



SAVONIA

■ OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

KEFTAROLIININ MIC-ARVOJEN MÄÄRITYS MRSA-KANNOILLA

TEKIJÄ/T: Toni Ahlqvist
Karoliina Mykkänen

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma			
Työn tekijät Toni Ahlqvist ja Karoliina Mykkänen			
Työn nimi Keftaroliinin MIC-arvojen määrittäminen MRSA-kannoilla			
Päiväys	5.12.2014	Sivumäärä/Liitteet	30
Ohjaaja Leena Tikka			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani ISLAB, Mikkeli Kliinisen mikrobiologian laboratorio			
<p>Tiivistelmä</p> <p>MRSA:n eli metisilliiniresistentin <i>Staphylococcus aureuksen</i> hoito vaatii uusia uuden sukupolven tehokkaita lääkkeitä bakteerin muuntumiskyvyn takia. <i>Staphylococcus aureus</i> kuuluu ihmisen normaaliin bakteerikantaan, joka löytyy mm. nenänielusta, mutta voi tilaisuuden tullen olla myös patogeeni. <i>S.aureus</i> -bakteerin muuttuminen antibiooteille resistentimmäksi (vastustuskykyisemmäksi) johti MRSA-kantojen syntyyn. Resistentimmät bakteerikannat aiheuttavat samanlaisia infektioita kuin herkät kannat, mutta antibioottihoito on vaikeampaa. MRSA voi tarttua kosketustartuntana muista ihmisistä sekä saastuneista pinnoista ja välineistä. Lääketeollisuus pyrkii kehittämään uuden sukupolven antibiootteja resistenttejä kantoja vastaan. Uusimpina tulokkaina ovat viidennen sukupolven kefalosporiinit, joihin kuuluu mm. keftaroliini.</p> <p>Tämän opinnäytetyön tavoite oli vahvistaa oletusta uuden lääkeaineen tehokkuudesta kotimaassa esiintyviä MRSA-kantoja vastaan <i>in vitro</i> -tutkimuksissa (koeputkessa). Aihe opinnäytetyöhön saatiin Mikkelin keskussairaalan toimivalta ISLAB:n (Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä) aluelaboratoriolta, kliinisen mikrobiologian osaston ylilääkäriltä. Tutkimus suoritettiin Mikkelin kliinisen mikrobiologian osastolla. Keftaroliini E-testiä oli käytetty Mikkelissä rutiinityön ohella, mutta laajempaan otokseen sitä ei ollut käytetty. Näin ollen laajemman otoksen MIC-arvojen yhtenevyyttä ja riippuvuussuhteita spa-tyyppien välillä ei ollut tutkittu. Tutkimusaineistona oli 40 MRSA-positiivista näytettä, jotka olivat kerätty Mikkelissä rutiinityön ohella.</p> <p>Opinnäytetyön tarkoitus oli määrittää keftaroliinin MIC-arvot <i>in vitro</i> -menetelmällä tunnetuilla MRSA-kannoilla. Tutkimuksen tuotoksena julkaistaan artikkeli laboratorioalan Moodi-lehdessä. Aihe on mielenkiintoinen, koska näitä lääkkeitä ei ole vielä laajalti käytössä. Tutkimustulokset saatiin vertaamalla keftaroliini MIC-arvoja toisiinsa ja lisäksi etsittiin mahdollisia riippuvuuksia saatujen MIC-arvojen ja spa-tyyppien väliltä. Tutkimustulosten mukaan keftaroliini on tehokas lääke MRSA-kantoja vastaan <i>in vitro</i> -tutkimuksissa. Johtopäätöksenä artikkelissa suositeltiin keftaroliini E-testin lisäämistä MRSA-diagnostiikan rutiinitöitä tehdessä.</p>			
Avainsanat Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i> , MIC-arvo, keftaroliini, keftobiproli, E-testi			

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Authors Toni Ahlqvist, Karoliina Mykkänen			
Title of Thesis Determining MIC-values of ceftaroline to MRSA strains			
Date	5.12.2014	Pages/Appendices	30
Supervisor Leena Tikka			
Client Organisation /Partner ISLAB Mikkeli, Laboratory of clinical microbiology			
<p>Abstract</p> <p>MRSA (methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>) is getting resistant to old generation medicines and a cure for this bacterium requires finding effective antibiotics of the next generation. <i>Staphylococcus aureus</i> is normal a bacterium in human flora is frequently found, for example, on the nose, but the bacterium can be pathogen if an opportunity arises. <i>S.aureus</i> resistant evolutions lead to birth of MRSA. Antibiotic-resistant bacteria cause as similar infections as sensitive bacteria but antibiotic treatments are much more difficult. MRSA can spread out human-to-human contact and from MRSA-contaminated surfaces and instruments. Pharmaceutical industry is aiming at developing a new generation antibiotics against antibiotic-resistant strains. Newcomers are the fifth-generation cephalosporins which include for example ceftaroline.</p> <p>The aim of this thesis is to verify assumption that ceftaroline is effective to local MRSA strains <i>in vitro</i>. The topic for this thesis came from a senior physician from Mikkeli´s central hospital, laboratory of clinical microbiology. The research was executed in clinical microbiology laboratory in Mikkeli. The clinical microbiology laboratory is a part of ISLAB (Itä-Suomen laboratorikeskuksen liikelaitoskuntayhtymä). Ceftaroline epsilometer test had been used as a part of routine work in Mikkeli. However the larger scale test hasn´t been done so correlations between MIC-values and spa-types were unsolved. The research material was 40 MRSA-positive samples which have been discovered in a routine work.</p> <p>The purpose of this thesis is to determine ceftaroline MIC-values <i>in vitro</i> -method to MRSA strains. This thesis includes an scientific article of research results. The article will be published in the laboratory magazine: Moodi. The fact that the medicine is not widely in use yet makes the article very interesting in scientifically. The research results are gained by comparing solved ceftaroline MIC-values and correlations between MIC-values and spa-types were examined. According to our research ceftaroline is an effective antibiotic to MRSA-strains in <i>in vitro</i> -studies. As a conclusion our article recommends to add the ceftaroline epsilometer test as a part of routine work.</p>			
Keywords Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , MIC-value, ceftaroline, ceftobiprole, epsilometer test			

1	JOHDANTO	5
2	MRSA	6
2.1	MRSA:n esiintyminen Suomessa.....	6
2.2	MRSA-kantaja terveydenhuollossa, avohoidossa ja hoitolaitoksessa.....	7
2.3	MRSA ja sosiaaliset suhteet	8
2.4	MRSA-kantajien rekisteri.....	8
3	KEFALOSPORIINIT	9
3.1	Keftaroliini	9
3.2	Keftobiproli.....	9
4	MIC-ARVOJEN MÄÄRITYS E-TESTILLÄ.....	11
5	TYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET	12
6	LUOTETTAVUUS.....	13
6.1	Reliabiliteetti.....	13
6.2	Validiteetti	13
6.3	Objektiivisuus	14
6.4	Hyvä tieteellinen käytäntö	14
7	TUTKIMUSMENETELMÄ JA –AINEISTO	15
7.1	Tutkimusmenetelmä.....	15
7.2	Tutkimusaineisto.....	16
8	TUTKIMUKSEN TOTEUTTAMINEN	17
8.1	Aloitusvaihe.....	17
8.2	Työstämisyvaihe	17
8.3	Viimeistelyvaihe	18
8.4	Julkaisuvaihe	18
9	TUTKIMUSTULOKSET JA TARKASTELU	19
10	POHDINTA.....	21
	LÄHTEET	23
	LIITE 1: ”KEFTAROLIININ MIC-ARVOJEN MÄÄRITYS MRSA-KANNOILLA” -ARTIKKELI	27
	LÄHTEET	30

1 JOHDANTO

Penisilliini-antibioottia käytettiin ensimmäisen kerran vuonna 1942. Tuolloin ajateltiin penisilliinin olevan lopullinen ratkaisu grampositiivisten bakteerien hoitoon. Metisilliini on vanhin penisilliini-suvun antibiootti, jolla hoidettiin aiemmin stafylokokkibakteerien aiheuttamat infektiot. Liian runsas antibioottien käyttö pakotti *Staphylococcus aureuksen* muuttamaan penisilliinille vastustuskykyiseksi, resistenssin kehittyessä syntyi metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* eli MRSA. Vaikeahoitoisen MRSA:n leviäminen aloitti lääketeollisuuden antibioottikehityksen kyseisiä kantoja vastaan. (Lumio 2013; HUSLAB 2014; Reygaert 2009.)

Opinnäytetyön tarkoituksena oli määrittää keftaroliinin MIC-arvot (pienin vaikuttava lääkeainepitoisuus) *in vitro* -menetelmällä tunnetuilla MRSA-kannoilla. Opinnäytetyössä käytettiin kvantitatiivista tutkimusmenetelmää, joka perustui eksperimentaaliseen eli kokeelliseen tutkimukseen. Opinnäytetyön tavoite oli vahvistaa oletusta uuden lääkeaineen tehokkuudesta kotimaassa esiintyviä MRSA-kantoja vastaan *in vitro* -tutkimuksissa. Opinnäytetyön lisäksi tutkimuksesta syntyi myös tieteellinen artikkeli, joka lisää tutkimuksemme luotettavuutta. Artikkelin lähetettiin julkaistavaksi laboratorioalan lehteen.

MRSA-potilaat sijoitetaan kosketuseristykseen sairaala- ja hoitolaitosolosuhteissa. Tämä pakollinen menettely haastaa potilaan sosiaaliset suhteet. MRSA-infektiot ovat pitkälle samanlaisia kuin muidenkin stafylokokkien aiheuttamat infektiot. Ongelmaksi muodostuu MRSA:n antibioottiresistenssi, joka vaikeuttaa ja pitkittää infektioiden hoitoa. MRSA lisää yhteiskunnan kustannuksia lisäämällä terveydenhuollon työmäärää, materiaalikuluja ja aiheuttaa kalliita lääkemenetelmiä. Vankomysiinin käytöstä MRSA:n hoidossa on eniten näyttöä. Tutkimus on hyvin ajankohtainen, koska MRSA:sta on löytynyt jo vankomysiinille resistenttejä kantoja eli uusia vaihtoehtoisia mikrobilääkkeitä tullaan tarvitsemaan tulevaisuudessa. (Kurki & Pammo 2010, 14; THL 2014 & Vuopio 2013.)

Tutkimusongelma työssä oli: ”Tehoaako keftaroliini MRSA-kantoja vastaan *in vitro*?” Tutkimuksen hyöty on yhteiskunnallinen. Lisäksi opinnäytetyöprosessi syvensi tekijöiden tietämystä sairaalan eristyskäytäntöjen tärkeydestä tartuntojen leviämisen ennaltaehkäisyssä. Työntilaaaja tutkimuksessa oli Mikkelin keskussairaalan ISLAB:n (Itä-Suomen laboratoriokeskus liikelaitoskuntayhtymä) kliinisen mikrobiologian laboratorio. Tutkimus pyrittiin suorittamaan kahdella antibiootilla, keftaroliinilla ja keftobiprolilla. Valmistaja ei kuitenkaan voinut toimittaa jälkimmäistä antibioottia. Tutkimustulosten mukaan keftaroliini on tehokas lääke MRSA-kantoja vastaan *in vitro* -tutkimuksissa. Johtopäätöksensä artikkelissa suositeltiin keftaroliini E-testin lisäämistä herkkyysmaljalle MRSA-diagnostiikan ruutiinitöitä tehdessä.

2 MRSA

MRSA eli metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* on *S. aureuksen* resistentimpi kanta. *Staphylococcus aureus* on aerobinen grampositiivinen kokkibakteeri, jota esiintyy terveiden ihmisten nenänielun ja ihon mikrobistossa. Suurin osa *S. aureus* bakteerin aiheuttamista infektioista on lieviä, kuten märkänäppylät, jotka pystytään hoitamaan ilman antibiootteja. Tämä bakteeri voi kuitenkin aiheuttaa myös vakavia infektioita, esimerkiksi sepsiksen (verenmyrkytyksen), leikkaushaavainfektiön tai keuhkokuumeen. Suurin osa *S. aureus* -kannoista tuottaa beetalaktamaasientsyymiä (penisillinaasia), joka tekee niistä resistenttejä tavalliselle penisilliinille. (Id & Simola 2011, 16; THL 2014.)

MRSA-kantoihin ei tehoa penisillinaasia kestävät penisilliinit, joita kutsutaan stafylokokkipenisilliineiksi. Näille antibiooteille resistenttejä *S. aureus* -kantoja kutsutaan MRSA-kannoiksi. MRSA-kannat ovat resistenttejä myös kaikille muille beetalaktaamiantibiooteille, poikkeuksena viidennen sukupolven kefalosporiinit. (Id & Simola 2011, 16 – 17; THL s.a; Karhumäki, Jonsson & Saros 2009, 167 – 168.) Resistenssi johtuu *S. aureuksen* pinnalla olevista penisilliiniä sitovista PBP2a-proteiineista, joka on *mecA*-geenin koodaama. (Glad, Klingenberg, Flægstad, Ericson, & Olsvik 2001.) MRSA nimetään tarkemmin spa-tyypityksellä. Tyypitys tapahtuu spa-geenin avulla, joka koodaa *S. aureus* -bakteerin pinnalla olevaa proteiini A:ta. (THL 2013.)

MRSA aiheuttaa samantyyppisiä infektioita kuin tavallinen *S. aureus*. MRSA leviää kosketustartuntana joko käsien välityksellä tai MRSA:lla saastuneiden pintojen kautta. MRSA-potilaiden hoitoihin käytettäviä mikrobilääkkeitä ovat vankomysiini, moxifloksasiini, klindamysiini, daptomysiini, rifamysiini, linetsolidi ja tigesykliini. (Id & Simola 2011, 16-17; THL 2014; Karhumäki ym. 2009, 167-168.)

2.1 MRSA:n esiintyminen Suomessa

MRSA-tartuntoja on seurattu Suomessa jo vuodesta 1995 lähtien tartuntatautirekisterin avulla. MRSA-tartunnat kasvoivat nopeasti 2000-luvun alkupuolelle asti, kunnes tasoittuivat 1300–1500 vuosittaisten löydösten tasolle. Usein kyseessä on kuitenkin oireeton kantajuus. Samaan aikaan MRSA-veriviljelylöydösten suhde tavallisiin *S. aureus* -kantoihin nousi alle yhdestä prosentista 2,5-3 prosenttiin. Vuonna 2013 MRSA-veriviljelylöydöksiä oli 30 kpl. Tartuntataudit Suomessa 2013 - julkaisun mukaan 43% MRSA-kannoista löytyi yli 75-vuotiailta. (Salmenlinna, Lyytikäinen, Kanerva & Vuopio-Varkila 2008, 192; Jaakola ym. 2014.)

Suomessa torjuntatoimet ovat pitäneet MRSA-bakteerin leviämisen kurissa. Suomessa infektiota aiheuttavista *Staphylococcus aureus* -kannoista vain 2-5% on MRSA-kantoja, vastaavasti Yhdysvalloissa, Etelä-Euroopassa, Ranskassa ja Englannissa vastaava luku on 25-50%. Suomessa MRSA-tartunnat saadaan pääosin sairaaloissa ja laitoshoidoissa, mutta kotioiloissa hankittujen infektioiden määrä on hitaasti lisääntynyt. Kotioiloissa hankitut MRSA-kannat ovat lääkeaineherkkyksiltään ja perimältään erilaisia kuin sairaalaoiloissa saadut MRSA-tartunnat. Kotioilojen MRSA-kannat eivät yleensä ole moniresistenttejä. MRSA-bakteeri voi tarttua eläimestä ihmiseen tai toisin päin joko suoraan tai välillisesti. (Kurki & Pammo 2010, 15-16; Vuopio 2013.)

MRSA-tartuntojen ehkäisemisen torjuntatoimiin kuuluvat mm. seulontatutkimukset. Sairaanhoidopiireillä on erilaiset ohjeistukset siitä, mitkä potilaat tulee seuloa ennen hoitojaksoa. Lisäksi MRSA-seulontanäytteitä otetaan potilailta, joiden epäillään altistuneen MRSA-infektioille. Pirkanmaan sairaanhoidopiirin alueella vuonna 2010 otettiin 12 251 MRSA-näytettä 3900 eri henkilöltä. Näytteiden laboratoriokustannukset olivat 274 422 euroa. Näistä näytteistä löytyi 45 uutta MRSA-tapausta, joista 23 kliinisten näytteiden ja 22 seulontanäytteiden perusteella. Seulontanäytteiden vaikutus leviämisen estämiseksi vaihtelee eri toimintaympäristöissä. Seulonta auttaa eniten suljetuissa ympäristöissä, kuten sairaaloissa missä kantajaan kohdistuvat sairaalahygieeniset toimet voivat vähentää oleellisesti uusien tartuntojen riskiä. Lisäksi MRSA-tartunnat aiheuttavat lisäkustannuksia suojain-, siivous, ja henkilöstökulun osalta. Sairaalan eristysuoneiden vaatimat suojaimet tuovat lisäkustannuksia keskimäärin 4,27€/potilas/vuorokausi. Seulontatutkimukset ja muut lisäkulut estävät tehokkaasti uusien tartuntojen leviämisen, jolloin voidaan välttyä uusilta tartunnoilta. (Oksanen, Rintala & Mastokangas 2011.)

2.2 MRSA-kantaja terveydenhuollossa, avohoidossa ja hoitolaitoksessa

Tavallisista stafylokokkibakteereista MRSA-bakteerit eroavat vain antibioottilherkkyytensä johdosta. MRSA-bakteerit eivät siis aiheuta tartuntoja tai tulehduksia yhtään sen useammin kuin tavalliset herkkään stafylokokit. MRSA on kehittänyt vastustuskyvyn metisilliinille, kloksasilliinille ja dikloksasilliinille. Beetalaktaamiantibiootit (kefalosporiinit ja imipeneemi) eivät myöskään tehoa MRSA-bakteeriin. Terveydenhuollossa MRSA aiheuttaa pidentyneitä hoitojaksoja ja haasteellisesti hoidettavia infektioita, henkilökunnan työmäärän lisäämistä ja kalliita lääkehoitoja. Terveyden ja hyvinvoinninlaitoksen mukaan vuonna 2013 tartuntatautirekisteriin oli ilmoitettu 1289 MRSA-tapausta. MRSA:n leviämisen estämisessä olisi ensisijaisen tärkeää havaita infektoituneet ja oireettomat kantajat nopeasti. MRSA:n leviämisessä yksi syy on matkailun lisääntyminen. Yhä sairaammat ja iäkkäämmät ihmiset matkustavat ulkomaille ja sairauskohtauksen saatuaan joutuvat matkakohteen sairaalaan. MRSA-näytteiden ottamista suositellaan, mikäli on joutunut hoidettavaksi ulkomailta paikalliseen sairaalaan. Sairaalassa potilaat hoidetaan niin kauan kosketuseristyksissä ennen kuin näytteet on todettu MRSA-negatiivisiksi. (Kurki & Pammo 2010, 13-14; Jaakola ym. 2014.)

MRSA:n riskitekijöitä ovat sairaalahoitojaksot, antibioottiloidot ja korkea ikä. Merkittävä osa MRSA-tartunnoista on avohoitoperäisiä ja ne voivat levitä laitoksiin. Avohoidon MRSA-kannat eivät ole kuitenkaan niin vastustuskykyisiä kuin sairaaloissa esiintyvät kannat sekä avohoidon asiakkaat voivat olla täysin oireettomia. MRSA-bakteeri voi löytyä täysin sattuman kautta. Avohoidossa yleisimpiä ovat MRSA:n aiheuttamat ihoinfektiot. (Kurki & Pammo 2010, 14.) Suomessa MRSA:n esiintyvyyttä avohoidossa on tutkittu kahdesti, vuosina 1997-99 ja 2004-06. Avohoidon MRSA-tartunnat ovat kymmenessä vuodessa lähes kolminkertaistuneet (108 vs. 298). Kuitenkin avohoidon MRSA-tartuntojen suhde MRSA:n kokonaislukumäärään on pienentynyt (21% vs. 7%). (Salmenlinna ym. 2008, 192.) Avohoidossa ilmenneitä pehmytkudos MRSA-infektioita hoidetaan ensisijaisesti inkiisiolla (puhkaisu), dreneerauksella (nesteen poistoa kudoksista) ja paikallishoidolla. Toissijaisena hoitona tulee vasta mikrobilääkehoito, koska väärä mikrobilääkkeiden käyttö voi jopa altistaa potilaan MRSA-

infektiolle. Jos hoidossa päädytään mikrobilääkitykseen, tulee lääkitys valita herkkyysmääritysten perusteella. (Lyytikäinen, Kardén-Lilja, Vuopio-Varkila 2006.)

Avohoidossa esiintyvät MRSA-kannat ovat herkkyysprofiileiltaan ja perimältään hyvin paljon erilaisia kuin sairaalasta peräisin olevat MRSA-kannat. Yleisesti avohoidon MRSA-kannat eivät ole moniresistenttejä vaan ne ovat resistenttejä ainoastaan beetalaktaami-antibioteille. Avohoidossa esiintyvistä MRSA-tartunnoista tehty tutkimus määrittä myös kantojen resistenssiä. Jopa 94% avohoidossa esiintyvistä MRSA-kannoista oli resistenttejä vain beetalaktaami-antibioteille. (Lyytikäinen ym. 2006.)

Sairaalahoitosta peräisin olevat MRSA-kannat ovat usein herkkydeltään multiresistenttejä eli vastustuskykyisiä monille eri antibioteille. Vanhuksille ja vastasyntyneille MRSA-bakteeri on uhka, koska heillä on heikentynyt immuniteetti (vastustuskyky). Bakteerin saamiselle altistaa useat hoitajakset ja monet antibioottikuurit. Vanhusten hoitolaitoksissa yksilöllisiä tiloja on vähän, esimerkiksi WC- ja pesutilat ovat yhteisessä käytössä. MRSA:n kolonisaatio (kantajuus) on yleistä juuri tällaisissa hoitolaitoksissa. Kolonisaatio tarkoittaa, että ihmisellä on kyseinen bakteeri ihollaan tai limakalvoillaan, muttei se aiheuta kantajalleen infektiota. MRSA-infektio tarkoittaa tautia, joka oireilee. (Kurki & Pammo 2010, 14-15.)

2.3 MRSA ja sosiaaliset suhteet

MRSA-kantajuus vaikuttaa monesti potilaan sosiaalisiin suhteisiin. Eristyshuone saattaa säikäyttää omaisia ja lähipiiriä. Sosiaalisten suhteiden on kuitenkin tärkeä pysyä ennallaan, ja bakteerista tuleekin antaa oikeaa tietoa sekä rohkaista vierailemaan potilaan luona. Kotihoidossa riittää pelkkä käsien saippuapesu, laitoshoidossa desinfioidun käsihuuhteen käyttö saippuapesun lisäksi. (Kurki & Pammo 2010, 23.) MRSA luo paljon vaikeita kysymyksiä liittyen laitoshoittoon ja siellä tapahtuviin sosiaalisiin suhteisiin. Hoitolaitos on monen iäkkään viimeinen ja pysyvä koti, usein myös ns. terveen vanhuksenkin. Kuinka paljon MRSA:ta kantavan potilaan oikeuksia voidaan rajata MRSA:n leviämisen estämisen nimissä? Voidaanko potilas eristää muista asukkaista, vaikka yksinäisyys ahdistaisi? Tartuntatautilaki (25.7.1986/583) antaa valtuudet rajoittaa yksilöiden vapauksia epidemioiden estämiseksi. Tartuntatautilaki ei ratkaise sitä, milloin ja miten jyrkkiä toimia voidaan käyttää viisaasti ja inhimillisesti. (Lumio 2003.)

2.4 MRSA-kantajien rekisteri

MRSA-kantajista on virallinen tilasto terveyden- ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) tartuntatautirekisterissä. Tartuntatautirekisteri on ollut käytössä vuodesta 1995 alkaen. THL seuraa eräiden mikrobien tarkkaa tyyppijakaumaa tai lääkeherkkyysominaisuuksia. MRSA kuuluu seurattaviin mikrobeihin. Tartuntatautirekisterin tietoja voidaan käyttää tutkimuskäytössä, mutta vaatii tutkimusluvan. MRSA ei oikeuta ilmaisilääkkeisiin, eikä ilmaisiin hoitoihin. (Kurki & Pammo 2010, 26; THL 2013.)

3 KEFALOSPORIINIT

Kefalosporiinit kuuluvat beetalaktamaasien bakteerilääkeryhmään yhdessä penisilliinien ja eräiden muiden beetalaktaamirakenteisten mikrobilääkkeiden kanssa, kuten karbapeneenit ja atstreonaamit. Kefalosporiinit ovat *Cephalosporium*-homeen erittämän antibiootin puolisynteettisiä johdannaisia. Useimpien kefalosporiinien puoliintumisaika plasmassa on lyhyt, yleisimmin alle kaksi tuntia. Kefalosporiinit erittyvät pääasiallisesti virtsaan, joten suuret annokset voivat aiheuttaa munuaisvaurioita. Kefalosporiinit jaetaan neljään sukuun, mutta uusimpana tulokkaana on viides suku, johon kuuluvat mm. keftaroliini ja keftobiproli. Keftaroliinien toinen ja kolmas polvi ovat laajakirjoisempia ja tehoavat useimpiin gramnegatiivisiin sauvabakteereihin, kuitenkin teho useimpiin grampositiivisiin bakteereihin on heikentynyt. Vastaavasti ensimmäisen sukupolven kefalosporiinit osoittavat merkittävää tehoa grampositiivisia bakteereja vastaan. Useimmat kefalosporiinit vaikuttavat haitallisesti suoliston bakteeristoon, minkä takia seurauksena saattaa olla ripuli tai suolitulehdus. Suoliston bakteeriston heikkeneminen voi johtaa antibioottiripuliin, jota aiheuttaa pääasiallisesti *Clostridium difficile*. (Järvinen, Huovinen & Vaara 2011.)

3.1 Keftaroliini

Keftaroliini on kefalosporiinien johdannainen, joka vaikuttaa bakteeriin sitoutumalla penisilliiniä sitoviin PBP-proteiineihin ja näin estäen solukalvon synteesin. Keftaroliinia käytetään ensisijaisesti *Staphylococcus aureuksen* ja *Streptococcus pneumoniae* bakteerien hoidossa. Nämä bakteerit eivät ole herkkiä penisilliinille, joten keftaroliinilla on affiniteetti (sitoutumiskyky) organismien PBP-proteiineihin. (EMA 2013.) Keftaroliini sitoutuu 1-4 PBP-proteiineihin, erityisen suuri affiniteetti on PBP2a (*mecA*)-proteiiniin, joka on ominainen juuri MRSA-bakteerilla. Kyky sitoutua tähän MRSA:lle ominaiseen proteiiniin erottaa keftaroliinin muista kefalosporiiniesta. Keftaroliini kykenee näin estämään MRSA-bakteerin solukalvon synteesin, jolloin bakteerin kasvu estyy. (Saravolatz, Stein & Johnson 2011.)

Keftaroliinia käytetään iho- ja pehmytkudosinfektioiden hoidossa ja sillä on kyky vaikuttaa myös multiresistentteihin grampositiivisiin bakteereihin. Keftaroliinille resistenttejä bakteereja ovat *Enterobacteriaceae*-heimoon kuuluvat suolistobakteerit. Keftaroliinilla ei ole havaittu tutkimuksissa olevan yhteisvaikutuksia muiden antibioottien kanssa. Vasta-aiheena on yliherkkyys kefalosporiinantibiooteille. Keftaroliinin aihiolääke on keftaroliinifosamiili, joka muuttuu aktiiviseksi keftaroliiniksi plasman fosfataasientsyymien vaikutuksesta. Lääke annetaan laskimoon suonensisäisesti, joten hoito vaatii aina sairaalassa oloa. (EMA 2013.)

3.2 Keftobiproli

Keftobiproli on laajakirjoinen viidennen sukupolven kefalosporiini, joka inhiboi (estää) PBP2a-proteiineja. Keftobiprolin on todettu toimivan *in vitro*-tutkimuksissa *Staphylococcus*-kantoja vastaan, mukaan lukien MRSA. *In vitro*-tutkimuksissa on myös todettu, että keftobiproli tehoaa ensimmäisenä kefalosporiinien johdannaisena myös *Enterococcus faecalis*-kantoihin, sekä gramnegatiivisiin pa-

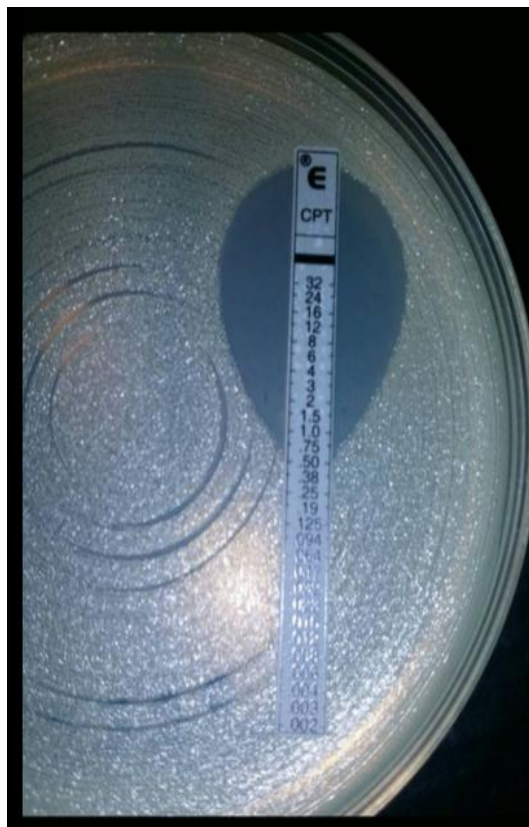
togeeneihin (mukaan lukien *Pseudomonas aeruginosa*). Lisäksi keftobiproli tehoaa grampositiivisia aeroibi ja anaerobi bakteereja vastaan. *Acinetobacter* -kantoja vastaan keftobiprolilla ei ole tehoa. Yleisimmät haittavaikutukset ovat päänsärky ja ruuansulatushäiriöt. Keftobiproli on hyväksytty hiljattain Euroopassa käyttöön keuhkokuumeen hoidossa. (Farrel, Flamm, Sader, Jones 2013; Dauner, Nelson, Taketa 2010 & Chahine 2010.)

4 MIC-ARVOJEN MÄÄRITYS E-TESTILLÄ

MIC-arvo (Minimal Inhibitory Concentration) määrittää pienimmän antibioottipitoisuuden, joka estää bakteerin kasvun herkkyysmaljalla. MIC-rajatarvojen määrittämisen avulla tulokset muunnetaan herkkyysluokiksi kliinikon toimesta todennäköisen kliinisen vasteen mukaan onko tutkittava bakteeri antibiootille herkkä (susceptible), herkkyydeltään alentunut (intermediate) vai vastustuskykyinen (resistant). Herkkyysluokkien vastaus annetaan S, I tai R-muodossa. Muut työtavat tulisi kalibroida vastaamaan MIC-menetelmää. (EUCAST 2014; Lappalainen & Vuento s.a.)

Työssämme MIC-määrittäminen tehtiin E-testin (lääkeaineliuskan) avulla. E-testin MIC-tulos on kääntäen verrannollinen bakteerin herkkyteen, mitä pienempi MIC-arvo sitä herkempi bakteeri on antibiootille. Tieto auttaa löytämään potilaalle mahdollisimman optimaalisen hoidon. (Id & Simola 2011, 6 – 7; Lappalainen & Vuento s.a.) Se, mitä antibiootteja halutaan testata, riippuu tutkittavista bakteereista, sillä grampositiivisilla ja -negatiivisilla bakteereilla on erilaiset mikrobilääkkeet perustuen soluseinien rakenteiden eroavaisuuksiin. (Lappalainen & Vuento s.a.)

E-testissä vaikuttava aine diffuntoituu (imeytyy) bakteeriviljelymaljalle. E-testi on muovinen liuska, jonka pohjapuoli on päällystetty gradientilla (pitoisuus muuttuu asteikon mukaan) antibioottipitoisuudella. Steriiliin 0,9 % natriumkloridiin tehdään 0,5 McFarlandin standardiputken mukainen suspensio poimimalla yksittäisiä bakteeripesäkkeitä maljan pinnalta. Pumpulitikku kastetaan bakteerisuspensiossa ja levitetään dreijaamalla bakteeria tasaisesti koko MYH (Müller Hinton) -maljalle. Kefaroliini E-testiliuska asetetaan pinseteillä steriilisti dreijatun maljan pinnalle. Maljat viedään yöksi +35 °C inkubointikaappiin. (Bruin, Ijzerman, Boer, Mouton & Diederer 2012.) E-testi tekee viljelymaljalla olevaan bakteerikasvustoon ellipsin muotoisen estoalueen. MIC-arvo luetaan E-testi liuskan kohdasta, jossa kasvu ja estoraja kohtaavat. Näin saadaan selvitettyä, millainen määrä lääkettä tehoaa bakteeriin. (McGill ym. 2009; Lappalainen & Vuento s.a.)



KUVA 1. Kefaroliini E-testi MYH-maljalla.

5 TYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

Tämän opinnäytetyön tarkoitus on määrittää keftaroliinin MIC-arvot tunnetuilla MRSA-kannoilla *in vitro* -menetelmällä. Opinnäytetyön tavoite oli vahvistaa oletusta uuden lääkeaineen tehokkuudesta kotimaassa esiintyviä MRSA-kantoja vastaan *in vitro* -tutkimuksissa. Aihe opinnäytetyöhön saatiin Mikkelin keskussairaalassa toimivalta ISLAB:n (Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä) aluelaboratoriolta, kliinisen mikrobiologian osaston ylilääkäriltä.

Tarve opinnäytetyöhön syntyi ylilääkärin toiveesta. Kliinisen mikrobiologian laboratoriossa keftaroliini E-testiä oli käytetty rutiinilyössä, mutta laajempaan otokseen E-testiä ei ollut käytetty. Näin ollen laajemman otoksen MIC-arvojen yhteneväisyyttä ja riippuvuussuhteita spa-tyyppien välillä ei ollut aiemmin tutkittu. Opinnäytetyöprosessilla pyrittiin selvittämään juuri tulosten yhteneväisyydet ja riippuvuussuhteet.

6 LUOTETTAVUUS

6.1 Reliabiliteetti

Reliabiliteetti tarkoittaa luotettavuutta ja tulosten tarkkuutta. Tutkimuksen tulokset eivät voi olla satumanvaraisia. Luotettavalta tutkimukselta odotetaan toistettavuutta, milloin tahansa tutkimus tulee pystyä toistamaan samanlaisin tuloksin. Tutkimuksen tekijän tulee olla koko tutkimuksen ajan kriittinen ja tarkka. Virheitä voi sattua monessa eri vaiheessa, tiedon syötössä, keruussa, käsittelyssä tai tuloksien tulkinnassa. Käytettävien analysointimenetelmien tulee olla sellaisia, jotka tutkimuksen tekijä hallitsee ja tulokset täytyy osata tulkita oikein. Otoskoon ollessa liian pieni, tulokset ovat satumanvaraisia. Yksi tutkimus on harvoin riittävä todiste. Luotettavien tulosten saamiseksi kohderyhmän pitää olla tutkittavaa perusjoukkoa edustava. (Heikkilä 2010, 30; Duodecim 2014, 22.)

Luotettavuus on tutkimuksemme tärkeimpiä asioita. Työn tulokset eivät tule pelkästään meidän käyttöömmä vaan artikkelissa otamme selkeästi kantaa tulosten luotettavuuden kautta siihen, että jokaisen rutiinilaboratorion tulisi ottaa keftaroliinin E-testi käyttöön rutiinistyönänsä oheen. Mikäli emme luottaisi tutkimuksessamme saatuihin arvoihin, ei artikkeleita tulisi julkaista. Luotettavuus taattiin siten, että näytteet olivat valmiiksi spa-tyypitettyjä ja varmistettu MRSA-kannoiksi. Lisäksi näytteille oli tehty herkkyysprofiilimäärityksiä, sekä eroteltu kotimaiset ja ulkomaiset kannat. Näytteet ja näiden lähtötiedot oli tarkistettu tilaajan toimesta. Aseptinen omatunto on laadukkaana laboratoriotyön kulmakiviä. Kaikki näytteet, joissa epäiltiin kontaminaatiota tai E-testiliuskan huonosti asettumista käsiteltiin uudelleen. Saadut MIC-arvot tarkistettiin yhteistyössä ylilääkärin kanssa ja tulokset todettiin luotettaviksi.

6.2 Validiteetti

Validiteetti tarkoittaa pätevyyttä, tutkimuksen tulee mitata sitä mitä on tarkoituskin selvittää. Tutkijan täytyy asettaa täsmälliset tavoitteet tutkimukseen, ettei tutkisi vääriä asioita. Validius tarkoittaa systemaattisen virheen puuttumista. Huolellisella suunnittelulla etukäteen varmistetaan tutkimuksen validius, jälkikäteen sitä on haasteellista tarkastella. Edustavan otoksen saaminen edesauttaa validin tutkimuksen toteutumista sekä tiedonkeruun tulee olla tarkoin harkittua. (Heikkilä 2010, 30.) Opin- näytetyöprosessin alussa laadittiin tarkka tutkimussuunnitelma ylilääkärin ohjeistuksella, jolloin syntyi selkeä työn ja tutkimuksen rajaus. Rajauksen avulla teorian tieto oli selkeämpi etsiä laadukkaista kansainvälisistä artikkeleista. Yhtenä osana tutkimussuunnitelmaa tehtiin tarkka suunnitelma käytännönosuuden suorituksesta, jolloin tulevan laboratoriotyöskentelyn teorian ja käytännön vaatimukset olivat selvillä. Tutkimuksessa MIC-arvojen mittaamiseen käytettiin spesifiä E-testiä, jolloin validiteetin vaatimukset täyttyivät.

6.3 Objektiivisuus

Objektiivisuus tarkoittaa puolueettomuutta. Tutkimuksen suorittajan tulee olla puolueeton. Analysointimenetelmien valinnoissa, raportointitavassa ja tutkimusmenetelmän valintaan liittyy tutkimuksen tekijän subjektiiviset valinnat. Huolellisellekin tutkimuksen tekijälle saattaa tulla vahingossa virheitä. Tahallinen tulosten vääristely on kuitenkin anteeksiantamaton rike. Tutkimuksen tulosten tulee olla tutkimuksen tekijästä riippumattomia. (Heikkilä 2010, 31.) Tutkimuksen tulokset luettiin kolmen henkilön toimesta, jolloin kenenkään henkilökohtainen mielipide ei päässyt vaikuttamaan tutkimustulokseen. Näytteet olivat nimettömiä, joten näytettä ei voinut yhdistää potilaaseen. Otoksen näytteet oli valittu työntilaajan toimesta, jolloin opinnäytetyöntekijät eivät voineet vaikuttaa tähän valintamenettelyyn.

6.4 Hyvä tieteellinen käytäntö

Hyvin suoritettussa tutkimuksessa huomioidaan aina hyvä tieteellinen käytäntö. Kysymysten asettelu, tavoitteet, aineiston kerääminen, käsittely ja tulosten esittäminen ei saa loukata tiedeyhteisöä, kohderyhmää eikä hyvää tieteellistä tapaa. Tutkimuksen suorittaja on aina vastuussa tutkimuksessa esiintyneistä valinnoista ja vahingon aiheuttamisesta. Tutkimuksen suorittajan tulee kunnioittaa ja käyttää asianmukaisesti toisten työn tuloksia, sekä toteuttaa työssään yleistä huolellisuutta, tarkkuutta ja rehellisyyttä. (Vilka 2007, 90-91.) . Yliääkärin vaatimuksesta opinnäytetyöntekijöiden tuli perehtyä kattavasti työhön liittyvään teoriaan Käytännön osuutta varten haettiin tutkimuslupaa IS-LAB:lta, sekä osallistuttiin yliääkärin informaatiotilaisuuteen. Näin oltiin selvillä yhteisistä pelisäännöistä tutkimuksen teossa. Hyvään tieteelliseen tapaan tutkimustyössä kuuluu herkkyys eettisten kysymysten suhteen, kun tutkimuksessa käsitellään ihmisperäisiä näytteitä. Eettisyys tässä työssä huomioitiin siten, ettei näytteitä voinut yhdistää potilastietoihin. Maljat nimettiin mikrobiologian työnnumerolla. Näytteet oli kerätty rutiinityön ohessa.

7 TUTKIMUSMENETELMÄ JA –AINEISTO

7.1 Tutkimusmenetelmä

Tutkimusmenetelmänä käytimme kvantitatiivista eli määrällistä tutkimusta. Tutkimusta on kahdentyyppistä; kvalitatiivista ja kvantitatiivista. Kvantitatiivinen analyysi on argumentointia lukujen ja niiden välisten tilastollisten yhteyksien avulla. Aineisto muokataan taulukkomuotoon. Kvantitatiivisen analyysin yleisperiaatetta kuvastaa luonnontieteestä tutut koejärjestelyt. Kontrolloidussa kokeessa lähdetään liikkeelle hypoteesista, jossa riippumaton muuttuja vaikuttaa riippuvaan muuttujaan. Kvantitatiivisessa analyysissä argumentoinnin lähtökohtana on tutkimusyksiköiden välisten erojen etsiminen eri muuttujien suhteen. (Alasuutari 2007, 32, 34) Kvalitatiivisessa eli laadullisessa tutkimuksessa pyritään selittämään käyttäytymisen ja päätösten syitä. (Heikkilä 2010, 16)

Työmme on kvantitatiivinen tutkimus, johon materiaali kerättiin kokeellisen tutkimuksen avulla. Kokeellinen (eksperimentaalinen) tutkimus on kokeellisen tutkimuksen erityismuoto, mikä tutkii tietyn tekijän vaikutusta tutkivaan kohteeseen vakaisissa olosuhteissa. Tämä on paljon käytetty menetelmä lääke- ja luonnontieteissä, mutta se vaatii ammattitaitoa ja kriittisyyttä. Lääkeainetutkimukset suoritetaan usein kokeellisena tutkimuksena. (Heikkilä 2010, 13,15,21) Kvantitatiivista menetelmää suositellaan mm. silloin kun etsitään vastausta seuraavaan kysymykseen: Miten paljon tiettyä ominaisuutta esiintyy tietyssä otoksessa? (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2013, 60.) Tutkimuksessa etsittiin vastausta siihen, onko keftaroliini tehokas *in vitro* -tutkimuksissa MRSA-kantoja vastaan. Tuloksista pyrittiin löytämään myös mahdollisia riippuvuuksia spa-tyyppien ja saatujen keftaroliinin MIC-arvojen väliltä, sekä tarkastelemaan tulosten yhteneväisyyttä.

Tutkimustyön kautta oppija osoittaa kykyä kriittiseen ajatteluun, itsenäiseen työskentelyyn ja analyttiseen ajattelukykyyn. Nämä ominaisuudet ovat uuden tiedon tuottamisen edellytyksenä. Yksi tärkeä tekijä on argumentointi eli kyky pystyä perustelemaan tutkimuksessa ilmi tulleet asiat. Tutkimuksen kirjoittaminen on oppimisprosessi, jossa syvennetään kirjoista opittuja asioita. Argumentointi valmistaa oppijaa työelämään, jossa kannanottojaan täytyy osata perustella ja kritiikkiä on osattava ottaa vastaan. (Estola & Viitanen, 2002). Haasteellisuutta työhömmme lisäsi olemassa olevan aineiston kriittinen tarkastelu, etenkin kun meillä ei ollut käytännöstä kokemusta miten jokin asia oikeasti on. Kesäsijaisuus oli lopputyömme työstämisen välissä, josta saimme lisää itsevarmuutta epäselviin kysymyksiin. Käytimme laajasti eritasoisia lähteitä. Jouduimme monesti kyseenalaistamaan lähteiden luotettavuutta.

7.2 Tutkimusaineisto

Tutkimuksessa näytteitä oli yhteensä neljäkymmentä (40) kappaletta. Näytteet olivat peräisin Mikkelin ISLAB:n rutiinityön ohella löydetyistä MRSA-positiivisista seulonnoista. Tutkimuksessa käytettävät näytteet oli varmistettu MRSA-kannoiksi, spa-tyypitetty, sekä näytteille oli tehty yleisimmät antibioottiherkkyysofiilit ja oksasilliini-MIC. Ennalta määritettyjen herkkyysofiilien ja spa-tyypin avulla syntyvistä keftaroliini MIC-arvoista etsittiin mahdollisia riippuvuussuhteita. MIC-arvojen määrittämisessä näytteistä ei tehty rinnakkaisia näytteitä. Tämä vaati erityistä huolellisuutta tutkimuksessa, koska jokaisen näytteen tuli onnistua kerralla. Kaikki näytteet käsiteltiin samoilla työtavoilla, ja työtavat olivat kliinisen mikrobiologian näyttöön perustuvia menetelmiä, jotka määrää EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ja sen määrittämät perusmenetelmät ovat käytössä kaikissa Euroopan kliinisen mikrobiologian laboratorioissa.

8 TUTKIMUKSEN TOTEUTTAMINEN

8.1 Aloitusvaihe

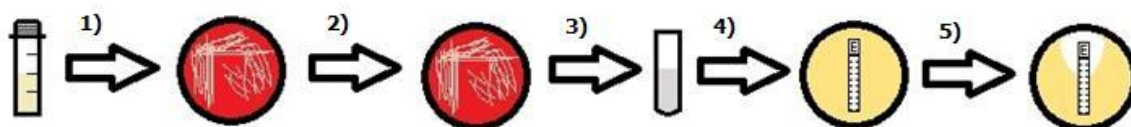
Ensimmäinen vaihe on tutkimusaiheeseen perehtyminen. Meillä työntilaaaja päätti aiheen otsikoimalla tutkimuksemme ja sitä muutettiin hieman työn edetessä, aloitusvaiheessa otsikko oli ”Keftaroliinin ja keftobiprolen MIC-arvojen tarkistus MRSA-kannoilla” mikä muuttui toisen antibiootin puuttuessa ”Keftaroliinin MIC-arvojen määrittäminen MRSA-kannoilla”. Työntekijöiltä vaadittiin alusta asti perusteellista aiheeseen perehtymistä. Otimme selvää kaikesta aiheeseen liittyvästä, pääasiassa kuitenkin hakusanoina olivat MRSA, *mecA*-geeni, MIC-arvo, keftaroliini ja keftobiproli. Käytimme Savonia-ammattikorkeakoulun informaattikkoa apuna erityisesti MIC-arvon kohdalla, joka tuotti hakusanana haasteita. Tutkimusta tehdessä ei kurssikirjatasoinen materiaali osoittautunut riittävän ajankohtaiseksi, jolloin etsimme teoretietoa uusimmista kansainvälisistä artikkeleista.

Opinnäytetyön ja artikkelin kirjoittaminen aloitettiin keväällä 2013 tekemällä aihekuvaus ja aloittamalla teoretiedon keruu, sekä selvittämällä työn laatua ja laajuutta tilaajalta. Seuraavaksi tehtiin tutkimussuunnitelma kevään 2014 aikana, jonka korjauksessa työntilaaajat auttoivat. Tutkimussuunnitelma oli todella suuritöinen, mutta valmis laadukas teksti loi vahvan runko-osan artikkeliin ja opinnäytetyöhön. Tutkimussuunnitelma esitettiin ja hyväksyttiin maaliskuussa 2014.

8.2 Työstämisvaihe

Varsinainen kokeellinen osuus tapahtui keväällä 2014 Mikkelin keskussairaalan mikrobiologian laboratoriossa. Kokeellinen osuus tehtiin huhtikuussa 2014. Työ suoritettiin Mikkelin keskussairaalan kliinisen mikrobiologian osastolla, jossa saimme ammattilaisilta ohjeistuksen työn tekemiseen vaihe vaiheelta. Alapuolella on kaavio työn eri vaiheista. (KUVA 2. Työn suorittamisen kulkukaavio.) Yliääkäri kävi valvomassa tutkimuksemme etenemistä.

Työmenetelmät ovat kliinisen mikrobiologian näyttöön perustuvia menetelmiä (EUCAST). Työ itsessään on kokeellinen tutkimus. Mikkelin aluelaboratorio oli valinnut rutiiniosassa löydettyistä MRSA-kannoista 40 spa-tyypitettyä MRSA-kantaa, joista herkkyysprofiili ja oksasilliini MIC-arvot olivat aikaisemmin tutkittu.



KUVA 2. Työn suorittamisen kulkukaavio.

- 1) Työ aloitettiin elvyttämällä Mikkelin ISLABin säilyttämien MRSA-kannat $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$:n pakkasesta. Pakastetut MRSA-bakteerikannat sulatettiin huoneenlämmössä, jonka jälkeen MRSA-kannat viljeltiin verimaljoille ja niiden annettiin kasvaa yön yli hiilidioksidikaapissa $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kyseinen vaihe oli

tehty mikrobiologian työntekijöiden toimesta, jotta varmistuttiin kantojen elossa olosta ennen varsinaisen työn aloittamista.

- 2) Seuraavaksi MRSA-kannat viljeltiin uudelleen verimaljoille. Tällä varmistettiin kantojen tuoreus ennen E-testin suorittamista. Verimaljat siirrettiin kasvamaan hiilidioksidikaappiin +35°C yön yli.
- 3) Kasvaneilta verimaljoilta otettiin noin 2-3 pesäkettä, joista tehtiin 0,5 McFarlandin vahvuinen suspensio 0,9 % NaCl-liuokseen. Laadukkaan suspension teossa käytimme apuna kaupallista 0,5 McFarlandin suspensiota, jonka avulla tarkistettiin oikean suspension vahvuus.
- 4) 0,5 McFarlandin asteikon mukainen suspensio dreijattiin MYH-maljalle, jonka jälkeen maljalle asetettiin kaupallinen E-testiliuska. Liuskan asettamisen jälkeen maljat siirrettiin kasvamaan lämpökaappiin (+35°C) yön yli.
- 5) Yön yli kasvettuaan maljoilta luettiin E-testien MIC-arvot ylilääkärin avustuksella. Tulokset kirjattiin ylös ja tehtiin Exelille taulukko. Lisäksi laskettiin kaikki työntilaaajan pyytämät suureet: keskiarvo, -hajonta, mediaani, vaihteluväli, sekä pienin ja suurin arvo.

8.3 Viimeistelyvaihe

Aloitimme artikkelin kirjoittamisen tutustumalla Moodi-lehden kirjoitusohjeeseen ja ottamalla yhteyttä lehden päätoimittajaan. Artikkelin kirjoitettiin kahdessa viikossa ja lähetettiin välillä kommentoitavaksi työntilaaajalle. Eniten vaikeuksia tuotti tiedonkeräys EMA:sta (European Medicines Agency), KE-LA:sta (Kansaneläkelaitos) tai Fimea:lta (Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus). Lääkkeen kulutustietoja odotettiin monta kuukautta ja jokaisesta paikasta saimme vastaukseksi tiedon kuuluvan liikesalaisuudeksi. Jouduimme muokkaamaan artikkelia niin, ettei tietoa ollut saatavilla.

8.4 Julkaisuvaihe

Artikkelin julkaisussa käytettiin äidinkielen opettajan ammattitaitoa ja pyydettiin kommentteja lauserakenteista. Tilaaajan suunnittelema ulkoasu oli kuitenkin ratkaisevassa osassa. Moodi-lehden antamat ohjeet lähdeviitteissä erosivat paljon Savonian raportointiohjeista, joten opimme uuden toisenlaisen tavan lähdemerkintöihin. Otimme uudelleen yhteyttä päätoimittajaan ja lähetimme hänelle artikkelin kommentoitavaksi.

9 TUTKIMUSTULOKSET JA TARKASTELO

Tulokset käsiteltiin tilastotieteellisin menetelmin. Kannoista saadut MIC-arvot kirjattiin Excel- taulukkoon, joista laskettiin keskiarvo, -hajonta ja vaihteluväli. Vaihteluvälillä pystymme kuvaamaan pienimmän ja suurimman MIC-arvon sijoittumista. Keskihajonnalla saamme selville kuinka laajasti MIC-arvot eroavat keskiarvosta. Alla olevasta taulukossa (TAULUKKO 1.) nähdään MIC-arvojen olevan pieniä, joka on lääkkeen tehon kannalta hyvä asia.

Neljänkymmenen (40) kannan MIC-arvot olivat kaikilla kannoilla hyvin yhteneväiset, sekä kasvualueen reunat olivat hyvin tarkkarajaiset. MIC-arvojen keskiarvo +/- keskihajonta on 0,56 µg/ml, +/- 0,15; mediaani 0,5 ja vaihteluväli: min 0,25 µg/ml max 1 µg/ml. (Taulukko 1). Tulokset olivat riippumattomia spa-tyypistä ja oksasilliini-MIC-arvoista. Keftaroliini vaikuttaa tehokkaalta antibiootilta *in vitro* -tutkimuksen perusteella.

TAULUKKO 1. Keftaroliinin MIC-arvot MRSA-kannoilla.

Näytenumero	Spa-tyyppi	Oksasilliini-MIC µg/ml	Keftaroliini-MIC µg/ml
1	t321	32	0,50
2	t529	>256	0,50
3	t172	96	0,50
4	t172	48	0,50
5	t4910	2	0,50
6	t321	>256	0,50
7	t121	4	0,50
8	t236	8	0,75
9	t172	>256	0,75
10	t127	12	0,50
11	t1816	1	0,38
12	t293	>256	1,00
13	t172	>256	0,50
14	t529	96	0,50
15	t008	162	0,50
16	t304	32	0,50
17	t172	>256	0,75
18	t024	12	0,25
19	t304	>256	0,50
20	t5483	32	0,38
21	t304	96	0,50
22	t4910	4	0,50
23	t172	16	0,75
24	t044	2	0,50
25	t172	>256	0,75
26	t172	>256	0,75
27	t172	>256	0,75
28	t172	>256	0,75
29	t172	>256	0,75
30	t172	48	0,50
31	t5483	>256	0,50
32	t002	32	0,50
33	t5483	48	0,50
34	t127	12	0,25
35	t008	64	0,75
36	t5483	128	0,50
37	t304	48	0,50
38	t148	>256	0,75
39	t148	256	0,50
40	t148	256	0,50

10 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli määrittää keftaroliinin MIC-arvot (pienin vaikuttava lääkeainepitoisuus) *in vitro* -menetelmällä MRSA-kannoilla. Tutkimuksemme onnistui hyvin lukuun ottamatta toisen testattavan antibiootin puutumista. Tutkimuksemme toteutui eettisestä näkökulmasta hyvin. Potilastiedot pysyivät salaisina eikä tutkimuksesta koitunut kenellekään haittaa. Kontaminaatio oli yksi työn uhka, mutta saimme hyvät ohjeet näytteen aseptiseen viljelyyn. Viljelyt onnistuivat ilman kontaminaatioita. Mikäli tekisimme tutkimuksen uudestaan, haluaisimme enemmän testattavia spa-tyypitettyjä näytteitä, jolloin tutkimuksen luotettavuus nousisi entisestään. Lisäksi tekisimme näytteistä rinnakkaisnäytteet, jolloin mahdolliset virheet huomattaisiin vertailtaessa rinnakkaisnäytteen tuloksia toisiinsa. Näytemäärien kasvaessa olisi mahdollista tarkastella riippuvuussuhteita luotettavammin.

Tutkimuksen tuloksena keftaroliini vaikuttaa tehokkaalta antibiotalta *in vitro* -tutkimuksen perusteella. Tutkimusongelma työssä oli: "Tehoaako keftaroliini MRSA-kantoja vastaan *in vitro*?" . Saimme vastauksen tutkimusongelmaamme: Keftaroliini tehoaa MRSA-kantoja vastaan *in vitro*. Suosittelemme keftaroliini E-testin lisäämistä herkkyysmaljalle MRSA-diagnostiikan rutiinistöitä tehdessä.

Tämä opinnäytetyöprosessi edisti ammatillista kehittymistämme. Tämän työn kautta opimme mukautumaan eri tilanteisiin, ympäristöön ja työtapoihin. Nykyajan kliininen laboratoriotyö on hektistä, joten nopea mukautuminen on työntekijältä melkein jo oletettavaa. Opinnäytetyöprosessi auttoi meitä valmistumaan työelämään, kokemaan millaista on tehdä tutkimusta ja kirjoittaa tieteellistä artikkelia ammattikunnan jäsenille. Etenkin tietoisuus MRSA:sta ja sen ominaisuuksista syveni, mikä auttaa meitä tulevaisuudessa työtehtävissämme.

Käsihygienia on avain-asemassa MRSA-bakteerin leviämisen ehkäisyssä ja ennen kaikkea käsidesin riittävä käyttö jokaisen potilaskontaktin välissä ja osana päivittäistä työtä. Uusille työntekijöille konkreettiset mielikuvat siitä kuinka kauan MRSA-bakteeri elää pinnoilla ovat tarpeen. Henkilökunnan tietoisuudella on valtava merkitys taudin leviämisen torjunnassa ja vierailijoita täytyy ohjata myös oikeaoppisessa käsien desinfiointissa. (Lumio 2013.) Opinnäytetyöprosessin avulla ymmärrämme eristyskäytänteiden merkitykset paremmin.

Tulosten esittäminen on haasteellista kokeellisessa tutkimuksessa, asiat täytyy esitellä lyhyesti, selkeästi, totuudenmukaisesti ja mielenkiintoisesti. Erityisesti artikkelin kirjoitus harjaannutti meitä tieteellisen kirjoittamisen saralla sekä kriittisyys tarjolla olevaan kirjallisuuteen ja omaan kirjoittamiseen lisääntyi. Työ oli kokeellinen tutkimus, jonka kautta opimme mitä on tarkka ja kriittinen työskentely alusta loppuun saakka. Tutkimuksesta saatujen tulosten tilastotieteellinen käsittely ja käsitteet olivat opinnäytetyön tekijöille varsin tuntemattomia, mutta työntilaajan ohjeiden johdolla tulokset saatiin käsiteltyä luotettavasti ja informatiivisesti.

Tavoitteena oli löytää sellainen aihe opinnäytetyöhön, joka kiinnostaisi opinnäytetyön tekijöitä. Näin ison työn tulee olla mielekäs ja samalla varmistetaan oppimisen onnistuminen, kun työtä kohtaan syntyy innostusta. Opinnäytetyön aihe oli ainutlaatuinen, koska vastaavaa laajempaa tutkimusta keftaroliinista ei ollut tehty. Harmiksemme keftobiproliinilla emme saaneet testattavaksi valmistajan tekemän virheen takia. Kyseisestä antibiotalta ei ole E-testin muodossa vielä saatavilla. Ehdotamme seuraavana tutkimusideana vastaavaa MIC-määrittystä keftobiprolella, koska lääkeaine vaikuttaa lupaavalta tulevaisuuden MRSA:n hoidossa.

Opinnäytetyön tuloksena työntilaaja sai teetettyä tutkimuksen, koska heidän omat henkilökuntaresurssit eivät riittäneet tähän. Lisäksi työntilaaja sai selville halutut MIC-arvot, joiden avulla keftaroliini E-testin käyttöä rutiinitutkimusten ohella voidaan suositella muillekin kliinisen mikrobiologian laboratorioille. Työntilaaja hyötyi opinnäytetyöprosessista kustannussäästöjen muodossa, sekä sai halutut tulokset selville luotettavasti.

Opinnäytetyö oli vaativa, mutta palkitseva prosessi. Kiinnitimme tiedon laatuun erittäin paljon huomiota ja käänsimme lukuisia englanninkielisiä artikkeleita tutkimusta varten. Aikaa tämän opinnäytetyön tekemiseen kului enemmän kuin oli tarkoitus, mutta jälki on sitä tasoa mitä halusimmekin. Tutkimuksen tekeminen on haastavaa ja sitä varten täytyy olla suuri kunnianhimo, jolloin pystyy ratkaisemaan eteen tulevat vastoinkäymiset.

LÄHTEET

Alasuutari, P. 2007. *Laadullinen tutkimus*. 6. painos. Tampere: Vastapaino.

Bruin, J. Ijzerman, E. Boer, J. Mouton, J. & Diederens, B. 2012. *Wild-type MIC distribution and epidemiological cut-off values in clinical Legionella pneumophila serogroup 1 isolates* [tieteellinen artikkeli]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 72, 103-108 [viitattu 13.03.2014]. Saatavissa: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.savonia-amk.fi:2048/science/article/pii/S0732889311003762>.

Chahine, E. 2010. *Ceftobiprole: Farewell or just a delay?* [tieteellinen artikkeli]. *American Journal of Health-System Pharmacy* 67, 981 [viitattu 24.03.2014] Saatavissa: <http://web.a.ebscohost.com.ezproxy.savonia-amk.fi/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=d0f77028-3d17-4440-b341-0a87e3cb9f9a%40sessionmgr4001&hid=4109>.

Dauner, D. Nelson, R. & Taketa, D. 2010. *Ceftobiprole: A novel, broad-spectrum cephalosporin with activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus* [tieteellinen artikkeli]. *American Journal of Health-System Pharmacy* 67, 983-993 [viitattu 24.03.2014]. Saatavissa: <http://web.a.ebscohost.com.ezproxy.savonia-amk.fi/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=1bb79546-d296-4954-b157-127c70720cc7%40sessionmgr4003&hid=4109>.

EMA. 2013. *Valmisteyhteenveto keftaroliini* [verkkójulkaisu]. AstraZeneca AB [viitattu 24.04.2013]. Saatavissa: http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2012/20120823123835/anx_123835_fi.pdf.

EUCAST. 2014. *Antimicrobial susceptibility testing* [verkkójulkaisu]. [viitattu 7.3.2.14] Saatavissa: http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/.

Estola, M & Viitanen, J. 2002. *Ohjeita tutkimuksen tekemiseen, opponointiin ja arviointiin* [verkkójulkaisu]. Joensuun yliopisto [viitattu 8.9.2014]. Saatavissa: https://www.uef.fi/documents/16189/1381083/kansis_graduohjeet.pdf/9e2c1984-2cf2-49d0-a9fa-14a57b18bde6.

Farrel, D. Flamm, R. Sader, H. & Jones, R. 2013. *Activity of ceftobiprole against methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains with reduced susceptibility to daptomycin, linezolid or vancomycin, and strains with defined SCCmec types* [tieteellinen artikkeli]. *International Journal of Antimicrobial Agents* 43, 323-327 [viitattu 7.3.2014]. Saatavissa: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857913003890>.

Glad, T., Klingenberg, C., Flægstad, T., Ericson, J. & Olsvik, Ø. 2001. *Rapid detection of the methicillin-resistance gene, mecA, in coagulase-negative Staphylococci* [verkkojulkaisu]. Scandinavian Journal of Infectious Diseases 33, 502-506 [viitattu 11.02.2014]. Saatavissa:

<http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=b2e6c121-d1df-47a0-8f80-f2e543d0043c%40sessionmgr111&hid=122>.

HUSLAB. 2014. *Metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus (MRSA), viljely* [ohjekirja]. Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri [viitattu 29.09.2014]. Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/4358.html>.

Heikkilä, T. 2010. *Tilastollinen tutkimus*. 7-8. painos. Helsinki: Edita.

Id, M. & Simola, E. 2011. *Vaikuttaako suosituksesta poikkeaminen kiekkomenetelmällä suoritettavan antibioottiherkkyyismäärittelyn tulokseen?* [opinnäytetyö]. Helsinki: Metropolia Ammattikorkeakoulu [viitattu 21.1.2014]. Saatavissa:

<http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/34984/oppari.pdf?sequence=1>.

Jaakola, S. Lyytikäinen, O. Rimhanen-Finne, R. Salmenlinna, S. Savolainen-Kopra, C. Pirhonen, J. Vuopio, J. Jalava, J. Toropainen, M. Nohynek, H. Toikkanen, S. Löflund, J-E. Kuusi, M. & Salminen, M. (toim.) *Tartuntataudit Suomessa 2013* [verkkojulkaisu]. Helsinki: Terveyden- ja hyvinvoinninlaitos [viitattu 17.09.2014]. Saatavissa:

http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/116198/URN_ISBN_978-952-302-190-7.pdf?sequence=1.

Järvinen, A. Huovinen, P. & Vaara, M. 2011. *Beetalaktaamit* [tieteellinen artikkeli]. 2014 Kustannus Oy Duodecim [viitattu 17.09.2014]. Saatavissa:

http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/koti?p_artikkeli=isa00802&p_haku=meca.

Kankkunen, P. & Vehviläinen-Julkunen, K. 2013. *Tutkimus hoitotieteessä*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Karhumäki, E. Jonsson, A. & Saros, M. 2009. *Mikrobit hoitotyön haasteena* [viitattu 19.01.2014]. Helsinki: Edita.

Kurki, R. & Pammo, H. 2010. *Tartuntataudit ja hoitotyön osaaminen* [viitattu 19.01.2013]. Helsinki: WSOYpro.

Lappalainen, M. & Vuento, R. s.a. *Mikrobiologinen diagnostiikka* [verkkojulkaisu]. Therapia Fennica [viitattu 21.1.2014]. Saatavissa:

http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=Mikrobiologinen_diagnostiikka.

Lumio, J. 2013. *MRSA (metisilliiniresistentti staphylococcus aureus)* [tieteellinen artikkeli]. 2014 Kustannus Oy Duodecim [viitattu 29.09.2014]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00586.

Lumio, J. 2003. *MRSA – mitä neljä kirjainta saa muuttaa?* [tieteellinen artikkeli]. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim [viitattu 15.05.2014]. Saatavissa: <http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/koti>.

Lyytikäinen, O. Kardén-Lilja, M. Vuopio-Varkila, J. *Avohoidon MRSA:lisiä haasteita torjuntatyöhön.* [verkkojulkaisu]. Kansanterveyslaitos [viitattu 16.09.2014]. Saatavissa: http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/102171/kansanterveys_www.pdf?sequence=1

McGill, K. Kelly, L. Madden, R.H. Moran, L. Carol, C. O'Leary, A. Moore, J.E. McNamara, E. O'Mahony, M. Fanning, S. Whyte, P. 2009. *Comparison of disc diffusion and epsilometer (E-test) testing techniques to determine antimicrobial susceptibility of Campylobacter isolates of food and human clinical origin* [tiedejulkaisu]. Journal of Microbiological Methods 79, 238-241 [viitattu 7.3.2014]. Saatavissa: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701209003042>.

Oksanen, P. Rintala, E. Mastokangas, T. 2011. *MRSA:n seulonta kustannustehokasta hoidon lisäkuluihin verrattuna.* [verkkojulkaisu]. Suomen Lääkärelehti 66, 2949-2953 [viitattu 15.9.2014]. Saatavissa: <http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/koti>.

Salmenlinna, S. Lyytikäinen, O. Kanerva, M. & Vuopio-Varkila, J. 2008. *MRSA:n epidemiologia Suomessa.* Helsinki: Yliopistopaino. Labquality. Moodi. 192. 5. numero.

Reygaert, W. 2009. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Molecular aspects of antimicrobial resistance and virulence.* [tieteellinen artikkeli]. Clinical laboratory science 22, 115-119 [viitattu 22.09.2014]. Saatavissa: <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=98c85f28-74cb-47ae-a0a1-ba4b4040c7a0%40sessionmgr4004&vid=6&hid=4206>.

Saravolatz, L. Stein, G. & Johnson, L. 2011. *Ceftaroline: A Novel Cephalosporin with Activity against Methicillin resistant Staphylococcus aureus* [tieteellinen artikkeli]. Clinical Infectious Diseases 52, 1156-1163 [viitattu 2.2.2014]. Saatavissa: <http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=4&sid=df9058cf-6a14-466d-af3f-bdaac9eb925a%40sessionmgr114&hid=125>.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2014. *MRSA* [verkkojulkaisu]. [viitattu 21.1.2014]. Helsinki. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/mrsa.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2014. *Tartuntatautirekisteri* [verkkosivu]. [viitattu 17.09.2014] Saatavissa: <http://www.thl.fi/fi/web/infektiotaudit/seuranta-ja-epidemiatautirekisteri>.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2013. *Tartuntatautirekisteri* [verkkosivu]. [viitattu 17.09.2014]. Saatavissa: <http://www.thl.fi/fi/web/infektiotaudit/seuranta-ja-epidemiat/tartuntatautirekisteri/mikrobikantakokoelma>.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2013. *Spa-tyypitys* [verkkosivu]. [viitattu 24.02.2014]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/mrsa-laboratoriotutkimukset-spa-tyypitys.

Vilka, H. 2007. *Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet*. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Vuopio, J. 2013. *MRSA* [verkkójulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. Resistentit sairaalabakteerit. [viitattu 16.09.2013]. Saatavissa: http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/koti?p_artikkeli=ykt00009&p_haku=mrsa.

LIITE 1: "KEFTAROLIININ MIC-ARVOJEN MÄÄRITYS MRSA-KANNOILLA" -ARTIKKELI

Toni Ahlqvist ja Karoliina Mykkänen

Savonia-ammattikorkeakoulun valmistuvat bioanalyytikot

Keftaroliinin MIC-arvojen määrittäminen MRSA-kannoilla

MRSA eli metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus*in kyky vastustaa kefalosporiineja on jo maailmanlaajuinen ongelma. Uudet viidennen sukupolven kefalosporiinien johdannaiset, kuten keftaroliini ovat osoittaneet merkittävää tehoa *in vitro* -tutkimuksissa. Suomessa esiintyvillä MRSA-kannoilla tehoa ei ole osoitettu vielä laajamittaisilla tutkimuksilla.

Penisilliini-antibioottia käytettiin ensimmäisen kerran Yhdysvalloissa vuonna 1942 ja sillä huomattiin olevan merkittävä teho grampositiivista *Staphylococcus aureus*:ta vastaan. Antibioottien käyttö loi bakteerille tarpeen muuttua resistentimmäksi. Bakteeri kykenee muuntautumaan vastustuskykyisemmäksi muuttamalla pintaproteiinejaan, jotka estävät antibioottien toiminnan. Erityisen suuri ongelma *S.aureus* -kannoilla on PBP2a (penicillin binding protein) -pintaproteiini, jota koodaa *mecA* -geeni. PBP2a-rakenne estää kefalosporiineihin kuuluvien antibioottien kiinnittymistä bakteeriseinämään, jolloin antibiootti menettää tehonsa. Lääketeollisuus pyrkii siis vastaamaan yhä edelleen resistentimmiksi muuttuviin kantoihin uusilla mikrobilääkkeillä. Markkinoiden uusimmat kefalosporiinien johdannaiset, joilla on hyvä affiniteetti PBP2a-proteiineihin, ovat mm. viidennen sukupolven kefalosporiinit. Eräs sellainen lääke on kauppanimeltään Zinforo® tai Teflaro® (vaikuttava-aine keftaroliini, valmistaja AstraZeneca AB)

Lääkeaineen tarkkoja kulutustietoja ei ole saatavilla. Fimea (lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus) pitää yllä lääkerekisteriä, jossa lääkeaineen käyttö ilmoitetaan kahden desimaalin tarkkuudella muodossa: "DDD/1000as/vrk". Valitettavasti lääkeaineen kulutus on niin vähäistä, ettei tarkkuus riitä sen ilmoittamiseen. Lääkevalmistaja pitää yllä absoluuttisia kulutustietoja, mutta niitä ei luovuteta.

Keftaroliini

Keftaroliini on viidennen sukupolven laajakirjoinen kefalosporiini. Keftaroliinin vaikutusmekanismi perustuu kykyyn sitoutua 1-4 PBP-proteiineihin, erityisen suuri affiniteetti on PBP2a -proteiiniin, jonka koodaa *mecA*-geeni. Tämä geeni on ominainen MRSA-bakteereille. Keftaroliini kykenee näin estämään MRSA-bakteerin solukalvon synteesin, jolloin bakteerin kasvu estyy. Kyky sitoutua tähän MRSA:lle ominaiseen proteiiniin erottaa keftaroliinin edellisen polven kefalosporiiniesta. Keftaroliinin aihiolääke on keftaroliinifosamiili, joka muuttuu aktiiviseksi keftaroliiniksi plasman fosfataasientsyymien vaikutuksesta. EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) on eurooppalainen mikrobilääkeherkkyyttä käsittelevä elin, mikä toteuttaa mm. herkkyysrajojen asettamista. EUCAST:in herkkyystilastojen avulla MIC (Minimal Inhibitory Concentration) -tuloksia on mahdollista vertailla keskenään. *In vitro* -tutkimuksissa EUCAST on määrittänyt keftaroliinin MIC-rajaksi MRSA:lle $\leq 1 \mu\text{g/ml}$. Toistaiseksi kyseisen antibiootin tehoa ei ole testattu laajamittaisesti Suomessa esiintyvillä MRSA-kannoilla.

Menetelmät

Tutkimuksen otoksena oli 40 MRSA-karakterisoitua kantaa, jotka säilytettiin syväjäädä (-80 °C) kliinisen mikrobiologian laboratoriossa (ISLAB, Mikkelin aluelaboratorio). Kannat varmistettiin *mecA*-geeni positiivisiksi, niille on tehty spa-typitys ja tutkittu herkkyysprofiili. Yhden vuorokauden ikäisistä bakteerikannoista tehtiin 0,5 McFarland-standardin mukainen suspensio, joka levitettiin dreijaamalla tasaisesti Müller Hinton-maljoille. E-testiliuskat (BioMérieux) asetettiin steriilisti maljoille, inkuboitiin +35°C lämpökaapissa yön yli ja tulokset luettiin seuraavana päivänä.

Tulokset:

40 kannan MIC-arvot olivat kaikilla kannoilla hyvin yhteneväiset, sekä kasvualueen reunat olivat hyvin tarkkarajaiset (Taulukko 1.). MIC-arvojen keskiarvo +/- keskihajonta on 0,56 µg/ml, +/- 0,15; mediaani 0,5 ja vaihteluväli: min 0,25 µg/ml max 1 µg/ml. Tulokset olivat riippumattomia spa-typistä ja oksasilliini-MIC-arvoista.

Pohdinta:

Tutkimus vahvisti oletusarvoja keftaroliinin *in vitro* tehokkuudesta – lääkeaineelle tuli tuloksena matalat ja yhteneväiset MIC-arvot. Tämän tutkimuksen perusteella suosittelemme keftaroliini E-testin käyttöönottoa laboratoriodiagnostiikkaan MRSA-kantoja tutkittaessa. E-testiliuskat ovat nopeita lisätä herkkyysmaljoille sekä tulokset on helppo lukea muun rutiinityön ohella.

Lämpimät kiitokset:

Kiitämme Mikkelin kliinisen mikrobiologian osaston henkilökuntaa lämminhenkisestä opastuksesta ja työtilojen, sekä ajan järjestämisestä tutkimuksen tekoa varten. Erityiskiitokset haluamme antaa ylilääkäri Tamara Tuumiselle ja mikrobiologi Päivi Suomalalle työmme ohjaamisesta.



Näyttenumero	Spa-tyyppi	Oksasilliini-MIC µg/ml	Keftaroliini-MIC µg/ml
1	t321	32	0,50
2	t529	>256	0,50
3	t172	96	0,50
4	t172	48	0,50
5	t4910	2	0,50
6	t321	>256	0,50
7	t121	4	0,50
8	t236	8	0,75
9	t172	>256	0,75
10	t127	12	0,50
11	t1816	1	0,38
12	t293	>256	1,00
13	t172	>256	0,50
14	t529	96	0,50
15	t008	162	0,50
16	t304	32	0,50
17	t172	>256	0,75
18	t024	12	0,25
19	t304	>256	0,50
20	t5483	32	0,38
21	t304	96	0,50
22	t4910	4	0,50
23	t172	16	0,75
24	t044	2	0,50
25	t172	>256	0,75
26	t172	>256	0,75
27	t172	>256	0,75
28	t172	>256	0,75
29	t172	>256	0,75
30	t172	48	0,50
31	t5483	>256	0,50
32	t002	32	0,50
33	t5483	48	0,50
34	t127	12	0,25
35	t008	64	0,75
36	t5483	128	0,50
37	t304	48	0,50
38	t148	>256	0,75
39	t148	256	0,50
40	t148	256	0,50

LÄHTEET

Reygaerd. W. Focus: methicillin-resistant Staphylococcus [sic] aureus (MRSA). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): molecular aspects of antimicrobial resistance and virulence. *Clinical laboratory science*. 111-114, 2009.

<http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=b4da7c07-393b-4f15-aa36-136dea61a3cb%40sessionmgr4003&vid=1&hid=4214>.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. Kiekkomenetelmää täydentävät menetelmät. THL. 7, 2009.
http://www.thl.fi/attachments/Fire/liite_6_taydentavat_menetelmat.pdf

Veenemans J, Verhulst, van Keulen C P.H.J, Kluytmans J.A.J.W. In vitro activity of ceftaroline against strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from clinical samples in Dutch hospitals. *European society of clinical microbiology and infectious diseases*. 2013.
http://registration.akm.ch/einsicht.php?XNABSTRACT_ID=161917&XNSPRACHE_ID=2&XNKONGRES S_ID=180&XNMASKEN_ID=900#

Oksanen P, Rintala E, Mastokangas T. MRSA:n seulonta kustannustehokasta hoidon lisäkuluihin verrattuna. *Lääkärilehti*. 2011. Saatavissa: <http://www.fimnet.fi.ezproxy.savonia-amk.fi:2048/cgi-cug/brs/artikkeli.cgi?docn=000036410>.

Sariola S. MRSA:n torjunta yritetään yhtenäistää. *Suomen lääkäri-lehti*. 2014.
http://www.laakarilehti.fi/uutinen.html?opcode=show/news_id=14677/type=1

European medicines agency. Valmisteyhteenveto keftaroliini. AstraZeneca AB. 6-8, 2013.
http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2012/20120823123835/anx_123835_fi.pdf.

Saravolatz L, Stein G, Johnson L. Ceftaroline: A Novel Cephalosporin with Activity against Methicillin resistant Staphylococcus aureus. *Clinical Infectious Diseases*. 1156-1163, 2011. Saatavissa: <http://cid.oxfordjournals.org/content/52/9/1156.full.pdf+html?sid=c2f22a20-db52-4e36-9bfc-db74cbf56aa7>

Lumio J. Metisilliini resistentti Staphylococcus Aureus. *Duodecim*. 2013.
http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00586

Oksanen P, Rintala E, Mastokangas T. MRSA:N seulonta kustannustehokkaasti hoidon lisäkuluihin verrattuna. *Lääkärilehti*. 2949-2953, 2011. <http://www.fimnet.fi/cgi-cug/brs/artikkeli.cgi?docn=000036410>

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST. 2013 <http://www.eucast.org/>

Charles M, Grossman MD. The first use of penicillin in the United States. *Annals of Internal Medicine*. 135-136. 2008. <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=7&sid=8342ece2-ed4f-4908-b12e-33b989a2c0df%40sessionmgr4002&hid=4101>