

Anne-Marie Kerttula ja Antti Lavikainen

Nukleiinihapon osoitus parasitologisessa diagnostiikassa

Nukleiinihapon osoitus on korvaamassa ainakin osittain tavanomaiset mikroskooppi- ja antigeeniosoitusmenetelmät parasiittien laboriodiagnostiikassa. Etenkin ulosteen alkueläindiagnostiikka kokenee myllerryksen polymeerasiketjureaktion (PCR) viedessä jalansijaa totunnaisilta menetelmiltä. Malaria-diagnostiikassa PCR ei – ainakaan vielä – pärjää nopealle ja edulliselle mikroskooppitutkimukselle, mutta nukleiinihappo-osoitukseen perustuvia malariapikatestejäkin on jo maailmalla kehitelty. Suomalaiset kliinisen mikrobiologian laborioriot tarjoavat tällä hetkellä PCR-tutkimuksia muun muassa ulosteen alkueläin-, toksoplasma- sekä trikomonasiagnostiikkaan. Ulkomailta voidaan tilata alihankintana myös muita, harvinaisempien taudinaiheuttajien, kuten Leishmanian, PCR-tutkimuksia. Nukleiinihappomenetelmät ovat ylivoimaisia muun muassa tarkkuutensa ja usein myös herkkyytensä suhteen, mutta on syytä muistaa, että testit voivat jäädä positiivisiksi joksikin aikaa jo väistyneen tai hoidetun infektion jälkeen.

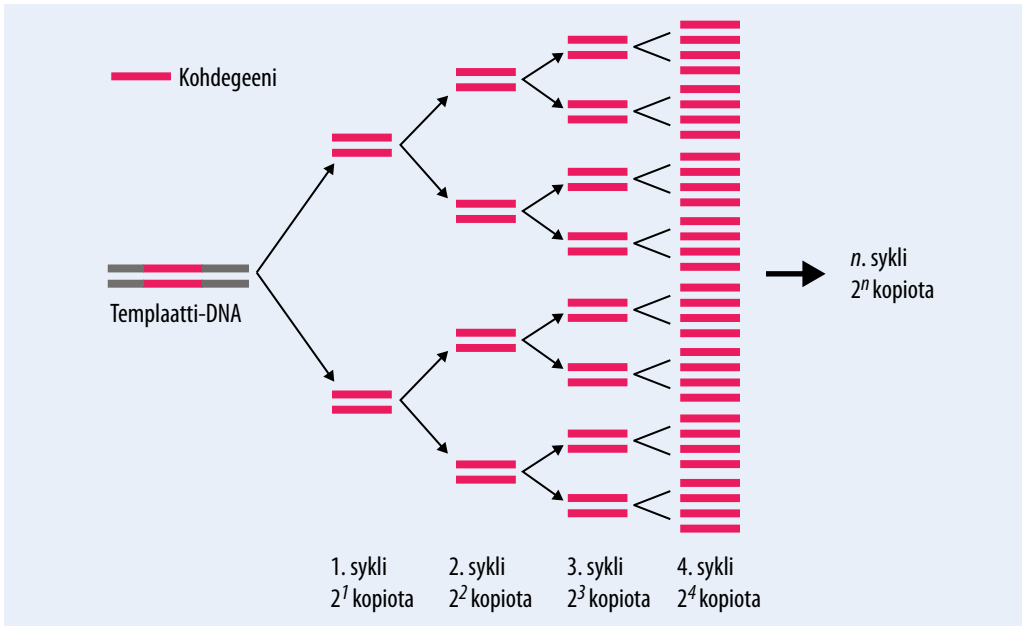
Loisella eli parasiitilla tarkoitetaan alkueläimiin tai eläinkuntaan kuuluvaa eliötä, joka käyttää isäntäänsä hyväkseen tuottamatta tälle hyötyä. Osa loisista on harmittomia, mutta joukkoon mahtuu myös merkittäviä taudinaiheuttajia. Parasitologinen laboriodiagnostiikka on tavanomaisesti perustunut loisten rakenteiden tunnistamiseen mikroskopialla erilaisia värjäysmenetelmiä hyväksi käyttäen tai parasiittiantigeenien osoitukseen immunologisilla menetelmillä. Mikroskooppiset tutkimukset parasitologisessa diagnostiikassa vaativat erikoisosaamista. Perustaitojen oppimiseen menee yleensä joitain kuukausia, mutta monipuolisen osaamisen omaksuminen vie vuosia. Parasiittien osoittamisessa käytetään yhä enemmän myös nukleiinihappomenetelmiä. Nukleiinihappo-osoituksen etuina ovat herkkyys ja ennen kaikkea tarkkuus mikroskopiaan ja antigeeniosoitukseen verrattuna.

Nukleiinihapon osoituksen perusteet

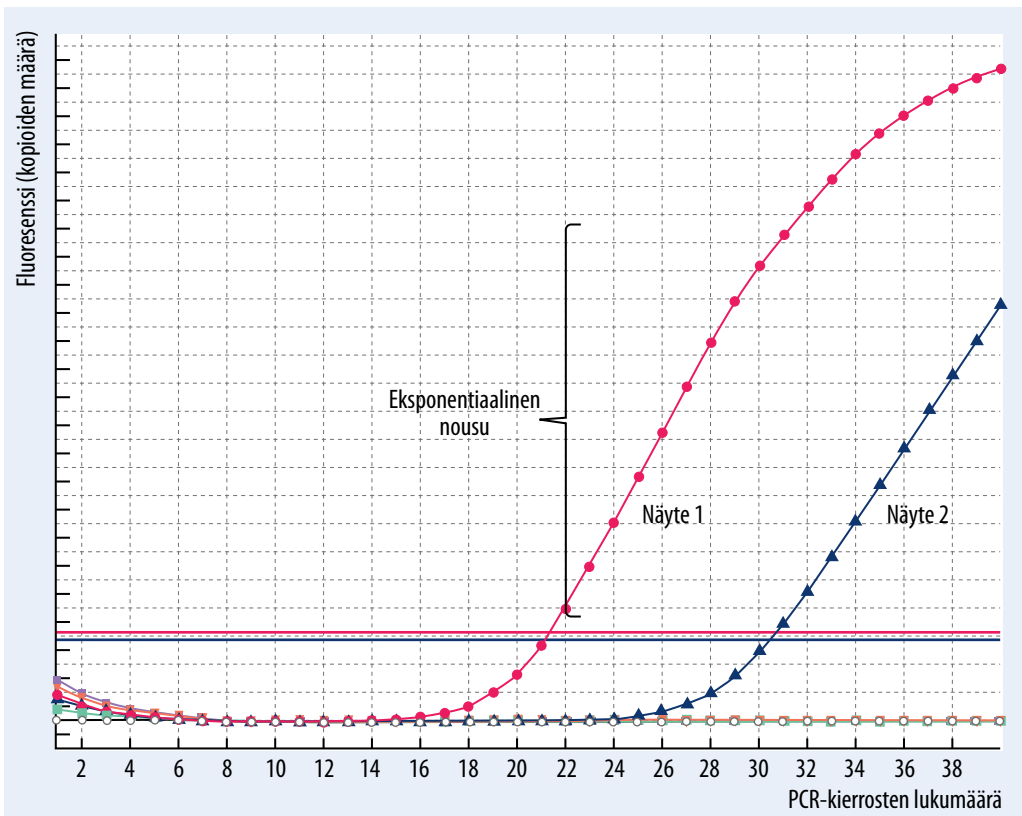
Nukleiinihapon osoitus perustuu yleisimmin polymeerasiketjureaktiolla (PCR) tehtävään

geenimonistukseen (**KUVA 1**). PCR:llä yksittäinen geeni tai geenin osa monistetaan eksponentiaalisesti käyttäen erillistä, lämpötilaohjattavaa monistuslaitetta. Monistus tapahtuu syklistesti vaihtuvassa lämpötilassa (tyypillisesti välillä 50–98 °C), ja reaktion oleellisina osina ovat näytteen templaatti-DNA eli monistuksen kohde, DNA-polymeraasientsyymi ja nukleotidit, jotka rakentavat uudet DNA-juosteet, spesifiset alukkeet, jotka tunnistavat monistettavan DNA-alueen päät ja kiinnittyvät niihin emäsparisäännön mukaisesti, sekä erilaiset reaktiota puskuroivat ja stabiloivat ainesosat. Spesifisen DNA-monistamisen ansiosta PCR-menetelmät ovat ainakin teoriassa ylivoimaisen herkkiä ja tarkkoja verrattuna muihin laborioriotutkimuksiin.

Monistuva DNA havainnoidaan yhä useammin reaaliaikaisella PCR:llä, jossa DNA-kopioiden muodostumista seurataan reaaliaikaisesti tietokoneella (**KUVA 2**). Menetelmä perustuu fluoresoivaan väriaineeseen, joka reagoi muodostuvan tuotteen kanssa. Fluoresoivia merkkiaineita voidaan käyttää epäspesifisesti tai spesifisesti. Epäspesifisessä menetelmässä värimolekyylit sitoutuvat kaksijuosteiseen DNA:han ja fluoresenssi voimistuu väriaineen sitoutuessa



KUVA 1. Polymeerasiketjureaktion (PCR) periaate. Kohteena oleva DNA-juoste monistuu eksponentiaalisesti, ja kun reaktiota toistetaan kymmeniä kertoja (tyypillisesti 35 sykliä) hyvin pienestäkin DNA-määrästä saadaan miljoonia kopioita, jotka pystytään havainnoimaan.



KUVA 2. Reaaliaikaisen monistumisen kuvaaja. DNA-jakso monistuu sitä nopeammin, mitä enemmän DNA:ta näytteessä on. Monistumisen nopeutta ja siten DNA:n lisääntyvää määrää seurataan merkkiaineiden avulla reaaliajassa.

muodostuviin DNA-kopioihin. Spesifisessä menetelmässä väriaine on sidottu koettimeen, jonka sitoutuessa vastinjuosteeseensa väriaine vapautuu emittoiden fluoresenssia PCR-laitteen havainnoidavaksi. Reaaliaikainen PCR on menetelmänä nopea, sillä kohteen monistuminen ja määrittäminen tapahtuvat samanaikaisesti.

Isotermiset nukleinihappomonistustekniikat ovat uudehkoja, tasaisessa ja yleensä melko alhaisessa lämpötilassa toimivia menetelmiä. Nukleinihappomonistus voidaan suorittaa ilman kallista ja monimutkaista lämpötilaohjattavaa monistuslaitetta. PCR-menetelmiä nopeampina ja edullisempina isotermiset nukleinihappomonistusmenetelmät soveltuvat paremmin lähidiagnostiikkaan. Sovelluksia on useita erilaisia, joista niin sanottu loop-mediated isothermal amplification (LAMP) lienee tunnetuin.

Parasiittien nukleinihappotutkimukset

Nukleinihapon osoitusten tarjonta on parasitologisessa diagnostiikassa toistaiseksi melko rajallista (TAULUKKO 1). Parasiittien PCR-tutkimuksille oman haasteensa tuo eliöryhmän monimuotoisuus verrattuna esimerkiksi bakteereihin. Bakteereita voidaan osoittaa normaalisti steriilistä näyttemateriaalista (muun muassa nivelneste, aivo-selkäydinneste, veri) yleisbakteeri-PCR-tutkimuksella, jossa bakteerigenomin tiettyyn konservoituneeseen alueeseen on suunniteltu käytännössä kaikkiin bakteereihin sitoutuvat alukkeet. Monistunutta osaa sekvensoimalla eli nukleinihapon nukleotidijärjestystä selvittämällä voidaan tunnistaa bakteerilaji. Parasiiteille puolestaan on vaikea luoda vastaavia yleisparasiittialukkeita, koska parasiitit kuuluvat niin moneen erilaiseen taksonomiseen ryhmään. Esimerkiksi sinänsä yhtenäiseltä ryhmältä kuulostaville suolistoinfektioita aiheuttaville madoille on vaikea kehittää yleis-PCR-tutkimusta, koska suolistomadot kuuluvat moniin eri pääjaksoihin (sukkulamatoihin, imumatoihin ja heisimatoihin), jotka ovat geneettisesti hyvin kaukana toisistaan. Sama ongelma tulee vastaan esimerkiksi suolistoinfektioita aiheuttavissa alkueläimissä: *Giardia* kuuluu siima-

eläimiin, *Cryptosporidium* itiöeläimiin, kun taas *Entamoeba* kuuluu ameeboihin. Tämän vuoksi kaikille edellä mainituille parasiiteille pitää kehittää omat, spesifiset nukleinihappotunnistumenetelmät. Useampaa lajia tai ryhmää voidaan tutkia multiplex-PCR-menetelmällä, jossa reaktioseoksessa on omat spesifiset alukkeet jokaista etsittävää loista kohti.

Toksoplasmoosin PCR-diagnostiikka

Toxoplasma gondii -itiöeläimen aiheuttama toksoplasmoosi on ihmisen yleisin piilevä alkueläininfektio. Tauti voi olla kohtalokas immuunipuutteiselle potilaalle sekä sikiölle, jonka äiti ei ole saanut aiemmin tartuntaa. Toksoplasmoosin diagnoosi perustuu ensisijaisesti serologiaan. Erityistilanteita, kuten sikiön tai immuunipuutteisen potilaan infektiopäilyä, varten on loisen osoittamiseksi jo vuosien ajan käytetty PCR-tutkimusta, joka tehdään tavallisimmin verestä, aivo-selkäydinnesteestä, lapsivedestä, bronkoalveolaarinnesteestä, kudostenäytteistä tai ruumiinavausnäytteistä. Ainakin HUSLAB ja Tyks Mikrobiologia ja genetiikka tekevät kyseistä tutkimusta. Myös kaupallisia sovelluksia löytyy toksoplasmoosin nukleinihappomäärityksiin (1).

Trichomonas vaginalis

Trichomonas vaginalis -siimaeläin on maailmalla yleinen sukupuolitaudin aiheuttaja, vaikkakin Suomessa harvinainen. Trikomoniaasin diagnostiikassa PCR on herkempi kuin antigeenosoitukseen perustuvat pikatestit, viljely tai mikroskopia (2). Lisäksi nukleinihapon osoituksen etuna on soveltuvuus miespotilaiden näytteille. Naisten trikomoniaasidiagnostiikassa antigeenosoitus puolustaa kuitenkin paikkaansa nopeutensa ja halvemman hintansa vuoksi etenkin suuremmissa yksiköissä. Useita kaupallisia PCR-sovelluksia on tarjolla (2). Ainakin Yhtyneet Medix Laboratoriot Helsingissä tekee trikomoniaasidiagnostiikkaa PCR:llä. Tutkimus tehdään naiselta emätineritteestä ja mieheltä virtsaputken eritteestä. PCR soveltuu trikomoniaasin hoitotuloksen kontrollointiin pari viikkoa hoidon jälkeen (2).

TAULUKKO 1. Yleisimmät Suomessa käytetyt parasitologiset nukleiinihappotutkimukset (NhO).

Infektio	Tutkimuslyhenne ja -numero	Käyttöaiheet	Näytelaatu ¹
Suoliston alkueläininfektiot	F-ParaNhO, 6375	Suoliston alkueläininfektioiden epäily	Uloste eNAT-putkessa (vaihtoehtoisesti tuoreuloste, formaliiniuloste)
Toksoplasmoosi	-ToxoNhO, 1730	Antenaalidiagnostiikka; sikiön toksoplasmainfektioepäily; immunosuppressiopotilaiden infektiöepäilyt	Veri, aivo-selkäydinneste, lapsivesi, kudoksenäytteet, ruumiinavausnäytteet
Trikomoniasia	-TrvaNhO, 6307	Trikomonasvaginiitin ja miehellä uretriitin epäily	Emättimen erite, miehillä virtsaputken erite tai siemenneste
Leishmaniaasi	-LeiViNh, 20329	Iho-, limakalvo- tai sisäelinleishmaniaasin epäily	Kudos- ja punktionäytteet
Malaria	Ei listatutkimuksena	Lajintunnistuksen varmistus, erikoisnäytteiden tutkiminen	Sively/paksupisaralasis, EDTA-veri, ruumiinavausnäytteet

¹Tutustu laboratorion näytteenotto-ohjeisiin

Suolistoinfektioiden alkueläin-diagnostiikka PCR-menetelmillä

Viime vuosina suolistoinfektioiden aiheuttajien PCR-tutkimukset ovat lisääntyneet kliinisen mikrobiologian laboratorioissa. Tärkeimmät bakteeri-, virus- ja loistaudinaiheuttajat pyritään seulomaan suoraan näytteestä nopeilla PCR-menetelmillä. Etuina ovat tulosten saamisen merkittävä nopeutuminen sekä testien parempi herkkyys tavanomaisiin menetelmiin verrattuna. Totunnainen formaliini kiinnitetyn ulostenäytteen mikroskopia (F-ParaO) on halpaa ja yksinkertaista, mutta yleisistä ripulin aiheuttajista vain *Giardia*-löydös on diagnostinen (TAULUKKO 2). Kokenut mikroskopioija pystyy erottamaan *Cryptosporidiumin*, *Cyclospora cayetanensis* sekä *Dientamoeba fragiliksen* rakenteet, mutta diagnoosi on erikseen varmennettava antigeeni- tai värjäysmenetelmillä. Multiplex-PCR-testit tunnistavat useampia loisia kerralla ja ovat näin ollen suoraviivaisempi ja edullisempi vaihtoehto kuin mikroskopia lukuisine jatkotutkimuksineen. Vaikka PCR-tutkimus on tällä hetkellä viitisen kertaa kalliimpi kuin yksittäinen F-ParaO-tutkimus, kääntyy hintasuhde toisin päin, kun F-ParaO-näytteitä tulee huonomman herkkyyden takia ottaa vähintään kolme ja useiden patogeenisten alkueläinten tunnistamiseksi tarvitaan jatkotutkimuksia.

PCR-tutkimukseen riittää normaalisti yksi eNAT-putken kerätty tai tuoreulostenäyte

(tutkimus on mahdollista tehdä myös formaliini kiinnitetystä ulosteesta). Yleisimmät PCR-menetelmillä tutkittavat, ripulia aiheuttavat parasiitit ovat *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* ja *Entamoeba histolytica*. Lisäksi *Dientamoeba fragilis* ja *Cyclospora cayetanensis* kuuluvat joihinkin testivalikoimiin. Edellä mainittuja parasiitteja voidaan tutkia usealla kaupallisella menetelmällä (3–6).

Suolistoinfektioiden PCR-pohjaista laboriodiagnostiikkaa tehdään tällä hetkellä useassa kliinisen mikrobiologian laboratorioissa Suomessa (muun muassa FIMLAB, Yhtyneet Medix Laboratoriot, Tyks Mikrobiologia ja genetiikka). Testit on otettu käyttöön yleensä vuoden 2016 aikana, joten kokemuksia niiden toimivuudesta odotetaan mielenkiinnolla. Lääkärin käsikirjassa nukleiinihapon osoitus on jo nostettu vaihtoehdoksi vanhempien menetelmien rinnalle suoliston alkueläintautien diagnostiikassa, erityisesti matkailijan akuutin ripulin ja pitkittyneiden vatsavaivojen diagnostisissa poluissa (7,8,9). Ei tiedetä, kauan ko suolistoinfektioita aiheuttavien parasiittien DNA:ta on havaittavissa onnistuneen hoidon jälkeen, joten PCR:n soveltuvuus seurantaan on vielä epäselvää. *Giardia*asin ja amebiasin kontrollinäytteet suositellaan kuitenkin otettavaksi 1–2 kuukautta hoidon jälkeen, joten PCR on todennäköisesti mahdollinen (joskin melko kallis) tutkimus näiden patogeenien hoitotuloksen seurannassa.

TAULUKKO 2. Suolistoinfektioita aiheuttavien parasiittien laboratoriotutkimukset.

Tutkimus	F-Para-O	F-AmebVr	F-CrypVr	F-GiCrAg	F-EhistAg	F-ParaNho
Diagnostiset löydökset	<i>Giardia lamblia</i> madonmunat <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> ¹ (apatogeenisia alkueläimiä) (<i>Dientamoeban, Cyclosporan ja Cryptosporidiumin</i> suhteen viitteellinen)	<i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Giardia lamblia</i> <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> ¹ (apatogeeniset ameebat)	<i>Cryptosporidium sp.</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Cystoisospora belli</i>	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium sp.</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Dientamoeba fragilis</i> (<i>Cyclospora cayetanensis</i>) ²
Menetelmä	mikroskopointi	mikroskopointi	mikroskopointi	antigeeni-osoitus	antigeeni-osoitus	PCR
Näytelaatu	1–3 x formaliiniuloste	1–3 x EcoFix-kiinnitetty uloste	1 x formaliiniuloste	1 x formaliiniuloste	1 x tuoreuloste	eNAT-kiinnitetty uloste (tuoreuloste, formaliiniuloste)

¹Patogeenista *Entamoeba histolytica*a ei voida erottaa apatogeenisestä *Entamoeba disparista* mikroskooppisilla menetelmillä.

²Tällä hetkellä Suomessa ei ole käytössä PCR-testiä, joka tunnistaisi *Cyclospora cayetanensis* -alkueläimen.

Matojen PCR-diagnostiikka

Suolisto- tai kudostamojen PCR-testeistä ei tietojemme mukaan ole tarjolla kaupallisia versioita. Sen sijaan laboratoriodien omia menetelmiä matojen molekyylibiologiseen tunnistamiseen on julkaistu paljon. Esimerkiksi HUSLABissa on käytössä ekinokokkien, taenioiden ja filarioiden tunnistamiseen omia PCR-menetelmiä. Näitä tutkimuksia käytetään tukemaan tavanomaista laboratoriodiagnostiikkaa, esimerkiksi kun halutaan määrittää maksakystasta löytyneen ekinokokin laji. *Echinococcus granulosus* ja *E. multilocularis* -kudosheisimadot voidaan erottaa toisistaan varmasti vain PCR-menetelmällä, etenkin jos rakkulat ovat epätyypillisiä ja toukkarakenteita ei ole muodostunut. Myös *Taenia solium* ja *T. saginata* -suolistoheisimatojen jaokkeet on käytännössä hyvin vaikea erottaa toisistaan rakennepiirteiden perusteella, joten PCR on ainoa luotettava keino lajinmääritykseen.

Malarian PCR-diagnostiikka

Plasmodium-suvun itiöeläinten aiheuttama malaria on maailmanlaajuisesti tärkein loistauti. Vuonna 2015 arviolta 214 miljoonaa ihmistä sairastui malariaan ja yli 400 000 kuoli (10). Ilmaantuvuus ja kuolleisuus ovat viime vuosien aikana vähentyneet tehostuneiden torjuntatoumien ansiosta.

PCR-menetelmiä on käytetty malariadiagnostiikassa 1990-luvulta lähtien. Reaaliaikaiset PCR-menetelmät ovat viime vuosina lisääntyneet malarian tunnistamisessa ja tehneet diagnosoinnista entistä nopeamman ja rutiinilaboratorioon sopivamman. Tutkimusten mukaan PCR on herkempi ja tarkempi (muun muassa sekainfektioiden tunnistamisessa) kuin värjäysmenetelmä (11–14). Käytännössä malaria on kuitenkin helpompi, nopeampi ja halvempi tutkia tavanomaisesti paksupisara- ja sivelyvalmistetta mikroskopioimalla. Malarian diagnoosi on aina kiireellinen, eikä PCR-tutkimusta

toistaiseksi voida tarjota päivystyksellisesti. Lisäksi mikroskopian avulla voidaan määrittää parasitemiaprocentti eli infektoituneiden punasolujen osuus, mikä ei toistaiseksi onnistu PCR:llä. On myös huomattava, että muut veressä esiintyvät parasiitit, kuten mikrofilariat, trypanosomat sekä babesiat, voivat löytyä satumalalyödyksinä malarianäytteistä. Mikroskopia on siis edelleen ensisijainen tutkimus malariadiagnostiikassa.

Immunokromatografisia antigeenipikatestejä käytetään malarian päivystysdiagnostiikassa useissa laboratorioissa Hus-alueen ulkopuolella. Tämä noudattaa WHO:n linjausta, jonka mukaan pikatestejä voidaan käyttää, jos mikroskooppista tutkimusta ei voida tehdä luotettavasti (15). Pikatestien ongelmana on niiden suhteellisen huono herkkyys ja tarkkuus sekä ristireaktiot esimerkiksi reumatekijän kanssa (16). Kokenut mikroskopioija pystyy havainnoimaan 5–20 parasiittia yhdestä mikrolitrasta verta, kun pikatestien herkkyys jää noin sataan parasiittiin per yksi mikrolitra verta. Testit tunnistavat parhaiten yleisimmät malarian aiheuttajat *P. falciparumin* ja *P. vivaxin*, mutta *P. ovale* ja *P. malariae* tunnistuvat heikommin eikä *P. knowlesi* käytännössä tunnistu nykyisillä pikatesteillä (17). Pikatestin tulos tulee aina varmistaa mikroskopoinnilla.

HUSLABissa on kehitetty oma PCR-menetelmä malariadiagnostiikkaa varten. Menetelmää käytetään mikroskopialla diagnosoitujen *Plasmodium*-lajien nimen varmistukseen, eli testi toimii sisäisenä varmistusmenetelmänä. PCR-tutkimusta ei siis tarjota erikseen tilattavana rutiinitutkimuksena. Mikroskopiaa ja PCR:ää on käytetty rinnan jo usean vuoden ajan, ja tulokset ovat olleet hyvin yhtenäisiä. Joissain tilanteissa PCR-testi toimii malarian varmistus- tai poissulkumenetelmänä, kun mikroskopialla nähdystä rakenteista ei varmasti pystytä malarialaia todentamaan. PCR-tutkimus voidaan tehdä sivelylasilta tai verinäytteestä. Myös erikoisnäytteissä, kuten ruumiinavausnäytteissä, joista ei voida mikroskopialla luotettavasti tutkia malarialaia, on PCR:llä saatu positiivisia tuloksia.

Malariadiagnostiikkaan on saatavilla myös kaupallisia PCR-sovelluksia (18), ja joidenkin

Ydinasiat

- ▶ Nopeasti kehittyvät molekyylibiologiset menetelmät ovat parasitologisen diagnostiikan tulevaisuutta.
- ▶ Nukleiinihappo-osoituksen etuina ovat hyvä herkkyys ja tarkkuus.
- ▶ Nukleiinihappomenetelmät tehostavat etenkin ulosteen alkueläindiagnostiikkaa.
- ▶ Nukleiinihappo-osoitus on kustannustehokkaampi tutkimus kuin perinteinen ulostenäytteen mikroskopia.
- ▶ Malarian diagnostiikka perustuu edelleen mikroskopiaan, ja nukleiinihappo-osoitus toimii varmistustestinä.

sovellusten mainostetaan toimivan vieritestinä (19). Myös isotermisia nukleiinihappomonistussovelluksia löytyy malariadiagnostiikkaan (20). Suomessa ei ole tällä hetkellä käytössä yhtään kaupallista malaria-PCR-testiä. Malarialaia löytyy vuosittain vain noin 40 tapausta ja suurin osa pääkaupunkiseudulta, joten positiivisten näytteiden puute rajoittaa malaria-PCR:n laajempaa käyttöönottoa. Laboratorioiden on vaikeaa ottaa käyttöön uusia testejä ja ylläpitää diagnostiikan laatua, jos malarianäytteitä tutkitaan vähän ja positiivisia näytteitä tulee tutkitavaksi kerran vuodessa tai harvemmin.

Muita parasiitti-PCR-tutkimuksia

Trooppisten tautien diagnostiikkaan erikoistunut Swiss Tropical and Public Health Institute (STPHI) tarjoaa totunnaisten parasitologisten tunnistusmenetelmien ja laajan parasiittivastainetestivalikoiman lisäksi myös PCR-diagnostiikkaan perustuvia tutkimuksia Chagasin taudista (aiheuttaja *Trypanosoma cruzi* -siimaeläin), leishmaniaasista (*Leishmania*-siimaeläimet) ja strongyloidiaasista (*Strongyloides*-sukkulamato). HUSLAB teettää näitä tutkimuksia alihankintana ja tautikohtaiset näytteenotto-ohjeet löytyvät joko HUSLABin tutkimusohjekirjasta (21) tai STPHI:n internetsivuilta (22).

Lopuksi

Nukleiinihappodiagnostiikka tulee valtaamaan jalansijaa tavanomaiselta, mikroskopialta perustuvalla parasitologialta diagnostiikalta. Hyviä puolia siinä ovat menetelmän herkkyys, tarkkuus ja mahdolliset kustannussäästöt. Haittapuolina voi olla ylidagnostiikka PCR:n todentaessa parasiitin genomia tai sen osia, kun itse loinen on jo poistunut näyttämöltä ja tauti hoidettu. Toisaalta geneettinen muuntelu

(esimerkiksi mutaatiot) tutkittavalla alueella ja PCR-reaktiota estävät tekijät näytteessä voivat aiheuttaa vääriä negatiivisia PCR-tuloksia. PCR-menetelmät ovat joka tapauksessa osa parasitologisen diagnostiikan nykypäivää ja tulevaisuutta. Menetelmien nopea kehitys, esimerkiksi kokogenomisekvensointi, voi edelleen avata uusia diagnostisia ulottuvuuksia. ■

ANNE-MARIE KERTTULA, FT, sairaalamikrobiologi

Kliininen mikrobiologia, HUSLAB

ANTTI LAVIKAINEN, dosentti, kliininen opettaja

Bakteriologian ja immunologian osasto, Helsingin yliopisto ja HUSLAB

SIDONNAISUUDET

Anne-Marie Kerttula: Ei sidonnaisuuksia

Antti Lavikainen: Asiantuntijapalkkio (Labquality Oy)

KIRJALLISUUTTA

1. Genesic products – Toxoplasma gondii [verkkosivu]. <http://www.genesig.com/products/9442-toxoplasma-gondii>.
2. Hobbs MM, Seña AC. Modern diagnosis of Trichomonas vaginalis infection. Sex Transm Infect 2013;89:434–8.
3. Mölling P, Nilsson P, Ennefors T, ym. Evaluation of the BD Max enteric parasite panel for clinical diagnostics. J Clin Microbiol 2016;54:443–4.
4. Madison-Antenucci S, Relich RF, Doyle L, ym. Multicenter evaluation of the BD Max enteric parasite real-time PCR assay for detection of Giardia duodenalis, Cryptosporidium hominis, Cryptosporidium parvum, and Entamoeba histolytica. J Clin Microbiol 2016;54:2681–8.
5. Buss SN, Leber A, Chapin K, ym. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. J Clin Microbiol 2015;53:915–25.
6. Reddington K, Tuite N, Minogue E, Barry T. A current overview of commercially available nucleic acid diagnostics approaches to detect and identify human gastroenteritis pathogens. Biomol Detect Quantif 2014;1:3–7.
7. Jokiranta S, Siikamäki H, Kantele A. Johdanto suoliston alkueläintauteihin. Lääkärin käsikirja. Kustannus Oy Duodecim 2016 [päivitetty 6.9.2016]. www.terveysportti.fi.
8. Kantele A. Äkillinen ripulitauti matkailijal-
9. Kantele A, Jokiranta S. Pitkittyneet vatsavaivat matkailijalla. Lääkärin käsikirja. Kustannus Oy Duodecim 2016 [päivitetty 22.2.2017]. www.terveysportti.fi.
10. World malaria report 2015. Geneva: WHO 2015. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200018/1/9789241565158_eng.pdf?ua=1.
11. Mangold KA, Manson RU, Koay ES, ym. Real-time PCR for detection and identification of Plasmodium spp. J Clin Microbiol 2005;43:2435–40.
12. Cnops L, Jacobs J, Van Esbroeck M. Validation of a four-primer real-time PCR as a diagnostic tool for single and mixed Plasmodium infections. Clin Microbiol Infect 2011;17:1101–7.
13. Coleman RE, Sattabongkot J, Promstaporm S, ym. Comparison of PCR and microscopy for the detection of asymptomatic malaria in a Plasmodium falciparum/vivax endemic area in Thailand. Malar J 2006;5:121.
14. Shokoples SE, Ndao M, Kowalewska-Grochowska K, Yanow SK. Multiplexed real-time PCR assay for discrimination of Plasmodium species with improved sensitivity for mixed infections. J Clin Microbiol 2009;47:975–80.
15. Guidelines for the treatment of malaria. 3. painos. Geneva: WHO 2015.
16. Lee JH, Jang JW, Cho CH, ym. False-positive results for rapid diagnostic tests for malaria in patients with rheumatoid factor. J Clin Microbiol 2014;52:3784–7.
17. Foster D, Cox-Singh J, Mohamad DS, ym. Evaluation of three rapid diagnostic tests for the detection of human infections with Plasmodium knowlesi. Malar J 2014; 13:60.
18. Hagen RM, Hinz R, Tannich E, Frickmann H. Comparison of two real-time PCR assays for the detection of malaria parasites from hemolytic blood samples – short communication. Eur J Microbiol Immunol (Bp) 2015;5:159–63.
19. Nair CB, Manjula J, Subramani PA, ym. Differential diagnosis of malaria on TrueLab Uno®, a portable, real-time, microPCR device for point-of-care applications. PLoS One 2016;11:e0146961.
20. Hopkins H, González IJ, Polley SD, ym. Highly sensitive detection of malaria parasitemia in a malaria-endemic setting: performance of a new loop-mediated isothermal amplification kit in a remote clinic in Uganda. J Infect Dis 2013;208: 645–52.
21. Leishmania, viljelä ja nukleiinihapon osoitus. Huslab tutkimusohjekirja. <http://huslab.fi/ohjekirja/20329.html>.
22. Swiss Tropical and Public Health Institute Swiss TPH [verkkosivu]. www.swisstph.ch/services/medical-services-and-diagnostic-diagnostic-centre.html.

SUMMARY

Nucleic acid diagnostic approaches in parasitology

Nucleic acid diagnostic technologies are partly replacing traditional microscopy and antigen detection methods in parasitological diagnostics. In particular, the diagnostics of parasitic diarrhea is undergoing a transformation due to the application of polymerase chain reaction (PCR) tests. Diagnostics of malaria is still based on microscopy, but rapid nucleic acid tests are emerging. Laboratories of clinical microbiology in Finland currently provide PCR tests e.g. for intestinal protozoa, Toxoplasma and Trichomonas. Nucleic acid diagnostic methods are superior in specificity and sensitivity, but may give false positive results after a treated infection.