Rantakokko-Jalava - Anttila 2010.)

Streptokokit voivat aiheuttaa ihmiselle monenlaisia paikallisia ja systeemisiä tulehduksia, kuten nielutulehdusta ja ruusua (esim. *Str. pyogenes*), keuhkokuumetta, meningiittiä ja sepsistä (esim. *Str. pneumoniae*) (Baron 1996). *Str. pneumoniae* ja *Str. pyogenes* tunnetaan myös yleisinä silmätulehdusten aiheuttajina (Holopainen ym. 2011).

2.2.4 Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae on aerobinen, gramnegatiivinen kokkobasilli, jota tavataan usein ihmisen ylähengitysteiden normaalimikrobistossa. (Wilson 2005: 146) *H. influenzae* on kasvuolosuhteiltaan vaativa ja tarvitsee sekä punasolujen sisältämää hemiiniä että nikotiiniamidiadeniinidinukleotidia (NAD+) kasvaakseen (Baron 1996.) *H. influenzae*-kannat jaetaan seitsemään ryhmään bakteerin kapselin polysakkaridirakenteen antigeenien perusteella: serotyypit a – f, sekä kapselittomien *H. influenzae* ryhmä. Tunnetuin serotyypeistä on *H. influenzae*, tyyppi b (Hib), joka pystyy aiheuttamaan invasiivisia ja vakavampia taudinkuvia kuin muut tyypit. (Wilson 2005: 146.) Hib-tauteja voidaan nykyisin estää Suomessa rokotusohjelmaan kuuluvalla rokotteella (Käyhty - Peltola 2010).

Vakavampia *H. influenzae* aiheuttamia tauteja ovat meningiitti, kurkunkansitulehdus, keuhkokuume ja sepsis (Käyhty – Peltola 2010).

Kapselittomat *H. influenzae* aiheuttavat pääasiassa paikallisinfektioita, joista yleisin on välikorvatulehdus. *H. influenzae* on välikorvatulehduksen toiseksi yleisin aiheuttaja pneumokokin jälkeen. Muita kapselittomien hemofilusten aiheuttamia tauteja ovat mm. keuhkoputkitulehdus, poskiontelotulehdus sekä silmän sidekalvotulehdus. (Käyhty - Peltola 2010.)

2.2.5 *Moraxella* spp.

Moraxella-suvun lajit ovat noin 0,6–2,5 µm:n kokoisia gramnegatiivisia kokkobasilleja. Suvun lajit ovat pääasiassa aerobisia ja katalaasi- ja oksidaasipositiivisia. (Public Health Agency of Canada 2014.) Kokkimaiset *Moraxella*-lajit, kuten suvun yleisin laji *Moraxella catarrhalis*, järjestäytyvät usein diplokoikeiksi (Wilson 2005: 150.) *Mor. catarrhalis* ja monet muut suvun lajeista kuuluvat ihmisen ylähengitysteiden limakalvojen normaaliin mikrobistoon. Muita suvun ihmisessä tavattuja lajeja ovat mm. *Moraxella nonliquefaciens*, *Mor. lacunata* ja *Mor. osloensis*. (Vuento 2010.)

Mor. catarrhalis voi aiheuttaa välikorvatulehdusta, poskiontelotulehdusta, keuhkokuumetta ja muita hengitystietulehduksia sekä meningiittiä ja systeemisiä infektioita. *Mor. catarrhalis* ja *Mor. lacunata* voivat aiheuttaa myös silmän sidekalvon ja sarveiskalvon tulehduksia. (Public Health Agency of Canada 2014.)

3 Piilolinssit

Opinnäytetyössämme käytimme CooperVision®:n kertakäyttöisiä silikonihydrogeelilinssejä. Linssit ovat pehmeitä UV-suojalla varustettuja piilolinssinä päiväkäyttöön puskuroidussa suolaliuoksessa (CooperVision; CooperVision 2015a). Silikonihydrogeelistä valmistetut linssit päästävät lävitseen suuria määriä happea, ne eivät kuivu tai likaannu herkästi ja niissä on pienempi silmätulehduksen riski verrattuna tavallisiin pehmeisiin linssihin (CooperVision 2015b). Silikonihydrogeelilinsien hapenläpäisy on huomattavasti perinteisiä pehmeitä linssejä parempi. Hapenläpäisy vaikuttaa sidekalvojen turvotukseen ja silikonihydrogeelilinsin käyttäjillä turvotus on vähäisempää verrattuna perinteisten pehmeiden linssien käyttäjiin. (Salomaa 2006: 14–17.)

Löytämiemme aikaisemmin aiheesta tehtyjen tutkimusten perusteella päädyimme optometrian opiskelijoiden kanssa käyttämään opinnäytetyössämme vain yhtä piilolinssimateriaalia (silikonihydrogeeli) ja jätimme uimalasien käytön pois. Yhdysvaltojen Oregonissa vuonna 2005 tehdyssä tutkimuksessa tutkittiin mikrobimäärien eroa silikonihydrogeeli- ja hydrogeelipiilolinssien välillä uimisen jälkeen. Tutkimukseen osallistui 15 tervettä tutkimushenkilöä ja näytteiksi saatiin 28 linssiä. Tutkimuksessa ei todettu eroa piilolinssien materiaalien välillä. (Choo ym. 2005: 134–137.) Australian Sydneyssä vuonna 2011 tehdyssä tutkimuksessa tutkittiin uimalasien vaikutusta piilolinssien mikrobimääriin.

Tutkimukseen osallistui 23 tutkimushenkilöä, jotka suorittivat kaksi uintikertaa merivesialtaassa. Tutkimuksessa vertailtiin myös, onko piilolinssien materiaalilla merkitystä. Uimalasien todettiin vähentävän bakteerien määrää uinnin aikana, mutta tutkimuksessa piilolinssien materiaalilla ei todettu olevan vaikutusta. (Wu ym. 2011: 456–460.)

4 Kuljetusvälineet ja kasvatusalustat

4.1 ESwab™-kuljetusputki ja geelikuljetusputki

Käytimme piilolinssien kuljetukseen ESwab™-kuljetusputkea. ESwab™-kuljetusputkella voidaan kuljettaa näytteitä, jotka sisältävät aerobisia, anaerobisia sekä ravinteiden suhteen vaativia bakteereja, viruksia ja klamydia-bakteeria. Jos näytettä säilytetään huoneenlämmössä, tulisivat viljelyt tehdä kahden tunnin sisällä näytteen keräämisestä, jääkaapissa säilytettynä 24 h sisällä (*Neisseria gonorrhoeae*) tai 48 h sisällä. ESwab™-kuljetusputken neste sisältää natriumkloridia, kaliumkloridia, kalsiumkloridia, magnesiumkloridia, monokaliumfosfaattia, dinatriumfosfaattia, natriumtioglykolaattia ja tislattua vettä. (ESwab 2010.)

Sidekalvonäytteet keräsimme Copan:in M40 Transystem-sarjan 408C-malliseen geelikuljetusputkeen. Kuljetusputki on tarkoitettu monipuolisesti erilaisten ravinnoltaan vaativien aerobisten ja anaerobisten bakteerien sekä *Neisseria gonorrhoeaen* kuljettamiseen. Kuljetusputki voidaan kuljettaa huoneenlämmössä, mutta pidempi säilytys tulee tapahtua jääkaappilämpötilassa. 408C-mallin kuljetusputki sisältää geelin, jossa ei ole mukana hiiltä. Kuljetusputken mukana tuleva vanupuikko on valmistettu niin, että näytteeksi kerätyt bakteerit pysyisivät mahdollisimman hyvin kiinni vanupuikossa ja ovat hyvin siirrettävissä viljelyalustoille. (Copan 2012.)

4.2 Elatusainemaljat ja tioglykolaattiputki

Valitsimme yhdessä kliinisen asiantuntijan kanssa viljelymaljat eri bakteerien kasvuvaihtimusten perusteella niin, että saisimme mahdollisimman laajasti eri bakteerilajit kasvaan. Koska bakteereita kasvaa niin aerobi- kuin anaerobitiloissa, päädyimme käyttämään aerobiolosuhteen vaativille bakteereille suklaamaljaa ja anaerobiolosuhteen vaativille bakteereille fastidious anaerobe-maljaa, eli FAA-maljaa. Lisäksi käytimme rikastavaa tioglykolaattiputkea mahdollisten vähäistenkin bakteerimäärien esiin saamiseksi.

Suklaamalja on aerobiolosuhteet vaativille bakteereille tarkoitettu rikas yleismalja. Suklaamaljan agarit ja vesi autoklavoidaan agarkeitimessä 121 °C:ssa 15 minuutin ajan, jonka jälkeen malja jäädytetään 75 °C:n, jonka jälkeen maljalle lisätään hevosen tai lampaan verta. Tämän jälkeen malja jäädytetään vielä 50 °C:n, jonka jälkeen lisätään muut lisäaineet. Suklaamalja sisältää kahta eri agaria (tryptikaasi-soija-agarია ja Mueller Hinton II agarია), vettä, hevosen tai lampaan verta sekä ISO-Vitalex osa 1:tä ja osa 2:ta. Suklaamaljan pH on 7.2–7.4. (Hilla 2015.)

Fastidious anaerobe-malja, eli FAA-malja, on anaerobiolosuhteet vaativille bakteereille tarkoitettu yleismalja. FAA-maljan agar ja vesi autoklavoidaan agarkeitimessä 121 °C:ssa 15 minuutin ajan jonka jälkeen malja jäädytetään 48 °C:n ja lisätään hevosen veri. FAA-malja sisältää fastidious anaerobe-agarin, vettä ja hevosen verta. FAA-maljan pH on 7.2 +/-0.2. (Hilla 2015.)

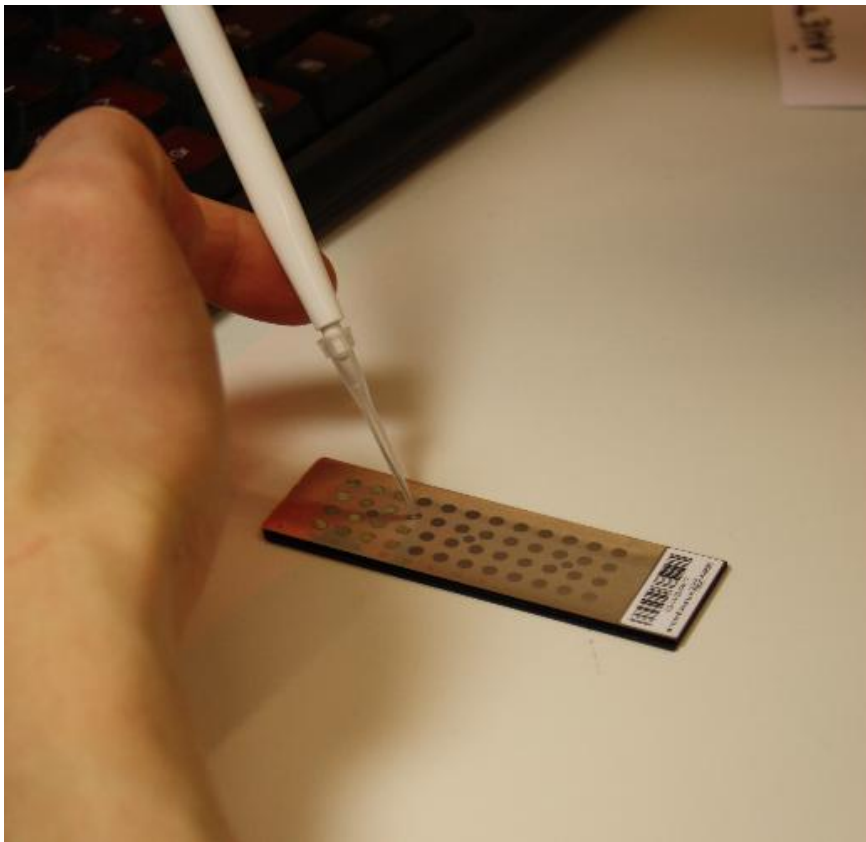
Tioglykolaattiputki, eli TIO-putki, on sekä aerobi- että anaerobiolosuhteet vaativille bakteereille sopiva kasvatusputki. Tioglykolaattiputken sulkemista varten ei tarvita parafiiniä tai muita erikoisia tiiviitä korkkeja vaan tavallinen korkki riittää. Sen inkuboimiseen ei myöskään tarvita anaerobiatmosfääriä (OXOID 2015). Tioglykolaattiputket valmistetaan liuottamalla tioglykolaattipulveri kuumaan veteen ja liuosta keitetään ja sekoitetaan. Liuokseen lisätään kylmää vettä, jonka jälkeen lisätään haemin-liuos ja K1-vitamiiniliuos. Liuosta steriloidaan autoklavoinnilla 121 °C:ssa 15 minuutin ajan. (Hilla 2015.) Tioglykolaattiputki sisältää hiivauutetta, glukoosia, natriumtioglykolaattia, natriumkloridia, L-kysteiniä, resatsuriinia, agarია ja tryptonia (OXOID 2015).

5 VITEK®MS-laite ja Maldi-TOF-menetelmä

VITEK®MS on bakteereiden, mykobakteereiden ja sienten tunnistukseen tarkoitettu laite (HUSLAB 2014). Tunnistusmenetelmä perustuu matriisiavusteiseen laserdesorptioionisaatio lentoaikamassaspektrometriin, jonka englanninkielisestä muodosta Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight tulee menetelmän nimen lyhenne Maldi-TOF. (Biomériux 2015.)

VITEK®MS-analyysi suoritetaan siirtämällä pieni määrä tutkittavaa näytettä näytelevylle jonka päälle lisätään matriisia (Kuvio 1). Näytelevy asetetaan VITEK®MS-laitteeseen, jossa näytteeseen kohdistetaan useita lasersäteiden osumia. Matriisi suojaaa biomolekyyliä

suoralta lasersäteeltä ja helpottaa näytteen höyrystymistä ja ionisoitumista. Sopivan taa-juinen lasersäde saa aikaan näytteen polymeerin varautumisen ja ionien irtoamisen. Ionit kulkevat kokonsa mukaan määrityvällä vauhdilla laitteen detektorille ja osumat summa- taan TOF-massaspektriksi ajan funktiona. Tulokseksi saadaan proteiinispektri, jota ver- rataan VITEK®MS:n tietokantaan. Yhdelle näytelevylle mahtuu 48 näytettä ja 3 kontrollia. Analyysi kestää n. 30 - 60 sekuntia näytettä kohti. Teknisesti hyväksyttävään analyysiin tarvitaan näytteestä 100 proteiinispektriä. Menetelmän kontrollina toimii *Escherichia coli*- kanta, josta vaaditaan kaksi onnistunutta tunnistusta jokaista 16 näytettä kohti. (HUSLAB 2014.)



Kuvio 1. Matriisin lisääminen näytelevylle.

6 Uimahallin uima-allasveden vedenlaatu

Pyysimme Mäkelänrinteen uintikeskuksen uima-altaiden vedenlaadun valvontatulokset Helsingin kaupungin ympäristökeskuksen terveystarkastajalta. Mäkelänrinteen uintikes- kuksen näytteenottosuunnitelman mukaan näytteitä otetaan kaksi kertaa kuukaudessa

jokaisesta altaasta. Opinnäytetyömme käytännön toteutus suoritettiin 9.3.2015 ja sitä edeltävä ympäristökeskuksen suorittama näytteenotto oli suoritettu 5.3.2015. Kyseinen näytteenotokerta oli laaja kerran vuodessa tehtävä tutkimus, johon kuuluivat lisämääri-tykset $KMnO_4$, urea ja THM eli trihalometaanit. (Helsingin kaupungin ympäristökeskus 2015.) Taulukossa 2 on esitetty tässä opinnäytetyössä käytetyn uima-altaan vedenlaadun valvontatutkimuksen tulokset.

Taulukko 2. Uima-allasveden vedenlaadun valvonnan tulokset (MetropoliLab 2015).

Analyysi	Uima-allasvesi	Yksikkö	Raja-arvo
Heterotrofinen pesäkeluku 22 °C	0	CFU/ml	≤ 100
Heterotrofinen pesäkeluku 36 °C	0	CFU/ml	≤ 100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ei osoitettavissa	/100ml	
Vapaa kloori Cl_2	0,61	mg/l	0,3 – 1,2
Kokonaiskloori Cl_2	0,86	mg/l	≤ 1,6
Sidottu kloori Cl_2	0,25	mg/l	≤ 0,4
Sameus	0,12	FNU	≤ 0,4
pH	7,1		6,5 – 7,6
$KMnO_4$-luku	3,7	mg/l	≤ 10
Urea	0,12	mg/l	≤ 0,8
Trihalometaanit			
• THM yhteensä	15	µg/l	
• Kloroformi	14	µg/l	
• Bromidikloorimetaani	0,65	µg/l	
• Dibromidikloorimetaani	< 0,5	µg/l	
• Bromoformi	< 0,5	µg/l	
Veden lämpötila	27	°C	

Valvontatutkimuksen mukaan uima-allasveden laatu oli suoritettujen tutkimusten osalta hyvä. Uima-allasvedestä ei valvontatutkimuksessa löydetty bakteereja. Uima-altaan vesinäytteiden heterotrofinen pesäkeluku sekä 22 °C että 36 °C oli valvontatutkimuksessa 0 CFU/ml, eikä *Pseudomonas aeruginosa*a pystytty niistä osoittamaan. (MetropoliLab 2015.)

Helsingissä, Suomessa vuonna 1995 tehdyssä tutkimuksessa tutkittiin Suomessa ja Ruotsin laivoilla sijaitsevien uima-altaiden ja porealtaiden vesien mikrobiologista laatua

sekä sitä, ovatko mahdolliset vesien ameba-löydökset riskitekijöitä silmätulehduksiin piilolinssien käyttäjille. Tutkittuja uima-altaita ja porealtaita oli yhteensä 16 kappaletta, joista viisi poreallasta sijaitsi Helsingin ja Ruotsin välillä seilaavilla laivoilla. Ameboja löydettiin 41 prosentista näytteistä, mutta koska Suomessa ei ollut yhtään varmistettua ameban aiheuttamaa silmätulehdusta, riskiä pidettiin vain teoreettisena. Tutkittujen altaiden veden mikrobiologinen laatu oli tutkimuksen mukaan hyvä 90 % altaista (alle 100 bakteeria/ml). Kahdesta tutkitusta porealtaasta löydettiin *Pseudomonas aeruginosaa*. Ulos-teperäisiä bakteereja tai *Staphylococcus aureusta* ei tutkituista näytteistä löydetty. (Vesaluoma ym. 1995: 178–181.)

7 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimusongelmat

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, minkälainen yhteys uima-altaassa uimisella ja saunomisella on kertakäyttöisiin piilolinssihin tarttuvien bakteerien määrään. Tämä toteutettiin vertailemalla piilolinssihin tarttuneiden bakteerien kokonaismääriä ja tunnistamalla löytyvät bakteerit.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa tietoa, jota voidaan käyttää esimerkiksi optikoiden ja silmälääkärien suosituksissa piilolinssien käytöstä uimisen yhteydessä. Opinnäytetyön tavoitteena oli myös tuottaa lisätietoa piilolinssihin tarttuvista bakteereista HUSLABin bakteriologian osastolle ja auttaa näin laboratorion rutiinidiagnostiikkaan kuuluvia piilolinssi- ja piilolinssinestetutkimuksia.

Opinnäytetyötä ohjasivat seuraavat kysymykset:

- Minkälainen yhteys uimisella ja saunomisella on bakteerien määrään kertakäyttöisissä piilolinssissä?
- Mitä bakteerilajeja kertakäyttöisistä piilolinseistä löytyy uimisen ja saunomisen jälkeen?

8 Työn suoritus

Opinnäytetyö toteutettiin HUSLABin klinisen mikrobiologian vastuualueen bakteriologian osastolla helmi- ja maaliskuun aikana 2015. Opinnäytetyön ohjaajana HUSLABin bakteriologian osastolla toimi klininen asiantuntija Risto Hilla.

8.1 Aikataulu

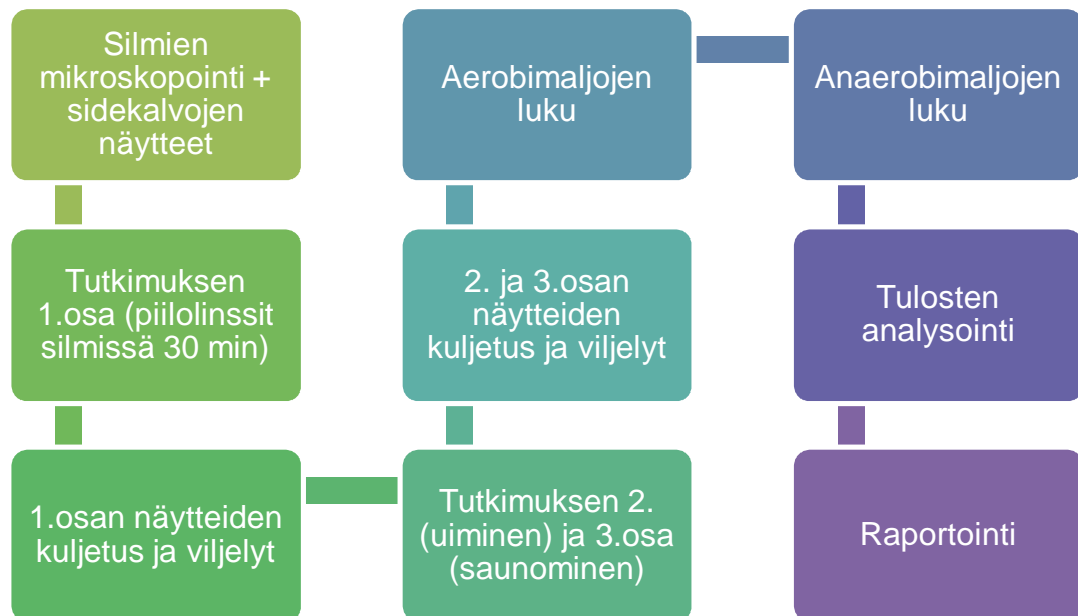
Opinnäytetyön suunnittelun ja toteutuksen aikataulu on esitetty kuviossa 2.

Elokuu 2014	•Opinnäytetyön aiheen valinta
Syyskuu 2014 - tammikuu 2015	•Työsuunnitelman kirjoittaminen
Tammikuu 2015	•Työsuunnitelmaseminaari 22–23.1. •Menetelmän testaus HUSLABin bakteriologian osastolla 27.1.
Maaliskuu 2015	•Opinnäytetyön käytännön toteutus 9.3. →
Helmi - huhtikuu 2015	•Raportin kirjoittaminen
Huhtikuu 2015	•Opinnäytetyön palautus 15.4
Huhtikuu 2015	•Kypsyysnäyte 16.4
Huhtikuu 2015	•Opinnäytetyöseminaari 21.-22.4

Kuvio 2. Opinnäytetyön aikataulu.

8.2 Käytännön toteutuksen suoritus ja työmenetelmät

Työsuunnitelmavaiheen ja menetelmätestauksen jälkeen käytännön toteutuksen vaiheet hahmottuivat kuvion 3 mukaisesti.



Kuvio 3. Opinnäytetyön käytännön toteutuksen työsuunnitelma.

8.2.1 Menetelmän testaus

Testasimme menetelmää suunnitelmavaiheen jälkeen HUSLABin bakteriologian osastolla tammikuussa 2015. Saimme testausta varten optometrian opiskelijoilta kertakäyttöisiä piilolinssijä, joista yhtä pidettiin silmässä tunnin ajan. Tämän jälkeen siirsimme linssin ESwab™-kuljetusputkeen ja otimme vanutikulla silmän sidekalvolta mikrobiologisen näytteen geelikuljetusputkeen. Noin tunnin kuluttua viljelimme sidekalvonäytteen geelikuljetusputkesta rikkaaseen tioglykolaattiputkeen. Sekoitimme ESwab™-kuljetusputkea suurella nopeudella, jotta piilolinssin bakteerit irtoaisivat kuljetusputken nesteeseen. Tämän jälkeen pipetoimme maljoille ESwab™-kuljetusputken nestettä 100 µl ja 500 µl, jotta pystyimme vertaamaan millä määrällä varsinaiset maljat olisi hyvä viljellä pesäkkeiden laskentaan sopivan bakteerikasvun aikaansaamiseksi. Päädyimme käyttämään varsinaisessa toteutuksessa 500 µl kuljetusnestettä, sillä kyseisillä testimaljoilla kasvoi enemmän pesäkkeitä. Käytännön toteutuksen aikana huomasimme kuitenkin jo ensimmäisen näytteen kohdalla, että kuljetusnestettä ei jostain syystä riittänyt kukaan molemmille maljoille 500 µl. Muutimme määrää niin, että viljelimme molemmille maljoille 400 µl kuljetusnestettä. Ensimmäisen näytteen kohdalla viljelimme 500 µl ja 300 µl kuljetusnestettä ja suhteutimme myöhemmin ensimmäisen näytteen tulokset vastaamaan 400 µl:n määrää.

8.2.2 Silmien mikroskopointi ja sidekalvonäytteet

Ennen käytännön toteutusta optometrian opiskelijat tarkastelivat kaikkien kymmenen vapaaehtoisen tutkimushenkilön silmät mikroskooppisesti ja tarkistivat käytettävien piilolinssien sopivuuden. Silmien terveydentila tarkistettiin, että tutkimushenkilöillä ei käytännön toteutuksen alkaessa ole terveydellistä estettä piilolinssien käytölle. Ennen mikroskopointia anamneesia varten käytiin läpi muun muassa aikaisempia piilolinssien käyttökokemuksia, kartoitettiin yleis- ja silmäsairauksia ja -lääkityksiä sekä allergioita. Silmien perustutkimukseen kuului mm. silmien sarveiskalvon, sidekalvon ja limbuksen terveydentilan arviointi. Piilolinssin sovituksessa tarkasteltiin linssien toimivuutta ja istuvuutta silmässä. (Optometrian eettinen neuvosto 2014.). Optometrian opiskelijat dokumentoivat mikroskopointien tulokset omaa opinnäytetyötään varten, eikä niitä käsitellä tässä opinnäytetyössä.

Mikroskopoinnin jälkeen jokaiselta osallistujalta otettiin mikrobiologinen näyte molempien silmien alaluomen sidekalvolta. Näyte otettiin fysiologiseen keittosuolaliuokseen (0,9 % NaCl-liuos) kastetulla vanutikulla, joka asetettiin näytteenoton jälkeen geelikuljetusputkeen.

Piilolinssien normaalikäyttö

Piilolinssien normaalikäytön osassa tutkimushenkilöille asetettiin aseptisesti uudet kertakäyttöiset piilolinssit silmiin. Tutkimushenkilöt suorittivat piilolinssien kanssa jokapäiväisiä askareitaan 30 minuutin ajan, varoen kuitenkin kastelemasta piilolinssijä tai koskemasta niitä sormillaan, jonka jälkeen piilolinssit poistettiin silmistä aseptisesti ja asetettiin steriileihin ESwab™-kuljetusputkiin.

Piilolinssien käyttö uimisen yhteydessä

Tutkimushenkilöille asetettiin aseptisesti uudet kertakäyttöiset piilolinssit silmiin uimahallilla, juuri ennen siirtymistä uima-altaaseen. Tutkimushenkilöt uivat ja sukeltelivat uima-altaassa 30 minuutin ajan. Tutkimushenkilöitä ohjattiin sukeltamaan silmät suljettuina, jotta piilolinssit eivät irtoaisi silmistä. Altaasta poistumisen jälkeen toisen silmän piilolinssi poistettiin aseptisesti ja asetettiin steriiliin ESwab™-kuljetusputkeen.

Piilolinssien käyttö uimisen ja saunomisen yhteydessä

Tutkimushenkilöt jatkoivat toiseen silmään jääneen piilolinssin kanssa saunaan 10 minuutin ajaksi. 5 minuutin kuluttua saunasta poistumisen jälkeen piilolinssit poistettiin tutkimushenkilöiden silmistä aseptisesti ja asetettiin steriileihin ESwab™-kuljetusastioihin.

8.3 Näytteiden analysointi

Näytteiden analysointi suoritettiin kuviossa 4 esitettyjen periaatteiden mukaisesti.



Kuvio 4. Näytteiden analysoinnin eteneminen.

8.3.1 Sidekalvonäytteiden analysointi

Tutkimushenkilöiltä otettiin mikrobiologinen näyte molempien silmien alaluomen sidekalvolta ennen ensimmäisten piilolinssien paikoilleen asettamista. Sidekalvonäytteiden bakteeristo määritettiin piilolinssinäytteistä tunnistettujen löydöksen vertailukohtaksi. Näyte otettiin vanutikulla sivelemällä silmän alaluomen sidekalvolta. Näytettä ottaessa varottiin koskettamasta luomen ulkoreunaa kontaminaation välttämiseksi. Vanutikku asetettiin geelikuljetusputkeen ja kuljetettiin laboratorioon huoneenlämmössä. (TYKSLAB 2010.) Laboratoriossa näytteet viljeltiin ensin tioglykolaattiputkiin, joita kasvatettiin 3 vuorokautta. Tioglykolaattiputkista viljeltiin suklaa- ja FAA-maljoille sellaiset näytteet, joissa

havaittiin bakteerikasvua. Suklaamaljoja inkuboitii 5 % CO₂ atmosfäärissä 37 °C lämpötilassa 24 h ajan sekä lisäkasvatettiin ad 48 h hitaasti kasvavien bakteerilajien havaitsemiseksi. FAA-maljoja inkuboitii anaerobiatmosfäärissä 37 °C lämpötilassa vähintään 48 h sekä lisäkasvatettiin ad 5 vrk hitaasti kasvavien bakteerilajien havaitsemiseksi. Maljoilla kasvaneet bakteerilajit tunnistettiin VITEK[®]MS-laitteella

8.3.2 Piilolinssinäytteiden analysointi

Piilolinssinäytteet kuljetettiin laboratorioon asettamalla käytetyt linssit ESwab[™]-kuljetusputkiin, jotka sisältävät vakioidun määrän kuljetusnestettä. Piilolinssinäytteet viljeltiin kahden tunnin sisällä linssin poistamisesta silmästä.

Bakteerien kokonaismäärien arvioimiseksi näytekuljetusastioita sekoitettiin laboratoriossa 30 s ajan, jotta piilolinssihin tarttuneet bakteerit irtoavat kuljetusnesteeseen. Sekoitettua kuljetusnestettä viljeltiin vakioitu määrä (400 µl) suklaa- ja FAA-maljoille. Suklaamaljoja inkuboitii 5 % CO₂ atmosfäärissä 37 °C lämpötilassa 24 h ajan sekä lisäkasvatettiin ad 48 h hitaasti kasvavien bakteerilajien havaitsemiseksi (Kuvio 5). FAA-maljoja inkuboitii anaerobiatmosfäärissä 37 °C lämpötilassa vähintään 48 h sekä lisäkasvatettiin ad 5 vrk hitaasti kasvavien bakteerilajien havaitsemiseksi (Kuvio 6). Inkuboinnin jälkeen maljoilla kasvavien erilaisten pesäkkeiden lukumäärät laskettiin ja maljoilla kasvat bakteerilajit tunnistettiin VITEK[®]MS-laitteella.

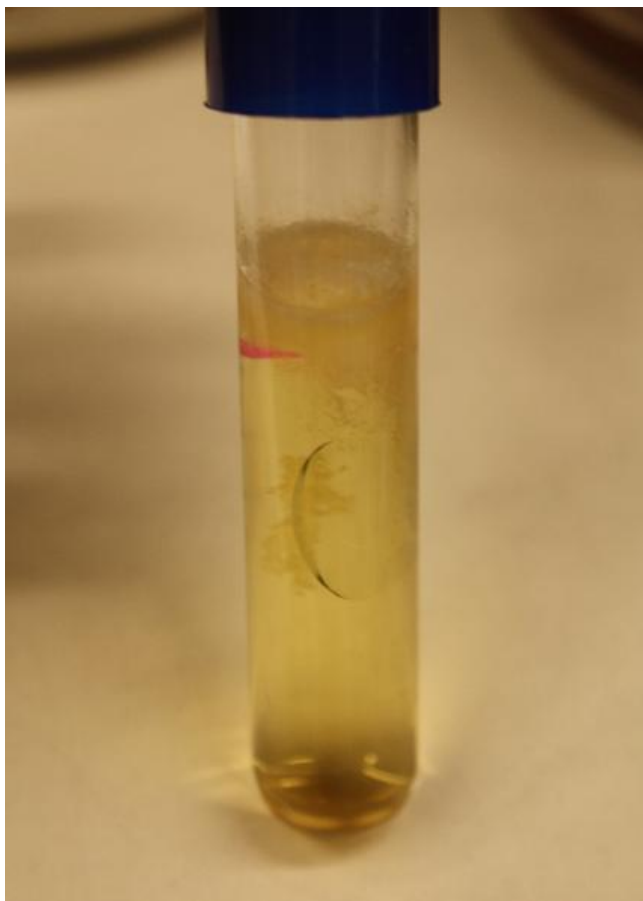
Piilolinssit siirrettiin ESwab[™]-kuljetusputkista steriileillä pinseteillä tioglykolaattiputkiin vähäisen bakteerikasvun rikastamista varten (Kuvio 7). Tioglykolaattiputkia kasvatettiin 37 °C lämpötilassa vähintään 48h ajan, jonka jälkeen viljeltiin suklaa- sekä FAA-maljoille sellaiset näytteet, joissa havaittiin bakteerikasvua. Suklaamaljoja inkuboitii 5 % CO₂ atmosfäärissä 37 °C lämpötilassa vähintään 24 h ajan sekä lisäkasvatettiin ad 48 h hitaasti kasvavien bakteerilajien havaitsemiseksi. FAA-maljoja inkuboitii anaerobiatmosfäärissä 37 °C lämpötilassa vähintään 48 h ajan sekä lisäkasvatettiin ad 5 vrk hitaasti kasvavien bakteerilajien havaitsemiseksi. Inkuboinnin jälkeen maljoilla kasvaneet bakteerilajit tunnistettiin VITEK[®]MS-laitteella.



Kuvio 5. Bakteripesäkkeitä suklaamaljalla.



Kuvio 6. Bakteripesäkkeitä FAA-maljalla.



Kuvio 7. Piilolinssi ja bakteerikasvua tioglykolaattiputkessa.

8.4 Käytännön toteutuksesta saatu aineisto

Aineistoksi käytännön toteutuksesta saatiin piilolinssinäytteiden sisältämien bakteerien kokonaismäärät sekä tunnistetut bakteerilajit opinnäytetyön käytännön toteutuksen eri osista. Aineiston analysointi perustui uimisen yhteydessä käytettyjen piilolinssien sisältämien bakteeripesäkkeiden lukumäärien vertaamiseen normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden määriin sekä uimisen ja saunomisen yhteydessä käytettyjen piilolinssien sisältämien bakteeripesäkkeiden lukumäärien vertaamiseen normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden määriin. Analysointi toteutettiin bakteeripesäkemäärien keskilukuja vertaamalla ja Wilcoxonin merkittyjen sijalukujen testin tarkkaa versioita käyttäen. Lisäksi bakteeripesäkkeiden lukumäärien välistä yhteyttä tutkittiin Spearmanin korrelaatiokertoimella. Aineiston analysointi toteutettiin Microsoft Excel- ja IBM SPSS Statistics -ohjelmilla.

9 Tulokset

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli selvittää minkälainen yhteys uima-altaassa uimisella ja saunomisella on kertakäyttöisiin piilolinssihin tarttuvien bakteerien määrään ja mitä bakteerilajeja piilolinssleistä löytyy uimisen ja saunomisen jälkeen. Piilolinssinäytteistä löytyneiden bakteerilajien vertailukohdaksi otimme tutkimushenkilöiden silmien sidekalvoilta bakteeriviljelynäytteet.

Piilolinssinäytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärät (=CFU, colony forming unit) ilmoitetaan 800 µl viljeltyä kuljetusnestettä kohden yksikössä CFU/800 µl.

Taulukko 3. Piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärien kuvailevat tunnusluvut.

Piilolinssi	N	Minimi	Maksimi	KA	Mediaani	Keskihajonta
Normaalikäyttö	10	0	103	21,50	13,00	30,902
Uiminen	10	0	1080	128,40	14,50	335,827
Uiminen & sauna	10	0	1046	132,00	3,00	328,757

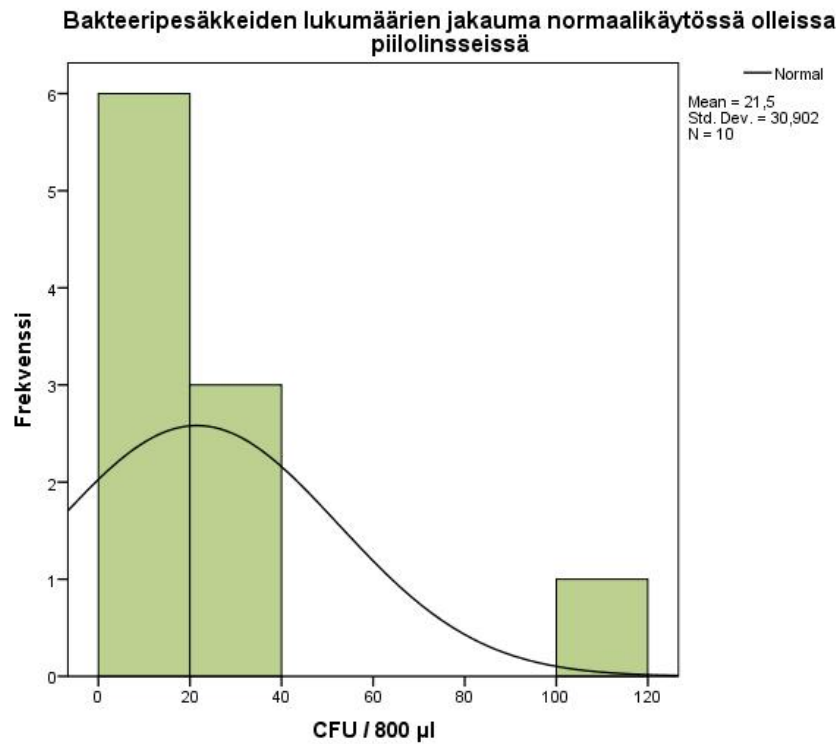
Piilolinssien normaalikäytön osassa bakteeripesäkkeiden lukumäärän vaihteluväli oli 0–103, keskiarvo oli 21,50 ja mediaani 13,00 (Taulukko 3). Normaalikäytössä olleista piilolinssinäytteistä kahdessa ei havaittu ollenkaan bakteerikasvua.

Uintiosuuden jälkeen poistettujen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän vaihteluväli oli 0–1080, keskiarvo oli 128,40 ja mediaani 14,50 (Taulukko 3). Näistä piilolinssinäytteistä kahdessa ei havaittu bakteerikasvua. Kyseiset piilolinssit olivat peräisin eri tutkimushenkilöiltä kuin normaalikäytön osan negatiiviset näytteet.

Uima-altaassa ja saunassa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän vaihteluväli oli 0–1046, keskiarvo oli 132,00 ja mediaani 3,00 (Taulukko 3). Näistä piilolinssinäytteistä kahdessa ei havaittu bakteerikasvua. Negatiiviset piilolinssinäytteet olivat peräisin samoilta tutkimushenkilöiltä kuin uintiosuuden negatiiviset näytteet.

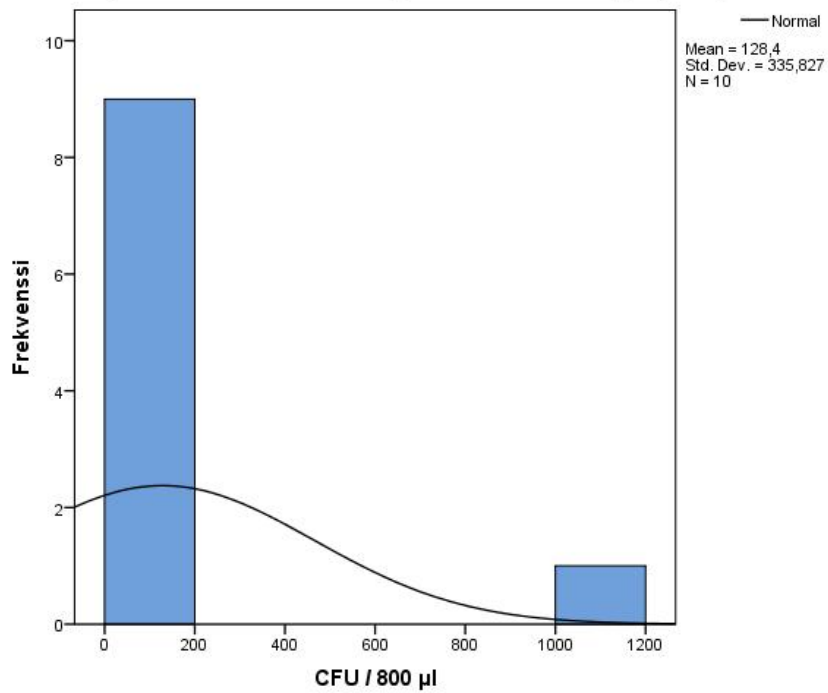
Bakteerikasvua havaittiin kaikkien tutkimushenkilöiden kohdalla jossakin analysoidussa piilolinssissä.

Kuuden tutkimushenkilön kohdalla uimisen yhteydessä käytetyn piilolinssin bakteeripesäkkeiden lukumäärä oli suurempi kuin normaalikäytössä olleessa linssissä. Uimisen ja saunomisen yhteydessä käytetyn piilolinssin bakteeripesäkkeiden lukumäärä oli normaalikäytössä olleen piilolinssin lukumäärää suurempi viidellä tutkimushenkilöllä.



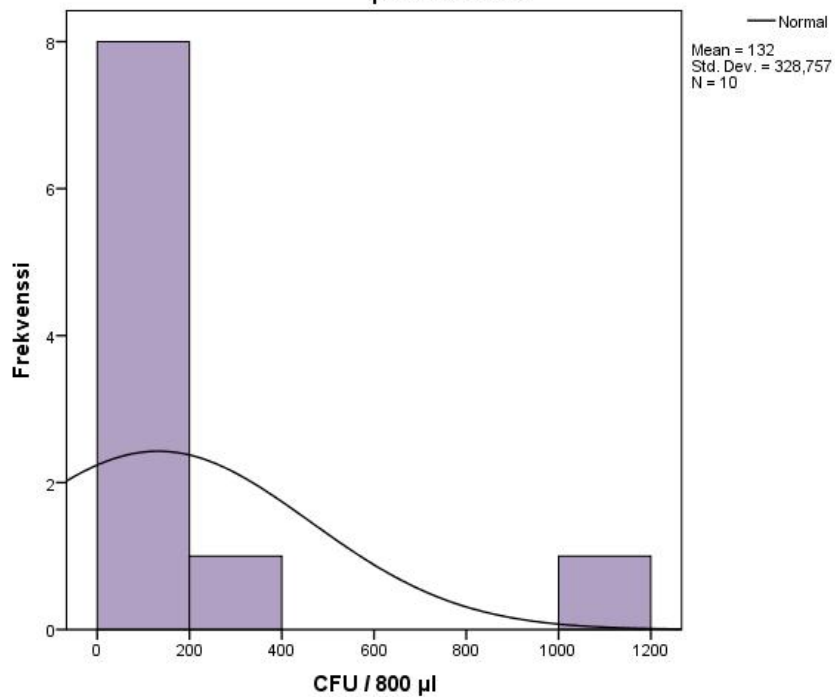
Kuvio 8. Bakteeripesäkkeiden lukumäärien jakauma normaalikäytössä olleissa piilolinseissä (N=10).

Bakteeripesäkkeiden lukumäärien jakauma uidessa käytetyissä piilolinseissä



Kuvio 9. Bakteeripesäkkeiden lukumäärien jakauma uidessa käytetyissä piilolinseissä (N=10).

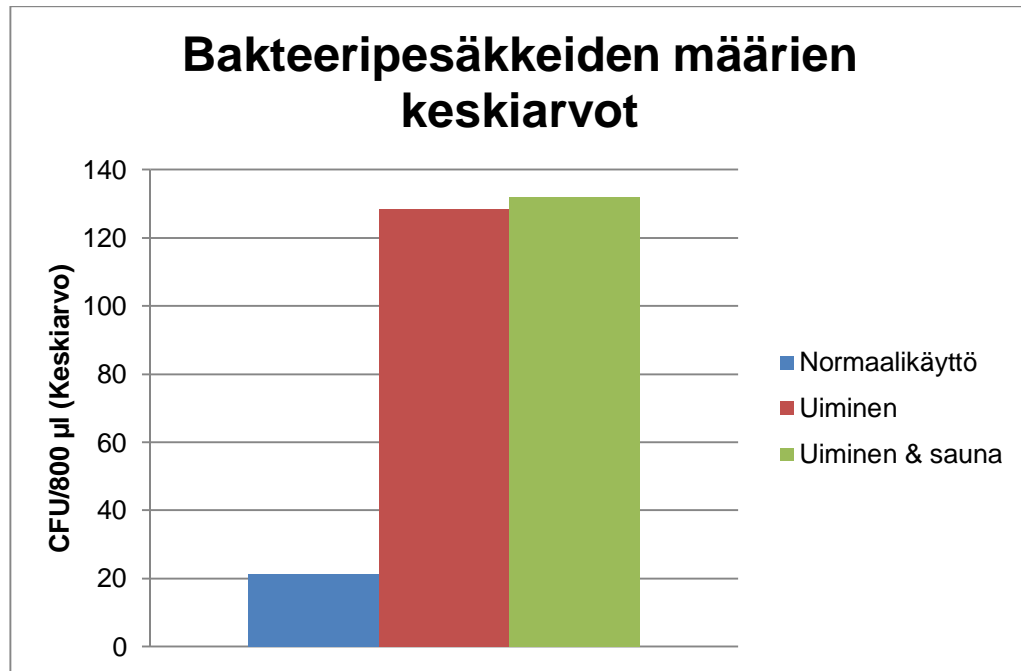
Bakteeripesäkkeiden lukumäärien jakauma uidessa ja saunoessa käytetyissä piilolinseissä



Kuvio 10. Bakteeripesäkkeiden lukumäärien jakauma uidessa ja saunoessa käytetyissä piilolinseissä (N=10).

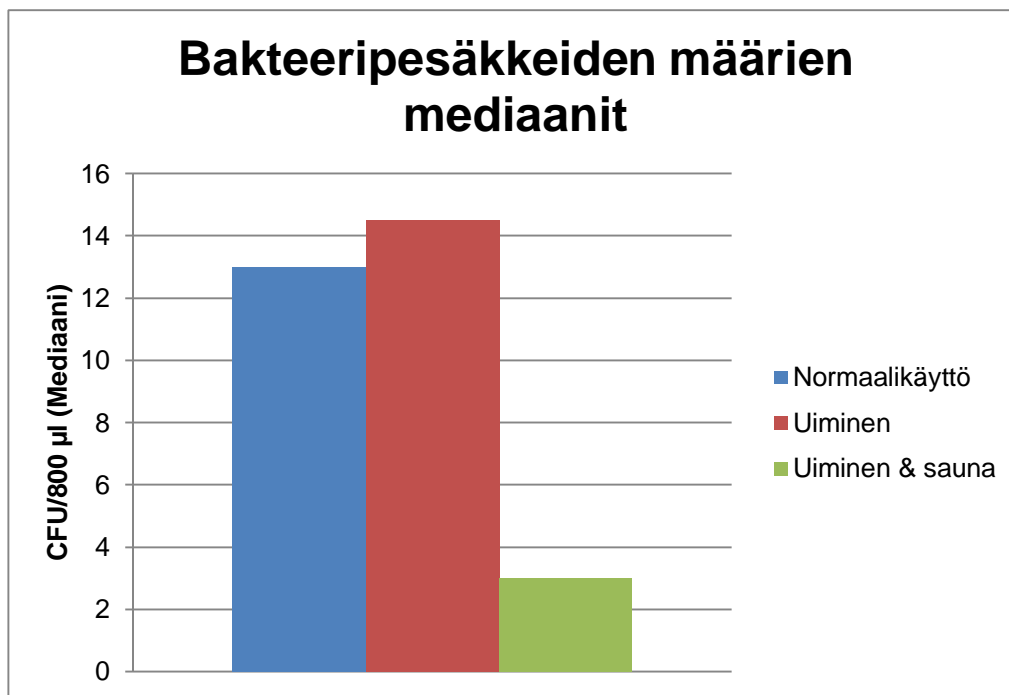
Piilolinssinäytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärien jakauma on histogrammien (Kuviot 8–10) perusteella vino ja Shapiro-Wilk–testin mukaan ei-normaalijakautunut (näytteryhmien p-arvot: 0,001; 0,000 ja 0,000). Tästä syystä aineiston keskikohtaa kuvastaa aritmeettista keskiarvoa paremmin sen mediaani.

9.1 Uimisen ja saunomisen yhteys piilolinssihin tarttuneiden bakteerien kokonaismäärään



Kuvio 11. Piilolinssinäytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärien aritmeettiset keskiarvot.

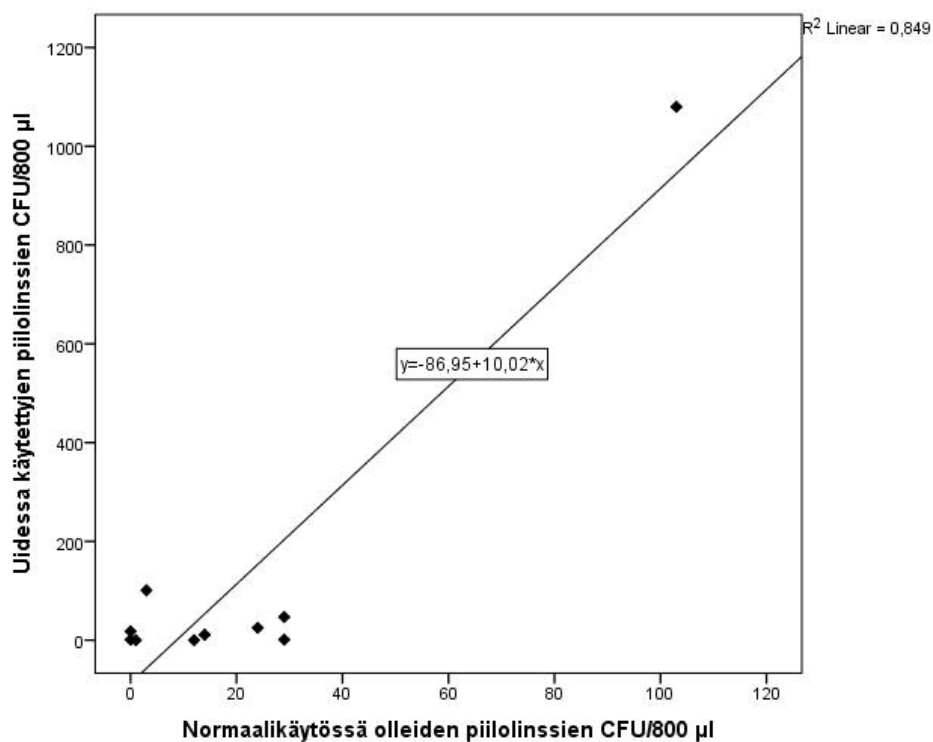
Normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän keskiarvo (21,50 CFU/800 µl) oli huomattavasti pienempi kuin uimisen ja uimisen ja saunomisen yhteydessä käytettyjen piilolinssien keskiarvot (128,40 CFU/800 µl ja 132,00 CFU/800 µl) (Kuvio 11). Bakteeripesäkkeiden lukumäärien vaihteluväleissä havaittiin samankaltainen tulos, jolla on vaikutusta keskiarvon suuruuteen.



Kuvio 12. Piilolinssinäytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärien mediaanit.

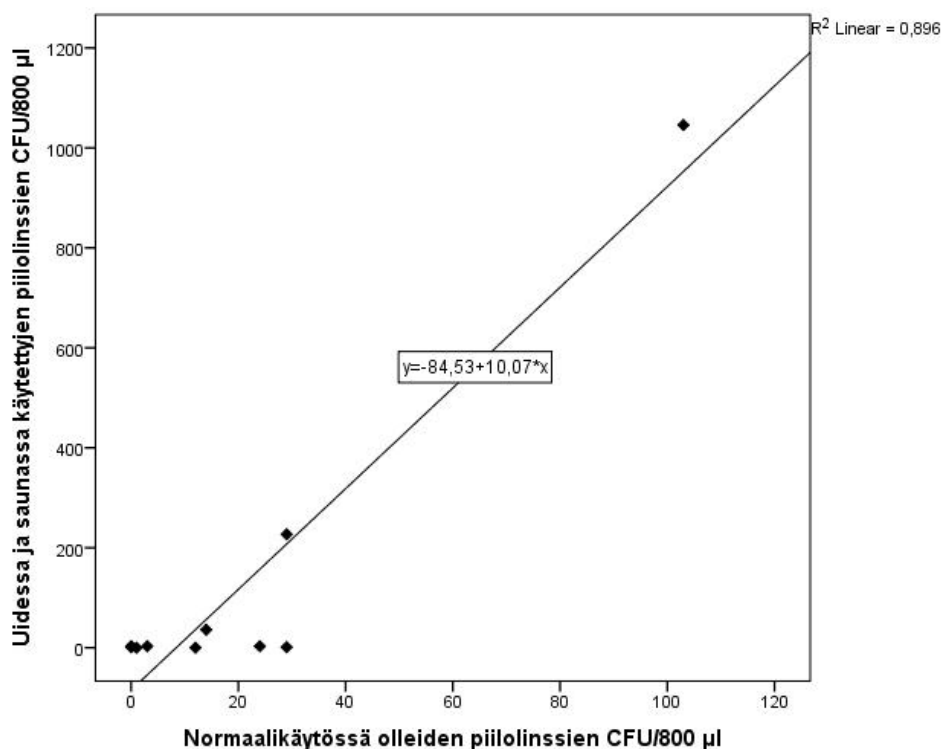
Normaalikäytössä olleiden ja uudessa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän mediaanit olivat varsin samansuuruiset (13,00 CFU/800 µl ja 14,50 CFU/800 µl) uimisen nostaessa kuitenkin hieman bakteeripesäkkeiden määrää. Uudessa ja saunoessa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän mediaani sen sijaan oli normaalikäytössä olleita piilolinssijä pienempi (3,00 CFU/800 µl). (Kuvio 12.)

Keskilukujen erojen merkitsevyyttä tutkittiin käyttämällä Wilcoxonin merkittyjen sijalukujen testin tarkkaa versiota. Uimisen yhteydessä käytettyjen piilolinssien ja normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärien välinen ero ei testin mukaan ole merkitsevä (2-suuntainen $p=0,418$; $N=10$). Myöskään uimisen ja saunomisen yhteydessä käytettyjen piilolinssien ja normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärien välinen ero ei testin mukaan ole merkitsevä (2-suuntainen $p=0,590$; $N=10$). Molempien uima-altaassa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärien välillä ei testin mukaan ole merkitsevää eroa (2-suuntainen $p=0,844$; $N=10$).



Kuvio 13. Uudessa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän suhde normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärään.

Normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden määrät selittävät 84,9 % uudessa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden määrästä (Kuvio 13). Bakteeripesäkkeiden määrän välistä yhteyttä mitattiin laskemalla pesäkemäärien välinen Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroin. Korrelaatiokertoimen mukaan ($r_{\text{Spearman}}=0,448$; $p\text{-arvo}=0,194$) bakteeripesäkkeiden määrien välillä ei ole merkitsevää riippuvuutta.



Kuvio 14. Uudessa ja saunoessa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärän suhde normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärään

Normaalikäytössä olleiden piilolinssien bakteeripesäkkeiden määrät selittävät 89,6 % uudessa ja saunoessa käytettyjen piilolinssien bakteeripesäkkeiden määristä (Kuvio 14). Bakteeripesäkkeiden määrän välistä yhteyttä mitattiin laskemalla pesäkemäärien välinen Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroin. Korrelaatiokertoimen mukaan ($r_{\text{Spearman}}=0,547$; $p\text{-arvo}=0,102$) bakteeripesäkkeiden määrien välillä ei ole merkitsevää riippuvuutta.

9.2 Piilolinssinäytteistä tunnistetut bakteerilajit ja niiden esiintyvyys

Piilolinssinäytteistä tunnistettiin VITEK®MS-laitteella 8 erilaista bakteerilajia: *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Staph. warneri*, *Staph. aureus*, *Kocuria varians*, *Moraxella osloensis*, *Staph. lugdunensis* ja *Paenibacillus spp.* (Kuvio 15; Kuvio 16; Kuvio 17). Lisäksi piilolinssinäytteistä löydettiin joukko heikkokasvuisia bakteereita, joita ei VITEK®MS-laitteella onnistuttu tunnistamaan. VITEK®MS-laitteella tunnistamattomista löydöksistä tehtiin gramvärjäys. Näistä VITEK®MS-laitteella tunnistamattomista löydöksistä kolme kantaa todettiin grampositiivisesti värjäytyviksi oksidaasiposiitiviksi kokeiksi ja 1 kanta grampositiivisesti värjäytyväksi sauvabakteeriksi. Totesimme pesäkemorfologian, gramvärjäyksen, katalaasitestin ja oksidaasitestin perusteella yhden

grampositiivisista kokkilöydöksistä kuuluvan *Micrococcus*-sukuun ja kahden muun löydöksen olevan stafylokokkeja. (Taulukko 4.)

Bakteerikasvua havaittiin sekä aerobiolosuhteissa että anaerobiolosuhteissa kasvateuilta maljoilta. Bakteerikasvun kokonaismäärä vaihteli välillä 0-1080 CFU/800 µl viljeltyä kuljetusnestettä, keskiarvo oli 94 CFU/800 µl ja mediaani 7 CFU/800 µl. Maljoja viljeltiin yhteensä 60, joista 21:ssä ei havaittu ollenkaan bakteerikasvua. Negatiivisista maljoista 14 oli suklaamaljoja ja 7 FAA-maljoja.

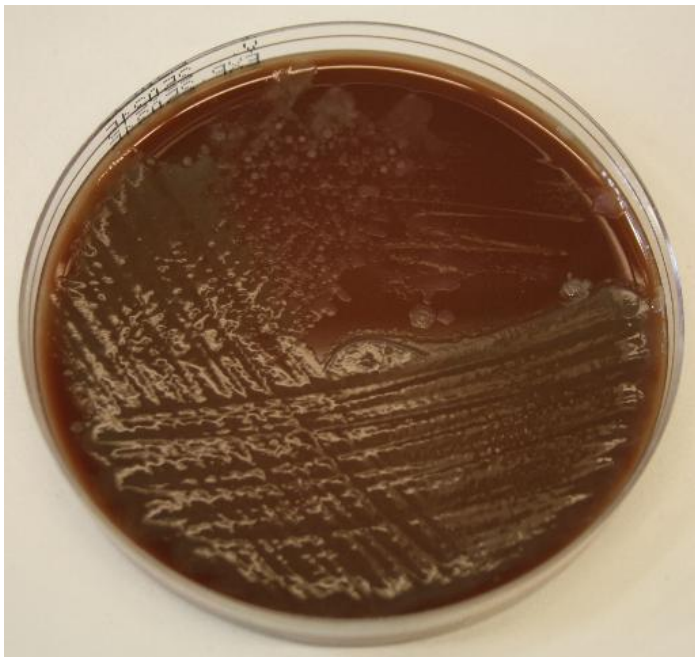
Bakteerilöydösten suhteellinen esiintyminen maljoilla laskettiin pesäkemäärittäin, jotka on esitelty kuvioissa 18–20.

Taulukko 4. Piilolinssinäytteiden bakteerilöydökset.

Bakteerilaji
<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Staphylococcus warneri</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>Moraxella osloensis</i>
<i>Kocuria varians</i>
<i>Paenibacillus spp.</i>
<i>Micrococcus spp.</i>
<i>Staphylococcus spp.</i>
<i>Staphylococcus spp.</i>
Grampositiivinen sauvabakteeri



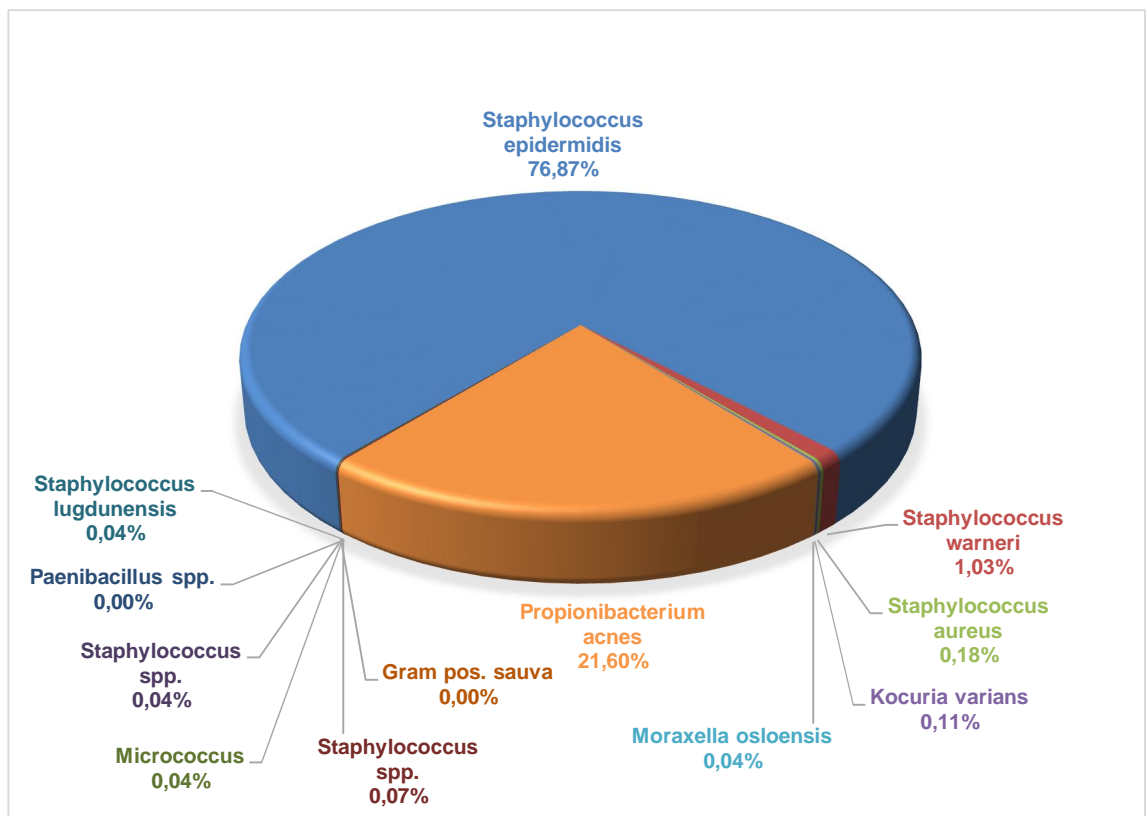
Kuvio 15. *Staphylococcus epidermidis* ja *Propionibacterium acnes* FAA-maljalla.



Kuvio 16. *Paenibacillus spp.* -puhdasviljelmä suklaamaljalla.

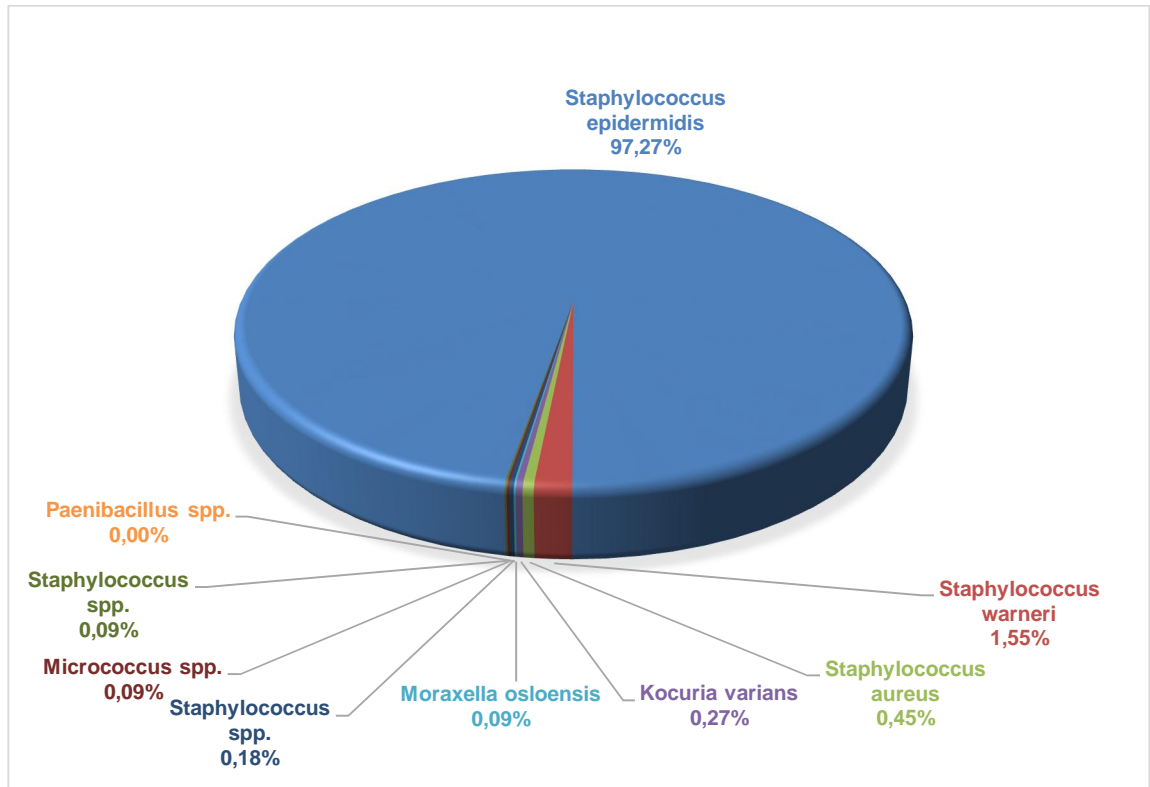


Kuvio 17. *Kocuria varians* -puhdasviljelmä suklaamaljalla.



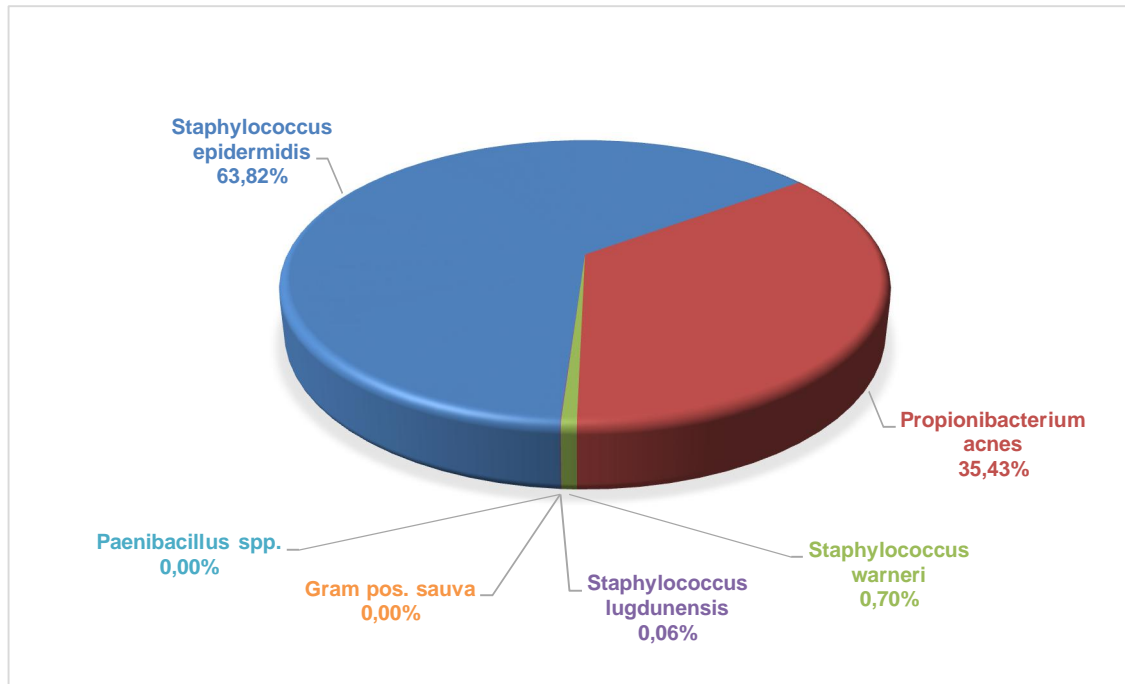
Kuvio 18. Tunnistetun bakteerikasvun lajikohtaiset suhteelliset osuudet kokonaiskasvusta.

Valtaosa piilolinssinäytteistä havaitusta bakteerikasvusta oli *Staphylococcus epidermidis* (76,87 %) ja *Propionibacterium acnesta* (21,60 %). Muita bakteerilajeja kokonaiskasvusta oli siis vain noin 1,5 %. 0,00 % suhteellisen kasvun osuus kuviossa tarkoittaa, että kyseinen bakteerilaji tuli esiin vasta tioglykolaattiputkesta viljellyillä maljoilla. (Kuvio 18.)



Kuvio 19. Tunnistetun bakteerikasvun lajikohtaiset suhteelliset osuudet kokonaiskasvusta suklaamaljoilla.

Aerobisissa olosuhteissa kasvatetuilla suklaamaljoilla oli valtakasvuna yli 97,27 % osuudella *Staphylococcus epidermidis*. *Staph. warneri*, *Staph. aureus* ja *Kocuria varians* muodostivat yhteensä noin 2,2 % suklaamaljoilla havaitusta kasvusta. 0,00 % suhteellisen kasvun osuus kuviossa tarkoittaa, että kyseinen bakteerilaji tuli esiin vasta tioglykolaattiputkesta viljellyillä maljoilla. (Kuvio 19.) Kokonaiskasvun määrä suklaamaljoilla oli 1100 bakteeripesäketä.



Kuvio 20. Tunnistetun bakteerikasvun lajikohtaiset suhteelliset osuudet kokonaiskasvusta FAA-maljoilla.

Anaerobisissa olosuhteissa kasvatetuilla FAA-maljoilla olivat valtakasvuna *Staph. epidermidis* (63,82 %) ja *Propionibacterium acnes* (35,43 %). 0,00 % suhteellisen kasvun osuus kuviossa tarkoittaa, että kyseinen bakteerilaji tuli esiin vasta tioglykolaattiputkesta viljellyillä maljoilla. (Kuvio 20.) Kokonaiskasvun määrä FAA-maljoilla oli 1719 bakteeripesäkettä.

Taulukko 5. Tunnistettujen bakteerilajien esiintyvyys piilolinssinäytteissä.

Bakteerilaji	Esiintyvyys
<i>Propionibacterium acnes</i>	70,0 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	46,7 %
<i>Staphylococcus warneri</i>	10,0 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,3 %
<i>Moraxella osloensis</i>	3,3 %
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3,3 %
<i>Kocuria varians</i>	3,3 %
<i>Paenibacillus spp.</i>	3,3 %
<i>Micrococcus spp.</i>	3,3 %
<i>Staphylococcus spp.</i>	3,3 %
<i>Staphylococcus spp.</i>	3,3 %
Grampositiivinen sauvabakteeri	3,3 %

Yleisin piilolinssinäytteiden löydös oli *Propionibacterium acnes*, jota esiintyi 70,0 %:ssa piilolinssinäytteitä. Seuraavaksi yleisimmät piilolinssinäytteiden löydökset olivat koagulaasinegatiiviset stafylokokit *Staphylococcus epidermidis* (46,7 %) ja *Staphylococcus warneri* (10,0 %). (Taulukko 5).

Taulukko 6. Piilolinssinäytteistä tunnistettujen bakteerilajien esiintyvyys tutkimushenkilöillä.

Bakteerilaji	Esiintyvyys
<i>Propionibacterium acnes</i>	100,0 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	80,0 %
<i>Staphylococcus warneri</i>	20,0 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,0 %
<i>Moraxella osloensis</i>	10,0 %
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	10,0 %
<i>Kocuria varians</i>	10,0 %
<i>Paenibacillus spp.</i>	10,0 %
<i>Micrococcus spp.</i>	10,0 %
<i>Staphylococcus spp.</i>	10,0 %
<i>Staphylococcus spp.</i>	10,0 %
Grampositiivinen sauvabakteeri	10,0 %

Propionibacterium acnes tunnistettiin jokaiselta kymmeneltä tutkimushenkilöltä jostakin tutkitusta piilolinssinäytteestä. *Staphylococcus epidermidis* löytyi piilolinssinäytteistä 80,0 %:lla tutkimushenkilöitä ja *Staphylococcus warneri* 20,0 %:lla tutkimushenkilöitä. (Taulukko 6).

9.3 Sidekalvonäytteistä tunnistetut bakteerilajit ja niiden esiintyvyys

Tutkimushenkilöiden silmien sidekalvoilta otetuista kahdestakymmenestä bakteeriviljelynäytteestä 15 kappaletta, eli 75 % oli negatiivisia (Taulukko 7). Viidestä positiivisesta näytteestä tunnistettiin VITEK®MS-laitteella 3 eri bakteerilajia: *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes* ja *Paenibacillus spp.*. Näiden lisäksi yhdestä näytteestä todettiin VITEK®MS-laitteella tunnistamaton grampositiivinen kokkibakteeri.

Taulukko 7. Silmien sidekalvonäytteiden löydökset tutkimushenkilöittäin.

Tutkimushenkilö	Silmä	Löydös
1	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	Ei kasvua
2	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	Ei kasvua
3	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	Ei kasvua
4	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	Ei kasvua
5	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	Ei kasvua
6	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	Ei kasvua
7	Oikea	Ei kasvua
	Vasen	<i>Propionibacterium acnes</i>
8	Oikea	Grampositiivinen kokki
	Vasen	Ei kasvua
9	Oikea	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	Vasen	<i>Propionibacterium acnes</i> & <i>Paenibacillus spp.</i>
10	Oikea	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	Vasen	Ei kasvua

Taulukko 8. Sidekalvonäytteistä tunnistettujen bakteerilajien esiintyvyys tutkimushenkilöillä.

Bakteerilaji	Esiintyvyys
<i>Propionibacterium acnes</i>	20,0 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20,0 %
<i>Staphylococcus warneri</i>	0,0 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0 %
<i>Moraxella osloensis</i>	0,0 %
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0,0 %
<i>Kocuria varians</i>	0,0 %
<i>Paenibacillus spp.</i>	10,0 %
Grampositiivinen kokki	10,0 %

Staphylococcus epidermidis esiintyi 20,0 %:lla tutkimushenkilöitä, *Propionibacterium acnes* 20,0 %:lla tutkimushenkilöitä ja *Paenibacillus spp.* 10,0 %:lla tutkimushenkilöitä. 10,0 %:lla tutkimushenkilöitä löytyi VITEK®MS-laitteella tunnistamaton grampositiivinen kokkibakteeri. (Taulukko 8).

10 Johtopäätökset ja pohdinta

10.1 Tulosten tarkastelu

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää minkälainen yhteys uimisella ja saunomisella on kertakäyttöisiin piilolinssihin tarttuvien bakteerien määrään ja mitä bakteerilajeja piilolinssinäytteistä löytyy. Piilolinssien bakteeripesäkemäärien välistä yhteyttä tutkittiin keskilukuja vertailemalla ja tilastollisia analyysimenetelmiä käyttäen. Bakteerilajit tunnistettiin viljellyistä piilolinssinäytteistä VITEK®MS-laitteella.

Aiemmassa uimisen vaikutuksia piilolinssihin tarttuviin bakteereihin käsittelevässä tutkimuksessa (Choo ym. 2005: 134–137.) havaittiin, että kertakäyttöisten piilolinssien käytöllä uudessa on merkittävä vaikutus piilolinssihin tarttuvien bakteerien määrään. Tutkimuksen mukaan uudessa käytettyihin piilolinssihin tarttuu huomattavasti enemmän bakteereita kuin piilolinssinä normaalisti käyttäessä. Tämän opinnäytetyön tulokset kuitenkin eroavat näistä havainnoista. Opinnäytetyön tulosten mukaan uudessa käytetyistä piilolinssistä löytyi keskimäärin vain noin yksi bakteeripesäke enemmän kuin normaalikäy-

tössä pidettyihin piilolinssihin. Piilolinssien bakteeripesäkkeiden lukumäärien mediaanien välisten erojen merkittävyyttä analysoitaessa havaitsimme, että tätä pientä eroa ei voida pitää merkittävänä. Aiemman tutkimuksen mukainen korkeampi bakteeripesäkkeiden määrä uudessa käytetyssä piilolinssissä havaittiin tässä opinnäytetyössä vain kuuden tutkimushenkilön kohdalla. Ohjeistimme tutkimushenkilöitä sukeltaamaan uima-altaassa silmät suljettuina, jotta piilolinssit eivät irtoaisi silmistä. Silmät auki sukeltaessa piilolinssihin tarttuneiden bakteerien määrä olisi saattanut olla suurempi.

Uudessa ja saunoessa käytetyissä piilolinssissä havaittiin keskimäärin normaalikäyttöä pienempiä bakteeripesäkkeiden määriä. Mediaanien eron merkittävyyden analysoinnin mukaan havaitsemaamme eroa ei kuitenkaan voida pitää merkittävänä. Neljän tutkimushenkilön kohdalla uudessa ja saunassa käytetyssä piilolinssissä havaittiin pelkästään uudessa käytettyyn piilolinssiin verraten pienempiä bakteeripesäkkeiden määriä. Tämän eron syynä voi olla pelkän saunan korkean lämpötilan vaikutuksen lisäksi myös saunassa käytettyjen piilolinssien pidempi aika tutkimushenkilön silmässä, jolloin piilolinssiin tarttuneet bakteerit altistuivat kyynelnesteen vaikutukselle pidempään. Tätä eron syytä on kuitenkin tämän opinnäytetyön perusteella mahdotonta todistaa.

Tässä opinnäytetyössä piilolinssihin tarttuneiden bakteerimäärien merkittävyyttä arvioitaessa tulee ottaa huomioon tutkimushenkilöiden määrä ja siitä johtuva aineiston pieni koko, jossa yksittäisen tutkimushenkilön tuloksilla on suuri vaikutus. Aineiston pieni koko tuo myös epävarmuutta opinnäytetyön tulosten yleistettävyyteen ja luotettavuuteen.

Opinnäytetyön uinti- ja saunomiskoestus toteutettiin samanaikaisesti aikataulullisista syistä, mistä johtuen pystyimme analysoimaan osien tuloksiin vain toisessa silmässä käytetyn piilolinssin. Käyttämillämme terveillä tutkimushenkilöillä voidaan kuitenkin Wilsonin (2005: 118–120.) mukaan olettaa olevan samankaltainen mikrobisto molemmissa silmissä, jolloin toteutustavalla ei pitäisi olla vaikutusta saamiimme tuloksiin. Optimaalisessa aikataulutilanteessa olisimme kuitenkin toteuttaneet koestuksen analysoimalla molempien silmien piilolinssit kaikissa opinnäytetyön osissa.

Piilolinssinäytteistä tunnistettuja bakteerilajeja voidaan pitää pääasiassa silmän normaaliin mikrobistoon kuuluvina löydöksinä. Opinnäytetyössä analysoiduista näytteistä yleisimmät bakteerilöydökset olivat koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja ja *Propionibacterium acnes*, jotka ovat myös yleisimpiä terveistä silmistä tavattavia bakteereita (Taulukko 1). *Corynebacterium*-suvun lajeja tai streptokokkeja, joita pidetään myös yleisinä

terveiden silmien löydöksinä, ei tässä opinnäytetyössä analysoiduista näytteistä löydetty ollenkaan.

Piilolinssinäytteiden löydöksistä erityisesti *Staphylococcus aureus* voidaan pitää oportunistisena silmätulehdusten aiheuttajana, vaikka senkin katsotaan yleisesti kuuluvan silmän normaalimikrobistoon. Myös *Staphylococcus epidermidis* tunnetaan yleisenä silmätulehdusten aiheuttajana. Merkittäviä silmätulehdusten aiheuttajia, kuten *Pseudomonas aeruginosa*, ei opinnäytetyössä analysoiduista näytteistä löydetty.

Opinnäytetyössä analysoiduista silmän sidekalvon bakteeriviljelynäytteistä jopa 75 % oli negatiivisia. Negatiivisten näytteiden osuus tässä opinnäytetyössä on hieman aiempaa kirjallisuuden tuntemaa osuutta korkeampi (Baron 1996). Silmän sidekalvonäytteistä tunnistetut bakteerit olivat silmän normaaliin mikrobistoon kuuluvia lajeja, joita löydettiin myös samojen tutkimushenkilöiden piilolinssinäytteistä. Tämän ja uima-altaan veden valvontatutkimuksen negatiivisten bakteerinäytteiden perusteella voidaan pitää mahdollisena, että piilolinssihin tarttuneet ja piilolinssinäytteistä löytyneet bakteerit ovat ainakin osittain tutkimushenkilöiden silmistä tai silmien ympäristöstä peräisin.

Emme tämän opinnäytetyön tuloksilla pysty osoittamaan, että uimisella ja saunomisella olisi kertakäyttöisiin piilolinssihin tarttuvien bakteerien lukumääriä aiempien tutkimustulosten mukainen lisäävä vaikutus. Tämä johtunee opinnäytetyössä käytetystä suhteellisen pienestä otoskoosta, johon kuului kymmenen vapaaehtoista tutkimushenkilöä. Opinnäytetyön tulokset kuitenkin osoittavat, että kertakäyttöisiin piilolinssihin voi tarttua bakteereita sekä piilolinssien normaalikäytössä että käytössä uima-altaassa. Tästä johtuvan teoreettisen silmätulehduksen riskin voidaan siis olettaa olevan aina piilolinssellä käyttäessä olemassa.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa tietoa, jota voidaan käyttää optikoiden ja silmälääkärin suosituksissa piilolinssien käytöstä uimisen yhteydessä. Opinnäytetyön tulosten perusteella emme kuitenkaan voi perustella optikoiden ja silmälääkärin käyttämiä suosituksia piilolinssien käytön välttämiseksi uimisen yhteydessä, sillä aikaisemmista tutkimuksista poiketen uimisen yhteydessä käytetyistä piilolinseistä ei havaittu merkittävästi korkeampia bakteerimääriä kuin normaalisti käytetyistä piilolinseistä.

Opinnäytetyössä käytetyistä kvantitatiivisen bakteeriviljelyn menetelmistä voi olla hyötyä HUSLABin bakteriologian osastolle uusia viljelymenetelmiä ja työohjeita suunniteltaessa

vaikka kvantitatiivisen tuloksen saaminen diagnostisessa bakteriologian laboratoriossa ei ole yleensä niin keskeisessä osassa. Opinnäytetyössä käytettyjen viljelymenetelmien soveltaminen myös muihin näytetyyppeihin kuin piilolinssihin on mahdollista.

Opinnäytetyön piilolinssihin tarttuvista bakteereista tuottaman tiedon hyöty HUSLABin bakteriologian osastolle voi olla rajallinen, sillä opinnäytetyössä analysoidujen näytteiden bakteerilöydösten voidaan pääasiassa katsoa kuuluvan silmän normaaliin mikrobistoon.

Jatkotutkimusehdotuksena ehdotamme opinnäytetyön tutkimusasetelman toistamista suuremmalla otosmäärällä tutkimuksen luotettavuuden ja yleistettävyyden lisäämiseksi sekä piilolinssien saunassa käyttämisen vaikutuksen tarkempaa selvittämistä.

10.2 Luotettavuus ja eettisyys

Suunnittelimme ja testasimme opinnäytetyömme käytännön toteutuksen huolellisesti etukäteen yhdessä HUSLABin bakteriologian osaston klinisen asiantuntijan Risto Hillan kanssa. Aikataulut ja käytetyt työmenetelmät suunniteltiin ottaen huomioon opinnäytetyön käytännön toteutuksen vaiheet ja bakteerinäytteiden vaatimat kuljetus- ja inkubatioajat. Toimimme opinnäytetyötä suorittaessa ammattimaisesti emmekä häirinneet omalla työskentelyllämme laboratorion muuta toimintaa ja työntekijöitä.

Opinnäytetyössä käyttämämme koeasetelma suunniteltiin niin, että se vastaisi asettamiimme tutkimuskysymyksiin kertakäyttöisiin piilolinssihin tarttuvien bakteeripesäkkeiden lukumäärien yhteyksistä uimisen ja piilolinssien normaalikäytön sekä uimisen ja saunomisen ja piilolinssien normaalikäytön välillä.

Piilolinssijä ja bakteeriviljelynäytteitä käsiteltiin kaikissa työvaiheissa aseptisesti bakteerikontaminaatioiden välttämiseksi. Piilolinssi- ja sidekalvonäytteiden viljelyt suoritettiin laminaarivirtauskaapissa kontaminaatioiden välttämiseksi. Käytimme opinnäytetyössä käytettyjen kertakäyttöisten piilolinssien puhtauden kontrollina kahta käyttämätöntä piilolinssiä, jotka esikäsiteltiin ja viljeltiin samoin menetelmin muiden piilolinssinäytteiden yhteydessä. Kontrollipiilolinssissä ei havaittu bakteerikasvua. Opinnäytetyössä käytettiin HUSLABin bakteriologian osaston käyttämiä elatusaineita ja VITEK®MS-laitteen materiaaleja, joiden laadunvalvonnasta huolehti HUSLABin bakteriologian osasto. HUSLABin bakteriologian osasto huolehti myös käyttämiemme laminaarivirtauskaappien ja lämpökaappien toiminnasta ja lämpötiloista. VITEK®MS-laitteen tuloksien laadunvalvonta

suoritettiin analysoimalla kontrollinäytteitä HUSLABin bakteriologian osaston työohjeiden mukaisesti.

Käytännön toteutukseen osallistuneille vapaaehtoisille henkilöille kerrottiin etukäteen selkeästi, mitä osiot pitävät sisällään ja mitä ne vaativat osallistujilta. Koska opinnäytetyömme käytännön toteutuksessa oli myös teoreettinen riski silmätulehdukseen, käytännön toteutukseen osallistuneet vapaaehtoiset henkilöt allekirjoittivat vastuuvapauslomakkeen ja heitä ohjeistettiin olemaan yhteydessä lääkäriin silmätulehdusoireiden ilmetessä. Tutkimushenkilöiden yksityisyyttä suojeltiin näytteitä ja tuloksia käsiteltäessä käyttämällä näytteissä anonyymiä numerokoodausta.

10.3 Opinnäytetyöprosessi

Opinnäytetyöprosessille oli varattu riittävästi aikaa, mutta opinnäytetyömme aloitusta hidasti useampi asia. Opinnäytetyön aiheemme liittyi keskeisesti mikrobiologian alaan ja alkaessamme työstämään opinnäytetyösuunnitelmaa mikrobiologian kurssimme koululla ei ollut alkanut. Meillä ei ollut myöskään optometrian opiskelijoiden lisäksi muita yhteistyötahoja, joten lähdimme suunnittelemaan opinnäytetyötämme siltä pohjalta, että tekisimme sen itse koulun tiloissa. Optometrian opiskelijat olivat hankkimassa opinnäytetyölle optometrian alan yhteistyökumppania, joten sen ja työsuunnitelmamme vuoksi meidän täytyi selvittää mitä välineitä tarvitsisimme ja paljonko ne maksaisivat. Tämä osoittautui melko hankalaksi ja aikaa vieväksi, sillä meidän piti tehdä paljon taustatyötä menetelmän suunnitteluun ja tarvikkeisiin tutustumiseen. Budjetin suunnittelu oli lähes mahdotonta, sillä yksityishenkilöinä emme saaneet tarvitsemiemme tarvikkeiden hintatietoja mistään.

Opinnäytetyösuunnitelman loppuvaiheessa otimme vielä budjetin suunnittelua varten yhteyttä myös HUSLABin bakteriologian osaston kliiniseen asiantuntijaan Risto Hillaan, jonka puolelta lähtikin ehdotus opinnäytetyön toteuttamisesta bakteriologian osastolla. HUSLABin tutkimusluvan saatuamme tarvittavat materiaalit tulisivat heiltä ja Risto Hilla toimisi opinnäytetyömme ohjaajana työelämän puolella.

Suunnittelimme suorittavamme opinnäytetyömme käytännön toteutuksen kolmessa eri osassa ja kahtena eri päivänä. Olisimme halunneet suorittaa piilolinssien 30 minuutin normaalikäytön ja 30 minuutin uimisen ensimmäisenä päivänä ja toisena päivänä uuden 30 minuutin uimisen sekä saunomisen, jotta silmien bakteeristo ehtisi varmasti palautua

normaalitasolle ja piilolinssien käyttöajat olisivat kaikissa vaiheissa yhtä pitkät. Ongelmaksi kuitenkin muodostui se, että vapaaehtoisia tutkimushenkilöitä oli vaikea saada paikalle kahtena eri arkipäivänä. Aikataulullisista syistä jouduimme myös suorittamaan uimisen ja saunomisen yhtenä osana niin, että toisen silmän piilolinssi jäi uimisen jälkeen vielä saunan ajaksi silmään. Ei ole varmaa miten kertakäyttöisten piilolinssien käyttäminen lyhyen ajan vaikuttaa silmän mikrobiston normalisoitumiseen piilolinssin poistamisen jälkeen, joten pohdimme jäivätö eri osioiden väliset ajat liian lyhyiksi ja olisiko pidemmillä ajoilla voinut olla jotain vaikutusta tuloksiin.

Opinnäytetyöprosessin alun hankaluuksista huolimatta saimme opinnäytetyön hyvin käyntiin. Käytännön toteutuksen myöhäisen ajankohdan vuoksi raportin kirjoittamiseen ja tulosten analysoimiseen jäi hieman vähemmän aikaa kuin mitä olisimme halunneet. Muilta osin opinnäytetyöprosessi eteni suunniteltujen aikataulujen mukaisesti. Saimme vapaaehtoisiksi tutkimushenkilöiksi vaatimamme minimimäärän eli kymmenen henkilöä ja saimme kaikki haluamamme näytteet kerättyä.

Lähteet

Baron, Samuel (toim.) 1996. Medical Microbiology. 4. painos. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston. Verkkodokumentti. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>>. Luettu 18.3.2015.

Biomérieux 2015. Vitek® MS. Mass spectrometry microbial identification system. Verkkodokumentti. <<http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-ms>>. Luettu 26.3.2015.

Carlson, Petteri - Järvinen, Asko. 2010. Muita anaerobisia sauvoja. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1.

Choo, Jennifer - Vuu, Kathy - Bergenske, Peter - Burnham, Kara - Smythe, Jennifer - Caroline, Patrick 2005. Bacterial Populations on Silicone Hydrogel and Hydrogel Contact Lenses after Swimming in a Chlorinated Pool. Optometry & Vision Science 82 (2). 134–137. <http://journals.lww.com/optvissci/Abstract/2005/02000/Bacterial_Populations_on_Silicone_Hydrogel_and.12.aspx>

CooperVision 2015a. Piilolinssit. Verkkodokumentti. <<http://coopervision.fi/piilolinssit>>. Luettu 5.3.2015.

CooperVision 2015b. UKK. Verkkodokumentti <<http://coopervision.fi/nakosi/ukk>>. Luettu 5.3.2015.

CooperVision. 54 % 1 Day Silicone Hydrogel. Trial lenses. Pakkausseloste. USA.

Copan. 2012. M40 Transystem Swab Line. Verkkodokumentti. <<http://www.copanusa.com/products/m40transystem> > Luettu 5.3.2015.

Eguchi, Hiroshi 2013. Ocular Infections Caused by Corynebacterium Species. Teoksessa Basak, Silpi (toim.): Infection Control. InTech. Verkkodokumentti. <<http://www.intechopen.com/books/infection-control>>. Luettu 22.3.2015.

ESwab. 2010. Product Insert & How to Use Swab Guide. Pakkausseloste. Copan. Italia.

Helsingin kaupungin ympäristökeskus 2015. Uima-allasveden näytteenottosuunnitelma. Raportti. Helsinki.

Hilla, Risto 2015. Kliininen asiantuntija. HUSLAB, bakteriologian osasto. Helsinki. Suullinen tiedonanto 26.3.2015.

Holopainen, Juha - Immonen, Ilkka - Laatikainen, Leila. 2011. Silmän ja sen apuelinten tulehdustaudit. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2011. Infektiosairaudet - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 3.

HUSLAB 2014. VITEK®MS/ Maldi-tof. Työmenetelmäohje. HUSLAB, bakteriologian osasto. Helsinki.

Lumio, Jukka - Vuopio-Varkila, Jaana. 2010. *Corynebacterium diphtheriae*. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1.

Lyytikäinen, Outi - Vuopio-Varkila, Jaana – Kotilainen, Pirkko. 2010. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1.

Käyhty, Helena - Peltola, Heikki. 2010. Hemofilukset. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1.

MetropoliLab 2015. Testausseloste 2015-4184-1. Raportti. Helsinki.

Optometrian eettinen neuvosto 2014. Ammatillinen ohje optikon toimen harjoittamisesta. Hyvä piilolasisovituskäytäntö. HOYA. Verkkodokumentti. <http://www.optometria.fi/media/tiedostot/hyva-optikon-tutkimuskaytando-ohjeistus_2014-id-4106.pdf>. Luettu 5.3.2015.

OXOID 2015. Dehydrated Culture Media. Thioglycollate medium usp. Verkkodokumentti. <http://www.oxid.com/uk/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=cm0173&cat=&sec=1&c=uk&lang=en>. Luettu 26.3.2015.

Public Health Agency of Canada 2014. Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment. <<http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/index-eng.php>>. Luettu 18.3.2015.

Rantakokko-Jalava, Kaisu - Anttila, Veli-Jukka. 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1.

Salomaa 2006. Mukavat, pehmeät, joustavat silikonit. *Optometria* 1/2006, 14–17.

Tissari, Päivi - Anttila, Veli-Jukka. 2010. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1.

TYKSLAB 2010. Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. Verkkodokumentti. <ohjekirja.tykslab.fi/liitteet/MikrobiolNaytteet.pdf> Luettu 24.11.2014.

U.S. Food and Drug Administration 2014. Contact Lens Risks. Verkkodokumentti. <<http://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/HomeHealthandConsumer/ConsumerProducts/ContactLenses/ucm062589.htm>> Luettu 26.9.2014.

Vesaluoma, Minna - Kalso, Seija - Jokipii, Liisa - Warhurst, David - Pönkä, Antti - Tervo, Timo 1995. Microbiological quality in Finnish public swimming pools and whirlpools with special reference to free living amoebae: a risk factor for contact lens wearers? *British Journal of Ophthalmology* 79. 178-181. <<http://bj.o.bmj.com/content/79/2/178.short>>

Wilson, Michael 2005. *Microbial Inhabitants of Humans - Their ecology and role in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press. 65–73, 116-125, 146-150.

Wu, Yvonne T. - Tran, Jess - Truong, Michelle - Harmis, Najat - Zhu, Hua - Stapleton, Fiona 2011. Do Swimming Goggles Limit Microbial Contamination of Contact Lenses? *Optometry & Vision Science* 88 (4). 456–460. <http://journals.lww.com/optvissci/Abstract/2011/04000/Do_Swimming_Goggles_Limit_Microbial_Contamination.4.aspx>

Vuento, Risto. 2010. Muita gramnegatiivisia bakteereita. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. *Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*, kirja 1.

Vuopio-Varkila, Jaana -Kuusela, Pentti - Kotilainen, Pirkko. 2010. *Staphylococcus aureus*. Teoksessa Huovinen, Pentti - Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara Martti (toim.) 2010. *Mikrobiologia - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*, kirja 1.

Bakteeripesäkkeiden kokonaismäärät elatusainemaljoittain

Tutkimushenkilö	Normaalikäyttö SM	Normaalikäyttö FAA	Yht. normaalikäyttö
1	3	26	29
2	13	11	24
3	2	1	3
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	12	12
7	3	11	14
8	0	1	1
9	30	73	103
10	15	14	29

Tutkimushenkilö	Uinti SM	Uinti FAA	Yht. uinti
1	7	40	47
2	4	21	25
3	38	63	101
4	2	16	18
5	0	1	1
6	0	0	0
7	0	11	11
8	0	0	0
9	431	649	1080
10	1	0	1

Tutkimushenkilö	Uinti & sauna SM	Uinti & sauna FAA	Yht. uinti & sauna
1	40	187	227
2	1	2	3
3	0	3	3
4	0	3	3
5	0	1	1
6	0	0	0
7	2	34	36
8	0	0	0
9	508	538	1046
10	0	1	1

Suklaamaljoilta tunnistetut bakteerilajit

lkm = bakteeripesäkkeiden lukumäärä

TIO = kasvu tuli esiin vain tioglykolaattiputkesta

Näyte	Löydös	lkm	Löydös	lkm
1-1-	Staphylococcus epidermidis	3		
2-1-	Staphylococcus warneri	13		
3-1-	Staphylococcus warneri	2		
4-1-				
5-1-				
6-1-				
7-1-	Kocuria varians	3		
8-1-				
9-1-	Staphylococcus epidermidis	30		
10-1-	Staphylococcus epidermidis	15		
1-2-	Staphylococcus epidermidis	7		
2-2-	Staphylococcus warneri	2	Staphylococcus spp.	2
3-2-	Staphylococcus epidermidis	33	Staphylococcus aureus	5
4-2-	Staphylococcus epidermidis	1	Moraxella osloensis	1
5-2-				
6-2-				
7-2-				
8-2-				
9-2-	Staphylococcus epidermidis	431		
10-2-	Staphylococcus epidermidis	TIO	Micrococcus spp.	1
1-3-	Staphylococcus epidermidis	40		
2-3-	Staphylococcus spp.	1		
3-3-				
4-3-				
5-3-				
6-3-				
7-3-	Staphylococcus epidermidis	2		
8-3-	Paenibacillus spp.	TIO		
9-3-	Staphylococcus epidermidis	508		
10-3-				

FAA-maljoilta tunnistetut bakteerilajit

Ikm = bakteeripesäkkeiden lukumäärä

TIO = kasvu tuli esiin vain tioglykolaattiputkesta

Näyte	Löydös	Ikm	Löydös	Ikm	Löydös	Ikm
1-1-	Propionibacterium acnes	15	Staphylococcus epidermidis	11		
2-1-	Propionibacterium acnes	3	Staphylococcus warneri	8		
3-1-	Staphylococcus warneri	1				
4-1-	Propionibacterium acnes	TIO				
5-1-						
6-1-	Propionibacterium acnes	11	Staphylococcus epidermidis	1		
7-1-	Propionibacterium acnes	11				
8-1-	Propionibacterium acnes	1				
9-1-	Propionibacterium acnes	37	Staphylococcus epidermidis	36		
10-1-	Staphylococcus epidermidis	14				
1-2-	Propionibacterium acnes	29	Staphylococcus epidermidis	11		
2-2-	Propionibacterium acnes	18	Staphylococcus warneri	3		
3-2-	Propionibacterium acnes	11	Staphylococcus epidermidis	52		
4-2-	Propionibacterium acnes	16				
5-2-	Staphylococcus epidermidis	1				
6-2-						
7-2-	Propionibacterium acnes	11				
8-2-						
9-2-	Propionibacterium acnes	192	Staphylococcus epidermidis	457		
10-2-	Staphylococcus epidermidis	TIO				
1-3-	Propionibacterium acnes	160	Staphylococcus epidermidis	27		
2-3-	Propionibacterium acnes	2				
3-3-	Propionibacterium acnes	1	Staphylococcus epidermidis	2	G+ sauva	TIO
4-3-	Propionibacterium acnes	3				
5-3-	Propionibacterium acnes	1				
6-3-						
7-3-	Propionibacterium acnes	33	Staphylococcus lugdunensis	1		
8-3-	Paenibacillus spp.	TIO				
9-3-	Propionibacterium acnes	53	Staphylococcus epidermidis	485		
10-3-	Propionibacterium acnes	1				