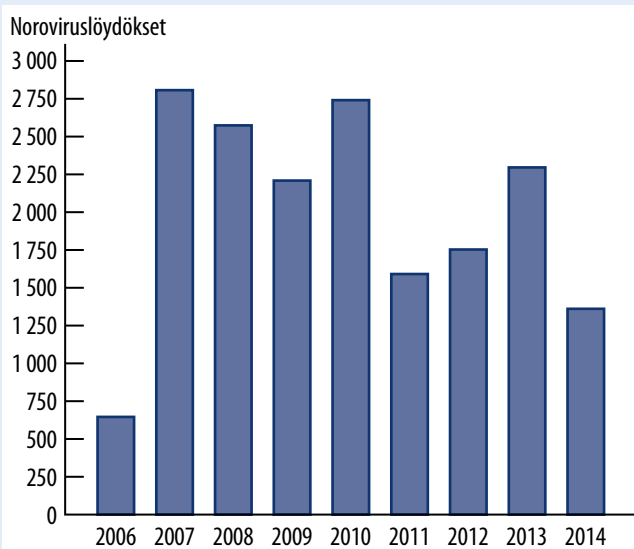


KUVA 1. Rotaviruslöydökset THL:n tartuntatautirekisterin mukaan vuosina 2000–2014.



KUVA 2. Noroviruslöydökset THL:n tartuntatautirekisterin mukaan vuosina 2006–2014.

(8, 9). Se on myös merkittävä pienten lasten vakavan ripulitaudin aiheuttaja (10). Viruksesta tunnetaan kuusi genoryhmää (norovirus GI–GVI), joista tärkeimmät ihmisistä infektoivat genoryhmät ovat GI ja GII (11). Genoryhmien sisällä viruksesta tunnetaan lisäksi lukuisia eri genotyyppiä. Erityisesti GII.4-genotyyppin norovirukset ovat aiheuttaneet vuodesta 2006 lähtien laajoja epidemioita muun muassa Euroopassa. Suomessa käynnistyi vuodenvaihteessa 2006–2007 norovirus GII.4-2006b:n aiheuttama hankala, pitkäkestoinen norovirus-epidemia sairaaloissa (12). Epidemian huip-

pu oli keväällä 2007. Talvella 2014–2015 uusi genotyyppi GII.17 aiheutti epidemioita muun muassa Kiinassa. Missä määrin tämä uusi genotyyppi tulee leviämään eri maanosiin ja aiheuttamaan tautitaakkaa, jää nähtäväksi (13).

Norovirus on RNA-virus, ja sille on tyypillistä kyky nopeaan geneettiseen muunteluun, ja muuntunut virus taas kykenee aiheuttamaan laajoja epidemioita populaation vastustuskyvyn puuttumisen vuoksi. Koska norovirus erittyy ulosteeseen runsaasti infektion aikana ja viruksen infektoiva annos on pieni (alle sata viruspartikkelia), virus tarttuu erityisen te-

hokkaasti pintojen, elintarvikkeiden, veden tai suoran kosketuksen kautta. Viruksen tiedetään tarttuvan myös pisaratartuntana esimerkiksi oksentamisen yhteydessä. Virukselle syntyvä immuunivaste on lyhytaikainen; jo 4–6 kuukauden kuluttua sama virustyyppi kykenee infektoimaan ihmisen uudelleen. Norovirus aiheuttaa epidemioita vuosittain esimerkiksi sairaaloissa, hoitolaitoksissa, päiväkodeissa, kouluissa, hotelleissa, risteilyaluksilla ja kylpylöissä. Norovirusinfektio ei ole vaarallinen perusterveelle ihmiselle, mutta vastasyntyneiden, vanhusten, vakavasti sairaiden tai vakavasta immuunipuutoksesta kärsivien potilaiden kohdalla se voi johtaa jopa kuolemaan. Immuunipuutteisilla potilailla nähdään myös pitkittyntä, jopa kuukausia kestävää viruksen eritystä.

Virusripulin ehkäisyssä hyvä käsihygienia on erittäin tärkeää. Käsien huolellinen pesu runsaalla vedellä ja saippualla vähentää tehokkaasti norovirus tartuntoja (14). Sairaalan tai pitkäaikaislaitoksen vuodeosastolla norovirus-epidemia kestää tyypillisesti noin viikon (15). Laitosepidemioiden rajaamisessa keskeistä on välttää uusien potilaiden ottamista osastolle, kunnes epidemia on laantunut, ja hoitaa potilaat yhden hengen huoneissa. Henkilöstä toiseen tapahtuvien tartuntojen ehkäisyssä keskeistä on infektion nopea tunnistaminen.

Pikadiagnostiikka

Virusdiagnostiikkaa tarvitaan lähinnä ripuliepidemioiden ja pienten lasten gastroenteriittien selvittelyssä sekä vakavasti sairaiden potilaiden ripulin aiheuttajaa selvittäessä. Ripulitaudeissa virusdiagnostiikalla ei ole suoraa hoidollista vaikutusta, mutta se auttaa potilaiden kohortoinnissa osastoilla ja toimii erotusdiagnostiikassa, kun selvitetään, onko potilaalla bakteerin vai viruksen aiheuttama infektio. Tällöin on etua siitä, että laboratoriovastaus saadaan mahdollisimman nopeasti. Näytteeksi virologisiin tutkimuksiin tarvitaan akuutin vaiheen ripuliulostetta kierrekorkeissa, tiiviissä purkissa (ripuliuloste ottaa säilytysastian muodon) (KUVA 3). Näyte kannattaa ottaa mahdollisimman pian oireiden alkamisen jälkeen, jolloin viruseritys ulosteeseen on runsaimmillaan.



KUVA 3. Ripuliuloste lähetetään tiiviissä, kierrekorkeissa näytepurkissa, joka pakataan salpapussiin. Potilaan tunnistetarra tulee kiinnittää näytepurkkiin.

Rota- ja adenoviruksen nopeassa diagnostiikassa viruksen antigeenia voidaan osoittaa suoraan potilaan ulosteesta immunokromatografisella tai lateksiagglutinaatioon perustuvalla testillä. Saatavilla on useita helppokäyttöisiä ja nopeita kaupallisia testejä, joita voidaan käyttää mikrobiologian laboratorioissa, sairaalan yhteydessä toimivassa päivystyslaboratoriossa tai yksityisellä lääkäriasemalla. Immunokromatografisista testeistä on saatavilla ulostesuspensioon kastettavia liuskatestejä, mutta myös kasettitestejä, joissa näyte pipetoidaan näytekuppaan. Useissa testeissä on yhdistettynä sekä rota- että adenoviruksen antigeenintunnistus samaan kasettiin (KUVA 4). Testit tunnistavat virusantigeenin monoklonaalisten vasta-aineiden avulla. Rota- ja adenoviruksen osalta nämä antigeenin osoitukseen perustuvat testit ulostenäytteestä ovat herkkyydeltään riittäviä (7).

Tutkimuksia tekevien yksiköiden tulee muistaa, että mikrobiologinen vieritestausta on luvanvaraista toimintaa, joten sitä koskevat samat säädökset, kuin muuta tartuntatautiin laboratoriodiagnostiikkaa (16). Tutkimusta suoritta-



KUVA 4. Rota- ja adenoviruksen antigeeninosoitukseen perustuva kasettitesti.

villa laboratorioilla tulee olla mikrobiologian toimilupa. Toimiluvan saaminen edellyttää muun muassa säännöllistä osallistumista ulkoisille laadunarviointikierroksille neljä kertaa vuodessa.

Norovirusten diagnostiikkaa vaikeuttavat noroviruksen lukuisat genotyypit ja viruksen nopea muuntelevuus. Testinkehittelyssä on haastavaa kehittää testi, joka tunnistaa kaikki genotyypit. Toisaalta vaikeuksia aiheuttaa mahdollinen testien päivitystarve uusien virusvarianttien ilmaantumisen myötä. Vaikka GII-norovirukset aiheuttavat suuren osan epidemioista, tavataan osassa epidemioita aiheuttajana myös GI norovirus. Tämän vuoksi laboratorion on tärkeää varmistua diagnostista testiä käyttöönotettaessa, että testi tunnistaa kattavasti molemmat ryhmät. Noroviruksen diagnostiikassa testeistä herkin ja tarkin on noroviruksen nukleiinihapon osoitukseen perustuva reaaliaikainen PCR-testi. Noroviruksen antigeenin osoitukseen tarkoitettuja kaupallisia pikatestejä on saatavilla useita, mutta näiden testien herkkyudet ovat jääneet tutkimusten mukaan varsin heikoiksi (17, 18). Näissä tutkimuksissa testien herkkyudet vaihtelivat 17 %:n ja 78 %:n välillä ja tarkkuudet 75 %:n ja 100 %:n välillä. Norovirus GI-viruskannat tunnistettiin näillä testeillä usein vielä selkeästi huonommin kuin norovirus GII-viruskannat. Tällaiset testit soveltuvat huonosti yksittäisten potilaiden diagnostiikkaan, eikä niitä tulisi käyttää ainoana testinä norovirusinfektiota epäiltäessä. Norovirus antigeeninosoitustestin

antama negatiivinen tulos ei siis sulje infektiota pois, ja se tulee aina varmentaa herkemällä PCR-tutkimuksella.

Markkinoille on hiljattain tullut myös automatisoitu, helppokäyttöinen, nopea kasettitesti noroviruksen nukleiinihappojen osoitukseen reaaliaikaisella PCR-menetelmällä. Tällaisella testillä voidaan noroviruksen nukleiinihappoa osoittaa yksittäisistä ulostenäytteistä esimerkiksi päivystystutkimuksena, ja se on herkkyydeltään huomattavasti antigeeninosoitustestejä parempi. Testikasetti sisältää kaikki nukleiinihappojen eristämiseen ja monistamiseen vaadittavat reagenssit, kasettiin lisätään vain ulostenäyte. Tämän jälkeen testikasetti viedään laitteelle, joka suorittaa testin ja analysoi tulokset automaattisesti. Markkinoille ovat tulleet jo myös ensimmäiset niin sanotut monianalyytti-PCR-kasettitestit, joiden avulla yhdessä kasetissa voidaan samanaikaisesti ulostenäytteestä tunnistaa useita ripulia aiheuttavia viruksia (GI/GII-norovirus, rotavirus, adenovirus, astrovirus, sapovirus) ja osalla testivalmistajista samaan testiin sisältyy myös merkittävimmät ripulia aiheuttavat bakteerit ja parasiitit. Julkaisu dataa näiden testien todellisesta suorituskyvystä (herkkyys ja tarkkuus) ei ole vielä saatavilla, joten vasta tulevaisuus näyttää, kuinka paljon niitä tullaan ottamaan käyttöön kliinisissä laboratorioissa. Hinnaltaan nukleiinihappopohjaiset testit ovat noin 5–10 kertaa kalliimpia, kuin antigeeninosoitukseen perustuvat testit, monianalyyttitestiä osalta hinnat voivat jopa vielä kallistua. Toisaalta moninkertaisissa testeissä on etuna se, että tarvitsee tehdä vain yksi testi, joten todellinen hinta voi muodostua jopa tavanomaista diagnostiikkaa halvemmaksi. Nukleiinihappojen osoitukseen perustuvia testejä voidaan tehdä laboratorioissa, joilla on mikrobiologian toimilupa ja joissa on riittävä nukleiinihappoanalytiikan asiantuntemus.

Pikadiagnostiikan luotettavuus

Pikadiagnostisia kaupallisia testejä on saatavilla lukuisia ja laboratorion, joka ottaa diagnostiikkaan käyttöön tällaisen testin, tulee varmistua siitä, että testi toimii valmistajan ilmoittamalla tavalla. Testin käyttöönottoaiheessa tulee

testata riittävä määrä sekä positiivisia että negatiivisia potilasnäytteitä. Lisäksi tulee varmistua siitä, että testi tunnistaa kaikki kliinisesti merkittävät viruskannat. Sisäisen ja ulkoisen laadunvarmistuksen tulee olla suunnitelmallista ja jatkuvaa. Näille ulosteeseen viruspikatesteille on saatavilla ulkoisia laadunarviointikierroksia eri toimittajilta, myös nukleiinihappoanalytiikkaan. Pikatestien luotettavuuteen vaikuttavat edellä mainittujen seikkojen lisäksi preanalyttiset tekijät, testin tekijän perehtyneisyys ja tottuneisuus testin tulkintaan, jatkuva laadun seuranta (reagenssierien toimivuus) ja reagointi niin sisäisen, kuin ulkoisen laadunarvioinnin poikkeamiin. Työntekijöiden perehdytyksellä ja riittävällä ohjeistuksella on suuri merkitys laadun kannalta.

Ripulivirusten diagnostiikassa ulosteita käsiteltäessä tulee muistaa, että uloste saattaa sisältää runsaasti infektiokykyisiä mikrobeja. Työtilojen tulee olla hyvin suunniteltuja, toimivia ja helposti puhdistettavia. Työtapojen tulee olla oikeaoppisia, ja työskentelyn tapahtua veto- tai biosuojakaapissa. Hyvillä työskentelytavoilla pyritään näin tehokkaasti estämään niin työntekijöiden infektoituminen, työtilan kontaminoituminen ja infektoituneen materiaalin leviäminen ympäristöön. Mikäli diagnostiikassa käytetään PCR-pohjaisia menetelmiä, tulee työskentely suunnitella siten, että nukleiinihappokontaminaatiot estetään.

Lopuksi

Mikrobiologisen pikadiagnostiikan suurin hyöty on nopea tuloksen saaminen hoitoyksiköiden käyttöön. Näiden virologisten pikatestien suoritus aika on yleensä muutamia kymmeniä minutteja yksittäiselle testille, mutta tuo aika kertaantuu, jos näytteitä on samanaikaisesti tehtävänä useampia. Suurille näytemäärille

RAISA LOGINOV, dosentti, sairaalamikrobiologi
LAURA MANNONEN, dosentti, sairaalamikrobiologi
MAIJA LAPPALAINEN, dosentti, osastonylilääkäri
HUSLAB, Kliininen mikrobiologia,
Virologian ja immunologian osasto

Ydinasiat

- ▶ Rota- ja adenoviruksen pikadiagnostiikassa käytetään antigeeninosoitukseen perustuvia testejä.
- ▶ Markkinoille on saatu ensimmäiset helpot, nopeat kasetti-PCR-testit noroviruksen nukleiinihappojen osoittamiseen ulostenäytteestä.
- ▶ Tulevaisuudessa yleistynevät niin sanotut monianalyytti-PCR-testit, joiden avulla voidaan samanaikaisesti tunnistaa näytteestä useita ripulin aiheuttajia.
- ▶ Laboratorion tulee tarkistaa kaupallisen testin suorituskyky ja osallistua laadun-tarkkailukierroksille.
- ▶ Nukleiinihappojen osoitukseen perustuvat testit vaativat laboratoriolta molekyylibiologista asiantuntemusta.

edellä mainitut testit eivät sovellu. Antigeeninosoitukseen perustuvien testien tulkinta on subjektiivista, eikä aina kaikissa tilanteissa helppoa. Eri testien välillä on eroja tulkinnassa. Silloin kun käytetään herkkiä ja tarkkoja testejä, työtilat ovat asialliset, henkilökunnan perehdytys on suoritettu huolellisesti ja laadunvarmistus on järjestetty hyvin, toimivat nämä pikatestit luotettavana diagnostisena työvälineenä. Tulevaisuudessa nukleiinihappopohjaiset testit tulevat lisääntymään ja saamme diagnostiikan käyttöön moninkertaisia testejä, joiden avulla voidaan määrittää kaikki merkittävät ripulia aiheuttavat mikrobit näytteestä samanaikaisesti. Myös päivystyskäyttöön soveltuvat PCR-testit ovat yleistymässä. ■

SIDONNAISUUDET

Raisa Loginov: Luentopalkkio (Labquality, Lakeuden bioanalytiikat)
Laura Mannonen: Ei sidonnaisuuksia
Maija Lappalainen: Asiantuntijapalkkio (Medviro), johtokunnan tms jäsenyys (Labquality), luontopalkkio (Astellas Pharma, Pfizer, Labquality)

KIRJALLISUUTTA

1. Anderson EJ. Prevention and treatment of viral diarrhea in pediatrics. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:205–17.
2. Lanata CF, Fisher-Walker CL, Olascoaga AC, ym. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. *PLoS One* 2013; 8:e72788.
3. Vesikari T, Uhari M, Renko M, ym. Impact and effectiveness of RotaTeq® vaccine based on 3 years of surveillance following introduction of a rotavirus immunization program in Finland. *Pediatr Infect Dis J* 2013;32:1365–73.
4. Hartwig S, Uhari M, Renko M, Bertet P, Hemming M, Vesikari T. Hospital bed occupancy for rotavirus and all cause acute gastroenteritis in two Finnish hospitals before and after the implementation of the national rotavirus vaccination program with RotaTeq®. *BMC Health Serv Res* 2014;14:632.
5. Vesikari T, Mäki M, Sarkkinen HK, Arstila PP, Halonen PE. Rotavirus, adenovirus, and non-viral enteropathogens in diarrhoea. *Arch Dis Child* 1981;56:264–70.
6. Uhnou I, Wadell G, Svensson L, Johansson ME. Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J Clin Microbiol* 1984;20:365–72.
7. Sidoti F, Rittà M, Costa C, Cavallo R. Diagnosis of viral gastroenteritis: limits and potential of currently available procedures. *J Infect Dev Ctries* 2015;9:551–61.
8. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:134–64.
9. Maunula L, Miettinen IT, von Bonsdorff CH. Norovirus outbreaks from drinking water. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1716–21.
10. Räsänen S, Lappalainen S, Salminen M, Huhti L, Vesikari T. Noroviruses in children seen in a hospital for acute gastroenteritis in Finland. *Eur J Pediatr* 2011;170:1413–8.
11. White PA. Evolution of norovirus. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:741–5.
12. Kanerva M, Maunula L, Lappalainen M, Mannonen L, von Bonsdorff CH, Anttila VJ. Prolonged norovirus outbreak in a Finnish tertiary care hospital caused by GII.4-2006b subvariants. *J Hosp Infect* 2009;71:206–13.
13. Lu J, Sun L, Fang L, ym. Gastroenteritis outbreaks caused by norovirus GII.17, Guangdong province, China, 2014–2015. *Emerg Infect Dis* 2015;21:1240–2.
14. Kuusi M, Kanerva M, Lyytikäinen O. Toimenpideohje norovirus-tartuntojen ehkäisemiseksi. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja C 5/2007. www.julkari.fi/handle/10024/102997.
15. Anttila VJ, Nieminen T, Maunula L. Norovirusten aiheuttamat gastroenteriitit laitosten ongelmana. *Duodecim* 2010; 126:1575–81.
16. Tartuntatautilaki 25.7.1986/583. www.finlex.fi.
17. Ambert-Balay K, Pothier P. Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in faecal samples. *J Clin Virol* 2013;56:194–8.
18. Vyas K, Atkinson C, Clark DA, Irish D. Comparison of five commercially available immunochromatographic tests for the detection of norovirus in faecal specimens. *J Hosp Infect* 2015;91:176–8.

SUMMARY

Rapid diagnosis of diarrhea viruses

Viral diagnosis is required mainly in the analysis of outbreaks of diarrhea, cases of gastroenteritis in infants and in the exploration of the cause of diarrhea in severely ill patients. Antigens of rotaviruses and adenoviruses can be detected in the feces of the patient, and the rapid tests applied have proven to possess sufficient sensitivity. Sensitivities of the tests intended for norovirus antigen detection have instead remained poor. In addition to antigen detection tests, a real-time PCR test based on the detection of norovirus nucleic acids has come onto the market, being both easy to use and substantially more sensitive. In the future, multiplex PCR tests allowing simultaneous detection of several different diarrhea-causing microorganisms are expected to become more common.