

Anja Siitonen • Sakari Jokiranta • Markku Kuusi
Maija Lappalainen • Leena Maunula • Merja Roivainen



Ruokamyrkytysepidemia selvittäminen

potilasnäytteiden mikrobiologiset
tutkimukset

**Anja Siitonen, Sakari Jokiranta, Markku Kuusi, Maija Lappalainen,
Leena Maunula, Merja Roivainen**

Toimenpideohje

**Ruokamyrkytys epidemian selvittäminen –
potilasnäytteiden mikrobiologiset
tutkimukset**



Kansanterveyslaitos
Folkhälsöinstitutet
National Public Health Institute

Kansanterveyslaitoksen ohjeita ja suosituksia

C 1 / 2008

Anja Siitonen, Sakari Jokiranta, Markku Kuusi, Maija Lappalainen, Leena Maunula, Merja Roivainen

ISSN 1238-5875

1. Säädöspohja

Sosiaali- ja terveysministeriö (STM) on antanut asetuksen (251/2007) *elintarvikkeiden tai talousveden välityksellä leviävien ruokamyrkytys epidemioiden selvittämisestä*. Asetus tuli voimaan 15.3.2007. Asetuksen mukaan *kunnan terveydensuojeluviranomaisen on yhdessä tartuntatautien vastustamisesta kunnan alueella vastaavan viranomaisen kanssa sovittava ruokamyrkytys epidemioiden selvitystyön järjestämisestä. Kunnan terveydensuojeluviranomaisen tulee nimetä ruokamyrkytys epidemioiden selvittämistä varten työryhmä. Ruokamyrkytys epidemian selvittämiseksi on tehtävä sairastuneisiin henkilöihin kohdistuvia laboratoriotutkimuksia, epidemian aiheuttajaksi epäiltyjen elintarvikkeiden tai talousveden tutkimuksia. Vastuu ihmisistä tai talousvedestä eritettyjen epidemian aiheuttajien tarkemmasta tutkimuksesta, tyyppityksestä ja seurannasta on Kansanterveyslaitoksella.*

Kansanterveyslaitoksessa (KTL:ssä) epidemian aiheuttajien tarkemmasta tutkimuksesta ja tyyppityksestä vastaa bakteerien osalta bakteeri- ja tulehdustautien osaston suolistobakteerilaboratorio (BATO/SUBA) ja virusten osalta virustautien ja immunologian osaston enteroviruslaboratorio (VIMO/ENVI).

2. Yleiset periaatteet

Tämä toimenpideohje käsittelee vain ihmisistä otettavia näytteitä ja niistä sekä todetuista taudinaiheuttajista tehtäviä tutkimuksia. [Vesiepidemioita](#)

(www.ktl.fi/portal/suomi/tietoa_terveydesta/elinymparisto/vesi/vesiepidemiat) on käsitelty erikseen ja vesinäytteiden otosta ja vesimikrobiologisista analyyseistä epidemiatilanteissa löytyy lisätietoa KTL:n ympäristöterveydenosaston (YTOSn) palvelusivuilta: [mikrobiologiset tutkimukset vesiepidemianäytteistä](#)

(www.ktl.fi/portal/suomi/osastot/ytos/palvelut/vesimikrobiologinen_analytiikka/). Elintarvikkeista, elintarvikehuoneistojen tuotantoympäristöistä ja alkutuotantopaikoista eristettyjen epidemian aiheuttajien osalta vastuu on [Elintarviketurvallisuusvirasto Eviralla](#) (www.evira.fi).

Kuntaan nimetyn ruokamyrkytys epidemioiden selvitystyöryhmän tulee huolehtia siitä, että epidemian selvittämiseksi vaadittavat epidemiologiset ja laboratoriotutkimukset suoritetaan.

Sairaanhoitopiiriä palveleva yliopisto- tai keskussairaalan kliinisen mikrobiologian laboratorio tekee yleensä ruokamyrkytys epidemioissa otettavien potilasnäytteiden primaaritutkimukset. Jos se ei tee kaikkia tutkimuksia, se koordinoi niiden lähettämisen eteenpäin.

Valtakunnan tasolla potilasnäytteiden ottoa ja ottamisen laajuutta koordinoi KTL:n infektioepidemiologian osaston tartuntatautiyksikkö (INFE/TARTU) ja näytetutkimuksia BATO/SUBA. SUBA toimii myös bakteeritutkimusten tuki- ja referenssilaboratoriona ja ENVI virustyyppitysten refe

rensilaboratoriona. HUSLABin virologian osasto ja parasitologian yksikkö toimivat ao. mikrobi- en tukilaboratorioina.

3. Tutkimustarpeiden kartoitus

Ruokamyrkytys ilmenee tavallisimmin ripuli- ja oksennustautina. Useimmiten mikrobiologiset tutkimukset tehdään ulostenäytteistä. Eräissä tapauksissa voi kysymykseen tulla myös oksennus- ja seeruminäytteiden tutkiminen.

Epidemiatilanteessa tutkimustarpeet kartoitetaan ja tutkimuspyynnöt tehdään kunnan epidemiaselvitystyöryhmän aloitteesta. Ensivaiheessa tutkimuspyyntö voi sisältää vain ruokamyrkytysepidemioiden selvittämistä varten suunnatun bakteriologisen viljelytutkimuksen (**F-BaktVi3- eli Ulosteviljely 3 -tutkimuspaketti**) ellei oireiden tai muun syyn perusteella ole jo alkuvaiheessa syytä epäillä, että potilaiden oireet ovat johtuneet muista mikrobeista, kuin bakteereista. Tällöin tutkimuspyyntönä on heti myös virustutkimus (**F-VirEpid**) ja/tai parasiittitutkimus sisältäen kvalitatiivisen parasiittitutkimuksen ja spesifisen *Cryptosporidium* -värjäyksen (**F-Para-O ja F-CrypVr**) (kts. jäljempänä). Tavallisesti F-BaktVi3-tutkimuspakettia laajennetaan tarvittaessa vasta myöhemmin virus- ja parasiittitutkimuksilla. Vaiheittain edeten tutkimukset voidaan mitoittaa järkevästi ja mahdollisimman pienin kustannuksin. Tutkimukset ovat kliinisen mikrobiologian laboratorioissa maksullisia palvelututkimuksia. Epidemiaselvitysten ulostenäytetutkimuksille on useissa kliinisen mikrobiologian laboratorioissa pakettihinta, johon kuuluu enintään viidestä potilaasta otettujen näytteiden bakteeri-, virus- tai parasiittitutkimukset. Viiden näytteen yhteishinta on edullisempi, kuin jos jokainen näyte laskutettaisiin erikseen ei-epidemianäytteenä.

4. Ulostenäytteiden kerääminen ja lähettäminen

Näytteet kerätään mahdollisimman pian oireiden alkamisen jälkeen. Epidemiaselvityksissä pyritään saamaan ulostenäyte 5 -10 henkilöltä, mieluiten oireilevilta. Tarkoitus on, että näiden **näytteiden joukosta valitaan bakteeri- ja/tai virus- ja/tai parasiittitutkimuksia varten 5** (minimissään 3) **edustavinta ripuliulostetta** (astianmyötäistä näytettä). Ulostetta tulee olla sekä näytepurkissa että kuljetusputkessa (bakteereita varten Transpocult tai vastaava, parasiitteja varten yleensä formaliinipurkki).

Bakteerinäytteiden huonon säilyvyyden takia ne pyritään toimittamaan mahdollisimman pian siihen laboratorioon, jonka kanssa epidemiaselvitystutkimuksista on sovittu ja jolla on lääninhallituksen myöntämä toimilupa kyseisten tutkimusten suorittamiseen. Tavallisimmin kyseessä on lähimmän keskussairaalan tai yliopistosairaalan kliinisen mikrobiologian laboratorio. Useimmilla näistä laboratorioista on valmius kaikkien ruokamyrkytysbakteerien primaaritutkimuksiin ja osalla myös eräiden suolistovirusten ja -parasiittien osoittamiseen. On huomattava, että myös parasiitti

näytteet ovat erittäin huonosti säilyviä näytteitä ennen kuin niihin on lisätty formaliinia (kts. jäljempänä).

Epidemiaselvitysnäytteiden lähettämisestä on välttämätöntä ilmoittaa laboratoriolle etukäteen, jotta se ehtii varautua tarvittavien elatusaineiden ja reagenssien hankintaan. Ilmoitus on tärkeä myös siksi, että laboratorio tietää säilöä mahdolliset merkitsevät löydökset epidemiologisia jatkotutkimuksia varten. Laboratorion tulee huolehtia näytteiden mahdollisesta jakamisesta ja säilyttämisestä siten, että virus- ja parasiittitutkimukset on mahdollista suorittaa tarvittaessa myöhemmin. Edellytyksenä näytteiden säilytykselle on, että epidemiaa konsultoiva infektio lääkäri tai mikrobiologi ilmoittaa mahdollisimman varhain näytteiden säilytystarpeesta laboratoriossa tutkimuksista vastaavalle henkilölle.

Keskuslaboratorion, joka lähettää näytteen muualle primaaritutkimuksiin, tulisi laittaa läheteeseen epidemiapaikkakunnan/-laitoksen nimi yhteystietoineen nopeita tartunnantorjuntatoimenpiteitä ja yhteydenottoja varten.

Laki vaarallisten aineiden kuljetuksesta (VAK) on muuttunut. Uudet määräykset astuivat voimaan 1.7.2007. Jos epidemianäytteitä lähetetään postitse, on noudatettava Itella Oyj:n antamia ohjeita (www.itella.fi/hinnatja_ohjeet/lahettaminen/pakkaamisohjeet.html).

5. Näytteiden tutkimuspaketit

5.1 Bakteritutkimukset

(F-BaktVi3 -tutkimus; KL nro 3584)

Jos ulostenäytteitä on kerätty useammalta, kuin viideltä potilaalta, valitaan niiden joukosta **5 (vähintään 3)** edustavinta (ripulisinta) näytettä bakteritutkimuksia varten. Näistä näytteistä tehdään Ulosteviljely 3 -tutkimuspaketti (F-BaktVi3). Epidemian selvitystyöryhmä (tai tutkiva laboratorio) voi kyseiseen epidemiaan liittyvien tarkempien tietojensa perusteella supistaa tai laajentaa tutkimuspakettia. Normaalisti tutkimus sisältää ensi vaiheessa seuraavien bakteereiden viljelyt:

- Salmonellat
- Shigellat
- Kampsylobakteerit (*Campylobacter jejuni/coli*)
- Yersiniat (*Y. enterocolitica* ja *Y. pseudotuberculosis*)
- *Staphylococcus aureus*
- *Bacillus cereus* ja muut basillukset
- *Clostridium perfringens*

Harkinnan ja sairastuneiden henkilöiden kliinisten oireiden tai esitietojen perusteella em. tutkimusta voidaan täydentää jollakin seuraavista määrityksistä:

- Norovirus (kalikivirus) (katso tarkemmin kohta 5.3.)
- EHEC* (enterohemorragiset *E. coli* -bakteerit sisältäen sekä O157- että non-O157 seroryhmät)
- EPEC* (enteropatoogeeniset *E. coli* -bakteerit)
- ETEC* (enterotoksigeeniset *E. coli* -bakteerit)
- EIEC* (enteroinvasiiviset *E. coli* -bakteerit)
- EAEC* (enteroaggregatiiviset *E. coli* -bakteerit)
- Vibriot (*V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* ja *V. alginolyticus*)

* Ulostenäytteen primaariviljelyn nonselektiinen malja kannattaa säilyttää mahdollisesti myöhemmin tehtäviä PCR-määrittämiä varten.

Aeromas- ja *Plesiomonas*-bakteerit löytyvät yleensä F-BaktVi3-tiljelyssä, jos niitä on näytteessä runsaasti. Niiden, samoin kuin eräiden muiden ulosteen normaaliin mikrobistoon kuuluvien bakteerien (esim. *C. perfringens*, *S. aureus*), merkitystä ruokamyrkytys-epidemian aiheuttajana voidaan arvioida referenssilaboratoriossa suoritettavien lisätutkimusten perusteella.

5.2 Virustutkimukset

(F-VirEpid KL 8576)

- Norovirus
- Adenovirus
- Rotavirus
- Astrovirus

Tutkimuksessa ei ole aina tarpeen tutkia kaikkia em. viruksia; tarpeen arvioi epidemianäytteet tutkiva laboratorio.

Epidemiatilanteessa on tärkeää saada mahdollisimman tuoret ripulivaiheen ulostenäytteet useammasta potilaasta. Valituista 5 (vähintään 3) ripuliulosteesta säilytetään jäljelle jäänyt näyte mieluiten jääkaapissa (+4°C) tai tarvittaessa pakastettuna (-20°C) alkuperäisessä näyteastiassa mahdollisia virustutkimuksia varten. **Oireiden lakkaamisen jälkeen viruksia erittyy ulosteeseen noin viikon, jolloin näytteiden kerääminen virustutkimuksiin on vielä tällöin mahdollista.**

Jos jo epidemian alkuvaiheessa on ilmeistä, että kyseessä on viruksen aiheuttama epidemia, kerätyt näytteet tulee lähettää mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen yhtenä lähetyksenä postitse epidemiologiseen virustutkimukseen. Virustutkimusten tukilaboratoriona toimii HUSLABin virologian laboratorio.

Näyte (>1 cm³) otetaan sellaisenaan tiiviiseen, kierrekorkilliseen purkkiin, joka pakataan omaan salpapussiinsa (esim. Minigrip). Näytteet voidaan säilyttää jääkaapissa lyhytaikaisesti (1-3 vrk).

Mikäli näytteiden lähetys poikkeuksellisesti viivästyy > 3 vrk, on ne säilytettävä ja lähetettävä pakastettuna.

F-VirEpid -paketin tutkimusmenetelmät ovat immunokromatografia (adeno- ja rotavirusten anti-geenin toteamiseksi), geenimonistus (näytteistä eristetään RNA ja suoritetaan noro- ja tarpeen mukaan astrovirusten RT-PCR-tutkimukset) ja elektronimikroskopia. HUSLABin virologian osaston laboratorio arvioi eri määritysten tarpeen tyhjentävän vastauksen antamiseksi ja laajoissa epidemioissa arvioi myös sen, mikä on epidemian selvittelyn kannalta riittävä määrä tutkittavia näytteitä.

Tutkimuspaketin hinnalla voidaan lähettää 5 näytettä, joiden tulee saapua tutkittavaksi samanlaisesti. (Ks. näytteen otto-ohjeet yllä). Suuremmissa näytemäärissä hinta peritään aina alkavalta viideltä näytteeltä.

5.3 Parasiittitutkimukset

(F-Para-O; KL nro 2455 ja F-CrypVr; KL nro 3444)

Valituista **5 (vähintään 3) ripuliulosteesta** otetaan mahdollisimman pikaisesti osanäyte, joka siirretään heti formaliinia sisältävään näyteastiaan mahdollisesti myöhemmin tehtävää parasitologista tutkimusta varten. Sekoitussuhteet ovat: nestemäistä ulostetta 1 osa + 2-3 osaa 10 % formaliinia (noin 4 % formaldehydiä) tai kiinteämpää ulostetta 1 osa + 3-5 osaa 10 % formaliinia. Formaliiniin hyvin vellitetyt näytteet säilytetään jääkaapissa. Ne eivät saa jäätyä. Parasitologian asiantuntijan harkinnan mukaan saattaa olla tarve säilöä osa alkuperäistä kiinnittämätöntä näytettä myös PVA (polyvinyylialkoholi) -fiksatiiviin. Jos näytettä ei pystytä kiinnittämään formaliinilla, voidaan tuoreesta tai pakastetusta kiinnittämättömästä näytteestä tehdä tarvittaessa antigeeninosoitustestejä *Giardia*, *Cryptosporidium parvum* ja *Entamoeba histolytica* toteamiseksi (tutkimuspyyntöinä F-GiCrAg, F-EHistAg).

F-Para-O -tutkimuspyynnöllä tutkitaan formaliininäytteestä seuraavat parasiitit:

- *Giardia lamblia*, kystat
- *Entamoeba histolytica*, kystat

F-CrypVr -tutkimuspyynnöllä tutkitaan natiiviulosteesta seuraavat parasiitit:

- *Cryptosporidium* spp.
- *Cyclospora cayatanensis*

Parasiittitutkimusten tukilaboratoriona toimii HUSLABin parasitologian yksikkö. Myös eräiden muiden yliopistosairaaloiden kliinisen mikrobiologian laboratorioilla on valmiudet kyseisten parasiittitutkimusten suorittamiseen. Näytteiden säilömiseen toisinaan tarvittavia PVA-putkia on saatavissa ameeba-värjäystä (F-AmebVr; KL nro 4088) suorittavista laboratorioista.

6. Ulostenäytteiden ja merkitsevien bakteeriviljelmien säilytys

Ulostenäytteet säilytetään virus- ja parasiittitutkimuksia varten kuten edellä on esitetty. Näytteet, joista on tehty F-BaktVi3 -tutkimus säilytetään jääkaapissa, kunnes viljelytulokset ovat valmiit.

Tutkimuksissa eristetyt, ruokamyrkytyksen mahdolliset aiheuttaneet bakteerit on otettava talteen epidemian selvittämiseksi tarvittavia jatkotutkimuksia varten. Jos merkitseväksi arveltu bakteerilöydös voi olla osa suoliston normaalia mikrobistoa (kuten esim. *C. perfringens* ja *S. aureus*), eristetään viljelmästä useampia ao. bakteerin pesäkkeitä puhdasviljelmiksi (noin 10 isolaattia/epidemia). Isolaatit säilytetään laboratoriossa mieluiten pakastettuina tai lähetetään mahdollisimman pian referenssilaboratorioon (SUBA) jatkotutkimuksia varten. Näytteet ja eristetyt bakteerikannat saa hävittää vasta, kun kaikki epidemiaan liittyvät tutkimukset on saatu päätökseen ja on varmistettu, että lisätutkimustarpeita ei enää ole.

7. Jatkotutkimukset referenssilaboratorioissa

Potilasnäytteistä ja elintarvikenäytteistä saatuja bakteerituloksia verrataan keskenään ja analyytin epidemiologisen tutkimuksen tuloksiin. Tämä edellyttää tiivistä yhteistyötä kunnan selvitystyöryhmän, kliinisen mikrobiologian laboratorion ja elintarvikelaboratorion välillä, ja kaikkien osapuolien asiantuntemuksen hyödyntämistä.

Sairastumisen ja elintarvikkeen syömisen välisen biologisen yhteyden osoittamiseksi on kehitetty erilaisia tarkkoja mikrobikantojen ilmiäsuun (fenotyyppiin) ja perimään (genotyyppiin) perustuvia menetelmiä. Näillä menetelmillä voidaan osoittaa elintarvikkeista ja sairastuneista henkilöistä eristettyjen bakteerikantojen samanlaisuus tai erilaisuus. Niillä voidaan osoittaa myös näiden bakteerien taudinaiheuttamiskykyyn liittyviä ominaisuuksia.

Norovirusten tarkemmat epidemiologiset tyypitykset tehdään KTL/ENVISSä yhteistyössä Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristöhygienian laitoksen kanssa.

Lisätietoja:

Anja Siitonen, KTL/BATO/SUBA, e-mail: etunimi.sukunimi@ktl.fi

Sakari Jokiranta, HUSLAB, parasitologian yksikkö, e-mail: etunimi.sukunimi@hus.fi

Markku Kuusi, KTL/INFE/TARTU, e-mail: etunimi.sukunimi@ktl.fi

Maija Lappalainen, HUSLAB, virologian osasto, e-mail: etunimi.sukunimi@hus.fi

Leena Maunula, HY/Elintarvike- ja ympäristöhygienianlaitos, email:
etunimi.sukunimi@helsinki.fi

Merja Roivainen, KTL/ENVI, e-mail: etunimi.sukunimi@ktl.fi

Kommentit ja korjausehdotukset: Anja Siitonen

8. Kirjallisuutta

Niemi V, Rahkio M, Siitonen A. Ruokaturvallisuuden käsikirja. Helsinki: Arthouse, 2004:291 sivua.

Salminen M, Siitonen A, Vuopio-Varkila J. Molekyylityypitysmenetelmät infektioautien epidemiologiassa. Kirjassa: Huovinen P, Meri S, Peltola H, Vaara M, Vaheri A, Valtonen V, toim. Mikrobiologia ja infektiosairaudet, kirja 2. Helsinki: Duodecim, 2003: 211-214.

Siitonen A , Vuopio-Varkila J, Salminen M, von Bonsdorff C-H. Mikrobiologiset tutkimusmenetelmät infektioepidemiologian aseina. Duodecim 2002;118:2046-2053.

Terveysvaarakansio (www.palvelu.fi/evi/evi_material.php).

Väyrynen T. Laboratorionäytteiden lähettämisohteet uudistuvat. Moodi 2007;4:149