



SAVONIA

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

ACCELERATE PHENO™:N KÄY- TÖN VAIKUTUS VERIVILJELYVAS- TAUSTEN SAAMISEEN.

TEKIJÄ/T: Sanna Uotila

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma/Tutkinto-ohjelma Bioanalytiikan kliinisen asiantuntijan tutkinto-ohjelma			
Työn tekijä(t) Sanna Uotila			
Työn nimi Accelerate Pheno™:n käytön vaikutus veriviljelyvastausten saamiseen.			
Päiväys	4.6.2019	Sivumäärä/Liitteet	50/3
Ohjaaja(t) Yliopettaja Leena Tikka			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Fimlab laboratoriot Oy, Immuno Diagnostics Oy			
<p>Veriviljely on yksi keskeisiä tutkimuksia mikrobiologian laboratoriossa. Nopea bakteerin identifikaatio ja antibiootit herkkyysmäärittäminen auttavat oikean antibiootin valinnassa ja siten helpottavat potilaan nopeaa oikeanlaista hoitoa. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää miten Accelerate Pheno™ nopeuttaisi positiivisten veriviljelytulosten saamista Fimlabin Kanta-Hämeen keskussairaalan yksikössä. Tavoitteena oli nopeuttaa veriviljelyvastausten saamista Kanta-Hämeen keskussairaalaan prosessikokonaisuuden taloudellinen näkökulma huomioiden.</p> <p>Accelerate Pheno™:n antamia tuloksia vertailtiin nyt käytössä oleviin menetelmiin (standard of care, SOC). Tarkastelun kohteena oli Accelerate Pheno™ nopeus sekä sen antamat tulokset; nopeuttaako Accelerate Pheno™:n käyttö veriviljelyvastausten saamista ja ovatko tulokset linjassa perinteisten menetelmien kanssa. Terveystaloudellinen näkökulma haluttiin tuoda mukaan tarkasteluun. Lisäksi Accelerate Pheno™:n toimivuutta testattiin eri kontrollikannoin. Opinnäytetyö on kokeellinen, vertaileva tutkimus, jossa hyödynnetään triangulaatiota. Näyteaineisto kerättiin ja analysoitiin kvantitatiivisesti. Tuloksia vertaillaan tilastollisin keinoin. Kuitenkin terveystaloustieteellinen näkökulma vaatii myös kvalitatiivista otetta. Teoriaosuudessa käsitellään sepsistä ja bakteremiaa, veriviljelyä, bakteerilääkkeitä ja herkkyysmäärittäystä, Accelerate Pheno™ -analyyttia sekä terveystaloustiedettä.</p> <p>Tutkimuksen otokseksi muodostui 22 positiivista veriviljelynäytettä. Näytteiksi valikoitiin Bactec FX veriviljelyautomaatista positiiviset veriviljelyt, joiden positiivisesta hälyttämisestä oli kulunut alle 10 tuntia ja jotka olivat aerobipullossa (BD BACTEC Plus Aerobic/F). Pullosta tehtiin gramvärjäys, jonka perusteella näyte hyväksyttiin otokseen tai hylättiin. Tuloksia vertailtiin Clindex© -ohjelman avulla. Ohjelma määrittää sensitiivisyyden ja spesifisyyden bakteeritunnistukselle, vertaili herkkyystuloksia sekä määrittäisi kulunutta aikaa.</p> <p>Tämän tutkimuksen mukaan Accelerate Pheno™ määrittää bakteeri-identifikaation ja -herkkyysmäärittäksen yhtenäisesti SOC-menetelmien kanssa. Sensitiivisyys bakteeritunnistukselle oli 95.2% ja spesifisyys 100%. MIC herkkyysyhtäpitävyys (EA) oli 100%, tosin näytteitä oli vain yksi. SIR herkkyysyhtäpitävyys (CA) oli 95.5%. Todella merkittäviä virheitä (VME) oli 0% ja merkittäviä virheitä (ME) 3.2%. Merkittävät virheet muodostuivat siitä, että kahdella E.coli näytteellä Amoxicillin-clavuliinihappomäärittäyksessä oli eroavaisuutta Accelerate Pheno™- ja SOC -määritysten välillä.</p> <p>Bakteeri-identifikaation ja herkkyysmäärittäksen saaminen nopeutuu Accelerate Pheno™:llä merkittävästi verrattuna SOC menetelmiin. Mikäli Accelerate Pheno™ olisi käytössä ympärivuorokautisesti ja näytteet määritettäisiin heti positiivisen hälytyksen tultua, tulisi Accelerate Pheno™:n vastaukset keskimäärin 36h36 nopeammin kuin SOC -menetelmien. Kun vertailuun otetaan todelliset ajat tämän tutkimuksen määrittäysaikojen mukaan, saadaan Accelerate Pheno™:lla tulos 33h12min nopeammin kuin SOC -menetelmillä.</p> <p>Terveystaloudellisesta näkökulmasta eniten nopeasta bakteeri- ja herkkyysvastauksesta voisivat hyötyä tehohoitopotilaat, jotka saisivat nopeasti oikean lääkkeen ja laajakirjoiset antibiootit voitaisiin jättää pois. Tällöin hoitoaika voisi lyhetä ja säästöjä syntyisi kalliin hoitoajan lyhentymisellä.</p>			
Avainsanat: Veriviljely, sepsis, bakteremia, herkkyysmäärittäminen, Accelerate Pheno™, terveystaloustiede			

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Master's Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Sanna Uotila			
Title of Thesis The Effect of Accelerate Pheno™ Usage on Receiving Blood Culture Results			
Date	4.6.2019	Pages/Appendices	50/3
Supervisor(s) Principal lecturer Leena Tikka			
Client Organisation /Partners Fimlab laboratories, Immuno Diagnostics Oy			
<p>Blood culture is one of the key assays in the microbiology laboratory. Rapid bacterial identification and antibiotic susceptibility testing help in choosing the right antibiotic treatment and thus enhance patient care. The purpose of this thesis was to find out how Accelerate Pheno™ would accelerate the delivery of positive blood culture results in Fimlab's Kanta-Häme Central Hospital. The aim was to speed up the delivery of blood culture results at Kanta-Häme Central Hospital, taking into account the economic aspect of the process.</p> <p>The results of Accelerate Pheno™ were compared with the methods currently used (standard of care, SOC). The speed of Accelerate Pheno™ and its results were reviewed; does Accelerate Pheno™ speed up receiving blood culture results and are the results in line with traditional methods? The health economics perspective was included in the review. The thesis is an experimental, comparative study that utilizes triangulation. The sample material was collected and analysed quantitatively. The results were compared statistically. However, the health economics perspective also required a qualitative approach. The theory section deals with sepsis and bacteremia, blood culture, antibiotics and sensitivity assay, Accelerate Pheno™ analyser, and health economics.</p> <p>The take of the study consisted of 22 positive blood culture samples. The criteria for sample selection from the Bactec FX blood incubator were: positive aerobic blood cultures bottles (BD BACTEC Plus Aerobic / F), which had less than 10 hours of positive alert. Gram stain was performed and on that basis the sample was accepted or rejected. The results were compared using the Clindex program. The program defined sensitivity and specificity for bacterial detection, compared the sensitivity results and the time consumed for the assays.</p> <p>According to this study, Accelerate Pheno™ determines bacterial identification and sensitivity assays with the same accuracy than SOC methods. Sensitivity to bacterial detection was 95.2% and specificity 100%. The MIC sensitivity consistency (EA) was 100%, although there was only one sample. SIR sensitivity consistency (CA) was 95.5%. Very major errors (VME) were 0% and major errors (ME) of 3.2%. Major errors occurred because there was difference between the Accelerate Pheno™ and SOC assays in the two E. coli samples in the Amoxicillin-clavulin acid assay.</p> <p>Accelerate Pheno™ significantly accelerates bacterial identification and antibiotic sensitivity assays as compared to SOC methods. If Accelerate Pheno™ were used around the clock and samples were determined immediately after a positive alarm, the Accelerate Pheno™ responses would be received in average 36h36 faster than SOC methods. When the actual determination times of this thesis are compared, Accelerate Pheno™:s results are received 33h12min faster than SOC methods.</p> <p>From the health-economical point of view, the most benefit would be brought when treating intensive care patients. Rapid bacteria identification and susceptibility test result could help patients quickly receive the right medicine and broad-spectrum antibiotics could be left out. In this case, the treatment time could be shortened and savings would be made by reducing the costly treatment time.</p>			
Keywords: Blood culture, sepsis, bacteremia, susceptibility testing, Accelerate Pheno™, health economics			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	6
2	SEPSIS JA BAKTEREMIA.....	8
2.1	Bakteremian esiintyvyys ja yleisimmät taudinaiheuttajat.....	9
2.2	Sepsiksen oireet ja kliininen kuva.....	10
2.3	Sepsiksen hoito.....	11
3	VERIVILJELY	12
3.1	Veriviljely näytteenotto.....	12
3.2	Veriviljelyautomaatio.....	12
3.3	Bakteerien tunnistaminen	13
3.3.1	Gramvärjäys	13
3.3.2	Yleisimmät bakteerin identifikaatiomenetelmät.....	14
3.3.3	PCR-menetelmät bakteerien tunnistamisessa ja identifioimisessa	15
4	BAKTEERILÄÄKKEET JA HERKKYYSMÄÄRITYS.....	16
4.1	Mikrobilääkkeiden vaikutustavat ja lääkkeen valinta	16
4.2	Mikrobilääkeresistenssi	17
4.3	Herkkyyismääritysmenetelmät	17
5	ACCELERATE PHENO™ -ANALYSAATTORI POSITIIVISEN VERIVILJELYLÖYDÖKSEN BAKTEERIEN IDENTIFIOINTIIN JA HERKKYYSMÄÄRITYKSEEN	19
6	TERVEYSTALOUSTIEDE TERVEYDENHUOLLON APUNA	21
7	ACCELERATE PHENO™- ANALYSAATTORIIN LIITTYVÄT AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET	23
8	TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSKYSYMYKSET	24
9	TUTKIMUSMENETELMÄT	25
10	TUTKIMUKSEN VALMISTELUT, AINEISTONHAKU JA SUORITUS.....	27
11	TUTKIMUSAINESTON ANALYSOINTI JA JOHTOPÄÄTÖKSET	29
11.1	Identifikaatio- ja herkkyytulokset määritetyistä potilasnäytteistä.....	29
11.1.1	Tutkimuksen grampositiiviset bakteerikannat	31
11.1.2	Tutkimuksen gramnegatiiviset bakteerikannat.....	32
11.1.3	Asetetut tavoitteet ja johtopäätökset potilasnäytteiden analysoinnista	33
11.2	Accelerate Pheno™:lla määritetyt kontrollikannat; tulokset ja johtopäätökset.....	34
11.3	Identifikaatio- ja herkkyyvastauksen saamiseen kuluneen ajan vertailu	36
11.4	Terveystaloudellinen näkökulma Accelerate Pheno™:n käytössä Kanta-Hämeen keskussairaalassa.....	37

12 TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS JA POHDINTA	39
LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT	42
LIITE 1: ACCELERATE PHENO™ IDENTIFIKAATIO- JA HERKKYYSPANEELIT	46
LIITE 2: VERIVILJELYPULLON MUKANA TAMPEREELLE MENNYT LAPPU	47
LIITE 3: ACCELERATE PHENO™ VASTAUSTULOSTE KARBAPENEMAASIA TUOTTAVASTA <i>E.COLI</i> - KANNASTA.....	48

1 JOHDANTO

Veriviljelypositiiviset vakavat yleisinfektiot tuovat taakkaa terveydenhuoltoon lisäämällä kustannuksia ja kuolemanriskiä. Näiden infektioiden ehkäisyyn, varhaiseen toteamiseen ja hoitoon tulisi panostaa entistä enemmän. (Skogberg, Ollgren, Nuorti, Ruutu ja Lyytikäinen 2013.) Veriviljely on yksi tärkeimmistä tutkimuksista mikrobiologian laboratoriossa. Sillä selvitetään, onko potilaalla bakteereja tai hiivoja verenkierrossa ja määritetään antibioottiherkkyys, jolloin voidaan varmistaa, että mikrobiolääkehoito on osuvaa. Verenkierron patogeenien nopea ja tarkka detektio ja identifiointi ovat tärkeää edellytys optimaalisessa sepsis(tehohoito)potilaiden hoidossa. (Murray ja Masur 2012, 1.)

Perinteisesti veriviljelymääritys etenee tiettyjen protokollien mukaan. Ne ovat toisinaan melko aikaa vieviä bakteerin kasvuun vaadittavan ajan vuoksi. Accelerate Pheno™ -analysaattorilla voidaan määrittely tehdä suoraan veriviljelypullosta. Bakteerin identifikaatio saadaan 90 minuutissa ja herkkyys maksimissaan seitsemässä tunnissa. Tämä nopeuttaa vastausten saamista, kun maljaviljelyä ja bakteerin kasvatusta ei tarvitse tehdä. Määritys on yksinkertainen suorittaa, eikä laite vie paljoa tilaa. Yksi määritys on kuitenkin melko hintava, joten saavutettuja hyötyjä tulisi pohtia terveystaloudellisesta näkökulmasta.

Kanta-Hämeen keskussairaalan veriviljelyt tehdään Fimlab laboratoriot Oy:ssä. Näytteenotto ja veriviljelypullojen inkubaatio tapahtuu Hämeenlinnan yksikössä. Positiiviset pullot lähetetään Tampereelle Fimlabin mikrobiologian laboratorioon, jossa niille tehdään identifikaatio ja herkkyysmääritykset. Identifikaatio tapahtuu gramvärjäyksellä ja bakteerin mukaan valittavalla jatkotutkimusprotokollalla (Malditof ja muut menetelmät). Bakteerinherkkyys määritetään kiekko- tai liuskamenetelmällä (e-test). Sekä identifikaatio (värjäystä lukuun ottamatta) että herkkyysmääritys vaativat bakteerin yön yli kasvatuksen.

Opinnäytetyössäni selvitin miten Accelerate Pheno™ nopeuttaisi Fimlabin Kanta-Hämeen keskussairaalan yksikön positiivisten veriviljelytulosten saamista. Pohdin myös Accelerate Pheno™ -analysaattorin hintahyötysuhdetta vastausten saamisen nopeuden ja potilaiden sairaalassaoloajan näkökulmasta. Tämä tarkoitti terveystaloustieteellisen näkökulman huomioimista tulosten tarkastelussa. Työssäni selvitin myös, miten käytännössä laboratoriotyövaiheet toteutettaisiin, jotta Accelerate Pheno™ sulautuisi parhaiten työ"flow"hun. Haastattelin myös Kanta-Hämeen keskussairaalan infektio lääkäriä ja selvitin kliinistä näkökulmaa aiheesta.

Suomessa ei ole Accelerate Pheno™ -analysaattorista tehty julkaistuja tutkimuksia. Laite on ollut koekäytössä ja sen toimivuutta on testattu Suomessa. Tällä opinnäytetyöllä saadaan laitteesta myös suomalainen näkökulma ja miten se soveltuu suomalaiseen laboratoriotöimintaan. Ulkomaisissa tutkimuksissa on selvitetty mm. sitä miten Accelerate Pheno™:n tuoma nopea herkkyysvastaus vaikuttaa potilaan paranemiseen ja kuolleisuuteen. Tutkimuksissa on myös vertailtu Accelerate Pheno™:n tuloksia rutiinimenetelmiin ja sen vaikutusta hoidon laatuun ja turvallisuuteen sekä kustannuksiin on selvitetty. (Pardue 2018; Kidd, Poole, Moore, Petridou, Saeed, Thomas, Cortes ja Hutchinson 2018.)

Bioanalyytikon ja klinisen asiantuntijan työhön tämä opinnäytetyö vaikuttaa siten, että se tuo uuden näkökulman ja menetelmän kehittyvään mikrobiologiseen laboratoriotyöhön. Menetelmä soveltuu päivystyslaboratorioon, joten myös muut kuin mikrobiologian osaajat ovat osa tämän opinnäytetyön kohderyhmästä.

Opinnäytetyössä käytetään termiä SOC (standard of care) puhuttaessa rutiini- tai standardimenetelmistä näytteiden laboratoriomäärityksissä.

2 SEPSIS JA BAKTEREMIA

Sepsis on infektiosta johtuva elimistön tulehduksellinen tila, johon liittyy vaikeissa muodoissa elintointihäiriöitä. Verenkiertoelimistössä ei ole normaaliflooraa. Veri, verisuonet ja sydän ovat normaalisti steriilejä, koska verenkiertoelimistö on suljettu systeemi. Joskus terveelläkin ihmisellä verenkiertoon pääsee bakteereja ja syntyy bakteremia. Bakteerit voivat joutua vereen haavoista, paiseista tai vaikka märkivästä hampaasta. Bakteeri voi päästä verenkiertoon myös sairaalainfektiona esimerkiksi laskimoon laitetusta kanyylista. (Black 2008, 718-719; Käypä hoito -suositus sepsikselle 2014; Lumio 2018; Rintala ja Valtonen 2011, 592.) Taulukossa 1 on esitetty sepsis ja siihen liittyviä tiloja.

Sepsis voi aiheuttaa pitkäaikaista sairastamista, pidentyviä sairaalassaolojaksoja, suuria lisäkustannuksia terveydenhuoltoon ja elämänlaadun huononemista potilailla ja heidän perheillään. Varhain kliinisin perustein I. empiirisesti aloitettu hoito vähentää kuolleisuusriskiä, mutta voi sisältää useita negatiivisia vaikutuksia. Näitä ovat esimerkiksi lääkityksen sivuvaikutukset ja multiresistenttien bakteerien lisääntyminen. Nämä multiresistentit bakteerit ovat erityisesti maailmanlaajuisesti lisääntyneet huolestuttavalla tavalla ja on tiedostettu terveysuhka. Tämä uhka ei hoidu uusia antibiootteja kehittämällä, vaan jotta uusien moniresistenttien bakteerien kehittymiseltä vältytään, tulee antibiootitiherkkyys bakteremian hoitoon saada mahdollisimman pikaisesti klinikkokäyttöön. Silloin saadaan sopiva hoito käyntiin ja turha antibioottien käyttö vähennettyä. (Giordano, Piccoli, Brucculeri ja Barnini 2018, 1.)

TAULUKKO 1. Sepsis ja siihen liittyviä tiloja (mukailtu Rintala ja Valtonen 2011, 593; Lumio 2018).

Tila	Määritelmä
Bakteremia	Eläviä bakteereja veressä; voi olla ohimenevä oireeton, ajoittain oireinen tai jatkuva, joka on käytännössä sama kuin bakterisepsis.
Fungemia	Eläviä sieniä veressä.
SIRS, tulehdusreaktio-oireyhtymä	Kaksi tai useampi seuraavista: <ul style="list-style-type: none"> • Ydinlämpö yli 38 °C tai alle 36 °C • Syketaajuus yli 90/min, hengitystaajuus yli 20/min tai PaCO₂ alle 4,3 kPa • Leukosyyttien määrä yli 12 000 x 10⁶/l tai alle 4 000/mm³ tai sauvatumaisten neutrofiilien osuus yli 10%
Sepsis/septikemia	<u>Perinteinen määritelmä</u> : Bakteereita verenkierrossa, johon liittyy kuume ja muita oireita <u>Uudempi määritelmä</u> : Henkeä uhkaava tila, jossa monen elimen vaurioituminen, olipa bakteereita veressä tai ei.
Vaikea sepsis	Sepsis, johon liittyy elintointihäiriö, hypoperfuusio tai hypotensio. Hypoperfuusio voi ilmetä muttei rajoittua seuraavasti: <ul style="list-style-type: none"> • Laktaattiasidoosi • Oliguria • Akuutti tajunnanhäiriö • Veriviljely voi olla negatiivinen tai positiivinen
Septinen shokki	Sepsiksen aiheuttama hypotensio, joka ei korjaannu asianmukaisella nestehoidolla, ja hypoperfuusion merkit kuten edellä.

2.1 Bakteremian esiintyvyys ja yleisimmät taudinaiheuttajat

Veriviljelypositiivisten potilaiden määrä on puolitoistakertaistunut seitsemässä vuodessa. Löydösmäärien kasvuun on osaltaan vaikuttanut lisääntynyt ja tehostunut veriviljely diagnostiikka. Myös se, että yhä vaikeammin sairaita ja suuremmassa infektioriskissä olevia potilaita (syöpä- ja tehohoitopotilaat) pystytään hoitamaan, lisää bakteremioiden esiintyvyyttä. Eniten bakteremiat ovat lisääntyneet yli 65-vuotiailla. (Lumio 2018.) Taulukossa 2 nähdään kasvava kehitys vuosien 2008 ja 2017 välillä aikuisten kasvavien veriviljelyjen osalta. Taulukosta 3 nähdään, että lapsilla ei vastaavanlaista nousua ole tapahtunut.

TAULUKKO 2. Veriviljelylöydösmäärät työikäisillä ja yli 64-vuotiailla 2008-2017 (mukailtu Jaakola ym. 2018).



Taulukko 3. Veriviljelylöydösmäärät lapsilla 2008-2017 (mukailtu Jaakola ym. 2018).



Suomessa löydetään vuosittain n. 50-100 eri lajin bakteeria. Yleisimmät bakteerit pysyvät vuodesta toiseen samoina. Taulukossa 4 on esitetty vuoden 2017 viisi yleisintä veriviljelyn bakteerilöydöstä määritteen. Taulukosta nähdään, että yleisenä löydöksenä on ihon stafylokokit, jotka ovat lähes aina näytteenoton ihokontaminaatiota, eivätkä siis todellisia taudinaiheuttajia. (Lumio 2018.) Tyypillinen avohoitopotilaan sepsiksen aiheuttaja on pneumokokki, salmonella tai meningokokki. Candida- tai pseudomonas taas aiheuttavat sepsisiä lähes yksinomaan sairaalapotilaille. *Staphylococcus aureus* ja *Escherichia coli* aiheuttavat sepsisiä yhtä usein niin sairaala- kuin avohoitopotilaillekin. (Rintala ja Valtonen 2011, 594.)

Taulukko 4. Vuoden 2017 viisi yleisintä veriviljelyn bakteerilöydöstä (mukailtu Lumio 2018).

Alle 1-vuotiaat (221 kpl)	1-14-vuotiaat (224)	15-64-vuotiaat (5 059)	Yli 65-vuotiaat (11 548)	Kaikki ikäryh- mät huomioi- den (17 052)
Ihon stafylokokit (131)	<i>Staphylococcus aureus</i> (60)	<i>Escherichia coli</i> (1174)	<i>Escherichia coli</i> (4011)	<i>Escherichia coli</i> (5245)
<i>Escherichia coli</i> (38)	Ihon stafylokokit (41)	<i>Staphylococcus aureus</i> (846)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1348)	<i>Staphylococcus aureus</i> (2270)
<i>Staphylococcus aureus</i> (23)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (34)	Ihon stafylokokit (430)	Ihon stafylokokit (815)	Ihon stafylokokit (1377)
<i>Streptococcus agalactiae</i> (49)	<i>Escherichia coli</i> (19)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (341)	<i>Klebsiella</i> -suvun bakteerit (862)	<i>Klebsiella</i> -suvun bakteerit (1082)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (26)	<i>Streptococcus pyogenes</i> (13)	<i>Klebsiella</i> -suvun bakteerit (249)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (436)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (816)

2.2 Sepsiksen oireet ja kliininen kuva

Tyypillisiä vaikean sepsiksen oireita ovat korkea kuume, huono yleistila ja nopea hengitysfrekvenssi (Käypähoito 2014). Sepsiksen kliininen kuva voi olla hyvin monimuotoinen. Oireet voivat olla missä elimessä hyvänsä. Kuume on tyypillisesti nopeasti nouseva horkkamainen, joka nousee ja laskee useamman kerran vuorokaudessa. Potilas voi myös olla kuumeeton. Yleiskunto huononee nopeasti ja se on tärkein piirre, jolla sepsis erotetaan esimerkiksi korkeakuumeisesta influenssasta. Kuume voi puuttua hyvin iäkkäiltä potilailta tai jotakin vakavaa yleissairautta sairastavilta. Näitä ovat esimerkiksi sydämen vajaatoiminta ja uremia. Myös kuumetta alentavat lääkkeet voivat naamioda oireita. Sekavuus on sepsiksen yksi oire ja sitä esiintyy 20% potilaista, eikä se välttämättä merkitse aivo- tai aivokalvontulehdusta. Ikterusta, jota esiintyy sepsispotilailla, aiheuttaa yleensä reaktiivinen kolestaattinen hepatiitti, sappitietulehdus, hemolyyysi, maksapaise tai maksan metastaattinen kasvainpeseke. Sepsikseen voi liittyä myös nivel- ja lihasvaivoja. Iho-oireina voivat olla petekiat, märkärakku-
lat, ecthyma gangrenosum (ihoinfektio) ja erilaiset märkäpesäkkeet sekä nekroottiset ihomuutokset erityisesti varpaissa ja sormissa. Sepsispotilaan ripuli voi aiheutua bakteeritoksiinin erityksestä. Eri-
tyisesti *S. aureus*-sepsiksessä voi muodostua märkäpesäkkeitä mihin tahansa elimeen. (Lumio 2018; Rintala ja Valtonen 2011, 594.)

Sepsiksen oireet johtuvat yleensä elimistön puolustusreaktiosta bakteeria vastaan. Jos taudinaiheuttaja on hyvin virulentti (taudinaiheutuskykyinen), eikä hoitoa aloiteta ajoissa, voi potilaalle muodostua monien elinten vaurio (MOF) elimistön tulehdusvälittäjäaineiden laukaisemana. Sepsis voi olla itsenäinen infektio tai se voi johtua jonkin tietyn elimen bakteeri-infektiosta. Tässä toissijaisessa sepsiksessä vakavat oireet kehittyvät taudin kuluessa ja kehittyvät hitaammin vaarallisiksi. Laboratoriodiagnostiikan avulla tehtävä bakteerintunnistus auttaa arvioimaan mihin elimeen bakteeri-infektio on alun perin syntynyt tai mihin bakteerin toissijaisesti yleensä iskevät. (Lumio 2018.)

2.3 Sepsiksen hoito

Sepsiksen hoito perustuu varhain aloitettuun mikrobilääkehoitoon ja tukihoitoihin, joihin kuuluvat kirurginen hoito, respiraattorihoito, nestehoito ja muu lääkehoito. Sepsiksen mikrobihoito jakaantuu empiiriseen aloitushoitoon ja tarkennettuun jatkohoitoon. (Rintala ja Valtonen 2011, 596.) Aluksi valitaan antibiootti kattamaan laaja joukko tavallisimpia bakteereita. Tähän ensivalintaan vaikuttaa se, missä infektion epäillään olevan. Esimerkiksi jos kyseessä on keuhkokuume, valitaan eri antibiootti kuin munuaisallastulehdukseen. Jos bakteeri sittemmin löytyy verestä, muutetaan antibioottihoitoa tarvittaessa. (Lumio 2018.) Taulukossa 5 on esitetty empiirisen aloitushoidon antibiootit, käypä hoito -suosituksen mukaisesti.

Taulukko 5. Käypähoito -suosituksen mukaiset empiirisen aloitushoidon antibiootit (mukailtu Käypä hoito 2014).

Kliininen alkutilanne tai epäily infektiopesäkkeestä	Mikrobilääke
Perusterveen avohoidossa alkanut sepsis, jonka infektiopesäkkeen sijainti on epäselvä	kefuroksiimi, tarvittaessa fluorokinoloni
Keuhkoperäinen avohoidossa alkanut sepsis	G-penisilliini
Keuhkoperäinen sairaalassa alkanut sepsis	Keftatsidiimi
Aivokalvontulehdus	Keftriaksoni
Virtsaperäinen sepsis	Kefuroksiimi
Sairaalaperäinen sepsis	Keftatsidiimi, piperasilliimi-tatsobaktaami tai karbapeneemi
Vatsansisäinen infektio	Piperasilliini-tatsobaktaami
Nekrotisoiva faskiitti	Imipeneemi tai meropeneemi

3 VERIVILJELY

Veriviljelyllä pyritään selvittämään, onko ihmisen verenkierrassa bakteereita tai hiivoja. Koska veri on normaalisti steriili neste, voi veriviljely tapahtua rikastusviljelyllä. Näyte otetaan suoraan elatusaineeseen, jossa bakteerit pääsevät heti lisääntymään. Rikastus on tarpeen, koska bakteereita voi olla verenkierrassa hyvin pieniä määriä. (Nissinen 2016.)

3.1 Veriviljely näytteenotto

Kaikkia mikrobiologisia näytteitä otettaessa on tärkeää estää kontaminaatiobakteerien siirtyminen näytteenottovälineiden kautta tutkittavaan näytteeseen. Siksi näytteenottovälineillä ei tule koskea tervettä ihoa tai limakalvoa. Näytteet pyritään ottamaan ennen mikrobilääkehoidon aloitusta. Pienikin määrä antibakteerista valmistetta voi estää herkän bakteerin kasvun. Kaikki laboratorionäytteet voivat olla tartuntavaarallisia ja niitä tulee käsitellä ja ne täytyy hävittää asianmukaisesti. Lähetteet täytyy olla huolellisesti täytetty, koska niiden perusteella laboratoriossa luodaan kuva potilaan tilanteesta. (Ylönen 2005, 102.)

Myös veriviljelynäyte pyritään ottamaan ennen mikrobilääkehoidon aloitusta. Näyte voidaan kuitenkin ottaa, vaikka antibiootti olisi jo aloitettu. Yleensä kaksi veriviljelynäytettä ennen antibioottia riittää toteamaan bakteremian. Otettava verimäärä on tärkeä ja siksi kaksi veriviljelyä peräkkäin otettuna on tarkoituksenmukaisin, kun potilaalla on ns. tavallinen septinen infektio eikä epäillä esimerkiksi endokardiittia tai vierasesineinfektiota. Veriviljelyt tulisi ottaa eri pistopaikoista, jotta mahdollinen ihokontaminaatio voitaisiin sulkea pois. Jos tämä ei onnistu näytteenottoteknisesti, veriviljelyt voi ottaa myös samalla pistolla. Näytteitä otetaan yhteensä neljä pulloa. Molemmilla pistoilla otetaan aerobi- ja anaerobipullo, jolloin lopullinen näytemäärä aikuisilla on yhteensä 20 ml verta. Lapsilla otetaan 5ml omaan lasten aerobipulloon ja lisäksi anaerobipullo tarvittaessa. (Fimlab laboratoriot Oy, 2017; Ylönen 2005, 103.)

Näytteenotossa noudatetaan steriiliä tekniikkaa. Sopiva suoni etsitään ja iho puhdistetaan pyyhkimällä pistoskohta A12T:llä tai klooriheksidiinisprillä (Klorhexol®). Ennen näytteenottoa alkoholin annetaan haihtua iholta (30 sek.). Pullojen korkit puhdistetaan samoin. Näyte otetaan siipineulalla, ensin aerobipullo ja sen perään anaerobi. Tällöin minimoidaan riski hapen päätyemisestä anaerobipulloon ja anaerobiset olosuhteet säilyvät edullisina anaerobibakteerin kasvuksi. Näytteet kuljetetaan huoneenlämpöisinä. (Fimlab laboratoriot Oy, 2017; Ylönen 2005, 103.)

3.2 Veriviljelyautomaatio

Näytteenoton jälkeen veriviljelypullot sijoitetaan veriviljelyanalysaattoriin inkuboitumaan. Veriviljelyanalysaattoreiden toiminta perustuu siihen, että mikäli näytepullossa on bakteereita, niistä metaboloituu aineenvaihduntatuotteita viljelymediumiin samalla vapauttaen hiilidioksidia. Näytepullon pohjassa oleva sensori reagoi värimuutoksella hiilidioksidiin. Pohjan fluoresenssiabsorbtio muuttuu ja detektori mittaa fluoresenssin muutosta. Tätä muutosta verrataan etukäteen syötettyihin positiivisen

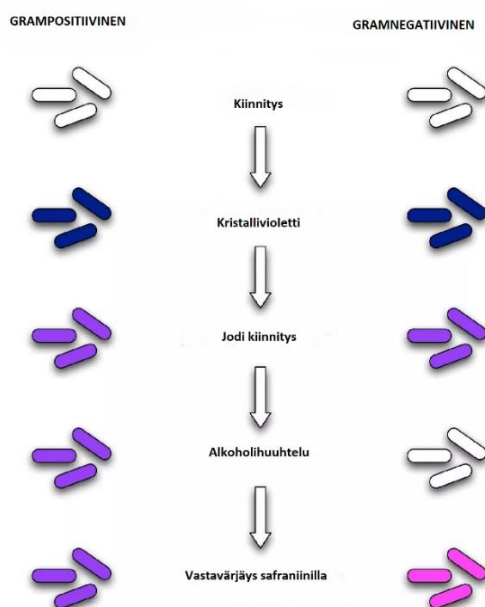
näytteen parametreihin. Kun positiiviset raja-arvot ylittyvät, tulee siitä hälytys laboratoriohenkilökunnalle ja pullosta tehdään jatkotutkimukset. (Bactec FX CLSI 2008.) Negatiiviset veriviljelyt vastataan tavallisesti 5-6 vuorokauden kuluessa näytteenotosta. Positiivisista pulloista vastataan värjäysvastaus mahdollisimman nopeasti pullon hälytettyä positiiviseksi. Herkkyysvastaus ja identifiointi vastataan kahden tai kolmen päivän päästä näytteenotosta. (Fimlab laboratoriot Oy 2017.)

3.3 Bakteerien tunnistaminen

Veriviljelyautomaatilta positiiviseksi hälyttäneestä veriviljelypullosta tehdään perinteisesti gramvärjäys. Näyte viljellään elatusainemaljoille, joita kasvatetaan +35, hiilidioksidikaapissa 18-24 tuntia. Tämän jälkeen maljoilta tehdään erilaisia jatkotutkimuksia bakteerien identifioinniksi. Jatkotutkimukset valitaan usein jo gramvärjäyksen perusteella. Bakteerien luokittelussa voidaan käyttää hyvinkin monimutkaisia testejä. Tunnistuksessa taas pyritään yksinkertaiseen, nopeaan ja toistettavaan menetelmään. (Lindholm ja Eerola 2010, 64.) Seuraavaksi esitellään tarkemmin yleisimmin käytetyt menetelmät bakteerien identifiointiin.

3.3.1 Gramvärjäys

Gramvärjäyksen kehitti tanskalainen lääkäri Hans Christian Joachim Gram jo vuonna 1884 ja menetelmää kehitti saksalainen patologi Carl Weigert. Menetelmässä lasille kiinnitetyt bakteerit värjätään ensin kristallivioletilla ja väri kiinnitetään jodilla. Väri kiinnittyy bakteerin peptidoglykaanikerrokseen. Grampositiivisilla bakteereilla kerros on paksu ja kristallivioletti sitoutuu kerrokseen eikä irtoa siitä alkoholihuuhtelulla. Gramnegatiivisilla bakteereilla peptidoglykaanikerros on ohut ja kristallivioletti-väri liukenee siitä alkoholihuuhtelussa. Tämän jälkeen bakteerit värjätään vielä safraniinilla, joka kiinnittyy bakteereihin värjäten gramnegatiiviset bakteerit punaisiksi. Grampositiivisista bakteereista punainen väri ei näy tummemman sinisen alta. (Meurman 2010; Rissanen 2016, 39.) Gramvärjäyksen periaate on kuvattu kuviossa 1.



Kuvio 1. Gramvärjäyksen periaate (mukailtu Acharya, 2015).

Gramvärjäyksellä on edelleen tärkeä rooli bakteerien nimeämisessä. Vakavissa infektioissa sillä saadaan nopeasti kliinisesti merkittävää tietoa. Usein esimerkiksi likvorin tai positiivisen veriviljelypullon gramvärjäyksestä saatu ensitieto ohjaa antibioottihoitoa. (Rissanen 2016, 40.)

3.3.2 Yleisimmät bakteerin identifikaatiomenetelmät

Muutamia vuosia sitten bakteerien identifikaatiossa otettiin uudeksi menetelmäksi Malditof-menetelmä (Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight -massaspektrometri). Menetelmässä generoidaan bakteerin ominainen proteiinispektri. Tätä spektriä verrataan tietokannassa, kirjastossa oleviin proteiinispektreihin ja erilaisia algoritmeja hyväksikäyttäen saadaan bakteeri-identifikaatio. (Bizzini, Durussel, Bille, Greub ja Prod'hom 2010.) Bakterimassaa laitetaan yhdessä matrix-liuoksen kanssa analysointilevylle (target plate). Levy laitetaan analysaattoriin, jossa määrittäminen tapahtuu. Jokaiselle määritettävälle näytteelle on oma paikkansa ja yhteen levyyn mahtuu 96 näytettä (Biomerieuxin Vitek MS-laite). Yhden näytteen määrittämiseen menee esivalmistelujen jälkeen n. 10-30 minuuttia, riippuen kuinka monta näytettä on samassa ajossa. (Fimlab laboratoriot, 2018.) Malditof-menetelmä on perinteisesti käytettyjä biokemiallisia menetelmiä nopeampi. Itse laite on hintava, ja bakteerien siirrostus näytelevylle vaatii opettelua. Menetelmä vaatii myös bakteerin esikasvatuksen (n. 18-24h) viljelymaljalla. Kasvustossa täytyy olla puhtaita bakteeripesäkkeitä, mistä näytettä saa otettua.

Bakteereita voidaan proteiinispektrin lisäksi tunnistaa myös biokemiallisesti. Biokemiallisia testejä on monenlaisia, joista yleisesti tunnettu on API-menetelmä. Se perustuu testiliuskoihin, joissa on useita reaktiokaivoja bakteerien biokemiallista tunnistusta varten. Bakteeri suspensoidaan liuokseen, jota pipetoidaan näytekaivoihin. Liuskaa inkuboidaan 24-48 h, jonka jälkeen osaan kaivoista lisätään reagensseja. Tämän jälkeen tulos luetaan kaivoissa tapahtuneiden kemiallisten reaktioiden aiheuttamista värimuutoksista. (Kaurisalo ja Nivukoski, 12.) Kromogeeninen malja sisältää elatusainetta, jossa on väriä muodostavia yhdisteitä, eli kromogeeneja. Kasvatuksen aikana maljalla tapahtuu spesifinen entsyymi-substraattireaktio, josta muodostuu värillinen lopputuote. Bakteeripesäke värjäytyy lajille tyypilliseen tapaan, jolloin se voidaan maljalta tunnistaa. Kromogeenistä maljaa voidaan käyttää myös selektiivisenä maljana, kun siihen lisätään esimerkiksi antibiootti. (Kärpänoja 2007, 39.) Veriviljelyissä käytetään kromogeenisia/selektiivisiä maljoja siten, että suoraan positiivisesta veriviljelypullosta viljellään värjäystuloksen perusteella selektiivinen malja. Seuraavana päivänä (tai lyhyemmässä ajassa) saadaan esimerkiksi sappi-eskuliinimaljalta alustava tulos lajitasolle asti. Kromogeeniset ja selektiiviset maljat ovat edullinen, helppo ja nopea menetelmä verrattuna esimerkiksi Malditof- tai API -menetelmiin. Maljat voidaan usein valmistaa itse ja samalle maljalle mahtuu useita näytteitä. Näyte on helppo levittää maljalle.

Laboratorioissa on käytössä myös erilaisia agglutinaatioon perustuvia menetelmiä mm. streptokokkien ja *S. aureuksen* identifiointiin. Streptokokki -agglutinaatiotestit identifioivat beetahemolyyttiset streptokokit A-, B-, C-, D(enterokokit)-, F ja G-ryhmiin. Ne detektoivat ryhmäspesifisiä antigeeneja solun pinnalta. Antigeenit irrotetaan solun pinnoilta ja vasta-aineilla päällystetyt latexpartikkelit ag-

glutinoidaan, jotta saadaan syntymään näkyvä sakka. (Biorad 2018.) Myös *S. aureuksen* identifiointiin käytettävät kitit perustuvat usein agglutinaatioon. Sillä erotetaan *S. aureus* muista stafylokokkeista. Agglutinaatioon perustuvat menetelmät antavat vastauksen nopeasti ja ovat usein yksinkertaisia tehdä.

3.3.3 PCR-menetelmät bakteerien tunnistamisessa ja identifiointisessa

PCR eli polymeerasiketjureaktio (polymerase chain reaction) on in vitro -menetelmä, jossa polymeerasientsyymien avulla monistetaan solun DNA-sekvenssiä kahden nukleotidijärjestykseltään tunnetun DNA-jakson välissä lämpötilan vaihtelua hyväksikäyttäen. Kahdentumisreaktio toistetaan monta kertaa peräkkäin. (Suominen, Pärssinen, Haajanen ja Pelkonen 2013, 153.) PCR on mullistanut näkökulman molekyylibiologiaan. Sen avulla voidaan eristää lähes mikä geeni tahansa mistä organismista hyvänsä. Siitä on tullut genomin sekvensointiprojektien kulmakivi. Sen avulla voidaan luoda diagnostisia testejä geenimutaatioita havainnoimaan. Siitä on tullut osa rutiinilaboratoriodiagnostiikkaa ja markkinoille tulee jatkuvasti uusia yksinkertaisia PCR-menetelmiä hyväksikäyttäviä kittejä. Tämä on tuonut molekyylibiologiset tutkimukset kaikkien laboratorioiden hyödynnettäviksi. (McPherson ja Møller 2006, 1.) PCR on nopea, herkkä ja rikastusviljelystä riippumaton keino mikrobien spesifiseen osoittamiseen näytteestä. PCR:n avulla diagnostiikan piiriin saadaan myös mikrobit, jotka eivät viljelöolosuhteissa kasva. (Ranki-Pesonen, 1994.)

Yksi esimerkki PCR-tekniikkaa hyödyntävistä testimenetelmistä on Abacus Diagnostican GenomEra-laitteisto, jota käytetään esimerkiksi MRSA-diagnostiikassa. Genomerassa kaikki PCR ja rt-PCR reagenssit on valmiiksi kuivattu ja ladattu testi-chippeihin. Se tunnistaa antibiootille (metisilliini) herkän *S. aureuksen* sekä MRSA kannan mec-A tai mec-C -geenin. (Abacusdiagnostic.) Genomeralla voidaan veriviljelyiden osalta varmistaa MRSA-ominaisuus nousseen MRSA-epäilyn jälkeen. Myös muita PCR:n perustuvia menetelmiä bakteerien tunnistukseen on paljon käytössä. Esimerkiksi Cepheidin GenXpertillä voidaan mahdollisista veriviljelylöydöksistä tutkia mm. *S. aureus*/MRSA ja B-ryhmän streptokki (Saha 2018).

Nukleiinihappojen hybridisaatiossa eri lähteistä peräisin olevat tai esimerkiksi kuumentamalla yksinauhaisiksi denaturoidut nukleiinihapot saadaan hybridisoitumaan eli liittymään toisiinsa. Tämä vaatii, että nauhat ovat toisilleen komplementaarisia. Jos toinen nauhoista on leimattu jollakin merkkiaineella, voidaan leimasignaali havaita. Havainnointi tapahtuu esimerkiksi valo- tai värireaktion tai leiman aiheuttaman fluoresenssin perusteella. In situ -hybridisaatiossa leimatuilla RNA-koettimilla (tai DNA-koettimilla) paikallistetaan spesifisiä mRNA:ita tai DNA-alueita. Yleisimmin koettimet leimataan fluoresoivilla merkkiaineilla, jolloin menetelmästä käytetään lyhennystä FISH. Havainnointiin käytetään tavallisesti fluoresenssimikroskooppia tai elektronimikroskooppia. (Suominen, Pärssinen, Haajanen ja Pelkonen 2013, 193, 203.)

4 BAKTEERILÄÄKKEET JA HERKKYYSMÄÄRITYS

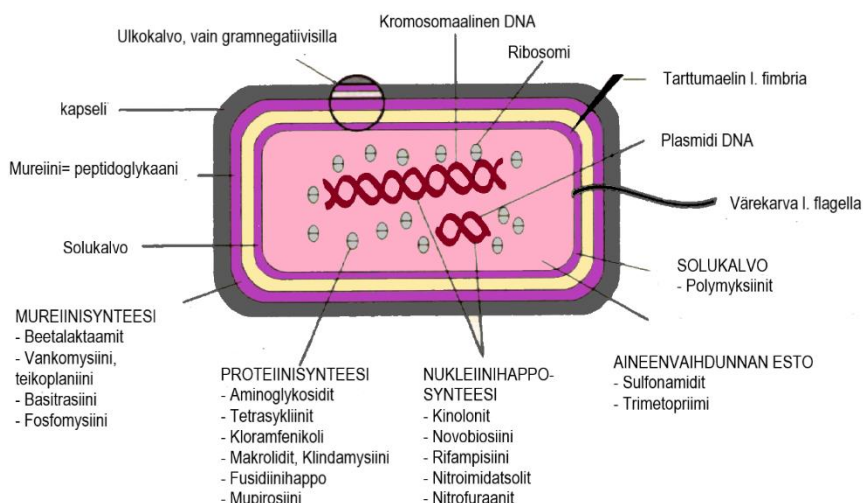
Bakteerilääkkeiden aikakautta on eletty jo yli 80 vuoden ajan. On sanottu, että bakteerilääkkeet ovat lisänneet elinajanodotetta kymmenellä vuodella. Ensimmäinen kliinisesti merkittävä bakteerilääke oli sulfavalmiste Prontosil. Sen ansiosta esimerkiksi aivokalvontulehdukseen kuolleisuus väheni 75%:sta 10%:iin. Sulfan ohella ensimmäisinä antibiootteina oli penisilliini. (Järvinen, Vaara, Huovinen, Liippo ja Vasankari 2011, 112.) Mikrobilääkkeiden myötä, erityisesti kirurgiaa on pystytty kehittämään, koska infektiokomplikaatioita pystytään hoitamaan tehokkaasti (Pastila 2002, 115).

4.1 Mikrobilääkkeiden vaikutustavat ja lääkkeen valinta

Bakteerilääkkeen tulee olla sellainen, että se tuhoaa bakteereja tai estää niiden lisääntymisen sellaisilla pitoisuuksilla, että se ei ole ihmiselle vaarallinen. Tämä selektiivisyys perustuu pro- ja eukaryoottien eroihin solun toiminnassa ja rakenteessa. Useimmat bakteerilääkkeet voidaan jakaa neljään ryhmään vaikutusmekanisminsa perusteella:

1. *bakteerin soluseinän peptidoglykaanisynteesiä estävät aineet*
2. *bakteerin proteiinisynteesin translaatiovaihetta estävät aineet*
3. *bakteerien nukleiinihapposynteesiä estävät aineet*
4. *bakteerin sytoplasmista kalvoa vaurioittavat aineet*

Kuviossa 2 on kuvattu näitä vaikutusmenetelmiä sekä lueteltu eri antibiootteja ryhmistä. (Järvinen ym. 2011, 113-114.)



Kuvio 2. Bakteerilääkkeiden vaikutusmekanismit bakteerisolussa (mukailtu Järvinen ym. 2011, 115).

Mikrobilääke valitaan yleensä potilaan kliinisen tutkimuksen perusteella. Valintaan vaikuttaa epäily infektion sijainnista ja tieto kyseisen infektion tavallisimmista taudinaiheuttajista. Diagnostiikan helpottamiseksi, tulisi välttämättömät mikrobiologiset näytteet ottaa ennen lääkeshoidon aloitusta. Tämä helpottaa diagnostiikkaa. Mikrobilääkettä valitessa tulisi valmiste valita niin, että lääke on tehokas ja turvallinen. Lääkkeen tulisi olla sellainen, että se valikoi mahdollisimman vähän resistenttejä bakteereja. Joskus hoitoa tehostetaan yhdistelmäiläkkeillä. Niiden hyöty perustuu siihen, että hoito tehoaa

mahdollisimman moneen taudinaiheuttajaan, ne lisäävät hoidon tehoa yksittäiseen lääkeresistenttiin bakteeriin tai lääkkeet vähentävät resistenssin kehittymisen mahdollisuutta (tuberkuloosi). (Järvinen ym. 2011, 118-119.)

Gramvärjäyksen perusteella tehtävä jaottelu gramnegatiivisiin ja grampositiivisiin bakteereihin ennustaa osin bakteerin herkkyyttä tai resistenssiä eri antibiooteille. Gramnegatiivisten bakteerien ulkokalvon kemiallinen koostumus hylkii hydrofobisia antibiootteja, kuten erytromysiiniä ja klindamysiiniä. Sen sijaan grampositiivisiin bakteereihin nämä antibiootit tehoavat hyvin, koska niiltä puuttuu ulkokalvo. Gramvärjäytyvyyden ja antibioottiherkkyyden välinen yhteys ei kuitenkaan ole suoraviivainen, vaan herkkyyteen vaikuttaa monet tekijät sekä antibioottimolekyyleissä että bakteereissa. (Risänen 2016, 39-40) Herkkyysmäärittämisellä saadaan lopulta tarkin tieto tehokkaimmasta antibioottilääkkeestä.

4.2 Mikrobilääkeresistenssi

Antibioottiresistentillä tarkoitetaan bakteerien kykyä muuntua vastustuskykyiseksi antibiooteille tai hankkia resistenssiominaisuus. Resistenssin muodostuttua bakteerit pysyvät toiminta- ja lisääntymiskykyisinä antibiootista välittämättä. Resistenssi syntyy bakteerimutaatioiden ja selektiopaineen vuoksi. Kun bakteerin elinympäristöä muokataan antibioottien avulla, jää henkiin resistentiksi muuntuneet bakteerit. (Pastila 2002, 117; Suomalainen lääkärisseura Duodecim ja Suomen Akatemia 1997, 2526.) Sen seurauksena hoidosta tulee tehotonta ja infektio jatkuu kehossa. Samalla riski taudin levittämiseen muihin potilaisiin kasvaa. Uusia resistenssimekanismeja syntyy jatkuvasti maailmanlaajuisesti ja ne uhkaavat keinoja hoitaa infektiosairauksia, mikä johtaa pitkittyneeseen sairastamiseen, työkyvyttömyyteen, vammautumiseen, kuolemaan ja terveydenhuollon kohonneisiin kustannuksiin. Resistenttejä bakteereita löytyy ihmisistä, eläimistä, ruuasta, kasveista ja ympäristöstä. Ne voivat myös siirtyä ekosysteemistä toiseen. Vaikka bakteeriresistenssin esiintyminen on luonnollinen prosessi, nopeuttaa antibioottien liika- ja väärinkäyttö ilmiötä. (World Health Organization 2017, 3.)

4.3 Herkkyysmäärittämenetelmät

Laboratorioissa käytetään erilaisia menetelmiä, joilla bakteerin lääkeherkkyys voidaan todeta. Menetelmät mittaavat sitä mikä pitoisuus lääkeainetta estää bakteerin kasvun. Agardiffuusioon perustavalla gradienttiliuskatestillä saadaan tulokseksi ns. pienin estävä bakteerilääkepitoisuus (minimum inhibitory concentration - MIC). Tulosta voidaan suoraan verrata potilaan kehossa saavutettavaan lääkepitoisuuteen. Kiekkomenetelmä, joka myös perustuu agardiffuusioon, on joustavuuden ja helpouden vuoksi yleinen herkkyysmenetelmä. Siinä bakteerin herkkyys kvantitoidaan estorenkään halkaisijan avulla S (susceptible/herkkä) I (intermediate/välialue) ja R (resistentti). Nämä kiekko SIR-tulokset pohjautuvat saman antibiootin mikrodiluutio-MIC-tuloksiin. (Nissinen 2009, 1-2.) Bakteerimassaa siirrostetaan kasvumaljalta herkkyysputkeen, joka sisältää 0.9% NaCl-liuosta. Vahvuudeksi tehdään 0.5 McFarlandin ympäi I. suspensio. Tämän jälkeen neste siirrostetaan vanupuikon ja dreijan avulla maljalle ja herkkyyskiekot (tai E-testit) asetetaan maljalle. Maljoja kasvatetaan erilaisissa

olosuhteissa bakteerista riippuen. Yleisimmin maljoja inkuboidaan +35 asteessa 16-18 tuntia. (Nissinen 2009, 9-10.)

Mikrodiluutiomenetelmä, joka on myös EUCAST-standardin taustalla, poikkeaa agardiffuusiosta. Yksi kyseistä herkkyysmäärittämismenetelmää hyödyntävä automatisoitu kaupallinen laitteisto on Biomerieuxin Vitek 2. Se on täysautomatisoitu bakteerien ja hiivojen identifiointi- ja herkkyysanalysaattori. Bakteeri-identifikaatio tapahtuu kolorimetrisellä mittauksella ja herkkyysmäärittäminen transmittanssin I. samentuman avulla. AES-tietojärjestelmään, joka on Vitek 2 -analysaattorin sisäinen tietojärjestelmä, on koottu bakteerien herkkyys ja identifikaatiodataa, johon määritykset peilataan. Herkkyystulokset annetaan MIC- ja S-I-R-arvoina. Bakteeri-identifikaatio on valmiina 2-10 tunnissa, riippuen bakteerista ja herkkyysmäärittäminen kestää enintään 18 tuntia. (Järveläinen, Roslund ja Silander 2006, 42-44, 51.) Määritykset suoritetaan niin, että gramvärjäysvastauksen perusteella valitaan oikea testikortti. Bakteerista tehdään oikean vahvuinen suspensio. Laitteeseen syötetään suspensioputki, ID-kortti, herkkyyskortti ja puhdas putki laimennosta varten. (Järveläinen ym. 2006, 53-54.)

5 ACCELERATE PHENO™ -ANALYSAATTORI POSITIIVISEN VERIVILJELYLÖYDÖKSEN BAKTEERIEN IDENTIFIOINTIIN JA HERKKYYSMÄÄRITYKSEEN

Accelerate Pheno™ -analysaattorilla voidaan määrittää sekä bakteerin identifikaatio että kvantitatiivinen antibioottiherkkyys (MIC). Identifikaatio perustuu nukleiinihappo fluoresenssi in situ -hybridisaatioon (FISH). Sillä pystytään samaan aikaan identifioimaan veriviljelyssä olevia useampiakin bakteereja. Se on kehitetty käytettäväksi suoraan positiivisen veriviljelyn bakteerikasvuston tutkimiseen. Sillä myös voidaan määrittää bakteremiaan tavallisimmin liittyvien bakteerien herkkyys. (Accelerate diagnostics 2018, 8-9.)



Kuva 1. Accelerate-työpiste, jossa kaksi analysaattoria ja yksi ohjausyksikkö.

Menetelmässä ATTO-532 (vihreä) fluoresoivalla merkkiaineella leimatut DNA-koettimet sitoutuvat ribosomaaliseen kohde RNA:han permeabilisaation jälkeen. Koetinseoksessa on myös mukana ATTO 647 (punainen) leimattua yleisbakteerikoetinta tai hiivakoetinta, jotka sitoutuvat kaikkien kliinisesti merkittävien bakteerien tai hiivojen ribosomaaliseen RNA:han. Jokainen kuoppa kuvataan fluoresenssi- ja pimeäkenttämikroskopiamenetelmillä tiettyjä filttäreitä käyttäen. Fluoresoivien merkkiaineiden kolokalisaation perusteella patogeeneit voidaan identifioida. Menetelmä antaa myös kvantitatiivisen tuloksen bakteerien määrästä tekemällä nukleiinihappovärjäyksen erillisessä kontrollikuopassa. Tulokset raportoidaan noin 90 minuutissa. (Accelerate diagnostics 2018, 11-12) Liitteessä 1 on Accelerate Pheno™:n bakteeri-identifikaatiopaneeli.

Accelerate Pheno™ -analysaattori herkkyysmäärittäminen tehdään MCA (Morphokinetic Cellular Analysis) -menetelmällä. MCA-menetelmässä tietokone tarkkailee visuaalisesti elävien solujen ja mikrokasvustojen kasvun muutosta ajan kuluessa. Teknologia jäljittää ja analysoi monia morfologisia ja kineettisiä muutoksia vaihtelevissa oloissa. Ennen herkkyysmäärittäystä jäljelle jäänyt näyttemateriaali yhdistetään kasvumediaan ja sille suoritetaan esikasvatus kasvumäärän normalisoinniksi. Solut kvantitoidaan ja tehdään herkkyysmäärittäykseen sopiva laimennos. Sen jälkeen solut kiinnitetään kaivoihin, joihin lisätään antibiootti. Bakteerit kuvataan 10 minuutin välein 4.5 tuntiin asti ja siten saadaan aikajanaalle kuvattua bakteerin kasvu. Tänä aikana morfokineettisiä ominaisuuksia mitataan ja käyte-

tään analyysiin. Laitteen algoritmit antavat MIC-arvon ja SIR tulkin. Herkkyystulokset raportoidaan n. 5 tunnin kuluttua identifiointin jälkeen. (Accelerate diagnostics 2018, 12-13.) Liitteessä 1 on Accelerate Pheno™:n herkkyyspaneelit.

Streptokokeille ei Accelerate Pheno™:lla ole herkkyyspaneelia, koska streptokokit ovat hidaskasvuisia ja herkkyysmääritys ei tällöin ole luotettava lyhyessä kasvatusajassa. Tarkimman identifiointin streptokokeista Accelerate Pheno™ antaa *Streptococcus agalactiae*. Streptokokkilajiksi (*Streptococcus* sp.) se tunnistaa seuraavat bakteerit: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gallolyticus* ja *Streptococcus pneumoniae*. (Accelerate diagnostics 2018, 9.) Tulevaisuudessa kehitellään myös identifiointia *Streptococcus pneumoniae*lle. Enterokokkilajiksi Accelerate Pheno™ tunnistaa kaikki muut enterokokit paitsi *Enterococcus faecalis*, jonka se nimeää lajitasolle asti. Muut enterokokit se nimeää *Enterococcus faecium*iksi. Gramnegatiivisista sauvabakteereista tarkimmin Accelerate Pheno™ identifioi *E. coli*, *Serratia Marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Acinetobacter baumannii*. Lajitasolle Accelerate Pheno™ tunnistaa *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* ja *Citrobacter*. Hiivoista Accelerate Pheno™ tunnistaa *Candida albicans* ja *Candida glabrata*. (Accelerate diagnostics 2017.)

6 TERVEYSTALOUSTIEDE TERVEYDENHUOLLON APUNA

Terveydenhuollon kustannukset ovat kohonneet muutamassa vuosikymmenessä ennen näkemättömällä tavalla. Tämä yhdessä talouskasvun kanssa tulisi nähdä positiivisena asiana; rahankäyttö terveydenhuoltoon tulisi lisätä yleistä terveyden paranemista. Samaan aikaan terveydenhuollossa kuitenkin vaatimukset nousevat. Terveydenhuollon voimavarat eivät riitä kohtaamaan kaikkia terveydenhuollon tarpeita. Tämä tarkoittaa, että kaikkia vaadittavia toimia ei tehdä, vaan terveyteen liittyvät valinnat ovat väistämättömiä. Taloustiede on tiedettä valintojen tekemisestä. Terveystaloustieteessä niukkoja resursseja koitetaan jakaa järkevästi eri terveyspalveluille. Se antaa kehykset, joiden mukaan voimavaroja priorisoidaan. Terveystaloustiede antaa erilaisia välineitä, jotta voidaan tehdä mahdollisimman tehokkaita ratkaisuja terveyden näkökulmasta. (Cohen 2008, 322-323, 342.)

Terveystaloustiede soveltaa taloustiedettä terveyden alueelle. Sen tavoitteena on selvittää, miten voimavarat voitaisiin kohdentaa ja käyttää niin, että saataisiin mahdollisimman paljon terveyttä. Terveydenhuollosta pyritään saamaan mahdollisimman tehokas oikeudenmukaisuus- ja jakautumatavoitteiden raameissa. Terveystaloudessa ei pyritä terveyteen hinnalla millä hyvänsä. Toisaalta siinä pyritään kustannusten leikkaamiseen ja säästämiseen ainoastaan tehokkuuden lisäämisen keinona. (Sintonen ja Pekurinen 2006, 10-12.) Terveystaloustieteessä tutkitaan yksilöiden, organisaatioiden ja yhteiskuntien toimintaa ja tekemiä valintoja palveluiden tuottamisessa ja kuluttamisessa (Nevala 2018, 2).

Tehokkuus

Tehokkuus tarkoittaa sitä, että resursseista saatu hyöty maksimoidaan. Mahdollisimman paljon terveyttä saadaan tarjolla olevista resursseista. Tehokkuus ei kuitenkaan ole tärkein tekijä päätöksenteossa terveydenhuollossa. (Cohen 2008, 332.) Tehokkuuden ajattelumallissa terveydenhuollossa perimmäinen tarkoitus ei ole tuottaa mahdollisimman paljon palveluita annetuilla voimavaroilla. Tärkeintä on se, millainen terveydellinen muutos niillä saadaan aikaan. Tehokkuuden käsite sekoitetaan usein tuottavuuden kanssa, mutta ne tarkoittavat hieman eri asioita. Tuottavuus voi olla hyvä, vaikka tehokkuus olisi huono. Tällainen tilanne on, kun vaikuttavuus on huono. Tai jos vaikuttavuus on hyvä, voi tehokkuus olla huono. Tämä silloin kun kustannukset ovat korkeat. (Sintonen ja Pekurinen 2006, 55.)

Vaikuttavuus

Vaikuttavuudella tarkastellaan suoritteiden/resurssien ja vaikutusten välistä suhdetta. Se kertoo, miten paljon terveyshyötyjä saavutetaan milläkin euromäärällä. (Lillrank, Kujala ja Parvinen, 2004, 20 ja 107.) Suoritteita/tuotteita voivat olla esimerkiksi toimenpiteet, hoitopäivät, lääkärikäynnit, leikkaukset, rokotukset, tutkimukset tai näiden yhdistelmät, kuten hoitokaksot. Näillä suoritteilla on vaikutusta ihmisen terveydentilaan. Sitä vaikutusta kutsutaan vaikuttavuudeksi. Toiminnan vaikuttavuus on se nettomuutos (terveydenhuollossa muutos terveydentilassa), joka on toiminnan ansiota. (Sintonen ja Pekurinen 2006, 53.)

Tuottavuus

Tuottavuus mittaa resurssien ja suoritteiden välistä suhdetta. Siinä arvioidaan millä tehokkuudella järjestelmä muuttaa panoksia tuotoksiksi. (Lillrank ym., 2004, 20.) Tuottavuuteen keskittyvä lähestymistapa tarkastelee terveydenhuoltoa palveluntarjoana. Mielenkiinto kohdistuu terveydenhuollon voimavaroilla tuotettujen palvelujen määrään ja siinä tapahtuviin muutoksiin. (Sintonen ja Pekurinen 2006, 54.)

7 ACCELERATE PHENO™- ANALYSAATTORIIN LIITTYVÄT AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET

Ulkomailla on Accelerate Pheno™-analyssaattorista tehty julkaisuja. Marshall ym. vertailivat tutkimuksessa Accelerate Pheno™:n antamia tuloksia perinteisiin menetelmiin. Otantana oli 115 gram-negatiivista bakteeria sisältävää veriviljelynäytettä. Accelerate tunnisti 88.7% kaikista bakteereista ja 97.1% niistä bakteereista, jotka kuuluvat Accelerate Pheno™:n tutkimuspaneeliin. Herkkyysmäärittämissä vastaavuus oli 96.4% (Marschal, Bachmaier, Autenrieth, Oberhettinger, Willman ja Silke 2017, 2116.)

Augustan yliopistollisessa sairaalassa tehtiin tapaustutkimus, jossa selvitettiin nopean veriviljelyvastauksen saamisen vaikutusta potilaiden elinajanodotteeseen. Tutkimuksen alustavat tulokset kertovat, että strategia, jossa panostetaan antibioottihoitoon ja nopeaan bakteerin identifikaatioon sekä herkkyysmäärittämiseen, vähentää huomattavasti paranemisaikaa ja kuolleisuutta, kun samanaikaisesti toteutetaan laadukasta hoitotyötä. (Pardue 2018, 1.)

Hampshiren sairaalassa tehdyssä tutkimuksessa otantajoukkona oli 172 septistä potilasta. Tavoitteena oli selvittää nopean bakteeri-identifikaation ja herkkyysvastauksen kliinistä vaikutusta. Siinä vertailtiin Accelerate Pheno™:n antamia tuloksia Vitek 2-analyssaattorin antamaan identifikaatioon ja kiekkoherkkyysmenetelmään. Tulosten julkaisemisen aikaan oli 106:n potilaan tilaa selvitetty. Accelerate Pheno™:n antamien tulosten perusteella 31 potilaan hoitoa optimoitiin, 19 potilaan kokonaisantibioottihoitoa vähennettiin, 16 potilaan antibioottihoitoa rajattiin vähempään kirjoon antibiootteja, yhdeksällä vaihdettiin IV-hoito suun kautta annettaviin antibiootteihin ja 12:lla infektiota kontrolloitiin. Tutkimuksen johtopäätöksenä oli, että Accelerate Pheno™:sta on eniten kliinistä hyötyä sellaisten patogeenien kohdalla, joiden antibioottivaste on vaihteleva. Potilas ja terveydenhuolto hyötyvät mm. siitä, että hoidon laatu ja potilaan turvallisuus sekä antibiootti- ja infektioiden hoito tehostuu ilman, että kustannukset välttämättä kasvavat. (Kidd ym. 2018.)

Memphisissä Yhdysvalloissa tehtiin lasten syöpäosastolla tutkimus, jossa Accelerate Pheno™:n antamia tuloksia verrattiin SOC fenotyyppitysmenetelmiin. Accelerate Pheno™:n sensitiivisyys oli 91.2% ja spesifisyys 100% bakteerin sukutasolle. Herkkydessä keskiarvo yhtenevälle herkkyydelle oli 91.2-91.8% riippuen SIR raja-arvoista. Accelerate Pheno™ vaati keskimäärin 1.4 tuntia identifikaatiomäärittämiseen, kun SOC 32.5 tuntia. Herkkyysmäärittäminen Accelerate Pheno™:lla kesti 6.6 tuntia ja SOC menetelmillä 46.7 tuntia. Päättelmänä oli, että identifikaatio ja herkkyys ovat hyvin tarkkoja, ja ajan lyhentymisellä voi olla merkittäviä vaikutuksia potilaiden hoidossa. (Brazelton de Cárdenas ym. 2017, 52.)

8 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSKYSYMYKSET

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää miten Accelerate Pheno™ nopeuttaisi positiivisten veriviljelytulosten saamista Fimlabin Kanta-Hämeen keskussairaalan yksikössä sekä vertailla nykyistä menetelmää Accelerate Pheno™:n antamiin tuloksiin.

Opinnäytetyön tavoitteena oli nopeuttaa veriviljelyvastausten saamista KHKS:ssa prosessikokonaisuuden taloudellinen näkökulma huomioiden.

Tutkimuskysymyksiä oli kolme

- Kuinka luotettavia ovat Accelerate Pheno™:n tulokset perinteisiin identifikaatio- ja herkkyysmäärittelyihin verrattuna?
- Kuinka paljon Accelerate Pheno™ nopeuttaa veriviljelyvastausten saamista?
- Millaista terveystaloudellista merkitystä Accelerate Pheno™ -analysaattorin käytöllä olisi Kanta-Hämeen keskussairaallalle.

9 TUTKIMUSMENETELMÄT

Tutkimusmenetelmät ovat tapoja ja menetelmiä, joilla havaintoja kerätään. Menetelmä on sääntöjen ohjaama menettelytapa, jonka avulla tietoa etsitään ja käytännön ongelmia pyritään ratkaisemaan. Menetelmä valitaan sen mukaan, minkälaista tietoa etsitään ja keneltä tai mistä sitä etsitään. (Hirsjärvi, Remes ja Sajavaara 2009, 183-184.)

Tutkimusstrategia on tutkimusten menetelmällisten ratkaisujen kokonaisuus, josta on erotettava tutkimusmetodi suppeampana käsitteenä. Näiden valinta riippuu valitusta tutkimustehtävästä tai tutkimuksen ongelmista. (Hirsjärvi ym. 2009, 132.) Perinteisesti on eroteltu kolme tutkimusstrategiaa.

1. Kokeellisessa tutkimuksessa mitataan yhden käsiteltävän muuttujan vaikutusta toiseen muuttajaan.
2. Survey-tutkimuksessa tietoa kerätään joukolta ihmisiä.
3. Tapaustutkimus l. case study. Siinä yksityiskohtaista tietoa kerätään yksittäisestä tapauksesta tai pienestä joukosta toisiinsa suhteessa olevia tapauksia. (Hirsjärvi ym. 2009, 134.)

Tämä opinnäytetyö on kokeellinen tutkimus. Siinä tutkitaan miten Accelerate Pheno™ soveltuu veriviljelyanalytiikkaan Kanta-Hämeen keskussairaalan Fimlabin yksikössä. Laitteen käyttöä testataan määrittämällä sillä potilasnäytteitä vakioiduissa olosuhteissa. Työ on myös vertailevaa tutkimusta, sillä siinä vertaillaan kahden eri menetelmän (SOC ja Accelerate Pheno™) antamia tuloksia keskenään. Myös vastauksen saamiseen kulunutta aikaa vertaillaan.

Tutkimuksen strategian ja metodin mukaan löydetään lähestymistapa, joka sopii parhaiten tutkimukselle. Näitä ovat kvantitatiivinen, kvalitatiivinen ja näiden sekoitus "mixed". (Creswell 2003, 18.) Kvantitatiivinen analysointi tapahtuu lukujen ja niiden välisten systemaattisten ja tilastollisten yhteyksien avulla. Aineisto saatetaan taulukkomuotoon ja kullekin tutkimusyksikölle annetaan arvoja eri muuttujilla. (Alasuutari 2011, 34.) Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkittavan ominaisuuden mittaamisessa käytetään välimatka- tai suhdeasteikkoa. Kysymyksiin "mikä?", "missä?", "kuinka usein?" ja "kuinka paljon?", pyritään löytämään vastaukset. Tutkimusaineistot ovat usein suuria. (Holopainen ja Pulkkinen 2008, 21.) Kvalitatiiviset tutkimukset liittyvät esimerkiksi sosiaali-, käyttäytymis- ja kasvatustieteisiin sekä ekologiaan, markkinointiin ja terveydenhuoltoon. Tutkimuksilla pyritään saamaan vastaus kysymyksiin "miksi?", "miten?" ja "millainen?". Tutkimusaineistot ovat usein suppeita. (Holopainen ja Pulkkinen 2008, 20-21) Tutkittavaa kohdetta pyritään tutkimaan mahdollisimman kokonaisvaltaisesti. Kvalitatiivisessa tutkimuksessa pikemminkin yritetään löytää tai paljastaa tosiasioita, kuin todentaa jo olemassa olevia väittämiä. (Hirsjärvi ym. 2009, 161)

Monialaisessa tutkimushankkeessa voidaan käyttää triangulaatiota eli monimetodista lähestymistapaa. Se tarkoittaa, että tutkimuksessa yhdistetään erilaisia tutkimusmetodeja, tutkimusaineistoja, lähestymistapoja tai tutkijoita. Triangulaation tavoite on lisätä tutkimuksen kattavuutta. Laadullista l. kvalitatiivista tutkimusta yhdistetään kvantitatiivisen l. määrällisen tutkimuksen alkuvaiheeseen, jotta saadaan kattavampi mittaristo tutkittavasta ilmiöstä. (Vilkkä 2005, 53-54.) Tässä opinnäytetyössä hyödynnetään triangulaatiota. Näyteaineisto kerätään ja analysoidaan kvantitatiivisesti. Niitä myös

vertaillaan tilastollisin keinoin. Kuitenkin terveystaloustieteellinen näkökulma vaatii myös kvalitatiivisia elementtejä.

Tutkimuksessa kiinnitetään huomio tiettyyn kohteeseen; perusjoukkoon eli populaatioon. Kokonaistutkimuksessa perusjoukon jokainen otantayksikkö otetaan tarkasteltavaksi. Toisena vaihtoehtona vain osaa perusjoukosta tarkastellaan. Tällöin ajatellaan, että tämä osa kuvastaisi koko perusjoukkoa pienoiskoossa. Näitä tutkimuksia ovat otantatutkimukset. Perusjoukon tietyt kriteerit täyttävä osajoukko on nimeltään otos. (Holopainen ja Pulkkinen 2008, 29)

Tutkimus aloitettiin yksinkertaisella satunnaisotannalla, jossa kaikki positiiviset veriviljelyt, jotka täyttivät kriteerit (alle 10 tuntia hälytyksestä, aerobipullo, ei rinnakkaisnäyte) otettiin mukaan tutkimukseen. Kun näytteitä alettiin valikoida tutkimukseen gramvärjäyksen perusteella, voidaan ajatella, että kyseessä oli ositettu otanta.

10 TUTKIMUKSEN VALMISTELUT, AINEISTONHAKU JA SUORITUS

Opinnäytetyön idea saatiin Immuno Diagnostic Oy:ltä. Accelerate Pheno™ on uusi laite Suomessa ja sen testaukseen oli kiinnostusta. Fimlab laboratoriot Oy kiinnostui aiheesta ja tutkimuksen suorituksista sovittiin yhteistyössä Immuno Diagnostic Oy:n ja Fimlab laboratoriot Oy:n kanssa. Opinnäytetyöstä informoitiin sekä Hämeenlinnan laboratorion että Tampereen bakteriologian henkilöstöä sähköpostitse. Lisäksi Hämeenlinnassa pidettiin infotilaisuus, jossa esiteltiin tutkimussuunnitelma ja vastattiin kysymyksiin.

Aineiston haussa käytettiin Savonian ja Hämeen ammattikorkeakoulun Finna-hakukonetta. Näistä löydettiin teoriatietoa kirjastoista ja e-artikkeleita. Chinal Complete -tietokannasta haettiin mm. kansainvälisiä artikkeleita. Myös Terveystietä, Pubmedia, Googlea ja Google Scholaria käytettiin tutkimuksen edetessä haettaessa lisää tietoa löytyneiden artikkelien täydentämiseen. Suurin osa Accelerate Pheno™:sta tehdyistä julkaisuista saatiin sähköpostitse laitteen edustajilta. Hakusanoina käytettiin "blood culture", "bakteremia", "sepsis", "septicemia", "antibiotic sensitivity", "antimicrobial resistance", "terveystaloustiede".

Tutkimus suoritettiin Fimlab laboratoriot Oy:n Kanta-Hämeen keskussairaalan yksikössä 25.6.-14.9.2018 välisenä aikana. Potilasnäytteet määritettiin aamuisin ennen kuin niitä lähetettiin Tampereelle jatkotutkimuksiin. Bactec FX veriviljelyautomaatista poimittiin kaikki positiiviset veriviljelyt, jotka olivat aerobipullossa (BD BACTEC Plus Aerobic/F) ja niiden positiivisesta hälyttämisestä oli kulunut alle 10 tuntia. Positiivisista veriviljelypulloista tehtiin gramvärjäys, jonka perusteella valittiin näytteet tutkimukseen. Yleensä pulloja oli vain muutama, mutta toisinaan gramvärjäystuloksen perusteella valikoitiin näytteet tutkimukseen. Veriviljelypullot, joista tehtiin Accelerate Pheno™-määritys, lähetettiin Tampereelle herkkyysmääritystä ja SOC-määritystä varten. Laitteen omat kontrolliajot suoritettiin kahden viikon välein.

Accelerate Pheno™ -määritys eteni seuraavanlaisesti

1. Näytekasetin kyvetti, elatusmalja ja eppendorf-putket näytteen pakastamista varten numeroitiin.
2. Veriviljelypulloa vortexoitiin 20 sekuntia 45 asteen kulmassa.
3. Veriviljelypullon suu puhdistettiin 70% alkoholilla.
4. Näytettä aspiroitiin veriviljelypullosta neulan ja ruiskun avulla ja laitettiin 600 µl:aa näytekasetin kyvettiin.
5. Kaksi tippaa laitettiin verimaljalle ja n. 2 ml eppendorf-putkiin, jotka pakastettiin mahdollista myöhempää tarkastelua varten.
6. Näytekasetti toimitettiin välittömästi Accelerate Pheno™:lle määritykseen.

Veriviljelypulloihin liitettiin lomake (Liite 2.), joihin Tampereella merkattiin tietoja näytteen tutkimisesta, mm kellonaikoja herkkyden ja vastausten valmistumisesta. Pullot lähetettiin Tampereelle, jossa ne tutkittiin perinteisin menetelmin riippuen bakteerilöydöksestä. Accelerate Pheno™:n oma kontrolli ajettiin kahden viikon välein. Kontrollikannat (*E.coli*, *E.faecalis*, *S.aureus* ja *Pseudomonas*

aeruginosa) otettiin pakkasesta ja viljeltiin verimaljoille, joita kasvatettiin yön yli hiilidioksidikaapissa. Seuraavana päivänä maljalta tehtiin puhdasviljelmä, jota kasvatettiin taas yön yli. Tästä puhdasviljelmästä tehtiin kontrollimääritys siten, että kontrollibakteereja laimennettiin Accelerate Pheno™:n kontrolleille tarkoitettuun suspensioliemeen 0.5 McFarlandin vahvuiseksi ympiksi. Näitä ymppejä pipoitettiin niille määrättyihin kuoppiin 0.6 ml ja kasetti laitettiin Accelerate Pheno™ analysaattoriin. Analysaattorista valittiin oma QC paneeli.

Opinnäytetyöni otos muodostui positiivisista veriviljelynäytteistä. Näytteeksi valittiin yön aikana positiiviseksi tulleet näytteet. Näytteiden piti olla sellaisia, joiden hälytyksestä on kulunut alle 10 tuntia, koska Accelerate Pheno™:n menetelmä on validoitu sellaisille näytteille. Samalta potilaalta tulevia rinnakkaisnäytteitä ei analysoitu. Näytteeksi valittiin aerobipullo, jotta vältetään anaerobibakteereilta, joita menetelmä ei tunnista. Näytteet analysoitiin aamulla. Näytteitä voitiin määrittää vain kaksi kappaletta vuorokaudessa, koska analysointiyksiköitä oli käytössä kaksi. Otantaan poimittiin näytteitä gramvärjäyksen perusteella, jotta varmistuttiin, että kaikki näytteet eivät sisällä samaa bakteeriryhmää. Etukäteen ei pystytty tarkalleen määrittämään mitä bakteereja tutkimukseen valikoituu, vaan se riippui täysin näytemateriaalista. Lopulta otoksen kooksi muodostui 22 näytettä

Fimlabin Hämeenlinnan yksikössä on omat Bactec FX veriviljelyinkubaattorit. Veriviljelynäytteen kulku ja työvaiheet kuvataan seuraavassa.

Osastot tekevät näytteenottopyynnön, jonka jälkeen Fimlabin työntekijä ottaa veriviljelynäytteen. Näyte toimitetaan laboratorioon ja laitetaan veriviljelyinkubaattoriin. Aamuisin ja työtilanteeseen sopien myös iltpäivisin otetaan positiiviset näytteet jatkokäsittelyyn. Aamuisin vastataan myös negatiiviset näytteet. Positiiviset näytteet kirjataan koneelle ja ne lähetetään Tampereelle herkkyyttä ja identifikaatiota varten. Tampereelle toimitetaan hoitavan yksikön yhteystiedot. Tässä vaiheessa soitetaan infektiolääkärille, että veriviljelypullo on hälyttänyt ja että se lähetetään Tampereelle jatkotutkimuksiin. Jos näyte tulee aamulla positiiviseksi, lähtee kuljetus Tampereelle kello kymmenen. Iltpäivällä kuljetukset lähtevät klo 13 ja 16. Illalla tai yöaikaan ei veriviljelyautomaatista oteta positiivisia jatkokäsittelyyn vaan ne käsitellään seuraavana aamuna.

Kun positiivinen näyte saapuu Tampereelle, tehdään siitä värjäys, herkkyys ja muut jatkotutkimukset. Mikrobiologian lääkäri soittaa gramvärjäystuloksen hoitavaan yksikköön, jolloin antibioottihoitoa voidaan tarvittaessa vaihtaa tai aloittaa. Yleensä aamulla positiiviseksi tulleen näytteen värjäystulos soitetaan hoitavaan yksikköön kello 13-15 välillä. Herkkyys ja identifikaatio vastataan seuraavana aamuna koneelle. Jos kyseessä on jokin harvinaisempi tai hidaskasvuinen patogeeni, kuluu lajitunnistukseen ja herkkyyden määrittämiseen pidempi aika.

11 TUTKIMUSAINEISTON ANALYSOINTI JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Tutkimustulokset koostuivat neljästä eri osa-alueesta. Ensimmäisenä tutkittavana kohteena oli Accelerate Pheno™:lla määritetyt potilasnäytteet. Accelerate Pheno™:n antamia bakteerin identifikaatio- sekä herkkyysmäärittystuloksia vertailtiin SOC menetelmillä saatuihin tuloksiin. Toisena kohteena olivat laboratorion omat kontrollikannat, joiden määrittystuloksia vertailtiin potilasnäytteiden tapaan. Kolmantena asiana vertailtiin keskenään aikaa, joka kului potilastuloksen saamiseen Accelerate Pheno™:lla tai SOC menetelmillä. Neljäntenä asiana pohdittiin terveystaloudellista näkökulmaa sekä sitä, miten Accelerate Pheno™ soveltuisi työpisteelle Hämeenlinnassa.

11.1 Identifikaatio- ja herkkyystulokset määritetyistä potilasnäytteistä

Tutkimukseen valittiin positiivisista veriviljelynäytteistä ne, joiden inkubaatioaika positiivisesta hälytyksestä on alle 10 tuntia ja jotka kasvoivat aerobipullossa. Accelerate Pheno™:n antamia identifikaatio- ja herkkyystuloksia vertailtiin Fimlabin standardimenetelmiin. Kaikki otokseen tulleet mikrobit olivat sellaisia, joiden identifikaatio tehtiin malditof-menetelmällä. Herkkyudet määritettiin kiekko- ja E-testi menetelmillä. Tutkimuksen otos oli 22 näytettä (23 mikrobia). Joitakin näytteitä hylättiin mm. sen vuoksi, että ne olivat niin sanottuja vanhoja positiivisia ja niistä oli tehty jo määritykset aikaisemmista näytteistä. Tähän tutkimukseen haluttiin vain näytteet, joista tehdään määritykset samasta näytepullostasta myös perinteisillä (SOC) menetelmillä. Taulukossa 4. (s.30) on löydösvastaukset. Otokseen osui yksi hiiva, *Candida glabrata*. SOC ja Accelerate Pheno™ tunnistivat sen yhteneväisesti. Bakteerikannat käsitellään omissa kappaleissaan.

Taulukko 4. Potilasnäytelöydökset SOC:lla ja Accelerate Pheno™:llä määritettynä.

Tutkimusnumero	Mikrobi ID SOC menetelmällä	Mikrobi ID Acceleratella	kommentit	Otettu mukaan	ei otettu mukaan
29	<i>Lactobacillus sp.</i>	-	Vanha positiivinen		x
30	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>		x	
34	<i>Str. salivarius</i>	<i>Streptococcus spp.</i>		x	
35	<i>Str. dysgalactiae</i> , G-ryhmä	<i>Streptococcus spp.</i>		x	
36	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		x	
37	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>		x	
39	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>		x	
40	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	Vanha positiivinen		x
42	<i>Bacteroides thetaiotamicron</i>	ei tulosta	anaerobipullo		x
43	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella spp.</i>		x	
44	<i>Streptococcus milleri</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	Vanha positiivinen		x
45	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> / <i>Streptococcus spp.</i>		x	
46	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Proteus spp</i>		x	
47	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>		x	
51	Streptokokki ryhmä G	<i>Streptococcus spp.</i>		x	
52	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida glabrata</i> , koagulaasi negatiivinen staphylokokki	Accelerate huomautus: Liian vähän soluja.	x	
53	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>		x	
54	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter spp</i>		x	
55	Streptokokki ryhmä G	<i>Streptococcus spp.</i>		x	
56	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		x	
57	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	Arterianäyte, ei herkkyyttä ACC	x	
58	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>		x	
59	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus spp.</i>		x	
64	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>		x	
66	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>		x	
69	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ei herkkyyttä ACC	x	

Tutkimustulokset analysoitiin Clindex[®] ohjelmalla. Clindex[®] on erityisesti kliinisiin tutkimuksiin suunniteltu integroitu ohjelma Fortress medicalilta. Siinä yhdistyy kliinisen datan käsittely (Clinical Data Management System CDMS), kliinisen tutkimuksen käsittely (Clinical Trial Management System, CTMS) ja elektronisen datan tallentaminen (Electronic Data Capture System, EDC) samaan järjestelmään. (Fortress medical 2018.)

11.1.1 Tutkimuksen grampositiiviset bakteerikannat

Tutkimukseen valikoiduista näytteistä grampositiivisia löydöksiä oli 11 kappaletta. Streptokokkeja oli seitsemän kappaletta. Accelerate Pheno™ tunnisti kaikki määritetyt streptokokit. Streptokokki lajiksi se tunnisti: *Streptococcus salivariuksen*, *Streptococcus dysgalactiaen* (=streptokokki ryhmä G), kaksi streptokokki ryhmä G:tä sekä *Streptococcus pneumoniaen*. Otannan ulkopuolelta se tunnisti myös *Streptococcus millerin*, mutta määitykset (SOC/Accelerate Pheno™) oli tehty eri pulloista, eikä näytettä sen takia otettu mukaan tilastolliseen tarkasteluun. *Streptococcus agalactiaen* Accelerate Pheno™ tunnisti oikein.

Enterokokkeja potilasnäyteotokseen osui kaksi. Molemmat olivat *Enterococcus faecalis* ja Accelerate Pheno™ tunnisti ne oikein. Herkkyysmäärittäminen näyttöellä numero 66 täysin oikein. Näytteen 36 kohdalla Accelerate Pheno™ ei antanut vankomysiiniherkkyysvastausta. Accelerate Pheno™ määrittää vankomysiinin aina kahdelta kanavalta ja näillä kanavilla oli eroavaisuutta näytteen 36 kohdalla (Domingues ja Cecchini 2018). Taulukossa 5 on enterokokki- ja staphylokokkinäytteiden herkkyysmäärittäytulokset. Näkyvissä on vain ne antibiootit, jotka on määritetty molemmilla menetelmillä. (Accelerate diagnostics 2017.)

Staphylokokkeja otokseen osui kolme; kaksi *Staphylococcus aureusta* ja yksi *Staphylococcus capitis*. Accelerate Pheno™ tunnisti onnistuneesti mikrobit *S. aureukseksi* ja *Staphylococcus SP:ksi* (SOC: *Staphylococcus capitis*). Toisen *S. aureuksen* herkkyys onnistui, mutta kahden muun (Näytteet 57 ja 69) stafylokokin herkkyyttä ei Accelerate Pheno™ tehnyt. Molemmissa näytteissä oli liikaa taustaa FISH-vaiheessa, eikä herkkyystulosta olisi voitu luotettavasti antaa.

Taulukko 5. Enterokokkien ja staphylokokkien herkkyysmäärittäytulokset.

Näyte nro	löydös	AMP		VAN		FOX**		ERY		SXT	
		SOC	*ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC
36	<i>Enterococcus faecalis</i>	S	S	S	N/A						
56	<i>Staphylococcus aureus</i>			S***	S	S	NEG	S	S	S	S
66	<i>Enterococcus faecalis</i>	S	S	S	S						

* Accelerate Pheno™

** Käytetään seulomaan MRSA näytteitä

*** Ei kasvanyt Vancomycin-maljalla

AMP=Ampicillin

VAN=Vancomysin

FOX=Kefoxitiini

ERY=Erytromysiini

SXT= Sulphatrimetopriimi

11.1.2 Tutkimuksen gramnegatiiviset bakteerikannat

Gramnegatiivisia bakteereita löytyi Accelerate Pheno™:llä kymmenen. Näytteessä numero 46 oli neljä gramnegatiivista bakteeria, joista Accelerate Pheno™ tunnisti kaksi. Kaikki neljä bakteeria kyllä löytyivät paneelista, mutta Accelerate Pheno™ ei pysty tunnistamaan kuin kaksi samaan bakteeriryhmään kuuluvaa bakteeria samalla määrittelyllä. Muut gramnegatiiviset saivat Accelerate Pheno™ tunnisti oikein. Herkkyysmääritykset menivät pääosin oikein. Näytteiden 37 ja 58 kohdilla Amoxisilliini-klavuliinihappo -yhdistelmä määritettiin Accelerate Pheno™:llä resistentiksi, mutta SOC määrittely jäi herkäksi. Taulukossa 6 on gramnegatiivisten bakteerien herkkyysmäärittelytulokset. Tuumennettulla näkyy poikkeavuudet. Näyte numero 52 sisälsi *Klebsiella pneumoniae* bakteeria, jota Accelerate Pheno™ ei tunnistanut. Kyseessä oli niukka löydös gramvärjäyksen perusteella. Accelerate Pheno™ antoi vastaukseksi *Candida albicans*, *Candida glabrata* ja koagulaasi negatiivinen staphylokokki. Huomautukseksi Accelerate Pheno™ ilmoitti, että näytteessä on liian vähän soluja positiiviseen identifiointiin.

Taulukko 6. Gramnegatiivisten bakteerien herkkyysmäärittelytulokset.

näyte	löydös	ACL		CTA		CTX		CXM		**CIP LEF		MEM		PTZ		TOB		SXT	
		SOC	*ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC	SOC	ACC
30	<i>E.coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
37	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
39	<i>E.coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
46	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
47	<i>E.coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
53	<i>E.coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
54	<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R	R	R	R			S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
58	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

* Accelerate Pheno™

**SOC: LEV, ACC: CIP

ACL=Amoxisilliini-klavuliinihappo

CTA=Keftazidiimi

CTX=Keftriaxone

CXM=Cefuroxiimi

CIP=Ciprofloksasiini

LEF=Levofloksasiini

MEM=Meropeneemi

PTZ=Piperasilliini-Tazobaktaami

TOB=Tobramysiini

SXT=Sulpha-trimetopriimi

11.1.3 Asetetut tavoitteet ja johtopäätökset potilasnäytteiden analysoinnista

Standardi ISO 20776 kertoo hyväksyttävät kriteerit herkkyysmenetelmälaitteille. Standardi määrittelee, miten laitteiden evaluaatio tulisi hoitaa. (International standard 2007,1.) ISO standardiin 20776 perustuvien ohjeiden mukaan luotiin seuraavat tavoitteet:

- Sensitiivisyys [overall ID sensitivity] eli herkkyys bakteeritunnistukselle >90%. Tällä tarkoitetaan tässä tutkimuksessa sitä, että testi on positiivinen, kun organismia on todellisuudessa läsnä. Se on testin kyky arvioida potilaan tauti (bakteremia). Jos testi ei havaitse organismia, potilaan hoito ei välttämättä ole asianmukaista.
- Spesifisyys [overall ID specificity] eli tarkkuus bakteeritunnistukselle >90%. Tässä spesifisyydellä tarkoitetaan sitä, että testi on negatiivinen, kun organismia ei todellisuudessakaan ole läsnä. Sillä todetaan, että potilaalla ei ole tautia (bakteremia).
- MIC-herkkyysyhtäpitävyys, [Overall Essential Agreement (EA)] > 90%. Tämä EA lasketaan kaavalla: näytteet, joiden MIC-arvot ovat +/- 2 sisällä / kokonaisnäytemäärällä.
- SIR-herkkyysyhtäpitävyys, [Overall Categorical Agreement (CA)] > 90%. Tämä CA lasketaan kaavalla: näytteet, joiden uudella ja vanhalla menetelmällä määritetyt SIR-arvot yhtenevät / kokonaisnäytemäärällä.
- Todella merkittävät virheet, [Very Major Error (VME)] = <3%. Kun uusi menetelmä antaa herkkyudeksi S (sensitiivinen) ja vanha menetelmä R (resistentti).
- Merkittävät virheet, [Major Error (ME)] = <3%. Kuun uusi menetelmä antaa herkkyudeksi R ja vanha menetelmä S. (Cecchini 2019.)

Clindex-ohjelmalla tehtyjen analyysien pohjalta sensitiivisyys bakteeritunnistukselle oli 95.2%, mikä on asetetussa >90%:n tavoitteessa. Ainoastaan näyte 52, jäi Accelerate Pheno™:lle tunnistamatta, koska siinä oli vähän soluja. SOC menetelmillä bakteeri havainnoitiin. Spesifisyys bakteeritunnistukselle oli 100%. Accelerate Pheno™ tunnisti myös Streptokokki ryhmä G:n sekä *Streptococcus salivarius* *Streptococcus sp.*:ksi, vaikka ne eivät kuulu Accelerate Pheno™:n tunnistuspaneeliin. Accelerate Pheno™ tunnistaa siis yhtä luotettavasti tai lähes yhtä luotettavasti tunnistuspaneeliin kuuluvat mikrobit kuin SOC -menetelmä. SOC -menetelmällä saadaan kuitenkin tarkempi nimi monille bakteereille.

SIR herkkyysmääritykset olivat yhtenevät (CA) 95.5%:ssa määrittäviä. Kahdessa *E.coli* -näytteessä (no 37 ja 58) Amoksisilliini-klavuliinihappo (ACL) määrittäminen oli eriävä, kuten aiemmin mainittu. Näistä johtuen, merkittäviä virheitä (ME) oli 3.2%, eikä asetettuun 3%:n tavoitteeseen aivan päästy. Huomioon on kuitenkin syytä ottaa se, että näytteen 58 kohdalla SOC menetelmän ACL-herkkyden mm-rajaa (20mm) on todella lähellä resistentin rajaa (R<19mm). Näytteellä 37 SOC menetelmän ACL

mm raja oli 21. Toisena eräväisyytenä oli myös aiemmin mainittu *Enterococcus faecalis* -näyte, jonka vankomysiiniherkkyyttä Accelerate Pheno™ ei pystynyt määrittämään. MIC-määrittämisä tehtiin vain yksi ja se meni oikein, joten EA=100%. Accelerate Pheno™:n herkkyysmäärittäminen on siis saman suuntainen kuin SOC-menetelmä. Tässä tutkimuksessa ei oteta kantaa siihen, kumpi erävästä herkkyystuloksesta on oikea. Siihen olisi täytynyt käyttää vain tunnettuja kontrollikantoja.

Tulosten perusteella Accelerate Pheno™:lla on riittävä sensitiivisyys ja spesifisyys mikrobien tunnistamiseen ja herkkyysmäärittäysten antamiseen. Taulukossa 7 on yhteenveto luvuista.

Taulukko 7. Yhteenveto tuloksista. Suluissa tavoite.

Sensitiivisyys bakteeritunnistukselle	95.2% (>90%)
Spesifisyys bakteeritunnistukselle	100% (>90%)
EA (=MIC herkkyysyhtäpitävyys)	100% (>90%)
CA (=SIR herkkyysyhtäpitävyys)	95,5%(>90%)
VME (todella merkittävät virheet)	0% (<3%)
ME (merkittävät virheet)	3.2% (<3%)

11.2 Accelerate Pheno™:lla määritetyt kontrollikannat; tulokset ja johtopäätökset

Potilastulosten lisäksi haluttiin Accelerate Pheno™:n toimivuutta testata myös erilaisilla kontrollikannoilla. Kyseessä on Fimlab laboratorioden omat potilasnäytteistä eristetyt tai laaduntarkkailuun käytettävät kontrollikannat. Koska herkkyysmäärittämisä ei tehty samasta veriviljelypullosta Accelerate Pheno™:lla ja SOC-menetelmillä, ei herkkyystuloksia verrattu muuten kuin suuntaa-antavasti.

Pseudomonas aeruginosa näytteen Accelerate Pheno™ tunnisti ja herkkyysvastaukset olivat yhtenevät SOC -menetelmien kanssa. Amikasin, Ceftazidime, Siprofloksasin/levofloksasin, Meropenem, Piperasillin-tazobaktaami sekä Tobramysiini olivat herkkiä (S). Aztreonam oli intermediate (I) eli antibiootti herkkyys on hieman alentunut.

Kontrollikantoihin valittiin myös kaksi *E. coli* -bakteeria. Toinen oli karbapenemaasia tuottava ja toinen ESBL-kanta. Karbapenemaasia tuottavalla kannalla tunnistus ja herkkyysmenetelmien kanssa. Accelerate Pheno™ myös antoi huomautuksia herkkyysmäärittämisestä karbapenemaasin tuotosta. Liitteessä 3 on Accelerate Pheno™:n antama vastaustuloste edellä mainitusta kannasta. *E.coli*-ESBL-kannan tarkkaa herkkyysvertailua ei tehdä, koska herkkyysmäärittäminen tehtiin eri sukupolven kannasta. Accelerate Pheno™ kuitenkin tunnisti kannan ESBL:ksi ja antoi kuviossa 3 (s.35) näkyvät huomiot.

Kuvio 3. Accelerate Pheno™:n antamat ESBL-näytteen huomiot.

NOTES

AIM¹: Sample positive for only one target identification probe. Alternate testing method unlikely to identify additional bacteria or yeast. [A-086]
AIM²: Aminoglycoside breakpoints are based on once-daily administration of high aminoglycoside dosages. [E-058]
AIM³: Enterobacteriaceae are a poor target for therapy with cefazolin. [E-048]
AIM⁴: Confirm cefepime susceptible results for <i>Escherichia coli</i> with an alternate method if critical to patient care. [A-107]
AIM⁵: Most 3rd/4th generation cephalosporin/aztreonam resistance in <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> and <i>Klebsiella</i> spp. is due to ESBLs and encompasses all cephalosporin analogues. Resistance can also be due to plasmid mediated AmpC (or up-regulated chromosomal AmpC in <i>E. coli</i>) in which case cefepime commonly remains active. May be of epidemiological concern. Confirm ID and susceptibility if uncommon in your institution. Check with infection control. [A-007]
AIM⁶: This strain may be an ESBL producer. Penicillin/beta-lactamase inhibitor combinations with susceptible results may have uncertain therapeutic outcomes for infections other than urinary tract infections based on a few case reports or on experimental models. [E-005]
AIM⁷: For Enterobacteriaceae, ceftriaxone SIR classification can be used to predict cefotaxime classification. [A-040]

Johtopäätöksenä voidaan todeta, että Accelerate Pheno™ tunnisti *P. aeruginosa*-bakteerin sekä ESBL ja karbapenemaasia tuottavat *E.coli*-kannat.

Grampositiivisiksi kannoiksi valittiin *E. faecalis* (VRE-kanta), ja kaksi *S. aureus*-kantaa, joista toinen oli MRSA-kanta. Accelerate Pheno™ tunnisti sekä VRE että MRSA ominaisuudet. Kuvioissa 4 ja 5 (s.36) on Accelerate Pheno™:n antamat huomautukset. Toisen ns. herkän *S. aureuksen* herkkyysolivat yhtäpitävät SOC menetelmän kanssa: Cefoxitin=S, Erytromysiini:R ja Trimetoprim-Sulfa:S.

Kuvio 4. Accelerate Pheno™:n antama VRE-näytteen herkkyysmääritys ja siihen liittyvät huomiot

SUSCEPTIBILITY RESULTS

Enterococcus faecium

ANTIMICROBIAL	LABEL	BREAKPOINTS	MIC	RAW SIR	AIM SIR	CUSTOM SIR	MANUAL SIR	FINAL SIR
Ampicillin	IVD-CE	≤4 >8	≥32	R	R ^{3,4}			R ^{3,4}
Daptomycin	IVD-CE		≤1	N/A	N/A ⁵			N/A ⁵
Linezolid	IVD-CE	≤4 >4	2	S				S
Vancomycin	IVD-CE	≤4 >4	≥64	R	R ⁶			R ⁶
Resistance Phenotype Detected: VRE Phenotype								

NOTES

AIM¹: Sample positive for only one target identification probe. Alternate testing method unlikely to identify additional bacteria or yeast. [A-086]
AIM²: In endocarditis, refer to national or international endocarditis guidelines for breakpoints for <i>Enterococcus</i> spp. [E-022]
AIM³: For <i>Enterococcus</i> , ampicillin SIR classification can be used to predict amoxicillin SIR classification. [A-058]
AIM⁴: Enterococci resistant to ampicillin are reported as resistant to ureidopenicillins and carbapenems based on microbiological data. [E-026]
AIM⁵: Insufficient evidence <i>Enterococcus</i> spp. are a good target for therapy with daptomycin. [E-052]
AIM⁶: Vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> spp. detected. Confirm ID and susceptibility if uncommon in your institution. Check with infection control. [A-013]

Kuvio 5. Accelerate Pheno™:n antama MRSA-näytteen herkkyysmääritys ja siihen liittyvät huomiot

SUSCEPTIBILITY RESULTS*Staphylococcus aureus*

ANTIMICROBIAL	LABEL	BREAKPOINTS	MIC	RAW SIR	AIM SIR	CUSTOM SIR	MANUAL SIR	FINAL SIR
Cefoxitin	IVD-CE	≤4 >4	POS	POS	POS ^{2,3}			POS ^{2,3}
Ceftaroline	IVD-CE	≤1 >1	≤0.25	S				S
Daptomycin	IVD-CE	≤1	≤0.25	S				S
Doxycycline	IVD-CE	≤1 >2	≤1	S				S
Erythromycin	IVD-CE	≤1 >2	≥16	R	R ⁴			R ⁴
Linezolid	IVD-CE	≤4 >4	2	S				S
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	IVD-CE	≤2 >4	≤0.5	S				S
Vancomycin	IVD-CE	≤2 >2	≤0.5	S				S
Resistance Phenotype Detected: MRSA Phenotype								

NOTES

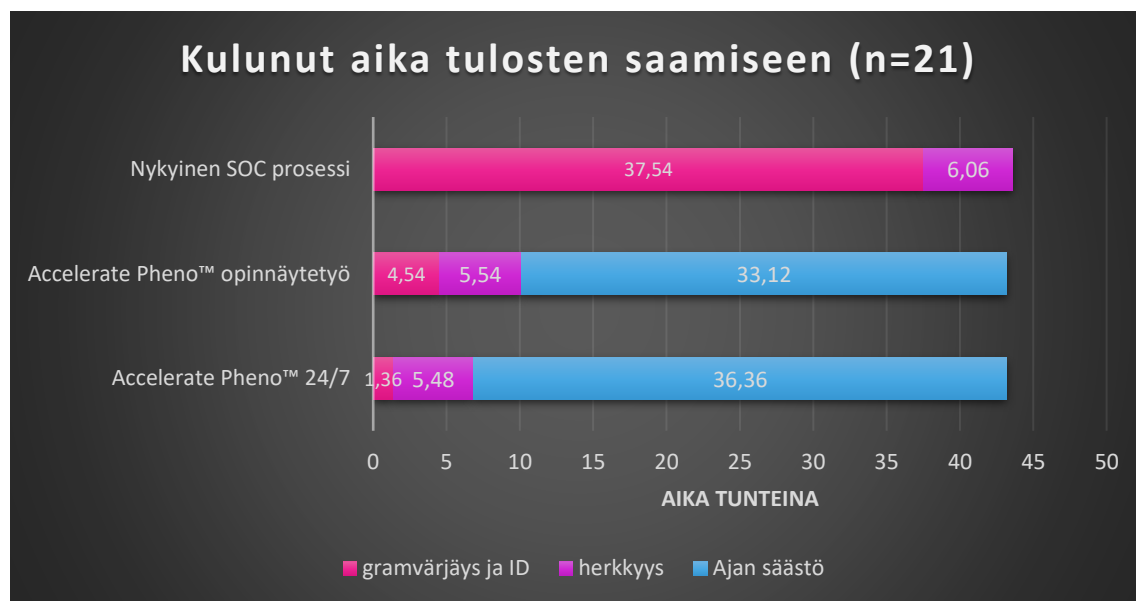
AIM¹: Sample positive for only one target identification probe. Alternate testing method unlikely to identify additional bacteria or yeast. [A-086]
AIM²: Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA) detected. Report as resistant to all beta-lactams except ceftobiprole and ceftaroline. [E-012]
AIM³: Cefoxitin is used to screen for methicillin resistance mostly due to the presence of the <i>mecA</i> gene. [E-041]
AIM⁴: For <i>Staphylococcus</i> spp., erythromycin SIR classification can be used to predict classification for azithromycin, clarithromycin and roxithromycin based on microbiological data. [E-011]

Johtopäätöksenä voidaan todeta, että Accelerate Pheno™ tunnisti *P. aeruginosa*-bakteerin sekä ESBL ja karbapenemaasia tuottavat *E.coli*-kannat. Accelerate Pheno™ tunnistaa sekä herkän *S. aureus*-kannan että MRSA -kannan. Myös VRE -ominaisuus tuli esille Accelerate Pheno™:lla.

11.3 Identifikaatio- ja herkkyysvastauksen saamiseen kuluneen ajan vertailu

Bakteerin identifikaatioon ja herkkyysmääritykseen kulunutta aikaa vertailtiin siten, että SOC menetelmällä määritettyihin tuloksiin sisällytettiin myös näytteen kuljetukseen Hämeenlinnasta Tampereelle kulunut aika. Ajan suhteen siis tarkasteltiin kokonaisuutta. Koska Laite tulisi sijaitsemaan Hämeenlinnassa, on tämä kuljetuksiin kulunut aika oleellinen osa vastauksen saamiseen kulunutta aikaa. Kuviossa 6 (s.37) on esitetty kulunut aika positiivisesta hälytyksestä tulosten saamiseen sekä SOC-menetelmällä että Accelerate Pheno™:lla. Kuviossa on erikseen vertailtu myös kulunutta aikaa, mikäli laite olisi käytössä ympäri vuorokauden (24/7) ja määritykset tehtäisiin heti positiivisen hälytyksen tultua. Tällöin Accelerate Pheno™ olisi 36h36min nopeampi kuin SOC menetelmät. Kun vertailuun otetaan tämän tutkimuksen määritysajat (opinnäytetyö), saadaan Accelerate Pheno™:lla tulos 33h12min nopeammin kuin SOC menetelmillä. Fimlabin Tampereen mikrobiologian laboratorio ei ole auki ympäri vuorokauden, mikä on syytä ottaa huomioon tuloksia tarkastellessa. Kun tarkastellaan pelkästään identifikaatioon kulunutta aikaa, on Accelerate Pheno™ 33 tuntia nopeampi.

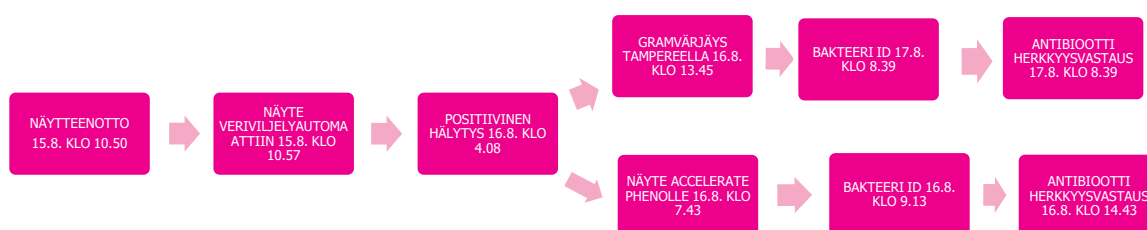
Kuvio 6. Bakteeri-identifikaatioon ja herkkyysvastauksen saamiseen kuluneen ajan vertailu.



Potilasnäytejoukkoon osui yksi *Candida glabrata* näyte. Tämä on siitä mielenkiintoinen, että *Candida glabrata* vaatii eri lääkityksen kuin tavanomaisempi hiivalöydös *Candida albicans*. Accelerate Pheno™:lla identifikaatio saatiin jo 2h28min:ssa positiivisesta hälytyksestä ja SOC menetelmällä vastaus saatiin 26h39min. SOC menetelmällä hiivoille tehdään herkkyys, mitä Accelerate Pheno™ ei tee.

Tuloksista pystytään päättämään, että jos Accelerate Pheno™ sijoitettaisiin Fimlab laboratorioden Kanta-Hämeen keskussairaalan yksikköön, nopeuttaisi se identifikaation ja herkkyystulosvastauksen saamista merkittävästi Accelerate Pheno™ -analysaattorin paneelista löytyvien bakteerien osalta. Kuviossa 7 nähdään näytteen numero 47 eteneminen tutkimuksessa. Kyseessä *E.coli*-bakteeri.

Kuvio 7. Tutkimusnäytteen nro 47 eteneminen.



11.4 Terveystaloudellinen näkökulma Accelerate Pheno™:n käytössä Kanta-Hämeen keskussairaalassa

Accelerate Pheno™:n yhden määrittelyn laite ja materiaalikulut ovat arviolta 200-400€/näyte. SOC menetelmällä määrittely maksaa yhteensä keskimäärin 52.25€, josta laite- ja materiaalikulut 4.74€ (Seiskari 2019-5-28). Tutkimusta tehdessä keskusteltiin Kanta-Hämeen keskussairaalan infektio lääkäri Janne Mikkolan kanssa Accelerate Pheno™:sta. Hänen kanssaan pohdittiin terveystaloudellista näkökulmaa, klinisen hoitotyön tarvetta ja arvioitiin menetelmän vaikuttavuutta.

Kun potilaalla epäillään sepsistä tai bakteremiasa, aloitetaan antibioottihoito Kanta-Hämeen keskussairaalassa yleensä kefuroksiimilla. Mikkola (2018-12-19) arvioi, että neljässä tapauksessa viidestä empiirinen hoito on osuvaa. Empiirisen kefuroksiimihoidon kirjon ulkopuolelle jääviä tavallisimpia löydöksiä ovat enterokokit, *Pseudomonas aeruginosa*, hiivat, MRSA- ja ESBL-kannat. Mikäli gramvärjäys kertoo bakteerin olevan gramnegatiivinen sauva, ei hoitoa useinkaan vaihdeta. Jos kyseessä on grampositiivinen kokki, antibioottia saatetaan vaihtaa, mikäli osataan epäillä esim. enterokokkia tai MRSA:ta aiheuttajaksi. Kun herkkyysvastaus valmistuu, hoitoa tarkennetaan tarvittaessa. Mikkola arvioi, että eniten nopeasta bakteeri-identifikaatiosta ja erityisesti herkkyysvastauksesta hyötyvät sairaala-alkuista sepsistä potevat potilaat sekä tehohoitopotilaat, joita hoidetaan laajakirjoisilla antibiooteilla. Kun herkkyysvastaus saataisiin, voitaisiin ylimääräisiä antibiootteja purkaa pois ja keskittyä tehoavaan antibioottiin. Mikkola pohti, että vuositasolla muutaman potilaan kohdalla nopeampi laji- ja mikrobilääkeherkkyystieto voisi olla potilaan ennusteen kannalta ratkaiseva. (Mikkola 2018.)

Mikäli määrityksiä tehtäisiin päivystysaikaan, Mikkola (2018-12-19) arvioi, että aamulla valmiina oleva herkkyysvastaus auttaisi suoraan oikean antibiootin valinnassa, vaikka yöllä ei hoitavaa lääkärää tavoitettaisi vastauksen antamiseksi. Erityisesti herkkyysvastauksesta hyötyvät rivipäivystäjät, joilla ei olisi mahdollisuutta konsultoida infektio lääkäriä tarvittaessa oikean lääkkeen valinnassa.

Immuno Diagnostic Oy:n mukaan Accelerate Pheno™:n määrityksen ja laitteen hintoihin vaikuttaa testivolyymit ja sopimuksen kesto. Vaihtoehtoina hankinnalle on myynti, leasing ja potilasvastauksen hintaan pohjautuva sopimus (ns. cost per reportable result) joka sisältää laitteen, testit, huollot, koulutuksen ja tuen. Tarkkoja hintoja siis yhdelle määritykselle ei vielä voida antaa. (Aulu 2019-6-3.) Paxtonin (2018) artikkelissa sairaalamikrobiologi Beth Prouse Salisburyasta Iso-Britaniasta kertoo, että Peninsulan aluesairaalassa listahinta on 250\$ (n. 222€). Vuonna 2018 oli Kanta-Hämeessä veriviljelytutkimuspyyntöjä Efficasta ja Lifecaresta tietojen poimivan MMKR-ohjelman mukaan 12569 kappaletta. Positiivisia löydöksiä (potilaita) vuonna 2018 saman ohjelman mukaan 502. Mikäli näistä kaikista tehtäisiin Accelerate Pheno™ -määritys esimerkiksi hinnalla 200-300€ (laboratorion laskuttama hinta), tulisi sairaanhoitopiirille kuluja 100 000-150 000€, kun nykyisellä hinnalla (B-baktjvi, 55€) kulut ovat 27 610. Vertailun vuoksi kerrottakoon, että influenssadiagnostiikkaan vuositasolla kuluu n. 150 000€ Kanta-Hämeen keskussairaalassa. (Mikkola 2019 a ja b.)

12 TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS JA POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, miten Accelerate Pheno™ vaikuttaisi veriviljelyvastausten saamiseen Kanta-Hämeen keskussairaalassa. Terveystaloudellista vaikuttavuutta selvitettiin. Myös Accelerate Pheno™:n toimivuutta testattiin. Tämän tutkimuksen perusteella voidaan sanoa, että Accelerate Pheno™ nopeuttaa veriviljelyvastausten saamista siten, että bakteeri-identifikaatio saadaan keskimäärin 33 tuntia nopeammin ja identifikaatio ja herkkyysmäärittäminen 33.12 tuntia nopeammin. Sensitiivisyys bakteeritunnistukselle oli 95.2% ja spesifisyys 100%. SIR -Herkkyysmäärittäykset olivat 95.5%:sesti yhtenevät SOC -menetelmien kanssa. Terveystaloudellisuutta käsitellään pohdinnassa tarkemmin myöhemmin.

Tutkimuksen *reliabelius*, tarkoittaa sitä, että mittaustulokset ovat toistettavia. Toisin sanoen tutkimuksen tulokset eivät siis ole sattumanvaraisia. (Hirsjärvi ym. 2009, 231.) Tässä tutkimuksessa reliabeliutta lisäsi se, että tutkimusolosuhteet potilasnäytteitä ja kontrollikantoja määritettäessä pidettiin vakiona. Tutkimuksessa edettiin tarkkaan saman protokollan mukaan ja määrittäjänä toimi sama henkilö. Laitteen kontrollit määritettiin asianmukaisesti kahden viikon välein ja jos niissä oli poikkeamaa, ei laitetta voinut käyttää, ennen kuin ongelma oli ratkaistu. Reliabeliutta olisi lisännyt se, että herkkyysmäärittäykset olisi tehty vielä kolmannella menetelmällä, jotta epäselvissä tilanteissa olisi saanut selville kummalla menetelmällä saatu tulos on todellinen. Tähän ei kuitenkaan päädytty, koska tulokset olivat tarpeeksi yhteneväisiä. Määrittäisiin kuluneen ajan mittaamisessa reliabeliutta lisäsi se, että veriviljelyautomaatista ja Accelerate Pheno™:sta saatiin tarkat kellonajat, milloin näyte on hälyttänyt positiiviseksi, milloin Accelerate Pheno™ määrittäminen on tehty ja milloin bakteeri-identifikaatio ja herkkyysvastaukset ovat valmistuneet. Kuitenkin SOC menetelmillä määritetyt ajat eivät olleet yhtä tarkkoja, vaan ne olivat enemmän suuntaa-antavia. Vaikka heittoa arvioidun ja todellisen välillä olisi ollut tunteja, ei sillä olisi ollut merkittävää vaikutusta vastausten saamisen kuluneen ajan vertailuun. Määrittäminen kuluneen ajan lyhentymisen Accelerate Pheno™:lla verrattuna SOC menetelmiin ja identifikaatio- ja herkkyystulosten sensitiivisyys ja spesifisyys ovat linjassa aiempien tutkimusten kanssa (Marschal ym. 2017 ja Brazelton de Cárdenas 2017), mikä lisää tämän tutkimuksen reliabeliutta.

Otoskoko jäi suunnitellun 40 määrittäksen sijaan 22 tulokseen. Tämä pienentynyt otoskoko vähentää osaltaan reliabeliutta. Jos määrittäksiä olisi tullut enemmän, olisi saatu varmistusta eri bakteerikannoille tai otokseen olisi saattanut osua enemmän eri bakteerilajeja. Kontrollimäärittäysten tekoon kului yksi näytekasetti kumpaankin yksikköön kahden viikon välein. Ja koska näytteitä saatiin määritettyä suunniteltua hitaammin (positiivisia kriteerit täyttäviä veriviljelyitä ei tullut), jouduttiin myös kontroleja tekemään enemmän. Suunnitteluvaiheessa ei kontroleja osattu ottaa huomioon. Kontrollien teko oli myös melko haastavaa lyhyellä perehdytyksellä ja muutama näytekasetti meni hukkaan epäonnistuneen käsittelyn vuoksi. Ennalta ei myöskään osattu huomioda sitä, että osasta veriviljelyistä oli herkkyysmäärittäykset tehty rinnakkaispullosta etukäteen, eikä sitä tietoa voitu selvittää. Ajan puutteen vuoksi määrittästä ei tehty uudestaan samasta pullosta Tampereella kuin mistä Accelerate Pheno™ määrittäminen oli tehty. Muutama näyte jouduttiin tämän vuoksi hylkäämään otoksesta.

Validius eli pätevyys tai vastaavuus tarkoittaa sitä, että mittari tai tutkimusmenetelmä mittaa juuri sitä, mitä on tarkoitus mitata (Hirsjärvi ym. 2009, 231). Validiutta tämän opinnäytetyön kohdalla voidaan pohtia siten, että onko tutkimusmenetelmät antaneet vastaukset kysymyksiin:

- Kuinka luotettavia ovat Accelerate Pheno™:n tulokset perinteisiin identifikaatio- ja herkkyysmäärittelyihin verrattuna?
- Miten Accelerate Pheno™ nopeuttaa veriviljelyvastausten saamista?
- Millaista terveystaloudellista merkitystä Accelerate Pheno™ -analysaattorin käytöllä olisi Kanta-Hämeen keskussairaalalle.

Ensimmäiseen kysymykseen vastaus saatiin tekemällä rinnakkaisia määrittelyjä SOC menetelmällä ja Accelerate Pheno™ -analysaattorilla. Tulokset analysoitiin Clindex® -ohjelmalla, jonka avulla saatiin mm. laitteen sensitiivisyys ja spesifisyys selville. Myös toiseen kysymykseen saatiin vastaus vertailemalla vastausten saamiseen kuluneita aikoja ja laskemalla niiden eroja Clindex® -ohjelmalla. Etukäteen pohdittiin mitä tietoja halutaan tietää (esim. positiivinen hälytys, milloin herkkyys vastataan SOC-menetelmällä), jotta vastaus kysymyksiin saadaan mahdollisimman tarkasti. Terveystaloudellinen näkökulma perustuu keskusteluihin Kanta-Hämeen keskussairaalan infektiolääkärin kanssa. Lisäksi muissa tutkimuksissa on todettu Accelerate Pheno™:n tuomasta taloudellisesta hyödystä. Näitä ulkomaisia tutkimustuloksia ei kuitenkaan voi suoraan verrata Suomen ja Kanta-Hämeen tilanteeseen, koska potilasmateriaalit, resistenssitilanne ja antibioottikäytännöt ovat erilaiset esimerkiksi Suomessa ja Yhdysvalloissa. Brazelton de Cárdenas ym. (2017, 52) kokoavat tutkimuksessaan yhteen ajatuksia nopean identifikaation ja herkkyysvastauksen saamisesta. He toteavat, että niiden ansiosta saavutetaan matalampi kuolleisuus ja matalammat kustannukset. Sillä on myös lyhentävä vaikutus sairaalassaoloaikaan.

Tässä tutkimuksessa tutkittiin vain yhtä ESBL, Karbapenemaasi, VRE ja MRSA näytettä. Accelerate Pheno™ tunnisti nämä alentuneet herkkyudet. Lyonissa Ranskassa tehdyssä tutkimuksessa, jossa määritettiin gramnegatiivisia bakteereita sisältäviä veriviljelynäytteitä Accelerate Pheno™:lla, saatiin muihin bakteereihin verrattuna huomattavasti paremmat tulokset ESBL ja *Pseudomonas aeruginosa* näytteille (Descours ym. 2018). Jatkotutkimusaiheena voisi olla näihin bakteereihin liittyviä tutkimuksia. Myös terveystaloudellisesta näkökulmasta olisi mielenkiintoista saada tarkempaa tietoa. Tätä tutkimusta varten ei haluttu ottaa potilastietoja ja sairauskertomuksia mukaan. Työ olisi ollut liian laaja ja eettiset näkökulmat olisi tulleet eri lailla huomioitaviksi. Esimerkiksi se, että Accelerate Pheno™:a käytäisi vain tehohoitopotilaiden näytteille, voisi olla mielenkiintoista selvittää terveystaloudellisesti. Samoin kuin se, että olisi erillinen kalliimpi Accelerate Pheno™-määrittely SOC:n rinnalle, jonka lääkäri voi halutessaan tilata.

Mikäli Accelerate Pheno™ tulisi käyttöön Kanta-Hämeen keskussairaalassa, täytyisi työjärjestelyihin tehdä muutoksia, jotta ”work flow” saataisiin sujuvaksi ja Accelerate Pheno™ mahdollisimman hyvin hyödynnettyksi. Paras hyöty laitteesta olisi, mikäli se olisi käytössä ympäri vuorokauden. Tämä toisi

jonkin verran lisää töitä päivystäjille. Itse määrittäminen ei vaadi paljoa aikaa, mutta esimerkiksi sen selvittäminen, että onko potilaalla jo veriviljelyvastaus ym. vie työaikaa. Tällaiset asiat tulisi tehdä mahdollisimman helpoksi. Kontrollit voidaan tehdä virka-ajan sisällä ja sen tekemiseen riittää muutaman henkilön mikrobiologinen osaaminen. Laboratoriotilat ovat hyvät Accelerate Pheno™:n käytölle; laboratoriossa on jo valmiiksi vetokaappi ja itse laite ei vaadi paljon tilaa, kontrollikantojen kasvatukseen löytyy lämpökaappi ja vortex näytepullojen sekoitukseen. Mikäli Accelerate Pheno™-määrittäsiä tehtäisiin viikonloppuisin, voisi ajatella ajansäästöllisesti siten, että näytteitä ei tarvitsisi lähettää Tampereelle viikonloppuna. Tämä säästäisi Tampereen kiireistä laboratoriotilaa ja vapauttaisi työntekijöitä tekemään muita töitä. Hämeenlinnassa taas Accelerate määrittäykseen menisi suunnilleen sama aika, kuin näytteiden lähettämiseen Tampereelle. Tämä tietysti vaatisi testausta ja työnjärjestelyjen tarkastelua.

Fimlabin nykyiset menetelmät ovat tehokkaita; laadukkaat tulokset saadaan edullisesti, koska näytemassaa on paljon. Tulokset tulevat Kanta-Hämeen kannalta kuitenkin hitaammin, kuin esimerkiksi jos Accelerate Pheno™ olisi käytössä. Vaikuttavuuden näkökulmasta pohditaan sitä kuinka paljon terveyshyötyjä milläkin euromäärällä voitaisiin saavuttaa. Vaikuttavuus voisi olla tässä tutkimuksessa sitä, että säästöjä syntyy, kun esimerkiksi tehohoitopotilaan hoitojakso lyhenisi yhdellä päivällä nopean herkkyysvastauksen avulla.

Accelerate Pheno™ haastaa perinteiset menetelmät nopeudellaan, mutta samalla tuo yksittäiselle määrittäykselle perinteisiin menetelmiin verrattuna kalliin hinnan. Se myös tuo yhä enemmän mikrobiologisten menetelmien määrittäyksiä päivystystyöhön.

LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT

- ACCELERATE DIAGNOSTICS 2018. Accelerate PhenoTest™ BC Kit, Instructions for Use. [Ohjekirja.]
- ACCELERATE DIAGNOSTICS 2017. Accelerate Pheno™system. Fast phenotypic susceptibility testing. [Esite.]
- ACHARYA, Tankeshwar 2015. Gram Staining: Principle, Procedure and Results. Blogi-kirjoitus Microbeonline -sivustolla. [Viitattu 2019-31-03.] Saatavissa: <https://microbeonline.com/gram-staining-principle-procedure-results/>
- ABACUSDIACNOSTIC. [Verkkosivut.] Genomera® CDX system esittely. [Viitattu 2018-31-10.] Saatavissa: <http://www.abacusdiagnostica.com/products/genomera-cdx-system-ce-ivd/>
- AULU, Sari 2019. Immuno Diagnostics Oy. [2019-6-3.][Sähköposti.]
- BACTEC FX CLSI 2008. [Työohje.] Automated blood culture instrument procedure BD Bactec FX. Saatavissa myös PDF-muodossa: <https://www.docdroid.net/v34n/bactec-fx-clsi-procedure.pdf>
- BIORAD. [Verkkosivut.] Pastorex-menetelmän kuvaus. [Viitattu 2019-31-03.] Saatavissa: <http://www.bio-rad.com/en-fi/product/pastorex-strep?ID=LO5CONBEB>
- BLACK, Jacquelyn 2008. Microbiology, seventh edition. International student version. Aasia: John Wiley ja sons.
- BRAZELTON de CÁRDENAS, J.N., SU, Y., RODRIGUES, A., HEWITT, C., TANG, L., GARNER, C.D. ja HAYDEN, R.T. 2017. Evaluation of rapid phenotypic identification and antimicrobial susceptibility testing in a pediatric oncology center. Diagnostic microbiology and infectious diseases **89** (2017), 52-57. [Viitattu 2019-4-22.] Saatavissa: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.savonia.fi/science/article/pii/S0732889317301918?via%3Dihub>
- CECCHINI, Tiphaine 2019-4-13. [Sähköpostikeskustelu.] ISO 20776-2 Standardi.
- COHEN, David 2008. Health economics. Teoksessa: NAIDOO, Jennie ja WILLS, Jane. (toim.) Health studies, an introduction. Second edition. Hampshire: Palgrave Macmillan, 322-343.
- CRESWELL, John W. 2003. Research design. Qualitative, Quantitative, and Mixed Methods Approaches, second edition.
- DESCOURS, Ghislaine, DESMURS, Laurent, LAM THUY HOANG, Thi, IBRANOSYAN, Marine, BAUME, Maud, RANC, Anne-Gaëlle, FUHRMANN, Christine, DAUWALTER, Olivier, SALK, Waël JA VANDENESCH, François 2018. Evaluation of the Accelerate Pheno™ system for rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative bacteria in bloodstream infections. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. (2018) **37**: 1573.
- DOMINGUES, Joana ja CECCHINI, Tiphaine, Accelerate diagnostics, inc. 2018. [Diaesitys tutkimuksen yhteenvedosta 2018-12-11.] Fimlab Laboratoriot OY, Accelerate Pheno™ system evaluation close-out.
- FIMLAB LABORATORIOT OY 2017. Ohjekirja, bakteeri, viljely (verestä). [Viitattu 2018-12-21.] Saatavissa: https://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6695;id=17387
- FIMLAB LABORATORIOT OY 2018. Malditof -Työohjeet.
- FORTRESS MEDICAL 2018. [Verkkosivut.] [Viitattu 2019-1-3.] Saatavissa: <https://www.fortressmedical.com/>
- GIORDANI, Cesira, PICCOLI, Elena, BRUCCULERI, Veronica ja BARNINI, Simona 2018. A Prospective Evaluation of Two Rapid Phenotypical Antimicrobial Susceptibility Technologies for the Diagnostic Stewardship of Sepsis. BioMed Research International Volume 2018, Article ID 6976923 [Viitattu 2019-4-22.] Saatavissa: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/6976923/#B3>
- HIRSJÄRVI, Sirkka, REMES, Pirkko ja SAJAVAARA, Paula 2009. Tutki ja kirjoita. 15., uudistettu painos. Hämeenlinna: Kariston kirjapaino Oy.

HOLOPAINEN, Matti ja PULKKINEN, Pekka 2008. Tilastolliset menetelmät. Kustannusosakeyhtiö Tammi

INTERNATIONAL STANDARD, preview 2007. [Osia standardista.] ISO 20776-2. First edition 2007-07-01. Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices- part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices [Viitattu 2019-5-7.] Saatavissa: <https://www.sis.se/api/docu--ment/preview/908746/>

JAAKOLA, Sari, LYYTIKÄINEN, Outi, RIMHANEN-FINNE, Ruska, SALMENLINNA, Saara, SAVOLAINEN-KOPRA, Carita, LIITSOLA, Kirsi, JALAVA, Jari, TOROPAINEN, Maija, NOHYNEK, Hanna, VIRTANEN, Mikko, LÖUND, Jan-Erik, KUUSI, Markku ja SALMINEN, Mika (toim.) 2018. Tartuntataudit Suomessa 2017. [THL-raportti.] [Viitattu 14.2.2019.] Saatavissa: http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/136615/THL_RAP_6_2018_Tartuntataudit%20Suomessa%202017KORJ27.8.2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

JÄRVELÄINEN, Marika, ROSLUND, Iira ja SILANDER, Maarit 2006. [Opinnäytetyö.] Rutiinimenetelmällä ja Vitek2-laitteella saatujen tulosten vertailu bakteerien identifikaatio- ja antibioottiherkkyytustutkimuksissa. Stadia, bioanalytiikan koulutusohjelma. Saatavissa: http://www.doria.fi/bitstream/handle/10024/6726/stadia_1166013055_5.pdf?sequence=1&isAllowed=y

JÄRVINEN, Asko, VAARA, Martti, HUOVINEN, Pentti, LIIPPO ja VASANKARI 2011. Bakteerilääkkeet. Teoksessa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti (toim.) Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 3. 1. painos. Helsinki: Duodecim, 112-187

KAURISALO, Miska ja NIVUKOSKI, Rosita 2015. [Opinnäytetyö.] Kromogeenisen ja XLDmaljan vertailu salmonellaviljelyssä. SEAM/TAMK, bioanalytiikan koulutusohjelma. Saatavissa: https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/87429/Kaurisalo_Miska%20Nivukoski_Rosita.pdf?sequence=1&isAllowed=y

KIDD, Stephen P., POOLE, Stephen, MOORE, Nathan, PETRIDOU, Christina, SAEED, Kordo, THOMAS, Claire, CORTES, Nick ja HUTCHINSON, Nicki 2018. Assessing the clinical impact of rapid pathogen identification and antimicrobial susceptibility testing provided by the Accelerate Pheno™ System at Hampshire Hospitals NHS Trust. [Tutkimustivistelmä.] Saatavissa: https://www.researchgate.net/publication/324918493_Assessing_the_clinical_impact_of_rapid_pathogen_identification_and_antimicrobial_susceptibility_testing_provided_by_the_Accelerate_Pheno_System_at_Hampshire_Hospitals_NHS_Trust

KÄRPÄNOJA, Pauliina 2007. Kromogeeniset maljat - Periaate ja tausta. Moodi 1/2007, 39–40.

KÄYPÄ HOITO -SUOSITUS SEPSIKSELLE, 2014. [Verkkosivut.] [Viitattu 2018-12-27.] Saatavissa: <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suosituks/suositus?id=hoi50032#K1>

LINDHOLM, Laura ja EEROLA Erkki 2010. Bakteerien luokittelu ja tyypittäminen. Teoksessa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti (toim.) Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 3. 1. painos. Helsinki: Duodecim, 56-67

LILLRANK, Paul, KUJALA, Jaakko ja PARVINEN Petri 2004. Keskenikäinen potilas. Terveysthuollon tuotannonohjaus. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy

LUMIO, Jukka 2018. Verenmyrkytys eli sepsis. Lääkärikirja Duodecim verkossa. [Viitattu 2018-12-23.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00604#T1

MARSCHAL, Mathias, BACHMAIER, Johanna, AUTENRIETH, Ingo, OBERHETTINGER Philipp, WILLMAN, Matthias ja SILKE, Peter 2017. Evaluation of the Accelerate Pheno System for Fast Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures in Bloodstream Infections Caused by Gram-Negative Pathogens. Journal of Clinical microbiology. (2017) **55**(7):2116-2126.

McPHERSON, Michael ja MØLLER, Simon 2006. PCR, Second edition. UK: Taylor & Francis group.

- MEURMAN, Olli 2010. Gram-värjäykset. [Luentodiat.] [Viitattu 2018-12-23.] Saatavissa: <https://docplayer.fi/14375605-Gram-varjaykset-olli-meurman.html>
- MIKKOLA, Janne 2018-12-19. Infektiolääkäri. [Haastattelu.] Hämeenlinna: Kanta-Hämeen keskussairaala.
- MIKKOLA, Janne 2019-5-21.(a) Infektiolääkäri. [Sähköposti.] Hämeenlinna: Kanta-Hämeen keskussairaala.
- MIKKOLA, Janne 2019-5-24.(b) Infektiolääkäri. [Puhelinhaastattelu.] Hämeenlinna: Kanta-Hämeen keskussairaala.
- MURRAY, Patrick ja MASUR, Henry 2012. Current Approaches to the Diagnosis of Bacterial and Fungal Bloodstream Infections for the ICU. Crit Care Med. 2012 December; **40**(12): 3277–3282. Saatavissa myös PDF-muodossa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4201853/pdf/nihms-632453.pdf>
- NEVALA, Hanna 2018. Kustannustehokkuus ja -vaikuttavuus terveydenhuollossa, terveystaloustieteen näkökulma. [Luentodiat]
- NISSINEN, Antti 2009. Bakteerin lääkeherkkyyden määrittäminen kiekkomenetelmällä, Versio 6. [THL julkaisu.] Saatavissa myös PDF-muodossa: <https://thl.fi/attachments/Fire/kiekkomenetelma.pdf>
- NISSINEN, Antti 2016. Poimintoja mikrobiologian prosesseista: Veriviljelynäytteenotto ja siihen liittyvä problematiikka. [Luentotiivistelmä Labquality days koulutuspäiviltä.] Saatavissa myös PDF-muodossa: http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3japath=LQD16_Abstrakti_Nissinen_Antti.pdf
- PARDUE, Christa 2018. "Reducing mortality and Advancing antimicrobial stewardship through fast antibiotic susceptibility results for bloodstream infections." [UHCS:n julkaisu.] [Viitattu 2018-12-27.] Saatavissa myös PDF-muodossa: <https://cdn2.hubspot.net/hubfs/498900/UHCS%20Whitepaper.pdf>
- PASTILA, Satu 2002. Mikrobilääkkeet. Teoksessa: HELLSTÉN, Soile (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. Jyväskylä: Suomen Kuntaliitto, Gummerus kirjapaino, 115-132
- PAXTON, Anne 2018. New contender speeds ID with susceptibility testing. Cap today online. [Artikkeli.] [Viitattu 2019-06-04.] Saatavissa: https://www.captodayonline.com/new-contender-speeds-id-susceptibility-testing/?fbclid=IwAR245V1KY-CDhUjwCihn7ZCIXR0nXKQxhN9OeYkkJzOEn_DYZ2fmQX221dU
- RANKI-PESONEN, Marjut 1994. Onko polymeraasiketjureaktio käytännön mikrobidiagnostiikkaa? Duodecim 6/1994. Saatavissa: <https://www.duodecimlehti.fi/lehti/1994/6/duo40130>
- RINTALA, Esa ja VALTONEN, Ville 2011. Sepsis. Teoksessa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti (toim.) Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 3. 1. painos. Helsinki: Duodecim, 592-599
- RISSANEN, Anne-Mari 2016. Gramvärjäytymisen salaisuus kietoutuu bakteerin seinärakenteeseen. Suomen Sairaalahygienialehti **34**(1) /2016. 39-40. [Viitattu 2018-12-23.] Saatavissa myös PDF-muodossa: http://sshy.fi/data/documents/lehdet/16_1.pdf
- SAHA, Kerttu 2014. Mikrobiologian diagnostiikan uudet tuulet. [Luentomateriaali] Alueellinen mikrobiologian ja infektioiden torjunnan toimintayksikön koulutuspäivä 21.10.2014. [Viitattu 2018-12-27.] Saatavissa myös PDF-muodossa: http://www.epshp.fi/files/7034/Mikrobiologian_dg_uudet_tuulet_Aluellinen_mb-sairhyg_21.10.pdf
- SEISKARI, Tapio 2019-5-28. Ylilääkäri. [Sähköposti.] Tampere: Fimlab laboratoriot Oy
- SINTONEN, Harri ja PEKURINEN, Markku 2006. Terveystaloustiede. 1.painos. WSOY Oppimateriaalit Oy.
- SKOGBERG, Kirsi, OLLGREN, Jukka, NUORTI, Pekka, RUUTU, Petri, LYYTIKÄINEN, Outi 2013. Veriviljelypositiivisten infektioiden aiheuttama tautitaakka lisääntymässä Suomessa. Lääkärilehti [Digilehti.]

- 68**(2)/2013. 33-38. [Viitattu 2019-4-21.] Saatavissa: <https://www.laakarilehti.fi/tieteessa/alkuperäistutkimukset/veriviljelypositiivisten-infektioiden-aiheuttama-tautitaakka-lisaantymassa-suomessa/>
- SUOMALAINEN LÄÄKÄRISEURA DUODECIM JA SUOMEN AKATEMIA 1997. Antibioottiresistenssi. Säilyykö lääkkeiden teho? Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim **113**(24)/1997. 2526-2538. [Viitattu 2019-1-19] Saatavissa: <https://www.duodecimlehti.fi/lehti/1997/24/duo70557>
- SUOMINEN, Ilari, PÄRSSINEN, Raimo, HAAJANEN, Kari ja PELKONEN, Jani 2013. Geenitekniikka. Turun ammattikorkeakoulun oppimateriaaleja 52. 2., korjattu painos.
- VILKKA, Hanna 2005. Tutki ja Kehitä. Tammi.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION 2017. Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report. Early implementation 2016-2017. Geneve: World Health Organization. [Viitattu 2019-01-19] Saatavissa: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259744/9789241513449-eng.pdf;jsessionid=75C52B45B9BDCD0D255032AF135BADCC?sequence=1>
- YLÖNEN, Helga. 2005. Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. Teoksessa: HELLSTEN, Soile (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. Uudistettu painos. Jyväskylä: Suomen Kuntaliitto, Gummerus kirjapaino, 99-115.

LIITE 1: ACCELERATE PHENO™ IDENTIFIKAATIO- JA HERKKYYS-PANEELIT

Grampositiiviset bakteerit	Identifikaatio	Ampicillin	Cefazolin	Doxycycline	Erythromycin	Trimethoprim-Sulfamethoxazole	Daptomycin	Linezolid	Vancomycin	MRSA (Cefoxitin)	Indusoitava klindamysiini-resistenssi
<i>S. aureus</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>S. lugdunensis</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>koag.neg staph.</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>E. faecalis</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>E. faecium</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>Streptococcus spp.</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>S. agalactiae</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>S. pneumoniae</i>	*	•	•	•	•	•	•	•	•	•	

*kehityksessä

Gramnegatiiviset bakteerit	Identifikaatio	Ampicillin	Amoxicillin-Clavulanic Acid	Ampicillin-Sulbactam	Piperacillin-Tazobactam	Cefazolin	Cefuroxime	Ceftriaxone	Ceftazidime	Cefepime	Aztreonam	Ertapenem	Meropenem	Gentamicin	Tobramycin	Amikacin	Trimethoprim-Sulfamethoxazole	Ciprofloxacin	Mirocycine	Colistin	AmpC screen (Cefoxitin)
<i>E. coli</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>Klebsiella spp.</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>Enterobacter spp.</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>Proteus spp.</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>Citrobacter spp.</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>S. marcescens</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>P. aeruginosa</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	
<i>A. baumannii</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	

Hiivat	Identifikaatio
<i>Candida albicans</i>	•
<i>Candida glabrata</i>	•

LIITE 2: VERIVILJELYPULLON MUKANA TAMPEREELLE TOIMITETTU LOMAKE

Hei!

Tästä pullosta olen tehnyt Accelerate-määrittelyn, joten tehkää tästä pullosta herkkyysmäärittely.
Täytättekö myös tähän kaavioon tarvittavat tiedot. Lapun voi jättää veriviljelypaikan pöydälle. Kiitos paljon!

Yst. Sanna Uotila

sanna.uotila@edu.savonia.fi 0415069117

PVM:_____

Z-numero HML:_____

Z-numero TRE:_____

VV-Numero:_____

Monelta gramvärjäystulos vastattiin koneelle:_____

(kirjaajan nimikirjaimen:_____)

Monelta herkkyys pyöritettiin:_____

(kirjaajan nimikirjaimen:_____)

Milloin herkkyys vastattiin (PVM ja klo):_____

(kirjaajan nimikirjaimen:_____)

Monelta alustava ID vastattiin (PVM ja klo):_____

(kirjaajan nimikirjaimen:_____)

Monelta lopullinen ID vastattiin (PVM ja klo):_____

(kirjaajan nimikirjaimen:_____)

LIITE 3: ACCELERATE PHENO™ VASTAUSTULOSTE KARBAPENEMAASIA TUOTTAVASTA *E. COLI*-KAN- NASTA

PATIENT REPORT Accession Number: EC2007939



ORDER DETAILS

ORDER INFORMATION

Operator: **System Operator (User)**
 Run Status: **Completed**
 ID Status: **Accepted Automatic Approval (Auto Approve)**
 AST Status: **Accepted Automatic Approval (Auto Approve)**
 Result Status: **Accepted**

PATIENT INFORMATION

Specimen Type: **Blood Culture**

IDENTIFICATION RESULTS

SPECIES	LABEL	IDENTIFICATION
Escherichia coli	IVD-CE	Positive ¹
Acinetobacter baumannii	IVD-CE	Negative
Candida albicans	IVD-CE	Negative
Candida glabrata	IVD-CE	Negative
Citrobacter spp.	IVD-CE	Negative
Coagulase-negative Staphylococcus spp.	IVD-CE	Negative
Enterobacter spp.	IVD-CE	Negative
Enterococcus faecalis	IVD-CE	Negative
Enterococcus faecium	IVD-CE	Negative
Klebsiella spp.	IVD-CE	Negative
Proteus spp.	IVD-CE	Negative
Pseudomonas aeruginosa	IVD-CE	Negative
Serratia marcescens	IVD-CE	Negative
Staphylococcus aureus	IVD-CE	Negative
Staphylococcus lugdunensis	IVD-CE	Negative
Streptococcus agalactiae	IVD-CE	Negative
Streptococcus spp.	IVD-CE	Negative
Identification Finding Detected: Monomicrobial		

SUSCEPTIBILITY RESULTS*Escherichia coli*

ANTIMICROBIAL	LABEL	BREAKPOINTS	MIC	RAW SIR	AIM SIR	CUSTOM SIR	MANUAL SIR	FINAL SIR
Amikacin	IVD-CE	≤8 >16	≤4	S	S ²			S ²
Amoxicillin-Clavulanic Acid	IVD-CE	≤8 >8	≥32	R				R
Ampicillin	IVD-CE	≤8 >8	≥32	R				R
Ampicillin-Sulbactam	IVD-CE	≤8 >8	≥64	R	R ³			R ³
Aztreonam	IVD-CE	≤1 >4	≥16	R	R ⁴			R ⁴
Cefazolin	IVD-CE		≥16	N/A	R ⁵			R ⁵
Cefepime	IVD-CE	≤1 >4	≥32	R	R ⁴			R ⁴
Cefoxitin	IVD-CE	≤8 >8	≥16	R				R
Ceftazidime	IVD-CE	≤1 >4	≥16	R	R ⁴			R ⁴
Ceftriaxone	IVD-CE	≤1 >2	≥8	R	R ^{4, 6}			R ^{4, 6}
Cefuroxime	IVD-CE	≤8 >8	≥32	R				R
Ciprofloxacin	IVD-CE	≤0.5 >1	≥8	R	R ⁷			R ⁷
Colistin	IVD-CE	≤2 >2	≤0.5	S				S
Ertapenem	IVD-CE	≤0.5 >1	2	R	R ⁸			R ⁸
Gentamicin	IVD-CE	≤2 >4	16	R	R ²			R ²
Meropenem	IVD-CE	≤2 >8	≥8	I	I ^{8, 9}			I ^{8, 9}
Piperacillin-Tazobactam	IVD-CE	≤8 >16	128	R	R ¹⁰			R ¹⁰
Tobramycin	IVD-CE	≤2 >4	≥32	R	R ²			R ²
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	IVD-CE	≤2 >4	≤1	S				S

Resistance Phenotype Detected: Carbapenem Resistance Phenotype

NOTES

AIM¹: Sample positive for only one target identification probe. Alternate testing method unlikely to identify additional bacteria or yeast. [A-086]
AIM²: Aminoglycoside breakpoints are based on once-daily administration of high aminoglycoside dosages. [E-058]
AIM³: Enterobacteriaceae resistant to ampicillin-sulbactam are resistant to ampicillin alone. [A-002]
AIM⁴: Most 3rd/4th generation cephalosporin/aztreonam resistance in <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> and <i>Klebsiella</i> spp. is due to ESBLs and encompasses all cephalosporin analogues. Resistance can also be due to plasmid mediated AmpC (or up-regulated chromosomal AmpC in <i>E. coli</i>) in which case cefepime commonly remains active. May be of epidemiological concern. Confirm ID and susceptibility if uncommon in your institution. Check with infection control. [A-007]
AIM⁵: Enterobacteriaceae are a poor target for therapy with cefazolin. [E-048]
AIM⁶: For Enterobacteriaceae, ceftriaxone SIR classification can be used to predict cefotaxime classification. [A-040]
AIM⁷: Enterobacteriaceae that are resistant to ciprofloxacin should be reported as resistant to all fluoroquinolones based on a few case reports or on experimental models. [E-004]
AIM⁸: Enterobacteriaceae intermediate or resistant to carbapenem(s) may indicate carbapenemase production or other related resistance mechanisms. Confirm ID and susceptibility if uncommon in your institution. Check with infection control. Check with public health department. [A-004]
AIM⁹: Enterobacteriaceae with meropenem MIC ≥ 8 may be intermediate or resistant. Perform offline testing to determine final susceptibility result. [A-074]
AIM¹⁰: Enterobacteriaceae resistant to piperacillin-tazobactam are resistant to piperacillin alone. [A-003]

RUN DETAILS**RUN INFORMATION**

Assay: **ASY000001A** Blood Culture Assay (1.3.0.1) IVD-CE
Control PC Number: **495**
Module Serial Number: **1570**
Run Number: **48**
Start Time: **2018-08-17 07:40**
ID Time: **2018-08-17 09:11**
AST Time: **2018-08-17 14:38**
Completion Time: **2018-08-17 14:38 (6:57 Hours)**

KIT INFORMATION

Kit Name: **DMIS000075A** Blood Culture Kit (1.3.2.1) IVD-CE
Catalog: **10101028**
Lot: **3009A**
Serial No.: **0041**
Expiration: **2018-09-25**

SYSTEM INFORMATION

BREAKPOINTS: **DMIS000021I** Blood EUCAST 2016 Breakpts (1.3.2.1)
Expert Rules: **DMIS000020L** Blood EUCAST Rules (1.3.2.2)
Custom Rules: **N/A**
Software Part Number: **SW000009G1**
Host Software Version: **1.3.2.20**
Module Software Version: **1.3.2.20**
Analysis ID Library: **ct.dll (1.3.2.21) IVD-CE**
Analysis AST Library: **ct.dll (1.3.2.21) IVD-CE**

INSTITUTION INFORMATION

Name: **Fimlab Laboratoriot Oy**
Address: **Kanta-Hämeen keskussairaala, Hämeenlinnan
keskuslaboratorio, Ahvenistontie 20, 13530 Hämeenlinna**
Customer ID:
Time Zone: **GMT+3**