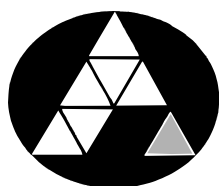


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Noora Forsman

YLEISIMPIEN BAKTEERIRIPULIN TAUDINAIHEUTTAJIEN
SÄILYVYYS KAHDESSA ERI BAKTEERIKULJETUSPUTKESSA

Opinnäytetyö
Marraskuu 2011



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Marraskuu 2011
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6600

Tekijä
Noora Forsman

Nimeke
Yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilyvyys kahdessa eri bakteerikuljetusputkessa

Toimeksiantaja
Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä (ISLAB), Joensuun aluelaboratorio, mikrobiologian osasto

Tiivistelmä

Ulosteviljelynäyte tulee ottaa oikeaoppisesti, ja se on säilytettävä ja kuljetettava asianmukaisesti, jotta voidaan varmistaa virheetön laboratoriodiagnoosi bakteeriripulin aiheuttajasta. Tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia *Salmonella typhimurium*-, *Shigella sonnei*-, *Yersinia enterocolitica*- ja *Campylobacter jejuni* -bakteerien säilyvyyttä FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkissa. Lisäksi selvitettiin millaisia eroja bakteerikuljetusputkien välillä ilmenee taudinaiheuttajien säilyvydessä bakteerikuljetusputkissa. Tutkimus oli toimeksianto Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän, Joensuun aluelaboratorion mikrobiologian osastolta. Tutkimusmenetelmä oli kvantitatiivinen ja koeasetelma kokeellinen.

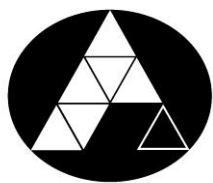
Tutkimusnäytteinä käytettiin puhtasviljeltyjä ATCC-bakteerikantoja. Bakteerinäytteet valmistettiin fysiologiseen natriumkloridiin ja näytteet siirrettiin bakteerikuljetusputkiin, jonka jälkeen niitä säilytettiin 0, 24, 48 ja 72 tuntia jääkaappilämpötilassa. Bakteerikuljetusputkien sisältämistä bakteerinäytteistä valmistettiin laimennossarjat kunkin säilytysajan päättyessä. Laimennokset viljeltiin elatusainemaljoille, jonka jälkeen elatusainemaljoja inkuboitettiin asianmukaisissa olosuhteissa. Inkubaatioaikojen päätyttyä bakteeripesäkemäärät laskettiin elatusainemaljoilta, ja bakteeripesäkemääristä laskettiin bakteeripitoisuudet.

Tulokset osoittavat, että yleisimmät bakteeriripulin taudinaiheuttajat säilyvät sekä FecalSwab-että Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa 72 tuntia. Tutkimuksen perusteella FecalSwab-bakteerikuljetusputkea voidaan kuitenkin pitää suositeltavana valintana taudinaiheuttajien säilytys- ja kuljetusmuodoksi. On myös huomioitava, että taudinaiheuttajien säilyvyys ei täsmällisesti kuvasta potilasnäytteiden säilyvyyttä bakteerikuljetusputkissa, koska tutkimusnäytteet sisälsivät ainoastaan bakteeriripulin taudinaiheuttajia, eivätkä näytteet sisältäneet ulosteen normaaliflooraa. Tästä syystä tulokset ovat suuntaa antavia.

Kieli
suomi

Sivuja 49
Liitteet 13
Liitesivumäärä 23

Asiasanat
Bakteeriripuli, preanalytiikka, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*



NORTH KARELIA
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

THESIS
November 2011
**Degree Programme in Biomedical
Laboratory Sciences**
Tikkarinne 9
FIN 80200 JOENSUU
FINLAND
Tel. 358-13-260-6600

Author

Noora Forsman

Title

Viability of Enteric Pathogens in Two Bacterial Transport Systems

Commissioned by

Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB), Joensuu Regional Laboratory, Department of Microbiology

Abstract

Appropriate specimen collection, preservation and transport are essential for accurate microbiologic diagnosis of bacterial enteritis. The purpose of this study was to evaluate the FecalSwab and Transystem M40 transport systems for maintenance of viability of *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter jejuni*. The aim of this study was also to compare the performances of FecalSwab transport system to Transystem M40 transport system. The subject of this study was provided by the Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise, Joensuu Regional Laboratory, Department of Microbiology. This study was quantitative and experimental.

The used isolates were ATCC bacterial strains. An organism suspension from a isolate of each strain was prepared in physiological saline. The suspension was added to transport systems and incubated at refrigerated temperature for 0, 24, 48 and 72 hours. After incubation, 10-fold serial dilutions were prepared. Each dilution was plated to appropriate agar plates and incubated under optimum conditions for organism tested. Colonies were counted on plates and the average colony count was used.

According to the results, both bacterial transport systems appear to be acceptable for transport of the enteric pathogens at 72 hours. On the basis of the results, it can be concluded that the FecalSwab proved more efficient for transport and storage of the enteric pathogens compared to the Transystem M40. However, it must remember that the viability of pathogens reported in this study may not accurately reflect results with clinical fecal specimens because the study specimens contained only the enteric pathogens and fecal normal flora were not present. Therefore the results are suggestive.

Language

Finnish

Pages 49

Appendices 13

Pages of Appendices 23

Keywords

Bacterial enteritis, Pre-analytics, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ

ABSTRACT

1	JOHDANTO.....	6
2	YLEISIMMÄT BAKTEERIRIPULIN TAUDINAIHEUTTAJAT.....	7
2.1	Salmonellat.....	8
2.2	Shigellat.....	9
2.3	Yersiniat.....	10
2.4	Kampylobakteerit.....	12
3	PREANALYYTTISTEN TEKIJÖIDEN VAIKUTUS BAKTEERIRIPULIDIAGNOSTIIKASSA.....	13
3.1	Ulosteviljelynäytteenotto.....	14
3.2	Ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusmuoto.....	15
3.3	Ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusaika sekä kuljetuslämpötila.....	15
4	BAKTEERIKULJETUSPUTKET BAKTEERIRIPULIDIAGNOSTIIKASSA.....	16
4.1	Bakteerikuljetusputkien kuljetusalustat.....	17
4.1.1	Modifioitu Cary-Blair -kuljetusalusta.....	18
4.1.2	Amies-kuljetusalusta.....	19
4.2	FecalSwab-bakteerikuljetusputki.....	19
4.2.1	FecalSwab-bakteerikuljetusputken käyttöominaisuudet.....	20
4.2.2	FecalSwab-bakteerikuljetusputken näytteenottotikku.....	20
4.3	Transystem M40 -bakteerikuljetusputki.....	21
4.3.1	Transystem M40 -bakteerikuljetusputken käyttöominaisuudet.....	21
4.3.2	Transystem M40 -bakteerikuljetusputken näytteenottotikku.....	22
5	TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT.....	23
6	TUTKIMUKSEN MENETELMÄLLISET VALINNAT.....	24
7	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS.....	25
7.1	Esitutkimuksen suorittaminen.....	26
7.2	Tutkimuksen suorittaminen.....	26
7.2.1	Bakteerinäytteen valmistus.....	27
7.2.2	Bakteerikuljetusputkien inokulaatio ja säilytysajat jääkaappilämpötilassa.....	28
7.2.3	Bakteerinäytteiden viljely elatusainemaljoille.....	29
7.2.4	Bakteeripesäkkeiden laskeminen elatusainemaljoilta.....	30
8	TUTKIMUSAINESTON ANALYSOINTI.....	31
9	TULOKSET.....	32
9.1	Salmonella typhimurium -näytteet.....	32
9.2	Shigella sonnei -näytteet.....	33
9.3	Yersinia enterocolitica -näytteet.....	34
9.4	Campylobacter jejuni -näytteet.....	34
10	TULOSTEN TARKASTELU.....	35
10.1	Salmonella typhimurium.....	35
10.2	Shigella sonnei.....	36
10.3	Yersinia enterocolitica.....	37
10.4	Campylobacter jejuni.....	38
11	JOHTOPÄÄTÖKSET.....	39
12	TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS.....	40
12.1	Validiteetti.....	40
12.2	Reliabiliteetti.....	41
12.3	Eettisyys.....	43

13 JATKOTUTKIMUSAIHEET	44
LÄHTEET.....	45

LIITTEET

Liite 1	Potilasohje uloste viljelynäytteenottoon
Liite 2	Toimeksiantosopimus
Liite 3	Tutkimuksessa käytettyjen bakteerikuljetusputkien tunnistetiedot
Liite 4	Tutkimuslupa
Liite 5	Työohje pakastetaltioitujen bakteerikantojen sulatukseen ja viljelyyn
Liite 6	Työohje alkuperäisen bakteerinäytteen pitoisuuden määrittämiseen
Liite 7	Bakteerikuljetusputkien inokulaatio-ohje
Liite 8	FecalSwab-bakteerikuljetusputken laimennossarjan valmistusohje
Liite 9	Transystem M40 -bakteerikuljetusputken laimennossarjan valmistusohje
Liite 10	Bakteerikuljetusputkista viljeltävät laimennossarjat
Liite 11	Hajotusviljelytekniikka
Liite 12	Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet
Liite 13	Bakteeripitoisuuden laskeminen

1 JOHDANTO

Ripulitaudit kuuluvat ihmisen yleisimpiin infektioihin ja ovat kaikenikäisten ongelma. Ihmiselle ripulia aiheuttavat sekä bakteerit, virukset että alkueläimet. Aikuisilla ripulitautien merkitys on erityisen suuri matkailun johdosta. (Mattila & Järvinen 2011, 475, 478.) Matkailija saa matkakohteessaan paitsi elämyksiä myös sekalaisen määrän paikallisia mikrobeja (Lääveri, Kantele, Hakanen & Mattila 2010, 403). Ripulitaudit ovat yleisin matkailijoiden terveysongelma, mitataanpa sitä yleisyydellä, sairauspäivillä tai vakuutuskorvauksilla (Nohynek, Siikamäki, Peltonen & Kantele 2011, 753). Vuosittain koko maailmassa ripulitautiin sairastuu matkansa aikana tai kotiin palattuun jopa 10 miljoonaa ihmistä ja Suomessa keskimäärin 100 000 ihmistä (Mattila & Järvinen 2011, 474). Maailman laajuisesti matkailijoiden ripulitaukeista jopa 80 prosenttia on bakteerien aiheuttamia (Lääveri ym. 2010, 403).

Suomessa yleisimpiä bakteeriripulin taudinaiheuttajia ovat salmonellat, shigellat, yersiniat ja kampylobakteerit (Koskela & Tarkka 2009, 242). Perusterveellä henkilöllä bakteeriripuli on yleensä itsestään ohimenevä, mutta se voi aiheuttaa vakavia seurauksia pienille lapsille, vanhuksille, raskaana oleville sekä henkilöille, joiden vastustuskyky on puutteellinen (Nohynek ym. 2011, 753–755; Lääveri ym. 2010, 406–407). Tapauskohtaisesti harkiten potilaalta otetaan ulosteviljelynäyte, esimerkiksi jos taudinaiheuttajan epäillä olevan yleisvaarallinen tartuntatauti. Koska taudinaiheuttajaa ei voida päätellä oireiden perusteella, otetaan ulosteviljelynäyte diagnoosin varmistamiseksi. (Mattila & Järvinen 2011, 495–496.) Osa bakteeriripulin taudinaiheuttajista kuolee nopeasti epäedullisissa olosuhteissa, joten ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusolosuhteiden on oltava optimaaliset taudinaiheuttajien säilyvyyden varmistamiseksi (vrt. Koskela & Tarkka 2009, 242–243; Miller, Holmes & Krisher 2003, 56; Klossner 2001, 39). Ulosteviljelynäytteestä tehdään kliinisen mikrobiologian laboratoriossa ulosteen bakteeriviljely 1 -tutkimus, johon on koottu yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien viljelytutkimukset (Siitonen & Haukka 2005, 176).

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyttä kahdessa eri bakteerikuljetusputkessa. Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka bakteeriripulin taudinaiheuttajien bakteeripitoisuudet muuttuvat säilytyksessä

ajan funktiona ja millaisia eroja bakterikuljetusputkien välillä ilmenee taudinaiheuttajien säilyvyydessä bakterikuljetusputkissa. Opinnäytetyön toimeksiantajana oli Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) Joensuun aluelaboratorion mikrobiologian osasto. Toimeksiantajasta käytetään tässä opinnäytetyössä termiä Joensuun klinisen mikrobiologian laboratorio. Tutkimus tehtiin yhteistyössä bakterikuljetusputkien valmistajan Copan Italia S.p.A:n sekä heidän jälleenmyyjänsä Mekalasi Oy:n kanssa. Bakterikuljetusputket tutkimukseen saatiin Copan Italia S.p.A:lta.

2 YLEISIMMÄT BAKTEERIRIPULIN TAUDINAIHEUTTAJAT

Yleisimpiä bakteriripulin taudinaiheuttajia ovat salmonellat, shigellat, yersiniat ja kampylobakteerit, joita kutsutaan myös suolistopatogeeneiksi (Farmer 2003, 636; Nachamkin 2003, 902). Suomessa todetaan vuosittain noin 7 000 bakteriripulitartuntaa (Siitonen & Lyytikäinen 2008, 70). Todellisten tartuntojen määrään arvioidaan kuitenkin olevan moninkertainen raportoitujen määrään nähden, sillä vain osa sairastuneista haakeutuu terveydenhuoltoon (Mattila & Järvinen 2011, 480; Rautelin 2007, 218). Suomessa yleisin bakteriripulin taudinaiheuttaja on kampylobakteeri. Se on ollut salmonellaa yleisempi tartuntalöydös vuodesta 1998 lähtien. (Rossow & Kuusi 2010a, 19–21; Ruutu & Puska 2010, 5.) Yersiniat ovat kampylobakteerien ja salmonellojen jälkeen tavallisimpia taudinaiheuttajia (Huovinen, Kuusi, Sihvonen, Haukka & Siitonen 2006, 4816). Shigellatartuntojen ilmaantuvuus on huomattavasti pienempi verrattuna muihin bakteriripulin taudinaiheuttajiin (Rossow & Kuusi 2010b, 21–22).

Bakteriripulin taudinaiheuttajat eivät kuulu ihmisen suoliston normaaliflooraan. Salmonellat, yersiniat ja kampylobakteerit ovat zoonoottisia taudinaiheuttajia eli ihmisen ja eläimen välillä suoraan tai välillisesti tarttuvia tauteja. (Rautelin 2007, 217, 219–220; Siitonen & Vaara 2007, 177, 184, 190, 192–193.) Välillinen tartunta voi tapahtua esimerkiksi elintarvikkeiden tai veden välityksellä (Zoonoosikeskus 2011). Shigellatartunta on aina peräisin shigellaa erittävän ihmisen ulosteesta (Mattila & Järvinen 2011, 485). Shigellat tarttuvat erittäin herkästi ja leviävät muista bakteriripulin taudinaiheuttajista poiketen myös kosketustartunta (Bopp, Brenner, Fields, Wells & Strockbine 2003, 660). Ripulitauteja aiheuttavien bakteerien tartunnat muistuttavat oireiltaan toisi-

aan, mutta kampylobakteeritartunnoissa oireet ovat usein voimakkaimpia (Mattila & Järvinen 2011, 480, 484–485; Mattila, Siitonen & Peltola 2001, 1454).

Salmonellat ja shigellat luokitellaan yleisvaarallisiksi tartuntataudeiksi (L583/1986; A786/1986). Tämä ei johdu siitä, että bakteereja pidetään erityisen vaarallisina, mutta niiden torjunta edellyttää, että tietyissä ammateissa toimivien henkilöiden työskentelyä rajoitetaan, kunnes bakteerin erittyminen ulosteeseen lakkaa (Siitonen & Vaara 2007, 189). Tällaisia riskitöitä ovat esimerkiksi vastasyntyneiden parissa työskentely, eräät vesilaitoksen työt sekä työtehtävät, joissa käsitellään pakkaamattomia ja helposti pilaantuvia elintarvikkeita. Henkilöön, joka ei työskentele edellä mainituissa riskitöissä tai joka sairastaa kampylobakteerien tai yersinioiden aiheuttamaa ripulitautia, ei yleensä sovelleta työskentelyä rajoittavia määräyksiä. (Kuusi, Jalava, Siitonen & Ruutu 2007, 5; Siitonen & Vaara 2007, 189–190.) Yleisohjeena on, että bakteeriripuliin sairastuneen tulee kuitenkin välttää elintarvikkeiden käsittelyä ja ruuan valmistusta sekä huolehtia tehostetusta käsi- ja wc -hygieniasta tartunnan leviämisen ehkäisemiseksi (Mattila & Järvinen 2011, 481).

2.1 Salmonellat

Salmonella-suku jaetaan kahteen lajiin, *Salmonella enterica* ja *Salmonella bongori*. Näistä ensimmäiseen kuuluu 6 alalajia (subspecies [ssp.]), joista *S. enterica* ssp. *enterica* on yleisin salmonellalöydös ihmisiltä ja tasalämpöisiltä eläimiltä. Muita alalajeja löytyy yleisesti vaihtolämpöisiltä eläimiltä, joiden normaaliflooraan useat erilaiset salmonellat kuuluvat. (Siitonen & Vaara 2007, 184–185; Bopp ym. 2003, 663, 665.) Suomessa yleisimmät bakteeriripulia aiheuttavat salmonellat ovat *S. enteritidis* ja *S. typhimurium* (Mattila & Järvinen 2011, 480). Valtaosa todetuista salmonellatartunnoista on peräisin ulkomailta (Kirstilä 2001, 5117).

Salmonellatartunta saadaan tyypillisesti ihmisen tai eläimen ulosteilla kontaminoituneiden (saastuneiden) elintarvikkeiden tai veden välityksellä (Kyyhkyinen, Korkeila & Siitonen 2004, 4275; Bopp ym. 2003, 665). Salmonellat ovat fakultatiivisia anaerobeja eli ne voivat lisääntyä sekä hapellisissa että hapettomissa olosuhteissa (Mattila & Järvinen 2011, 480; Hokajärvi, Pitkänen, Torvinen & Miettinen 2008, 20). Ne säilyvät hengissä

suoliston ulkopuolella ja mikäli säilytysolosuhteet ovat sopivat ja kuumennus on riittämätöntä, salmonellat pääsevät lisääntymään elintarvikkeissa (Mattila & Järvinen 2011, 480). Tartuntaan vaadittava infektiivinen (tartuttava) bakteriannos on suuri, yli 10 000 bakteeria (Mattila & Järvinen 2011, 480; Hokajärvi ym. 2008, 18). Epidemioita ilmenee usein tilanteissa, joissa suurelle joukolle valmistetaan kuumentamattomista tai vaillinaisesti kuumennetuista aineksista ruokia, ja niitä säilytetään pitkiä aikoja huoneenlämmössä (Kyyhkynen ym. 2004, 4275). Suomessa on todettu myös useita epidemioita, joissa tartunnanlähteenä ovat olleet sinimailaksen ja mung-pavun raa'at ituversot (Peltonen, Kanerva, Kuusi, Kyyhkynen & Siitonen 2003, 4350).

Salmonellat aiheuttavat tyypillisesti bakteeriripulin (salmonellaenteritiin), mutta myös vakavia yleisinfektioita. Salmonellaenteritiin itämisaika on keskimäärin 6–72 tuntia. Yleisimmät oireet ovat äkillinen ripuli, vatsakivut ja kuumeilu. Oireet kestävät 4–10 päivää, mutta salmonelloja erittyy ulosteeseen vielä kliinisten oireiden hävittyäkin. Keskimääräinen bakteerien eritysaika on noin 4–5 viikkoa. Salmonellaenteritiin hoidossa riittää yleensä yleiskunnosta huolehtiminen ja nestetasapainon ylläpitäminen. Vakavat yleisinfektiot ja pitkittyneet tai kliinisesti vaikeat salmonellaenteritiitit vaativat kuitenkin mikrobilääkehoitoa. (Mattila & Järvinen 2011, 479–481; Siitonen & Vaara 2007, 184–185, 187–188.)

2.2 Shigellat

Shigella-suku jaetaan neljään lajiin, jotka ovat *Shigella dysenteriae*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri* ja *Shigella sonnei* (Bopp ym. 2003, 659). Suomessa yleisimmät lajit ovat *S. flexnerin* ja *S. sonnei* (Rossow & Kuusi 2010b, 21–22; Siitonen & Vaara 2007, 190, 192). Valtaosa todetuista tartunnoista on peräisin ulkomailta (Mattila & Järvinen 2011, 485; Rossow & Kuusi 2010b, 21–22).

Shigelloja esiintyy ihmisten ja muiden kädellisten suolistossa, josta ne erittyvät ulosteeseen (Bopp ym. 2003, 660). Ne voivat olla joko aerobeja eli kykenevät kasvamaan happellisissa olosuhteissa tai salmonellojen tapaan fakultatiivisia anaerobeja (Hokajärvi ym. 2008, 22). Shigellat leviävät herkästi, sillä niiden infektiivinen bakteriannos on

pieni, vain 10–500 bakteeria (Siitonen & Vaara 2007, 192). Shigellatartunta on aina peräisin shigellaa erittävän ihmisen ulosteesta (Mattila & Järvinen 2011, 485).

Tartunta voidaan saada myös elintarvikkeiden tai juomaveden välityksellä, jotka ovat kontaminoituneet tartunnan saaneen henkilön huonon käsihygienian seurauksena tai esimerkiksi vihanneksista tai juureksista, jotka ovat kontaminoituneet kastelu- tai huuhteluveden välityksellä. Shigellat tarttuvat suhteellisen herkästi myös uimavedestä sekä kosketustartuntana esimerkiksi kättelyssä. (Mattila & Järvinen 2011, 485.) Tartunnat leviävät tyypillisesti tilanteissa, joissa hygieniataso on alhainen ja ihmistiheys suuri (Bopp ym. 2003, 660).

Shigellat aiheuttavat sekä veristä ripulia (dysenteria, punatauti) että veretöntä ripulia (Siitonen & Vaara 2007, 190; Bopp ym. 2003, 660). Shigellojen aiheuttamaa bakteeriripulia kutsutaan shigelloosiksi. Taudin itämisaika on keskimäärin 1–7 vuorokautta. Oireina ovat ripulin lisäksi kuume, pahoinvointi ja vatsakivut. Oireiden kesto on yleensä 5–7 vuorokautta, mutta shigelloja erittyä ulosteeseen vielä oireiden hävittyä, harvoin 3 kuukautta kauemmin. Suomessa suositellaan toistaiseksi mikrobilääkitystä kaikissa tapauksissa, joissa sen käytölle ei ole vasta-aiheita. Näin paraneminen ja bakteerien erityksen loppuminen nopeutuvat. (Mattila & Järvinen 2011, 485–486; Siitonen & Vaara 2007, 191.)

2.3 Yersiniat

Yersinia-suvusta tunnetaan tällä hetkellä 14 lajia. Ihmiselle taudinaiheuttamiskykyiset lajit ovat *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* ja *Y. pestis*. (Sihvonen, Nissinen & Siitonen 2009, 252.) *Y. enterocolitica* ja *Y. pseudotuberculosis* aiheuttavat bakteeriripulia. *Y. pestis* on historiallinen kirppujen puremien välityksellä leviävä ruttobasilli, mustan surman aiheuttaja. (Siitonen & Vaara 2007, 192–194; Siitonen & Haukka 2005, 175.) Seuraavassa yersinioilla tarkoitetaan *Y. enterocolitica* ja *Y. pseudotuberculosis* -bakteereja. Suomessa todetut yersiniatartunnat ovat oletettavasti peräisin valtaosin kotimaasta (Mattila & Järvinen 2011, 476, 485; Siitonen & Haukka 2005, 175).

Yersiniat leviävät pääasiassa kontaminoituneiden elintarvikkeiden välityksellä (Huovinen, Kuusi, Sihvonen, Haukka & Siitonen 2006, 4813). Tartuntaan vaadittava infektiivinen bakteeriannos on suuri, yli 10 000 bakteeria (Mattila & Järvinen 2011, 485). Yersiniat ovat fakultatiivisia anaerobeja, ja muista bakteeriripulin taudinaiheuttajista poiketen ne pystyvät lisääntymään jääkaapissa elintarvikkeiden säilytyksen aikana (Siitonen & Haukka 2005, 175; Bockemühl & Wong 2003, 672, 675). Merkittävimpänä *Y. enterocolitica* reservoaarina (varastona) pidetään sikaa, jonka nielurisoissa ja suolistossa bakteeria esiintyy yleisesti (Siitonen & Haukka 2005, 175). Teurastuksen yhteydessä taudinaiheuttaja voi siirtyä sianlihaan, esimerkiksi jos ruho kontaminoituu ulosteella (Hallanvuori 2009, 45). Tartunta saadaan tyypillisesti maistamalla raakaa sian jauhelihaa tai sisäelimiä (Siitonen & Vaara 2007, 194). *Y. pseudotuberculosis* -bakteerin reservoaareja ovat monet luonnonvaraiset eläimet, kuten esimerkiksi jyräjät, linnut ja jänikset (Mattila & Järvinen 2011, 485). Tartunnanlähteinä ovat usein vihannekset, jotka ovat kontaminoituneet esimerkiksi eläinten ulosteiden tai saastuneen kasteluveden välityksellä (Penttinen 2006a, 4594).

Viimeisen kymmenen vuoden aikana yersiniat ovat aiheuttaneet Suomessa useita tuoretuotteisiin liittyviä ruokamyrkytys-epidemioita (Ruutu & Puska 2010, 5). *Y. enterocolitica* on harvinaisempi epidemioiden aiheuttaja, kun taas *Y. pseudotuberculosis* aiheuttaa ruokamyrkytys-epidemioita vuosittain (Korkeala & Lindström 2009, 681; Huovinen ym. 2006, 4813). Epidemioiden tartuntalähteinä ovat olleet muun muassa *Y. pseudotuberculosis* -bakteerilla kontaminoituneet porkkanat ja jäävuorisalaatti (Kuusi, Rimhanen-Finne, Lukinmaa & Siitonen 2010, 29).

Yersinioiden aiheuttaman bakteeriripulin eli yersinioosin itämisaika on 4–7 vuorokautta (Mattila & Järvinen 2011, 485). Taudin oireet ovat vaihtelevia. Osa yersiniooseista on hyvin lieviä, osa kuumeisia ja osa hyvin kivuliaita suoliston alueen imurauhastulehduksia (Siitonen & Vaara 2007, 193). Pahimmillaan oireet voivat muistuttaa umpilisäkkeen tulehdusta, mikä voi johtaa umpilisäkkeen turhaan poistoon. Oireet kestävät muutamasta päivästä jopa kolmeen viikkoon. Tauti paranee yleensä itsestään, mutta kliinisesti vaikeat yersinioosit vaativat mikrobilääkehoitoa. (Mattila & Järvinen 2011, 485; Siitonen & Vaara 2007, 193–194.)

2.4 Kampylobakteerit

Campylobacter-suvusta tunnetaan tällä hetkellä 16 lajia, joista *Campylobacter jejuni* ja *Campylobacter coli* ovat tärkeimmät ihmiselle infektioita aiheuttavat kampylobakteerit (Rautelin 2007, 217; Nachamkin 2003, 902). Seuraavassa kampylobakteereilla tarkoitetaan *C. jejuni* ja *C. coli* -bakteereja. Valtaosa Suomessa todetuista tartunnoista on peräisin ulkomailta (Mattila & Järvinen 2011, 483).

Kampylobakteerit leviävät tyypillisesti kontaminoituneiden elintarvikkeiden ja veden välityksellä (Penttinen 2006b, 2867; Rautelin & Hänninen 2004, 406). Niitä esiintyy runsaasti eri eläinlajien suolistossa, esimerkiksi naudoilla, sioilla ja siipikarjalla, ja ne voivat teurastuksen yhteydessä kontaminoida ruhon pinnan. Toisin kuin salmonelat ja yersiniat, kampylobakteerit eivät pysty lisääntymään ruoassa. Kampylobakteerit ovat mikroaerofiilejä, jotka eivät kestä normaalia happipitoisuutta, mutta kykenevät kasvaamaan matalassa happipitoisuudessa. Ne vaativat lisääntyäkseen myös suhteellisen korkean lämpötilan, optimaalilämpötila on 42 °C. Kampylobakteerit säilyvät kuitenkin elinkykyisinä pitkiä aikoja epäsuotuisissa olosuhteissa, ja niiden infektiivinen bakteeriansa on pieni. (Rautelin 2007, 217–220; Penttinen 2006b, 2867.) Jo muutaman sadan bakteerin nauttiminen voi johtaa tartuntaan. Tartunta voidaan saada myös kontaktissa kampylobakteeria kantaviin eläimiin, mukaan lukien kotieläimet. Tartunta sairastuneesta henkilöstä toiseen on harvinaista. (Rautelin 2007, 218–220.)

Kampylobakteerit leviävät tehokkaasti kontaminoituneen juomaveden välityksellä. Rengaskaivoveden juominen on yksi merkittävimmistä riskitekijöistä. Kampylobakteereja esiintyy myös luonnonvesissä, ja tartunnan voi siten saada myös luonnonvedessä uimassa. (Mattila & Järvinen 2011, 484; Penttinen 2006b, 2866.) Viimeisten kymmenen vuoden aikana kampylobakteerit ovat aiheuttaneet useita juomavesivälitteisiä epidemioita, jotka ovat liittyneet muun muassa kunnallisiin vedenottamoihin ja juomavetenä käytettyyn luonnon veteen. Tartunnoille on tyypillistä myös vuodenaikaisvaihtelu. Kotimaisia laajoja vesivälitteisiä epidemioita esiintyy loppukesällä ja alkusyksyllä. (Kuusi ym. 2010, 29; Rautelin & Hänninen 2004, 406-407.) Kampylobakteerien aiheuttamat elintarvikeperäiset ruokamyrkytykset ovat puolestaan tyypillisesti yksittäisiä ja epidemiat pieniä (Kuusi ym. 2010, 29).

Kampylobakteerien aiheuttaman bakteeriripulin eli kampylobakterioosin itämisaika on 1–7 vuorokautta (Mattila & Järvinen 2011, 484). Yleisoreita ovat ripuli, vatsakivut, pahoinvointi ja kuume. Ripuli voi olla myös veristä. (Rautelin & Hänninen 2004, 405.) Ripulioireet kestävät 3–5 vuorokautta, mutta esimerkiksi vatsakivut voivat jatkua jopa viikkoja, ja ne ovat useilla potilailla voimakkaampia kuin muissa bakteeriripuleissa. Kampylobakteereja erittyy ulosteeseen keskimäärin 2–3 viikon ajan. (Mattila & Järvinen 2011, 484.) Tauti on yleensä itsestään ohimenevä, mutta vaikeita ja pitkittyneitä oireita voidaan hoitaa mikrobilääkityksellä (Mattila & Järvinen 2011, 484; Rautelin 2007, 218–219).

3 PREANALYYTTISTEN TEKIJÖIDEN VAIKUTUS BAKTEERIRIPULIDIAGNOSTIIKASSA

Laboratoriotutkimusprosessin preanalyttinen vaihe luo perustan luotettaville laboratoriotutkimustuloksille (Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 12). Preanalyttiset tekijät ovat näytteen analysointia edeltäviä asioita, jotka vaikuttavat keskeisesti analyysin lopputulokseen (Matikainen ym. 2010, 12; Liimatainen 1999, 26). Kliinisessä laboratorioissa ennen näytteen analysointia tapahtuvilla toimenpiteillä on olennainen vaikutus luotettavan ja oikea-aikaisen laboratoriotuloksen aikaansaamiseen (Linko 2007, 21). Klossnerin (2001, 39) mukaan virheelliset preanalyttiset tekijät bakteeriripulidiagnostiikassa voivat johtaa pahimmassa tapauksessa jopa väärään taudinmäärittelyyn, eikä esimerkiksi virheellisesti säilytettyjä ulosteiljelynäytteitä tulisi tutkia.

Mikrobiologisissa tutkimuksissa tärkeimpiä preanalyttisia tekijöitä ovat näytteenottoa edeltävä mikrobilääkitys, näytteenotto sekä näytteen säilytys- ja kuljetusolosuhteet ennen analysointia (Markkanen 2000, 172; Liimatainen 1999, 26). Bakteeninäyte pyritään ottamaan aina ennen mikrobilääkehoidon aloittamista, mutta esimerkiksi vakavissa infektiotapauksissa näyte voidaan joutua ottamaan vasta mikrobilääkehoidon aloituksen jälkeen (Karhumäki, Jonsson & Saros 2010, 199–200; Ylönen 2005, 102; Liimatainen 1999, 26). Bakteeninäytteessä pienikin määrä mikrobilääkettä voi estää herkän taudinaiheuttajan kasvun, jolloin taudinaiheuttaja voi jäädä diagnosoimatta (Ylönen 2005, 102). Koska mikrobilääkitystä käytetään suhteellisen harvoin bakteeriripulin hoidossa (poik-

keuksena shigelloosi) (vrt. Mattila & Järvinen 2011, 481, 484–486, 498–499), uloste-
viljelynäytteenottoa sekä ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusolosuhteita voidaan pi-
tää bakteeriripulidiagnostiikan keskeisinä preanalyttisinä tekijöinä (vrt. Klossner 2001,
39).

Tuokko, Rautajoki ja Lehto (2008, 90) sekä Ylönen (2005, 99) korostavat potilasohja-
uksen tärkeyttä. Olennaista on, että potilas ymmärtää saamansa näytteenotto-ohjeet ja
pystyy toimimaan niiden mukaisesti (Ylönen 2005, 99). Oikeaoppisen näytteenoton
lisäksi myös näytteen säilytys- ja kuljetusolosuhteiden on oltava asianmukaiset, jotta
voidaan taata bakteerien paras mahdollinen säilyvyys ennen näytteen analysointia (Mil-
ler ym. 2003, 55–56; Liimatainen 1999, 26). Esimerkiksi bakteerien lukumäärä näyt-
teessä muuttuu nopeasti epäsopivien säilytys- ja kuljetusolosuhteiden seurauksena. Bak-
teerinäytteen säilytys- ja kuljetusolosuhteita ovat näytteen säilytys- ja kuljetusmuoto
sekä säilytykseen ja kuljetukseen kuluva aika sekä vallitseva lämpötila. (Karhumäki ym.
2010, 199; Liimatainen 1999, 26.)

3.1 Ulosteviljelynäytteenotto

Bakteeriripulidiagnostiikassa potilas ottaa ulosteviljelynäytteen omatoimisesti. Potilaal-
le annetaan selkeät ohjeet sekä suullisesti että kirjallisesti, jotta näytteenotto onnistuisi
toivotulla tavalla. (Koskela & Tarkka 2009, 243; Tuokko ym. 2008, 90.) Itä-Suomen
laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän toimialueella käytettävä ulosteviljely-
näytteenoton potilasohje on liitteessä 1.

Ulosteviljelynäyte tulisi ottaa 1–2 vuorokauden sisällä suolisto-oireiden alettua, jolloin
taudinaiheuttajaa on näytteessä eniten (Koskela & Tarkka 2009, 242; Farmer 2003,
647). Potilas ulostaa puhtaaseen näytteenottoastiaan, esimerkiksi kaarimaljaan. Ulostev-
iljelynäytettä ei saa ottaa WC-istuimen altaasta sen likaisuuden vuoksi. (Matikainen
ym. 2010, 105.) Näyte otetaan ulosteessa mahdollisesti esiintyvistä märkäisestä, limai-
sesta tai verisestä kohdasta (Koskela & Tarkka 2009, 242; Tuokko ym. 2008, 98). Bak-
teeriripulidiagnostiikkaan soveltuvia ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusmuotoja
ovat steriilit bakteerikuljetusputket sekä tehdaspuhtaat ulostekuljetuspurkit (Koskela &
Tarkka 2009, 242–243).

Vaihtoehtoisesti uloste viljelynäyte voidaan ottaa myös peräsuolesta (peräsuolinäyte) (Bopp ym. 2003, 654; Nachamkin 2003, 904). Pesäsuolinäyte tulee ottaa bakteerikuljetusputkeen (Forbes, Sahm & Weissfeld 2002, 6). Näytteenotossa on tärkeää huomioida, että näytteenottotikun päähän saadaan näkyvää ulostetta (Bopp ym. 2003, 654). Peräsuolinäyte ei kuitenkaan ole suositeltavin näytemuoto bakteeriripulidiagnostiikassa, erityisesti aikuisilla potilailla. Sitä suositellaan käyttäväksi vain, jos näytteenotto suoraan ulosteesta ei ole mahdollista. (Forbes ym. 2002, 967.)

3.2 Ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusmuoto

Mikrobiologisen näytteen säilytys- ja kuljetusmuoto tulee valita niin, että mahdollinen taudinaiheuttaja säilyy elinkykyisenä näytteen säilytyksen ja kuljetuksen ajan (Miller ym. 2003, 56). Laboratorion ohjeistuksesta riippuen, ulosteviljelynäyte otetaan joko kahteen bakteerikuljetusputkeen tai ulostekuljetuspurkkiin sekä bakteerikuljetusputkeen (Karhumäki ym. 2010, 235; Koskela & Tarkka 2009, 242–243). Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän toimialueella ulosteviljelynäyte suositellaan otettavan molempiin kuljetusmuotoihin (ISLAB 2011a, 1).

Koskelan ja Tarkan (2009, 242) mukaan shigellat ja kampylobakteerit ovat herkkiä ulosteen pH-muutoksille, minkä vuoksi bakteerikuljetusputki on suositeltava kuljetusmuoto näille taudinaiheuttajille. Myös Forbes ym. (2002, 12) toteavat shigellan olevan erittäin herkkä pH:n muutoksille. Salmonellat taas säilyvät hyvin ulosteviljelynäytteessä, minkä vuoksi näytettä voidaan säilyttää myös kuljetuspurkissa (vrt. Koskela & Tarkka 2009, 242; Siitonen & Vaara 2007, 187). Useat eri kirjallisuuslähteet suosittelvat, että ulosteviljelynäyte otetaan bakteerikuljetusputkeen aina, kun näytteen säilytys ja kuljetus kestävät kauemmin kuin kaksi tuntia (Bopp ym. 2003, 654; Farmer 2003, 647; Nachamkin 2003, 904; Forbes ym. 2002, 967).

3.3 Ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusaika sekä kuljetuslämpötila

Yleisohjeena on, että mikrobiologinen näyte tulee toimittaa analysoivaan laboratorioon mahdollisimman nopeasti, jotta bakteerien määräsuhteet pysyisivät samana kuljetuksen

aikana näytteenottohetken verrattuna (Carlson & Koskela 2011, 51). Pitkän säilytys- ja kuljetusajan seurauksena näytteen normaaliflooraan kuuluvat bakteerit voivat lisääntyä ja vaikeuttaa taudinaiheuttajien diagnosointia normaaliflooran joukosta (Karhumäki ym. 2010, 199). Ulosteen normaaliflooran bakteerit lisääntyvät huoneenlämmössä jo lyhyessä ajassa nopeasti, ja ne kestävät erilaisia olosuhteita hyvin. Bakteriripulin taudinaiheuttajia voi ulosteviljelynäytteessä olla vähän, ja useimmat niistä säilyvät huonosti epäedullisissa olosuhteissa. Ne saattavatkin siten jäädä nopeasti lisääntyvän normaaliflooran peittämiksi. (Klossner 2001, 39.)

Klossnerin (2001, 39) mukaan bakterikuljetusputkeen otettu ulosteviljelynäyte tulisi viljellä 24 tunnin sisällä näytteenotosta. Forbes ym. (2002, 7) toteavat, että ulosteviljelynäyte tulisi toimittaa laboratorioon 24 tunnin sisällä näytteenotosta ja näyte tulisi viljellä viimeistään 72 tunnin kuluessa näytteenotosta, kun näytettä on säilytetty jääkaappilämpötilassa. Miller ym. (2003, 56) korostavat, että shigelloosia epäiltäessä ulosteviljelynäyte tulisi viljellä välittömästi näytteenoton jälkeen, koska shigellat kuolevat nopeasti näytteen säilytyksen ja kuljetuksen aikana.

Pääsääntöisesti ulosteviljelynäytettä tulee säilyttää jääkaappilämpötilassa 4 °C:ssa, jos viljelyä ei voida tehdä heti näytteenoton jälkeen (Forbes ym. 2002, 7, 14, 476; Klossner 2001, 39). Miller ym. (2003, 57) toteavat, että shigellan, yersinian ja kampylobakteerin aiheuttamaa bakteriripulia epäiltäessä, ulosteviljelynäytettä tulisi säilyttää jääkaappilämpötilassa 4 °C:ssa ja salmonellaenteriiittiä epäiltäessä huoneenlämmössä 25 °C:ssa. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän toimialueella ulosteviljelynäytettä suositellaan säilytettävän jääkaappilämpötilassa (ISLAB 2011a, 1).

4 BAKTEERIKULJETUSPUTKET BAKTEERIRIPULIDIAGNOSTIIKASSA

Mikrobiologisessa näytteenotossa on tärkeää, että näyte otetaan oikeasta paikasta, oikeaan aikaan, säilytetään asianmukaisesti ja kuljetetaan mahdollisimman nopeasti analysoivaan laboratorioon (Liimatainen 2010, 57; Tuokko ym. 2008, 90; Ylönen 2005, 99). Koska osa bakteriripulin taudinaiheuttajista on herkkiä erilaisille olosuhdemuutoksille,

ulosteviljelynäytteen säilytys- ja kuljetusmuoto on valittava huolella (vrt. Koskela & Tarkka 2009, 242–243; Miller ym. 2003, 56). Useat eri kirjallisuuslähteet suosittelevat ulosteviljelynäytteenottoon bakterikuljetusputkea (Bopp ym. 2003, 654; Farmer 2003, 647; Nachamkin 2003, 904; Forbes ym. 2002, 967).

Bakterikuljetusputkia on useita erilaisia (Mekalasi Oy 2010, 3–7). Perinteinen geelikuljetusputki sisältää steriilin näytteenottotikun sekä putken sisällä olevaa pehmeää agargeeliä (Carlson & Koskela 2011, 51). Tässä opinnäytetyössä agargeelistä käytetään termiä kuljetusalusta. Tuokon ym. (2008, 91) ja Ylösen (2005, 101) mukaan näytteenottotikkujen vanupäät ovat puuvillaa, dacronia tai muuta keinokuitua. Copan Italia S.p.A käyttää geelikuljetusputkien näytteenottotikuissa raion-vanua (Pentikäinen 2011). Perinteisten geelikuljetusputkien rinnalle ovat tulleet uuden tyyppiset, Liquid Based Microbiology (LBM) -tuoteperheeseen kuuluvat bakterinkuljetusputket, jotka sisältävät nailonisen nukkatikun sekä nestemäisen tai puolijuoksevan kuljetusalustan (Copan Italia S.p.A 2011, 2–15).

4.1 Bakterikuljetusputkien kuljetusalustat

Bakteeriripulidiagnostiikkaan soveltuvien bakterikuljetusputkien kuljetusalustojen ravinnepitoisuuksien tulee olla matalat, jotta voidaan ehkäistä ulosteen normaaliflooraan kuuluvien bakteerien liikakasvua (Sewell 2003, 35). Tämä on tärkeää, koska bakteriripulin taudinaiheuttaja voi jäädä diagnosoimatta, jos se jää nopeasti lisääntyvän normaaliflooran peittämäksi (vrt. Klossner 2001, 39). Kuljetusalustojen tulee myös estää ulosteviljelynäytteen kuivuminen, koska useimmat bakteriripulin taudinaiheuttajista ovat herkkiä kuivuudelle, ja ne kuolevat nopeasti epäedullisissa olosuhteissa (Sewell 2003, 35).

Bakterikuljetusputkien kuljetusalustat sisältävät spesifisiä ainesosia, jotka edistävät bakteerien säilymistä näytteen kuljetuksen ajan. Tietyt reagenssit muun muassa ylläpitävät kuljetusalustan pH:n optimaalisena bakteereille. (Chapin & Murray 2003, 264.) Esimerkiksi kuljetusalustan puskurointi ehkäisee ulosteviljelynäytteen pH:n vaihtelua (vrt. Sewell 2003, 35). Shigellat ja kampylobakteerit ovat herkkiä pH-muutoksille, mikä vuoksi kuljetusalustan pH:n on pysyttävä optimaalisena ulosteviljelynäytteen säily-

tyksen ja kuljetuksen aikana (vrt. Koskela & Tarkka 2009, 242). Tavallisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilytykseen ja kuljetukseen soveltuvia kuljetusalustoja ovat esimerkiksi Cary-Blair-, modifioitu Cary-Blair- ja Amies-kuljetusalustat (Bopp ym. 2003, 654; Farmer 2003, 636; Miller ym. 2003, 57; Nachamkin 2003, 904).

4.1.1 Modifioitu Cary-Blair -kuljetusalusta

Modifioitu Cary-Blair -kuljetusalusta on kehitetty Cary-Blair-kuljetusalustasta, joka on ensisijaisesti suunniteltu edistämään salmonellojen ja shigellojen säilyvyyttä uloste viljelynäytteessä. Modifioidussa Cary-Blair -kuljetusalustassa agargeelin pitoisuus on matalampi kuin Cary-Blair-kuljetusalustassa. Se on suunniteltu parantamaan erityisesti kampakylobakteerien säilyvyyttä uloste viljelynäytteen säilytyksen ja kuljetuksen aikana. (Sewell 2003, 35.) Nachamkin (2003, 904) toteaa modifioidun Cary-Blair -kuljetusalustan olevan kaiken kaikkiaan paras kuljetusalusta kampakylobakteereille, ja soveltuvan myös muiden bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilytykseen ja kuljetukseen.

Tätä tutkimusta vastaavia, modifioitua Cary-Blair -kuljetusalustaa käsitteleviä aiempia tutkimuksia ei onnistuttu löytämään. 1980-luvun alussa on kuitenkin tutkittu modifioidun Cary-Blair -kuljetusalustan soveltuvuutta *Campylobacter jejuni*in säilytys- ja kuljetusmuodoksi säilytysaikoja ja -lämpötiloja muuttamalla (Wang, Reller, Smallwood, Luechtefeld & Blaser 1983, 803–807; Luechtefeld, Wang, Blaser & Reller 1981, 438–443). Wang ym. (1983, 803) tutkivat *C. jejuni*in säilyvyyttä erilaisissa kampakylobakteerille soveltuvissa rikasteliemissä ja kuljetusalustoissa, mukaan lukien modifioitu Cary-Blair -kuljetusalusta. Tutkimuksessa käytettiin potilaiden uloste viljelynäytteitä, joiden oli diagnosoitu sairastavan *C. jejuni*in aiheuttamaa bakteeriripulua. Näytteet viljeltiin päivittäin, kunnes niistä ei voitu enää diagnosoida *C. jejuni*in bakteerikasvua. Tulosten perusteella *C. jejuni* säilyi paremmin jääkaappilämpötilassa kuin huoneenlämmössä neljässä tutkitussa rikasteliemessä ja kuljetusalustassa, mukaan lukien modifioitu Cary-Blair -kuljetusalusta. Tutkijat toteavat, että jos uloste viljelynäytteen säilytykseen jääkaappilämpötilassa voidaan käyttää vain yhtä säilytys- ja kuljetusmuotoa, kuljetusalustaksi voitaisiin tällöin valita modifioitu Cary-Blair. Tutkijat kuitenkin suosittelevat kahta muuta tutkimuksessa kuvailtua kuljetusalustaa uloste viljelynäytteen säilytys- ja kuljetusmuodoksi huoneenlämmössä. (Wang ym. 1983, 803–806.)

4.1.2 Amies-kuljetusalusta

Amies-kuljetusalusta on yksi yleisimmistä bakteerinäytteenotossa käytettävistä kuljetusalustoista (Forbes ym. 2002, 13). Sitä voidaan käyttää useiden eri bakteerilajien säilytys- ja kuljetusmuotona (Miller ym. 2003, 57; Forbes ym. 2002, 4, 6). Kirjallisuuslähteiden mukaan Amies-kuljetusalusta soveltuu myös uloste- ja ulosteviljelynäytteiden säilytykseen ja kuljetukseen (Bopp ym. 2003, 654; Farmer 2003, 647; Miller ym. 2003, 57). Tätä tutkimusta vastaavia, Amies-kuljetusalustaa käsitteleviä aiempia tutkimuksia ei onnistuttu löytämään. Bakteriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyttä on kuitenkin tutkittu yleisesti Amies-kuljetusalustassa (Dan, Richardson, Miliotis & Koornhof 1989, 151–154; Taylor & Schelhart 1973, 940–944).

Vuonna 1989 julkaistussa tutkimuksessa vertailtiin bakteriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyttä Amies- ja Cary-Blair-kuljetusalustoissa, puskuroidussa glyseroli-suolaliuoksessa sekä ulostekuljetuspurkissa. Tutkimusnäytteet valmistettiin lisäämällä tutkittavia bakteriripulin taudinaiheuttajia ulosteviljelynäytteisiin, jotka oli kerätty terveiltä aikuisilta. Tutkimusnäytteet inokuloitiin (siirrettiin) vertailtaviin säilytys- ja kuljetusmuotoihin, jonka jälkeen niitä säilytettiin jääkaappilämpötilassa, syväjäädettynä sekä nestemäisessä työssä. Tutkimusnäytteiden säilytysajat vaihtelivat viikosta kahtentoista kuukauteen. Tulosten perusteella bakteriripulin taudinaiheuttajat säilyivät jääkaappilämpötilassa pisimmän ajan Cary-Blair-kuljetusalustassa verrattuna muihin säilytys- ja kuljetusmuotoihin. Tutkijat toteavat, että muissa säilytyslämpötiloissa ei havaittu merkittäviä eroja vertailtavien säilytys- ja kuljetusmuotojen välillä. (Dan ym. 1989, 151–154.)

4.2 FecalSwab-bakteerikuljetusputki

FecalSwab-bakteerikuljetusputki kuuluu Liquid Based Microbiology (LBM) -tuoteperheeseen, ja se on tarkoitettu ulostenäytteen säilytykseen ja kuljetukseen (Copan Italia S.p.A. 2011, 2, 9). Yksittäispakattu, steriili pakkaus sisältää nailonisen nukkatikun sekä kierrekorkkisen kuljetusputken, jossa on 2 ml puolijuoksevaa modifioitua Cary-Blair -kuljetusalustaa (Copan Italia S.p.A. 2010a, 1).

4.2.1 FecalSwab-bakteerikuljetusputken käyttöominaisuudet

FecalSwab-bakteerikuljetusputkea voidaan käyttää useisiin eri mikrobiologisiin tutkimusmenetelmiin. Bakteeriripulidiagnostiikassa ulosteviljelynäyte voidaan viljellä elatusainemaljoille näytteenottotikulla tai pipetoimalla kuljetusalustaa suoraan elatusainemaljoille. (Copan Italia S.p.A. 2010a, 1.) FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa olevaa ulosteviljelynäytettä voidaan käyttää myös salmonellan diagnosointiin seleniittirikastusmenetelmällä (Copan Italia S.p.A. 2011, 2, 9; Copan Italia S.p.A. 2010b, 1). Tutkimusten mukaan FecalSwab soveltuu myös mikrobilääkityksen jälkeistä ripulitautia tyypillisesti aiheuttavan *Clostridium difficile* -bakteerin säilytys- ja kuljetusmuodoksi (Altieri, Bossa, Capalbo, Di Traglia & Fontana 2011, 1; Allibardi, Marini, Giambra, Castriciano & Squassina 2010, 1; Castriciano, Kafka, Padman & Lee 2010, 1). FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa olevaa ulostenäytettä voidaan käyttää myös lasten ripulitauteja tyypillisesti aiheuttavien rota- ja adenovirusten ulosteessa olevien antigeenien osoitukseen pikadiagnostiikkamenetelmällä (Castriciano, Booth & Leclipteux 2009, 1).

Vuonna 2011 julkaistussa tutkimuksessa verrattiin FecalSwab-bakteerikuljetusputken ja ulostekuljetuspurkin toimintakykyä keskenään. Potilailta kerättiin ulosteviljelynäytteet molempiin kuljetusmuotoihin, ja näytteet analysoitiin laboratorikohtaisilla tutkimusmenetelmillä. Potilasnäytteistä diagnosoituja taudinaiheuttajia olivat salmonellat ja kampylobakteerit sekä *Clostridium difficile* -bakteerit. Tulokset osoittavat, että taudinaiheuttajia diagnosoitiin useammasta FecalSwab-bakteerikuljetusputkesta kuin ulostekuljetuspurkista. Tutkimuksen perusteella tutkijat toteavat FecalSwab-bakteerikuljetusputken olevan suositeltavampi säilytys- ja kuljetusmuoto ripulitauteja aiheuttaville bakteereille kuin ulostekuljetuspurkki. (Altieri ym. 2011, 1.)

4.2.2 FecalSwab-bakteerikuljetusputken näytteenottotikku

FecalSwab-bakteerikuljetusputkipakkaus sisältää nailonisen nukkatikun, joka on uuden tyyppinen apuväline näytteenottoon. Ulosteviljelynäyte voidaan ottaa nailonisella nukkatikulla sekä ulosteesta että peräsuolesta. Varressa olevan katkaisukohdan ansiosta näytteenottotikku voidaan katkaista kuljetusputkeen. Kun korkki kierretään kuljetusput-

ken päälle, näytteenottotikku kiinnittyy korkkiin, mikä helpottaa työskentelyä. (Copan Italia S.p.A. 2011, 9; Copan Italia S.p.A. 2010a, 1; Copan Italia S.p.A 2010b, 1.)

Näytteenottotikun pää on päällystetty lyhyillä synteettisillä nailonkuiduilla. Nailon on sumutettu näytteenottotikkuun sähköstaattisessa kentässä, jolloin kuidut asettuvat alustaan kohtisuoraan. Nailonkuitujen välisen kapillaarijännitteen ansiosta nukkatikku kerää itseensä runsaasti näytettä. (Copan Diagnostics Inc. 2009a; Mekalasi Oy, 4.) Perinteisestä vanupäisestä näytteenottotikusta poiketen nailoninen nukkatikku ei ime näytettä sisälleen itseensä (Copan Diagnostics Inc. 2009a). Ominaisuuden ansiosta nailonpäästä vapautuu jopa 95 prosenttia kerätystä näytteestä, kun näytteenottotikku asetetaan juoksevaan tai puolijuoksevaan kuljetusalustaan (Copan Italia S.p.A. 2010a, 1).

Vuonna 2006 julkaistu tutkimus tukee edellä kuvattuja nailonisen nukkatikun ominaisuuksia. Nailonisen nukkatikun todettiin vapauttavan 93 prosenttia sisältämästään näytteestä fysiologiseen natriumkloridiin, kun taas perinteinen vanupäinen näytteenottotikku vapautti 30 prosenttia sisältämästään näytteestä. Tulosten perusteella tutkijat toteavat, että koska nailonpäästä vapautuu enemmän näytettä verrattuna perinteiseen näytteenottotikkuun, voidaan olettaa, että tämän seurauksena myös bakteereja siirtyy enemmän viljelyn yhteydessä elatusainemaljalle. (Human & Jones 2006, 1–3.)

4.3 Transsystem M40 -bakteerikuljetusputki

Transsystem M40 -bakteerikuljetusputki kuuluu perinteisiin geelikuljetusputkiin (Copan Diagnostics Inc. 2009b). Se soveltuu useiden erilaisten bakteerilajien säilytykseen ja kuljetukseen sekä jääkaappilämpötilassa että huoneenlämmössä (Copan Italia S.p.A. 2010c, 1). Yksittäispakattu, steriili pakkaus sisältää raion-vanutikun sekä kuljetusputken, jossa on 5 ml:n Amies-kuljetusalusta (Mekalasi Oy 2010, 9).

4.3.1 Transsystem M40 -bakteerikuljetusputken käyttöominaisuudet

Transsystem M40 -bakteerikuljetusputkea voidaan käyttää sekä aerobisten että anaerobisten bakteerien (bakteerit, jotka elävät ja lisääntyvät hapettomissa oloissa) säilytyk-

seen ja kuljetukseen (Copan Italia S.p.A. 2010c, 1). 2000-luvulla on julkaistu useita Transystem M40 -bakteerikuljetusputkea käsitteleviä tutkimuksia (Rishmawi, Ghneim, Kattan, Ghneim, Zoughbi, Abu-Diab, Turkuman, Dauodi, Shomali, El-Razeq Issa, Siriani, Marzouka, Schmid & Hindiyeh 2007, 1278–1283; Arbiq, Rendell & Forward 2006, 1; Morosini, Loza, Gutiérrez, Almaraz, Baquero, Cantón 2006, 19–24; Kramer, Holliday, Kanchana & Thomas 2003, 1–4).

Vuonna 2007 julkaistussa tutkimuksessa selvitettiin muun muassa Transystem M40 -bakteerikuljetusputken soveltuvuutta perinteiseen uloste- ja virtsanäytteenottoon sekä peräsuolinäytteenottoon bakteeriripulidiagnostiikassa. Potilailta kerättiin uloste- ja virtsanäytteet Transystem M40 -bakteerikuljetusputkiin molemmilla näytteenottotekniikoilla, ja näytteet analysoitiin laboratorikohtaisilla tutkimusmenetelmillä. Tutkijat toteavat, että tulosten perusteella uloste- ja virtsanäyte voidaan ottaa Transystem M40 -bakteerikuljetusputkeen sekä suoraan ulosteesta että peräsuolesta. (Rishmawi ym. 2007, 1278–1282.)

Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän toimialueella Transystem M40 -bakteerikuljetusputkea käytetään muun muassa uloste- ja virtsanäytteiden säilytys- ja kuljetusmuotona. Bakteerikuljetusputken käyttö uloste- ja virtsanäytteenotossa on kuvattu liitteessä 1 olevassa Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän toimialueella käytettävän uloste- ja virtsanäytteenoton potilasohjeessa. Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratoriossa Transystem M40 -bakteerikuljetusputken sisältämä uloste- ja virtsanäyte viljellään näytteenottotikulla bakteeriripulin taudinaiheuttajille tarkoitetuille, selektiivisille elatusainemaljoille (ISLAB 2011a, 1).

4.3.2 Transystem M40 -bakteerikuljetusputken näytteenottotikku

Transystem M40 -bakteerikuljetusputkipakkaus sisältää pitkän näytteenottotikun, joka helpottaa bakteerinäytteenottoa hankalastakin näytteenottokohdasta (Mekalasi Oy 2010, 9). Bakteerikuljetusputki on tiimalasin muotoinen, minkä ansiosta ilmakuplat tulevat pois kuljetusalustasta, kun näytteenottotikku asetetaan kuljetusputkeen. Tämä mahdollistaa myös anaerobisten bakteerien säilymisen Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. (Pentikäinen 2011.) Tiimalasimuodon ansiosta näytteenotto-

tikku pysyy näytteen säilytyksen ja kuljetuksen ajan Amies-kuljetusalustan ympäröimänä. Erikoismuotoiltu turvakorkki sulkee bakteerikuljetusputken lukiten sen tiiviisti. (Mekalasi Oy 2010, 9.)

Näytteenottotikun pää on valmistettu raion-vanusta, johon on lisätty kasvisproteiinia parantamaan olosuhdemuutoksille herkkien bakteerien säilymistä Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa (Mekalasi Oy 2010, 9). Näytteenottotikun pää sisältää kasvisproteiinin lisäksi tarkasti valitun määrän liima- sekä sidosaineita. Yhdessä nämä ominaisuudet edistävät bakteerinäytteen säilymistä näytteenottotikussa sekä näytteen vapautumista esimerkiksi bakteeriviljelyn yhteydessä elatusainemaljalle. (Copan Diagnostics Inc. 2009b.)

Vuonna 2004 julkaistussa tutkimuksessa verrattiin viiden erilaisen bakteerilajin säilymistä Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa sekä toisessa Amies-kuljetusalustaa sisältävässä bakteerikuljetusputkessa huoneenlämmössä. Tulokset osoittavat tutkittujen bakteerien säilyvän kaiken kaikkiaan paremmin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. Tutkijat pohtivat bakteerikuljetusputkien välisten erojen olevan yhteydessä muun muassa näytteenottotikkujen valmistustekniikoiden ja materiaalien eroihin. (Gandhi & Mazzulli 2004, 1, 4.)

5 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyttä kahdessa eri bakteerikuljetusputkessa. Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka Salmonella typhimurium-, Yersinia enterocolitica-, Shigella sonnei- sekä Cambylobacter jejuni -bakteerinäytteiden bakteeripitoisuudet muuttuvat säilytyksessä ajan funktiona ja millaisia eroja FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien välillä ilmenee taudinaiheuttajien säilyvyydessä bakteerikuljetusputkissa. Tutkimus tehtiin toimeksiantona (liite 2) Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Joensuun alue-laboratorion mikrobiologian osastolle.

Opinnäytetyön tutkimusongelmat:

1. Kuinka *S. typhimurium*-, *S. sonnei*-, *Y. enterocolitica*- sekä *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuudet muuttuvat, kun bakteerinäytettä säilytetään FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa 72 tunnin ajan?
2. Kuinka *S. typhimurium*-, *S. sonnei*-, *Y. enterocolitica*- sekä *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuudet muuttuvat, kun bakteerinäytettä säilytetään Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa 72 tunnin ajan?
3. Millaisia eroja ilmenee FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien välillä 72 tunnin aikana, *S. typhimurium*-, *Y. enterocolitica*-, *S. sonnei*- sekä *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuuksissa?

6 TUTKIMUKSEN MENETELMÄLLISET VALINNAT

Tämä tutkimus oli kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus (vrt. Hirsjärvi 2009, 140). Tutkimusmenetelmällä etsitään vastauksia kysymyksiin, jotka pohjautuvat tutkimusongelmiin. Asioita kuvataan numeeristen suureiden avulla ja tuloksia tarkastellaan tilastollisin menetelmin. Tutkimusaineisto voidaan hankkia muun muassa tilastoista, rekistereistä tai itse keräämällä. Mikäli aineisto kerätään itse, on tutkimukseen valittava tiedonkeruumenetelmä sekä päätettävä kerättävän tiedon määrä. (Heikkilä 2008, 16, 18–19, 21.) Tutkimusaineiston kokoa pohdittaessa on tehtävä kompromisseja käytettävissä olevien resurssien ja tutkimustulosten tarkkuuden välillä (Karjalainen 2010, 14; Heikkilä 2008, 30–32). Tässä tutkimuksessa tutkimusaineiston koko määräytyi aineiston keräämiseen käytettävissä olevan ajan ja työntekijäresurssien perusteella sekä toimeksiantajan toiveiden mukaan. Tutkimusaineiston pienestä koosta johtuen tuloksia ei ollut mahdollista tarkastella tilastollisten testien avulla. Tutkimuksen laboratoriotutkimusprosessin tarkkuuden ja toistettavuuden edellytyksenä olivat kuitenkin kvantitatiivisessa tutkimuksessa keskeisten validiteetin ja reliabiliteetin vaatimusten huomioiminen (vrt. Heikkilä 2008, 29–30, 186–187).

Tämä tutkimus luokiteltiin myös kokeelliseksi tutkimukseksi (vrt. Hirsjärvi 2009, 134; Heikkilä 2008, 21), sillä siinä tutkittiin tiettyjen bakteerikuljetusputkien ja bakteerinäyt-

teen säilytykseen kuluneen ajan vaikutusta yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyteen. Kokeellisessa tutkimuksessa käytetään koeasetelmaa, jonka avulla selvitetään tiettyjen, tutkittujen muuttujien vaikutusta tutkimuskohteisiin. Tutkimuksen edellytyksenä on, että tutkimuskohteisiin vaikuttavat muut tekijät pyritään vakioimaan. (Karjalainen 2010, 11–12; Heikkilä 2008, 21.) Tässä tutkimuksessa muuttujina olivat bakteerinkuljetusputkityyppi ja aika, tutkimuskohteina tavallisimmat bakteeriripulin taudinaiheuttajat. Tutkittavien bakteerinäytteiden pitoisuudet ja bakteerikuljetusputkien säilytyslämpötila sekä näytteiden käsittely- ja viljelytekniikat pidettiin vakioituina.

Tutkittavat bakteeriripulin taudinaiheuttajat valittiin Joensuun kliinisen mikrobiologian pakastetaltioiduista kaupallisista ATCC-bakteerikannoista (American Type Culture Collection). Tutkimuksessa käytetyt bakteerilajit olivat *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Shigella sonnei* (ATCC 9290), *Yersinia enterocolitica* (ATCC 23715) sekä *Cambylobacter jejuni* (ATCC 33291). ATCC-bakteerikannat ovat ominaisuuksiltaan tunnettuja bakteerikantoja, jotka ovat peräisin kansainvälisestä mikrobikantakokoelmasta (Metrologian neuvottelukunta 2005, 8–9). Kun bakteerinäytteet valmistettiin laboratoriossa jo olemassa olevista ATCC-bakteerikannoista, tutkimusnäytteiden hankinnasta ei aiheutunut kustannuksia tutkimusta tehtäessä, ja tutkimuksessa ei myöskään tarvittu bakteeriripulin taudinaiheuttajia sisältäviä potilasnäytteitä. Tutkimuksen toteutus potilasnäytteillä ei olisi ollut mahdollista tutkimukseen käytettävissä olevan ajan rajallisuuden vuoksi.

7 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

Tutkimukseen valituista ATCC-bakteerikannoista käytetään tutkimuksen toteutuksen kuvauksessa termejä salmonella-, shigella-, yersinia- ja kamylobakteerinäytteet. Bakteerikuljetusputket (liite 3) tutkimukseen saatiin Copan Italia S.p.A:lta. Ennen varsinaisen tutkimuksen toteuttamista tehtiin esitutkimus 18.2. - 27.2.2011. Varsinainen tutkimus suoritettiin 3.3. - 19.3.2011. Tutkimuksen toteuttamiseen tarvittava tutkimuslupa saatiin aluelaboratoriojohtajalta (liite 4).

7.1 Esitutkimuksen suorittaminen

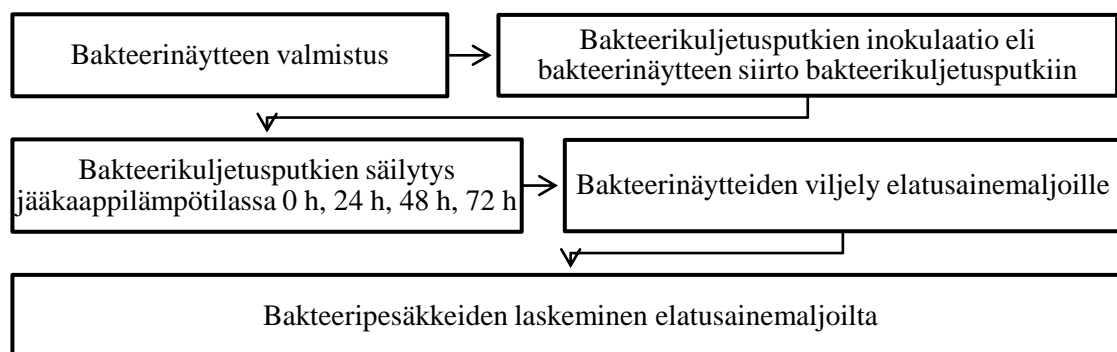
Esitutkimuksen tekeminen on suositeltavaa aina ennen varsinaisen tutkimuksen toteuttamista. Sen avulla voidaan täsmentää ja rajata tutkimusongelmia sekä testata valitun tiedonkeruumenetelmän toimivuutta. (Lacey 2010, 22–23; Heikkilä 2008, 22.) Tässä tutkimuksessa tehtiin esitutkimus, jossa testattiin tutkimussuunnitelman toimivuus sekä perehdyttiin eri työvaiheiden tekniseen toteutukseen. Esitutkimus tehtiin kolme kertaa. Kahdella ensimmäisellä kerralla tutkimussuunnitelmassa havaittiin virhetekijöitä, jotka korjattiin ja esitutkimus toteutettiin kolmannen kerran. Esitutkimus vastasi laboratorio-työskentelyprosessiltaan varsinaista tutkimusta, mutta oli toteutukseltaan suppeampi. Esitutkimuksen havaintojen perusteella tehtiin varsinaisessa tutkimuksessa käytetyt työohjeet, jotka ovat liitteissä 5–10.

Esitutkimuksessa havaittiin, että kampylobakteeri kuolee nopeasti fysiologisessa natriumkloridissa. Myös näytteiden sekoittamisen Vortex-sekoittajalla todettiin heikentävän kampylobakteerin säilymistä fysiologisessa natriumkloridissa. Havaintojen perusteella päätettiin, että tutkimuksen työvaiheet suoritetaan mahdollisimman nopeasti ja bakteri-näytteitä vortexoidaan vain tarvittava minimiaika. Esitutkimuksessa havaittiin lisäksi, että osa kampylobakteeripesäkkeistä kasvoi kampylobakteerille selektiivisellä elatusainemaljalla (campylomalja) leviävinä ja epätarkkarajaisina, minkä vuoksi bakteri-pesäkkeiden laskeminen oli haasteellista. Varsinaisessa tutkimuksessa campylomaljoja päätettiin inkuboida lisää bakteripesäkkeiden laskennan jälkeen, jolloin pesäkkeet erottuivat toisistaan selkeämmin.

7.2 Tutkimuksen suorittaminen

Tutkimus aloitettiin esivalmisteluilla työskentelyn sujuvuuden varmistamiseksi. Pakastetaltoidut ATCC-bakteerikannat sulatettiin ja puhtasviljeltiin liitteenä 5 olevan työohjeen mukaisesti. Muut esivalmisteluihin kuuluvat tehtävät on kuvattu liitteinä 6–9 olevissa työohjeissa. Tutkimuksen ajan työskenneltiin vetokaapissa, jossa ei käsitelty mikrobiologisia potilasnäytteitä. Laboratoriotyöskentelyprosessi jaksotettiin myös niin, että vain yhden bakteriripulin taudinaiheuttajan näytteitä käsiteltiin kerrallaan vetokaapissa.

Näillä työskentelytavoilla pyrittiin minimoimaan bakteerinäytteiden kontaminaation riski. Laboratoriotyöskentelyprosessi esitetään yksinkertaistetusti kuviossa 1.



Kuvio 1. Tutkimuksen laboratoriotyöskentelyprosessin suorituskaavio.

Tutkimuksen ajan pidettiin laboratoriapäiväkirjaa, johon kirjattiin muun muassa eri työvaiheiden suoritusajankohdat ja mahdolliset poikkeamat työohjeista. Laboratoriapäiväkirjaan merkittiin päivittäin myös bakteerinäytteiden säilytykseen käytetyn jääkaapin sekä elatusainemaljojen inkubointiin käytettyjen lämpökaappien lämpötilalukemat. Edellä mainitut lämpötilamittaukset ovat konkreettinen osa klinisen mikrobiologian laboratorion toiminnan luotettavuutta (vrt. Carlson & Koskela 2011, 53). Tutkimuksessa käytettyjen laitteiden toimiessa optimaalisesti tuloksia voidaan pitää vertailtavina.

7.2.1 Bakteerinäytteen valmistus

Bakteerinäytteen valmistus aloitettiin tekemällä puhdasviljellystä ATCC-bakteerikannasta suspensio. Steriilillä pumpulipuikolla sekoitettiin muutamia bakteeripesäkkeitä 3 ml:aan fysiologista natriumkloridia, jonka jälkeen koeputkea vortexoitettiin 5 sekunnin ajan. Suspension valmistuksen jälkeen puhdasviljellyn bakteerikannan elatusainemaljaa inkuboitiin vuorokauden ajan lämpökaapissa liitteenä 5 olevan työohjeen mukaisesti mahdollisten kontaminaatiopesäkkeiden havaitsemiseksi.

Valmistetun suspension bakteeripitoisuuden tuli vastata McFarland 0,5 -standardia. McFarland-standardi on kansainvälinen menetelmä, johon vertaamalla voidaan valmistaa halutun bakteeripitoisuuden omaavia bakteerisuspensioita. McFarland 0,5 -standardi vastaa keskimäärin bakteerimäärää $1-2 \times 10^8$ PMY/ml (pesäkkeen muodostava yksikkö

per millilitra). (Metrologian neuvottelukunta 2006, 7.) Tutkimuksessa suspension pitoisuus varmistettiin Vitek2 Densitichek -laitteella.

Suspensiosta valmistettiin tutkittava bakteerinäyte, joka vastasi pitoisuutta $1-2 \times 10^7$ PMY/ml. Laimennos tehtiin 1:10, jolloin 2 700 µl:aan fysiologista natriumkloridia pipetoitiin 300 µl valmistettua suspensiota, jonka jälkeen koeputkea vortexoitiin nopeasti. Työvaiheen onnistuminen varmistettiin määrittämällä bakteerinäytteen pitoisuus laimennossarjan avulla. Näyte laimennettiin siten, että sen sisältämien bakteerien muodostamat yksittäiset pesäkkeet olivat laskettavissa elatusainemaljoilta. Tutkimuksessa käytetty bakteerinäytteen pitoisuuden määrittämisohje on liitteessä 6. Pitoisuuden määrittäminen tehtiin bakteerikuljetusputkien inokulaation jälkeen työn sujuvuuden varmistamiseksi.

7.2.2 Bakteerikuljetusputkien inokulaatio ja säilytysajat jääkaappilämpötilassa

Bakteerikuljetusputkien inokulaatio eli bakteerinäytteen siirto bakteerikuljetusputkiin tehtiin nopeasti bakteerinäytteen valmistamisen jälkeen. Tutkimuksessa käytetty bakteerikuljetusputkien inokulaatio-ohje on liitteessä 7. Yhden bakteeriripulin taudinaiheuttajan bakteerinäyte inokuloitiin kahteentoista FecalSwab- ja Transystem M40 - bakteerikuljetusputkeen, jonka jälkeen bakteerikuljetusputkia säilytettiin jääkaappilämpötilassa ($2 - 8 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$) 15 minuuttia, 24 tuntia, 48 tuntia ja 72 tuntia. Säilytysajat valittiin toimeksiantajan toiveiden mukaan. 15 minuutin säilytysajasta käytetään tässä opinnäytetyössä jatkossa määritelmää 0 h. Taulukossa 1 esitetään yhden bakteeriripulin taudinaiheuttajan tutkimiseen käytetyt bakteerikuljetusputkien lukumäärät kunkin säilytysajan mukaan.

Taulukko 1. Yhden taudinaiheuttajan tutkimiseen käytettyjen bakteerikuljetusputkien lukumäärä ja säilytysajat jääkaappilämpötilassa.

Bakteerikuljetusputki	Bakteerikuljetusputkien lukumäärä säilytysaikojen mukaan				Bakteerikuljetusputkien kokonaismäärä
	0 h	24 h	48 h	72 h	
FecalSwab	3 kpl	3 kpl	3 kpl	3 kpl	12 kpl
Transystem M40	3 kpl	3 kpl	3 kpl	3 kpl	12 kpl

7.2.3 Bakterinäytteiden viljely elatusainemaljoille

Säilytysaikojen päättyessä kolme kappaletta molempia bakterikuljetusputkia (rinnakkaiset bakterikuljetusputket) otettiin huoneenlämpöön ja niiden sisältämät bakterinäytteet viljeltiin elatusainemaljoille. Viljely tehtiin bakterinäytteistä valmistettavien laimennossarjojen avulla. Liitteissä 8 ja 9 on bakterikuljetusputkien laimennossarjojen valmistusohjeet ja liitteessä 10 esitutkimuksen perusteella valitut laimennossarjat bakterikohtaisesti esitettynä. Laimennossarjojen valmistuksen jälkeen, kutakin laimennosta pipetoitiin 100 µl bakteriripulin taudinaiheuttajille tarkoitetuille, selektiivisille elatusainemaljoille (taulukko 2). Bakterinäytteiden viljely tehtiin hajotusviljelytekniikalla (liite 11).

Taulukko 2. Bakterinäytteiden viljelyolosuhteet (Mukaiillen ISLAB 2011a, 1).

Bakterinäyte	Elatusainemalja	Inkubaatiolämpötila	Inkubaatioaika
Salmonella	XLD	35 °C	24 h
Shigella	XLD	35 °C	24 h
Yersinia	yersiniamalja	30 °C	24 h
Kampylobakteeri	cambylomalja	42 °C	48 h

Elatusainemaljoja inkuboitiin tietyn lämpötilan omaavissa lämpökaapeissa taulukossa 2 kuvattujen inkubaatioaikojen mukaisesti. Bakteriripulin taudinaiheuttajilla on kullekin bakteerille ominaiset kasvuvaatimukset, joita hyödynnetään bakteriripulidiagnostiikassa (vrt. Bockemühl & Wong 2003, 679; Bopp ym. 2003; 660, 665; Nachamkin 2003, 905). Esimerkiksi 30 °C:n lämpötila edistää yersinioiden kasvua elatusainemaljalla, kun taas kampylobakteereille optimaalilämpötila on 42 °C (vrt. Koskela & Tarkka 2009, 244–245; Bockemühl & Wong 2003, 679; Forbes ym. 2002, 142). Kampylobakteerien kasvun edellytyksenä on myös inkubointi mikroaerofiilisessä kaasuseoksessa (vrt. Nachamkin 2003, 905). Tutkimuksessa kampylobakteerinäytteille luotiin mikroaerofiiliset olosuhteet anaerobiastiaan kaupallisen kaasukehittimen avulla.

Tutkimuksessa käytetyt bakterinäytteiden viljelyolosuhteet perustuvat Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratorion käyttämiin bakteriripulidiagnostiikan tutkimusmenetelmiin. Kampylobakteerinäytteiden inkubaatioaika vastasi laboratorion käytäntöä, mut-

ta salmonella-, shigella-, ja yersinianäytteiden inkubaatioajat olivat lyhyemmät kuin laboratoriossa on käytäntönä. 24 tunnin inkubaatioajan jälkeen bakteeripesäkkeet erotuivat elatusainemaljoilla selkeimmin toisistaan, jolloin bakteeripesäkkeiden laskeminen voitiin tehdä luotettavasti.

7.2.4 Bakteeripesäkkeiden laskeminen elatusainemaljoilta

Bakteeripesäkkeet laskettiin elatusainemaljoilta inkubaatioaikojen päätyttyä. Elatusainemaljat jaettiin sektoreihin ja pesäkkeet laskettiin käsilaskuria apuna käyttäen. Näin varmistettiin, että jokainen bakteeripesäke huomioitiin laskennassa ja että kukin pesäke laskettiin vain kerran. Salmonella- shigella- ja yersinianäytteiden bakteeripesäkemäärät laskettiin vähintään kaksi kertaa. Jos tulokset poikkesivat toisistaan enemmän kuin 10 bakteeripesäkkeen verran, laskettiin pesäkemäärät kolmannen kerran. Koska kampylobakteerinäytteiden elatusainemaljoja ei voitu jakaa sektoreihin niiden mustan värin takia, bakteeripesäkemäärät laskettiin yhteensä neljä kertaa.

Bakteerikasvua tarkasteltaessa kiinnitettiin huomiota hyvään valaistukseen sekä taustaan, jota vasten elatusainemaljat asetettiin. Tausta valittiin korostamaan bakteeripesäkkeiden ääri viivoja, jotta pesäkkeet olivat erotettavissa toisistaan mahdollisimman tarkasti. Salmonella- ja yersinianäytteiden bakteeripesäkkeet laskettiin vaaleaa taustaa vasten ja shigellanäytteiden tummaa taustaa vasten. Kampylobakteerinäytteiden bakteeripesäkkeiden laskemisessa ei voitu hyödyntää taustaa elatusainemaljojen mustan värin takia.

Shigella- ja kampylobakteerinäytteiden bakteeripesäkemäärien laskemisen jälkeen elatusainemaljoja inkuboitii vuorokauden ajan lisää. Shigellanäytteiden valmistukseen käytetyllä puhtasviljelymaljalla havaittiin muutama kontaminaatiopesäke ja elatusainemaljojen inkubaatiolla haluttiin selvittää mahdollinen tutkimusnäytteiden kontaminoituminen. Shigellanäytteiden elatusainemaljoja inkuboitii 35 °C:ssa 24 tuntia, jonka jälkeen bakteerikasvua tarkasteltiin uudelleen. Elatusainemaljojen tarkastelussa ei havaittu kontaminaatiopesäkkeitä.

Kampylobakteerinäytteiden bakteeripesäkkeistä osa kasvoi 48 tunnin inkubaation jälkeen campylomaljalla leviävinä ja epätarkkarajaisina, minkä vuoksi bakteeripesäkkeiden laskeminen oli haasteellista. Bakteeripesäkkeiden erottumista campylomaljoilta

pyrittiin parantamaan inkuboimalla elatusainemaljoja huoneenlämmössä ilman mikroeroofiilisiä olosuhteita 24 tunnin ajan. Inkubaatioajat ja -lämpötilat kuuluvat vain tämän tutkimuksen laboratoriotyöskentelyprosessiin, eikä niitä käytetä bakteeriripulidiagnostiikassa Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Inkubaation jälkeen bakteeripesäkkeiden metallinhohtoinen väri syveni, ja pesäkkeiden ääriiviivat olivat selkeämmin havaittavissa, mikä helpotti bakteeripesäkkeiden erottamista toisistaan.

8 TUTKIMUSAINEISTON ANALYSOINTI

Tämän tutkimuksen tutkimusaineisto muodostui elatusainemaljoilta lasketuista bakteeripesäkemääristä (liite 12). Tutkimusaineistoon valittiin elatusainemaljat, joilla kasvoi vähemmän kuin 1 500 bakteeripesäkettä. Aiemmin vastaavalla laboratoriotyöskentelyprosessilla toteutetuissa tutkimuksissa tutkimusaineistoihin valittiin elatusainemaljat, joilla kasvoi 30–300 bakteeripesäkettä. Tutkimusaineistot olivat kuitenkin keskimäärin kaksi kertaa suuremmat kuin tässä tutkimuksessa. (vrt. Van Horn, Audette, Sebeck & Tucker 2008, 1656; Van Horn, Audette & Tom 2006.) Tässä tutkimuksessa tutkimusaineiston koko määräytyi aineiston keräämiseen käytettävissä olevan ajan ja työntekijäresurssien perusteella sekä toimeksiantajan toiveiden mukaan. Bakteeripesäkemäärien hyväksymisrajoja laajennettiin, koska tutkimusaineiston haluttiin olevan tarpeeksi suuri luotettavien tutkimustulosten varmistamiseksi.

Tutkimusaineisto analysoitiin Microsoft Excel 2007 -taulukkolaskinohjelmalla. Tutkimuksessa oli keskeistä määrittää bakteerikuljetusputkien sisältämien bakteerinäytteiden pitoisuudet kunkin säilytysajan päättyessä. Bakteeripitoisuus laskettiin elatusainemaljoille viljeltyjen laimennossarjojen avulla. Yksittäisen bakteerikuljetusputken sisältämän näytteen bakteeripitoisuus määritettiin siten, että elatusainemaljojen bakteeripesäkemäärät laskettiin vastaamaan laimennossarjan yhtä laimennosta. Tuloksista laskettiin keskiarvo, jolloin saatiin bakteeripitoisuus/0,05 ml. Tulos kerrottiin edelleen kahdellakymmenellä, jolloin tuloksi saatiin bakteeripitoisuus/1 ml. Kerroin oli kaksikymmentä, koska alkuperäisen bakteerikuljetusputkiin inokuloidun näytemäärän (100 µl), ja laimennossarjan suhde oli 1/20. Kaikkien yksittäisten bakteerikuljetusputkien sisältämien näytteiden bakteeripitoisuuksien (liite 12) määrittämisen jälkeen laskettiin kunkin säily-

tysajan, kolmen rinnakkaisen bakteerikuljetusputken pitoisuuksien keskiarvo, joka on yksittäinen, tarkasteltava tutkimustulos. Bakteeripitoisuus ilmoitettiin pesäkkeen muodostavana yksikkönä millilitrassa (PMY/ml). Liitteessä 13 on kuvattu bakteeripitoisuuden määrittäminen esimerkein.

Tutkimuksessa laskettiin lisäksi bakteeripitoisuuden keskiarvon prosentuaalinen muutos kunkin säilytysajan päättyessä suhteessa lähtötilanteeseen (0 h) keskiarvoon. Tulokset kuvaavat bakteerikuljetusputkikohtaista, tutkittavien taudinaiheuttajien bakteeripitoisuuksien muutosta säilytyksessä ajan funktiona. Tutkimusaineistoa analysoitaessa vertailtiin keskenään myös FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien sisältämien bakteerinäytteiden pitoisuuksia kunkin säilytysajan päättyessä, ja tulokset esitettiin sanallisesti. Tulokset kuvaavat bakteerikuljetusputkien välisiä eroja tutkittavien taudinaiheuttajien säilyvyydessä bakteerikuljetusputkissa.

9 TULOKSET

Tutkimustulokset esitetään bakteerikohtaisesti, kunkin bakteeripurin taudinaiheuttajan tulokset omana kokonaisuutenaan. Tuloksia havainnollistetaan taulukoin, joissa esitetään bakteerinäytteiden bakteeripitoisuudet FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkissa kunkin säilytysajan päättyessä sekä bakteerikuljetusputkikohtaiset bakteeripitoisuuksien prosentuaaliset muutokset (%) suhteessa lähtötilanteeseen (0 h). Liitteessä 12 esitetään bakteerinäytteiden alkuperäiset bakteeripitoisuudet ennen näytteiden inokuloimista bakteerikuljetusputkiin.

9.1 *Salmonella typhimurium* -näytteet

S. typhimurium -näytteiden tuloksista (ks. taulukko 3) nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä matalammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat kunkin säilytysajan (24 h, 48 h ja 72 h) päättyessä korkeammat suhteessa lähtötilanteeseen (0 h). *S. typhimurium* -näytteiden

bakteeripitoisuudet ovat 72 tunnin tarkastelujakson ajan korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa.

Taulukko 3. Salmonella typhimurium -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) logaritmisina kunkin säilytysajan päättyessä sekä bakteerikuljetusputkikohtaiset bakteeripitoisuuksien prosentuaaliset muutokset (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h.

SALMONELLA TYPHIMURIUM				
Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuudet (PMY/ml) säilytysaikojen päättyessä sekä bakteeripitoisuuden muutos (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FecalSwab	$6,4 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$ (-16%)	$5,5 \times 10^6$ (-14%)	$5,5 \times 10^6$ (-14%)
Transystem M40	$8,9 \times 10^5$	$2,0 \times 10^6$ (125%)	$1,9 \times 10^6$ (113%)	$1,8 \times 10^6$ (102%)

9.2 Shigella sonnei -näytteet

Shigella sonnei -näytteiden tuloksista (ks. taulukko 4) nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä matalammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat kunkin säilytysajan (24 h, 48 h ja 72 h) päättyessä korkeammat suhteessa lähtötilanteeseen (0 h). S. sonnei -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat 72 tunnin tarkastelujakson ajan korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa.

Taulukko 4. Shigella sonnei -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) logaritmisina kunkin säilytysajan päättyessä sekä bakteerikuljetusputkikohtaiset bakteeripitoisuuksien prosentuaaliset muutokset (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h.

SHIGELLA SONNEI				
Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuudet (PMY/ml) säilytysaikojen päättyessä sekä bakteeripitoisuuden muutos (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FecalSwab	$7,3 \times 10^6$	$6,3 \times 10^6$ (-14%)	$7,1 \times 10^6$ (-3%)	$6,4 \times 10^6$ (-12%)
Transystem M40	$2,4 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$ (21%)	$3,0 \times 10^6$ (25%)	$2,9 \times 10^6$ (21%)

9.3 *Yersinia enterocolitica* -näytteet

Yersinia enterocolitica -näytteiden tuloksista (ks. taulukko 5) nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä korkeammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). Myös Transsystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat kunkin säilytysajan (24 h, 48 h ja 72 h) päättyessä korkeammat suhteessa lähtötilanteeseen (0 h). *Y. enterocolitica* -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat 72 tunnin tarkastelujakson ajan korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transsystem M40 -bakteerikuljetusputkessa.

Taulukko 5. *Yersinia enterocolitica* -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) logaritmisina kunkin säilytysajan päättyessä sekä bakteerikuljetusputkikohtaiset bakteeripitoisuuksien prosentuaaliset muutokset (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h.

YERSINIA ENTEROCOLITICA				
Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuudet (PMY/ml) säilytysaikojen päättyessä sekä bakteeripitoisuuden muutos (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FecalSwab	5,7x10 ⁶	2,5 x10 ⁷ (339%)	5,8 x10 ⁷ (918%)	1,3 x10 ⁸ (2181%)
Transsystem M40	1,5x10 ⁶	3,2 x10 ⁶ (113%)	6,4 x10 ⁶ (327%)	3,8 x10 ⁷ (2433%)

9.4 *Campylobacter jejuni* -näytteet

Campylobacter jejuni -näytteiden tuloksista (ks. taulukko 6) nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuus on 24 tunnin säilytysajan päättyessä korkeampi verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä bakteeripitoisuudet ovat matalampia suhteessa lähtötilanteeseen (0 h). Transsystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä matalammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat 72 tunnin tarkastelujakson ajan korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transsystem M40 -bakteerikuljetusputkessa.

Taulukko 6. *Campylobacter jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) logaritmissa kunkin säilytysajan päättyessä sekä bakteerikuljetusputkikohtaiset bakteeripitoisuuksien prosentuaaliset muutokset (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h.

CAMPYLOBACTER JEJUNI				
Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuudet (PMY/ml) säilytysaikojen päättyessä sekä bakteeripitoisuuden muutos (%) suhteessa säilytysaikaan 0 h			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FecalSwab	6,0 x 10 ⁵	6,6 x 10 ⁵ (10%)	4,5 x 10 ⁵ (-25%)	5,0 x 10 ⁵ (-17%)
Transystem M40	3,0 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵ (-40%)	1,7 x 10 ⁵ (-43%)	1,3 x 10 ⁵ (-57%)

10 TULOSTEN TARKASTELU

Tutkimustuloksia tarkastellaan bakteerikohtaisesti, kunkin bakteeriripulin taudinaiheuttajan tulokset omana kokonaisuutenaan. Näin toimeksiantaja voi hyödyntää tutkimuksessa saatuja tuloksia harkintansa mukaan.

10.1 *Salmonella typhimurium*

Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka *Salmonella typhimurium* -näytteen bakteeripitoisuus muuttuu, kun näytettä säilytetään FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkissa 72 tunnin ajan. Lisäksi tutkittiin, millaisia eroja bakteerikuljetusputkien välillä ilmenee 72 tunnin aikana *S. typhimurium* -näytteiden bakteeripitoisuuksissa.

Kun tarkastellaan *S. typhimurium* -näytteiden tuloksia nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä keskimäärin matalammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h), mutta kuitenkin lähtötilanteen pitoisuustason tuntumassa. Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuudessa ei ole havaittavissa selkeää vaihtelua 72 tunnin aikana.

Transystem M40 -bakteerikuljetusputken sisältämien *S. typhimurium* -näytteiden tuloksista nähdään, että bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä korkeammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). 24 tunnin säilytysajan päättyessä bakteeripitoisuus nousee keskimäärin kaksinkertaiseksi suhteessa lähtötilanteeseen (0 h) ja säilyy saavutetulla pitoisuustasolla 72 tunnin tarkastelujakson loppuun asti.

S. typhimurium -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat kaikkien säilytysaikojen päättyessä korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. Tulokset osoittavat kuitenkin, että Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat FecalSwab-bakteerikuljetusputken sisältämien *S. typhimurium* -näytteiden pitoisuustason tuntumassa 72 tunnin tarkastelujakson ajan.

10.2 *Shigella sonnei*

Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka *Shigella sonnei* -näytteen bakteeripitoisuus muuttuu, kun näytettä säilytetään FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa 72 tunnin ajan. Lisäksi tutkittiin, millaisia eroja bakteerikuljetusputkien välillä ilmenee 72 tunnin aikana *S. sonnei* -näytteiden bakteeripitoisuuksissa.

Kun tarkastellaan *S. sonnei* -näytteiden tuloksia nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä keskimäärin matalammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuuksissa tapahtuu laskua ja nousua 72 tunnin tarkastelujakson aikana, mutta bakteeripitoisuudet ovat kuitenkin lähtötilanteen (0 h) pitoisuustason tuntumassa.

Transystem M40 -bakteerikuljetusputken sisältämien *S. sonnei* -näytteiden tuloksista nähdään, että bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä keskimäärin korkeammat verrattuna lähtötilanteeseen (0h), mutta lähtötilanteen pitoisuustason tuntumassa. Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuuksissa ei ole havaittavissa selkeää vaihtelua 72 tunnin tarkastelujakson aikana.

S. sonnei -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat kaikkien säilytysaikojen päättyessä korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. Tulokset osoittavat kuitenkin, että Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat FecalSwab-bakteerikuljetusputken sisältämien S. sonnei -näytteiden pitoisuustason tuntumassa 72 tunnin tarkastelujakson ajan.

10.3 *Yersinia enterocolitica*

Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka *Yersinia enterocolitica* -näytteen bakteeripitoisuus muuttuu, kun näytettä säilytetään FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa 72 tunnin ajan. Lisäksi tutkittiin, millaisia eroja bakteerikuljetusputkien välillä ilmenee 72 tunnin aikana *Y. enterocolitica* -näytteiden bakteeripitoisuuksissa.

Kun tarkastellaan *Y. enterocolitica* -näytteiden tuloksia nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä korkeammat verrattuna säilytysaikaan 0 h. Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuus nousee säilytysajan kuluessa (24 h, 48 h ja 72 h) suhteessa lähtötilanteeseen (0 h) ja bakteeripitoisuus moninkertaistuu 72 tunnin tarkastelujakson aikana.

Transystem M40 -bakteerikuljetusputken sisältämien *Y. enterocolitica* -näytteiden tuloksista nähdään, että bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä korkeammat verrattuna lähtötilanteeseen (0h). Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuus nousee säilytysajan kuluessa (24 h, 48 h ja 72 h) suhteessa lähtötilanteeseen (0 h) ja bakteeripitoisuus moninkertaistuu 72 tunnin tarkastelujakson aikana.

Y. enterocolitica -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat kaikkien säilytysaikojen päättyessä korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. Bakteeripitoisuus nousee nopeammin FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa säilytysajan kuluessa (24 h ja 48 h) suhteessa lähtötilanteeseen

(0 h). Tulokset osoittavat, että Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuus on kuitenkin 72 tunnin säilytysajan päättyessä FecalSwab -bakteerikuljetusputken sisältämän *Y. enterocolitica* -näytteen pitoisuustason tuntumassa.

10.4 *Campylobacter jejuni*

Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka *Campylobacter jejuni* -näytteen bakteeripitoisuus muuttuu, kun näytettä säilytetään FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa 72 tunnin ajan. Lisäksi tutkittiin, millaisia eroja bakteerikuljetusputkien välillä ilmenee 72 tunnin aikana *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuuksissa.

Kun tarkastellaan *C. jejuni* -näytteiden tuloksia nähdään, että FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudessa tapahtuu nousua ja laskua 72 tunnin tarkastelujakson aikana. Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuuden vaihtelusta huolimatta, pitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä lähtötilanteen (0 h) pitoisuustason tuntumassa.

Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin säilytysaikojen päättyessä matalammat verrattuna lähtötilanteeseen (0 h). Prosentuaaliset muutokset osoittavat, että bakteeripitoisuus laskee säilytysajan kuluessa (24 h, 48 h ja 72 h) suhteessa lähtötilanteeseen (0 h). 72 tunnin säilytysajan päättyessä bakteeripitoisuus on 57 prosenttia matalampi verrattuna lähtötilanteeseen (0h).

C. jejuni -näytteiden bakteeripitoisuudet ovat kaikkien säilytysaikojen päättyessä korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. Tuloksista nähdään, että Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat kuitenkin FecalSwab-bakteerikuljetusputken sisältämien *C. jejuni* -näytteiden pitoisuustason tuntumassa 72 tunnin tarkastelujakson ajan.

11 JOHTOPÄÄTÖKSET

Edellä esitetyt tulokset huomioon ottaen voidaan todeta, että *Salmonella typhimurium*- ja *Shigella sonnei* -näytteiden bakteeripitoisuudet pysyvät suhteellisen stabiileina FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkissa 72 tunnin ajan. *Yersinia enterocolitica* -näytteen bakteeripitoisuus nousee molemmissa bakteerikuljetusputkissa 72 tunnin tarkastelujakson aikana, ja bakteeripitoisuudet ovat tarkastelujakson päättyessä keskimäärin kaksikymmenkertaiset lähtötilanteeseen (0 h) verrattuna. *Campylobacter jejuni* -näytteen bakteeripitoisuus pysyy suhteellisen stabiilina FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa, mutta laskee Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa. Transystem M40 -bakteerikuljetusputki sisältää *C. jejuni* -näytettä kuitenkin myös 72 tunnin säilytysajan päättyessä.

Tulosten perusteella yleisimmät bakteeriripulin taudinaiheuttajat säilyvät sekä FecalSwab- että Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa 72 tuntia. Näin ollen voidaan olla samaa mieltä Forbesin ym. (2002, 7) kanssa, että ulosteviljelynäytettä voidaan säilyttää jääkaappilämpötilassa 72 tunnin ajan. Tulokset ovat kuitenkin vastoin Klossnerin (2001, 39) esittämää tietoa, että bakteerikuljetusputkessa säilytetty ulosteviljelynäyte tulee viljellä 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. On kuitenkin huomioitava, että potilasnäytteessä bakteeriripulin taudinaiheuttajia voi olla vähäinen määrä, ja ne voivat jäädä nopeasti lisääntyvän ulosteen normaaliflooran peittämiksi, mikä vaikuttaa taudinaiheuttajien säilyvyyteen (vrt. Klossner 2001, 39). Tässä tutkimuksessa bakteeripitoisuudet olivat suhteellisen korkeita ja näytteet sisälsivät ainoastaan tutkittavia taudinaiheuttajia, joten tuloksia voidaan pitää suuntaa antavina.

Tutkimuksessa havaittiin, että bakteeriripulin taudinaiheuttajien bakteeripitoisuudet ovat korkeammat FecalSwab-bakteerikuljetusputkessa 72 tunnin tarkastelujakson ajan. Transystem M40 -bakteerikuljetusputkessa bakteeripitoisuudet ovat kuitenkin FecalSwab-bakteerikuljetusputken sisältämien bakteerinäytteiden pitoisuustason tuntumassa. *S. typhimurium*- ja *S. sonnei* -näytteiden tulokset huomioon ottaen voidaan todeta, että bakteerikuljetusputkien väliset erot liittyvät todennäköisesti näytteenottotikkujen erilaisiin toimintaperiaatteisiin (vrt. Human & Jones 2006, 2–3), koska molemmissa bakteerikuljetusputkissa taudinaiheuttajien bakteeripitoisuudet säilyvät suhteellisen stabiileina

72 tunnin ajan. *Y. enterocolitica*- ja *C. jejuni* -näytteiden bakteeripitoisuuksissa tapahtuu puolestaan vaihtelua 72 tunnin tarkastelujakson aikana, joten bakteerikuljetusputkien väliset erot ovat seurausta myös taudinaiheuttajien säilyvyydestä bakteerikuljetusputkien kuljetusalustoissa. *Y. enterocolitica* -näytteiden bakteeripitoisuuden kasvu on yhteydessä myös taudinaiheuttajan kykyyn lisääntyä jääkaappilämpötilassa (vrt. Siitonen & Haukka 2005, 175). Tulokset huomioon ottaen voidaan todeta, että FecalSwab-bakteerikuljetusputki säilyttää tutkitut bakteerinäytteet kaiken kaikkiaan paremmin kuin Transystem M40 -bakteerikuljetusputki. Tutkimuksen perusteella FecalSwab-bakteerikuljetusputkea voidaan pitää suositeltavana valintana yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilytys- ja kuljetusmuodoksi.

12 TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS

Tutkimuksen luotettavuus perustuu validiteettiin ja reliabiliteettiin. Ne kuuluvat hyvän kvantitatiivisen tutkimuksen perusvaatimukseen. (Heikkilä 2008, 29–30.) Validiteetti kuvaa tutkimuksen pätevyyttä ja reliabiliteetti tutkimuksen tarkkuutta (Karjalainen 2010, 16; Hirsjärvi 2009, 231; Holopainen & Pulkkinen 2008, 16–17). Eettisesti hyväksyttävän tutkimuksen keskeisenä edellytyksenä on puolestaan hyvän tieteellisen käytännön (good scientific practice) noudattaminen (Kuula 2006, 34–35; Tieteellinen neuvottelukunta 2002, 3).

12.1 Validiteetti

Validiteetti tarkoittaa tutkimuksen kykyä mitata sitä, mitä oli tarkoituskin mitata (Hirsjärvi 2009, 231; Heikkilä 2008, 29–30, 186; Holopainen & Pulkkinen 2008, 16). Tällä tutkimuksella saatiin vastaukset määritettyihin tutkimusongelmiin, joten tällä tavalla mitattuna tutkimus on validi. Heikkilä (2008, 30, 186) toteaa, että validiteettia on vaikea tarkastella tutkimuksen teon jälkeen, joten se tulisi varmistaa etukäteen huolellisella suunnittelulla ja tarkoin harkitulla tutkimusaineiston keruulla. Ennen varsinaisen tutkimuksen toteuttamista tehtiin esitutkimus, jossa testattiin tutkimussuunnitelman toimivuus sekä perehdyttiin eri työvaiheiden tekniseen toteutukseen. Esitutkimuksessa selvi-

tettiin myös mahdollisia ennalta odottamattomia virhetekijöitä, jotka poistettiin varsinaisesta tutkimuksesta. Tutkimusta suunniteltaessa hyödynnettiin myös alan eri asiantuntijoiden tietotaitoa. Tarvittaessa konsultoitiin Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratorion erikoislääkärinä sekä bakteerikuljetusputkien valmistajan Copan Italia S.p.A:n ja heidän jälleenmyyjänsä Mekalasi Oy:n edustajia.

Tutkimuksen suunnitelmaa ja teoreettista viitekehystä kirjoitettaessa pyrittiin kriittisyyteen sekä lähteitä valittaessa että niitä tulkittaessa (vrt. Mäkinen 2006, 128). Tutkimuksessa käytettiin mahdollisimman uusia lähteitä, jotta tutkimus ei perustuisi vanhaan tietoon. Lähteiden alkuperää, aitoutta ja puolueettomuutta pohdittiin, ja tutkimukseen valittiin vain luotettavina pidettyjä lähteitä. Lähteinä käytettiin ensisijaisesti alkuperäis- eli primaarilähteitä. Sekundaarilähteitä käytettäessä huomioitiin tarkasti lähdekritiikki (vrt. Viskari 2009, 65; Mäkinen 2006, 128–131). Tutkimuksen laboratoriotutkimusprosessi pohjautui Joensuun kliinisen mikrobiologian laatuvaatimusten mukaisiin työohjeisiin sekä aiempiin vastaavalla laboratoriotyöskentelyprosessilla toteutettuihin tutkimuksiin (vrt. Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Coleman, Shah-Khan, Sautter & Bahrani-Mougeot 2007; Van Horn ym. 2006).

12.2 Reliabiliteetti

Reliabiliteetti tarkoittaa tulosten tarkkuutta. Tulokset eivät ole sattumanvaraisia, vaan mittaukset ovat mahdollisimman toistettavissa myös muiden tekeminä. (Heikkilä 2008, 30, 187.) Tutkimuksessa laboratoriotutkimuksen kulku pyrittiin ilmaisemaan niin, että se olisi toistettavissa myös jonkun muun tekemänä. Tutkimusta ennen suoritettiin kliinisen mikrobiologian syventävä harjoittelujakso, jolloin oli mahdollista kehittää osaamista mikrobiologisten laboratoriotutkimusten suorittamisessa, ja näin voitiin varmistaa vakioidut työskentelytavat tutkimuksessa.

Laboratoriossa työskenneltäessä noudatettiin aseptisia työtapoja sekä Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratorion työturvallisuusohjeita. Laboratoriotyöskentelyprosessi toteutettiin niin, että bakteerinäytteiden kontaminaation riski pystyttiin minimoimaan. Mahdollisten kontaminaatioiden havaitsemiseksi bakteerinäytteiden valmistukseen käytettyjä puhtasviljelymaljoja inkuboitiin vuorokauden ajan bakteerikuljetusputkien in-

okulaation jälkeen. Kontaminaatiota epäiltäessä myös bakteerinäytteiden elatusainemaljoja inkuboitiin vuorokauden ajan bakteeripesäkemäärien laskennan jälkeen ja bakteerikasvua tarkasteltiin uudelleen kontaminaation poissulkemiseksi.

Karjalainen (2010, 23) toteaa, että luotettavassa tutkimuksessa ei esiinny sattumanvaraisia tuloksia. Tutkimuksessa bakteeripesäkemäärien laskeminen sekä tutkimusaineiston analysointi suoritettiin huolellisesti ja tarkasti. Lisäksi tutkimus toteutettiin yersinianäytteiden osalta kaksi kertaa. Ensimmäisellä tutkimuskerralla näytteiden laimennossarjojen pitoisuudet olivat liian korkeita, jolloin bakteeripesäkemäärien laskentaa ei voitu tehdä luotettavasti. Tutkimus toteutettiin uudelleen laimeammilla pitoisuuksilla ja tutkimusaineistoon huomioitiin vain jälkimmäisen tutkimuskerran tulokset.

Reliabiliteettia arvioitaessa on huomioitava tutkimusaineiston koon merkitys (Heikkilä 2008, 30–31). Tutkimuksessa bakteerikuljetusputkien lukumäärä vastasi aiempia vastaavalla laboratoriotyöskentelyprosessilla toteutettuja tutkimuksia (vrt. Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Coleman ym. 2007; Van Horn ym. 2006), mutta tutkimusaineistoon valittavien elatusainemaljojen lukumäärät olivat kuitenkin pienemmät. Näin ollen tutkimusaineistoon valittavien elatusainemaljojen bakteeripesäkemäärien hyväksymisrajoja laajennettiin.

Kliinisen mikrobiologian laboratorion toiminnan luotettavuuden tärkeä osatekijä on laboratoriolaitteiden toimivuus. Tätä tarkkaillaan muun muassa jääkaappien ja lämpökaappien jatkuvilla lämpötilamittauksilla. (Carlson & Koskela 2011, 53.) Tutkimuksessa laitteiden toimivuutta seurattiin päivittäin kirjaamalla lämpötilalukemat tutkimuksen aikana pidettyyn laboratoriopäiväkirjaan. Laitteiden lämpötilat olivat Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratorion suosittelemien lämpötilarajojen mukaiset.

Elatusainemaljojen toimivuus on keskeinen tekijä kliinisen mikrobiologian laboratorion toiminnassa. Tulosten luotettavuus on oleellisesti riippuvainen elatusainemaljojen laadusta. (Metrologian neuvottelukunta 2006, 8.) Tutkimuksessa Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratorion ammattitaitoinen henkilökunta valmisti elatusainemaljat ja kontrolloi niiden laadun ja toimivuuden. Elatusainemaljoja säilytettiin myös asianmukaisissa olosuhteissa ja ne käytettiin ennen viimeistä käyttöpäivämäärää.

12.3 Eettisyys

Eettisesti hyväksyttävä tutkimus edellyttää, että tutkimuksen teossa noudatetaan hyvää tieteellistä käytäntöä. Tämä tarkoittaa muun muassa tiedeyhteisön toimintatapojen noudattamista sekä rehellisyyttä ja tarkkuutta tutkimustyössä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002, 3.) Tutkimuksessa eettisyys pyrittiin huomioimaan toimimalla hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti, esimerkiksi suunnittelemalla tutkimus yksityiskohtaisesti ja työskentelemällä huolellisesti ja tarkasti. Lisäksi raportointi suoritettiin rehellisesti, mitään missään vaiheessa vääristelemättä ja tulokset ilmoitettiin sellaisina kuin ne ovat.

Hyvän tieteellisen käytännön vastaista on plagiointi eli toisen henkilön ideoiden, tutkimustulosten tai sanamuodon esittäminen omanaan (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002, 5). Tutkimuksessa lähteet merkittiin sekä tekstin yhteyteen että lähdeluetteloon mahdollisimman tarkasti ja huolellisesti. Lisäksi tutkimuksessa huomioitiin tekijänoikeudellisten periaatteiden ja säädösten noudattaminen (vrt. Viskari 2009, 111–112; L404/1964), kysymällä lupa uloste- ja virtäytteenoton potilasohjeen käyttöön (liite 1) Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratoriolta.

Viskari (2009, 109) toteaa, että tutkijan tulee huomioida muiden tutkijoiden työ ja saavutukset asianmukaisesti tutkimuksessaan. Tämä tutkimus oli mahdollinen, koska Joensuun kliinisen mikrobiologian laboratorion erikoislääkäriltä saatiin tietotaidollista apua tutkimusta tehtäessä. Ensiarvoisen tärkeää oli myös laboratorion ammattitaitoisen henkilökunnan panos elatusainemaljojen valmistuksessa. Tutkimuksen toteutuksessa pyrittiin myös huomioimaan ympäröivä työyhteisö. Tutkimuslupa saatiin aluelaboratoriojohtajalta ja tutkimus pyrittiin toteuttamaan niin, että laboratoriotyöskentelyprosessi ei vaikuttanut häiritsevästi työyhteisön toimintaan.

Eettisesti hyväksyttävän tutkimuksen edellytyksenä on myös tutkimuksen rahoituslähteiden ja tutkimuksen suorittamisen kannalta merkityksellisten sidonnaisuuksien ilmoittaminen (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002, 3). Tämän tutkimuksen tekijällä ei ole sidonnaisuuksia, jotka vaikuttaisivat tutkimuksen toteutukseen, tuloksiin tai esitettyihin johtopäätöksiin.

13 JATKOTUTKIMUSAIHEET

Yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyttä bakteerikuljetusputkissa voitaisiin jatkossa tutkia tätä tutkimusta vastaavalla laboratoriotutkimusprosessilla, mutta suuremmalla tutkimusaineistolla. Lisäksi voitaisiin verrata FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputken toimintakykyjä keskenään potilasnäytteillä sekä jääkaappilämpötilassa että huoneenlämmössä.

LÄHTEET

- A786/1986. Tartuntatautiasetus. <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1986/19860786>. 24.9.2011.
- Allibardi, S., Marini, I., Giambra, A., Castriciano, S. & Squassina, A. 2010. Evaluation of Copan Fecal Swab® with Cepheid GeneXpert® technology for the detection of *C. difficile* in stools samples. <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2010>. 19.10.2011.
- Altieri, A., Bossa, J.M., Capalbo, F., Di Traglia, L. & Fontana, C. 2011. Comparison of the Copan Fecal Swab to dry containers for collection and transportation of stool samples for detection of bacteria causing gastrointestinal infections. <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2011>. 19.10.2011.
- Arbique, J.C., Rendell, A.F. & Forward, K.R. 2006. Evaluation of the Copan M40 and Starplex Amies Transport Systems' Potential to Prevent Overgrowth of Aerobic Organisms During Simulated Transport. <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2006>. 19.10.2011.
- Bockemühl, J. & Wong, J. 2003. *Yersinia**. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology, 672–682.
- Bopp, C., Brenner, F., Fields, P., Wells, J. & Strockbine, N. 2003. *Escherichia, Shigella* and *Salmonella*. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology, 654–671.
- Carlson, P. & Koskela, M. 2011. Bakteriologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Infektiosairaudet: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 37–53.
- Castriciano, S., Booth, M. & Leclipteux, T. 2009. Validation of Copan Fecal Swab for the detection of rotavirus and adenovirus from fecal specimens using the Curis Rota-Strip and Adeno-Strip rapid antigens tests. Istanbul: Annual European Society for Clinical Virology Meeting.
- Castriciano, S., Kafka, J., Padman, J. & Lee, C. 2010. Validation of Copan Fecal Swab for the detection of *Clostridium difficile* from faecal specimens with multiple diagnostic assays. <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2010>. 19.10.2011.
- Castriciano, S. 2011. International Scientific Affairs Director. Copan Italia S.p.A. Sähköposti 22.2.2011.
- Chapin, K. & Murray, P. 2003. Principles of Stains and Media. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology, 257–266.
- Coleman, S., Shah-Khan, M., Sautter, R. & Bahrani-Mougeot F. 2007. Comparative Study of the Ability of New Copan ESwab (Liquid Amies Transport System) with Another Swab Transport System for Maintaining Viability of Clinically Important Aerobic Bacteria.


- <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2007>.
19.10.2011.
- Copan Diagnostics Inc. 2009a. Copan Flocked Swabs.
http://www.copanusa.com/index.php/products/flocked_swabs/. 3.9.2011.
- Copan Diagnostics Inc. 2009b. M40 Transystem.
<http://www.copanusa.com/index.php/products/m40transystem/>. 3.9.2011.
- Copan Italia S.p.A. 2010a. Copan fecalSwab - Product Insert & How to Use Guide. 58C rev. 03. Brescia Italy: Copan Italia S.p.A.
- Copan Italia S.p.A. 2010b. Liquid Based Microbiology - Product Brochure. Brescia Italy: Copan Italia S.p.A.
- Copan Italia S.p.A. 2010c. Copan Venturi Transystem®. H219DA Rev. 1 Date2010.03. Brescia Italy: Copan Italia S.p.A.
- Copan Italia S.p.A. 2011. Liquid Based Microbiology - Product Brochure. Brescia Italy: Copan Italia S.p.A.
- Dan, M., Richardson, J., Miliotis, M.D. & Koornhof, H.J. 1989. Comparison of preservation media and freezing conditions for storage of specimens of faeces. *Journal of Medical Microbiology* 28, 151–154.
- Farmer, J.J. 2003. *Enterobacteriaceae: Introduction and Identification*. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: American Society for Microbiology, 636–653.
- Forbes, B., Sahm, D. & Weissfeld, A. 2002. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. St. Louis, Missouri: Mosby.
- Gandhi, B. & Mazzulli, T. 2004. Comparative Study of a New Copan Amies Transport Swab M40 Transystem™ with another Commercial Amies Transport Swab.
<http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2004>.
19.10.2011.
- Hallanvuo, S. 2009. Foodborne *Yersinia*, Identification and Molecular Epidemiology of Isolates from Human Infections. Helsinki: Terveystieteiden tutkimuskeskus.
- Hautala, P. 2011. Mikrobiologian erikoislääkäri. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä, Joensuun aluelaboratorio, mikrobiologian osasto. Sähköposti 19.1.2011.
- Heikkilä, T. 2008. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita.
- Hirsjärvi, S. 2009. Metodologiset ja teoreettiset lähtökohdat. Teoksessa Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi, 123–165.
- Hokajärvi, A.-M., Pitkänen, T., Torvinen, E., Miettinen, I. T. 2008. Suolistoperäisten taudinaiheuttajamikrobien esiintyminen luonnonvesissä. Kirjallisuuskatsaus terveysriskeistä ja niiden suuruuteen vaikuttavista tekijöistä. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B1/2008. Helsinki: Kansanterveyslaitos.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2008. Tilastolliset menetelmät. Helsinki: WSOY Opmateriaalit Oy.
- Human, R. & Jones, G. 2006. A New Concept for Transporting Clinical Material on Flocked Swabs in Liquid Amies Medium.
<http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=3&year=2006>.
19.10.2011.
- Huovinen, E., Kuusi, M., Sihvonen, L., Haukka, K. & Siitonen, A. 2006. Yersiniainfektiot Suomessa 1995–2005. *Suomen Lääkärilehti* 61 (46), 4813–4818.
- ISLAB. 2011a. Laatuksikirja. Työohje. Ulosteen bakteeriviljely 1.
- ISLAB. 2011b. Laatuksikirja. Työohje. Campylo–viljely.

- Karhumäki, E., Jonsson, A. & Saros, M. 2010. Mikrobit hoitotyön haasteena. Helsinki: Edita.
- Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Ristiina: Pii-Kirjat.
- Kirstilä, P. 2001. Salmonelloosi perusterveydenhuollossa. Suomen Lääkärilehti 56 (49–50), 5117–5119.
- Klossner, M.-L. 2001. Ulostenäyte bakteriologian ja virologian tutkimuksiin. Moodi 25 (1), 39.
- Korkeala, H. & Lindström, M. 2009. Ruoan kautta tarttuvat bakteeritaudit. Duodecim 125 (6), 674–683.
- Koskela, M. & Tarkka, E. 2009. Epideemisen bakteeriripulin diagnostiikka. Moodi 33 (5), 242–245.
- Kramer, J., Holliday, S., Kanchana, M.V. & Thomas, E. 2003. Comparison of a New Copan Amies Transport Swab M40 Transystem with Starplex Transport Swab for the Recovery of Aerobic and Anaerobic Bacteria. <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2003>. 19.10.2011.
- Kuula, A. 2006. Tutkimusetiikka, aineistojen hankinta, käyttö ja säilytys. Tampere: Vastapaino.
- Kuusi, M., Jalava, K., Siitonen, A. & Ruutu, P. 2007. Toimenpideohje salmonellatartuntojen ehkäisemiseksi. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja C2/2007. Helsinki: Kansanterveyslaitos.
- Kuusi, M., Rimhanen-Finne, R., Lukinmaa, S. & Siitonen, A. 2010. Suolistoinfektiot. Elintarvike- ja vesivälitteiset epidemiat. Teoksessa Hulkko, T., Lyytikäinen, O., Kuusi, M., Seppälä, S. & Ruutu, P. (toim.) Tartuntataudit Suomessa 1995–2009. Raportti 17/2010. Helsinki: Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, 27–30.
- Kyyhkynen, A., Korkeila, M. & Siitonen, A. 2004. Salmonellainfektioiden epidemiologiaa – tartunnat kotimaasta tai matkatuliaisina. Suomen Lääkärilehti 59 (44), 4273–4277.
- L404/1964. Tekijänoikeuslaki. <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1961/19610404>. 22.5.2011.
- L583/1986. Tartuntatautilaki. <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1986/19860583>. 20.10.2011.
- Lacey, A. 2010. The Research Process in Nursing. Teoksessa Gerrish, K. & Lacey, A. (toim.) The Research Process in Nursing. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 13–26.
- Liimatainen, O. 1999. Mittausepävarmuus. Preanalyttiset tekijät. Moodi 23 (1), 26.
- Liimatainen, O. 2010. Laboratorioprosessin laatu; mistä elementeistä laatu koostuu. Moodi 34 (1), 57–58.
- Linko, S. 2007. Preanalytiikka; tärkeä osa analytiikan laatua. Moodi 31 (1), 21.
- Luechtefeld, N., Wang, W.-L., Blaser, M. & Reller, L. 1981. Evaluation of Transport and Storage Techniques for Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from Turkey Cecal Specimens. Journal of Clinical Microbiology 13 (3), 438–443.
- Lääveri, T., Kantele, A., Hakanen, A. & Mattila, L. 2010. Turistiripuli, matkailijan yleisin vitsaus. Duodecim 126 (4), 403–410.
- Markkanen, H. 2000. Preanalytiikan yleisimpiä virhelähteitä ja mihin toiminnan parantamisessa tulisi kiinnittää huomiota. Moodi 24 (6), 172–175.
- Matikainen, A.-M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita.

- Mattila, L., Siitonen, A. & Peltola, H. 2001. Matkaripulin välttäminen ja hoito. Suomen Lääkärilehti 117 (14), 1452–1459.
- Mattila, L. & Järvinen, A. 2011. Maha-suolikanavan infektiot ja ripulitaudit. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Infektiosairaudet: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 475–503.
- Mekalasi Oy. 2010. Mikrobiologia. Tuote-esite.
- Metrologian neuvottelukunta. 2005. Mikrobiologiset vertailukannat, Julkaisu J1/2005. Teoksessa Ehder, T. (toim.) Mikrobiologiset vertailukannat, Julkaisu J1/2005. Helsinki: Mittatekniikan keskus, 5–19.
- Metrologian neuvottelukunta. 2006. Mikrobiologian laboratorion elatusaineiden sisäinen laadunvarmistus, Julkaisu J6/2006. Teoksessa Ehder, T. (toim.) Mikrobiologian laboratorion elatusaineiden sisäinen laadunvarmistus, Julkaisu J6/2006. Espoo: Mittatekniikan keskus, 7–19.
- Miller, J., Holmes, H. & Krisner, K. 2003. General Principles of Specimen Collection and Handling. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology, 55–66.
- Morosini, M.-I., Loza, E., Gutiérrez, O., Almaraz, F., Baquero, F. & Cantón, R. 2006. Evaluation of 4 swab transport systems for the recovery of ATCC and clinical strains with characterized resistance mechanisms. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 56, 19–24.
- Mäkinen, O. 2006. Tutkimusetiikan ABC. Helsinki: Tammi.
- Nachamkin, I. 2003. *Campylobacter* and *Arcobacter*. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology, 902–910.
- Nohynek, H., Siikamäki, H., Peltonen, R. & Kantele, A. 2011. Matkailijoiden ja maahanmuuttajien infektiot. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Infektiosairaudet: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 739–762.
- Peltola, J., Kanerva, M., Kuusi, M., Kyyhkynen, A. & Siitonen, A. 2003. Ituverсот – salmonellaepidemioihin usein liitettyjä tartunnan välittäjiä. Suomen Lääkärilehti 58 (35), 4350–4353.
- Pentikäinen, K. 2011. Aluepäällikkö. Mekalasi Oy. Sähköposti 24.10.2011.
- Penttinen, P. 2006a. *Yersinia pseudotuberculosis* – aito suolistopatogeeni. Suomen Lääkärilehti 61 (44), 4594–4597.
- Penttinen, P. 2006b. Kesä, kana ja kampylobakteeri! Suomen Lääkärilehti 61 (26), 2866–2868.
- Rautelin, H. & Hänninen, M.-L. 2004. Kampylobakteeri-infektiot Suomessa. Suomen Lääkärilehti 59 (5), 405–407.
- Rautelin, H. 2007. Kampylobakteerit, aeromonakset ja plesiomonas. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 217–221.
- Rishmawi, N., Ghneim, R., Kattan, R., Ghneim, R., Zoughbi, M., Abu-Diab, A., Turkuman, S., Dauodi, R., Shomali, I., El-Razeq Issa, A., Siriani, I., Marzouka, H., Schmid, I. & Hindiyeh, M.Y. 2007. Survival of Fastidious and Nonfastidious Aerobic Bacteria in Three Bacterial Transport Swab Systems. Journal of Clinical Microbiology 45 (4), 1278–1283.

- Rossow, H. & Kuusi, M. 2010a. Suolistoinfektiot. *Kampylobakteeri*. Teoksessa Hulkko, T., Lyytikäinen, O., Kuusi, M., Seppälä, S. & Ruutu, P. (toim.) *Tartuntataudit Suomessa 1995–2009. Raportti 17/2010*. Helsinki: Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, 19–21.
- Rossow, H. & Kuusi, M. 2010b. Suolistoinfektiot. *Shigella*. Teoksessa Hulkko, T., Lyytikäinen, O., Kuusi, M., Seppälä, S. & Ruutu, P. (toim.) *Tartuntataudit Suomessa 1995–2009. Raportti 17/2010*. Helsinki: Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, 21–22.
- Ruutu, P. & Puska, P. 2010. Johdanto. Teoksessa Hulkko, T., Lyytikäinen, O., Kuusi, M., Seppälä, S. & Ruutu, P. (toim.) *Tartuntataudit Suomessa 1995–2009. Raportti 17/2010*. Helsinki: Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, 5–6.
- Sewell, D. 2003. Using Cary-Blair medium with enteric pathogens. *Medical Laboratory Observer* 35 (11), 35.
- Sihvonen, L., Nissinen, A. & Siitonen, A. 2009. *Yersinia enterocolitica* tunnistaminen kliinisessä laboratoriossa. *Moodi* 33 (5), 252–255.
- Siitonen, A. & Haukka, K. 2005. *Yersinia enterocolitica* – haasteellinen tunnistettava. *Moodi* 29 (5), 175–179.
- Siitonen, A. & Vaara, M. 2007. *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* ja *Yersinia*. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 177–195.
- Siitonen, A. & Lyytikäinen, O. 2008. *Salmonellat* ja muut ”ruokamyrkytysbakteerit” hoitoon liittyvien infektioiden aiheuttajina Suomessa. *Suomen sairaalahygienialehti* 26 (2), 70–74.
- Taylor, W.I. & Schelhart, D. 1973. Effect of Temperature of Inkubation on Performance of Media in the Detection of Enteric Pathogens. *Applied Microbiology* 25 (6), 940–944.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, S. 2008. *Kliiniset laboratorionäytteet: opas näytteiden ottoa varten*. Helsinki: Tammi.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2002. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitteleminen. <http://www.tenk.fi/HTK/htkfi.pdf>. 21.5.2011.
- Van Horn, K.G., Audette C.D. & Tom, B. 2006. Evaluation and Comparison of Three Swab Collection and Transport Systems Tested by the CLSI M40-A Method. <http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?topic=4&year=2006>. 19.10.2011.
- Van Horn, K.G., Audette, C.D., Sebeck, D. & Tucker, A.K. 2008. Comparison of the Copan ESwab System with Two Amies Agar Swab Transport Systems for Maintenance of Microorganism Viability. *Journal of Clinical Microbiology* 46 (5), 1655–1658.
- Viskari, S. 2009. *Tieteellisen kirjoittamisen perusteet: opas kirjoittamiseen ja seminaarityöskentelyyn*. Tampere: Tampereen yliopisto.
- Ylönen, H. 2005. *Mikrobiologisten näytteiden ottaminen*. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. Helsinki: Suomen Kuntaliitto, 99–115.
- Wang, W.-L., Reller, L., Smallwood, B., Luechtefeld, N. & Blaser, M. 1983. Evaluation of Transport Media for *Campylobacter jejuni* in Human Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 18 (4), 803–807.
- Zoonoosikeskus. 2011. Zoonoosit. <http://www.zoonoosikeskus.fi/portal/fi/zoonoosit>. 24.9.2011.

Potilasohje uloste-*vi*ljelynäytteenottoon

	ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ	POTILASOHJE	
		13.5.2008	1(1)

Potilasohje ulostenäytteen ottamisesta bakteeriviljelystä varten
F-SalmVi (2608) F-BaktVi1 (3442) F-BaktVi3 (3584)

Tutkimuksen tarkoitus

Ulosteen bakteeriviljelytutkimuksen tarkoituksena on selvittää, löytyykö ulostenäytteestä ripulitauteja tai vatsavaivoja aiheuttavia bakteereita.

Näytteenottovälineet

Teille on annettu mukaan tutkimuspyynnön mukaisesti näytteenottovälineitä:

- ❖ Bakteerinkuljetusputki: sisältää pumpulipäisen näytetikun ja näyteputken, jonka pohjalla on tummaa kuljetusgeeliä ja/tai
- ❖ Lusikkapurkki: muovinen kierrekorkillinen purkki, jonka korkissa on lusikka

Näytteenotto

- Tyhjentäkää virtsarakko ennen ulostamista, sillä virtsaa ei saa joutua ulosteen sekaan.
- Ulostakaa puhtaaseen, kuivaan astiaan (esim. potta)
- Ottakaa ulostetta saamiinne näyteastioihin:
 - ❖ Bakteerinkuljetusputki: Ottakaa näyteputkesta tulppa pois ja kastakaa näytetikun pumpulipäätä reilusti ulosteeseen. Työntäkää näytetikku näyteputkeen niin että pumpulipää uppoaa kuljetusgeeliin. Tikun päässä oleva tulppa toimii putken sulkijana, alkuperäisen tulpan voitte hävittää.
 - ❖ Lusikkapurkki: Ottakaa korkkilusikalla ulostetta purkkiin runsas määrä, puoli purkillista
- Kirjoittakaa näyteputkeen (ja purkkiin) nimenne ja syntymäaikanne, tai liimatkaa nimitarra.
- Pakatkaa näyteputki (ja purkki) muovipussiin (esim. Minigrip®); kukin näyteastia omaan pussiinsa.

Näytteen toimittaminen tutkittavaksi

- Toimittakaa näyteputki (ja purkki) saman päivän aikana laboratorioon
- Jos joudutte säilyttämään näyteputkea (purkkia) useita tunteja ennen laboratorioon toimittamista, pitääkää se viileässä esim. jääkaapissa ja auringonvalolta suojattuna. Näyte ei saa jäätyä.

Näytteenottoon liittyvissä kysymyksissä voitte ottaa yhteyttä:

Ohjeen antanut laboratorio	
Puhelin	

ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

Kuopio, Puijonlaaksontie 2 Ma-Pe 7-15 puh 044-717 8720	Joensuu, Tikkamäentie 16 Ma-Pe 7-15 puh 044-717 8889
Mikkeli, Porrassalmenkatu 35-37 Ma-Pe 7-15 puh 044-717 8923	Savonlinna, Keskussairaalantie 6 Ma-Pe 7-15 puh 044-717 8940

Toimeksiantosopimus



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTO

SOPIJAOSAPUOLET:

TOIMEKSIANTAJA ISLAB, Joensuu aluelaboratorio, mikrobiologian osasto

Yhteystiedot: Tikkamäentie 16, 80210 Joensuu, Pohjois-Karjalan keskussairaala

Sähköpostiosoite: pirkko.hautala@islab.fi

OPISKELIJA Neera Forsman / PKAMK Bioanalytiikan koulutusohjelma Joensuu

Yhteystiedot: neera.forsman@edu.pkamk.fi

TOIMEKSIANTOSOPIMUS:

Opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia yleisimpien bakteeriripulin taudinaiheuttajien säilyvyyttä Transystem M40- bakteerikuljetusputkissa ja FecalSwab -enterobakteerien kuljetusputkissa jääkaappilämpötilassa.

Osapuolet ovat tänään sopineet toimeksiannosta seuraavaa: (esim. rahoitus, aikarajat, tekijänoikeudet)

Antaa käyttöön laboratorion tilat ja tutkimustarvikkeet (mm. pasteur-pipetit, laimennosputket, viljelysauvat/-silmukat) sekä elatusainemaljat (176 kpl XLD, 100 campylo, 76 yersinia). Opiskelijalla on oikeus käyttää laboratorion pakastetaltioituja bakteerikantoja tutkimukseen. Bakteerikuljetusputket toimitetaan suoraan laboratorioon, jossa niitä säilytetään asianmukaisesti.

Opiskelija hakee erillisen luvan tutkimuksen tekoon ja suorittaa tutkimuksen aikataulun mukaisesti (tutkimussuunnitelma kevät 2011, laboratoriotutkimusvaihe keväällä 2011 vko 9-11, opinnäytteen viimeistely syksyllä 2011). Opiskelija toimittaa toimeksiantajalle kansitetun version (1kpl) opinnäytetyöstä.

Opinnäytetyön ohjaajana PKAMK:ssa toimii Satu Miettinen ja Minna Rakkila

Päiväys ja allekirjoitukset

28.1.2011 Joensuu

J. Karhunen yl. mikrobiol. lab.
Toimeksiantajan edustaja

Neera Forsman
Opiskelija

Tutkimukseen käytettyjen bakteerikuljetusputkien tunnistetiedot

Bakteerikuljetusputkivalmistaja Copan Italia S.p.A

Salmonella typhimurium -näytteet

FecalSwab-enterobakteeri kuljetus- ja säilytysputki, 470CE
modifioitu Cary-Blair -media 2 ml

REF 032F01

LOT 36JA00

EXP. DT. 2012/04

Transystem M40, 408C

Amies-alusta, muovitikku ilman hiiltä

REF 002E47

LOT 15CD00

EXP. DT. 2012/02

Shigella sonnei -näytteet

FecalSwab-enterobakteeri kuljetus- ja säilytysputki, 470CE
modifioitu Cary-Blair -media 2 ml

REF 032F01

REF 032G05

LOT 36JA00

LOT 50P700

EXP. DT. 2012/04

EXP. DT. 2012/05

Transystem M40, 408C

Amies-alusta, muovitikku ilman hiiltä

REF 002M01

LOT 36KR00

EXP. DT. 2012/04

Tutkimuksessa käytettyjen bakteerikuljetusputkien tunnistetiedotYersinia enterocolitica -näytteet

FecalSwab-enterobakteeri kuljetus- ja säilytysputki, 470CE
modifioitu Cary-Blair -media 2 ml

REF 032F01	REF 032G05
LOT 36JA00	LOT 50P700
EXP. DT. 2012/04	EXP. DT. 2012/05

Transystem M40, 408C
Amies-alusta, muovitikku ilman hiiltä
REF 002M01
LOT 36KR00
EXP. DT. 2012/04

Campylobacter jejuni -näytteet

FecalSwab-enterobakteeri kuljetus- ja säilytysputki, 470CE
modifioitu Cary-Blair -media 2 ml

REF 032F01
LOT 36JA00
EXP. DT. 2012/04

Transystem M40, 408C
Amies-alusta, muovitikku ilman hiiltä
REF 002M01
LOT 36KR00
EXP. DT. 2012/04

Tutkimuslupa


 ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
 LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

 HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
 TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

Nro 5 / 2011

Hakemuksen käsittely on kuvattu hallinnollisessa ohjeessa "Hoitotieteen ja muiden terveystieteiden tutkimuksen ohjeet Kuopion yliopistollisessa sairaalassa". Hakemukseen liitetään tutkimussuunnitelma aineiston keruulomakkeineen ja saatteineen, rahoitussuunnitelma.

HAKIJA

Vastuullinen tutkija

Noora Forsman

noora.forsman@edu.pkamk.fi

Nimi

Muut tutkijat

Työ- tai opiskelupaikka

Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu

Virka/toimi (ei koske opiskelijoita)

Opiskelupaikka

 AMK mikä

PKAMK

 yliopisto mikä muu mikä

Suoritettava tutkinto

Bioanalyytikko (AMK)

TUTKIMUS

Tutkimuksen nimi

Yleisimpien bakteeripaino taudinaiheuttajien säilyvyys Transystem M40-bakteerikuljetusputkissa sekä FaecalSwab -erikobakteerien kuljetusputkissa, jalkaoppilämpötiloissa.

Tutkimuksen lyhyt kuvaus (mm. tutkimuksen tarkoitus, kohderyhmä ja tutkimusmenetelmät) sekä julkaisusuunnitelma (maksimissaan 300 sanaa)

Tutkimus on kvantitatiivinen kokeellinen tutkimus. Tarkoituksena on tutkia salmonellan, shigellan, yersinian ja kampylebakteerin säilyvyyttä Transystem M40 ja FaecalSwab -bakteerikuljetusputkissa, kun näytteenotosta on kulunut 15 minuuttia, 24, 48 ja 72 tuntia. Tutkimuksessa selvitetään myös onko bakteerikuljetusputkien näytteiden säilyvyydessä havaittavissa eroja. Tutkimusaineisto koostuu Joensuun klinisen mikrobiologian laboratorion pakastetaloitoiduista bakteerikannoista. Ennen varsinaisen tutkimuksen toteuttamista tehdään suppea esitestaus. Opinnäytetyö julkaistaan joulukuussa 2011.

Tutkimus on

 amk-tutkinto ylempi amk-tutkinto pro gradu lisensiaattityö väitöskirja muu, mikä

Monikeskustutkimus

 ei kyllä kansallinen kansainvälinen

Tutkimuksen kokonaisaikataulu

tammikuu 2011 - jouluku 2011

Aikataulu KYSissä/Islabissa

28.2. - 18.3. 2011

Kustannukset

 Arvio KYSille ja Islabille koituvista kustannuksista < 100 €

Tarkempi kustannuserittely esitettävä erillisellä liitteellä.

 Ei aiheuta kustannuksia KYSille/Islabille

ISLAB 210-1.



Tutkimuslupa



ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

PÄÄTÖS

- Myönnän tutkimusluvan
- Myönnän tutkimusluvan, mutta ennen tutkimuksen aloittamista tutkimukselle tulee hakea tutkimuseettisen toimikunnan lausunto / johtajaylilääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten / STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten / KYS:n henkilöstöpäällikön lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten / muu lupa, mikä

Tulosyksikön / -alueen ylihoitajan / hallintoylihoitajan päätös nro

Islabin aluelaboratorion johtajan päätös

3.12.2011

5/2011

Allekirjoitus

Matti Rantamaa
Nimen selvennys

Yhteyshenkilö Islabissa/KYSissä (Tulosyksikön /-alueen ylihoitaja tai hallintoylihoitaja nimeää)

Pirkko Hautala
Nimi
pirkko.hautala@islab.fi
S-posti

ISLAB, yleisen alueen mikrob.
Työyksikkö
044-7178901 osasto
Puhelin

LIITTEET

- Tutkimussuunnitelma 11 sivua
- Rahoitussuunnitelma 1 sivua
- Muita liitteitä _____ sivua



Työohje pakastetaltioitujen bakteerikantojen sulatukseen ja viljelyyn (Mukaiillen Hautala 2011).

ATCC-bakteerikannat:

- Salmonella typhimurium ATCC 14028
- Shigella sonnei ATCC 9290
- Yersinia enterocolitica ATCC 23715
- Cambylobacter jejuni ATCC 33291

1. Bakteerikannat ovat pakastettuina skim milk -putkissa (pakastusputket, jotka sisältävät rasvatonta maitoa) -70 °C:ssa. Etsi bakteerikanta pakastelokerosta ja tarkista pakastusputken ATCC-numerosarja.
2. Valitse sulatettavalle bakteerikannalle soveltuva elatusainemalja taulukon 1 mukaan. Raaputa viljelysauvalla pakastusputken pinnalta skim milk -hilettä elatusainemaljalle. Vie skim milk -putki takaisin pakastelokeroon merkitylle paikalle.
3. Hajota hileet viljelysauvalla elatusainemaljan pinnalle hajotusviljelytekniikalla.
4. Inkuboi elatusainemaljaa lämpökaapissa taulukon 1 mukaisesti.
5. Tee puhtasviljelmä. Ota viljelysauvan kärkeen yksi bakteeripesäke aiemmin viljeltyltä elatusainemaljalta ja viljele se uudelle elatusainemaljalle hajotusviljelytekniikalla. Inkuboi elatusainemaljaa lämpökaapissa taulukon 1 mukaisesti.

Taulukko 1. Bakteerikantojen viljelyolosuhteet (Mukaiillen ISLAB 2011a, 1; ISLAB 2011b, 1).

Bakteerikanta	Elatusainemalja	Inkubointilämpötila	Inkubointiaika
Salmonella	XLD	35 °C	24 h
Shigella	XLD	35 °C	24 h
Yersinia	yersiniamalja	30 °C	24 h
Kampylobakteeri	verimalja	42°C anaerobiastia + kaasukehityspakkaus	48 h

6. Inkuboi puhtasviljelmän elatusainemaljaa 24 tuntia varsinaisessa tutkimuksessa tehtävän bakteerinäytteen valmistamisen jälkeen mahdollisten kontaminaatiopesäkkeiden havaitsemiseksi. Noudata taulukossa 1 esitettäviä inkubointilämpötiloja.

Huomioitavaa: Bakteerikantojen viljelyolosuhteet pohjautuvat Joensuun klinisen mikrobiologian tutkimusmenetelmiin, mutta työohje on tarkoitettu vain tutkimuskäyttöön.

Työohje alkuperäisen bakteerinäytteen pitoisuuden määrittämiseen (Mukaillen Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Coleman ym. 2007; Van Horn ym. 2006).

Tarvittavat välineet:

- ilmamäntäpipetti
- suodatinkärkiä
- koeputkia (4 ml)
- koeputkiteline
- parafilmiä
- fysiologinen natriumkloridi (0,9 % NaCl)
- viljelysauvoja
- XLD-, yersinia- tai campylo -elatusainemaljoja tutkittavan taudinaiheuttajan mukaan
- käsilaskuri

Valmistettavat laimennokset:

- salmonella-, shigella- ja yersinianäytteet: 1:1 000, 1:10 000, 1:100 000
- campylobakteerinäyte: 1:100, 1:1 000, 1:10 000

Esivalmistelut:

1. Kirjaa koeputkiin numerot 1–6 taulukon 1 osoittamalla tavalla kuvaamaan koeputkiin valmistettavia laimennoksia.
2. Pipetoi kuhunkin koeputkeen 0,9 % NaCl taulukon 1 osoittama määrä. Sulje koeputkien suut parafilmillä.
3. Merkitse elatusainemaljoihin tutkittavan bakteerin nimi ja viljeltävä laimennos. Huomioi, että laimennossarjat viljellään rinnakkaisille elatusainemaljoille.

Laimennossarjan valmistus:

4. Vortexoi bakteerinäytettä 5 sekuntia. Poista parafilmi koeputkista ja suorita laimennossarjan valmistus taulukon 1 mukaisesti.

Taulukko 1. Laimennossarjan pipetointikaavio.

Koeputken nro	Laimennos	Pipetoi	0,9% NaCl
1	1:10	100 µl bakteerinäytettä	900 µl
2	1:100	100 µl 1:10 laimennosta	900 µl
3	1:1000	100 µl 1:100 laimennosta	900 µl
4	1:10 000	100 µl 1:1 000 laimennosta	900 µl
5	1:100 000	100 µl 1:10 000 laimennosta	900 µl

Työohje alkuperäisen bakteerinäytteen pitoisuuden määrittämiseen (Mukaillen Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Coleman ym. 2007; Van Horn ym. 2006).

Laimennossarjan viljely elatusainemaljoille:

5. Kukin laimennos viljellään kahdelle, rinnakkaiselle elatusainemaljalle. Käytettävät elatusainemaljat valitaan taulukon 2 mukaan. Pipetoi 100 µl kutakin laimennosta rinnakkaisille elatusainemaljoille ja viljele hajotusviljelytekniikalla.
6. Inkuboi elatusainemaljoja taulukon 2 mukaisesti.

Taulukko 2. Bakteerinäytteiden viljelyolosuhteet (Mukaillen ISLAB 2011a, 1; ISLAB 2011b, 1).

Bakteerinäyte	Elatusainemalja	Inkubointilämpötila	Inkubointiaika
Salmonella	XLD	35 °C	24 h
Shigella	XLD	35 °C	24 h
Yersinia	yersiniamalja	30 °C	24 h
Kampylobakteeri	campylomalja	42°C anaerobiastia + kaasukehityspakkaus	48 h

Bakteeripitoisuuden määrittäminen:

7. Inkuboinnin jälkeen jaa elatusainemaljat sektoreihin ja laske bakteeripesäkkeiden lukumäärät.
8. Määritä bakteerinäytteen pitoisuus samalla laskukaavalla kuin tutkittavien bakteerikulttuurien näytteiden kohdalla tehdään.

Huomioitavaa: Bakteerinäytteiden viljelyolosuhteet pohjautuvat Joensuun klinisen mikrobiologian tutkimusmenetelmiin, mutta työohje on tarkoitettu vain tutkimuskäyttöön.

Bakteerikuljetusputkien inokulaatio-ohje (Mukaihen Castriciano 2011; Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Coleman ym. 2007; Van Horn ym. 2006).

Tarvittavat välineet:

- ilmamäntäpipetti
- suodatinkärkiä
- 24 kpl koeputkia (4 ml)
- 2 kpl koeputkitelineitä
- 12 kpl FecalSwab
- 12 kpl Transystem M40

Esivalmistelut:

1. Kirjaa bakteerikuljetusputkiin seuraavat tunnistemerkinnot:
 - kaikkiin putkiin tutkittavan taudinaiheuttajan nimi
 - 3 putkeen säilytysaika 0 h
 - 3 putkeen säilytysaika 24 h
 - 3 putkeen säilytysaika 42 h
 - 3 putkeen säilytysaika 72 h
 - kunkin säilytysajan 3 putkeen roomalaiset numerot I, II tai III
2. Poista FecalSwab- ja Transystem M40 -pakkauksista bakteerikuljetusputket ja aseta ne koeputkitelineeseen. Avaa tuotepakkaus varoen niin, että näytteenottotikku jää suojaan muovikuoren sisään.
3. Aseta toiseen koeputkitelineeseen 24 kappaletta koeputkia.

Inokulaatio:

4. Pipetoi kuhunkin koeputkeen 100 µl bakteerinäytettä.
5. Aseta sekä FecalSwab- että Transystem M40 -bakteerikuljetusputken näytteenottotikut koeputkiin ja anna näytteen imeytyä näytteenottotikkuihin kokonaan. Kääntelee näytteenottotikkuja koeputkissa imeytymisen edistämiseksi.
6. Aseta ensin FecalSwab-näytteenottotikut bakteerikuljetusputkiin. Toista sama Transystem M40 -bakteerikuljetusputkille.

FecalSwab-bakteerikuljetusputken laimennossarjan valmistusohje (Mukaiillen Castriciano 2011; Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Van Horn ym. 2006).

Tarvittavat välineet:

- ilmamäntäpipetti
- suodatinkärkiä
- koeputkiteline
- käyttämättömiä FecalSwab-bakteerikuljetusputkia (kutsutaan tässä tutkimuksessa laimennossarja FecalSwab-putkiksi ja merkitään lyhenteellä IsFS). Bakteerikuljetusputket sisältävät 2 ml modifioitua Cary-Blair -kuljetusalustaa.

Esivalmistelut:

1. Selvitä kunkin säilytysajan päättyessä valmistettavan laimennossarjan porrastus liitteestä 10. Ota käyttöön vain tarvittava määrä IsFS-putkia.
2. Avaa FecalSwab-tuotepakkaukset, vortexoi putkia muutaman sekunnin ajan ja aseta ne koeputkitelineeseen. Näytteenottotikut voit hävittää normaalin sekajätteen mukana.
3. Kirjaa seuraavat tunnistemerkinnät IsFS-putkiin:
 - tutkittavan bakteerikuljetusputken roomalaisen numeron mukaan merkintä I, II tai III
 - valmistettava laimennos

Laimennossarjan valmistus:

4. Ota FecalSwab-bakteerikuljetusputket huoneenlämpöön.
5. Vortexoi tutkittavaa bakteerikuljetusputkea 15 sekunnin ajan. Poista kuljetusputken korkki.
6. Huomioi, että tutkittava bakteerikuljetusputken näyte vastaa jo 1:20-laimennosta, koska alkuperäisen bakteerinäytteen määrä oli 100 µl ja kuljetusputkessa on 2 000 µl modifioitua Cary-Blair -kuljetusalustaa. Kun valmistat 1:100-laimennoksen, pipetoi 200 µl tutkittavan bakteerikuljetusputken näytettä uuteen IsFS-putkeen (taulukko 1). Sulje IsFS-putken korkki ja vortexoi 15 sekunnin ajan. Jatka laimennossarjan valmistusta taulukon 1 mukaisesti. Huomioi, että suljet kaikkien IsFS-putkien korkit huolellisesti aina vortexoimalla ajaksi.

Taulukko 1. FecalSwab-bakteerikuljetusputken laimennossarjan pipetointi.

Valmistettava laimennos	Lisättävä näyte
1:100	200 µl bakteerikuljetusputken näytettä
1:1000	200 µl 1:100 näytettä
1:10 000	200 µl 1:1 000 näytettä
1:100 000	200 µl 1:10 000 näytettä
1:1 000 000	200 µl 1:100 000 näytettä

Transystem M40 -bakteerikuljetusputken laimennossarjan valmistusohje (Mukailen Castriciano 2011; Van Horn ym. 2008, 1655–1656; Coleman ym. 2007; Van Horn ym. 2006).

Tarvittavat välineet:

- ilmamäntäpipetti
- suodatinkärkiä
- fysiologista keittosuolaliuosta (0,9 % NaCl)
- koeputkia (4 ml)
- koeputkiteline
- parafilmiä

Esivalmistelut:

1. Selvitä kunkin säilytysajan päättyessä valmistettavan laimennossarjan porrastus liitteestä 10. Ota käyttöön vain tarvittava määrä koeputkia.
2. Kirjaa koeputkiin seuraavat tunnistemerkinnot:
 - tutkittavan bakteerikuljetusputken roomalaisen numeron mukaan merkintä I, II tai III
 - valmistettava laimennos
3. Pipetoi jokaiseen koeputkeen 2 000 µl 0,9 % NaCl (taulukko 1). Sulje koeputkien suut parafilmillä. Poista parafilmi vasta ennen kunkin laimennoksen pipetointia.

Laimennossarjan valmistus:

4. Aseta bakteerikuljetusputken näytetikku koeputkeen ja vortexoi noin 15 sekunnin ajan (taulukko 1). Lopuksi paina näytteenottotikun kärkeä koeputken seinämää vasten, jotta mahdollisimman paljon näytettä irtoaa näytteenottotikusta. Vortexoi koeputkea uudelleen noin 15 sekunnin ajan ennen seuraavan laimennoksen pipetointia.
5. Pipetoi laimennossarja taulukon 1 mukaisesti.

Taulukko 1. Transystem M40 -bakteerikuljetusputken laimennossarjan pipetointi.

Valmistettava laimennos	0,9 % NaCl	Lisättävä näyte
1:20	2 000 µl	näytetikun näyte (100µl)
1:100	2 000 µl	200 µl 1:20 näytettä
1:1000	2 000 µl	200 µl 1:100 näytettä
1:10 000	2 000 µl	200 µl 1:1 000 näytettä
1:100 000	2 000 µl	200 µl 1:10 000 näytettä
1:1 000 000	2 000 µl	200 µl 1:100 000 näytettä

Bakteerikuljetusputkista viljeltävät laimennossarjatSalmonella typhimurium -näytteet

Taulukko 1. FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien sisältämistä *S. typhimurium* -näytteistä viljeltävät laimennossarjat kunkin säilytysajan mukaan.

Säilytysaika	0 h	24 h	48 h	72 h
Laimennos	1/1 000	1/100		1/100
	1/10 000	1/1 000	1/1 000	1/1 000
	1/100 000	1/10 000	1/10 000	1/10 000

Shigella sonnei -näytteet

Taulukko 2. FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien sisältämistä *S. sonnei* -näytteistä viljeltävät laimennossarjat kunkin säilytysajan mukaan.

Säilytysaika	0 h	24 h	48 h	72 h
Laimennos	1/1 000	1/100	1/100	1/100
	1/10 000	1/1 000	1/1 000	1/1 000
	1/100 000	1/10 000	1/10 000	1/10 000

Yersinia enterocolitica -näytteet

Taulukko 3. FecalSwab-bakteerikuljetusputkien sisältämistä *Y. enterocolitica* -näytteistä viljeltävät laimennossarjat kunkin säilytysajan mukaan.

Säilytysaika	0 h	24 h	48 h	72 h
Laimennos	1/1 000	1/1 000	1/10 000	1/10 000
	1/10 000	1/10 000	1/100 000	1/100 000
	1/100 000	1/100 000	1/1 000 000	1/1 000 000

Taulukko 4. Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien sisältämistä *Y. enterocolitica* -näytteistä viljeltävät laimennossarjat kunkin säilytysajan mukaan.

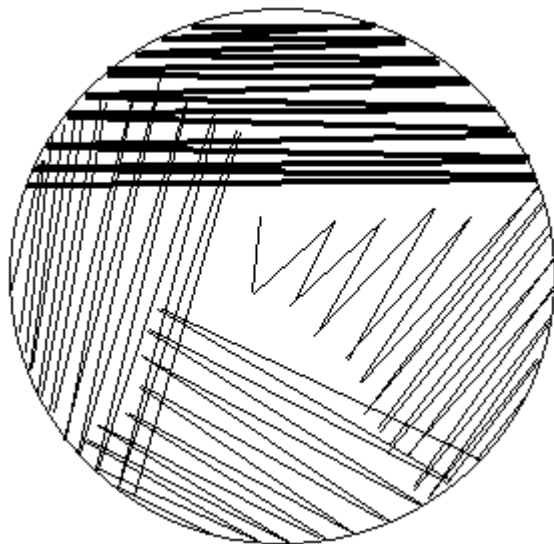
Säilytysaika	0 h	24 h	48 h	72 h
Laimennos	1/100	1/1 000	1/1 000	1/1 000
	1/1 000	1/10 000	1/10 000	1/10 000
	1/10 000	1/100 000	1/100 000	1/100 000

Campylobacter jejuni -näytteet

Taulukko 5. FecalSwab- ja Transystem M40 -bakteerikuljetusputkien sisältämistä *C. jejuni* -näytteistä viljeltävät laimennossarjat kunkin säilytysajan mukaan.

Säilytysaika	0 h	24 h	48 h	72 h
Laimennos	1/100	1/10	1/10	1/10
	1/1 000	1/100	1/100	1/100
	1/10 000	1/1 000	1/1 000	1/1 000

Hajotusviljelytekniikka (Mukaillen Carlson & Koskela 2011, 41).



Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Salmonella typhimurium

Taulukko 1. Elatusainemaljoilta lasketut *S. typhimurium* -näytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärät.

Säilytysaika ja laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä bakteerikuljetusputkessa					
	FS I	FS II	FS III	M40 I	M40 II	M40 III
0 h						
1/1 000	439	429	278	52	45	43
1/10 000	38	29	37	2	6	8
1/100 000	4	0	3	0	0	1
24 h						
1/100	1000	>	>	1100	1100	971
1/1 000	306	282	236	106	113	113
1/10 000	27	41	27	11	5	8
48 h						
1/1 000	200	355	308	116	115	97
1/10 000	29	25	26	8	9	8
72 h						
1/100	>	>	>	1000	850	870
1/1 000	317	263	290	109	79	96
1/10 000	26	26	25	10	7	10

> = yli 1 500 bakteeripesäkettä

Taulukko 2. *S. typhimurium* -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) kunkin säilytysajan päättyessä.

Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuus (PMY/ml) kunkin säilytysajan päättyessä			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FS I	$8,1 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	$4,9 \times 10^6$	$5,8 \times 10^6$
FS II	$4,8 \times 10^6$	$6,9 \times 10^6$	$6,1 \times 10^6$	$5,2 \times 10^6$
FS III	$6,3 \times 10^6$	$5,1 \times 10^6$	$5,7 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$
M40 I	$4,8 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
M40 II	$7,0 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$
M40 III	$1,5 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Taulukko 3. Alkuperäisen *S. typhimurium* -bakteerinäytteen bakteeripesäkemäärät rinnakkaisilla elatusainemaljoilla sekä määritetty bakteeripitoisuus (PMY/ml).

Laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä
1/1 000 (1)	839
1/1 000 (2)	936
1/10 000 (1)	100
1/10 000 (2)	87
1/100 000 (1)	8
1/100 000 (2)	11
Bakteeripitoisuus (PMY/ml) 9,2 x 10 ⁶	

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Shigella sonnei

Taulukko 4. Elatusainemaljoilta lasketut *S. sonnei* -näytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärät.

Säilytysaika ja laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä bakteerikuljetusputkessa					
	FS I	FS II	FS III	M40 I	M40 II	M40 III
0 h						
1/1 000	387	390	393	72	141	110
1/10 000	35	36	32	10	13	13
1/100 000	5	4	2	1	1	2
24 h						
1/100	>	>	>	1200	1200	1300
1/1 000	370	364	271	125	160	165
1/10 000	33	28	27	16	12	19
48 h						
1/100	>	>	>	1400	1300	1400
1/1 000	358	349	424	167	176	185
1/10 000	33	29	38	15	14	14
72 h						
1/100	>	>	>	1400	1300	1400
1/1000	420	284	287	121	142	182
1/10 000	28	31	35	14	17	15

> = yli 1 500 bakteeripesäkettä

Taulukko 5. *S. sonnei* -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) kunkin säilytysajan päättyessä.

Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuus (PMY/ml) kunkin säilytysajan (h) päättyessä			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FS I	8,2 x 10 ⁶	7,0 x 10 ⁶	6,9 x 10 ⁶	7,0 x 10 ⁶
FS II	7,7 x 10 ⁶	6,4 x 10 ⁶	6,4 x 10 ⁶	5,9 x 10 ⁶
FS III	6,1 x 10 ⁶	5,4 x 10 ⁶	8,0 x 10 ⁶	6,4 x 10 ⁶
M40 I	1,8 x 10 ⁶	2,7 x 10 ⁶	3,0 x 10 ⁶	2,7 x 10 ⁶
M40 II	2,5 x 10 ⁶	2,7 x 10 ⁶	3,0 x 10 ⁶	2,9 x 10 ⁶
M40 III	2,9 x 10 ⁶	3,2 x 10 ⁶	3,1 x 10 ⁶	3,1 x 10 ⁶

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Taulukko 6. Alkuperäisen S. sonnei -bakteerinäytteen bakteeripesäkemäärät rinnakkaisilla elatusainemaljoilla sekä määritetty bakteeripitoisuus (PMY/ml).

Laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä
1/1 000 (1)	626
1/1 000 (2)	633
1/10 000 (1)	62
1/10 000 (2)	73
1/100 000 (1)	8
1/100 000 (2)	5
Bakteeripitoisuus (PMY/ml) $6,5 \times 10^6$	

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Yersinia enterocolitica

Taulukko 7. Elatusainemaljoilta lasketut Y. enterocolitica -näytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärät.

Säilytysaika ja laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä bakteerikuljetusputkessa					
	FS I	FS II	FS III	M40 I	M40 II	M40 III
0 h						
1/100	-	-	-	1300	1100	1100
1/1 000	321	366	320	71	90	84
1/10 000	31	42	24	1	5	3
1/100 000	1	1	4	-	-	-
24 h						
1/1 000	1200	1100	1200	241	283	375
1/10 000	118	95	120	17	12	13
1/100 000	12	14	18	1	0	0
48 h						
1/1 000	-	-	-	665	732	367
1/10 000	286	265	321	23	26	22
1/100 000	21	28	36	1	1	2
1/1 000 000	2	5	2	-	-	-
72 h						
1/1 000	-	-	-	>	>	>
1/10 000	555	542	1200	100	188	368
1/100 000	64	41	110	9	24	15
1/1 000 000	9	4	3	-	-	-

> = yli 1 500 bakteeripesäkettä

Taulukko 8. Y. enterocolitica -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) kunkin säilytysajan päättyessä.

Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuus (PMY/ml) kunkin säilytysajan (h) päättyessä			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FS I	$4,9 \times 10^6$	$2,4 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$
FS II	$5,9 \times 10^6$	$2,3 \times 10^7$	$7,0 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$
FS III	$6,4 \times 10^6$	$2,8 \times 10^7$	$5,9 \times 10^7$	$1,7 \times 10^8$
M40 I	$1,4 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$	$6,6 \times 10^6$	$1,9 \times 10^7$
M40 II	$1,7 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$	$7,3 \times 10^6$	$4,3 \times 10^7$
M40 III	$1,5 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$	$5,2 \times 10^6$	$5,2 \times 10^7$

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Taulukko 9. Alkuperäisen *Y. enterocolitica* -bakteerinäytteen bakteeripesäkemäärät rinnakkaisilla elatusainemaljoilla sekä määritetty bakteeripitoisuus (PMY/ml).

Laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä
1/1 000 (1)	675
1/1 000 (2)	605
1/10 000 (1)	67
1/10 000 (2)	55
1/100 000 (1)	8
1/100 000 (2)	9
Bakteeripitoisuus (PMY/ml) $7,0 \times 10^6$	

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Campylobacter jejuni

Taulukko 10. Elatusainemaljoilta lasketut C. jejuni -näytteiden bakteeripesäkkeiden lukumäärät.

Säilytysaika ja laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä bakteerikuljetusputkessa					
	FS I	FS II	FS III	M40 I	M40 II	M40 III
0 h						
1/100	262	232	320	117	152	122
1/1 000	50	20	39	20	26	11
1/10 000	4	2	2	2	1	1
24 h						
1/10	>	>	>	>	>	>
1/100	275	359	272	72	105	95
1/1 000	31	46	30	5	9	12
48 h						
1/10	>	>	>	>	>	>
1/100	241	280	230	100	86	91
1/1 000	16	24	21	4	9	11
72 h						
1/10	>	>	>	>	>	>
1/100	220	224	288	91	79	81
1/1 000	33	12	31	2	5	6

> = yli 1 500 bakteeripesäkettä

Taulukko 11. C. jejuni -näytteiden bakteeripitoisuudet (PMY/ml) kunkin säilytysajan päättyessä.

Bakteerikuljetusputki	Bakteeripitoisuus (PMY/ml) kunkin säilytysajan (h) päättyessä			
	0 h	24 h	48 h	72 h
FS I	$7,7 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	$5,5 \times 10^5$
FS II	$4,2 \times 10^5$	$8,2 \times 10^5$	$5,2 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$
FS III	$6,1 \times 10^5$	$5,7 \times 10^5$	$4,4 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$
M40 I	$3,4 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$
M40 II	$3,4 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$
M40 III	$2,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$

Bakteeripesäkkeiden lukumäärät sekä määritetyt bakteeripitoisuudet

Taulukko 12. Alkuperäisen C. jejuni -bakteerinäytteen bakteeripesäkemäärät rinnakkaisilla elatusainemaljoilla sekä määritetty bakteeripitoisuus (PMY/ml).

Laimennos	Bakteeripesäkkeiden lukumäärä
1/100 (1)	672
1/100 (2)	630
1/1 000 (1)	93
1/1 000 (2)	60
1/10 000 (1)	5
1/10 000 (2)	6
Bakteeripitoisuus (PMY/ml) $6,6 \times 10^5$	

Bakteeripitoisuuden laskeminen

Esimerkkinä *Salmonella typhimurium* -näyte, säilytysaika 0 h, FecalSwab-bakteerikuljetusputket FS I, FS II ja FS III (ks. liite 12).

Yksittäisten FecalSwab-bakteerikuljetusputkien (FS) sisältämien *S. typhimurium* -näytteiden bakteeripitoisuudet:

FS I

$$\left[\frac{(439 + 38 \times 10 + 4 \times 100) \times 1000}{3} \right] \times 20 = 8126667 \text{ PMY/ml}$$

Bakteeripitoisuus: $8,1 \times 10^6$ PMY/ml

FS II

$$\left[\frac{(429 + 29 \times 10 + 0 \times 100) \times 1000}{3} \right] \times 20 = 4793333 \text{ PMY/ml}$$

Bakteeripitoisuus: $4,8 \times 10^6$ PMY/ml

FS III

$$\left[\frac{(278 + 37 \times 10 + 3 \times 100) \times 1000}{3} \right] \times 20 = 6320000 \text{ PMY/ml}$$

Bakteeripitoisuus: $6,3 \times 10^6$ PMY/ml

Kolmen rinnakkaisen FecalSwab-bakteerikuljetusputken (FS I, FS II ja FS III) sisältämien *S. typhimurium* -näytteiden keskiarvo:

$$\frac{8126667 + 4793333 + 6320000}{3} = 6413333 \text{ PMY/ml}$$

Bakteeripitoisuus: $6,4 \times 10^6$ PMY/ml