

Adeno- ja rotaviruksia osoittavien vieritestien vertailu

**Johanna Koponen
Armi Korolainen**

Opinnäytetyö

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Johanna Koponen, Armi Korolainen	
Työn nimi Adeno- ja rotaviruksia osoittavien vieritestien vertailu	
Päiväys 22.11.2011	Sivumäärä/Liitteet 51/7
Ohjaaja(t) Lehtori Reetta Pylkkönen, Erikoislääkäri Anne-Mari Rissanen	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä ISLAB Mikrobiologia	
Tiivistelmä Rota- ja adenovirukset ovat yleisimpiä lasten ripuli- ja oksennustaudin aiheuttajia Suomessa. Adeno- ja rotaviruksia voidaan osoittaa ulosteesta vieritestien avulla. Mikrobiologisilla vieritesteillä osoitetaan potilaan näytteestä infektiio- eli tartuntataudinaiheuttaja, ja sillä myös pyritään lyhentämään spesifiseen diagnostiikkaan liittyvää vastausten viivettä. Tutkimuksen tarve lähti ISLAB:n mikrobiologian laboratorion tyytymättömyydestä adeno- ja rotaviruksia ulosteesta osoittavaan Diarlex MB -vieritestiin. Tutkimuksen tarkoituksena oli vertailla käytössä olevaa Diarlex MB -vieritestiä Rida QUICK- ja Vikia-vieritesteihin. Tutkimuksessa vertailtiin vieritestien antamien tulosten selkeyttä, suorituksen helppoutta, välineiden määrää ja ajankäyttöä, jättemääriä, kustannuksia sekä testien säilyvyyttä. Tutkimuksen tavoitteena oli, että laboratorio antaa luotettavia tuloksia potilaille. Tavoitteena oli myös, että laboratorio hyödyntää tutkimuksen tuloksia päättäessään millä vieritestillä määritystä tehdään jatkossa. Testaus tehtiin ISLAB:n mikrobiologian laboratoriossa tammikuussa 2011. Testauksessa oli mukana yhteensä 18 potilasnäytettä, jotka laboratorion henkilökunta oli kerännyt joulun ja tammikuun aikana. Valmisreagenssipakkauksissa oli välineet 20 määritystä varten. Vieritesteillä saadut tulokset poikkesivat toisistaan, vaikka kyseessä oli melko suppea otos. Diarlex MB -vieritesti oli saatujen tuloksien ja niiden tulkitsemisen osalta kaikista varmin, Rida Quick -vieritesti oli myös melko varma ja Vikia-vieritesti heikoin. Eri valmistajien testin suorituksessa ei ollut ajallisesti merkittävää eroa. Valmisreagenssipakkauksien säilytysaika ja -paikka poikkesivat hieman toisistaan. Jättemäärissä ei ollut merkittäviä eroja. Mikrobiologian laboratorio ei vaihtanut tutkimuksen perusteella vieritestiä.	
Avainsanat vieritestit, mikrobiologia, adenovirukset, rotavirus	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Johanna Koponen, Armi Korolainen			
Title of Thesis Comparison for point-of-care -tests, which detects adeno- and rotaviruses in stool			
Date	22.11.2011	Pages/Appendices	51/7
Supervisor(s) Senior lecturer Reetta Pylkkönen, Specialist Anne-Mari Rissanen			
Client Organisation/Partners Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise ISLAB Microbiology			
<p>Abstract</p> <p>The purpose of this thesis was to compare microbiological point-of-care -tests. The tests detect adeno- and rotaviruses in stool. Rota and adenoviruses are the most common children's diarrhea and vomiting pathogens in Finland. Microbiological point-of-care -tests detect infectious disease of the patient sample, and it also aims to reduce the specific diagnosis-related responses to the delay.</p> <p>The tests, which we compare, are Diarlex MB, Rida QUICK and Vikia. The laboratory was dissatisfied of Diarlex MB –test, which they used. Testing was performed ISLAB's microbiology laboratory in January 2011. We compared the results, how easy the test is to perform, the number of instruments and the use of time. Also we compared the amount of waste, cost, and self-life of the test. The aim of the thesis was that the laboratory provides reliable results for patients. The aim was also that the laboratory uses the results of the study when they decide which test determinations are made in the future.</p> <p>The testing was made of 18 patient samples, which the laboratory had collected in December and January period. We had equipment for 20 determinations from different manufacturers test.</p> <p>The tests gave different results. Diarlex MB -test was the most secure, Rida Quick -test was also pretty sure, and Vikia-test was the weakest. Different manufacturers of the test's performance were not significantly different over time. Test kit storage differed slightly from each other. In the waste volume there where no significant differences either. Microbiology laboratory did not change the point-of-care test.</p>			
<p>Keywords point-of-care testing, microbiology, adenovirus, rotavirus</p>			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO.....	7
2	TARTUNTATAUDIT.....	9
2.1	Tartuntatautien epidemiologia	9
2.2	Tartuntatautien ehkäisyn ja torjunnan lainsäädäntö.....	10
2.3	Tartuntatautirekisteri	11
2.4	Infektioiden torjunta laboratorioissa	11
3	GASTROENTERIITTIA AIHEUTTAVAT VIRUKSET.....	13
3.1	Virusten ominaisuudet ja virusdiagnoosi.....	13
3.2	Adenovirus.....	15
3.2.1	Rakenne ja lisääntyminen	15
3.2.2	Epidemiologia	16
3.2.3	Taudinkuva ja patogeneesi	16
3.2.4	Hoito ja ennaltaehkäisy.....	17
3.3	Rotavirus	17
3.3.1	Ominaisuudet ja rakenne	18
3.3.2	Epidemiologia	18
3.3.3	Patogeneesi ja taudinkuva	19
3.3.4	Hoito ja ennaltaehkäisy.....	20
3.4	Maha-suolikanavan puolustusmekanismit ja ripulitautien luokittelu.....	21
4	VIERITESTAUS	23
4.1	Mikrobiologinen vieritestaus.....	23
4.2	Luvanvaraisuus mikrobiologisessa vieritestauksessa.....	24
4.3	Laadunvarmennus vieritestauksessa	25
4.3.1	Sisäinen laadunarviointi	25
4.3.2	Ulkoinen laadunarviointi.....	26
5	AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET VIERITESTIEN TOIMIVUUDESTA.....	27
6	TESTATTAVAT VIERITESTIT	28
7	TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSONGELMAT.....	32
8	TUTKIMUSMENETELMÄ JA AINEISTONKERUU	33
8.1	Tutkimusmenetelmä	33
8.2	Aineistonkeruu	33
9	TUTKIMUKSEN SUORITUS	35
9.1.1	Diarlex® MB –vieritestin suoritus.....	36
9.1.2	Rida® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi -testin suoritus.....	36

9.1.3 VIKIA® Rota-Adeno -testin suoritus.....	37
10 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	39
10.1 Tutkimuksessa mukana olevat näytteet.....	39
10.2 Vieritesteillä saatujen tuloksien vertailu ja tulkitseminen	39
10.3 Käyttökokemukset.....	41
11 POHDINTA.....	44
11.1 Tutkimuksen eettisyys ja luotettavuus.....	44
11.2 Ammatillinen kasvu ja opinnäytetyöprosessi	45
LÄHTEET	48

LIITTEET

Liite 1 Työohje Diarlex® MB

Liite 2 Työohje Rida® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi

Liite 3 Työohje VIKIA® Rota/Adeno

1 JOHDANTO

Ripulitaudit kuuluvat ihmisen yleisimpiin infektioihin ja ovat erityisesti kehitysmaissa jokapäiväinen kaikenikäisten ongelma. Edelleen ripulitauteihin kuolee koko maailmassa vuosittain 2,5 miljoona lasta. Suomessa tavallisimpia suolistoinfektioita ovat talvisin ja keväisin epidemioina esiintyvät virusten aiheuttamat ripuli- ja oksennustaudit. Tavallisin lasten ripulitaudin aiheuttaja on rotavirus, jota esiintyy myös aikuisilla. Muita ripulia aiheuttavia viruksia ovat adenovirukset, norovirukset ja astrovirukset. Suomessa adeno- ja rotaviruksia osoitetaan ulosteesta muun muassa erilaisten vieritestien avulla. Vieritestillä tarkoitetaan lääketieteellisesti perusteltua tutkimusta, jolla on välitön vaikutus potilaan hoitamiseen, hoitopäätöksiin, lääkitykseen tai muuhun hoitoon liittyvään toimintaan. Mikrobiologian vieritestauksella osoitetaan potilaan näytteestä infektio- eli tartuntataudinaiheuttaja ja sillä pyritään lyhentämään spesifiseen diagnostiikkaan liittyvää vastausten viivettä. Vieritestauksella voidaan myös tarkentaa kliinisin perustein tehtyä diagnoosia. (Linko ym. 2009, 269–278; Mattila & Järvinen 2011, 475.)

Vierianalytiikan kehitys on ollut nopeaa. Vieritestaus on ollut liikevaihdoltaan nopeimmin kasvanut laboratoriolääketieteen diagnostiikan osa-alue viime vuosien aikana. Tutkimusvalikoima kasvaa vuosittain uusilla vieritestauksilla tehtävillä tutkimuksilla, ja käytössä olevia määrittämenetelmiä kehitetään nopeammiksi ja helpommiksi suorittaa. Kaikkien kaupallisten vieritestien on käytävä läpi lukuisia testausvaiheita ennen markkinointia, muun muassa tutkimuslaboratorioiden tekemät vertailututkimukset. Kuitenkin käytännön työssä vieritestien toimivuus sekä luotettavuus ovat usein osoittautuneet kehnoiksi. Markkinoille tulee keskeneräisiä testejä, ja vain murto-osa kaupallisista testeistä lunastaa rutiinikäytössä lupauksensa. (Katila ym. 2002, 995; Lewandrowski 2009, 421; Linko ym. 2009, 275.)

Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää, mikä markkinoilla olevista vieritesteistä olisi ominaisuuksiltaan paras osoittamaan adeno- ja rotaviruksia ulosteesta. Työn on tilannut Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Kuopion mikrobiologian laboratorio, jonka erikoislääkäri on ollut tyytymätön nykyiseen adeno- ja rotaviruksia ulosteesta osoittavaan vieritestiin. Tutkimuksessa vertaillaan kolmen eri valmistajan vieritestejä potilasnäytteillä. Vertailussa olevat vieritestit ovat kvantitatiivisia testejä, joilla osoitetaan spesifisesti rota- ja adenoviruksia ulostenäytteestä akuuttia gastroenteriittiä sairastavilta henkilöiltä. Vieritestit perustuvat immunokromatografi-

seen menetelmään. Tutkimuksen tavoitteena on, että laboratorio antaa luotettavia tuloksia potilaille. Tavoitteena on myös, että laboratorio hyödyntää tutkimuksen tuloksia päättäessään millä vieritestillä määrittystä tehdään jatkossa.

2 TARTUNTATAUDIT

Tartuntataudit ovat mittava haaste joka puolella maailmaa. 1900-luvulla luultiin että monet tartuntataudit ovat hävitetty rokotusten ja mikrobilääkkeiden saavuttaman menestyksen myötä, mutta viime vuosikymmeninä on ilmaantunut lukuisia uusia tai uudelleen levinneitä tartuntatauteja. Maailman väestön ja ihmisten liikkuvuuden huimaa lisääntyminen, kanssakäymisen tiivistyminen ja ilmaston ja ekosysteemin muutokset ovat luoneet edulliset olosuhteet tartuntatautien nopeaan ja laajaan leviämiseen. (Ruutu ja Nuorti 2011, 286.)

2.1 Tartuntatautien epidemiologia

Tartuntataudeilla on seuraavia erityispiirteitä: tartunnan saaneet voivat samanaikaisesti olla tartunnanlähteitä, sairastettuaan infektioaudin ihmisille kehittyä vastustuskyky uutta tartuntaa vastaan eli he voivat olla immuuneja, tartunnan saaneet voivat olla tartunnanlähteitä tietämättään tästä, infektioepidemiat voivat levitä nopeasti ja vaatia ripeitä torjuntatoimia. (Uhari, Nuorti & Lyytikäinen 2011, 270–273.)

Tartunnalla tarkoitetaan mikrobin tunkeutumista elimistöön ja itämisajalla tai inkubatioajalla aikaa, joka kuluu tartunnasta oireiden ilmenemiseen. Infektiossa mikrobi lisääntyy elimistössä, ja tartuntatauti on infektion kliininen ilmenemismuoto. Infektio voi olla oireeton eli subkliininen ja silloin se on todettavissa vain laboratoriomenetelmällä. Epideeminen esiintyminen tarkoittaa tartuntatapausten lisääntymistä selvästi yli normaalin perustason. Endeemisellä tartuntataudilla tarkoitetaan suhteellisen tasaista esiintymistä. Pandemia tarkoittaa maailmanlaajuisia tai vähintään useisiin maanosiin levinnyttä epidemiaa. Tartuntataudeissa tartunnanlähde voi olla ihminen, eläin tai esine, josta infektio saadaan. (Uhari ym. 2011, 270–273.)

Infektioiden esiintyvyyteen ja syy-seuraussuhteisiin vaikuttavat väestön lisäksi infektioita aiheuttava mikrobi ominaisuuksineen ja ympäristö. Infektioiden leviämiseen vaikuttaa muun muassa mikrobin kyky aiheuttaa tautia, tartunnan todennäköisyys, kontaktien lukumäärä ja kontaktien alttius sairastua. Latenssijalla tarkoitetaan infektion kehittymistä tarttuvaksi. Tarttuvuus on erilaista eri aiheuttajamikrobeilla. Jotkin tartuntataudit tarttuvat jo ennen kuin tautia kantava henkilö edes tuntee oireita. Joissakin taudeissa taas taudin varhainen huomaaminen ja hoitoon hakeutuminen vaikuttavat suuresti taudin leviämiseen. Tartuntataudin leviämiseen vaikuttaa tartunnanlähteen

ominaisuudet, infektiota aiheuttavan mikrobin ominaisuudet, yksilön alttius ja kontaktin laatu. (Uhari ym. 2011, 270–273.)

2.2 Tartuntatautien ehkäisyn ja torjunnan lainsäädäntö

Tärkein tartuntatautien torjunnasta säätävä laki on tartuntatautilaki (583/1986) sekä sen nojalla annettu tartuntatautiasetus (786/1986). Tartuntatautilaissa ja –asetuksessa kerrotaan tartuntatautien torjunnan hallinto, eri tahojen tehtävät sekä poikkeus-tilanteiden valtuutukset ja määrätään tartuntatautien ehkäisystä ja ilmoittamisesta. Tarkemmin torjuntatyötä ohjataan Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen, THL:n (entinen Kansanterveyslaitos, KTL) teknisillä ohjeilla sekä menettelytapasuosituksilla. (Ruutu & Nuorti 2011, 276.)

Vaarallisten tai nopeasti leviävien tartuntatautien torjumiseksi voidaan tarvita toimenpiteitä, jotka rajoittavat yksilön oikeuksia, näihin kuuluu muun muassa eristäminen ja karanteeni, jotka voidaan toteuttaa vastoin yksilön tahtoa. Karanteenilla tarkoitetaan vaaralliselle tartuntataudille altistuneen oireettoman henkilön liikkumavapauden rajoittamista, jotta hän ei oireettoman itämisajan tai alkuoireiden aikana tartuta tautia eteenpäin. Tartuntatautiasetuksessa luetellaan yleisvaaralliset tartuntataudit, joiden takia voidaan rajoittaa yksilön oikeuksia. Lisäksi on määrätty, että viranomaisille tulee ilmoittaa joistakin sairauksista, joiden leviämisen ehkäisy edellyttää aktiivisia toimia. (Ruutu & Nuorti 2011, 276.)

Tällä hetkellä ensisijainen vastuu tartuntatautien torjunnasta ja infektiopotilaiden hoidosta kuuluu kunnalle ja sen ylläpitämälle terveyskeskukselle. Terveyskeskuksessa työn organisoinnista vastaa johtava lääkäri, joissakin tapauksissa myös erikseen nimetty tartuntataudeista vastaava lääkäri. Usein on nimetty myös tartuntatautiyhdyshenkilö, joka huolehtii muun muassa terveyden edistämisestä. Kuntien terveyskeskukset huolehtivat tartuntatautien yksityiskohtaisesta ehkäisystä, kuten rokotuksista, perustason diagnostiikasta, hoidosta ja kuntoutuksesta. Sen tehtäviin kuuluu myös jäljittää tartunnan saaneet ja ohjata heidät hoitoon, mikäli tartuntataudin leviämisen estäminen sitä vaatii. Sairaanhoidopiirien tehtäviksi on tartuntatautisäädöksissä määrätty tartuntatautien seuranta, tartuntatautien torjuntatyön ohjaaminen ja tartuntatautien erikoissairaanhoidon järjestäminen. Sairaanhoidopiirien infektioasiantuntijat avustavat terveyskeskuksia tartuntatautien toteutamisessa ja epidemioiden selvittämisessä. (Ruutu & Nuorti 2011, 276–277.)

2.3 Tartuntatautirekisteri

Suomessa alettiin vuonna 1995 käyttää tartuntatautisäädöksiin perustuen mikrobiologian laboratorioiden löydöksiä pääasiallisena tartuntojen seurantatiedon lähteenä. Tartuntatautiasetuksessa nimetään seurannan piiriin kuuluvat tartuntataudit. Lääkäreiden ja mikrobiologian laboratorioiden on ilmoitettava tartuntatautiasetuksessa luetellusta 33 yleisvaarallisesta tai ilmoitettavasta tartuntataudista. (Nuorti, Lyytikäinen & Ruutu 2011, 281.)

Lääkäreiden ilmoitusvelvollisuus koskee muun muassa sellaisia infektioita, joiden leviäminen voi aiheuttaa vakavan epidemian uhan. Lääkäri tekee ilmoituksen 7 vuorokauden kuluessa siitä, kun hän kliinisen tutkimuksen tai laboratoriotutkimuksen perusteella on todennut tartuntatautillassa nimetyn yleisvaarallisen tai ilmoitettavan tartuntataudin. Laboratoriot muistuttavat lääkäriä ilmoitusvelvollisuudesta antaessaan laboratoriovastauksia hoitavalle yksikölle. (Nuorti ym. 2011, 281.)

Mikrobiologian laboratorion velvollisuuksiin kuuluu ilmoittaa tartuntatautiasetuksessa nimetyt mikrobilöydökset. Muun muassa opinnäytetyössä käsittelemät adeno- ja rotavirukset kuuluvat ilmoitettaviin mikrobilöydöksiin. Ilmoitukset tehdään terveyden ja hyvinvoinnin laitokseen. (Nuorti ym. 2011, 281–283; Ruutu, Lyytikäinen, Kujala & Vuopio-Varkila 2005, 673.)

2.4 Infektioiden torjunta laboratorioissa

Kaikissa kliinisissä laboratorioissa, joihin kuuluu muun muassa potilasnäytteitä tutkiva mikrobiologian laboratorio, osa näytteistä sisältää infektiokykyisiä mikrobeja. Ne aiheuttavat riskin niitä tutkivalle henkilökunnalle. Useimmiten nämä riskit ovat kuitenkin hallittavissa hyviä työtapoja noudattamalla. Koska tartuntavaarallisuus ja sen aiheuttaja ovat tutkimuksia tehtäessä useimmissa tapauksissa tuntemattomia, turvallisia työtapoja on noudatettava kaikkia näytteitä tutkittaessa. Infektioiden torjunnassa pyritään estämään työntekijöiden infektoituminen, estämään laboratoriotilan kontaminoituminen ja estämään infektiovaarallisen materiaalin leviäminen ympäröivään yhteiskuntaan. (Meurman 2005, 570–571.)

Laboratoriohenkilökunta voi saada infektion neljällä eri tartuntatavalla. Tartunta on mahdollinen hengityksen kautta silloin, kun muodostuu aerosolia. Tällaisia työvaiheita ovat muun muassa vorteksointi eli sekoittaminen, sentrifugointi ja putkien avaaminen.

Runsasta aerosolimuodostusta aiheuttavat lisäksi roiskeet. Suun kautta saatava tartunta johtuu useimmiten huonosta käsihygieniasta, kun työskentelyn jälkeen ei huolehdi käsidesinoinnin käytöstä. Suorat roiskeet suuhun ovat myös mahdollisia, mutta harvinaisia. Ihonlöpäisevät vammat johtuvat useimmiten neulanpistoista tai terävien esineiden esimerkiksi rikkoonuneiden lasiputkien aiheuttamista viilloista. Ihon tai limakalvon kontaminaatio voi seurata esimerkiksi roiskeista silmiin tai tapahtua kontaminoituneiden käsien välityksellä. Terve iho muodostaa hyvän suojan mikrobeja vastaan. Tutkimusten mukaan suurimmassa osassa laboratorioden ilmoittamista infektiotapauksista riskitekijänä oli mikrobin käsittely, harvemmin selkeä onnettomuus, kuten neulanpisto. Tutkimukset ovat lisäksi osoittaneet selkeitä puutteita laboratorioden työtavoissa, kuten suulla pipetointi, syöminen laboratoriossa ja aerosolia aiheuttavien toimenpiteiden suorittaminen avoimella laboratoriodepöydällä. (Meurman 2005, 570–571.)

Infektioiden torjunnassa pyritään estämään työntekijän infektoituminen, laboratorioden kontaminoituminen infektiotaarallisella materiaalilla, sekä sen leviäminen laboratoriodesta ympäröivään yhteiskuntaan. Infektioiden torjunta alkaa jo laboratorioden yleissuunnittelusta ja hallinnosta. Laboratorioden tilat on suunniteltava siten, että se on helposti puhdistettavissa. Työntekijöillä tulee olla riittävästi tilaa suorittaa työtehtävät turvallisesti. Laboratoriodetila tulee pitää puhtaana, järjestyksessä sekä vapaana ylimääräisistä materiaaleista ja tarvikkeista. Laboratoriodetiloihin tulee olla pääsy vain sellaisilla henkilöillä, jotka tuntevat laboratorioditoimintaan liittyvät riskitekijät. Laboratorioden infektioiden torjunnassa oleellisinta on tartuntateiden katkaisu. Laboratoriossa oleva mikrobi on yleensä vaarattomampi, kuin potilaassa oleva mikrobi, jos laboratorioden työtavat eivät tarjoa sille tartuntareittiä työntekijään. (Meurman 2005, 571–572.)

3 GASTROENTERIITTIA AIHEUTTAVAT VIRUKSET

3.1 Virusten ominaisuudet ja virusdiagnoosiikka

Erään määritelmän mukaan ”Virukset ovat organismeja, joiden perintöaineksena on joko DNA:ta tai RNA:ta ja jotka lisääntyvät elävissä soluissa käyttäen näiden synteesilaitteistoa muodostaakseen infektiokykyisiä partikkeleita (virioneja) ja nämä sisältävät viruksen perintöaineksen ja siirtävät sen toisiin soluihin” (Bamford, Hyypiä & Saksela 2010, 449.)

Virukset eivät ole soluja kuten bakteerit ja sienet. Virukset ovat pieniä noin 20–200 nm:n kokoisia RNA:ta tai DNA:ta sisältäviä hiukkasia. Viruksen rakenne muodostuu perimäaineksesta, nukleiinihaposta, joka voi olla yksi- tai kaksisäikeinen DNA tai RNA, sekä sitä suojaavasta proteeiinikuoresta eli kapsidista. Kapsidi muodostuu pienistä rakenneosista kapsomeereista. Viruksia luokitellaan niiden nukleiinihapon (DNA tai RNA) ja kapsidin rakenteen mukaan. Kapsidi on yleensä rakenteeltaan säännöllisen 20-tahokkaan muotoinen, silloin kyseessä on ikosahedraalinen virus. Vaihtoehtoisesti kapsomeerit voivat asettua spiraalin muotoon ympäröimään nukleiinihappoa, tällöin kyseessä on helikaalinen virus. (Meurman 2005, 53.)

Virukset lisääntyvät ainoastaan elävien solujen sisällä. Virukset lisääntyvät monistamalla eli replikoitumalla solun sisällä. Virus tarttuu solun pintaan ja tunkeutuu soluun ja sen nukleiinihappo vapautuu. Sitten virus ottaa infektoimansa solun hallintaan ja ohjelmoi sen tuottamaan omien proteiiniensa ja nukleiinihappojensa asemasta viruksen osia. Sen jälkeen osat kootaan kokonaisuksi viruksiksi, jotka vapautuvat solusta joko tunkeutumalla solukalvon läpi tai solun kuollessa ja hajotessa. (Meurman 2005, 53.)

Jotta virukset voivat lisääntyä, niiden on kyettävä leviämään solusta toiseen ja ihmisestä toiseen. Tähän viruksilla on useita keinoja. Mikäli virus aiheuttaa kestoaltan lyhyehkön taudin, jota seuraa elinikäinen immuniteetti, tartuntatavan on oltava tehokas. Viruksen on löydettävä uusi tartunnalle altis yksilö sinä aikana jonka tauti ja tartuttavuus kestävät. Nämä virukset vaativat riittävän väestöpohjan säilyäkseen hengissä. Jos väestöön ei tule riittävästi tartunnalle alttiita yksilöitä, epidemia sammuu ja virus kuolee. Niillä viruksilla, jotka aiheuttavat kroonisen infektion, tartuntatavan ei

tarvitse olla niin tehokas, koska viruksella on aikaa siirtyä ihmisestä toiseen. (Meurman 2005, 56–57.)

Virukset tarttuvat hyvin tehokkaasti hengitystie-eritteiden välityksellä. Ne voivat tarttua pienten pisaroiden välityksellä, aerosolitartuntana suoraan vastaanottajan hengitysteihin, tai suurten pisaroiden välityksellä, jolloin tartunta on useimmiten välillinen kosketustartunta. Virukset leviävät helposti myös käsien välityksellä. Ulosteeeseen erittyvät virukset leviävät nopeasti ja tehokkaasti etenkin olosuhteissa, joissa on huono hygienia. Tällaisissa paikoissa tartunta voi olla joko suora tai välillinen ja välittyä esimerkiksi saastuneen juomaveden kautta. Virukset voivat tarttua myös verenvälityksellä, sukupuoliyhdyntässä tai äidistä lapseen tartuntana. Jotkut virukset voivat tarttua eläimistä ihmisiin esimerkiksi hyttysten pistojen, punkkien puremien tai eläinten eritteiden välityksellä. Virusinfektioiden esiintymiseen eli epidemiologiaan vaikuttaa tartuntareittien lisäksi myös viruksen säilyminen luonnossa, viruksen muuntuvuus, immuniteetin muodostuminen isännässä, vuodenaajat, maantieteelliset seikat, poikkeusolosuhteet ja kulttuuriset muutokset. (Meurman 2005, 56–57.)

Suurin osa virustaudeista puhkeaa muutaman päivän tai viikon kuluttua (itämisaika) primääri-infektiosta. Ensimmäiset oireet ilmenevät usein paikallisilla limakalvoilla mistä moni virus voidaan myös osoittaa. Systemiset oireet ja löydökset ilmenevät myöhemmin, tavallisesti viikkojen kuluessa, viruksen levitessä elimistöön. Samanaikaisesti aktivoituu immuunipuolustus, ja IgM- ja IgG-vasta-ainetta voidaan hyödyntää primaari-infektion ajoituksessa. Virusten lisääntyminen elimistössä loppuu yleensä nopeasti, vaikka tauti voi komplisoitua. Myös immuniteetti saattaa pettää, jolloin seuraa uusi infektio (sekundaari-infektio), jota sanotaan ulkosyntyisenä reinfektioksi. Useat eri virukset jäävät elimistöön pysyvästi. Viruksen kantajuus voi ilmetä kroonisena infektionä eli virusten jatkuva lisääntymisenä tai latenssina infektionä, jolloin virus piilee ja mahdollisesti aktivoituu myöhemmin. Joidenkin virusten kantajuus on harmiton tila, toisten taas hengenvaarallinen aikapommi. (Hedman & Vainionpää 2005, 70–71.)

Virusdiagnoosiikan käyttömahdollisuudet ovat viime vuosina laajentuneet merkittävästi menetelmien kehittyttyä entistä nopeammiksi, herkemmiiksi ja tarkemmiksi. Parhaimmillaan virusdiagnoosiin voi saada muutamassa tunnissa. Virusinfektioiden lääkelyhoitoon on avautunut uusia mahdollisuuksia ja sen seurauksena nopean spesifisen diagnoosiin tarve on lisääntynyt. Kehittynyt virusdiagnoosiikka pystyy vastaamaan lukuisiin erilaisiin kliinisiin kysymyksiin. Koska ihmiselle patogeenisia viruksia on sato-

ja eri lajeja ja ne sairastuttavat ihmisiä erilaisilla mekanismeilla, tarvitaan diagnostisia menetelmiä laaja kirjo. Virusten diagnostisia menetelmiä ovat virusviljely, viruspartikkelin, -antigeenien ja -nukleiinihappojen osoittaminen sekä spesifisten vasta-aineiden tutkimukset eli virusserologia. (Hedman & Vainionpää 2005, 70.)

3.2 Adenovirus

Adenoviridae-ryhmään kuuluvat virukset sisältävät joukon ihmisen ja monien muiden eläinlajien viruksia. Ihmisen adenoviruksia tunnetaan noin 50 eri serotyyppiä. Infektiot ovat yleisempiä 6 kk:n – 5 vuoden iässä, mutta niitä esiintyy kaikissa ikäryhmissä. (Arstila 2005, 444–445.)

Immunitetti adenovirukselle on tyyppispesifinen, joten serotyyppien runsaudesta johtuen toistuvat infektiot ovat yleisiä. Adenoviruksen aiheuttamia infektoita esiintyy ympäri vuoden. Paikalliset epidemiat ovat mahdollisia, mutta eivät yleisiä, niitä voi kuitenkin esiintyä päiväkodeissa ja varuskunnissa. Eristämistoimenpiteillä ei ole todettu olevan vaikutusta epidemioiden hallinnassa. Adenoviruksiin ei ole kehitetty vielä tehoavia lääkkeitä. Elävä oraalinen rokote on ollut käytössä Yhdysvaltain armeijassa, mutta lapsien yleisiä virustyyppisiä ei ole pystytty heikentämään riittävästi. Rokotekehittelyä vaikeuttaa tieto viruksen kyvystä aiheuttaa kasvaimia koe-eläimille. (Arstila 2005, 444–445.)

Adenoviruksen hengitystieinfektioita aiheuttavat serotyypit ovat helposti viljeltävissä hengitysteiden eritteistä tai ulosteesta. Käyttökelpoisiin, nopein ja lähes yhtä herkkä menetelmä on viruksen antigeenin suoraosoitus. Vasta-ainetutkimukset ovat herkkiä mutta hitaita. Ripuleja aiheuttavia tyyppisiä 40 ja 41 ei ole pystytty viljelemään, mutta niiden diagnostiikka on mahdollista löytämällä viruksia elektronimikroskoopilla tai osoittamalla antigeenia ulosteesta. (Arstila 2005, 445; Meurman 2005, 59.)

3.2.1 Rakenne ja lisääntyminen

Adenovirukset ovat keskikokoisia vaipattomia DNA-viruksia. Adenovirus on halkaisijaltaan noin 72 nm ja koostuu kaksisäikeisestä lineaarisesta DNA:sta ja ainakin kymmenestä eri proteiinista. Viruksen proteiinit muodostavat ikosahedrin, jonka kapsomeeriluku on 252. Adenovirusten DNA on kaksisäikeinen ja koostuu noin 36000 emäsparista. (Heikkilä ym. 2005, 57; Kääriäinen 2002, 564.)

Adenovirukset lisääntyvät muiden tyypillisten DNA-virusten tavoin. DNA:n replikoituminen ja viruksen kokoaminen tapahtuvat tumassa kun taas proteiinisynteesi tapahtuu sytoplasmassa. Virus pääsee solun sisälle endosytoosin avulla ja vapautuu sytoplasmaan. Virusten kokoaminen tapahtuu tumassa sisällä. DNA:ta ja rakenneproteiineja syntetisoidaan runsaita määriä, yksi solu voi tuottaa jopa 100 000 viruspartikkelia. Solun hajotessa virukset vapautuvat. Virusten lisääntymissykli kestää noin 30 tuntia. (Arstila 2005, 444.)

3.2.2 Epidemiologia

Adenovirukset esiintyvät maailmanlaajuisesti sekä epideemisinä että endeemisinä. Adenovirukset aiheuttavat noin 5–10 % alle kouluikäisten lasten hengitystietulehduksista. Ensimmäisen ikävuoden aikana lähes puolet lapsista sairastaa adenovirusinfektion, osa useampia. Adenovirukset tarttuvat henkilöstä toiseen hengitystieeritteiden välityksellä tai pisara- tai kosketustartuntana. Adenovirukset voivat levitä myös kosketustartuntana ulosteiden välityksellä, joihin viruksia erittyy myös hengitystieoireisissa adenovirusinfektioissa. Virukset voivat tarttua myös silmäeritteiden välityksellä. (Meurman 2005, 467.)

3.2.3 Taudinkuva ja patogeneesi

Adenovirus on taudinkuvaltaan vaihteleva. Se voi esiintyä oireettomasta infektiosta vakavaan pneumoniaan tai muuhun hengitystieinfektioon, ripulitautiin tai keskushermostotulehdukseen. Taudin itämisaika on 5–14 vuorokautta. Yleisin kliininen oire on akuutti ylähengitysteiden infektio. Tyypillinen taudinkuva on peitteinen tonsilliitti. Adenovirusinfektioille tyypillistä on aiheuttaa korkea ja pitkäkestoinen kuume. Tyypit 4 ja 7 ovat erittäin yleisiä Suomessa ja aiheuttavat kevättalvisin epidemioita muun muassa varuskunnissa. Adenovirukset ovat myös erittäin yleisiä nielutulehduksen aiheuttajia lapsilla. Adenoviruksen taudinkuvaan voi myös kuulua korvatulehdus. (Arstila 2005, 444–445; Meurman 2005, 58; Meurman, Ruuskanen & Lappalainen 2010, 501–506.)

Noin 10 %:ssa lasten maha-suolitulehduksia löydetään ulosteesta adenoviruksia, joita tyypit 40 ja 41 aiheuttavat. Adenoviruksen aiheuttamat ripulit ovat usein pitkäkestoisia ja niihin voi liittyä kuumetta. Osa tapauksista päättyy sairaalahoitoon. Toipuminen adenoviruksesta tapahtuu yleensä noin viikossa. (Arstila 2005, 444.)

Adenoviruksen primaarinen lisääntymispaikka on nielu tai silmän sidekalvo, maha-suolitulehduksia aiheuttavilla tyypeillä ohutsuolen limakalvo. Lymfosyyteissä voi olla jatkuva tai piilevä infektio. Oireet johtuvat ilmeisesti viruksen aiheuttamasta suorasta solutuhosta. Adenovirukset voivat joskus pesiä tonsilloissa ja nielun imusolmukkeissa ja lisääntyä erittäin hitaasti. Elimistön immuunipuolustuksella on merkittävä osuus patogeenisissa. (Arstila 2005, 444–445.)

3.2.4 Hoito ja ennaltaehkäisy

Adenoviruksen hoito on oireenmukainen. Jos adenovirus aiheuttaa kuumetta, sitä hoidetaan kuumelääkkeillä ja kipuja taas tulehduskipulääkkeillä. Lepo on myös tärkeää. Mikäli adenovirus aiheuttaa ripulia ensimmäisenä hoitoperiaatteena voidaan pitää nestetasapainon korvausta ja ylläpitoa, sekä sen jälkeen ravitsemustilasta huolehtimista. Nestetasapainosta huolehtiminen on erityisen tärkeää pienillä lapsilla. Jos kuivumisen vaaraa ei ole, nestehoitoa ei tarvita, vaan riittävästä ravinnon ja nesteen saannista huolehtiminen riittää. Ripulitauteja voi lääkittää symptomaattisilla lääkkeillä, mutta lapsille lääkehoitoa ei tule käyttää, vaan tärkeintä on huolehtia yleisistä hoitoperiaatteista. Adenovirustartuntaa voi ennaltaehkäistä hyvästä käsihygieniasta huolehtimalla. Sairaalainfektioiden torjunnassa kosketuseristys, pisaraeristys sekä hyvä käsien desinfiointi ovat avainasemassa. (Arstila 2005, 444–445; Meurman 2005, 467.)

3.3 Rotavirus

Rotavirukset ovat yleisimpiä ripuli- ja oksennustaudin aiheuttajia Suomessa. Koko maailmassa rotaviruksen aiheuttamaan äkilliseen vatsatautiin kuolee vuodessa 600 000 lasta. Suomessa kuolemantapaukset ovat kuitenkin harvinaisia. Rotaviruksen osuus kaikista sairaalahoitoa vaativista lasten ripulitapauksista on 50–60 % ja epidemia-aikana jopa 80–90 %. Rotavirusta on kaikkialla maailmassa niin maaperässä kuin vesistöissäkin. Ihmisen rotavirukset löydettiin ripulipotilaiden ulosteesta elektronimikroskopian avulla vuonna 1974. Pian osoittautuikin, että rotavirukset ovat yleisimpiä lasten akuutin gastroenteriitin aiheuttajia kehittyneissä maissa, missä bakteeriripulit ovat harvinaisia. (Bonsdorff, Vesikari & Maunula 2010, 592; Mattila & Järvinen 2011, 491.)

3.3.1 Ominaisuudet ja rakenne

Kaikki rotavirukset sekä ihmisellä että eläimillä ovat rakenteellisesti samanlaisia. Rotaviruksen ulkokuoren muodostaa glykoproteiini VP7. Kuorirakenne ei ole täysin tiivis, vaan heksoneiksi ja pentoneiksi järjestäytyneen proteiini-kuoren läpäisee kanavia ja ulokkeita, joilla virus tarttuu isäntäsoluunsa. Rotaviruksen sisemmän kuoren eli kapsidin muodostaa VP6-proteiini. Kapsidin sisäpuolella on vielä sisin kuori, joka ympäröi viruksen 11 kaksisäikeistä RNA-molekyyliä. Viruksen hataran rakenteen merkitystä ei täysin tiedetä, mutta osaksi se voi johtua kapsidin toiminnalla viruksen RNA-synteesin aikana. (Bonsdorff & Vesikari 2005, 519–521.)

Kaikki rotaviruksen rakenneproteiinit toimivat antigeeneinä ja osallistuvat immuunivasteen muodostamiseen. Merkittävin näistä on VP6-proteiini, jonka mukaan rotavirus jakautuu A-, B-, ja C-ryhmiin. Nykyään rotavirukset voidaan myös luokitella nukleiinihapposekvenssien perusteella. Näiden perusteella muodostuvat rotavirus A-ryhmän VP7- ja VP4-mukaiset G- ja P-tyypit, jotka vastaavat hyvin aikaisempaa serotyypitykseen perustuvaa luokitusta. Ihmisellä on tähän mennessä todettu 10 G-tyyppiä ja 11 P-tyyppiä. Tyypit voivat esiintyä eri yhdistelminä, mutta teollisuusmaissa vain muutamat yhdistelmät esiintyvät vuodesta toiseen. Rotaviruksilla on segmentoitu genomi, jolloin reassortantit ovat mahdollisia (kahden viruksen infektoidessa saman solun niiden genomipalat vaihtuvat). Kaksoisinfektiot ovatkin melko yleisiä. A-ryhmän rotavirukset ovat kliinisesti merkittävämpiä, koska ne aiheuttavat pienten lasten ripulitautia. B-ryhmän rotavirus on aiheuttanut 80-luvulla Kiinassa laajoja epidemioita. C-ryhmän rotaviruksia löydetään ihmiseltä satunnaisesti. (Bonsdorff & Vesikari 2005, 519–521.)

3.3.2 Epidemiologia

Rotavirusta on useita eri serotyyppejä, joista G1P8-tyypin virus, joka on aikaisempi serotyyppi 1, on teollisuusmaissa yleisin. Tämän ryhmän edustaja nähdään usein valtatyyppinä epidemiakauden aikana. Valtatyyppin lisäksi voidaan samanaikaisesti aina nähdä myös lukuisa joukko muita rotaviruskantoja. Rotavirustauti esiintyy kausiluontaisesti ja sen esiintymishuiput ovat talvella ja keväällä. Sairastumisikä on tyypillisesti 6–18 kuukauden ikäisillä lapsilla, mutta vanhemmillakin lapsilla voi esiintyä hoitoa vaativia rotavirusripuleita. (Bonsdorff & Vesikari 2005, 522.)

Ripulia aiheuttavat virukset ovat erittäin tarttuvia ja niiden leviämistä on vaikea estää. Hoitoaikojen lyhentyessä suurin osa sairaalainfektioista ilmaantuu vasta kotona. Tämän vuoksi infektiot jäävät helpolla liian vähälle huomiolle. Rotavirusinfektio on päiväkotilapsilla noin kolme kertaa tavallisempi kuin kotona hoidetuilla lapsilla. Ripuliepidemioiden kustannukset ovat myös suuria. Suomessa rotavirusripulin takia terveydenhuollon palveluja tarvitsee vuosittain 11 100 alle viisivuotiasta lasta ja se aiheuttaa vuosittain 2 400 sairaalahoitojaksoa, 3 700 sairaalapoliklinikkakäyntiä ja 9 000 terveyskeskuskäyntiä. Lisäksi lähes yhtä moni lapsi sairastaa kotona lievempää ripulitautia, jonka hoitoon ei tarvita lääkärisikäyntiä. Lähes kaikki lapset sairastavat rotavirusinfektion, oireisena tai oireettomana, ennen viiden vuoden ikää. (Mattila & Järvinen 2011, 492; Renko 2009, 74–77.)

3.3.3 Patogeneesi ja taudinkuva

Rotavirusripulin kliiniselle kuvalle ovat ominaisia räjähtävä alku, runsas vesiripuli, kuume ja oksentaminen, minkä vuoksi pienelle lapselle kehittyy nopeasti dehydraatio ja asidoosi. Lapsen ensimmäinen rotavirusinfektio, eli primaari-infektio, on usein voimakasoireinen ja johtaa nopeasti nesteen menetyksen vuoksi lapsen kuivumiseen. Taudinkuva on tyypillisin kuuden kuukauden ikäisistä lapsista kahden vuoden ikäisiin lapsiin. Uusiutuviissa infektioissa oireet ovat lievempiä. Aikuisilla tauti on harvinaisempi ja lievempi, mutta varuskunta- ja vanhainkotiepidemiat ovat mahdollisia. Myös ripulilapsia hoitava henkilökunta voi saada tartunnan ja kliinisen kuvan. (Mattila & Järvinen 2011, 492; Vesikari 2005, 409.)

Yhden rotavirustyyppin infektio antaa ainakin osittaisen suojan muita tyyppejä vastaan, joten samalla lapsella ei esiinny useampia pahoja rotavirusripuleita peräkkäin. Rotavirusten infektiivinen annos on pieni, 1–100 partikkelia. Rotavirusinfektio on hyvin tarttuva, sillä ripulin aikana ulosteeseen erittyy runsaasti viruksia. Virusta voi myös saada elimistöönsä viruksella saastuneen ruoan tai juoman välityksellä. Rotavirus tarttuu usein uloste-suu – reittiä, mutta viruksella kontaminoituneiden hengitystieeritepisaroiden nieleminen voi myös johtaa viruksen lisääntymiseen. Rotavirus on hyvin kestävä virus, ja se selviää pitkiäkin aikoja elimistön ulkopuolella. Rotavirus säilyy käsissä elävänä noin neljä tuntia ja kuivillakin pinnoilla, kuten leluissa, ovenkahvoissa ja hoitopöydillä, useita päiviä. Rotavirukset leviävät herkimmin oksennuksen välityksellä. (Mattila & Järvinen 2011, 492; Renko 2009, 76.)

Taudin itämisaika on noin kaksi vuorokautta. Rotaviruksen pääasiallinen lisääntymispaikka on ohutsuolen villusten epiteeli. Rotavirukset kestävät huonosti happoa, joten niiden pääsyä suolistoon ei tarkalleen tiedetä. Mahdollisesti rotavirukset kulkeutuvat hengitysteistä liman mukana, mutta viruksen lisääntymistä hengitysteissä ei ole voitu osoittaa. Viruksen päätyessä ohutsuoleen se alkaa lisääntyä tuhoten ohutsuolen villusten epiteelisoluja, mikä vähentää suolen disakkaridaasientsyymien eli laktaasin ja sakkaraasin aktiiviteettia. Ohutsuolen infektoituneiden solujen rikkoutuessa ravinnon sokerit eivät hajoa ja imeydy normaalisti, jolloin kertyy nestettä ja uloste muuttuu vetiseksi eli osmoottiseksi ripuliksi. Tämä ei kuitenkaan ole ainut ripulin syntymekanismi, sillä virus erittää myös enterotoksiinia, joka lisää kloridin eritystä ja aiheuttaa ripulia. (Bonsdorff & Vesikari 2005, 522.)

Erityisesti lapsilla esiintyvään rajuun, alkuun korkeakuumeiseen suolistotulehdukseen liittyy oksentelua ja tyypillisesti 10–20 vesiripulia vuorokaudessa 3–8 vuorokauden ajan. Lisäksi siihen liittyy voimakkaat vatsakouristukset. Ulosteeissa on osoitettavissa sokeria, joka on merkki imeytymishäiriöistä. Veren kuvassa tulehdusarvot pysyvät usein matalina ja valkosolujen erittelylaskennassa on usein havaittavissa granulosityopenia. Rotaviruksen havaitsemiseksi paras näytteenottoajankohta on 3–5 päivää oireiden alkamisesta. Spesifiseen diagnoosiin päästään osoittamalla rotavirusantigeeni ulosteesta (F-RotaAg). Aiemmin käytettyyn elektronimikroskopiaan verrattuna menetelmän herkkyys rotaviruksen suhteen on 92 % ja tarkkuus 99 %. Viljelymenetelmät kuuluvat tutkimuskäyttöön. (Huotari 2006, 32; Mattila & Järvinen 2011, 492.)

3.3.4 Hoito ja ennaltaehkäisy

Kuten kaikkien ripulisairauksien, myös rotavirusgastroenteriitin, hoidossa tärkeintä on huolehtia riittävästä nesteen saannista ja tarvittaessa kuumeen alentamisesta. Erityisesti pienten lasten sairastuessa on otettava yhteyttä lääkäriin mahdollisen kuivumattilan arvioimiseksi ja riittävän tehokkaan nesteytyksen suunnittelemiseksi. Riippuen kuivuman vaikeusasteesta, nesteytys voidaan toteuttaa suun kautta oraalisia rehydraatioliuksia käyttäen tai tarvittaessa nenä-mahaletkua tai laskimonsisäistä infuusiota. Rotavirusripulin hoito on oireenmukaista, koska itse virukseen tehoavaa lääkettä ei ole käytettävissä. Hygieniatoimet, kuten käsien desinfiointi, tehoavat hyvin bakteeriripuleihin, mutta niiden merkitys rotavirusten leviämisen estämiseksi on luultavasti vähäisempi. Ainoa tehokas keino suojautua rotavirusinfektioilta on hankittu immunitaetti, sillä tutkimusten mukaan primääri infektion jälkeen 88 % lapsista on suojattu vakavaa gastroenteriittia vastaan. Suuret rota- ja adenovirukset tuhoutuvat 60 % alkoholikäsi-

huuhteella hieman herkemmin kuin esimerkiksi pieni norovirus. Kuitenkin ulostesuspension sisällä virus on resistentimpi. Pinnoilta virukset häviävät parhaiten klooripitoisella puhdistusaineella. Ripuliepidemian ennaltaehkäisy on paljon helpompaa kuin sen jälkihoito. Epidemian yhteydessä suositeltuja toimenpiteitä ovat kosketuseristys, käsihygienia, potilaiden ja hoitajien kohortointi sekä oireisen henkilökunnan sairausloma, kunnes oireista on kulunut kaksi vuorokautta. Ääritilanteessa ainut vaihtoehto on sulkea osasto. (Huotari 2006, 32; Renko 2009, 76.)

Suun kautta annettava rotavirusrokote on tullut Suomessa kansalliseen rokotusohjelmaan vuonna 2009. Rokote ei hävitä rotavirusta kokonaan, mutta vaikeat, nestehoitoa vaativat tapaukset, vähenevät merkittävästi. Suomessa on markkinoilla kaksi rotavirurokotetta. Rotateg® (Sanofi Pasteur MSD) on elävä, heikennetty ja viittä eri viruskantaa sisältävä rokote. Rokotetta annetaan kolme annosta ennen lapsen kuuden kuukauden ikää. Toista rokotetta, Rotarixia®, annetaan kaksi annosta viimeistään lapsen ollessa kuuden kuukauden ikäinen. (Mattila & Järvinen 2011, 492–493.)

3.4 Maha-suolikanavan puolustusmekanismit ja ripulitautien luokittelu

Maha-suolikanavan normaalimikrobiston kehittyminen alkaa jo syntymän aikana, ja siihen vaikuttavat monet tekijät, kuten, kontakti äidin mikrobistoon, ympäristö, vastasyntyneen saama ravinto ja geneettiset tekijät. Lapsen siirtyessä kiinteään ravintoon alkaa suolen mikrobisto vastata aikuisen mikrobistoa. Suolistossa on mikrobeja noin 1,5 kg, eikä niiden koostumusta ja toimintaa edelleenkään tunneta tarkasti. Suoliston mikrobikasvusto on hyvin stabiili, mutta sen koostumus vaihtelee muun muassa ruokavaliomuutosten ja mikrobilääkehoitojen seurauksena. Häiriön päätyttyä mikrobitasapaino palaa entiselleen. Mikrobiston määrä ja koostumus vaihtelevat suoliston eri osissa. Ruokatorvessa ei ole omaa viljeltävää normaalimikrobistoa, ja mahalaukku on pienen pH-arvon vuoksi lähes steriili. Ohutsuolessa pH-arvo suurenee, mutta mm. sappihapot ja haimaneste pitävät bakteerien määrän ja lajikoostumuksen vähäisenä. Paksusuolessa määrä kasvaa kymmenkertaiseksi. Ulostemassasta 50–60 % on bakteerisoluja. Viljeltävissä olevia suolistobakteereita on arvioita 400 lajia. (Mattila & Järvinen 2011, 477.)

Maha-suolikanavan ensimmäinen puolustusmekanismi on mahahappojen muodostama este. Taudinaiheuttajan on joko oltava resistentti mahahapoille tai kyettävä läpäisemään mahalaukku jonkin neutraloivan aineen suojassa. Adenovirukset, jotka tarttuvat suoliston kautta, ovat yleensä hapolle resistenttejä. Rotavirus on labiili eli

epävakaata, kun pH on alle 4, ja ilmeisesti se tarvitsee ainakin osittaisen mahahappojen neutraloitumisen päästäkseen suolistoon. Mahahapon erityistä vähentävä lääkehoito lisää siten myös ripulitaudin riskiä. (Mattila & Järvinen 2011, 477–478.)

Suoliston seuraavat puolustusmekanismit ovat epiteelisoluja peittävä lima, sekretoriset vasta-aineet, suoliston peristaltiikka ja ennen kaikkea suoliston normaalimikrobiston patogeenisia mikrobeja estävä vaikutus. Suolistossa ei normaalisti ole viruksia. Immuunipuutostiloissa voi rotavirusta myös erittyä kuukausi määrin, ja siihen liittyy samalla kliinisiä ripulioireita. (Mattila & Järvinen 2011, 478.)

Ripulitaudit voidaan jakaa etiologian mukaan bakteeri-, virus-, parasiittiripuleihin tai keston mukaan akuutteihin (alle kolme viikkoa) tai kroonisiin ripuleihin. Ripulit voidaan jakaa myös patofysiologian mukaan eksudatiiviseen tulehdusripuliin, sekretoriseen ei-tulehdukselliseen ripuliin ja osmoottiseen malabsorptioripuliin, jota aiheuttaa mm. rotavirus. Eksudatiivisessa tulehdusripulissa aiheuttajamikrobi läpäisee suolen limakalvon, jolloin kehittyy tulehdus. Tulehduksesta johtuvassa ripulissa ulosteessa on proteiineja, valkosoluja ja mahdollisesti myös verta. Eksudatiivista tulehdusripulia aiheuttavat shigellat, salmonellat, kampylobakteeri ja yersiniat. Sekretorisessa ei-tulehduksellisessä ripulissa patogeeni pysyttelee suolen limakalvolla. Ripuli johtuu suolen limakalvon runsaasta veden ja suolojen erityksestä. Sekretorista ripulia aiheuttaa mm. kolera eli *Vibrio cholerae*. Osmoottisessa malabsorptioripulissa patogeeni pysyttelee suolen limakalvolla ja tuhoaa nukkalisäke-epiteeliä, mikä vähentää suolen absorptiokykyä. Malabsorptiolla tarkoitetaan häiriintynyttä tai puutteellista imeytymistä suolessa. Erityisesti pilkkoutumattomat sokerit nostavat suolen sisällön osmoottista painetta ja vetävät osmoottisella mekanismilla mukaansa vettä, mikä aiheuttaa runsaan vetisen ripulin. Koska rotavirus tuhoaa juuri nukkalisäkkeiden kärkisoluja ja heikentää useiden suoliston disakkaridaasien toimintaa, malabsorptiomekanismilla on ajateltu olevan osuutta rotavirusripulin syntyyn. Toinen ehkä yhtä paljon rotavirusripulin patogeenisiin vaikuttava tekijä on tulehdusreaktio, joka pääasiallisesti tapahtuu nukkalisäkkeiden kryptaosassa ja johtaa aktiiviseen nesteiden erittymiseen. Lopputuloksena on vetinen ripuli. (Mattila & Järvinen 2011, 478–479.)

4 VIERITESTAUS

Labqualityn asiantuntijasuosituksen mukaan vieritesti on lääketieteellisesti perusteltu tutkimus, jolla on välitön vaikutus potilaan hoitamiseen, hoitopäätöksiin, lääkitykseen tai muuhun hoitoon liittyvään toimintaan. Englannin kielessä vieritestauksesta käytetään nimitystä Point-Of-Care testing (POCT), Near-Patient Testing (NPT) tai Bedside Testing (BT). Termit viittaavat siihen, että tutkimus tehdään lähellä potilasta. Arkikie- len termiä pikatesti voidaan käyttää vieritesti-termin synonyyminä. (Linko ym. 2009, 267–270; Lewandrowski 2009, 421.)

Vieritestien käytössä on monia etuja, yksi tärkeimmistä eduista on tulosten nopea saaminen. Tiettyjen sairauksien diagnostiikka ja hoidon seuraaminen edellyttävät nopeita tuloksia, silloin vieritestit ovat erityisen tarpeellisia. Joillakin vieritesteillä on mahdollista saada tulos jopa muutamassa minuutissa. Yksi vieritestauksen houkutti- mista on myös niiden näennäinen edullisuus. Vaikka yksittäisten vieritestien hankinta- hinta on usein suhteellisen pieni, liittyy vieritestaukseen muita kustannuksia, jotka saattavat muodostua hyvinkin merkittäviksi kokonaiskustannuksiltaan. (Liikanen 2005, 230; Linko ym. 2009, 275; Katila ym. 2002, 995.)

Potilaista on tullut entistä vaativampia asiakkaita terveydenhuoltopalvelujen osalta. Laadunvarmistus on myös noussut suureksi kysymykseksi terveysalalla. Vieritestien teknologia on kuitenkin saavuttanut luotettavan ja hyvän suorituskyvyn tason. Vieritesteistä on myös tehty monia tutkimuksia, joissa kuvataan niiden keskeistä asemaa potilaan hyvän ja laadukkaan hoidon tukena. (Price, St John & Hicks 2004, 463–464.)

4.1 Mikrobiologinen vieritestaus

Mikrobiologian vieritestauksella osoitetaan potilaan näytteestä infekti- eli tartunta- taudinaiheuttaja, ja sillä pyritään lyhentämään spesifiseen diagnostiikkaan liittyvää vastausten viivettä. Vieritestauksella voidaan myös tarkentaa kliinisin perustein tehtyä diagnoosia. Vasta-aineiden osoitusmenetelmät ovat helposti siirrettävissä vieritestei- hin. Menetelmät ovat kehittyneet siten, että vasta-aine voidaan havaita myös koko verestä, ulosteesta ja virtsasta perinteisen plasman tai seerumin sijasta. Vieritestauk- sesta on paljon hyötyä tartuntatautien diagnosoinnissa. Virusinfektion tunnistaminen pelkän kliinisen taudinkuvan perusteella on usein vaikeaa, ja eri virusten aiheuttamis- sa infektioissa voi olla samankaltaisia oireita, joten vieritestein tehtävä suora virusan-

tigeenin osoitus on nopea tie diagnoosiin. Tuloksen saa usein jo samana päivänä, kun näyte saapuu laboratorioon. Helposti tarttuvien tautien nopea tunnistaminen estää tehokkaasti muiden potilaiden ja henkilökunnan sairastumisen. Laboratorioiden työmäärä myös vähenee. Mikrobiologisten vieritestien rajoituksena voi kuitenkin olla huonompi herkkyys ja spesifisyys verrattuna referenssimenetelmään. (Gray 2004, 362; Linko ym. 2009, 278.)

Referenssimenetelmä on määritysmenetelmä, jonka avulla tutkittavalle analytyille saadaan mahdollisimman oikea tulos ja joka on spesifinen mitattavalle aineelle. Referenssimenetelmät eivät sovellu rutiininomaiseen analytiikkaan niiden moninaisten työvaiheiden takia, minkä vuoksi niiden käyttö on rajoittunut tutkimuskäyttöön ja rutiinimenetelmien toimivuuden tarkistuksiin sekä vakiointeihin. (Åkerman & Jokela 2010, 50.)

Mikrobiologiset vieritestit ovat yleensä kvalitatiivisia, esimerkiksi osoituskokeina tehtävien vieritestien tulos ilmoitetaan positiivisena tai negatiivisena tuloksena. Kliininen herkkyys eli sensitiivisyys ja kliininen tarkkuus eli spesifisyys vaihtelevat vieritestistä riippuen. Yleensä mikrobiologisen vieritestin herkkyys on tasoa 60–90 % ja spesifisyys 80–95 %. Mikäli kliininen herkkyys olisi 100 %, se tarkoittaisi sitä, että esimerkiksi vieritestillä kaikki sairastuneet saisivat positiivisen tuloksen. Vastaavasti 100 % kliinisesti spesifinen vieritesti antaisi kaikille terveille negatiivisen tuloksen. Vieritestien antamien tulosten oikeellisuuteen ja osin herkkyyteen vaikuttaa kuinka tottunut vieritestien tekijä on ja kuinka toistuvasti testejä tehdään. Preanalyttiset tekijät, etenkin näytteenotto antigeenin osoitustesteissä, ja perehtyneisyys testin suorittamiseen vaikuttavat olennaisesti testin lopputuloksen kokonaisluotettavuuteen. (Linko ym. 2009, 288–291; Åkerman & Jokela 2010, 49; Kairisto 2010, 41.)

4.2 Luvanvaraisuus mikrobiologisessa vieritestauksessa

Mikrobiologista vieritestausta koskevat samat säädökset kuin tartuntatautien laboratoriodiagnostiikkaakin. Muusta vieritestauksesta poiketen on mikrobiologinen vieritestausta luvanvaraista toimintaa. Tartuntatautilaki (L583/1986) määrittelee, missä tällaista diagnostiikkaa saa tehdä ja kuka myöntää siihen luvan. Testauksesta säättää vielä tarkemmin tartuntatautiasetus (A786/1986). Tällä hetkellä on tarjolla useiden eri mikrobien toteamiseen tarkoitettuja testejä. Perinteisiin laboratorioiden käyttämiin menetelmiin verrattuna mikrobiologiset vieritutkimukset ovat lähes poikkeuksetta huonompia kliiniseltä herkkyydeltään sekä tarkkuudeltaan. Niiden käyttäminen ei ole myös-

kään välttämättä edullisempaa, kuin perinteiset menetelmät. Mikrobiologisten vieritestien käyttöä tuleekin harkita, etenkin vaativien mikrobien osoittamisessa. (Linko ym. 2009, 304.)

Mikrobiologisten laboratorioden lisäksi yksinkertaista diagnostiikkaa voidaan tehdä esimerkiksi terveyskeskuslaboratorioissa, mutta vain lääninhallituksen luvalla. Luvan edellytyksenä on, että käytetään hyväksyttäviä menetelmiä ja, että tutkimus voidaan suorittaa yhtä luotettavasti, kuin vastaavalla menetelmällä mikrobiologisessa laboratoriossa. Edellytyksenä on myös, ettei näytteiden käsittelystä aiheudu työ- tai potilasturvallisuutta vaarantavia infektoriskejä. Riittävän suuri näytevirta on edellytys jokaisen yksittäisen testin käyttöönotolle, sillä laadun ylläpitäminen ei ole mahdollista, mikäli testiä tekevät henkilöt eivät näe positiivisia löydöksiä kohtuullisella tiheydellä. Ei-mikrobiologinen laboratorio tarvitsee tukilaboratorion sekä ulkoisen laaduntarkkailujärjestelmän tutkimuksen laadun ylläpitämiseen. Tukilaboratorion tehtävät ja rooli vaihtelevat riippuen vieritestauksen luonteesta. Tämä ns. tukilaboratorio toimii asiantuntijana, sekä ohjaavana ja/tai valvovana toimielimenä. Mikrobiologian toimilupakäytännössä tukilaboratoriolla tarkoitetaan kliinisen mikrobiologian laboratoriota, jonka toiminnasta vastaa yleensä alan erikoislääkäri. (Katila ym. 2002, 997–998; Linko ym. 2009, 285–286.)

4.3 Laadunvarmennus vieritestauksessa

Hyvin suunnitellut ja toteutetut laadunvarmistuksen menettelyt ovat perusedellytys onnistuneelle vierianalytiikalle. Laadunvarmistuksella tarkoitetaan kaikkia toimenpiteitä, joiden avulla varmistetaan, että määritelty, tarvittava ja riittävä laatutaso saavutetaan. Tärkeimpinä tekijöinä vieritestauksen laadunvarmistuksessa ovat osaavat tekijät, hyvät testit, kontrollointi sekä tulosten jäljitettävyyys ja siirrettävyys. Analyttisen laadunvarmistuksen kuuluu sisäinen sekä ulkoinen laadunarviointi. (Linko ym. 2009, 288–291.)

4.3.1 Sisäinen laadunarviointi

Sisäisellä laadunarvioinnilla tarkoitetaan kaikkia niitä toimenpiteitä, joilla seurataan ja hallitaan testin laatua. Näitä toimenpiteitä ovat kontrollointi, kontrollitulosten arviointi ja siitä mahdollisesti seuraavat korjaavat toimenpiteet. Mikrobiologian vieritestauksessa jokaisen uuden testierän toimivuus varmistetaan tutkimalla vähintään valmisreagenssipakkauksen omat kontrollit, yleensä positiivinen sekä negatiivinen. Nämä

kontrollit tulee tehdä myös aina, kun epäillään, ettei testi toimi. Jos kontrollien tulokset ovat odotusarvojen mukaiset, testi on kunnossa. Kaikki laadunarviointitulokset tulee kirjata. Työntekijöiden osaamista seurataan perehdytyskortilla. (Linko ym. 2009, 294–296.)

Jokaisen vieritestin käytöstä on oltava työohje, jossa viitataan valmistajan antamiin ohjeisiin testin käytöstä. Ennen vieritestien käyttöönottoa on tarkistettava testin toimivuus ja suoritettava validointi ja verifiointi. Verifioinnilla tarkoitetaan validoidun menetelmän tai laitteen toiminnan varmistamista, jotta voidaan varmistua että saadut tulokset ovat asianmukaisia tulevassa käyttötarkoituksessa ja – paikassa. (Linko ym. 2009, 287–288; Åkerman 2010, 81.)

4.3.2 Ulkoinen laadunarviointi

Ulkoisella laadunarvioinnilla tarkoitetaan toimintaa, jossa testausta tekevä toimintayksikkö vertaustaa omaa suoritustaan muiden samaa tutkimusta tekevien yksiköiden suoritukseen. Ulkoisessa laadunarvioinnissa laadunarviointipalveluntuottaja, esimerkiksi Labquality, toimittaa vieritestausta tekevään yksikköön sokkonäytteitä. Sokkonäytteet tutkitaan vieritestillä samalla tavalla, kuin potilasnäytteet. Tulokset lähetetään laadunarviointipalveluntuottajalle, joka tekee kaikkien kierrokselle osallistuneiden yksiköiden tuloksista yhteenvedon. Yhteenvedossa tulokset jaotellaan menetelmän mukaan, jolloin jokainen toimintayksikkö voi tarkistaa, miten hyvin oma tulostasoa vastaa muiden vastaavaa menetelmää käyttävien tulostasoa. Mikrobiologian toimiluvan ehtoihin kuuluu, että vieritestausta tekevä toimintayksikkö osallistuu ulkoisen laadunarvioinnin kierroksille vähintään neljä kertaa vuodessa. (Linko ym. 2009, 296–299.)

5 AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET VIERITESTIEN TOIMIVUUDESTA

Vieritestien toimivuutta on tutkittu vertaamalla vieritesteillä saatuja tuloksia referenssimenetelmään. Helsingin yliopiston Virologian laitoksella vuosien 1998 ja 2001 välisenä aikana verrattiin elektronimikroskopiatulosta rota- ja adenoviruksen osalta Diarlex MB -tulokseen. Verrattavia ulostenäytteitä oli yhteensä 899. Tutkimuksessa Diarlex MB:n rotaviruksen osalta herkkyudeksi saatiin 90,7 %, spesifisyydeksi 98,9 %. Vastaavasti adenoviruksen osalta herkkyudeksi on saatu 97,7 %, spesifisyydeksi 97,96 %. Testin toistettavuutta myös tutkittiin: kahta eri valmistuserää tutkittiin kahtena eri päivänä ja jokainen testaus toistettiin kymmenen kertaa. Molempien virusten, kuten myös positiivisen kontrollin osalta tulokseksi saatiin 100 % eli kaikki ulostenäytteet ja kontrollit antoivat toistettavasti saman tuloksen. (Orion Diagnostica 2007, 82–83.)

Rida Quick -vieritestin herkkyys ja spesifisyys on saatu vertaamalla lähes 200 potilasnäytteen tuloksia ELISA-menetelmällä saatuihin tuloksiin. Adenoviruksen osalta herkkyudeksi on saatu 90,0 %, kun yhdessä tapauksessa vieritesti antoi väärän negatiivisen tuloksen. Spesifisyys on kuitenkin 100,0 %, kun vieritesti antoi kaikille 189 negatiivisille ulostenäytteelle negatiivisen tuloksen. Rotaviruksen osalta herkkyudeksi vastaavasti on saatu 100,0 %, kun kaikille 105 rotapositiiviselle ulostenäytteelle vieritesti antoi oikean tuloksen. Spesifisyys on 99,0 %, kun yhden rotanegatiivisen näytteen tulokseksi vieritesti antoi positiivisen tuloksen. (R-Biopharm 2009, 6-7.)

Vikia-vieritestin toimivuutta arvioitiin vertaamalla 435 ulostenäytettä. VIKIA Rota-Adeno -vieritestiä verrattiin toiseen markkinoilla olevaan immunokromatografiseen vieritestiin. Poikkeavat tulokset vieritestien välillä ratkaistiin käyttämällä EIA- ja/tai PCR-menetelmää. Tutkittaessa rotaviruksen osalta vieritestin herkkyyttä, käytettiin 103 rotapositiivista ulostenäytettä. Rotaviruksen osalta herkkyudeksi saatiin 100 %. 103 näytteestä neljälle toinen vieritesti antoi negatiivisen tuloksen, ja Vikia positiivisen tuloksen. Näiden neljän näytteen tulos varmistettiin käyttämällä referenssimenetelmää, joka antoi, Vikian tavoin, positiivisen tuloksen. Adenoviruksen osalta herkkyyttä on tutkittu 42 adenoposiivisen ulostenäytteen avulla. Yhdessä tapauksessa Vikia antoi negatiivisen tuloksen, jolloin herkkyudeksi saatiin 97,6 %. Tulos muuttui kuitenkin positiiviseksi 15 minuutin kuluttua. Vikia-vieritestin spesifisyyttä tutkittiin 290 negatiivisella ulostenäytteellä. Vikia-vieritesti antoi negatiivisen tuloksen kaikille ulostenäytteille, jolloin spesifisyys on 100 %. (bioMérieux 2003, 3.)

6 TESTATTAVAT VIERITESTIT

Tässä opinnäytetyössä testattavat vieritestit ovat Diarlex[®] MB, Rida[®] QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi ja Vikia[®] Rota-Adeno -vieritestit. Tutkittavaksi valitut vieritestit poimittiin kliinisen mikrobiologian rota/adeno-testien laaduntarkkailukierroksille osallistuvien laboratorioden käyttämästä testivalikoimasta. Nyt käytössä ollut Diarlex[®] MB -testiä oli vuonna 2010 käyttänyt hieman alle puolet kierroksille osallistuvista laboratorioista, Vikia[®] Rota-Adeno -vieritestiä vajaa neljännes, ja Rida[®] QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi -testiä samoin vajaa neljännes. (Rissanen 10.1.2011.) Vieritestit ovat kvalitatiivisia testejä, joilla spesifisesti osoitetaan rota- ja adenovirusia ulostenäytteestä akuuttia gastroenteriittia sairastavilta henkilöiltä. (Orion Diagnostica 2007, 76; R-Biopharm 2009, 2; bioMérieux 2003, 1.)

Edellä mainitut vieritestit ovat tarkoitettu avuksi rota- ja adenovirusinfektion toteamisessa, ja tuloksen merkitys täytyykin arvioida yhdessä potilaan kliinisten oireiden kanssa. Vieritestin antama tulos ei poissulje eikä vahvista muiden patogeenien esiintymistä ulosteessa. Testin epäonnistuessa ja ennen sen uusimista on tarkistettava, että vieritestit ja reagenssit eivät ole vanhentuneita tai vahingoittuneita sekä näytteen esikäsittely ja testin suorittaminen on tehty oikein. Ongelman jatkuessa testipakkaus poistetaan käytöstä ja otetaan yhteyttä valmistajaan. Negatiivinen tulos ei täysin poissulje infektion mahdollisuutta, koska epäonnistunut tai liian myöhäinen näytteenkeräys saattaa aiheuttaa väärän negatiivisen tuloksen. Väärän positiivisen tuloksen voi saada, jos ulosteen määrä suspensiossa on liian suuri. Vieritestien toimivuus varmistetaan valmisreagenssipakkauksen positiivisilla kontrolleilla, jolloin jokaisessa määrityssarjassa potilasnäytteen sijasta käytetään rota- tai adenoviruskontrollia. Muuten määrittäminen suoritetaan ohjeen mukaisesti. Kontrolliviivan tulee ilmestyä, jotta tulos voidaan hyväksyä. Viivat, jotka ilmestyvät valmistajan ilmoittaman ajan jälkeen ei oteta huomioon. Mikäli viivat ovat väriltään poikkeavia, näyte sisältää jotain, joka aiheuttaa epäspesifisen reaktion, jolloin tulosta ei voida tulkita ja on suositeltavaa pyytää uusi näyte. Myös ulostejäämät voivat aiheuttaa membraanin taustan värjäytymisen ruskeaksi, joka voi häiritä testin tuloksen lukemista. Tarvittaessa esikäsittely ja määrityksen voi suorittaa uudelleen. (Orion Diagnostica 2007, 76–84; R-Biopharm 2009, 2-6; bioMérieux 2003, 1-3.)

Testien käyttötarkoitus on vain in vitro diagnostiikka. Testejä saa suorittaa vain koulutettu laboratoriohenkilö. (Orion Diagnostica 2007, 76–84 R-Biopharm 2009, 2-6.)

bioMérieux 2003, 1-3.) Yhden testin pelkkä reagenssihintaa on 6–9 euroa. Eri valmistajien välillä ei ollut merkittävää hintaeroa. (Rissanen 10.1.2011.) (Orion Diagnostica 2007, 77–78; R-Biopharm 2009, 4; bioMérieux 2003, 1.)

Jokaisen valmistajan valmisreagenssipakkauksessa on reagensseja 20 määrittämistä varten. Kaikkien vieritestien reagensseissa käytetään säilöntäaineena natriumatsidia, joka on haitallista joutuessa iholle tai putkistoihin. Se voi myös kehittää myrkyllisiä kaasuja hapen kanssa. Atsidit tulee siis hävittää runsaan veden kanssa huuhtelemalla, jolloin ne eivät kerry putkistoihin. Kaikkia potilasnäytteitä ja kontroleja tulee käsitellä ja hävittää tartuntavaarallisena materiaalina. Reagensseja, jotka ovat vanhentuneita, ei tule käyttää, koska tulos ei välttämättä ole luotettava. (Orion Diagnostica 2007, 77–78; R-Biopharm 2009, 4; bioMérieux 2003, 1.)

Testiä suoritettaessa on muistettava aseptinen työskentely. Mahdolliset tartuntavaaralliset roiskeet tulee poistaa imupaperilla ja kontaminoituneet alueet puhdistetaan desinfiointiaineella tai 70 % etanolilla. Analyysin suorituksessa ja puhdistuksessa käytetyt materiaalit, esimerkiksi käsiaineet, pipetinkärjet, testitikut ja näytteet tulee hävittää kuten tartuntavaaralliset jätteet. (Orion Diagnostica 2007, 78.)

Diarlex® MB -vieritesti on suomalaisen Orion Diagnostica Oy:n valmistama vieritesti, joka on tällä hetkellä käytössä ISLAB:n mikrobiologian laboratoriossa. Valmisreagenssipakkaus sisältää testitikkuja, jotka ovat alumiiniputkessa suojassa valolta ja kosteudelta, testialustoja, mallikortin, puskurin, adeno- ja rotaposiitiviset kontrollit sekä käyttöohjeen. Tarvittavat välineet, jotka eivät sisälly testipakkaukseen ovat koeputket näytteiden laimentamista varten, Vortex-tyyppinen sekoittaja, sentrifugi, ajastin sekä pipetti ja pipetinkärjet. Testipakkausta säilytetään 2–8 °C:n lämpötilassa, joka otetaan huoneenlämpöön ennen määrittämistä, jotta reagenssit ovat lämpimiä ennen määrittämistä. Avattujen alumiiniputkien testitikkujen käyttöaika on neljä kuukautta, kun putkea on säilytetty kuivassa ja tiiviisti suljettuna. Pakkaukseen tulisi merkitä avaimispäivämäärä. Testitikkuja, joiden membraanissa näkyy sinisiä tai punaisia viivoja tulosalueella jo ennen testin suoritusta, ei tule käyttää. Testitikun membraaniin ei saa koskea, sillä se saattaa vaikuttaa testin toimivuuteen. Testipakkauksen testitikkuja ei saa myöskään käyttää, mikäli kontrollit eivät toimi oikein. Jotkut bakteerit ja virukset saattavat aiheuttaa ristireaktioita Diarlex MB -testissä käytettävien vasta-aineiden kanssa. (Orion Diagnostica 2007, 78–83.)

Rida® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi -vieritesti on saksalaisen R-Biopharm AG:n vieritesti. Vieritestiä on saatavilla sekä kasetti- että liuskatestinä. Tässä tutkimuksessa käytettiin kasettitestistä. Pakkauksessa on testikasetteja, uuttopuskuria, kertakäyttöpipetteja ja käyttöohje. Testin suorittamista varten tarvitaan myös koeputkia ulostesusponsiolle, Vortex-sekoittaja, mikropipetteja ja ajastin. Testipakkausta säilytetään 2–30 °C:n lämpötilassa. Vahingoittuneita kasetteja ei tule käyttää. (R-Biopharm 2009, 2–4.)

VIKIA® Rota-Adeno -vieritesti on ranskalaisen bioMérieux-yrityksen valmistama vieritesti. Pakkauksessa on testikasetteja, kertakäyttöpipetteja, yksittäispakattuja puskuripulloja ja käyttöohjeet. Muita tarvittavia välineitä ovat ajastin ja tarvittaessa pipetteja. Testipakkausta säilytetään 4–30 °C:n lämpötilassa eikä reagensseja tule käyttää niiden vanhentumisen jälkeen. (bioMérieux 2003, 1).



Kuva 1. Vieritestit. Ylhäällä Vikia, alhaalla Rida Quick ja oikealla Diarlex MB.

Vieritestien periaate on immunokromatografinen. Vieritestit tunnistavat rota- tai adenovirusantigeenin monoklonaalisten vasta-aineiden avulla. Mikäli ulostenäytteessä on adeno- tai rotavirusantigeenia ne sitoutuvat värillisiin mikropartikkeleihin sidottuihin adeno- tai rotavirusvasta-aineiden kanssa. Oli ulosteessa rota- tai adenovirusantigeenia tai ei, vasta-aine kulkeutuu ulostesusension mukana kapillaari-ilmiön vaikutuksesta eteenpäin testimembraanissa, kunnes vastaan tulee testiviiva, joka

sisältää toista vasta-ainetta. Jos näyte on positiivinen, antigeeni kiinnittyy värjätyn vasta-aineen avulla testiviivassa olevaan vasta-aineeseen, jolloin testiviiva muuttuu värilliseksi. Jos näyte on negatiivinen, värillinen vasta-aine kulkee testiviivan ohi siihen kiinnittymättä. Testimembraaniin ilmestyy sen värinen viiva, minkä väriin mikro-partikkeleihin virus on sitoutunut. Eri valmistajat käyttävät erivärisiä partikkeleita. Vieriteissä on myös sisäinen kontrolli, joka varmistaa testin toimivuuden ja sen että ulostesuspensio on päässyt testin loppupäähän. Kontrolliviiva sisältää kolmatta vasta-ainetta, jota sitoutuu värilliseen vasta-aineeseen rota- ja adenovirusantigeenista riippumatta. Kontrolliviiva on ilmestyttävä, jotta tuloksen voi hyväksyä. (Orion Diagnostica 2007, 76; R-Biopharm 2009, 3; bioMérieux 2003, 1.)

7 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSONGELMAT

Tutkimuksen tarve lähti ISLABin mikrobiologian laboratorion erikoislääkärin Anne-Mari Rissasen tyytymättömyydestä nykyiseen adeno- ja rotanovirusia ulosteesta osoittavaan vieritestiin. Käytössä ollut vieritesti on antanut kaksoispositiivisia tuloksia, mikä on Rissasen (10.1.2011) mukaan epäilyttävää, koska harvoin potilaalla on molemmat virukset. Käytössä oleva testi on koettu myös hitaaksi ja hieman työlääksi suorittaa.

Tutkimuksen tarkoituksena on vertailla käytössä olevaa adeno- ja rotavirusta ulosteesta osoittavaa vieritestiä ja kahta muuta markkinoilla olevaa vieritestiä. Tutkimuksen tavoitteena on vertailla vieritestejä, jotta löytyisi ominaisuuksiltaan paras vieritesti osoittamaan adeno- ja rotaviruksia ulosteesta. Tutkimuksessa vertaillaan vieritestien antamia tuloksia ja niiden tulkitsemisen selkeyttä sekä vertaillaan vieritestien suorituksen helppoutta, laitteiden ja välineiden määrää ja ajankäyttöä. Tutkimuksessa huomioidaan myös jätemäärät, hinta ja testien säilyvyys. Testaus tehdään Kuopiossa, ISLAB:n mikrobiologian laboratoriossa. Tavoitteena on, että potilaat saavat luotettavia tuloksia nopeasti. Tavoitteena on myös, että laboratorio hyödyntää tutkimuksen tuloksia, päättäessään millä vieritestillä määrittystä tehdään jatkossa.

Tarkennetut tutkimusongelmat ovat:

1. Antavatko vieritestit samoja tuloksia?
2. Kuinka helppoa tulosten tulkinta on?
3. Minkälaisia eroja vieritestien suorittamisessa on?

8 TUTKIMUSMENETELMÄ JA AINEISTONKERUU

8.1 Tutkimusmenetelmä

Tutkimus on määrällinen eli kvantitatiivinen tutkimus, jota kutsutaan myös tilastolliseksi tutkimukseksi. Menetelmien valinta on oleellinen osa tutkimuksen tekoa. Tutkimusmenetelmä koostuu tavoista ja käytännöistä, joilla havaintoja kerätään. Tutkimustyössä päätelmien teolle tyypillistä on, että havaintoja ei oteta sellaisinaan, vaan niitä punnitaan kriittisesti, analysoidaan, niiden pohjalta luodaan kokoavia näkemyksiä asioihin. Tutkimusongelmat eivät ratkea vippaskonstein tai hyvään onneen luottamalla, tutkimusongelma ja menetelmä ovat toisiinsa tiiviissä yhteydessä. Menetelmän valintaa ohjaa se, minkälaista tietoa etsitään. (Hirsjärvi ym. 2009, 183–184.)

Kuvaamme tutkimuksessa tuloksia numeeristen suureiden avulla sekä havainnollistamme taulukoiden ja kuvien avulla. Kyseessä on kokeellinen tutkimus, jossa vertailemme eri valmistajien vieritestien tuloksia. (Heikkilä 2008, 16.) Otos koostuu 18 ulostenäytteestä, joista teimme adeno- ja rotavirusmääriytykset vieritestein.

8.2 Aineistonkeruu

Aineisto koostui ulostenäytteistä, joita testasimme eri vieritestien avulla. Potilasnäytteet olivat F-RotaAg ja F-AdenoAg -tutkimuspyynnöillä laboratorioon tulevia näytteitä. Laboratorion henkilökunta analysoi näytteet ja laittoi ne pakastimeen meidän tutkimustamme varten. Tutkimuksen työstövaiheessa ei kuitenkaan tullut riittävästi kyseisiä ulostenäytteitä, koska testausaiheessa ei ollut epidemiakautta, joten jouduimme ottamaan tutkimukseen myös F-BaktVi1-, eli ulosteen bakteeriviljelypyynnöillä tulevia näytteitä. Laboratorion henkilökunta halusi alustavia tuloksia mahdollisimman nopeasti, joten emme voineet jäädä odottamaan mahdollista epidemiaa. Tämä vaikutti muun muassa siihen, että adeno- ja rotaposiitivisia tuloksia saatiin vähän.

Tutkittava näyte kerätään kuivaan, puhtaaseen, tiiviiseen ja lisäaineettomaan astiaan tai vaippaan. Ulostenäyte suositellaan otettavaksi 3–5 päivän aikana oireiden alkamisesta. Myöhemmin kerätty näyte voi antaa väärän negatiivisen tuloksen, koska näytteen viruspitoisuus on jo liian pieni. Riittävä määrä ulostetta edustavaan näytteeseen on 1–2 g kiinteää ulostetta tai 1–2 ml löysää ulostetta. Meconium eli lapsenpihka ei

sovellu näytteeksi. Näytteet tulisi käsitellä mahdollisimman pian sen saavuttua laboratorioon. Ulostenäyte voidaan säilyttää huoneenlämmössä, mikäli määrittäminen tehdään kolmen päivän aikana. Tarvittaessa laimentamattomia näytteitä voidaan säilyttää ennen analyysiä 2–8 °C:n lämpötilassa usean päivien ajan, testin herkkyys voi kuitenkin alentua. Pidempää säilytystä varten laimentamaton näyte tulee pakastaa, huolehtien siitä että näyte on täysin lämmennyt ennen määrittäystä. Pakkasessa (alle -18 °C) näytteet säilyvät usean kuukauden ajan. Näytettä ei saa pakastaa uudelleen. (R-Biopharm 2009, 2-4; Orion Diagnostica 2007, 78–79; bioMérieux 2003, 2-3.)

Ulostenäytteet kerättiin 12.12.2010–18.01.2011. Suurin osa näytteistä oli kerätty kahtena viimeisenä päivänä. Koska näytteet oli kerätty meille valmiiksi, emme pystyneet vaikuttamaan preanalyttisiin tekijöihin ja siinä mahdollisesti syntyviin virheisiin. Arvioimme tutkimuksen luotettavuutta vain oman suoritusosaltamme osalta. Testauksen suoritimme kahtena eri kertana tammikuun loppupuolella. ISLAB:n mikrobiologian laboratorion erikoislääkäri oli tilannut meille valmiiksi yhden valmisreagenssipakkauksen jokaiselta valmistajalta. Jokaisessa pakkauksessa oli tarvikkeet 20 määrittäystä varten.

9 TUTKIMUKSEN SUORITUS

Opiskelijavastaavana toimiva laboratoriohoitaja ohjasi meitä. Hän esitteli meille mikrobiologian laboratoriota ja tarvittavia laitteita ja välineitä. Hän myös opasti meitä vieritestien käytöstä ja seurasi aluksi meidän työskentelyämme. Ennen tutkimuksen suorittamista, tutustuimme huolella valmisreagenssipakkauksien käyttöohjeisiin. Tämän jälkeen teimme itsellemme omat työohjeet valmistajien käyttöohjeita hyödyntäen, jotta saisimme selkeät ja ytimekkäät ohjeet testin suorituksesta. Laboratoriosta saimme käytössä olevan vieritestin työohjeen käyttöömmme. Kahden vieritestin käyttöohjeet olivat englanninkielisiä, joten käännsimme työohjeet suomenkielelle, helpottaen työskentelyämme (Liite 1–3). Työohjeet tehtiin siten, että niitä voidaan hyödyntää, mikäli laboratorio päättäisi vaihtaa vieritestiä. Laboratoriohoitaja tarkasti kääntämämme ohjeet, jotta testin suorituksessa ei tapahdu virheitä. Olimme myös keränneet tietoa kyseisistä viruksista ja vierianalytiikasta ennen tutkimuksen suorittamista.

Ennen varsinaisen testauksen aloittamista, teimme pienemmän, kolmen vieritestin sarjan jokaiselta valmistajalta. Tarkoituksena oli perehtyä vieritestien käyttöön ja samalla tarkistimme työohjeidemme toimivuuden. Teimme samalla pieniä tarkennuksia työohjeisiimme. Kirjasimme vieritestien antamat tulokset tulostaulukkoomme. Loput testaukset teimme suurimmissa sarjoissa, sillä yleensä määrityksiä tehdään useampi yhtä aikaa virusten kausiluonteisen esiintymisen takia. Suurimpien sarjojen määrityksissä saimme myös paremmin rutiinia testin suorittamisesta. Työnjakomme oli, että toisen työskennellessä, toinen tekee muistiinpanoja huomioitavista ja poikkeavista asioista. Toinen meistä suoritti esikäsittelyvaiheen jokaisella kerralla, ja toinen vastaavasti testin varsinaisen määrityksen. Tällä pyrimme estämään käyttäjistä johtuvia vaihteluita. Tarkistimme myös, että valmisreagenssipakkauksia on säilytetty oikein ja että niiden käyttöpäivämäärä on voimassa. Testin suoritusvaiheessa, kun testikasetit otetaan esiin, tarkistimme niiden kunnan ja että värimuutoksia ei ole tapahtunut.

Olimme sopineet ohjaajamme kanssa päivät, jolloin tulemme tutkimustamme tekemään, jotta hän pystyi ottamaan näytteet ja valmisreagenssipakkaukset valmiiksi huoneenlämpöön. Ennen jokaista määritystä aloitettaessa otimme tarvittavat välineet esille työn sujumuuden helpottamiseksi ja kirjoitimme näytetunnisteet jokaiseen koeputkeen tai puskuripulloon. Missään vaiheessa emme käyttäneet potilaiden nimiä tai henkilöturvattunnuksia, joten potilasturvallisuus ei vaarantunut tutkimuksessamme. Ulostenäytteiden esikäsittely ja määritys tapahtui vetokaapissa, jolloin testin suoritta-

jan turvallisuus ei vaarantunut. Käytimme myös kertakäyttökäsineitä, pyyhimme ja desinfioimme mahdolliset roiskeet ja desinfioimme pinnat aina työmme loputtua. Huomioimme kokoajan, että näytteet ovat tartuntavaarallisia ja työskentelimme aseptisesti. Testikasetit, ulostesuspensiot ja muut käytetyt välineet hävitimme tartuntavaarallisena jätteenä ohjeiden mukaisesti. Suoritimme esikäsitteilyn, jokaisen valmistajan ilmoittamalla tavalla, jonka jälkeen teimme määrätyt työohjeidemme mukaisesti.

9.1.1 Diarlex® MB –vieritestin suoritus

Määrityksen voi suorittaa suodatus- tai sentrifugointimenetelmällä. ISLAB:n mikrobiologian laboratoriossa on käytössä sentrifugointimenetelmä. Testitikut otetaan alumiiniputkesta vasta määritystä aloittaessa. Ulostenäyte laimennetaan Diarlex-puskuriin suhteessa 1:10, esimerkiksi 0,5 ml näytettä ja 4,5 ml Diarlex-puskuriliuosta, jonka jälkeen suspensiota sekoitetaan huolellisesti joko käsin ravistelemalla tai Vortex-tyyppisellä sekoittajalla. Suspensio sentrifugoidaan 10 minuutin ajan 3000 rpm. Mikäli näytettä halutaan säilyttää pidemmän aikaa, näyte tulee eritellä niin, että supernatantti otetaan talteen, jolloin se säilyy 10 päivää jääkaapissa. Analyysiin kelpaa vain kirkas supernatantti. (Orion Diagnostica 2007, 79.)

Testitikku asetetaan testialustalle tarttumalla sen värilliseen päähän ja painamalla se nuolten väliin varomalla koskettamasta testin membraanialuetta. Testitikun näytealueelle tiputetaan supernatanttia yhteensä 100 µl eli noin kaksi tippaa. Ensin näytealueelle pipetoidaan 50 µl supernatanttia, jonka annetaan imeytyä membraaniin ennen kuin pipetointi toistetaan. Tulos luetaan 10 minuutin kuluttua näytteen lisäämisestä. Tulos voidaan kuitenkin tulkita positiiviseksi heti kun tulosikkunassa voidaan erottaa kaksi erillistä viivaa, joista toinen viiva on punainen tai sininen ja toinen viiva on musta kontrolliviiva. Viivojen värien voimakkuus voi vaihdella, mutta sillä ei ole merkitystä testituloksen kannalta. (Orion Diagnostica 2007, 79–81.) Kaikkien kolmen testattavien vieritestien tulokset tulkitaan kuvio 1 mukaisesti.

9.1.2 Rida® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi -testin suoritus

Ennen testin suorittamista puskurit ja testikasetit otetaan huoneenlämpöön ja kasetit otetaan alumiinikalvoista vasta määritystä aloitettaessa. Puskuria lisätään 1 ml merkittyihin koeputkiin. Kiinteää ulostetta lisätään 50 mg tai löysää ulostetta 100 µl. Suspensiot homogenoidaan Vortex-sekoittimessa tai käyttämällä kertakäyttöpipettiä, jonka avulla suspensiota imetään ja tyhjennetään koeputkessa. Suspensio annetaan

sedimentoitua eli laskeutua kolmen minuutin ajan, jonka jälkeen suspensiosta tulisi erottaa kirkas supernatantti. Testikasetit otetaan kalvoista ja tarkistetaan, ettei niissä ole tapahtunut värimuutoksia, jonka jälkeen ne asetetaan tasaiselle alustalle. Supernatanttia pipetoidaan neljä tippaa tai 200 µl kasetin pyöreään näytekaivoon. Näytekaivoon tulee pipetoida vain kirkasta supernatanttia, koska ulostejäämät voivat tukkia näytekaivon. Tulos luetaan viiden minuutin kuluttua (kuvio 1). (R-Biopharm 2009, 4-6).

9.1.3 VIKIA® Rota-Adeno -testin suoritus

Puskuripullon korkki aukaistaan, minkä mukana pullosta tulee näytetikku näytteen ottamista varten. Näytetikulla otetaan ulostetta näytetikun päähän, joka on noin 50 mg. Näytetikku viedään takaisin puskuripulloon. Näytteen ollessa löysää käytetään testipakkauksen mukana tullutta kertakäyttöpipettiä. Näytettä pudotetaan suoraan puskuripulloon kaksi tippaa eli noin 50 µl. Korkki suljetaan huolella ja sekoitetaan homogeeniseksi. Testikasetti otetaan esille juuri ennen määrityksen tekemistä ja asetetaan se tasaiselle ja puhtaalle alustalle. Puskuripullon korkin päässä oleva suojuksen irrotetaan. Pullo käännetään ylösalaisin ja pudotetaan kaksi tippaa ulostesuspendiota, noin 80 µl, testikasetin näytekaivoon, ilmakuplien muodostumista varoen. Mikäli ulostesuspendio ei imeydy näytekaivosta, suspensio voidaan sentrifugoida, jonka jälkeen supernatanttia pipetoidaan 80 µl näytekaivoon. Tulos luetaan 10 minuutin kuluttua näytteen lisäämisestä (kuvio 1). (bioMérieux 2003, 1-3.)

Testin tulos	Diarlex® MB	Rida® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi	Vikia® Rota-Adeno
Rotavirus positiivinen tulos	Punainen viiva ja musta kontrolliviiva	Punainen viiva ja vihreä kontrolliviiva	Sininen viiva ja musta kontrolliviiva
Adenovirus positiivinen tulos	Sininen viiva ja musta kontrolliviiva	Sininen viiva ja vihreä kontrolliviiva	Punainen viiva ja musta kontrolliviiva
Sekainfektio tulos	Punainen ja sininen viiva sekä musta kontrolliviiva	Punainen ja sininen viiva sekä vihreä kontrolliviiva	Sininen ja punainen viiva sekä musta kontrolliviiva
Negatiivinen tulos	Musta kontrolliviiva	Vihreä kontrolliviiva	Musta kontrolliviiva
Hylätty tulos	Poikkeavat värit tai musta kontrolliviiva ei muodostu	Poikkeavat värit tai vihreä kontrolliviiva ei muodostu	Poikkeavat värit tai musta kontrolliviiva ei muodostu

KUVIO 1. Vieritestien tulosviivojen tulkinta

Ulkoisia kontroleja ei ollut saatavilla kuin vaan Diarlex MB:llä. Testasimme vieritestejä myös tällä, mutta kontrolli ei soveltunut muiden valmistajien vieritesteille. Näitä tuloksia emme ottaneet huomioon. Kaikki tieto, niin tulokset kuin niiden tulkitsemisen selkeys sekä käyttökokemukset kirjattiin huolella muistiin. Vieritesteillä saadut tulokset ja sen tulkitsemisen selkeys syötettiin SPSS eli tilastotieteelliseen analyysin suunnittelu ohjelmaan, niin että toinen syötti tulokset ja toinen tarkasti, ettei huolimattomuusvirheitä tapahtuisi.

10 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Tarkastelemme tuloksia kahdessa osassa. Vieritesteillä saatuja tuloksia ja niiden tulkitsemisen selkeyttä analysoitiin SPSS -ohjelman avulla. Koska tutkimusaineistomme oli pienehkö, meidän tarvitsi käyttää vain frekvenssejä ja prosentteja. Käyttökokemuksissa kuvailemme esikäsittelyn ja testin suorituksen sujuvuutta ja niissä ilmeneviä ongelmia omien kokemusiemme pohjalta.

10.1 Tutkimuksessa mukana olevat näytteet

Tutkimuksessa oli yhteensä mukana 18 potilasnäytettä, jotka kerättiin joului- ja tammi-kuun aikana. Valmisreagenssipakkauksissa oli välineet 20 määrittystä varten. Normaalisti kaikkien pakkauksien mukana tulee positiiviset rota- ja adenokontrollit. Laboratorio oli saanut valmistajilta ”kokeiluerät” puoleen hintaan, joten näiden pakkauksien mukana ei tullut kontrolloja. Laboratoriolla oli kuitenkin käytössä olevan Diarlex MB vieritestin kontrollit, ja erikoislääkäri ehdotti, että teemme määriytykset näillä kaikilla vieritesteillä positiivisten potilasnäytteiden puuttumisen vuoksi. Diarlex MB -kontrollit eivät kuitenkaan soveltuneet muiden valmistajien vieritesteille. Tuloksena olivat todella heikot tulosviivat Rida Quick -vieritestillä ja Vikia-vieritesteillä näytteet eivät kulkeutuneet loppuun membraanissa. Diarlex MB -vieritestillä kontrollit toimivat moitteettomasti. Päätimme jättää kontrollinäytteet kokonaan huomioimatta, jonka vuoksi otoksemme on 18 potilasnäytettä.

10.2 Vieritesteillä saatujen tuloksien vertailu ja tulkitseminen

Vieritesteillä saadut tulokset poikkesivat toisistaan, vaikka kyseessä oli melko suppea otos. Diarlex MB -vieritesti oli ainoa, jolla saatiin tulokset kaikilla määriytyksillä. Rida Quick -vieritesti ei antanut tulosta yhdelle määriytykselle. Syynä tähän voi olla se, että ulostesuspensiossa on ollut kiinteää ulostetta, jolloin näyte ei lähtenyt heti imeytymään näytekaiivosta. Jouduimme pipetoimaan suspensiota pois kaiivosta, jolloin suspensio alkoi imeytyä membraaniin. Suspensio kuitenkin imeytyi hitaasti, ja aika suspension pipetoimisesta oli kulunut jo 15 minuuttia, joten tuloksen tulkinta jäi epäluotettavaksi. Membraanin tausta oli myös värjäytynyt ruskeaksi, mikä häiritsi testin tuloksen tulkintaa, joten päätimme hylätä tuloksen, joka vaikutti negatiiviselta. Vikia-testillä tulosta ei saatu kuudella vieritestillä. Näissä tapauksissa ulostesuspensio ei kulkeutunut loppuun asti membraanissa, joten tuloksia ei saatu lainkaan. Lisäsimme

suspensiota kun huomasimme, että suspensio ei ehdi imeytyä täysin membraaniin valmistajan ilmoittaman ajan aikana. Suspension lisääminen ei kuitenkaan vaikuttanut. Vikia-vieritesti ei myöskään antanut rotaposiitivista tulosta, vaikka kahdella muulla vieritestillä ulostenäytteestä pystyttiin osoittamaan rotavirusantigeeni. Teimme määrittelyn vielä uudelleen samalla potilasnäytteellä, ja senkin osoittautuessa negatiiviseksi, päätimme toistaa esikäsittelyn uudelleen mahdollisten virheiden vuoksi, ja suoritimme määrittelyn kolmannen kerran, jolloin tulos oli edelleen sama. Tämän vuoksi Vikia-vieritestillä määrittelyä pystyimme tekemään vain 16 potilasnäytteellä. Vieritesteillä saadut tulokset löytyvät tarkemmin taulukosta 1.

TAULUKKO 1. Vieritesteillä saadut tulokset (n=18 ja n=16)

	Diarlex® MB		Rida® QUICK Rota-virus/Adenovirus Combi		Vikia® Rota-Adeno	
	f	%	f	%	f	%
Adenoposiitivinen tulos	1	5,6	1	5,6	1	6,25
Adenonegatiivinen tulos	17	94,4	16	88,9	9	56,25
Rotaposiitivinen tulos	1	5,6	1	5,6	0	0
Rotanegatiivinen tulos	17	94,4	16	88,9	10	62,5
Ei tulosta	0	0	1	5,6	6	37,5

Tulkitsimme myös vieritesteillä saatujen tuloksien selkeyttä (taulukko 2). Arvioimme ovatko tulosviivat selkeitä vai heikkoja. Diarlex MB:llä kaikki tulokset olivat helposti luettavissa. Rida Quick -vieritestillä yhdessä määrittelyssä tulosviivat olivat todella heikot, mutta vastauksen pystyi kuitenkin tulkitsemaan. Kahdessa määrittelyssä taustat värjäytyivät myös ruskeiksi, joka hieman häiritsi tulosten tulkintaa. Vikia-vieritestillä, kaikilla määrittelyillä joilla tulos saatiin, oli selkeät tulosviivat.

TAULUKKO 2. Tuloksien tulkinnan selkeys (n=18 ja n=16)

	Diarlex® MB		Rida® QUICK Rota-virus/Adenovirus Combi		Vikia® Rota-Adeno	
	f	%	f	%	f	%
Selkeät tulosviivat	18	100	16	88,9	10	62,5
Heikot tulosviivat	0	0	1	5,6	0	0
Ei tulosta	0	0	1	5,6	6	37,5

Diarlex MB -vieritesti oli saatujen tuloksien ja niiden tulkitsemisen osalta kaikista varmin, sillä se antoi tuloksen jokaisella määritys kerralla ja kaikki tulokset olivat helppolukuisia. Vikia-vieritesti oli vastaavasti heikoin, koska sillä emme saaneet tulosta kuudella määritys kerralla ja se antoi myös yhden poikkeavan tuloksen kahteen muuhun vieritesteihin verrattuna. Koska käytössämme ei ollut referenssimenetelmää, emme voi kuitenkaan olla varmoja kumpi tulos on oikea. Rida Quick -vieritesti oli myös melko varma, sillä vain yhdelle määritykselle emme saaneet tulosta ja yhden tuloksen tulkinta oli hieman epäselvä.

10.3 Käyttökokemukset

Eri valmistajien työohjeissa on eroavaisuuksia niin näytteiden esikäsittelyn kuin testin suorituksen osalta. Diarlex MB on ainut, jonka ulostesuspensiot tulee sentrifugoida 10 minuutin ajan, minkä vuoksi esikäsittely kestää kauemmin verrattuna kahteen muuhun vieritestiin. Pakkauksen mukana ei tule koeputkia eikä pipettejä. Yhteen määrittäykseen pipetoidaan myös aika paljon puskuria (4,5 ml). Yhteensä esikäsittelyyn kului aikaa noin 35–40 minuuttia. Rida Quick -vieritestiin mukana tulee kertakäyttöpipettejä, mutta nämä eivät kuitenkaan riitä 20 määrittäykseen. Työohjeen mukaan ulostesuspensiota tulee seisottaa kolme minuuttia. Me emme kuitenkaan tämän ajan jälkeen erottaneet minkäänlaista supernatanttia, joten seisotimme suspensioita yhteensä 10 minuuttia, jonka jälkeen pystyimme havaitsemaan supernatantin, joka ei kuitenkaan vielä ole ollut kovin selkeä, niin kuin työohjeessa oli mainittu. Näytteiden esikäsittelyyn, jossa oli yhteensä 7–8 näytettä, kului aikaa noin 30 minuuttia. Vikia-vieritestiin esikäsittely sujui nopeimmin, koska näyte pipetointiin valmiiseen puskuripulloon. Pus-

kuripullon korkissa oleva asetin oli ainakin meille hyödytön, koska lyhyytensä vuoksi se ei ylettynyt ulostepurkin pohjalle, joten ulostetta täytyi kuitenkin ottaa toisella pumpulitikulla. Tämäkin koitui hieman hankalaksi, koska puskuripullon suu on todella kapea, joten pumpulitikku oli työnnettävä voimakkaasti pulloon. Ulostenäytteet ovat kuitenkin useimmiten nestemäisiä, joten asetinta tarvitsee käyttää vain harvoin. Valmisreagenssipakkauksen mukana tulevat kertakäyttöpipetit olivat myös käyttökelvottomia, koska ne olivat todella pieniä ja lyhyitä, joten niilläkään ei voi ottaa näytettä ulostepurkin pohjalta. Jouduimme siis käyttämään laboratorioin omia pipettejä ulosteen pipetoimisessa. Koska ulostesuspensioita ei sentrifugoida eikä seisoteta, ei tarvitse varoa, että näytteet sekoittuisivat uudelleen. Puskuripullot ovat myös turvallisia, koska niissä on tiiviit kannet, joten ulostesuspensiot eivät pääse kaatumaan. Muutamista ongelmista huolimatta esikäsitelyaika oli noin 20 minuuttia.

Testin suorituksessa Diarlex MB -vieritesteissä tarvitaan mittapipetti ja kärkiä. Muiden valmistajien vieritesteissä tarvitaan vain kertakäyttöpipettejä. Näytetikkujen käsittelyssä tulee olla varovainen, ettei koske membraanialueeseen. Ulostesuspensiota lisätään kaksi kertaa, jolloin on odotettava, että suspensio on imeytynyt ennen kuin pipetointi toistetaan. Inkubaatioaika on 10 minuuttia. Rida Quick -vieritestien suorituksessa lisätään yhteensä neljä tippaa (200 µl) ulostesuspensiota. Ulostesuspensiosta oli hankala erottaa supernatantti, joten näytekaivoon voi herkästi mennä ulostetta, jolloin se tukkeutuu ja testi joudutaan uusimaan. Kirkkaan supernatantin puuttumisen johdosta, testikasetin tausta voi värjäytyä ruskeaksi, joka häiritsee tuloksen tulkintaa. Inkubaatioaika on lyhyin eli viisi minuuttia.

Vikia poikkesi kahdesta muusta vieritestistä siten, että suspensiota ei tarvitse pipetoida erillisellä pipetillä, koska puskuripullon korkin kärki voidaan irrottaa. Puskuripullo käännetään ylösalaisin ja tiputetaan kaksi tippaa suspensiota näytekaivoon. Testin suoritus olisi todella kätevä ja helppo, mutta välillä korkin kärjen irrotus käsineet kädessä oli haasteellista ja ulostesuspensiota roiskuikin pullosta. Tähän voi tosin vaikuttaa meidän vähäinen kokemus testin suorituksesta, joten oikean tekniikan oppiminen voisi tehdä testin suorituksesta näppärän ja turvallisen. Eri valmistajien testin suorituksessa ei ajallisesti ollut merkittävää eroa. Sarjoissa, joissa oli 7–8 ulostesuspensiota, aikaa kului noin 20–25 minuuttia. Rida Quick -vieritestin kokonaisaika oli hieman pidempi kuin muiden, vaikka sen inkubaatioaika oli lyhyin.

Diarlex MB -valmisreagenssipakkausta tulee säilyttää viileässä. Muiden valmistajien pakkauksia voi halutessa säilyttää myös huoneenlämmössä. Koska Diarlex MB -

vieritestin kaikki näytetikut ovat yhdessä alumiiniputkessa, ne säilyvät neljä kuukautta avaamisen jälkeen. Muiden vieritestien säilyvyysaika on pidempi, ainakin puoli vuotta, sillä vieritestit ovat yksittäispakattuna. Jättemäärissä ei ole suuria eroja. Diarlex MB -vieritesteillä syntyy hieman vähemmän jätettä, kun näytetikut ovat yhdessä alumiiniputkessa, eikä siis yksittäispakattuna niin kuin kahden muun valmistajan testikasetit. Diarlex MB ja Rida Quick -vieritesteissä käytetään koeputkia, mutta nämä voidaan puhdistaa ja käyttää uudelleen.

Vieritestien paremmuutta testin esikäsittelyn ja suorituksen pohjalta on hieman vaikea arvioida, koska jokaisella vieritestillä on hyviä ja huonoja puolia. Diarlex MB -vieritestillä tarvitaan 10 minuutin sentrifugausta, mutta Rida Quick -vieritestin ulostesuspension supernatantin ilmestyminen pelkästään seisottamalla oli hieman epäselvää, ja näytekaivoon joutuikin kiinteää ulostetta, jolloin testin voi joutua uusimaan. Vikia-vieritestin näytteiden esikäsittely oli nopeampaa, koska puskuria ei tarvinnut pipetoida erikseen. Kiinteää ulostetta oli kuitenkin hieman hankala siirtää pieneen puskuripullon. Pakkauksen mukana tulleet pipetit ja puskuripullon asetin olivat meille lähes turhia. Vikia-vieritesti oli myös turvallisin, koska näyte on koko ajan suljetussa pullossa, josta se voidaan pipetoida suoraan näytekaivoon käyttämättä erillistä pipettiä. Korkin kärjen avaus tuotti kuitenkin hankaluuksia ja testin voi joutua uusimaan.

11 POHDINTA

11.1 Tutkimuksen eettisyys ja luotettavuus

Etiikka moraalisisina valintoina ja päätöksinä kattaa koko tutkimusprosessin jo aiheenvalinnasta tutkimusten tulosten vaikutuksiin saakka. Eettisiä kysymyksiä voi liittyä muun muassa tutkimuskohteen ja menetelmän valintaan, aineiston hankintaan, tieteellisen tiedon luotettavuuteen ja tutkimustulosten vaikutuksiin. (Kuula 2006, 11.) Tutkimusaiheen valinta on eettinen kysymys, ja koemme, että tutkimuksestamme oli enemmän hyötyä kuin haittaa. Tutkimuksemme oli tarpeellinen, sillä laboratorio olisi muuten itse suorittanut testauksen.

Tutkimuksen validiteetilla eli pätevyydellä tarkoitetaan sitä, että tutkimuksen tulee mitata sitä, mitä oli tarkoituskin selvittää (Heikkilä 2008, 29–30). Pyrimme varmistamaan tutkimuksen validiuden jo heti alkuvaiheessa hyvällä suunnittelulla, aikataulutamisella ja tarkoin harkitulla tiedonkeruulla. Luotettavuudella eli reliabiliteetilla tarkoitetaan tulosten tarkkuutta. Luotettavassa tutkimuksessa tulokset eivät saa olla sattumanvaraisia. (Heikkilä 2008, 29–30.) Tutkimuksen luotettavuuteen vaikutti varmasti olennaisesti, että otos oli pieni. Määritimme yhteensä 60 näytettä, 20 näytettä aina yhden valmistajan vieritestein. Olisimme voineet saada vieritestien tuloksista ja tulosten tulkittamisen selkeydestä aivan erilaisia tuloksia, jos näytteitä olisi ollut vaikka puolet enemmän. Emme kuitenkaan voineet vaikuttaa siihen minkä verran teemme määrittämiä, koska meillä oli käytettävissä vain yhden valmisreagenssipakkaukset kultakin valmistajalta, jotka sisälsivät tarvikkeet 20 näytteen määrittämiseen. Luotettavuuteen vaikutti myös se, että positiivisia näytteitä oli vähän, koska testauksen teon aikaan ei ollut menossa epidemiakautta. Jouduimme ottamaan testaukseen mukaan myös muita ulostenäytteitä. Laboratorion erikoislääkäri halusi saada testauksesta alustavia tuloksia mahdollisimman pian, joten aikaa ei ollut jäädä odottamaan mahdollista epidemiaa, sen lisäksi ettei meillä olisi ollut tarvikkeitakaan useampiin määrittämiin. Toisaalta laboratorio piti erittäin tärkeänä saada myös tietoa vieritestien käyttökokemuksista, mikä olikin toinen tutkimusongelmistamme.

Tutkimuksen luotettavuuteen vaikutti varmasti myös se, ettei meillä testauksen suorittajana ollut kovinkaan paljoa kokemusta vieritestien suorittamisesta. Yleensä vierianalytiikkaa saa suorittaa vain koulutettu ja perehdytetty laboratoriotyön ammattilainen. Olisivatko vieritestien tulokset ja tulosten tulkinta sekä käyttökokemukset olleet

eri luokkaa, jos ne olisi suorittanut vaikkapa kokenut bioanalyttikko, jolla on runsas kokemus vieritestien suorittamisesta?

Objektiivisuus eli puolueettomuus on hyvän tutkimuksen perusvaatimuksista. Hyvällekin tutkijalle voi sattua pieniä huolimattomuusvirheitä, mutta tahallinen tulosten vääristely ei ole sallittua. (Heikkilä 2008, 30.) Pyrimme työskentelemään testausta tehdessämme kokoajan mahdollisimman tarkasti ja kriittisesti, ettei edes pieniä huolimattomuusvirheitä pääsisi tapahtumaan. Oli hyvä, että tekijöitä oli kaksi, toisen työskennellessä toinen tarkkaili ja teki muistiinpanoja. Toinen teki siis kaikkien näytteiden esikäsittelyn ja toinen kaikkien näytteiden määrittämisen. Tällä estimme myös sen, ettei tullut käyttäjistä johtuvia eroja. Olemme myös raportoineet kaikesta merkittävästä ja olennaisesta mikä tuli esille tutkimusta tehdessä ja emmekä ole jättäneet mitään tietoa tutkimusaineistomme ulkopuolelle. Tulokset analysoitiin huolella, ja tarkistimme että olemme syöttäneet aineistomme oikein SPSS -ohjelmaan. Meillä oli vähän kokemusta kyseisestä ohjelmasta, mutta saimme apua sen käytössä.

Etsimme tietoa eri tietokannoista ja käytimme myös kansainvälisiä lähteitä. Emme missään vaiheessa saaneet tietää minkä nimisten tai ikäisten ihmisten näytteitä tutkimme, koska näytenumerot oli merkattu vain juoksevalla näytenumerolla, joten emme voineet yhdistää tietoja kehenkään henkilöön. Näin potilaiden tietosuojaa oli turvattu koko tutkimuksen ajan.

11.2 Ammatillinen kasvu ja opinnäytetyöprosessi

Olimme alusta asti molemmat tyytyväisiä valitsemastamme aiheesta opinnäytetyöhön. Mikrobiologia yleisesti kiinnosti meitä, ja vierianalytiikka tuntuu olevan kokoajan tärkeämpi osa-alue laboratoriodiagnostiikassa. Tuntui myös mielekkäältä, että aiheemme liittyi vieritestien testaamiseen, jossa saa tehdä jotakin konkreettista. Havaitimme myös heti, että tutkimuksen tulokset tulevat olemaan tärkeitä niin ISLAB:n mikrobiologian laboratoriolle, kuin potilaillekin joiden näytteitä mikrobiologian laboratorio tutkii adeno- ja rotaviruksia osoittavin vieritestein. Mahdollisesti laboratorio haluaisi myös tiedottaa muita Itä-Suomen alueen laboratorioita tutkimuksen tuloksista.

Mikrobiologian laboratorio oli tyytymätön käytössä olevaan rota- ja adenoviruksia ulosteesta osoittavaan vieritestiin, joten laboratoriolle oli erittäin tärkeää tietää olisiko markkinoilla jokin muu parempi vieritesti. Erikoislääkäri oli epäillyt käytössä olevan vieritestin tuloksia ja testiä suorittava henkilökunta oli kokenut testin hieman työlääksi

ja monivaiheiseksi. Vieritestin suorittamisen mielekkyys vaikuttaa varmasti laboratoriohenkilökunnan motivaatioon tehdä testausta, joten testin suorituksen mielekkyydellä voi olla vaikutusta myös tulosten luotettavuuteen. Joten siinäkin mielessä tekemämme testaus oli erittäin hyödyllinen myös potilasnäkökulmaa ajatellen.

Meillä oli korkea motivaatio tehdä hyvä opinnäytetyö ja halusimme panostaa erityisesti testauksen tekemiseen, koska tiesimme että testauksen tuloksista olisi hyötyä laboratoriolle. Testauksen tekeminen oli aika haastavaa, koska meillä ei ollut juurikaan kokemusta vierianalytiikasta. Saimme paljon vastuuta, koska työskentelimme suurimmaksi osaksi kahdestaan, eikä kukaan valvonut työskentelyämme. Testaus oli erittäin mukava suorittaa ja olisimme voineet tehdä rota- ja adenovirusmäärityksiä enemmänkin, jos meillä olisi ollut tarvikkeita. Oli myös mielenkiintoista huomata, että erivalmistajien vieritestit eivät antaneet aivan samoja tuloksia. Sen huomattuaamme tutkimuksen tekeminen tuntui entistä tärkeämmältä.

Mielestämme Diarlex MB oli ominaisuuksiltaan paras vertailuun osallistuvista vieritesteistä. Diarlex MB oli paras sekä käyttökokemuksien että tulosten varmuuden perusteella. Muilla vieritesteillä kaikki määritykset eivät onnistuneet, joten uusintakertoja tulisi enemmän, jotka vievät aikaa ja tuovat lisäkustannuksia laboratoriolle. Meillä oli kuitenkin vähän kokemusta vieritestauksesta, joten on hankala arvioida johtuvatko epäonnistumiset käyttäjästä vai testistä. Teimme kuitenkin määrityksiä työohjeiden mukaisesti. Laboratorio ei ole ainakaan vielä vaihtanut Diarlex MB vieritestiä mihinkään muuhun. Mikäli laboratorio ei vaihtaisikaan Diarlex MB -vieritestiä, koemme että laboratorio sai kuitenkin tarpeellista tietoa muista vieritesteistä. Testauksen tulosten perusteella, Diarlex MB -vieritesti ei ollutkaan niin heikko, mitä laboratorion henkilökunta ajatteli. Aiemmissa tutkimuksissa ei ole todettu merkittäviä eroja eri valmistajien vieritestien herkkyydessä ja spesifitydessä, joten tällä ei ole suurta merkitystä millä vieritestillä laboratorio tekee määritystä. Diarlex MB -vieritesti on myös yleisimmin käytössä oleva testi, jolla osoitetaan adeno- ja rotavirusta, sillä hieman alle puolet laaduntarkkailukierrokselle osallistuvista laboratorista käyttää kyseistä vieritestiä. Vieritestien hinnoissakaan ei ole suurta eroa.

Opinnäytetyöprosessimme on edennyt opinnäytetyöprosessikuvauksen mukaisesti. Olemme suorittaneet kaikki tarvittavat opinnot, osallistuneet erilaisiin informaatiotilaisuuksiin, laatineet aihekuvauksen ja työsuunnitelman sekä osallistuneet seminaareihin ja opponointiin. Olemme laatineet tarpeelliset sopimukset ja luvat. Opinnäytetyön

aiheen saimme työelämästä harjoittelua suorittaessa ja olemme olleet yhteydessä yhteistyökumppaniimme. Opinnäytetyömme eteni aikataulun mukaisesti.

Vierianalytiikka on tällä hetkellä kuuma puheenaihe, joten oli mielenkiintoista ja äärimmäisen hyödyllistä saada tehdä opinnäytetyö tähän aiheeseen liittyen. Asiantuntemus vieritestauksesta ja sen laadunvarmennuksesta ja luvanvaraisuudesta lisääntyi opinnäytetyöprosessin aikana. Perehdyimme myös huolella mikrobiologiaan, ennen kaikkea viruksiin ja tartuntavaarallisiin tauteihin sekä mikrobiologian laboratoriossa käytettäviin määrittämenetelmiin. Koemme, että ammatillista kehittymistä tapahtui niin tiedonmäärän lisääntymisenä, kuten myös itsenäisen työskentelyn osaamisena. Harjaannuimme myös tiedonkeruussa ja asiatyylisen tekstin kirjoittamisessa.

LÄHTEET

Arstila, P. 2005. Adeno- ja koronavirukset. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, S., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 444–445.

bioMérieux 2003. VIKIA® Rota-Adeno. Valmisreagenssipakkauksen käyttöohje.

Bamford, D., Hyypiä, T. & Saksela, K. 2010. Virusten yleiset ominaisuudet, rakenne ja luokittelu. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Mikrobiologia*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 449–459.

Bonsdorff, C. & Vesikari, T. 2005. Gastroenteriittia aiheuttavat virukset. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet Kirja 1*. 1. painoksen (2003) muuttumaton jatkopainos. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 518–528.

Bonsdorff, C., Vesikari, T. & Maunula, L. 2010. Gastroenteriittia aiheuttavat virukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Mikrobiologia*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 591–603.

Gray, J. 2004. Infectious Diseases and Point-of-Care Testing. Teoksessa Price, C., St John, A. & Hicks, J. (toim). Point-of-Care Testing. 2. edition. Washington: AACC Press, 361–374.

Hirsjärvi, S., Remes, P & Sajavaara, P. 2009. *Tutki ja kirjoita*. 15.painos. Helsinki: Tammi.

Hedman, K. & Vainiopää, R. 2005. Virologinen diagnostiikka. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, S., Vaheri, A & Valtonen, V. (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet 2*. 1.painoksen muuttumaton jatkopainos. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 70–71.

Huotari, K. 2006. Rotavirus -yleisin pikkulasten ripulin ja oksentelun syy. *Terveystieteiden aikakauslehti*. 2006 nro 6, 32.

Kairisto, V. 2010. Laboratoriotuloksen tulkinta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.). *Laboratoriolääketiede: Kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus oy, 34–48.

Katila, M-L., Laatikainen, A., Kauppinen, J., Kärkkäinen, U. & Ojanen, T. 2002. Mikrobiologiset pikatestit kliinisessä potilastyössä – haittaa vai hyötyä? *Suomen lääkäri-lehti* 2002 (3), 995–998.

Kuula, A. 2006. *Tutkimusetiikka*. Tampere: Vastapaino.

Kääriäinen, L. 2002. Virukset. Teoksessa Salkinoja-Salonen (toim.). *Mikrobiologian perusteita*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 564.

Lewandrowski, K. 2009. *Clinics in laboratory medicine*. New York: Elsevier.

Liikanen, E. 2004. Hoitohenkilöstö vieritestien käyttäjänä. *Hoitotiede* 2005 (4), 229–238.

Linko, S., Savolainen, E-R., Åkerman, K., Nissinen, A., Ilanne-Parikka, P., Joutsikorhonen, L., Jylhä, A., Lassila, R., Linko-Parviainen, A-M., Linko, L., Meneses, E., Muukkonen, L., Nokelainen, S., Porkkala-Sarataho, E., Puhakainen, E., Siitonen, A & Vuento, R. 2009. Vieritestausta terveydenhuollossa, Labqualityn asiantuntijasuositus 2009, *Moodi* 2009 (6), 278–300.

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*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 475–503.

Meurman, O. 2005. Sairaalainfektioita aiheuttavia viruksia. Teoksessa Kujala, P., Kolho, E., Rantala, A., Ratia, M., Vuento, R. & Hellsten, S. (toim.). *Infektioiden torjunta sairaalassa*. 5.painos. Helsinki: Suomenkuntaliitto, 467.

Meurman, O. 2005. Virologia. Teoksessa Heikkilä, R., Hellsten, S. (toim.), Koukila-Kähkölä, P., Meurman, O., Nummelin, R., Pastila, S., Richardson, M. & Ylönen, H. 2002. *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. 2.painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto 53–67.

Meurman, O., Ruuskanen, O. & Lappalainen, M. 2010. Adeno- ja koronavirukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Mikrobiologia*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 501–506.

Nuorti, P., Lyytikäinen, O. & Ruutu, P. 2011. Tartuntatautien seuranta. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 281–283.

Orion Diagnostica 2007. Diarlex® MB. Valmisreagenssipakkauksen käyttöohje.

Price, C., St John, A., Hicks, J. 2004. Point-of-Care Testing: The Future. Teoksessa Price, C., St John, A. & Hicks, J. (toim). Point-of-Care Testing. 2. edition. Washington: AACC Press, 459–465.

R-Biopharm 2009. RIDA®QUICK. Rotavirus/Adenovirus Combi. Valmisreagenssipakkauksen käyttöohje.

Renko, M. 2009. Ripulivirukset sairaalainfektioiden aiheuttajina lapsilla. Suomen Sairaalahygienialehti 2009 nro 27, 74–77.

Rissanen, Anne-Mari 2011. Erikoislääkäri. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. Kuopio 10.1.2011. Haastattelu.

Ruutu, P., Lyytikäinen, O., Kujala & Vuopio-Varkila, J. 2005. Infektioiden torjuntaa koskevat säädökset sekä viranomais toiminta. Teoksessa Kujala, P., Kolho, E., Rantala, A., Ratia, M., Vuento, R. & Hellsten, S. (toim.). *Infektioiden torjunta sairaalassa*. 5.painos. Helsinki: Suomenkuntaliitto, 673.

Ruutu, P. & Nuorti, P. 2011. Tartuntatautien ehkäisyn ja torjunnan lainsäädäntö. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 271–283.

Ruutu, P. & Nuorti, P. 2011. Tartuntatautien kansainvälinen torjunta. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus oy Duodecim, 286.

Åkerman, K., Jokela, H., Savolainen, K., Parviainen, M., Savolainen, E. & Orpana, A. 2010. Laboratorion perusmenetelmät. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.). *Laboratoriolääketiede: Kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 49–78.

TYÖOHJE

ROTA- JA ADENOVIRUSTEN OSOITTAMINEN ULOSTEESTA (DIARLEX® MB)

Periaate:

DIARLEX MB on immunokromatografinen rota- ja adenovirusten antigeenejä ulosteesta osoittava pikatesti. Testissä tiputetaan 2 tippaa ulostenäytteen laimennosta testikasetin näytealueelle. Jos näytteessä on rotaviruksia, ne muodostavat antigeeni-vasta-aine -komplekseja punaiseen lateksiin sidotun rotavirusvasta-aineen kanssa. Jos näyte sisältää adenoviruksia, ne muodostavat komplekseja siniseen lateksiin sidotun adenovirusvasta-aineen kanssa. Musta kontrolliviiva kertoo testin suorituksen onnistumisesta.

Tarvikkeet:

Kitti sisältää: Testitikut (20 kpl), Testialustat (20 kpl), Puskuriliuos (90 ml), Adenoposiitiivinen kontrolli (0,5 ml), Rotaposiitiivinen kontrolli (0,5 ml). Lisäksi tarvitaan: Koeputkia ulostenäytteen laimentamista varten, kertakäyttöpipettejä, vortex, jäteastia.

Säilytys ja säilyvyys:

Kitti säilytetään 2-30 °C:ssa. Testikasetteja ei saa käyttää pakkaukseen merkityn viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Älä koske tikun membraaniin. Älä käytä pakkausta jonka kontrollit eivät toimi oikein.

Näyte:

Ulostetta puhtaassa astiassa. Suositeltavaa suspensoida ja laimentaa välittömästi. Tarvittaessa laimentamaton näyte säilyy jääkaapissa usean päivän ajan, pakkasessa (-20°C) näyte säilyy useita kuukausia.

Testin aloitus:

Anna testitikasettien lämmetä huoneenlämpöiseksi. Ota pakkauksesta, kun aiot tehdä testin.

Näytteen esikäsittely:

1. Laimenna näyte 1:10 (0.5 ml + 4.5 ml) puskuriliuoksella koeputkessa
2. Vortexoi näyte homogeeniseksi
3. Sentrifugoi suspensiota 10 min 3000 rpm.

4. Ota supernantti talteen. (Käytä näytteenä vain kirkasta supernatanttia)

Testin suoritus:

1. Anna testitikkujen ja näyteliuoksen lämmitä huoneenlämpöiseksi
2. Tartu testitikun värilliseen päähän ja aseta se testiliuskalle painamalla se nuolten väliin.
3. Tiputa 2 x 50µl (2 tippaa) supernatanttia testitikun näytealueelle. Anna ensimmäisen tipan imeytyä, ennen seuraavan tiputtamista.
4. Lue tulos 10 min kuluttua näytteen lisäämisestä.

Tulosten tulkinta:

Tulos voidaan tulkita positiiviseksi heti, kun tulosikkunassa voidaan erottaa kaksi erillistä viivaa, josta toinen on musta kontrolliviiva. Jos tulosikkunaan ei muodostu mustaa kontrolliviivaa 10 minuutin kuluessa näytteen lisäämisestä, tulosta ei voi tulkita ja testi on tehtävä uudelleen. Viivojen värien voimakkuus voi vaihdella.

Rotavirus positiivinen:

Tulosikkunaan ilmestyy punainen viiva yhdessä mustan kontrolliviivan kanssa.

Adenovirus positiivinen:

Tulosikkunaan ilmestyy sininen viiva yhdessä mustan kontrolliviivan kanssa.

Sekainfektio eli adeno- ja rotavirus positiivinen:

Tulosikkunaan ilmestyy samanaikaisesti vahva sininen, vahva punainen, sekä musta viiva.

Negatiivinen tulos:

Tulosikkunaan ilmestyy vain musta kontrolliviiva 10 min kuluessa näytteen lisäämisestä.

Epävarma tulos:

Mikäli tulosikkunassa näkyy heikko viiva adenon tai rotan tai molempien kohdalla, ja musta kontrolliviiva kohdallaan testin tulos on tällöin epävarma. Kyseessä voi olla epäspesifi reaktiivisuus.

Positiivinen kontrolli:

1 tippa adenokontrollia ja 1 tippa rotakontrollia samalle testiliuskalle. Jokainen uusi testipakkaus testataan ennen käyttöä.

Liite 2

TYÖOHJE

ROTA- JA ADENOVIRUSTEN OSOITTAMINEN ULOSTEESTA (RIDA® QUICK ROTAVIRUS/ADENOVIRUS COMBI)

Periaate:

RIDA QUICK on immunokromatografinen rota- ja adenovirusten antigeenejä ulosteesta osoittava pikatesti. Testissä tiputetaan 4 tippaa ulostenäytteen laimennosta testikasetin näytealueelle. Jos näytteessä on rotaviruksia, ne muodostavat antigeeni-vasta-aine -komplekseja punaiseen lateksiin sidotun rotavirusvasta-aineen kanssa. Jos näyte sisältää adenoviruksia, ne muodostavat komplekseja siniseen lateksiin sidotun adenovirusvasta-aineen kanssa. Vihreä kontrolliviiva kertoo testin suorituksen onnistumisesta.

Tarvikkeet:

Kitti sisältää: Testikasetit (20 kpl), Puskuriliuos (26 ml), Pipettejä (25 kpl), Lisäksi tarvitaan: Koeputkia ulostenäytteen laimentamista varten, vortex, jäteastia

Säilytys ja säilyvyys:

Kitti säilytetään 2-30 °C:ssa. Testikasetteja ei saa käyttää pakkaukseen merkityn viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

Näyte:

Ulostetta puhtaassa astiassa. Uloste säilytetään (2-8 o) testin aloitukseen asti. Tarvittaessa laimentamaton näyte säilyy jääkaapissa pari päivää, ja pakkasessa (-20o) näyte säilyy pidempiä aikoja.

Testin aloitus:

Anna testikasettien lämmitä huoneenlämpöisiksi. Ota kasetti pakkauksesta, kun aiot tehdä testin.

Näytteen esikäsittely:

1. Laimenna näyte koeputkessa niin, että 1ml puskuriliuosta ja 100µl näytettä (jos näyte on löysää). 1ml puskuriliuosta ja 50mg näytettä (jos näyte on kovaa). Vortexoi näyte homogeeniseksi.

2. Anna seisoa vähintään 3 minuuttia, kunnes näyte on laskeutunut.

Testin suoritus:

1. Anna testipakkauksen lämmetä huoneenlämpöiseksi
2. Avaa testikasettipakkaus, ja laita kasetti tasaiselle alustalle
3. Pipetoi 200µl tai 4 tippaa supernatanttia testialueelle
4. Lue tulos 5 minuutin kuluttua näytteen lisäämisestä.

Tulkinta:

Tulos voidaan tulkita positiiviseksi heti, kun tulosikkunassa voidaan erottaa kaksi erillistä viivaa, joista toinen on vihreä kontrolliviiva. Jos tulosikkunaan ei muodostu vihreää kontrolliviivaa 5 minuutin kuluessa näytteen lisäämisestä, tulosta ei voi tulkita ja testi on tehtävä uudelleen. 5 minuutin jälkeen tulleita tuloksia huomioida.

Rotavirus positiivinen:

Tulosikkunaan ilmestyy punainen viiva yhdessä vihreän kontrolliviivan kanssa

Adenovirus positiivinen:

Tulosikkunaan ilmestyy sininen viiva yhdessä vihreän kontrolliviivan kanssa.

Sekainfektio eli adeno- ja rotavirus positiivinen:

Tulosikkunaan ilmestyy samanaikaisesti vahva sininen, vahva punainen, sekä vihreä kontrolliviiva.

Negatiivinen tulos:

Tulosikkunaan ilmestyy vain vihreä kontrolliviiva 5 minuutin kuluessa näytteen lisäämisestä.

TYÖOHJE

ROTA- JA ADENOVIRUSTEN OSOITTAMINEN ULOSTEESTA (VIKIA® ROTA-ADENO)

Periaate:

Rota- ja adenovirukset ovat yleisimpiä gastroenteriitin aiheuttajia vauvoilla. Vikia on immunokromatografinen testi, jolla osoitetaan rota- ja adenoviruksia ulosteesta. Testissä tiputetaan 2 tippaa ulostenäytteen laimennosta testikasetin näytekaivoon. Jos näytteessä on rotaviruksia, ne muodostavat antigeeni-vasta-aine -komplekseja siniseen lateksiin sidotun rotavirusvasta-aineen kanssa. Jos näyte sisältää adenoviruksia, ne muodostavat komplekseja punaiseen lateksiin sidotun adenovirusvasta-aineen kanssa. Kontrolliviiva kertoo testin suorituksen onnistumisesta.

Tarvikkeet:

Kitti sisältää: Testikasetit (20 kpl), R2 pushuri (20 kpl), Pipettejä (20 kpl), Lisäksi tarvitaan: Ajastin, pipettejä, jäteastia.

Säilytys ja säilyvyys:

Kitti säilytetään 4-30oC:ssa. Merkitse avaamispäivämäärä pakkaukseen. Testikasetteja ei saa käyttää pakkaukseen merkityn viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Älä käytä sellaista testikasetteja, jossa näkyy sinistä tai punaista tulosalueella jo ennen testin suorittamista. Älä käytä testipakkausta, jonka kontrollit eivät toimi oikein.

Näyte:

Ulostetta puhtaassa astiassa. Näytteen tulisi olla laboratorioissa 6 tunnin sisällä. Näyte säilyy 2-8 oC:ssa. Testi tulisi suorittaa 72 tunnin kuluessa, muuten näyte pakastetaan.

Testin aloitus:

Anna näytteen, testikasettien ja reagenssien lämmitä huoneenlämpöiseksi ennen käyttöä.

Näytteen esikäsittely:

1. Avaa R2 pullo ja laita siihen näytettä joko näytetikulla n.50 mg, jos näyte on kiinteää, tai pipetillä 2 pisaraa, jos näyte on nestemäistä.
2. Sulje korkki ja ravistele/vortexoi homogeeniseksi.

Testin suoritus:

1. Ota kasetti pakkauksesta vasta, kun alat suorittaa testiä. Aseta kasetti puhtaalle ja tasaiselle alustalle.
2. Irrota R2 pullon korkin päässä oleva kärki ja tiputa 2 pisaraa näytekaivoon S. Huom: Anna ensimmäisen tipan imeytyä ennen toisen tipan lisäämistä. Vältä ilmakuplia.
3. Lue tulos 10 minuutin kuluttua näytteen lisäämisestä.

Tulkinta:

Tulos voidaan tulkita positiiviseksi heti, kun tulosikkunassa voidaan erottaa kaksi erillistä viivaa, joista toinen on kontrolliviiva. Jos tulosikkunaan ei muodostu kontrolliviivaa 10 minuutin kuluessa näytteen lisäämisestä, tulosta ei voi tulkita ja testi on tehtävä uudelleen. Älä hyväksy viivoja, jotka ilmestyvät 15 minuutin jälkeen. Viivojen värin voimakkuus voi vaihdella.

Rotavirus positiivinen:

tulosikkunaan ilmestyy sininen viiva yhdessä kontrolliviivan kanssa

Adenovirus positiivinen:

tulosikkunaan ilmestyy punainen viiva yhdessä kontrolliviivan kanssa.

Sekainfektio eli adeno- ja rotavirus positiivinen:

tulosikkunaan ilmestyy samanaikaisesti sininen- ja punainen viiva, sekä kontrolliviiva.

Negatiivinen tulos:

Tulosikkunaan ilmestyy vain kontrolliviiva.

