Mikrobiologinen näytteenotto

Jari Hirvonen
Mikrobiologi
Vaasan keskussairaala
23.02.2010

Miksi mikrobiologisia näytteitä?

- Antaa varmistuksen infektioepäilyihin
- Voidaan saada selville tehoaako aloitettava antibioottihoito
- Tuo tietoa mahdollisista alkavista tai jo puhjenneista epidemioista
  - Tärkeää infektioiden torjuntaa suunniteltaessa
- Paljastaa sairaalahygieenisesti merkittävien resistenttien bakteerien esiintymät

Nielutulehdus

- Yleisimpiä perusterveydenhuollon käyntisyitä
- Esiintyy kaiken ikäisillä
- Kliiniset oireet ovat virusten ja bakteerien aiheuttamissa tulehduksissa hyvin samanlaisia

  -> kliinistä tutkimusta on syytä tukea nieluviljelyllä
- Streptokokkitonsilliittia epäiltäessä haetaan A-, C- ja G-ryhmän β-hemolyyttisiä streptokokkeja

Nielutulehdus

- Muita nielutulehduksen aiheuttajia:
  - *Arcanobacterium haemolyticum*
  - *Neisseria gonorrhoeae* (-GC-Vi, 1506)
  - *Corynebacterium diphtheriae* (-CodiVi, 1254)
- Muita ylähengitystieinfektioiden aiheuttajia, jotka voivat tulla esiin laajassa nieluviljelyssä:
  - *Streptococcus pneumoniae*
  - *Haemophilus influenzae*
  - *Moraxella catarrhalis*
- Nielunäyte tutkitaan potilailta, joilla on kipeä/tulehtunut nielu muttei yskää eikä nuhaa

Ennen näytteenottoa

- Potilaan tulisi välttää:
  - ruokailua
  - juomista
  - suu- ja nielutulehdusten oireiden lievittämiseen tarkoitettuja desinfioivia kurkkutabletteja

    -> saattavat aiheuttaa epäluotettavuutta tutkimukseen
- Suositeltavaa on, että potilas olisi <u>vähintään tunnin juomatta ja syömättä</u> ennen näytteenottoa

Näytteenotto

- ✓ Molemmista tonsilloista
- ✓ ja nielun takaseinästä
- ✓ ja/tai mahdolliselta tulehdusalueelta

- Nielun muiden osien ja suun limakalvojen koskettamista tulisi välttää!

-> viljelynäytteeseen vähemmän suun normaaliflooraa

-> antigeenitestiin ei vääriä positiivisia

Tutkimukset

- Nieluviljely (Ps-StrVi, Ps-BaktVi):
  - herkempi
  - löytää myös C- ja G- ryhmän β-hemolyyttiset streptokokit sekä mahdolliset muut taudinaiheuttajat
  - mahdollistaa jatkotutkimukset
- Antigeenitesti (Ps-StrAAg):
  - halvempi
  - tulos heti (tunnistaa vain A-ryhmän streptokokkia)
  - antigeenitestin positiivinen tulos yleensä luotettava, negatiivinen kontrolloitava viljelyllä!
- Epidemiatilanteessa vain viljely!

Näytteen kuljetus/lähetys

- Viljelynäytettä varten näytetikku laitetaan geelikuljetusputkeen (Transpocult) ja lähetetään viljeltäväksi
  - Geelikuljetusputki säilytetään jääkaapissa, mikäli sitä ei saada lähetettyä viljelevään laboratorioon saman vuorokauden aikana

- Antigeenitestiä varten otetaan näytetikku tyhjään kuljetusputkeen

Virtsatieinfektiot

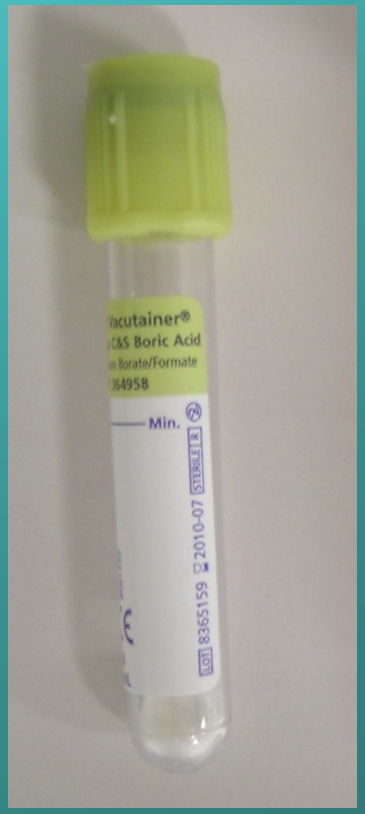
- Ovat hengitystieinfektioiden jälkeen yleisimpiä infektioita avohoidossa
- Infektio voi olla rakkotasolla (uretriitti, kystiitti) tai munuaistasolla (pyelonefriitti)
  - syntyy kun suolesta, emättimestä tai välilihan alueelta peräisin olevia bakteereita nousee virtsaputkea pitkin rakkoon
- Oireeton bakteriuria on yleinen iäkkäämmillä naisilla
  - nuorilla ja keski-ikäisillä miehillä VTI harvinainen
- Avohoidossa aiheuttajina pääasiassa *Escherichia coli* (hallitseva), *Klebsiella* ja *Proteus* -lajit sekä *Staphylococcus saprophyticus* (nuoret naiset)
- Sairaalaperäisten VTI:n taustalla edellä mainittujen lisäksi myös enterokokit, *Pseudomonas aeruginosa*, B-ryhmän streptokokki ja *Enterobacter cloacae*

Virtsanäytteenotto (U-BaktVi)

- Keskisuihkuvirtsa
  - Näyte otetaan mieluiten yön paaston jälkeen aamuvirtsasta
  - Mikäli tämä ei ole mahdollista tulisi potilaan olla virtsaamatta vähintään 4 tuntia. Jos aika on lyhyempi, se on mainittava lähetteessä!
    - Aikatiedolla on merkitystä näytteen tutkimisessa ja tuloksen tulkinnassa
  - Oikein tehty alapesu on tärkeä, jotta genitaalialueen normaalifloora ei kontaminoisi virtsanäytettä

Virtsanäytteenotto

- Lähetetiedoissa mainittava:
  - Kliiniset oireet!!
    - käypähoidon mukaan näytteitä otetaan vain kliinisesti oireilevista potilaista
  - Rakkoaika
  - Näytteenottotapa
  - Käytössä olevat antibiootit



Virtsanäytteenotto

- Keskisuihkuvirtsa lapselta
  - Jos lapsi hallitsee tahdonalaisen virtsaamisen voidaan melko hyvä keskivirtsanäyte ottaa laittamalla pieni näytekuppi potan etuosaan; näyte osuu kuppiin vasta virtsasuihkun voimistuessa

Virtsanäytteenotto

- Pussivirtsa / keräysvaippa
  - Näytepussi valitaan lapsen koon mukaan ja asetetaan tiiviisti virtsaputken suulle niin, että pussin reikä tulee tytöillä virtsaputken suun kohdalle ja pojilla siitin laitetaan pussin reiästä sisään.
  - Jos lapsi ei ole virtsannut tunnin kuluessa, pussi poistetaan ja alapesu tehdään uudelleen. Tämän jälkeen voidaan laittaa uusi pussi.
  - Lasta ei saa juottaa virtsanäytteen saamiseksi, koska virtsa laimenee!

Virtsanäytteenotto

- Pussivirtsa / keräysvaippa
  - Keräysvaippaan asennettava ”tyyny” annetaan olla pakoillaan valmistajan ohjeen mukaan ~30 minuuttia
  - Virtaamisen jälkeen näyte imetään tyynystä riittävän isolla ruiskulla ja ruiskutetaan virtsanäytteen kuljetusputkeen

Virtsanäytteenotto

- Rakkopunktio (Pu-BaktVi1 ja U-BaktVi)
  - punktoitu virtsanäyte ruiskutetaan anaerobiseen/aerobiseen veriviljelypulloon (0,1 – 5 ml)
  - sekä laitetaan pieni määrä steriiliin kuljetusputkeen

- Katetrinäyte
  - Kerta- tai toistokatetrista näyte lasketaan katetrin läpi alkusuihkun jälkeen näyteastiaan
  - Kestokatetreissa virtsan virtaus suljetaan 3 - 4 tunniksi, mikäli potilaan tila sen sallii
    - katetrin pinta puhdistetaan desinfektioaineella punktiota varten
    - näyte otetaan sulkemiskohdan yläpuolelta ruiskulla ja neulalla

Maha-suolikanavan infektiot

- Aiheuttajina tietyt bakteerit, virukset tai parasiitit
- **Bakteeriripuleissa** yleisimpinä taudinaiheuttajina:
  - Salmonellat
  - Shigellat
  - Kampylobakteerit
  - Yersiniat
- Haetaan **F-BaktVi1** -pyynnöllä

- Ensisijaisena hoitona nestetasapainon korjaus ja ylläpito
- Pidemmän itämisajan jälkeen (keskimäärin 1 – 14 vrk.) kehittyvä ripuli ja mahaoireilu on yleensä seurausta mikrobien lisääntymisestä mahasuolikanavassa (bakteeriripulit)

Maha-suolikanavan infektiot

- **Bakteeriperäisissä ruokamyrkytystapauksissa** F-BakVi3
  - Etsitään yleisimpien suolistopatogeenien lisäksi toksiineja tuottavia bakteerikantoja:
  - *Bacillus cereus*
  - *Clostridium perfringens*
  - *Staphylococcus aureus*
- Ulostepurkki x 2 ja bakteerikuljetustikku
- Jos taas epäillään antibioottikuurin jälkeisten suolistoinfektioiden (ripuli, pseudomembranoottinen koliitti) aiheuttajaa, otetaan ulostenäyte **F –CldiVTx** (8624) pyynnöllä
- Tällöin etsitään *Clostridium difficile*ä ja erityisesti toksiinia tuottavia kantoja

Maha-suolikanavan infektiot

- **Virusripuleissa** / oksennustaudeissa yleisimmät taudinaiheuttajat:
  - Norovirukset (F –NoroNhO, 4940) laitosepidemioissa ensisijainen tutkimus
  - Rotavirukset (F –RotaAg, 2594)
  - Adenovirukset (F –AdenAg, 1011)
- Nopeasti (keskimäärin <12 h) alkava mahaoireilu ja oksentelu
- Käytetään erityisesti laitosepidemioiden ja vesi- tai ruokaperäisten epidemioiden selvittämiseksi
- **Epidemiatilanteessa olisi hyvä saada näyte useammasta potilaasta (3-10 potilasta)**
- Ensisijaisena hoitona nestetasapainon korjaus ja ylläpito

Ulostenäytteenotto

- Näytteeksi tulisi ottaa tuoretta ulostetta näytetikulla geelikuljetusputkeen sekä kierrekorkilliseen kuljetuspurkkiin
- Sopiva näytemäärä geeliputkeen on noin tikun pään kokoinen nokare
- **Mikäli epäillään turistiripulia** ja ulosteessa on pinnalla **verilimaa** tulisi erityisesti tätä ottaa **näytteeksi** (F –EHEC, 4103)
- Tartuntavaaran välttämiseksi kuljetusputket tai näytepurkit on suljettava huolellisesti
- Kuljetusputkeen laitettavaa näytetikkua ei saa katkaista
- Ulostenäyte tulisi lähettää viljelevään laboratorioon vuorokauden kuluessa

-> ulostenäytteessä olevat bakteerit säilyvät viljelykelpoisina ja määräsuhteiltaan alkuperäistä näytettä vastaavina

Ulostenäytteenotto

- Lähetetiedot!
  - Kliiniset oireet
  - Matka-anamneesi
  - Mahdollinen kontakti
  - Epidemiaselvitys

Mikrobiologinen märkänäytteenotto

- Haavainfektioista ja syvistä infektiopesäkkeistä on aina otettava syvämärkänäyte (Pu-BaktVi1, 3491)
  - Leikkaushaavat
  - Traumaattiset haavat
  - Krooniset haavat
  - Abskessit
  - Ym.
- Tärkeää näytteen edustavuus
- Vältettävä näytteen kontaminoitumista ihon tai limakalvon normaaliflooralla
- Näytteenottokohta puhdistettava irtoeritteistä ennen näytteenottoa
  - Näyte riittävän syvältä terveen ja sairaan kudoksen rajapinnalta
  - Näyte mielellään ennen lääkehoidon aloittamista

Syvä märkänäytteenotto

- Aseptinen näytteenottotekniikka
  - Haava puhdistetaan mekaanisesti, jos kuollutta kudosta
  - Haava huuhdellaan keittosuolaliuoksella pinnallisten eritteiden poistamiseksi
  - Mitä aseptisemmin otettu näyte, sitä luotettavampi vastaus
  - Näyte otetaan puhdistetun haavan pohjalta kudospalana rengasveitsellä (kyretti), kauhalla tai tikkunäyte
    - bakteerikuljetusputkeen otettu tikkunäyte on usein laadultaan huonompi kuin kyretillä tai kauhalla otettu näyte
    - tikkuun on pyrittävä saamaan <u>runsaasti</u> eritettä <u>syvältä</u> haavasta
    - tikkunäytteestä ei saada gramvärjäystä

Syvä märkänäytteenotto

- Aseptinen näytteenottotekniikka
  - Jos kyseessä on yleisoireinen haavainfektio tai selluliitti, on suositeltavaa ottaa kahdet tai kolmet veriviljely-näytteet (B –BaktVi, 1153) ennen antibioottihoidon aloitusta
  - Jos haava-alueella on abskessi, näyte otetaan punktoimalla
    - punktaatti ruiskutetaan Portagerm®:iin
    - näin otetuista näytteistä voidaan tehdä myös gramvärjäys

Lähetetiedot!

- Mikrobiologista näytettä tulee seurata aina sähköinen tai paperinen lähete
- Lähetekysymyksiin vastataan huolellisesti
  - Mitä hankalampi tilanne kliinisesti, sitä ongelmallisempi tilanne myös laboratoriossa
  - Kerro kaikki tärkeät tiedot lähetteessä!
  - Mitä parempi lähete, sitä parempi vastaus
- <u>Millä anatomisella alueella näytteenottoalue sijaitsee?</u>
- <u>Tulehduksen paikalliset merkit haavassa?</u>
  - Punoitus, kuumotus, turvotus, kipu, märkiminen
- <u>Miten näyte on otettu?</u>

Mikrobiologinen näytteenotto seurattaessa resistenttejä mikrobeja

- Resistenttien bakteerien (MRSA, VRE, ESBL, moni-resistentit akinetobakteerit ja pseudomonakset) kolonisaation seuraamiseksi näyte otetaan vanutikulla puhdistamattomasta haavasta
  - tilataan –MRSAVi (4358), -VREVi (1788) tai -ESBLVi (4817)
  - tai pintamärkäviljely Pu-BaktVi2 (3492), jonka lähetetiedoissa mainitaan, mitä resistenttejä mikrobeja halutaan etsittävän
  - tikkunäyte bakteerikuljetusputkeen on tässä indikaatiossa hyvä näytteenottomenetelmä
  - tikkuun on pyrittävä saamaan runsaasti eritettä haavan eri osista
- Jos potilaalla on infektio-oireita, on otettava myös Pu-BaktVi1 (3491) haavan puhdistamisen jälkeen

Näytteenottovälineet

- Kyretti

- Näytteenottotikku
  - Puuvillapäiset vanutikut sopivat bakteeri- ja hiivanäytteiden ottoon
  - Pikatesteihin ja geenimonistusmenetelmällä tutkittaviin näytteisiin steriili, yksittäispakattu keinokuitu vanutikku
- Geelikuljetusputki
  - Käytetään suojaamaan mikrobiologista näytettä kuljetuksen ajaksi

Näytteenottovälineet

- Ruisku + neula

- Kuljetusampullit (Portagerm®)
  - Käytetään nestemäisten, punktoimalla otettujen näytteiden kuljettamiseen
  - Pullojen pohjalla agar + indikaattori

- Kierrekorkilliset muovipurkit ja –putket
  - Tehdaspuhtaat sopivat nestemäisten ei steriilien näytteiden (virtsa, yskös ja uloste) kuljettamiseen
  - Steriilit putket kudospaloille

Sieninäytteet

http://www.kaypahoito.fi/xmedia/extra/hoi/hoi13050.pdf

Veriviljelynäytteet

- Sepsiksen tai muun vakavan infektion epäily (mm. meningiitti, endokardiitti, bakteeripneumonia, pyeonefriitti, bakteerienteriitti, myosiitti/faskiitti/selluliitti/erysipelas, purulentti artriitti)
- Epäselvän kuumeilun etiologian selvittäminen
- Immunosuppressiopotilaiden epäselvät infektiot
- Pullot:
  - Aikuisten näytteenotossa käytetään pulloparia, joka muodostuu aerobi(vihreä-)- ja anaerobi(violettikorkkisista)veriviljelypulloista
  - Pikkulasten näytteet otetaan erityiseen lastenpulloon (Pediatric), jossa on keltainen korkki
  - Isommille lapsille voidaan käyttää lastenpulloa yhdessä anaerobisen pullon kanssa

Veriviljelynäytteenotto

- Veriviljelynäytteenotto tapahtuu suljetulla vakuumitekniikalla käyttäen joko tavallista vakuuminäytteenottoneulaa tai siipineulaa
- Näytteet voidaan ottaa myös ruiskulla
- Ennen näytteenottoa pullot säilytetään huoneenlämmössä valolta suojattuina
- Ennen pullon käyttöönottoa tulee tarkistaa, ettei pullon pohjan väri ole muuttunut (po. vihertävänharmaa)
- Veriviljely tulee aina ottaa ennen antibioottihoidon aloitusta
- Veriviljely suositellaan otettavaksi alueelta, josta ei ole aikaisemmin otettu verinäytteitä
  - Muut laboratoriokokeet otetaan veriviljelyn jälkeen
- On suositeltavaa, että veriviljely otetaan vähintään kahdesti suoralla venapunktiolla

Veriviljelynäytteenotto

1. Desinfioi kädet alkoholihuuhteella
2. Etsi näytteenottokohta, käytä tarvittaessa puristussidettä
   - Kevennä puristussidettä suonen löytymisen jälkeen
3. Puhdista näytteenottokohdan iho napakoin yhdensuuntaisin vedoin usealla erillisellä denaturoituun alkoholiin kostutetulla kuitutaitoksella
   - Jätä alkoholiin kostutettu kuitutaitos pistokohdalle 2-3 minuutiksi (siksi aikaa kun teet muut valmistelut) desinfektion tehostamiseksi
   - HUOM! Jos näytteenottokohta on likainen (eritettä tai muuta likaa), se tulee ensin pestä vedellä ja saippualla, koska alkoholi ei pese likaa pois!

Veriviljelynäytteenotto

4. Poista veriviljelypulloista korkinsuojukset ja desinfioi korkkien kumiosat pyyhkimällä yhdellä denaturoituun alkoholiin kostutetulla kuitutaitoksella
   - Jätä toinen alkoholiin kostutettu kuitutaitos korkkien päälle, kunnes veri lisätään pulloihin
   - Desinfioi samalla tavalla näytteenotto-ohjaimen kärki ulkopuolelta
   - Aseta vakuumineula tai siipineula ohjaimeen
5. Ota alkoholitaitokset pois pistoskohdan päältä ja anna ihon kuivahtaa ennen näytteenottoa
   - Älä kosketa pistokohtaa desinfektion jälkeen tehdaspuhtailla käsineillä
   - Jos puhdistettua näytteenottokohtaa joudutaan vielä koskettelemaan, se täytyy suorittaa steriileillä suojakäsineillä

Veriviljelynäytteenotto

6. Ota laskimoverinäytteet aikuiselta kahteen vakuumipulloon, ensin aerobi- ja sitten anaerobipulloon
   - Näytettä suositellaan otettavaksi 8-10 ml/pullo
   - Lapsilta näytettä suositellaan otettavaksi 1-4 ml lapsen painosta riippuen (vastasyntyneiltä 1ml) yhteen aerobipulloon (Bact/ALERT PF)
   - Vakuumia ei oteta loppuun!
7. Molemmat veriviljelypulloparit otetaan samalla näytteenottokerralla
   - Näytteet eri pullopareihin otetaan eri pistolla ja mieluimmin eri suonista

Veriviljelynäytteenotto

8. Otettaessa näytteet ruiskulla ihon ja pullojen puhdistuksessa noudatetaan samoja menettelytapoja kuin suoraan pulloon otettaessa
   - Näytettä imetään ruiskuun 20 ml
   - Vaihdetaan uusi steriili neula
   - Ruiskua pidetään pystyasennossa niin, että ilma menee ruiskun mäntäpäähän, ja ruiskutetaan 10 ml verta kumpaankin pulloon
   - Täytetään ensin anaerobipullo ja sen jälkeen aerobipullo, ettei anaerobipulloon pääse vahingossa ilmaa
   - Mikäli näytettä saadaan alle 5 ml, se laitetaan kaikki aerobipulloon

Veriviljelynäytteenotto

9. Näytteenoton jälkeen pulloja käännellään muutaman kerran, ja ne toimitetaan viipymättä laboratorioon

- HUOM! Mikäli näytteenotossa on ollut vaikeuksia niin, että pullo on mahdollisesti kontaminoitunut ihon bakteereilla, tieto merkitään pulloon
- Aikuispotilaalta otetaan kaksi tai kolme näytettä ja isommilta lapsilta kaksi näytettä noin 15-30 minuutin välein
  - Kiireellisissä tapauksissa samalla näytteenottokerralla voidaan ottaa näytteet molemmista käsivarsista
  - Endokardiittiepäilyssä (epäilystä merkintä tutkimuspyyntöön) tai aikaisemmin aloitetun antibioottihoidon aikana suositellaan otettavaksi ainakin 4-6 veriviljelypulloparia
- Jos kuumeilu (bakteremia) on ajoittaista, tulisi näytteet ottaa kuumeen nousuvaiheessa
  - Jos potilas saa antibioottilääkitystä, näyte otetaan juuri ennen uutta annosta, jolloin lääkkeen pitoisuus veressä on mahdollisimman pieni