

Opinnäytetyö (AMK)  
Bioanalyttikko koulutus  
Mikrobiologia  
2015

Enni Ahlroth

# MIKROBIOLOGIAA BIOANALYYTIKKO- OPISKELIJOILLE

– Kliinisen mikrobiologian työohjeiden  
päivittäminen



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Bioanalytikkokoulutus | Kliininen mikrobiologia

Syksy 2015 | 21+25

Seija Kirkko-Jaakkola

Enni Ahlroth

## MIKROBIOLOGIAA BIOANALYYTIKKO- OPISKELIJOILLE – KLIINISEN MIKROBIOLOGIAN TYÖOHJEIDEN PÄIVITTÄMINEN

Bioanalytikko koulutukseen kuuluu viisi opintopistettä kliinisen mikrobiologian opintoja. Niihin kuuluu sekä teoriaopintoja, että käytännön harjoittelua. Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli luoda työelämälähtöinen ja käytännönläheinen mikrobiologian oppimateriaali. Tarkoituksena oli tehdä yhtenäinen oppimateriaali Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikko-opiskelijoille mikrobiologian opintojakson käytännönharjoituksiin.

Mikrobiologiaa – Laboraatioiden työohjeet bioanalytikko-opiskelijoille sisältää Turun ammattikorkeakoulun käytössä olevien mikrobiologisten testien työohjeet, näytteenotto ohjeet sekä bakteeriviljelyn perusteet. Materiaali on laajuudeltaan 23 sivua. Se sisältää kolme käsin piirrettyä kuvaa, kolme kuvankäsittelyohjelmilla tehtyä kuvaa ja viisi kaaviota tekstin visualisoimiseksi. Mikrobiologiaa – Laboraatioiden työohjeet bioanalytikko-opiskelijoille on tallennettu Cd-romille ja on saatavilla Turun ammattikorkeakoulun kliinisen mikrobiologian opintojakson opettajalta.

Oppimateriaali on tärkeä bioanalytikko-opiskelijoille kliinisen mikrobiologian opintojaksolle, koska tällä hetkellä yhtenäisiä työohjeita ei ole opiskelijoille saatavilla.

ASIASANAT:

Kliininen mikrobiologia, mikrobiologia, bakteriologia, oppimateriaali

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biomedical Laboratory Science | Clinical Microbiology

Fall 2015 | 21+25

Seija Kirkko-Jaakkola

Enni Ahlroth

## MICROBIOLOGY FOR BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCE STUDENTS – THE UPGRADING OF THE WORK INSTRUCTIONS

The biomedical laboratory science studies consists of five credits in clinical microbiology that include both theoretical studies and practical training. The aim of this study was to create a workplace-oriented and pragmatic microbiology learning material. The intention was to make a coherent learning material about the practical training of microbiology for the biomedical laboratory science students of Turku University of Applied Science.

Microbiology – the work instructions for biomedical laboratory science students includes instructions for use of microbiological tests of Turku University of Applied Sciences, sampling instructions and basics of bacterial culture. The material has 23 pages. It includes three hand-drawn pictures, three pictures made with photo editing software and five charts to visualize the text. Microbiology – the work instructions for biomedical laboratory science students is stored in the CD-ROM, and is available for Clinical Microbiology course teacher of the Turku University of Applied Sciences.

The learning material is important for biomedical laboratory science students in their microbiological studies because currently there are no coherent work instructions available for students.

KEYWORDS:

Clinical microbiology, microbiology, bacteriology, learning material

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>5</b>
<b>2 OPINNÄYTETYÖN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT</b>	<b>6</b>
2.1 Oppimateriaali	6
2.2 Kliininen mikrobiologia	6
2.2.1 Kliininen bakteriologia	7
2.3 Bioanalyttikko kliinisen mikrobiologian laboratoriossa	10
2.4 Aikaisemmat tutkimukset	11
<b>3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT</b>	<b>13</b>
<b>4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS</b>	<b>14</b>
4.1 Opinnäytetyön toteutus	14
4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	14
4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	15
<b>5 TUOTOS</b>	<b>16</b>
5.1 Työohjeen laatiminen	16
<b>6 POHDINTA</b>	<b>18</b>
<b>LÄHTEET</b>	<b>20</b>

## LIITTEET

Liite 1. Opinnäytetyön toimeksiantosopimus

Liite 2. Mikrobiologiaa – Laboraatioiden työohjeet bioanalyttikko-opiskelijoille

# 1 JOHDANTO

Kliinisen mikrobiologian laboratoriossa tutkitaan terveydelle haitallisten mikrobin ominaisuuksia ja niiden kykyä aiheuttaa tauteja ihmisessä ja epidemioita eri väestöryhmissä (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2014b). Mikrobin tunnistamiseksi vaaditaan näytteeltä hyvää laatua. Näyte on otettava oikeasta paikasta, oikeaan aikaan ja säilytettävä oikein ja oikeissa lämpötiloissa sekä kuljettaa mahdollisimman nopeasti mikrobiologian laboratorioon (Tuokko ym. 2008). Tämä vaatii näytteenottajalta, -käsittelijältä ja analytikolta hyvää ammattitaitoa ja tietämystä. Mikrobia voidaan tutkia näytteistä muun muassa mikroskoopin avulla, kasvattamalla mikrobia elatusalustalla ja geenitekniikan avulla. (Heikkilä & Meurman 2005.)

Tämä opinnäytetyö on kehittämistyö, jonka tarkoituksena on laatia uusi, päivitetty versio kliinisen mikrobiologian työohjeesta Turun ammattikorkeakoululle. Työohje tulee sisältämään yleiset laboratorion toimintaohjeet, kliinisen mikrobiologian bakteerien tunnistuskokeita sekä mikrobiologisten näytteidenotto- ja -käsittelyohjeita. Työohjeeseen tulee sellaisia harjoitustöitä, joita Turun ammattikorkeakoulun mikrobiologian laboratoriossa voidaan suorittaa.

Aikaisempaa yhtenäistä kliinisen mikrobiologian työohjetta ei ole, joten tämän opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa kliinisen mikrobiologian oppimateriaali ja helpottaa sen avulla bioanalytikko-opiskelijoiden oppimista kliinisen mikrobiologian opintojaksolla. Työohjeet tulevat olemaan sähköisessä muodossa ja opiskelijat saavat itse ne tulostaa tai kopioida.

## 2 OPINNÄYTETYÖN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT

### 2.1 Oppimateriaali

Nopeasti kehittynyt viestintä- ja tietotekniikka on vaikuttanut ja muuttanut joitakin perinteisiä opetus-oppimistilanteisiin liittyviä teorioita ja käsitteiden määrittelyjä viime vuosikymmeninä. Käsite oppimateriaali on laajentunut, koska on hankalaa rajata erilaisia opetuksen ja oppimisen apuvälineitä käsitteen ulkopuolelle. Mikä osa kaikesta saatavilla olevasta informaatiosta on oppimateriaalia, on myös vaikeaa määritellä. (Vainionpää 2006.)

Usein oppimateriaalilla tarkoitetaan johonkin materiaan liitettyä oppiainesta, jonka tarkoituksena on välittyä oppijalle niin, että se synnyttäisi heille myönteisiä oppimiskokemuksia. Nämä kokemukset johtavat sitten pysyviin tietojen ja taitojen muutoksiin oppijassa. Oppimateriaali on siis oppiainesta sisältävä tiedonlähde. (Uusikylä & Atjonen 2000.)

Työohjeita käytetään koulutuksen apuvälineenä uusille työntekijöille. Niitä käytetään myös ongelmanratkaisuun, kehitykseen ja tiedon hakuun. (Tolvanen 2011.) Työohje on siis myös hyvä oppimateriaali opiskelijalle käytännön harjoitteissa.

### 2.2 Kliininen mikrobiologia

Kliininen mikrobiologia on ihmisen infektioauteihin keskittyvä tieteenala. Taudinaiheuttajien lisäksi kliininen mikrobiologia käsittelee elimistön puolustusmekanismeja, infektioautien syntyä, niiden diagnostiikkaa, hoitoa ja ehkäisymenetelmiä. Mikrobiologia jaetaan viiteen osa-alueeseen, jotka tutkivat eri taudinaiheuttajia tai immuunijärjestelmää. Osa-alueita ovat bakteriologia, virologia, parasitologia, mykologia ja immunologia. Erilaisia taudinaiheuttajia ovat bakteerit, virukset, parasiitit ja sienet. (Heikkilä 2005.)

### 2.2.1 Kliininen bakteriologia

Kliininen bakteriologia on bakteereja tutkiva tieteenala (Duodecim 2014). Bakteerit ovat yksisoluisia organismeja, joita voidaan luokitella ryhmiin niiden muodon, rakenteen, gramvärjäytyvyyden ja fysiologisten ominaisuuksien perusteella (Heikkilä & Meurman 2005). Lähes kaikki bakteerit ovat mikroskooppisen pieniä, eli niitä ei paljaalla silmällä pysty havaitsemaan (Vaara ym. 2010). Bakteerien tutkimisessa käytetään erilaisia menetelmiä. Bakteereja voidaan viljellä näytteestä kiinteille elatusmaljoille, joita säilytetään yön yli lämpökaapissa. Bakteerit ehtivät tässä ajassa jakautua miljooniksi jälkeläisiksi ja kun ne kiinteällä alustalla eivät pysty liikkumaan vapaasti, niistä muodostuu silmin havaittavia pesäkkeitä. Bakteerien tunnistus ja nimeäminen tapahtuvat yleensä niiden biokemiallisten ominaisuuksien perusteella tai niiden vasta-aineisiin perustuviin immunologisiin reaktioihin. Kun bakteeri on tunnistettu ja nimetty, tehdään sille vielä herkkyysmäärityksiä, jotta tiedetään, millaisella antibiootilla bakteeri saadaan häädettyä. (Heikkilä & Meurman 2005.)

Kaikista tunnetuista bakteerilajeista vain noin sata aiheuttaa ihmiselle tauteja. Ihminen alkaa syntymästään asti keräämään itseensä mikrobeja, joista osa jää pysyvästi ihon ja limakalvojen mikrobiston osaksi, normaaliflooraksi. Normaaliflooraa on runsaasti ihon taivekohdissa ja aukkojen ympärillä sekä limakalvoilla. Ne toimivat aktiivisesti ihmisen vastustuskyvyn osana. Jotkin bakteerit tuottavat meille elintärkeitä vitamiineja ja toiset maitohappoa, joka suojaa limakalvoja muilta mikrobeilta. (Karhumäki ym. 2005.) Normaaliflooraan kuuluvat bakteeritkin voivat joskus olla taudinaiheuttajina, jos ne joutuvat elimistön muille alueille kuin kuuluvat. Esimerkiksi suoliston normaaliflooraan kuuluva E.Coli bakteeri on yleisin virtsatieinfektioiden aiheuttaja. Normaaliflooran bakteerit voivat aiheuttaa tauteja myös esimerkiksi haavainfektioissa. Joskus kehon vastustuskyvyn puutteen vuoksi normaaliflooran heikko taudinaiheuttaja voi saada aikaan taudin ihmisellä. Tällaista bakteeria kutsutaan opportunistiksi. (Karhumäki ym. 2005; Siittonen & Vaara 2010.)

Kliinisesti tärkeät bakteerit jaetaan niiden soluseinän rakenteen mukaan grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin bakteereihin. Bakteerit voidaan jakaa myös niiden muodon perusteella kokki- ja sauvabakteereihin. Pallomaiset kokkibakteerit voivat olla pareittain (diplokokki), neljän solun neliömäisenä ryhmänä, kahdeksan solun kuutiomaisena ryhmänä (sarcina), ketjuina (streptokokki) tai rykelminä (stafylokokki). Myös sauvabakteerit voivat ryhmittyä lyhyiksi ketjuiksi. (Heikkilä & Meurman 2005; Sojakka & Välimäki 2011.)

Bakteerit ovat kehittyneet selviämään erilaisissa olosuhteissa. Niiden täytyy löytää ympäristöstään kaikki ainekset, joita ne tarvitsevat energian tuottamiseen ja solun toimintoihin. Toiset bakteerit ovat erittäin vaativia ravinteiden suhteen, kun taas toisille riittää vain yksinkertaiset ravinteet. Bakteerien lisääntyminen on riippuvaista myös lämpötilasta, kaasulosuhteista, happamuudesta ja kosteudesta. Suurin osa patogeeneista bakteereista kasvaa parhaiten neutraalissa happamuudessa. (Sarvas, Skurnik & Vaara 2010, Heikkilä & Meurman 2005; Jonsson, Karhumäki & Saros 2005.) Jokaisella mikrobilla on oma optimilämpötila, jossa sen lisääntyminen on nopeinta. Tautia aiheuttavien bakteerien optimilämpötila on yleensä ihmisen kehon lämpötila eli 35-37 °C. (Heikkilä & Meurman 2005; Jonsson ym. 2005.) Bakteerien lisääntyminen on riippuvaista myös niiden hapensietokyvystä. Aerobisille bakteereille happi on välttämätöntä, kun taas anaerobiset bakteerit eivät siedä happea lainkaan. Fakultatiivisesti aerobiset bakteerit voivat kasvaa sekä hapettomissa että hapellisissa olosuhteissa. (Jonsson ym. 2005.)

Bakteriologian tärkein diagnostinen menetelmä on bakteeriviljely. Se on ainoa menetelmä, joka mahdollistaa bakteerin tunnistuskokeet ja monipuoliset jatkotutkimukset. Yleensä bakteerinäytteet viljellään kiinteään agar pohjaisen elatusaineen päälle, mutta viljely on mahdollista tehdä myös nestemäisessä elatusaineessa tai vinopinnoilla koeputkissa. Yksi bakteeri jakaantuu kasvatuksessa yön yli miljooniksi jälkeläisiksi. Kiinteällä alustalla ne eivät pääse liikkumaan vapaasti ja niistä muodostuu silmin havaittava pesäke. Eri bakteerit muodostavat maljalla erilaisia pesäkkeitä joiden perusteella bakteerit voidaan tunnistaa toisistaan. Usein luontaisia näytteitä viljeltäessä, maljalla kasvaa



useampaa bakteeria, jotka muodostavat erinäköisiä pesäkkeitä. (Heikkilä & Meurman 2005; Sojakka & Välimäki 2011.) Bakteriviljelymaljaa tutkittaessa katsotaan pesäkkeiden kokoa, muotoa, väriä, rakennetta ja pesäkkeiden ympäröivää aluetta. Pesäkkeiden ympärillä elatusaineessa tapahtuneet muutokset voivat kertoa bakteriyhdyskunnan aineenvaihdunnasta ja antaa näin vinkkiä maljalla kasvavasta bakteerilajista. Maljan tutkinnassa voidaan käyttää myös varoen hajuaistia. Osalla bakteereista on sille ominainen haju, esimerkiksi *Pseudomonas* –bakteeri tuoksuu kukkaiselle. (Sojakka & Välimäki 2011.)

Bakteereja voidaan tutkia myös mikroskoopilla. Mikroskooppinen tutkimus tehdään yleensä gramvärjäyksen jälkeen. Gramvärjäys värjää grampositiiviset bakteerit sinisiksi ja gramnegatiiviset punaisiksi. Värjätystä näytteestä nähdään onko bakteeri grampositiivinen vai –negatiivinen ja onko se sauva vai kokki. Gramvärjäys on käytetyin värjäysmenetelmä bakteriologiassa ja se perustuu bakteerien soluseinien rakenne-eroihin. Mikroskooppinen tutkimus soveltuu kliinisessä mikrobiologiassa parhaiten normaalisti steriilien näytteiden tutkimiseen. Esimerkiksi likvor ja nivelnesteistä mikä tahansa bakteerilöydös on merkityksellinen, koska niistä ei kuuluisi bakteereja löytyä. Koska mikroskoopilla ei pysty erottamaan rakenteeltaan samanlaisia bakteerisukuja tai lajeja toisistaan, se ei sovellu normaaliflooraa sisältävän näytteen tutkimiseen kovinkaan hyvin. (Heikkilä & Meurman 2005; Sojakka & Välimäki 2011.)

Bakteerien lopullinen tunnistaminen ja nimeäminen tapahtuu pesäkemorfologian ja mikroskopoinnin lisäksi testaamalla niiden biokemiallisia ominaisuuksia, esimerkiksi kykyä käyttää erilaisia sokereita energianlähteenä tai tuottaa jotain entsyymiä. (Heikkilä & Meurman 2005.) Biokemiallisia testejä ovat muunmuassa katalaasi- ja koagulaasikoe. Katalaasitestillä erotetaan streptokokit ja stafylokokit toisistaan perustuen stafylokokkien kykyyn hajottaa vetyperoksidia vedeksi ja hapeksi katalaasientsyymillä avulla. Koagulaasitestillä taas erotetaan *Staphylococcus aureus* muista stafylokokkeista. Oksidaasitestillä testataan bakteerin kykyä tuottaa sytokromioksideaasia. Oksidaasiposiitivinen

bakteeri on aerobibakteeri tai fakultatiivisesti aerobibakteeri. (Sojakka & Välimäki 2011; Michigan State University 2010.)

Kun patogeeninen mikrobi on tunnistettu, tehdään sille vielä antibioottiherkkyyks määritys. Tavallisin tapa määrittää bakteerikannan antibioottiherkkyyttä on agardiffuusio, eli kiekkomenetelmä. Siinä herkkyysmaljalle levitetään tasaisesti bakteerisuspensiota ja kyseiselle bakteerille sopivat antibioottikiekot. Yön yli kasvatetusta maljasta mitataan kiekkojen ympärille muodostuneiden estorenkaiden halkaisijat. Estorenkään koko kertoo bakteerikannan herkkyudesta kyseiselle antibiootille. Kun estorenkään halkaisija on liian pieni, se on resistentti tälle antibiootille. Antibioottiherkkyyks määritys kertoo lääkärille mitä antibioottia potilaan infektiin voi määrätä. (Sojakka & Välimäki 2011; Michigan State University 2010.)

### 2.3 Bioanalyytikko klinisen mikrobiologian laboratoriossa

Bioanalyytikko on ammattikorkeakoulutuksen saanut terveystalon ammattilainen, joka työskentelee laboratorioissa. Bioanalyytikot tekevät potilastutkimuksia, ottavat potilasnäytteitä sekä analysoivat näitä näytteitä eri laboratorioissa. Tämä edellyttää bioanalyytikolta erikoisosaamista. Bioanalyytikko voi jatkokoulutuksella ryhtyä esimerkiksi opettajaksi, osaston- tai ylihoitajaksi. (Suomen bioanalytikkoliitto Ry 2014a.) Turun ammattikorkeakoulussa bioanalyytikko-opiskelijoilla on opetussuunnitelmassa 5 opintopistettä mikrobiologian teoriaa ja 2 opintopistettä mikrobiologian käytännön harjoittelua (Bioanalyytikko (AMK) 2014).

Bioanalyytikot työskentelevät monenlaisissa klinisissä laboratorioissa, kuten klinisen mikrobiologian laboratoriossa. Mikrobiologian laboratoriossa bioanalyytikot työskentelevät muun muassa sairaalamikrobiologien ja mikrobiologian erikoislääkäreiden kanssa. Mikrobiologian laboratoriossa työskennellään osana moniammatillista tiimiä. (Suomen Bioanalytikkoliitto 2015.)

Laboratoriotutkimusprosessi sisältää kaikki vaiheet tutkimuspyynnöstä luotettavaan tulokseen. Tämän tutkimusprosessin hallinta on bioanalytikon ammattipätevyyden perusta. Bioanalytikon on hallittava laboratoriotutkimusprosessin pre-

nalyttiset, analyttiset sekä postanalyttiset vaiheet, jotta voidaan päätyä luotettaviin tuloksiin. Preanalyttisessä vaiheessa bioanalyttikon kuuluu toimia asiantuntijana näytteenottoon liittyvissä asioissa. Analyttisessä vaiheessa bioanalyttikon tehtävä on suorittaa laboratoriotutkimus ottaen huomioon laatu ja luotettavuus. Postanalyttisessä vaiheessa bioanalyttikon pitää osata arvioida tutkimuksen onnistuminen ja tulosten luotettavuus. (Opetusministeriö 2006; Tuokko ym. 2009.)

Tekniikan kehittyessä laboratoriotyöskentely muuttuu koko ajan automatisoidummaksi. Mikrobiologian laboratoriossa tehdään silti vielä paljon töitä käsin. Bioanalyttikon työnkuva vaihtelee mikrobiologian laboratoriossa paljon työpisteen ja laboratorion koon mukaan. Bakteriologian osastolla tulkitaan ja vastataan itsenäisesti muun muassa virtsa-, uloste- ja nieluviljelyitä. Immunologian osastolla bioanalyttikot tekevät infektioserologisia ja autoimmunologisia tutkimuksia. Virologian osastolla tutkitaan viruksia ja niiden tuottamia vasta-aineita PCR-menetelmällä. Parasiitteja tai sieniä tutkiakseen bioanalyttikon täytyy suorittaa laboratoriossa pitkä perehtyminen aiheeseen. Nämä aiheet opitaan vain käytännön työssä. (Suomen Bioanalyttikkoliitto 2015.)

Turun ammattikorkeakoulun opetussuunnitelman mukaan kliinisen mikrobiologian osaamistavoitteisiin kuuluu perustietojen hallinta tavallisimmista taudinaiheuttajista, tuntee mikrobiologiset tunnistusmenetelmät sekä mikrobiologisen välineistön. Lisäksi opiskelijoiden tulisi oppia perusasiat mikrobiologisten näytteiden otosta. Opintojaksolla käsitellään bakteerit, virukset, sienet ja parasiitit taudinaiheuttajina, mikrobiologisten näytteiden otto, työturvallisuus ja aseptinen työskentely. (Turun ammattikorkeakoulu 2015.)

## 2.4 Aikaisemmat tutkimukset

Helenius, Kilpeläinen ja Taponen (2012) laativat opinnäytetyönään Savonian ammattikorkeakoululle työohjeet mikrobiologian laboraatioihin. He kartoittivat ensin kyselylomakkeella kaikkien Suomen keskussairaaloiden mikrobiologian osastoilla käytettävät bakteerien tunnistusmenetelmät ja näiden perusteella

varmistivat, että tekisivät vain ajankohtaisista tutkimuksista työhjeet. Opinnäytetyön tuloksena valmistui työhjeet, jotka kuvasivat tarpeellisten bakteerien-tunnistuskokeiden ohjeet vaihevaiheelta sanallisesti sekä kuvallisesti.

Tomperin (2013) opinnäytetyössä koottiin kuvallinen oppimateriaalin hiivojen ja bakteerien tunnistusmenetelmistä Etelä-Karjalan keskussairaalan kliinisen mikrobiologian laboratoriolle. Tavoitteena oli luoda oppimateriaali, jota voidaan käyttää perehdytys- ja koulutusvälineenä. Työ koostui kolmesta osasta: raportista, kuvallisesta tuotoksesta sekä materiaalin testauksesta bioanalytiikan opiskelijoilla ja työntekijöillä.

Haatanen ja Hyvärinen (2013) laativat toiminnallisessa opinnäytetyössään oppimateriaalin Savonian ammattikorkeakoululle veriviljelyiden laboratoriotyöprosessista. Tavoitteena oli tuottaa oppimateriaali, joka helpottaa opiskelijoiden oppimista. He tekivät kuvallisen materiaalin, jossa oli myös oppimista edistäviä kysymyksiä.

### 3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT

Tässä opinnäytetyössä pyritään yhdistämään käytännöntoteutus ja raportointi tutkimusviestinnän keinoin toiminnallisen opinnäytetyön mallin mukaisesti. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on laatia yhtenäinen oppimateriaali mikrobiologian bakteeritunnistuskokeiden työohjeista ja mikrobiologisten näytteiden otto-ohjeista Turun ammattikorkeakoululle. Tässä opinnäytetyössä käytetään hyväksi vanhoja työohjeita sekä Turun yliopistollisen keskussairaalan mikrobiologian laboratoriossa käytössä olevia työohjeita. Työssä eritellään muun muassa seuraavat kliiniset mikrobiologian osa-alueet;

- a) Laboratorion järjestyssäännöt
- b) Virtsanäytteen bakteeriviljely
- c) Yleisimmät virtsatieinfektioden aiheuttajat
- d) Nielunäytteenotto ja bakteeriviljely
- e)  $\beta$ -hemolyttiset streptokokit
- f) Gram-värjäys
- g) Koagulaasitesti
- h) Katalaasitesti
- i) Oksidaasitesti
- j) API 20E enterobakteerien identifikaatiotesti
- k) Basitrasiinikiekko
- l) Streptokokkiagglutinaatiotesti

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on luoda työelämälähtöinen ja käytännönläheinen mikrobiologian oppimateriaali bioanalyttikko-opiskelijoille, joka toteutetaan ajankohtaisella tiedolla ja ammatillisesti. (Vilka & Airaksinen 2004.)

## 4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

### 4.1 Opinnäytetyön toteutus

Tälle opinnäytetyölle haettiin toimeksianto Turun ammattikorkeakoulun Bioanalytikkokoulutuksen koulutuspäälliköltä tammikuussa 2015. Aineisto kerättiin syksyllä 2014 ja talvella 2015 ohjaavan opettajan tuella. Tämä opinnäytetyö ei aiheuttanut kustannuksia opinnäytetyötä tarjoavalle organisaatiolle.

Opinnäytetyö aloitettiin rajaamalla opinnäytetyön aihealue vain Turun ammattikorkeakoulussa käytettäviin mikrobiologisiin tutkimuksiin. Kun aihealue oli rajattu, aloitettiin luotettavien lähteiden etsiminen. Lähteitä etsittiin käyttäen apuna erilaisia tietokantoja, kuten Turun ammattikorkeakoulun Aura-tietokantaa ja Nelli-tiedonhakuportaalia. Tietokantojen lisäksi lähteitä etsittiin myös muun muassa Terveystieteen ja Medicin aineistoista.

Kun lähteet oli etsitty, laadittiin opinnäytetyölle viitekehys. Pohjana käytettiin tutkimussuunnitelmassa määriteltyjä keskeisiä käsitteitä. Viitekehys laadittiin vuorovaikutuksessa ohjaavan opettajan kanssa palautetta kuunnellen ja tarvittavia korjauksia tehden. Kun viitekehys valmistui, tehtiin sen pohjalta työohjeet mikrobiologian laboraatioihin.

Myös tuotos tehtiin yhteistyössä ohjaavan opettajan kanssa. Siitä tehtiin useita versioita ja korjauksia. Lopuksi opinnäytetyöraporttiin kuvattiin opinnäytetyön vaiheet ja tuotoksen tekemisessä vastaan tulleet haasteet ja onnistumiset.

### 4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Toiminnallinen opinnäytetyö tavoittelee ammatillisessa kentässä käytännön toiminnan ohjeistamista, opastamista, toiminnan järjestelemistä ja järjeistämistä.

Tärkeää on yhdistää käytännön toteutus ja sen raportointi tutkimusviestinnän keinoin. (Vilkkä & Airaksinen 2004.)

Tämä opinnäytetyö on toiminnallinen, sillä sen tuloksena syntyi erillinen, kirjallinen oppimateriaali. Tuotosta käytetään Turun ammattikorkeakoulun bioanalyytikkokoulutuksen klinisen mikrobiologian käytännön opetuksessa. Opinnäytetyöraportissa kerrotaan tuotoksen tekemisen vaiheet, ongelmat ja onnistumiset.

#### 4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Tälle opinnäytetyölle annettiin ammattikorkeakoulun ohjeiden mukaisesti toimeksiantosopimus. Tässä opinnäytetyössä ei käytetty plagiointia ja lähteiden luotavuuteen kiinnitettiin huomiota. Tämä opinnäytetyö tehtiin hyviä tieteellisiä käytäntöjä ja bioanalyytikon eettisiä periaatteita noudattaen. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012; Suomen bioanalytiikkoliitto Ry. 2006a.) Tämän opinnäytetyön tekemiseen ei käytetty potilaita tai potilastietoja, joten potilaiden yksityisyydestä ei tarvinnut huolehtia. Tämä helpotti työn etenemistä eettisten lähtökohtien kannalta merkittävästi. Tämän opinnäytetyön aihe on tärkeä, koska siinä syntynyt tuotos helpottaa bioanalytiikko-opiskelijoiden klinisen mikrobiologian opiskelua. Ennen yhtenäistä työohjetta ei ole ollut.

## 5 TUOTOS

### 5.1 Työohjeen laatiminen

Opinnäytetyön tuotos, Mikrobiologiaa –laboraatioiden työohjeet bioanalyttikko-opiskelijoille (23 sivua, 5 kuvaa ja 5 kaaviota) luovutetaan Turun ammattikorkeakoulun käyttöön sähköiseksi oppimateriaaliksi, joka on opiskelijoiden vapaasti tulostettavissa sähköisellä opiskelualustalla. Se tehtiin vastaamaan bioanalyttikkokoulutuksen klinisen mikrobiologian perusopintoja. Tuotos tallennettiin Cd-romille PDF-formaattiin, josta mikrobiologian opettaja voi sen opiskelijoille jakaa.

Tuotoksen tekeminen aloitettiin suunnittelemalla työohjeiden sisältö ja muoto. Työohjeet pyrittiin kirjoittamaan loogisessa järjestyksessä, jotta niiden käyttö olisi mahdollisimman helppoa. Työohjeiden sisällöksi päätettiin rajata Turun ammattikorkeakoulun klinisen mikrobiologian opetuksen kannalta tarpeelliset testit ja työohjeet, kuten mikrobiologisten näytteiden näytteenotto, bakteeriviljelyt ja koulun käyttämät bakteerien tunnistustestit. Kun sisältö oli päätetty, etsittiin luotettavia ja hyviä lähteitä. Loppujen lopuksi päädyttiin käyttämään Tykslabin Kliinisen mikrobiologian laboratorion työohjeita, Turun ammattikorkeakoulun käytössä olevien testien pakkausselosteita sekä erilaisia aineistoja ja lähdekirjallisuutta.

Työohjeita kirjoitettiin yksi kerrallaan, pyrkien siihen, että kokonaisuudesta tulisi mahdollisimman helppolukuinen ja hyvin jäsennelty. Jokaiseen työohjeeseen kirjoitettiin pieni teoriaosuus pohjustamaan itse työvaiheita ja kertomaan testien toimintaperiaatteista. Joitain työohjeita havainnollistettiin kuvin ja kaavioin. Työohjeita hiottiin pitkään ja niiden tekemiseen käytettiin paljon aikaa. Työohjeista haluttiin mahdollisimman yksinkertaisia ja hyödyllisiä bioanalyttikko-opiskelijoille.

Kuvat ja kaaviot piirrettiin ja suunniteltiin itse luotettavia lähteitä apuna käyttäen. Kuvien tekemiseen käytettiin useampia kuvankäsittelyohjelmia ja tekstinkäsitte-



lyohjelmia. Osa kuvista piirrettiin käsin, kun taas osa tehtiin kokonaan kuvankäsittelyohjelmilla. Kaaviot tehtiin tekstinkäsittelyohjelmilla ja ne vaativat paljon työtä. Kuvia tehdessä kiinnitettiin huomiota niiden selkeyteen sekä värien käyttöön. Tarkoitus oli käyttää sellaisia väriyhdistelmiä, että niistä saa hyvin selvää, riippumatta siitä, tulostiko kuvat mustavalkoisena vai värillisenä.

Tuotoksen ulkoasusta haluttiin mahdollisimman selkeä ja jäsennelty. Siksi siihen tehtiin sisällysluettelo, josta on helppo selata, mitä kaikkea työ pitää sisälleen. Kuville on tehty oma luettelonsa, jotta tekstin viittaamiin kuviin löytää helposti. Tekstin viittauksiin upotettiin myös suorat linkit, joita painamalla pääsee suoraan viitattuun kuvaan tai kaavioon. Fontiksi valittiin Arial, koska se on selkeä ja yksinkertainen fontti.

## 6 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli luoda työelämälähtöinen ja käytännönläheinen mikrobiologian oppimateriaali ammattitaitoisesti ja ajankohtaista tietoa käyttäen. Tarkoituksena oli tehdä yhtenäinen oppimateriaali Turun ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille mikrobiologian opintojaksolle. Tämän opinnäytetyön tuotoksen avulla bioanalyttikko-opiskelijat löytävät helposti yksinkertaiset ja selkeät työohjeet erilaisiin mikrobiologian menetelmiin ja testeihin.

Tämän opinnäytetyön tuotos aloitettiin rajaamalla aihealueet, joita työ käsittelee. Päädyttiin sisällyttämään oppimateriaaliin Turun ammattikorkeakoulun bioanalyttikkokoulutuksen mikrobiologian opintojaksoon kuuluvat bakteerien tunnistustestit, bakteeriviljelyt, mikrobiologisten näytteiden otto ja bakteerien tunnistaminen maljalta virtsa- ja nielunäytteiden osalta. Alun perin työssä piti käsitellä myös yleisimmät hengitystieinfektion ja virtsatieinfektion aiheuttajabakteerit, mutta opinnäytetyön tekijä päätti rajata ne ulos työstä, koska bakteereista on jo aiemmin tehty laaja oppimateriaali Turun ammattikorkeakoululle. Opinnäytetyön tekijä päätyi sitten laatimaan jokaista osiota ennen pienen teoriaosuuden, josta käy ilmi esimerkiksi yleisin virtsatie- ja hengitystieinfektioiden aiheuttaja.

Turun ammattikorkeakoululla ei ole yhtenäistä oppimateriaalia mikrobiologian laboraatioihin. Tämän opinnäytetyön tekijä muokkasi kaikki Turun ammattikorkeakoululla käytössä olevat työohjeet yhtenäiseen ja selkeään muotoon ja lähdekirjallisuuden avulla laati työohjeet erilaisille viljelytekniikoille ja näytteenotto tilanteille. Opinnäytetyön tekijä päivitti muun muassa streptokokkiagglutinaatio- ja stafylokokkiagglutinaatiotestien työohjeet testien pakkausselosteiden avulla. Pakkausselosteet olivat englanniksi ja niiden suomentaminen oli välillä hankalaa. Englanninkielisille entsyymeille ja termeille oli välillä vaikea löytää oikeaa suomenkielistä termiä tai vastinetta, mutta lopulta opinnäytetyön tekijä sai kaikista testeistä selkeät ja hyvät työohjeet aikaiseksi.

Opinnäytetyössä olevat kuvat ovat luotettavia. Ne piirrettiin luotettavien lähteiden tietojen perusteella. Kaikki kuvat ovat opinnäytetyön tekijän piirtämiä. Kuvia piirtäessä piti miettiä, miltä kuvat näyttävät valmiissa tuotoksessa. Koska tämän opinnäytetyön tuotos on tarkoitus antaa bioanalyttikko-opiskelijoille tulostettavaksi laboraatioihin, piti kuvien väritys saada selkeäksi riippumatta siitä, tulostiko kuvat värillisinä vai musta-valkoisina. Kuvien skannauksessa oli ongelmia, koska kuvien värit haalistuivat niin paljon. Tämä ongelma saatiin kuitenkin korjattua kuvankäsittelyohjelmilla. Kuvien värityksen takia kuvista tehtiin monta versiota ja niiden värejä testattiin monesti niin musta-valko- kuin väritulosteissa. Myös kuvien sijoittelu työhön toi oman haasteensa, koska kuvat oli pidettävä sen kokoisina, että niistä saisi tulostettuna selvää ja ne haluttiin kuitenkin sijoittaa työhön loogisesti tekstin lomaan. Tämä ongelma saatiin ratkaistua pitkäjänteisyydellä ja syvällisemmällä tutustumisella tekstinkäsittelyohjelmaan.

Tämän opinnäytetyön tuotoksen lopusta löytyy vuokaaviot, joiden avulla bakteerit lopulta tunnistetaan. Ne on tehty mukailen Tykslabin kliinisen mikrobiologian laboratorion käyttämiä vuokaavioita. Vuokaavioiden tekeminen osoittautui odotettua haasteellisemmaksi ja niiden tekemiseen menikin monta kokonaista päivää. Vuokaaviot tehtiin Microsoft Word ohjelmalla ja apuna käytettiin Paint ohjelmaa ja kuvankäsittelyohjelmia. Vuokaavioiden tekeminen olisi luultavasti onnistunut helpommin ja joustavammin, jos tämän opinnäytetyön tekijä olisi osannut käyttää jotain kaavioiden tekemiseen tarkoitettua ohjelmaa. Vuokaaviot tallennettiin jpg -muotoon, joten niiden jälkeempään muokkaus ei ole käytännössä enää mahdollista.

Jatkotutkimusaiheena voisi kyselytestillä tutkia oppimateriaalin hyödyllisyyttä ja toimivuutta.

## LÄHTEET

Duodecim. 2014. Lääketieteen termit. Viitattu 23.4.2014.  
[http://www.terveysportti.fi.ezproxy.turkuamk.fi/terveysportti/rex\\_terminologia.koti](http://www.terveysportti.fi.ezproxy.turkuamk.fi/terveysportti/rex_terminologia.koti)

Haatanen, P. & Hyvärinen, H-M. 2013. Oppimateriaali veriviljelyiden kliinisestä laboratoriotyöprosessista bioanalyttikko-opiskelijoille. Opinnäytetyö. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Savonia-ammattikorkeakoulu. Viitattu 24.4.2014. Saatavilla:  
[http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/66280/Haatanen\\_Paula%20Hyvarinen\\_Hanna-Mari.pdf?sequence=1](http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/66280/Haatanen_Paula%20Hyvarinen_Hanna-Mari.pdf?sequence=1)

Heikkilä, R. 2005. Kliininen mikrobiologia tieteenalana. Teoksessa S. Hellstén. (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Bakteriologia. Teoksessa S. Hellstén. (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Helenius, M.; Kilpeläinen, K. & Taponen, E. 2012. Mikrobiologiaa bioanalyttikoille. Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen. Opinnäytetyö. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Savonia-ammattikorkeakoulu. Viitattu 24.4.2014. Saatavilla:  
[http://theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius\\_Minna%20Kilpelainen\\_Kati%20Taponen\\_Elsa.pdf?sequence=1](http://theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius_Minna%20Kilpelainen_Kati%20Taponen_Elsa.pdf?sequence=1)

Jonsson, A.; Karhumäki, E. & Saros, M. 2005. Mikrobit hoitotyöhaasteena. Helsinki: Edita Prima Oy.

Michigan State University 2010. Catalase test. Viitattu 9.2.2015.  
<http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/catalase.html>

Michigan State University 2010. Coagulase test. Viitattu 9.2.2015.  
<http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/coagulase.html>

Michigan State University 2010. Oxidase test. Viitattu 9.2.2015.  
<http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/oxidase.html>

Opetusministeriö 2006. Ammattikorkeakoulusta terveydenhuoltoon. Koulutuksesta valmistuvien ammatillinen osaaminen, keskeiset opinnot ja vähimmäisopinnot. Viitattu 9.2.2015.  
<http://www.minedu.fi/export/sites/default/OPM/Julkaisut/2006/liitteet/tr24.pdf?lang=fi>

Opetussuunnitelma 2014. Bioanalyttikko (AMK). Turun ammattikorkeakoulu. Terveysala. Turku. Kevät 2014.

Sarvas, M.; Skurnik, M. & Vaara, M. 2010. Mikrobiologia. Bakteerien metabolia. Viitattu 9.2.2015.  
[http://www.terveysportti.fi.ezproxy.turkuamk.fi/dtk/oppi/koti?p\\_artikkeli=inf04495&p\\_sel\\_au=15355](http://www.terveysportti.fi.ezproxy.turkuamk.fi/dtk/oppi/koti?p_artikkeli=inf04495&p_sel_au=15355)

Siittonen, A. & Vaara, M. 2010. Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia. . Teoksessa K. Hedman; T. Heikkinen; P. Huovinen; A. Järvinen; S. Meri & M. Vaara. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1. Helsinki: Duodecim.

Sojakka, K. & Välimäki, M. 2011. Ammatillinen mikrobiologia. Helsinki: Opetushallitus.

Suomen Bioanalyttikkoliitto Ry. 2014a. Bioanalyttikon ammatti. Viitattu 28.4. 2014.  
[http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalyttikon\\_ammatti/](http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalyttikon_ammatti/)

Suomen Bioanalyttikkoliitto Ry. 2014b. Kliininen mikrobiologia. Viitattu 23.4.2014.  
[http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalyttikon\\_ammatti/erikoisalut/kliininen\\_mikrobiologia/](http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalyttikon_ammatti/erikoisalut/kliininen_mikrobiologia/)

- Suomen bioanalyttikoliitto Ry 2015. Kliininen mikrobiologia. Viitattu 9.2.2015. [http://www.bioanalyttikoliitto.fi/bioanalyttikon\\_ammatti/erikoisalatkliininen\\_mikrobiologia/](http://www.bioanalyttikoliitto.fi/bioanalyttikon_ammatti/erikoisalatkliininen_mikrobiologia/)
- Suomen Bioanalyttikoliitto Ry. 2006a. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Viitattu 28.4. 2014. [http://www.bioanalyttikoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+suomi+2011+\(1\).pdf](http://www.bioanalyttikoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+suomi+2011+(1).pdf)
- Tolvanen, T. 2011. Formointilinjan työhjeistuksen laadinta. Opinnäytetyö. Kone- ja tuotantotekniikan koulutusohjelma. Savonia-ammattikorkeakoulu. Viitattu 23.4.2014. Saatavilla: [http://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/33845/Tolvanen\\_Tomi.pdf?sequence=1](http://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/33845/Tolvanen_Tomi.pdf?sequence=1)
- Tomperi, T. 2013. Kuvallinen materiaali hiivan ja bakteerin tunnistamiseen. Opinnäytetyö. Metropolia ammattikorkeakoulu. Viitattu 24.4.2014. Saatavissa: <http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/65569/Terhi%20Tomperi%20OPINNAYTETYO%20ja%20kuvamateriaali%2014112013.pdf?sequence=1>
- Tuokko, S.; Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet. Opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö. Viitattu 28.4.2014. <http://www.tenk.fi/fi/htk-ohje/hyva-tieteellinen-kaytanta>
- Uusikylä, K. & Atjonen, P. 2000. Didaktiikan perusteet. Helsinki: WSOY
- Vaara, M.; Skurnik, M. & Sarvas, M. 2010. Bakteerisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa K. Hedman; T. Heikkinen; P. Huovinen; A. Järvinen; S. Meri & M. Vaara. (toim.) Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 1. Helsinki: Duodecim.
- Vainionpää, J. 2006. Erilaiset oppijat ja oppimateriaalit verkko-opiskelussa. Tampere: Tampereen Yliopisto Oy. Viitattu 23.4.2014. <http://tampub.uta.fi/bitstream/handle/10024/67572/951-44-6553-9.pdf?sequence=1>
- Vilka, H. & Airaksinen, T. 2004. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Tammi.

# Opinnäytetyön toimeksiantosopimus



## OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTOSOPIMUS

1

### OPISKELIJAN TIEDOT

Nimi Enni Ahlroth

Osoite \_\_\_\_\_

Puhelin koti \_\_\_\_\_ Puhelin työ \_\_\_\_\_

Sähköposti enni.ahlroth@students.turkuamk.fi

Koulutusohjelma Bioanalyttikko koulutus

### OPINNÄYTETYÖ

Aihe/ työnimi 

Mikrobiologian työohjeet bioanalyttikko-  
opiskelijoille  
- Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivit-  
täminen

Aikataulu ~~syksy 2014 - talvi 2014~~ syksy 2014 - talvi 2015

### TOIMEKSIANTAJA

Organisaatio Turun ammattikorkeakoulu

Työn ohjaaja / yhteyshenkilö Seija Kirkko-Jaakkola

Osoite Ruiskatu 8, 20720 Turku

Puhelin 0403550425 Sähköposti seija.kirkko-jaakkola@turkuamk.fi

### OHJAAVAN OPETTAJAN YHTEYSTIEDOT

Ohjaava opettaja Seija Kirkko-Jaakkola

Puhelin 040 355 0425 Sähköposti seija.kirkko-jaakkola@turkuamk.fi

Turun ammattikorkeakoulu  
Joukahaisenkatu 3 A, 20520 Turku  
puh. 02 263 350 faksi 02 2633 5791  
sposti etunimi.sukunimi@turkuamk.fi



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

## OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTOSOPIMUS

2

### OPINNÄYTETYÖN SOPIMUSEHDOT

#### OHJAUS JA VASTUUT

Vastuu opinnäytetyön tekemisestä ja tuloksista on opiskelijalla. Turun ammattikorkeakoulu vastaa opinnäytetyön ohjauksesta. Toimeksiantaja sitoutuu antamaan opiskelijan käyttöön kaikki opinnäytetyön tekemisessä tarvittavat tiedot ja aineistot sekä ohjaamaan opinnäytetyötä toimeksiantajaorganisaation näkökulmasta.

#### OIKEUDET

Opinnäytetyön tekijänoikeus kuuluu tekijälle eli opiskelijalle. Tekijänoikeuden lisäksi myös muiden immateriaalioikeuksien osalta noudatetaan kulloinkin voimassa olevaa kyseessä olevaa oikeutta koskevaa lainsäädäntöä.

#### TULOSTEN JULKISTAMINEN JA LUOTTAMUKSELLISUUS

Opinnäytetyöstä laaditaan Turun ammattikorkeakoulun ohjeen mukainen kirjallinen raportti. Kirjallinen raportti luovutetaan toimeksiantajalle ja asetetaan kirjaston kokoelmiin tai julkaistaan elektronisessa muodossa verkkokirjastossa.

Julkaistava opinnäytetyöraportti on laadittava niin, ettei se sisällä liike- tai ammattisalaisuuksia tai muita julkisuuslaissa (laki viranomaisten toiminnan julkisuudesta) salassa pidettäväksi

määrättyjä tietoja, vaan ne jätetään työn tausta-aineistoon. Opinnäytetyön arvioinnissa otetaan huomioon sekä julkaistava että salassa pidettävä osa.

Opinnäytetyön toimeksiantaja ja opiskelija sitoutuvat pitämään salassa kaikki opinnäytetyön tekemisessä ja sitä edeltävissä tai sen jälkeisissä neuvotteluissa esiin tulevat luottamukselliset tiedot ja asiakirjat.

Toimeksiantajan edustajalle varataan mahdollisuus tutustua opinnäytetyöraporttiin viimeistään neljätoista (14) päivää ennen aiotun julkaisemista. Toimeksiantajalla on oikeus määritellä salassa pidettävä osuus, jota ei julkaista. Toimeksiantaja antaa työstä ennen edellä mainittua julkaisemisajankohtaa lausunnon, jossa toteaa, että opinnäytetyöraportti voidaan julkaista kokonaisuudessaan tai määrittelee, mikä osuus työstä on salassa pidettävää.

#### TYÖSUHDE JA KUSTANNUKSET

Mahdollisesta työsuhteesta, työstä maksettavasta palkkiosta ja työstä mahdollisesti aiheutuvien kustannusten korvaamisesta toimeksiantaja ja opinnäytetyön tekijä sopivat erikseen.

### OLEMME YHTEISESTI SOPINEET OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUKSESTA YLLÄ ESITETTYLLÄ TAVALLA

29.1.2015

Enni Ahlroth

Opiskelija

— / — 20 —

Toimeksiantaja

29.1.2015

Ohjaava opettaja

29.1.2015

Koulutuspäällikkö

VAJONEN A

### LIITE : OPINNÄYTETYÖSUUNNITELMA



Tulosta lomake

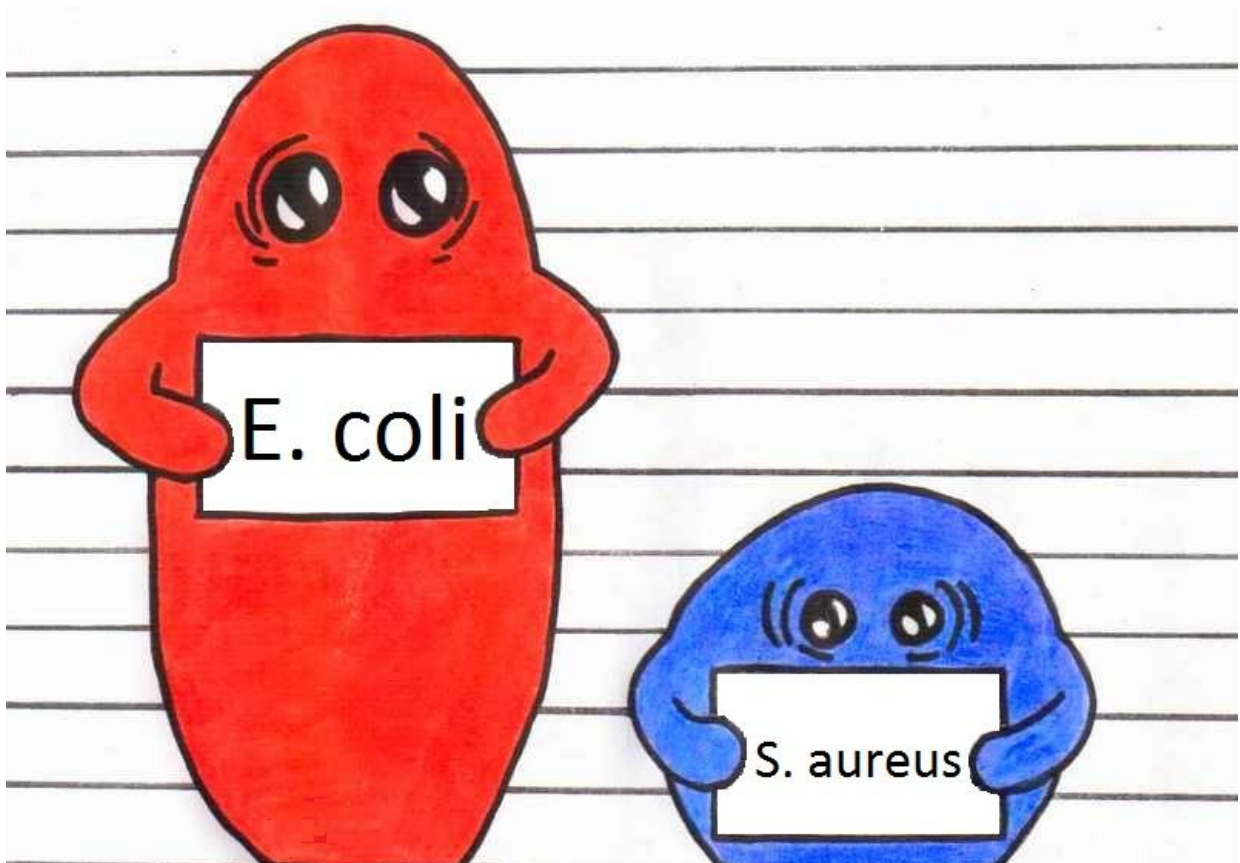
Turun ammattikorkeakoulu  
Joukahaisenkatu 3 A, 20520 Turku  
puh. 02 263 350 faksi 02 2633 5791  
posti etunimi.sukunimi@turkuamk.fi

# Mikrobiologiaa

Laboraatioiden työohjeet bioanalyttikko-  
opiskelijoille

Enni Ahlroth

2015





# SISÄLTÖ

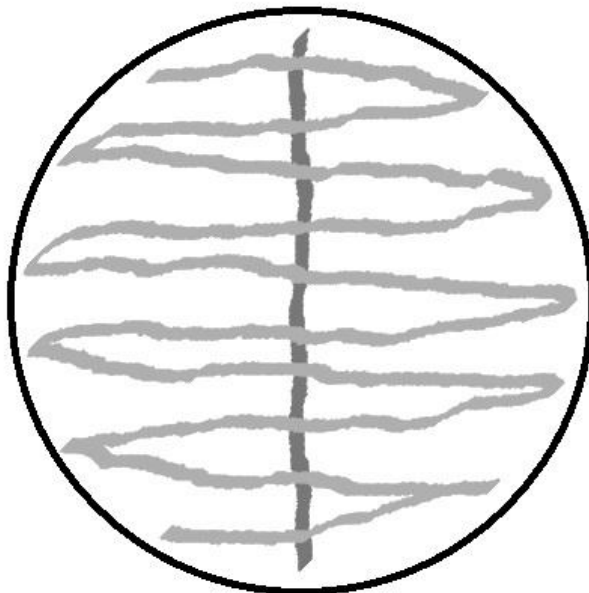
<b>1 VIRTSAÄYTTEEN BAKTEERIVILJELY</b>	<b>26</b>
<b>2 NIELUNÄYTTEENOTTO JA BAKTEERIVILJELY</b>	<b>28</b>
2.1 Nielunäytteenotto	28
2.2 Nieluviljely	29
<b>3 BAKTEERIEN TUNNISTUSKOKEET</b>	<b>31</b>
3.1 Gram-värjäys	31
3.2 Katalaasitesti	33
3.3 Stafylokokkiagglutinaatiotesti	33
3.4 Oksidaasi	34
3.5 API 20E enterobakteerien identifikaatiotesti	35
3.6 Basitrasiiinitesti	36
3.7 Streptokokkiagglutinaatiotesti	37
<b>4 MALJOJEN LUKU</b>	<b>39</b>
4.1 Virtsamaljan tulkinta	39
4.2 Nielumaljan tulkinta	40
4.3 Puhdasviljely	40
4.4 Hajotusviljely	40
4.5 Vuokaaviot	41
4.5.1 Värillinen pesäke ORI-maljalla	41
4.5.2 Väritön pesäke ORI-maljalla	42
4.5.3 Cled-malja	43
4.5.4 Streptokokkiverimalja	44
4.5.5 Basitrasiiinitesti	45
<b>LÄHTEET</b>	<b>46</b>
<b>KUVAT</b>	
Kuva 1.1 Virtsaviljely ja hajotukset	26
Kuva 2.1 Terve nielu	29
Kuva 2.2 Tulehtunut nielu	29
Kuva 2.3 Nieluviljely ja basitrasiiinikiekon paikka	30
Kuva 3.1 Bakteerisolujen värit gram-värjäyksen eri vaiheissa	32

## 1 VIRTSANÄYTTEEN BAKTEERIVILJELY

Virtsanäytteen bakteeriviljelyssä etsitään virtsatieinfektion aiheuttajaa. Näytteeksi käy vähintään 4 tuntia rakossa ollut keskivirtsä, katetrivirtsä, pussivirtsä tai rakkopunktionäyte. Keskivirtsan näytteenotossa tärkeää on huomioida kunollinen alapesu, koska genitaalialueennormaalifloora häiritsee bakteeriviljelyn tulkintaa huomattavasti.

Virtsanäyte viljellään maljalle 1 µl:n silmukalla.

Kasta silmukka näytteeseen niin, että silmukka menee näytepinnan alle kokonaan ja silmukkaan jää näytettä. Tee silmukalla yksi suora veto maljan päästä päähän ja hajota näyte tihein vedoin koko maljalle *Kuva 1.1*



Ensimmäinen veto

Hajotus

***Kuva 1.1 Virtsaviljely ja hajotukset***

Varo osumasta maljan reunoihin, niistä saattaa tulla kontaminaationa epäpuhtauksia.

Viljelyn jälkeen maljaa kasvatetaan lämpökaapissa 1-2 vuorokautta.

Tavallisimmin virtsanäytteet viljellään värimaljalle, esimerkiksi ORI-maljalle. Siinä tietyt bakteeripesäkkeet värjäytyvät tietyllä tavalla. Esimerkiksi *E. coli* värjäytyy pinkiksi ja *E. faecalis* turkoosiksi. Värimaljalta on helppo tehdä johtopäätös.

töksiä jo pelkästään bakteeripesäkkeen ulkomuodon perusteella. Toinen mahdollinen virtsaviljelyyn käytettävä malja on Cled-malja. Siinä käytetään hyväksi joidenkin bakteerien kykyä hajottaa laktoosia. Kun alun perin sinisellä maljalla kasvaa laktoosia hajottava bakteeri, esimerkiksi E. coli, hajottaa se maljan laktoosin happamiksi aineenvaihduntatuotteiksi. Nämä tuotteet muuttavat maljan pH-indikaattorin värin pesäkkeiden ympäriltä keltaiseksi

## 2 NIELUNÄYTTEENOTTO JA BAKTEERIVILJELY

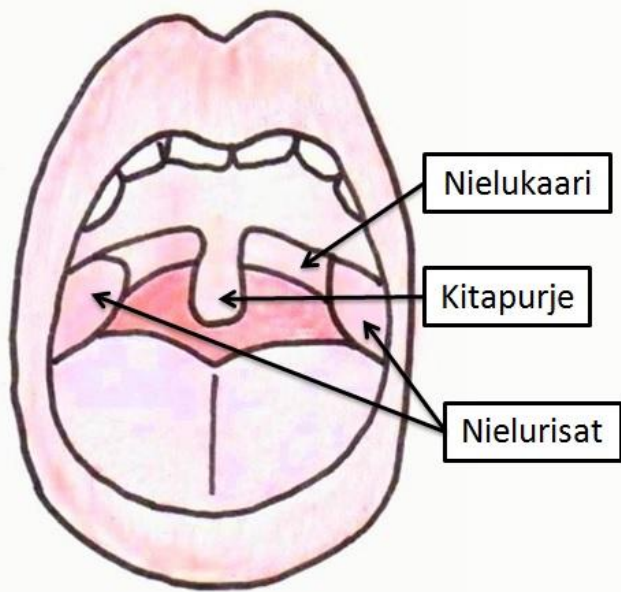
Suurin osa nieluinfektioista on virusten aiheuttamia, mutta kun tulehduksen aiheuttajaksi epäillään bakteeria, tehdään nieluviiljely. Näyte viljellään lampaanverimaljalle ja siitä etsitään  $\beta$ -hemolyyttisiä streptokokkeja.

Tärkein bakteeriperäisen nielutulehduksen aiheuttaja on A-ryhmän streptokokki, *Streptococcus pyogenes*. Muita nielutulehduksia aiheuttavia  $\beta$ -hemolyyttisiä streptokokkeja on C- ja G-ryhmän streptokokit.

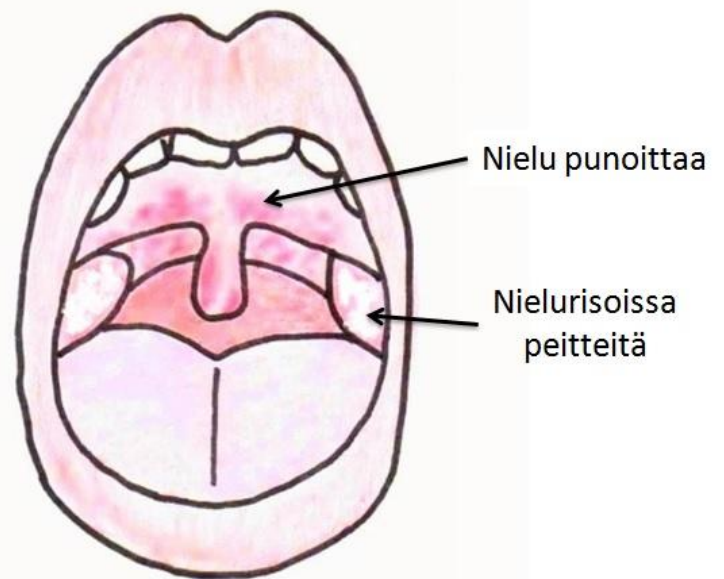
### 2.1 Nielunäytteenotto

Ennen näytteenottoa on suotavaa olla juomatta vähintään tunnin ajan. Myös syömistä, kurkkutabletteja sekä desinfioivia suuvesiä tulisi välttää ennen näytteenottoa.

- Ota tarvittavat välineet valmiiksi esille
- Desinfioi kätesi, pue nenäsuu-suoja ja kumihanskat
- Paina potilaan kieli alas spaattelilla. Voit pyytää potilasta sanomaan "AAA".
- Näyte otetaan pyörittämällä näytetikkaa reippaasti nielurisojen pinnoilla ja tulehtuneen näköisillä alueilla takanielussa. *Kuva 2.2 ja Kuva 2.1*
  - Nielurisojen puuttuessa näyte otetaan nielukaarien väliseltä alueelta.
- Näytettä otettaessa on tärkeää varoa koskemasta kieleen, kitapurjeseen, ikeniin tai hampaisiin.
  - Niissä on paljon normaaliflooraa, joka häiritsee oikeiden patogeenien tunnistamista.



**Kuva 2.2 Terve nielu**



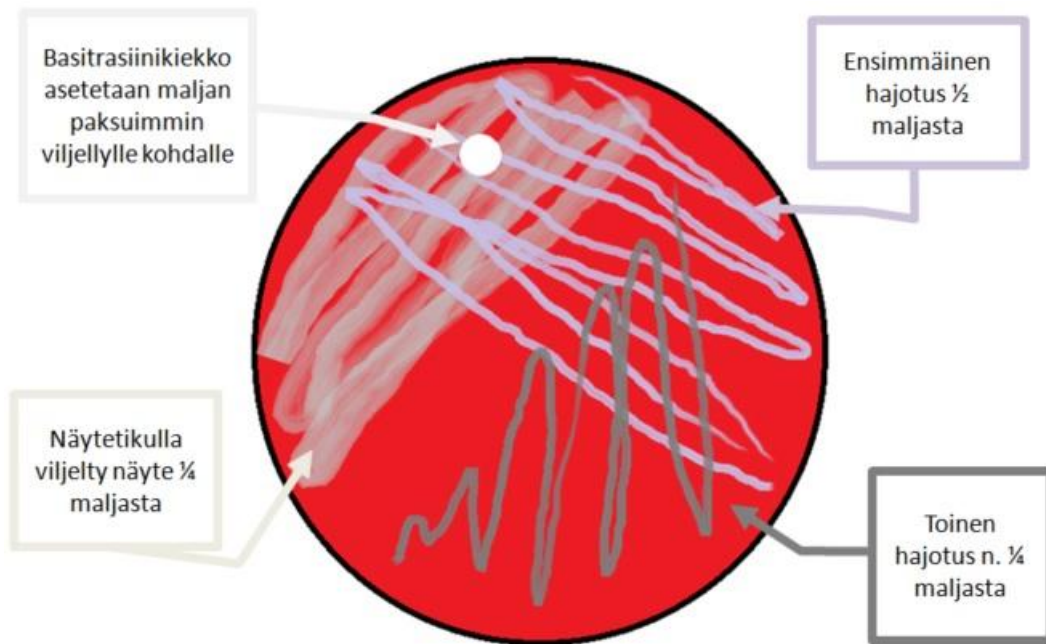
**Kuva 2.1 Tulehtunut nielu**

## 2.2 Nieluviljely

Kun näyte on otettu, viljellään se suoraan näytetikusta maljalle hajotustekniikalla.

- Näytetikkoa pyöritellään maljalla tihein vedoin kattaen noin ¼ maljasta.
- Otetaan puhdas hajotussauva ja tehdään hajotukset *Kuva 2.3*
- Lopuksi asetetaan basitrasiiiniekko maljan paksuimmille viljellylle kohdalle.

Viljelyn jälkeen maljaa kasvatetaan lämpökaapissa 18–24 tuntia. Jos maljalta kasvatuksen jälkeen löytyy  $\beta$ -hemolyyttisiä pesäkkeitä, tehdään tarvittavat jatkotutkimukset vuokaavion mukaisesti.



**Kuva 2.3 Nieluviljely ja basitrasiiiniekkon paikka**

### 3 BAKTEERIEN TUNNISTUSKOKEET

Bakteereita voidaan tunnistaa niiden monien ominaisuuksien perusteella. Esimerkiksi soluseinämän rakenteen, kyvyn tuottaa jotain entsyymiä tai antibioottiherkkyden perusteella.

#### 3.1 Gram-värijäys

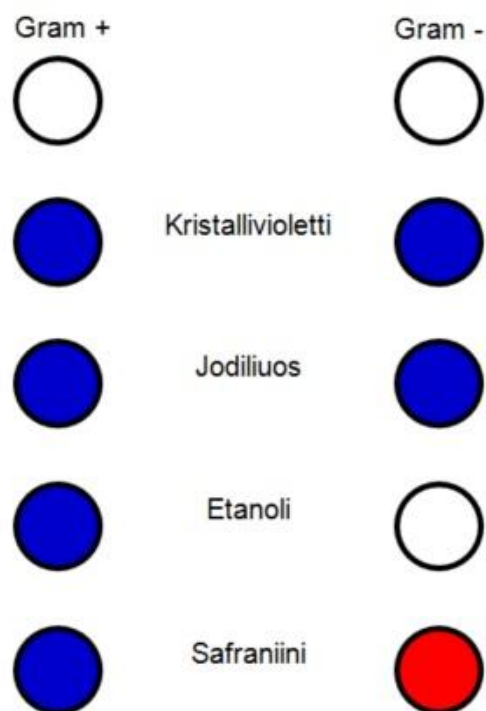
Gram-värijäys on tärkein bakteerivärijäysmenetelmä, jonka perusteella bakteerit jaetaan grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin bakteereihin. Se perustuu grampositiivisten ja gramnegatiivisten bakteerien soluseinämien rakenne-eroihin. Värijäys perustuu grampositiivisten bakteerien paksuun peptidoglykaanikerrokseen, joka alkoholikäsitteilyn aikana lukitsee värin sisäänsä ja gramnegatiivisten bakteerien soluseinämän etanoliliukoisiin lipideihin, jotka alkoholikäsitteilyssä hajottavat soluseinämää päästäten värin huuhtoutumaan ulos solusta.

#### Suoritus:

1. Tehdään suoraan näytteestä, maljalta bakteeripesäkkeistä tai viljelyliemestä ohut ja tasainen sively puhtaalle objektilasille.
2. Ilmakuivattu sively kiinnitetään lasille 95 % metanolissa 2 minuuttia.
3. Kuivalle sivelylle lisätään emäksinen kristallivioletti 1 minuutiksi.
  - Kaikki bakteerisolut värjäytyvät sinivioleteiksi
4. Huuhdellaan ylimääräinen väri pois vedellä. Kiinnitetään väri lisäämällä jodiliuos 1 minuutiksi.
  - Kristallivioletti ja jodi reagoivat keskenään muodostaen kompleksin.
5. Huuhdellaan jodiliuos pois vedellä. Lisätään etanoli-asetoniliuos 30 sekunniksi.
  - Grampositiivisten bakteerien paksu peptidoglykaanikerros kutistuu muodostaen tiheän polymeeriverkon. Kristallivioletti-

- jodikompleksi ei mahdu polymeeriverkon läpi, joten se jää bakterisolun sisään ja bakterisoluihin jää sinivioletti väri.
  - Gramnegatiivisten bakteerien soluseinämien etanoliliukoiset lipidit hajoavat alkoholikäsittelyssä ja kristallivioletti-jodikompleksi pääsee huuhtoutumaan ulos bakterisolusta seuraavan vesihuuhtelun aikana.
- Huuhdellaan sively nopeasti vedellä 5 sekuntia.
    - Gramnegatiiviset bakteerit menettävät sinivioletin värin.
  - Tehdään jälkivärjäys safraniinilla 30 sekuntia.
    - Gramnegatiiviset bakteerit saavat lopullisen punaisen värinsä.
  - Huuhdellaan sively nopeasti vedellä 5 sekuntia ja annetaan värjätyn sivelyn kuivua.

**Tulos: Punainen = Gramnegatiivinen**  
**Sinivioletti = Grampositiivinen**



**Kuva 3.1 Bakteerisolujen värit gram-värjäyksen eri vaiheissa**



### 3.2 Katalaasitesti

Katalaasitestiä käytetään pääasiassa erottamaan stafylokokit ja streptokokit toisistaan. Stafylokokit tuottavat katalaasientsyymiä, joka pilkkoo vetyperoksidin kaasumaiseksi hapeksi ja vedeksi. Tämä reaktio näkyy selkeänä kuplimisena.

#### **Suoritus:**

1. Tiputa tippa 3 % vetyperoksidia objektilasille tai testikortille.
2. Ota steriilillä silmukalla tai viljelysauvalla maljalta bakteeripesäkettä.
3. Sekoita bakteeri kevyesti vetyperoksiditippaan ja tarkkaile reaktiota.

**Tulos:**      **Positiivinen = Selviä kaasukuplia**  
                 **Negatiivinen = Ei kuplintaa**

**Huomaa**, että jos teet katalaasitestin verimaljalta, bakteeri on otettava maljalta todella varovasti koskematta maljan pintaan. Punasolut saattavat aiheuttaa pientä kuplintaa vetyperoksidin kanssa ja se voi johtaa väärään positiiviseen vastaukseen.

### 3.3 Stafylokokkiagglutinaatiotesti

Stafylokokkiagglutinaatiotestissä erotetaan *S. aureus* muista stafylokokkeista. *S. aureus*ksella on pinnallaan ClfA hyytymistekijöitä, jotka agglutinoivat testin fibrinogeenin ja vasta-aineiden kanssa. Reaktio näkyy testikortilla selkeänä agglutinaationa.

#### **Suoritus:**

1. Varmista ensin, että bakteeri on stafylokokki gram-värijäyksen ja katalaasitestin avulla.
2. Sekoita huoneenlämpöiset reagenssin huolellisesti ennen käyttöä.
3. Tiputa tippa latex-reagenssia testikortin yhteen ympyrään.

4. Tiputa tippa negatiivista kontrollia testikortin toiseen ympyrään.
5. Ota silmukalla tai sauvalla 1-3 bakteeripesäkettä ja sekoita niitä latex-reagenssin kanssa 10 sekuntia.
6. Ota silmukalla tai sauvalla 1-3 bakteeripesäkettä ja sekoita niitä negatiivisen kontrollin kanssa 10 sekuntia.
7. Kallistele testikorttia 30 sekuntia ja tarkkaile reaktioita.

**Tulos:**     **Positiivinen** = Testilateksiin tulee selkeä punainen sakka  
                  20sekunnin aikana ja negatiivinen kontrolli ei sakkaa  
                  **Negatiivinen** = Kumpikaan lateksi ei muodosta näkyvää sakkaa

**Huom!** Vääriä positiivisia tuloksia voi tulla, jos korttia ei lueta tarpeeksi nopeasti. 40 sekunnin kuluttua negatiivinenkin tulos voi sakata. Vääriä positiivisia tuloksia voi tulla myös, jos testattava bakteeri ei ole stafylokokki.

### 3.4 Oksidaasi

Oksidaasitestillä erotetaan gramnegatiivisia bakteereja toisistaan. Oksidaasipositiivisia bakteereja ovat esimerkiksi Pseudomonakset, Neisseriat ja Moraxella. Ne tuottavat sytokromioksideasia, joka hapettaa oksidaasireagenssin (tetrameyyli-p-fenyleenidiamiini dihydrokloridi) indofenoliksi. Se ilmenee sinivioletina värinä.

#### **Suoritus:**

1. Valmista päivittäin käyttöliuos laimentamalla kantaliuosta 1:3.
2. Tiputa laimennettua reagenssiliuosta imupaperille.
3. Ota silmukalla tai sauvalla bakteeripesäkettä maljalta ja hiero se imupaperille.
4. Tarkkaile värinmuutosta 10 sekunnin ajan.

**Tulokset:**   **Positiivinen** = sinivioletti  
                  **Negatiivinen** = ei värinmuutosta

**Huomaa**, että väärä positiivisia tuloksia voi tulla, jos testiä ei tulkita tarpeeksi nopeasti. Oksidaasireagenssi vanhenee nopeasti. Jos liuos on valmiiksi violettiä, se on vanhentunut, eikä anna luotettavia tuloksia.

### 3.5 API 20E enterobakteerien identifikaatiotesti

API 20E enterobakteerien identifikaatiotestiä käytetään nimensä mukaisesti tunnistamaan eri enterobakteerit toisistaan. Ne erotetaan niiden biokemiallisten ominaisuuksien perusteella. API 20E liuskassa on 20 mikrotaskua, jotka sisältävät kuivattuja substraatteja. Mikrotaskuihin lisätään bakteerisuspensiota, ja bakteerinaineenvaihdunta aiheuttaa värinmuutoksia, joita tulkitaan testin mukana tulevan taulukon avulla.

#### **Suoritus:**

1. Ennen API 20E testin tekoa, tee oksidaasi testi ja merkkää tulos API kotelon päähän.
2. Valmistele API kotelo laittamalla sen pohjalle noin 5 ml laboratoriovettä kosteuden ylläpitämiseksi. Kirjoita näytteen tunnistetiedot kotelon pidentettyyn päähän. Poista testiliuska paketistaan ja aseta se koteloon.
3. Ota yksi bakteeripesäke ja suspensoi se 5 ml:aan steriiliä vettä.
4. Pipetoi bakteerisuspensiota liuskan mikrotaskuihin. Estät ilmakuplien syntymistä kallistamalla liuskaa ja asettamalla pipetin pään kupolin seinämää vasten.
  - Pipetoi CIT, VP ja GEL mikrotaskut täyteen, niin että kupolikin täyttyy.
  - Muista testeistä täytetään vain taskut.
5. ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S ja URE mikrotaskujen kupolit täytetään öljyllä. Näin luodaan anaerobi ilmasto.
6. Sulje kotelo kannella ja inkuboi 34-38°C 18–24 tuntia.

**Tulokset:**

1. Inkubaation jälkeen lue tulokset paketin mukana tulleen taulukon mukaan.
2. Jos alle 3 testiä on positiivisia, inkuboi testiliuskaa vielä 24 tuntia.
3. Jos 3 tai useampi testeistä on positiivisia, merkitse reaktiot vastausarkille.
4. Lisää TDA-testitaskuun tippa TDA-reagenssia
  - Punaruskea väri tarkoittaa positiivista reaktiota, kirjaa tulos vastausarkille
5. Lisää IND-testitaskuun tippa JAMES-reagenssia
  - Koko taskuun syntyvä pinkki väri tarkoittaa positiivista reaktiota, kirjaa tulos vastausarkille
6. Lisää VP-testitaskuun tippa VP1-reagenssia ja tippa VP2-reagenssia. Inkuboi huoneenlämmössä 10 minuuttia ja lue tulokset
  - Pinkki tai punainen väri tarkoittaa positiivista tulosta. Taskuun voi kymmenen minuutin jälkeen syntyä haalea pinkki väri, se tulkitaan negatiiviseksi. Kirjaa tulokset vastausarkille.
7. Lue lopulliset tulokset taulukon mukaan.

**3.6 Basitrasiinitesti**

Basitrasiinitestiä käytetään *Streptococcus pyogenes*en tunnistamisessa. Sillä erotetaan A ryhmän streptokokki muista  $\beta$ -hemolyyttisistä streptokokeista. *Str. pyogenes* on basitrasiiniherkkä, joten se ei pysty kasvamaan basitrasiinin läsnäollessa.

Basitrasiinitesti tehdään nieluviljelyn yhteydessä. Basitrasiinikiekko asetetaan varovasti maljan paksuimmin viljeltyyn kohtaan. *Kuva 2.3* Inkubaation jälkeen tarkastellaan bakteerien kasvua kiekon ympärillä.

Jos basitrasiinikiekon ympärille on syntynyt halkaisijaltaan yli 15 mm estorengas, bakteeri on basitrasiini herkkä. Jos estorengasta ei ole lainkaan, tai se on alle 15 mm, bakteeri on resistentti, eikä näin ollen ole *Str. pyogenes*. ([ks. vuokaavio 4.5.5](#)).

### 3.7 Streptokokkiagglutinaatiotesti

Streptokokkiagglutinaatiotestillä selvitetään mitä serotyyppejä tutkittava streptokokki on. Testilateksien vasta-aineet reagoivat bakteerin pinnalla olevien anti-geenien kanssa ja agglutinoivat näytteen. Jos esimerkiksi tutkittava bakteeri on A-ryhmän streptokokki, se sakkaa A-ryhmän testilateksin kanssa. Jos taas tutkittava bakteeri on B-ryhmän streptokokki, sakkaa se B-ryhmän testilateksin kanssa.

#### Suoritus:

1. Ota reagenssit ajoissa huoneenlämpöön.
2. Tiputa koeputkeen **1 tippa reagenssia 1**.
3. Lisää silmukalla tai sauvalla 1-4 bakteeripesäkettä koeputkeen ja sekoita tasaiseksi.
4. Lisää koeputkeen **1 tippa reagenssia 2** ja sekoita 5-10 sekuntia.
5. Lisää koeputkeen **5 tippaa reagenssia 3** ja sekoita 5-10 sekuntia.
6. Tiputa reilun kokoinen tippa (40–50 µl) bakteerisuspensiota pasteurpipetillä kuuteen testikortin ympyrään.
7. Sekoita testilateksipullot huolellisesti ennen käyttöä. Tiputa tippa A-lateksia ensimmäiseen ympyrään, tippa B-lateksia toiseen ympyrään ja niin edelleen.
8. Sekoita kunkin ryhmän tipat keskenään sauvan avulla käyttäen jokaisessa ympyrässä puhdasta sauvaa. Kun olet sekoittanut tipat keskenään,

9. kallistele testikorttia noin 30 sekuntia ja tarkkaile reaktioita. Heti, kun jossakin ympyrässä on näkyvissä selkeä sakka, lopeta kallistelu.

**Tulokset:** Tulos on positiivinen, kun jokin testilateksi muodostaa bakteerisuspension kanssa selkeän, taustaltaan kirkkaan sakan 60 sekunnin sisällä. Jos mikään testilatekseista ei sakkaa, on tulos negatiivinen.

## 4 MALJOJEN LUKU

Kun bakteerinäytteet on viljelty maljoille ja maljoja inkuboitu vaadittava aika, voidaan lukea maljat ja suorittaa tarvittavat jatkotutkimukset. Kaikkien maljojen luku alkaa viljelyn ja näytteen laadun arvioinnilla. Katsotaan, kuinka montaa eri bakteerilajia maljalla kasvaa, kuinka runsaasti bakteerit kasvat ja kasvaako viljelyalueen ulkopuolella bakteereita. Eri bakteerilajit luovat maljalle erilaisia pesäkkeitä. Bakteerilajien määrää voidaan siis arvioida tunnistamalla erilaisia pesäkkeitä maljalta. Jos viljelyalueen ulkopuolella on bakteeripesäkkeitä, viittaa se siihen, että maljalla on ollut bakteereita jo ennen näytteen viljelyä. Kyseiset bakteerit eivät siis ole tulleet näytteestä.

### 4.1 Virtsamaljan tulkinta

Virtsamaljaa tulkittaessa ensin arvioidaan, kuinka montaa eri bakteerilajia maljalla kasvaa. Jos virtsanäytettä otettaessa alapesu on laiminlyöty, maljalla kasvaa paljon erilaisia bakteereja. Nämä ovat genitaalialueen normaaliflooraa, eivätkä ole patogeenejä. Maljalla normaalifloora vaikeuttaa oikeiden patogeenien löytämistä ja tunnistamista. On tärkeää tunnistaa, ovatko maljalla kasvavat bakteerit mahdollisia patogeenejä vai ei.

Kun maljalta on katsottu montako bakteerilajia siinä kasvaa, arvioidaan bakteeripesäkkeiden lukumäärä. Lukumäärä ilmoitetaan kymmenpotensseina.  $10^1$ - $10^5$ . Yleensä virtsamaljalla yksittäiset bakteeripesäkkeet eivät ole merkittäviä. Virtsatieinfektion aiheuttanutta bakteeria on virtsassa runsaasti ja se kasvaa maljalla yleensä  $10^4$ - $10^5$ .

Virtsamaljojen tulkinnessa käytetään apuna vuokaavioita. Jos näyte on viljelty ORI-maljalle, käytetään ORI-maljoille tehtyjä vuokaavioita ([ks. vuokaavio 4.5.1](#), [vuokaavio 4.5.2](#)). Cled-maljalle on oma vuokaavionsa ([ks. vuokaavio 4.5.3](#)). Bakteerien tunnistus tapahtuu vuokaavioiden ohjeiden mukaisesti.

## 4.2 Nielumaljan tulkinta

Nielun streptokokkiviljelystä haetaan  $\beta$ -hemolyyttisiä streptokokkeja. Maljan tulkinta aloitetaan siis etsimällä  $\beta$ -hemolyyttisiä pesäkkeitä. Jos niitä löytyy, tulkitaan basitrasiiinitestin tulos vuokaavion mukaisesti ([ks. vuokaavio 4.5.5](#)). Muuten nielumaljan tulkinnassa käytetään apuna streptokokkiverimaljalle tehtyä vuokaaviota ([ks. vuokaavio 4.5.4](#)).

## 4.3 Puhdasviljely

Puhdasviljely eli PV tehdään, kun maljalla kasvaa useampia bakteerilajeja ja tutkittavaa bakteeria ei ole tarpeeksi erillisinä pesäkkeinä jatkotutkimuksia varten. PV tehdään ottamalla varovasti viljelysauvalla haluttua bakteeripesäkettä ja viljellään se uudelle maljalle. Maljaa inkuboidaan tarvittava aika. PV-maljalla kasvaa vain siihen viljeltyä bakteeria, joten siitä on helppo tehdä tarvittavia jatkotutkimuksia.

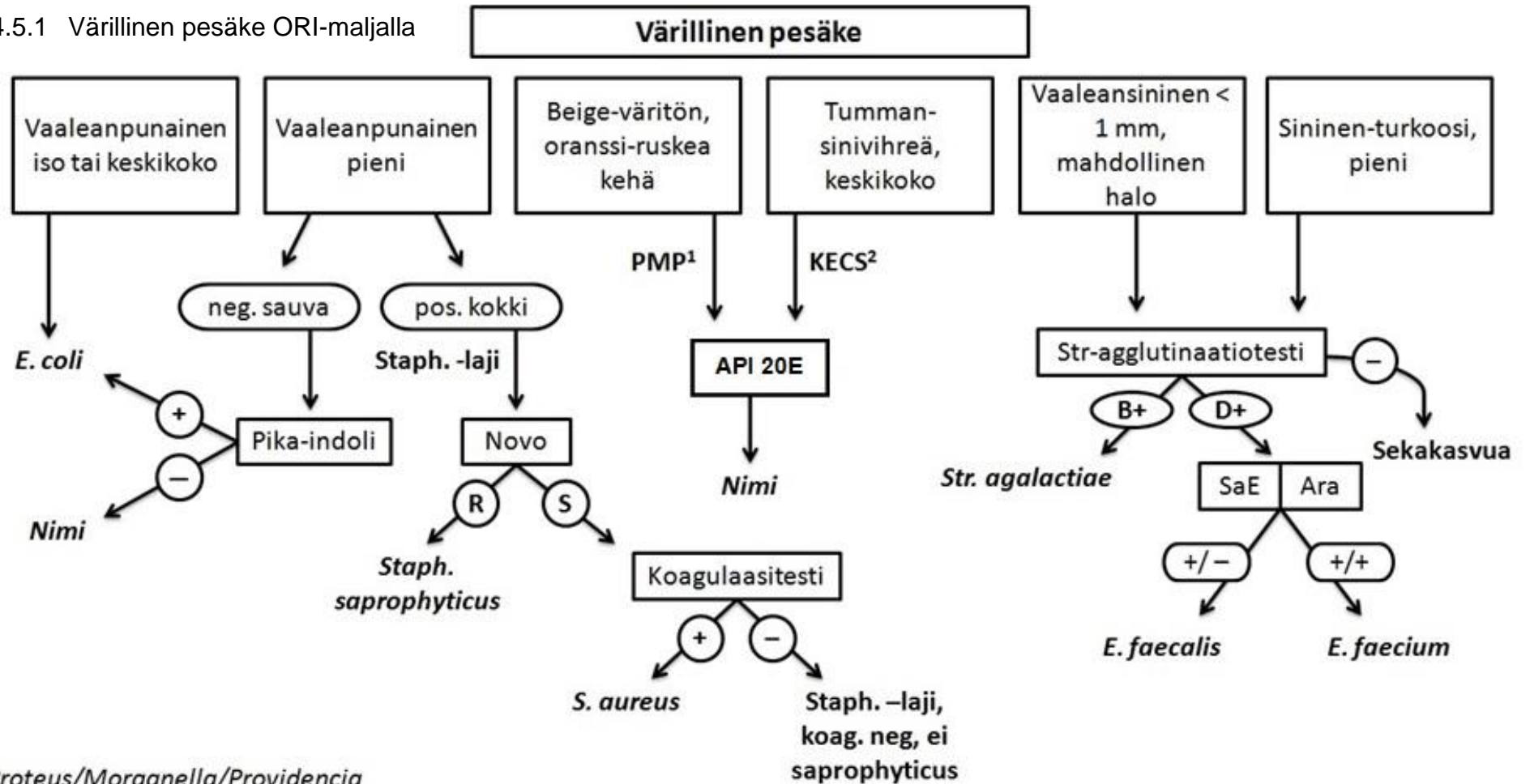
## 4.4 Hajotusviljely

Hajotusviljely tehdään, kun maljalla kasvaa useampia bakteerilajeja, mutta niistä ei ole muodostunut erillään olevia yksittäisiä pesäkkeitä. Hajotusviljelyn tarkoituksena on hajottaa maljalla kasvavat bakteerilajit maljalle niin, että kaikista kasvavista bakteerilajeista olisi saatavilla yksittäisiä pesäkkeitä. Hajotusviljely tehdään ottamalla varovasti viljelysauvalla kaikkia tutkittavia pesäkkeitä ja viljellään se uudelle maljalle. Hajotusviljelyssä on tärkeää vaihtaa hajotuksien välillä aina uuteen, puhtaaseen hajotussauvaan. Näin saadaan viljelystä mahdollisimman ohut ja bakteerit mahtuvat kasvamaan erillään toisistaan.



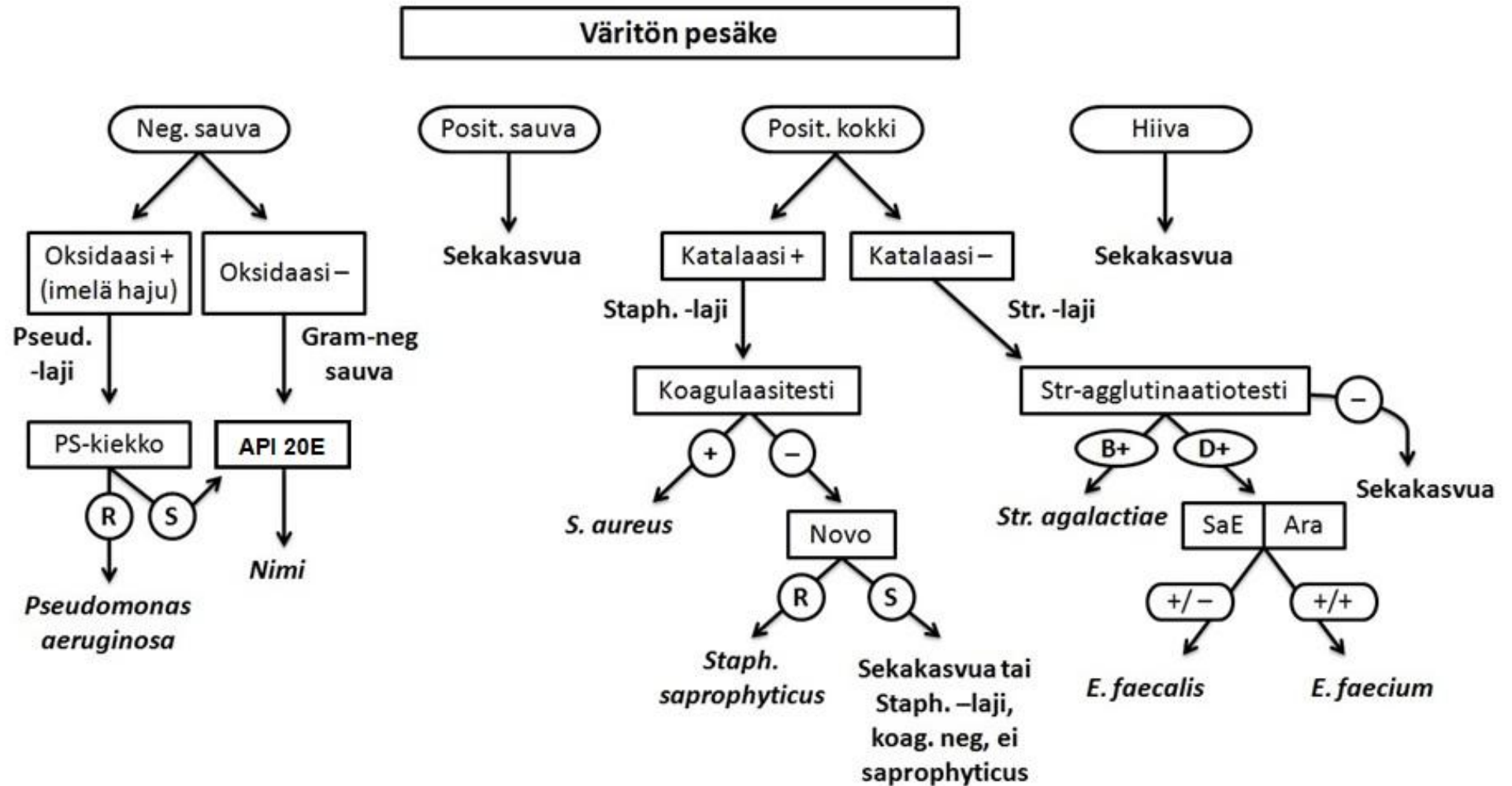
## 4.5 Vuokaaviot

### 4.5.1 Värillinen pesäke ORI-maljalla



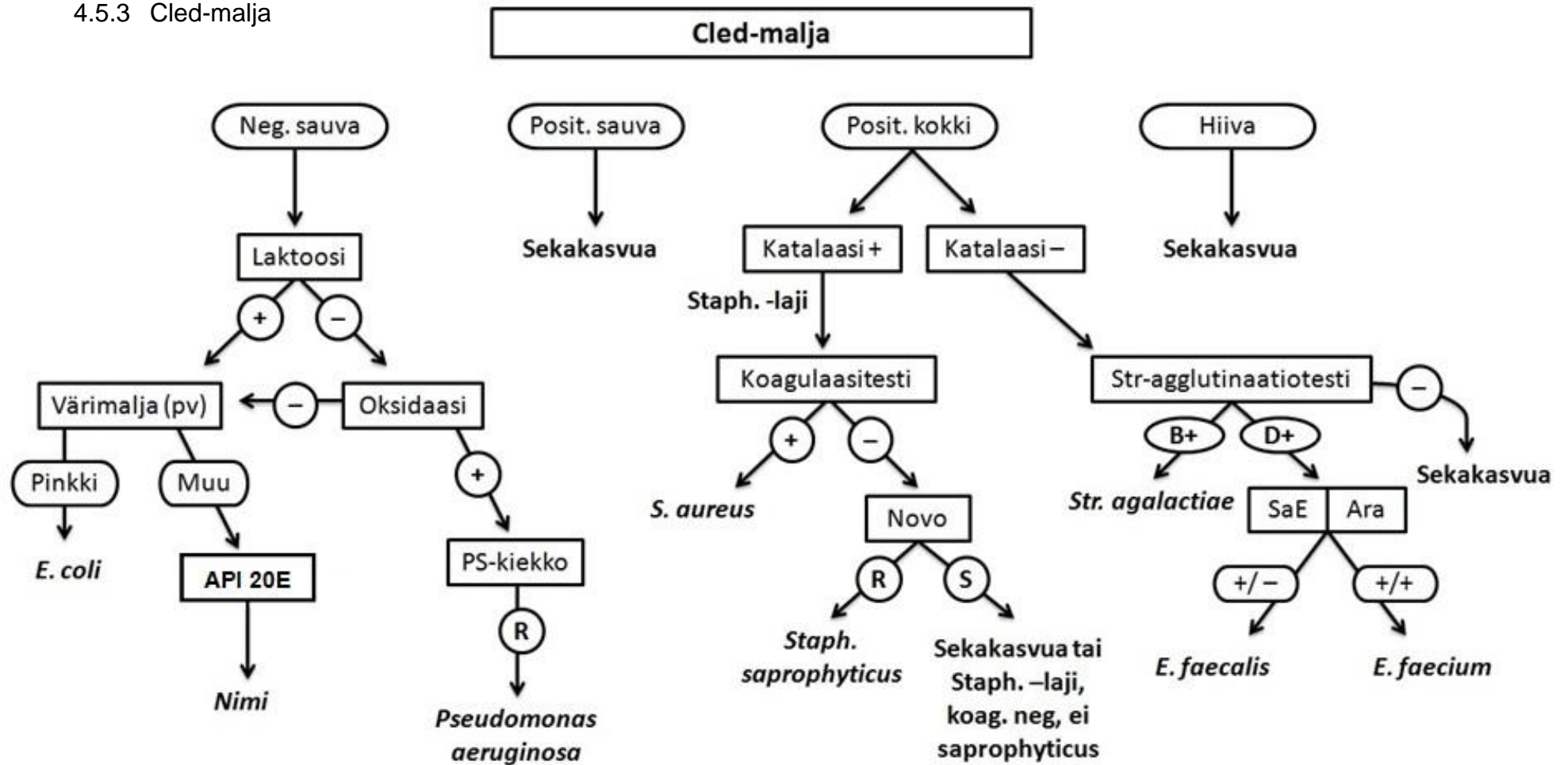
**Tykslab, Kliinisen mikrobiologian laboratorion ohje, muokannut Enni Ahlroth.**

## 4.5.2 Väritön pesäke ORI-maljalla



**Tykslab, Kliinisen mikrobiologian laboratorion ohje, muokannut Enni Ahlroth.**

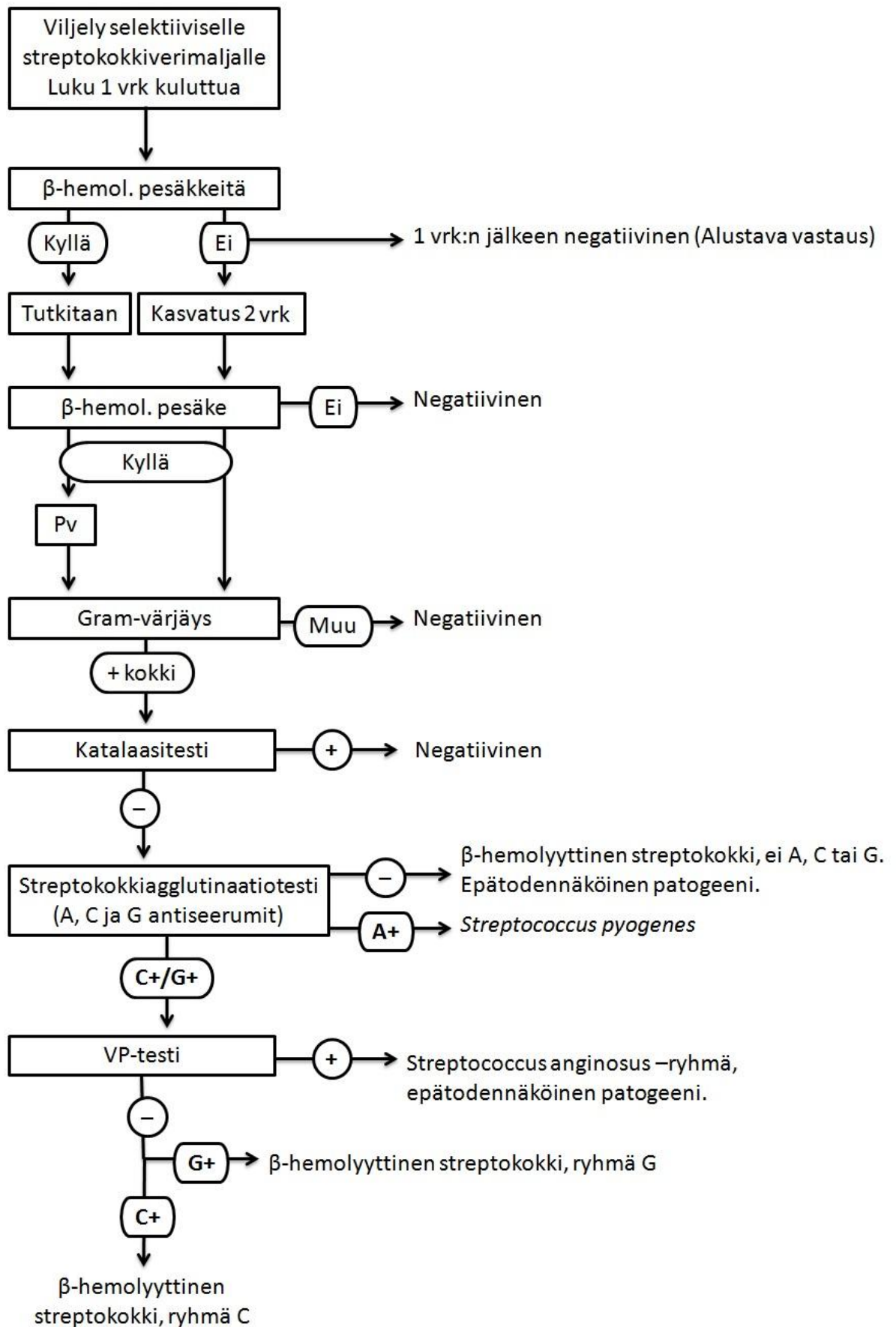
## 4.5.3 Cled-malja



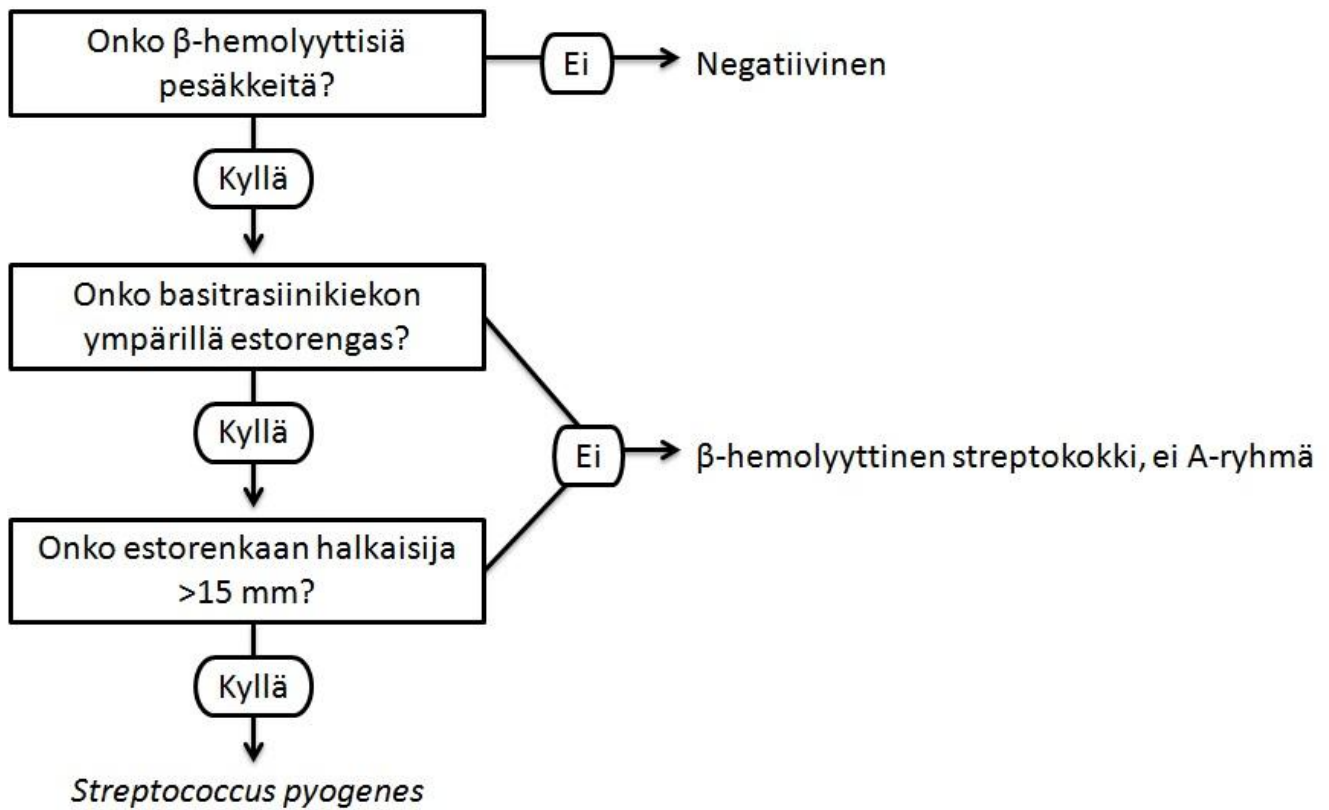
*Tykslab, Kliinisen mikrobiologian laboratorion ohje, muokannut Enni Ahlroth.*

## 4.5.4 Streptokokkiverimalja

## Nielun streptokokkiviljely



## 4.5.5 Basitrasiinitesti



## LÄHTEET

Biomérieux 2010. Api 20E. Identification system for Enterobacteriaceae and other non-fastidious Gram-negative rods. Pakkausseloste.

Biorad laboratories 2007. Pastorex Staph Plus. Direct Identification Visibly Reliable. Viitattu 17.4.2015. [http://did.it/contenuti/biorad/Pastorex\\_Staph\\_Plus.pdf](http://did.it/contenuti/biorad/Pastorex_Staph_Plus.pdf)

Heikkilä, R. 2005. Kliininen mikrobiologia tieteenalana. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Bakteriologia. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Laboratoriodiagnostiikka. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Jonsson, A.; Karhumäki, E. & Saros, M. 2005. Mikrobit hoitotyöhaasteena. Helsinki: Edita Prima Oy.

Meurman, O. 2010. Gramvärjäykset. Labquality. viitattu 14.4.2015. <http://www.labquality.fi/@Bin/2028802/meurman+Gram+nettiin.pdf>

Michigan State University 2010. Catalase test. Viitattu 9.2.2015. <http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/catalase.html>

Michigan State University 2010. Coagulase test. Viitattu 9.2.2015. <http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/coagulase.html>

Michigan State University 2010. Oxidase test. Viitattu 9.2.2015. <http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/oxidase.html>

Oxoid 2013. PathoDxtra Strep Grouping Kit. Pakkausseloste.

Sojakka, K. & Välimäki, M. 2011. Ammatillinen mikrobiologia. Helsinki: Opetushallitus.

Solunetti 2006. Gramvärjäys. Viitattu 14.4.2015. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/gram-varjays/2/>

Toronto medical laboratories / Mount Sinai hospital microbiology department 2002. Pastorex Staph Plus Test. Viitattu 17.4.2015. <http://microbiology.mtsinai.on.ca/manual/tech/tech32.pdf>

Tuokko, S.; Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet. Opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.

Tykslab, Kliinisen mikrobiologian laboratorio 2014. Työohje. Mukailtu.

Ylönen, H. 2005. Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto.