



SAVONIA

OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

ESCHERICHIA COLI -BAKTEERIN MÄÄRITYS VERESTÄ JA VIRT- SASTA

Opetusvideoita bioanalyttikko-opiskelijoille klinisen mikrobiologian harjoitustunneille

TEKIJÄ/T: Outi Ala-aho
Anni Ruohoaho
Marko Savonkari

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma/Tutkinto-ohjelma Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma			
Työn tekijä(t) Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho ja Marko Savonkari			
Työn nimi Escherichia coli -bakteerin määrittäminen verestä ja virtsasta – opetusvideoita bioanalyttikko-opiskelijoille kliinisen mikrobiologian harjoitustunneille			
Päiväys	15.12.2019	Sivumäärä/Liitteet	39/6
Ohjaaja(t) Ulla Korhonen, lehtori			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu			
<p>Tiivistelmä</p> <p><i>Escherichia coli</i> -bakteerit ovat ihmisen suoliston normaaliin mikrobistoon kuuluvia gramnegatiivisia sauvabakteereita. <i>E. coli</i> aiheuttaa yleisimmin virtsatieinfektioita, josta voi kehittyä myös urosepsis. Muita <i>E. coli</i> aiheuttamia infektioita ovat enteriitit, kirurgiset infektiot ja vastasyntyneen septinen yleisinfektio.</p> <p>Opinnäytetyön tilaaja oli Savonia-ammattikorkeakoulu. Työ toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa opetusvideoita Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille <i>Escherichia coli</i> -bakteerin tunnistuksesta ja tutkimusmenetelmistä veri- ja virtsanäytteistä. Opinnäytetyön tavoitteena oli tukea bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista kliinisessä mikrobiologiassa. Opinnäytetyö koostui kirjallisesta raportista ja tuotoksista eli yhteensä kuudesta opetusvideosta ja niiden käsikirjoituksista. Opetusvideot ovat nähtävissä kliinisen mikrobiologian opintojaksolla sekä Moodlella että ThingLink 360° -virtuaalioppimisympäristössä.</p> <p>Opinnäytetyön kirjallisessa raportissa käytiin läpi tuotoksissa opetettavat viljelyt, tunnistustestit, herkkyysmääritykset ja gramvärjäys. Näiden lisäksi raporttiosa sisälsi teoriaa <i>Escherichia coli</i> -bakteerista ja bakteereista yleisellä tasolla, hyvän opetusvideon kriteereistä ja oppimiseen vaikuttavista tekijöistä. Opinnäytetyön tuotosten eli opetusvideoiden kestot vaihtelivat alle kolmesta minuutista hieman yli kahdeksaan minuuttiin.</p>			
Avainsanat <i>Escherichia coli</i> , opetusvideo, kliininen mikrobiologia			

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho ja Marko Savonkari			
Title of Thesis Determination of <i>Escherichia coli</i> bacteria from blood and urine – Educational videos for biomedical laboratory scientist students for their clinical microbiology laboratory classes			
Date	15.12.2019	Pages/Appendices	39/6
Supervisor(s) Ulla Korhonen, lecturer			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p><i>Escherichia coli</i> bacteria are part of the human gastrointestinal tract's normal flora. They are classified as gram negative rods. The most common infections caused by <i>E. coli</i> are urinary tract infections, which can also lead to septicemia. Other infections caused by <i>E. coli</i> are gastroenteritis, surgical infections and neonatal meningitis.</p> <p>The client organization of this thesis was Savonia University of Applied Sciences. The purpose of the thesis was to develop educational videos for biomedical laboratory scientist students at Savonia University of Applied Sciences for determining <i>Escherichia coli</i> bacteria from blood and urine samples. The goal of the thesis was to support biomedical laboratory technologist students' learning in clinical microbiology laboratory classes. The thesis consists of a written report and six educational videos and their scripts. The educational videos can be viewed on Moodle and ThingLink 360° virtual education environments during the clinical microbiology course.</p> <p>The written report consists of the inoculation techniques, identification tests, susceptibility tests and gram staining procedure taught in the videos. In addition, the report contains theoretical information on <i>Escherichia coli</i> bacteria and bacteria at a general level, the criteria for a good educational video and the factors that affect one's learning. The duration of the videos varies between three and eight minutes.</p>			
<p>Keywords <i>Escherichia coli</i>, educational video, clinical microbiology</p>			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	6
2	BAKTEERIT JA NIIDEN RAKENNE	7
3	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	9
4	<i>ESCHERICHIA COLI</i> TAUDINAIHEUTTAJANA	10
4.1	Ripulikoliryhmät	10
4.2	Virtsatieinfektio	10
4.3	Muita <i>E. colin</i> aiheuttamia infektioita	12
5	VIRTSAN BAKTEERIVILJELY	13
6	VERIVILJELY	15
6.1	Veriviljelyn preanalytiikka	15
6.2	Veriviljelyn ulosveto	16
7	LABORATORIODIAGNOSTIIKKA	17
7.1	Maljat	17
7.2	Gramvärjäys	17
7.3	Laktoosinkäyttö- ja oksidaasitesti	17
7.4	API 10 S	18
7.5	Herkkyyismääritykset	19
8	OPPIMINEN	22
9	HYVÄ OPETUSVIDEO	24
9.1	Suunnittelu ja käsikirjoitus	25
9.2	Kuvaaminen	26
9.3	Editointi	26
10	OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	28
10.1	Tarkoitus ja tavoite	28
10.2	Toiminnallinen opinnäytetyö	28
10.3	Opinnäytetyön eteneminen	28
11	POHDINTA	31
11.1	Tavoitteiden toteutuminen	31
11.2	Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu	32
11.3	Eettisyys ja luotettavuus	33

LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT	35
LIITE 1: KÄSIKIRJOITUS: VIRTSAN PRIMÄÄRI- JA PUHDASVILJELY.....	40
LIITE 2: KÄSIKIRJOITUS: HERKKYYSMÄÄRITYKSET	43
LIITE 3: KÄSIKIRJOITUS: VERVILJELYN NÄYTTEENOTTO	47
LIITE 4: KÄSIKIRJOITUS: VERIVILJELYN ULOSVETO	52
LIITE 5: KÄSIKIRJOITUS: GRAMVÄRJÄYS	56
LIITE 6: KÄSIKIRJOITUS: API 10 S, LAKTOOSINKÄYTTÖ- JA OKSIDAASITESTI	60

1 JOHDANTO

Escherichia coli eli lyhyesti *E. coli* on gramnegatiivinen sauvabakteeri. *E. coli* kuuluu ihmisen suoliston normaaliin mikrobistoon, jossa se on aerobisen flooran valtabakteeri. Yleisimmin *E. coli* aiheuttaa virtsatieinfektioita päästessään suoliston ja ulosteen mukana virtsateihin. Pahimmillaan virtsatieinfektioista voi kehittyä urosepsis. Muita *E. coli* aiheuttamia infektioita voivat olla kirurgiset infektiot ja ripulitaudit. Vastasyntynyt voi saada äitinsä ulosteen mukana yleisinfektion aiheuttavan *E. coli* -tartunnan. (Siitonen ja Vaara 2010, 175-179.)

Opetusvideot ovat nykyään tärkeä osa korkeakoulutusta ja etenkin videoiden käyttö on todettu varsin tehokkaaksi opetusvälineeksi (Brame 2016). Perinteisiin opetustilanteisiin verrattuna videolla on etunaan omatahtisen oppimisen mahdollistaminen. Opiskelija voi katsoa videon silloin, kun se on parhainta hänen oppimisensa kannalta. Videota on mahdollista katsoa niin monta kertaa kuin on tarve ja tarvittaessa voi hypätä osaamiensa kohtien ohitse. (Humaloja, Peura ja Toivola 2017, 124.)

Opinnäytetyön toimeksiantajana on Savonia-ammattikorkeakoulu. Työ on tehty toiminnallisena opinnäytteenä, joka muodostuu kirjallisesta raportista ja tuotoksista eli opetusvideoista. Opinnäytetyön aihe rajattiin koskemaan *Escherichia Coli* -bakteerin määrittämiseen käytettäviin menetelmiin, joista syntyi kuusi erillistä opetusvideota; virtsan primääri- ja puhdasviljely, herkkyysmääritykset, veriviljelyn näytteenotto, veriviljelyn ulosveto, gramvärjäys ja API 10 S -testi. Näytemuodot rajattiin koskemaan virtsa- ja veriviljelynäytteitä, sillä yleisin *E. coli* -bakteerin aiheuttama infektio on virtsatieinfektio, joka voi pahimmillaan aiheuttaa urosepsiksen bakteerin päästessä verenkiertoon (Siitonen ja Vaara 2010 178-179; Lumio 2018c).

Opiskelijoiden on mahdollista valmistautua tulevia kliinisen mikrobiologian harjoitustunteja varten katsomalla opetusvideoita itsenäisesti kotona tai yhdessä opiskelijatovereiden kanssa. Videot ovat opiskelijoiden katseltavissa Moodle-oppimisohjasta ja virtuaalioppimisympäristöstä ThingLink 360°. Videoita voidaan käyttää myös opetusmateriaaleina oppituntien yhteydessä. Videoissa opetetut tekniikat eivät ulotu vain *E. coli* -bakteeriin, vaan samoja tekniikoita voidaan käyttää kliinisen mikrobiologian laboratoriossa muidenkin bakteerien tunnistuksessa, viljelyssä ja jatkotesteissä eri näytemuodoista. Videoiden tekstit ovat kirjoitettu englannin kielellä, jolloin opiskelijat oppivat englannin kielistä ammattisanastoa ja myös vaihto-opiskelijoiden on mahdollista oppia videoista.

Opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa opetusvideoita Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille *Escherichia coli* -bakteerin tunnistuksesta ja tutkimusmenetelmistä veri- ja virtsanäytteistä. Opinnäytetyön tavoitteena on tukea bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista kliinisessä mikrobiologiassa.

2 BAKTEERIT JA NIIDEN RAKENNE

Ihmiset ja eläimet toimivat useiden mikrobien elinympäristönä. Ihmisellä on eri kehon osissa niille tyypillinen mikrobisto, jota kutsutaan alueen normaaliflooraksi. Esimerkiksi iholla, limakalvoilla ja suolistossa on suotuisat olosuhteet monille niille alueille ominaisille bakteerilajeille. Normaaliflooran bakteerit ovat hyödyllisiä isännälleen, ja niillä on monia ruoansulatukseen ja immuunivasteeseen liittyviä tehtäviä. Bakteerit auttavat ruoansulatuksessa ja tuottavat muun muassa K-vitamiinia. (Murray, Pfaller ja Rosenthal 2016c, 134.) Ne tuottavat myös tiettyjä hiilihydraatteja hajottavia entsyymejä, joita ihmisen elimistö ei itse kykene tuottamaan (Jalava 2010, 81-82). Normaaliflooran bakteerit voivat aiheuttaa infektioita, jos ne päätyvät elimistön normaalisti steriileille alueille tai pääsevät lisääntymään liikaa. Virulenteilla bakteereilla on mekanismeja, joiden avulla ne käyttävät kasvaakseen hyödyksi kudoksia tai elimiä. Opportunistiset bakteerit pääsevät aiheuttamaan infektioita esimerkiksi immuunisuppression aikana eli ne käyttävät hyödyksi elimistön heikentynyttä tilaa. (Murray ym. 2016c, 135.)

Ihmisellä on suojanaan luonnollisia puolustusmekanismeja. Esimerkiksi iho ja epiteelisolukko, liman erittyminen ja happamat olosuhteet suolistossa sekä bakteereita tuhoava lysosyyymi kyynelneesteessä auttavat puolustautumaan ulkoisia bakteereita vastaan. Bakteereilla kuitenkin on keinoja välttää näitä mekanismeja. Bakteerit voivat kulkeutua kehoon ruoansulatuskanavan, hengitysteiden, kirurgisen tai muun trauman yhteydessä, hyönteisten puremien kautta tai sukupuoliyhteydessä. (Murray ym. 2016c, 135.)

Bakteerien genomi muodostuu rengasmaisesta DNA-molekyylisestä eli niin sanotusta bakteerikromosomista. Kromosomin lisäksi bakteerilla voi olla myös plasmideja, pieniä geneettisiä elementtejä. Bakteerit lisääntyvät suvuttomasti jakautumalla. DNA:n kahdentuessa tytärkromosomit siirtyvät bakteerin päätyä kohti ja päätyvät syntyviin tytärsoluihin. (Sarvas, Skurnik ja Vaara 2010a, 18.)

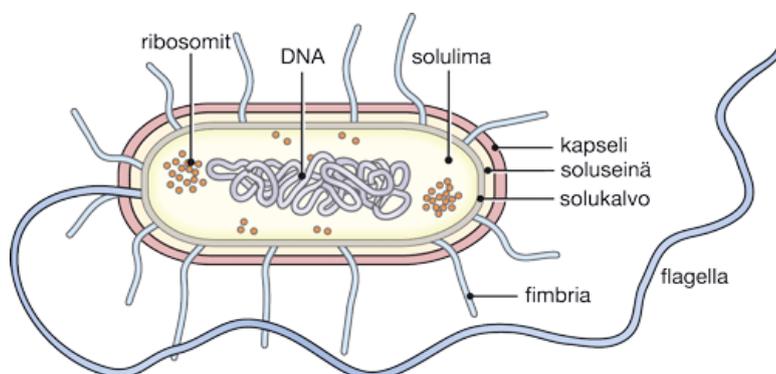
Bakteerit voidaan jakaa soluseinärakenteensa mukaan kahteen ryhmään; gramnegatiivisiin ja grampositiivisiin bakteereihin. Bakteerien sisin osa on solukalvon eli plasmamembraanin suojaama solulima, sytoplasma. Solun kasvuun, metaboliaan ja replikaatioon liittyvät reaktiot tapahtuvat sytoplasmassa. Bakteerien solulimassa on kertymiä eli sytoplasmisia inkluusiokappaleita. Niiden tarkoitus on energian tai rakennusaineiden varastointi sytoplasmaan. Varastomolekyyleihin, kuten polyhydroksialkanoaatti ja glykogeeni, bakteeri varastoi hiiltä, energiaa ja fosfaattia. Sytoplasmaa ympäröi kaksoislipidirakenteinen solukalvo eli plasmamembraani, joka muodostuu pääasiassa fosfolipideistä ja proteiineista. Solukalvon jälkeen on muotoa ylläpitävä jäykkä peptidoglykaanikerros. Solukalvon ulkopuolella bakteereilla on soluseinä, jonka tehtävä on bakteereille ominaisen muodon ylläpitäminen ja estää osmoottinen hajoaminen. Gramnegatiivisilla bakteereilla on soluseinänsään vielä ulkomembraaniksi kutsuttu rakenne, joka grampositiivisilta bakteereilta puuttuu. Grampositiivisten bakteerien soluseinä kuitenkin on paksumpi; kymmeniä peptidoglykaanikerroksia, kun taas gramnegatiivisilla niitä on yhdestä kolmeen. Gramnegatiivisten bakteerien ulkokalvo eli ulkomembraani on lipidikaksois-kalvo, kuten solukalvokin. Suuri osa ulkomembraanin ulkopinnan rakenteesta on lipopolysakkaridia (LPS). Se on osa bakteerin suojakuorta, mutta sen vaikutus isäntäelimistöön on toksinen. Tämän

vuoksi LPS on endotoksiini. Ulkomembraanin ansiosta gramnegatiiviset bakteerit ovat resistenttejä esimerkiksi vankomysiinille. Kuvassa 1 on kaavakuva bakteerien yleisistä rakenteista. (Sarvas, ym. 2010a, 18, 20-22, 26-27.)

Bakteereita on eri muotoisia. Kokit ovat pyöreitä pallomaisia bakteereja, jotka voivat esiintyä joko yksittäin tai ryhmissä. Sauvabakteerit ovat nimensä mukaisesti sauvamaisia. Bakteerit voivat olla myös kiemuramaisia spirillejä tai spirokeettoja. (Carlson ja Koskela 2011.)

Flagellojen eli värekarvojen avulla bakteerit pystyvät liikkumaan. Flagelloja ohuimmat fimbriat ja niiden päissä olevat adhesiiniproteiinit mahdollistavat bakteerin tarttumisen alustaansa. (Sarvas ym. 2010a, 30-31.) Erilaisten adhesiinien avulla bakteerit voivat tarttua limakalvoille tai soluväliaineeseen (Kuusela, Rehn ja Vaara 2010, 68-69). Bakteereilla voi olla ympärillään myös niin sanottu kapseli, joka on vain löyhästi bakteeriin kiinnittynyt hydrofiilinen rakenne. Kapseli auttaa bakteereita liimautumaan ympäristöönsä ja suojaa bakteeria fagosytoosilta, komplementilta sekä lysotsyymilta. Kapseli koostuu useimmiten polysakkaridista. (Sarvas ym. 2010a, 30-31.) Eräät bakteerit voivat muodostaa suojakseen biofilmiksi kutsutun polysakkaridiverkoston, joka eristää bakteerikasvuston muusta ympäristöstä (Kotilainen, Kuusela ja Vuopio-Varkila 2010, 85).

Bakteerien taudinaiheuttamiskykyä kutsutaan virulenssiksi. Virulenssitekijöitä ovat bakteerien mekanismit kolonisoida elimistö tunnistamalla ja tarttumalla pinnoille, välttää elimistön suojamekanismia ja kyky aiheuttaa kudostuhoa ja tulehdusta. Bakteerit elävät isäntäelimistössä pintojen lisäksi kudoksissa, jonne ne pääsevät erilaisten invaasiomekanismien avulla. Bakteerit tarvitsevat lisääntyäkseen vapaata ferri-iona, jota elimistössä usein on melko vähän. Useat bakteerit ovatkin kehittäneet ”raudanryöstömekanismia”. Bakteerit myös voivat tuottaa erilaisia kudostuhoa aiheuttavia entsyymejä ja elimistölle haitallisia toksiineja. Elimistön puolustusmekanismien välttämiseksi bakteereille on kehittynyt monenlaisia mekanismeja. Bakteeri voi kerätä pintaansa isäntäelimistöstä molekyyliä, kuten immunoglobuliineja. Nämä ominaisuudet voivat estää komplementin aktivoitumisen. Bakteerit voivat myös tuottaa leukosyyttejä tuhoavia toksiineja tai komplementin C5a komponenttia hajottavaa proteaasia. (Kuusela ym. 2010, 68-71.)



KUVA 1. Yleiskuva bakteerin rakenteesta (Sarvas ym. 2010b.)

3 *ESCHERICHIA COLI*

Escherichia coli kuuluu *Enterobacteriaceae* -heimoon yhdessä *Salmonellan*, *Shigellan* ja *Yersinian* kanssa. Edellä mainitut ovat tärkeimmät *Enterobacteriaceae* -heimon bakteerisuvut. Kaikki heimon bakteerit ovat gramnegatiivisia sauvabakteereita, joiden rakenne ja ominaisuudet muistuttavat toisiaan. Näiden enterobakteerien luonnollinen kasvupaikka on ihmisten ja eläinten suolisto, jossa ne kuuluvat normaaliflooraan. Valtaosa ihmisen suoliston aerobisen flooran bakteereista on *E. coli*. Enterobakteereja kasvaa myös jätevesissä, maaperässä ja luonnon vesistöissä. *E. colilla* on sekä polysakkarikapseli-muotoja että kapselittomia muotoja. Polysakkaridikapseli -kannoilla on K-antigeeni. (Siitonen ja Vaara 2010, 177-178.) Osa *E. coli* -bakteereista on virulentimpia kuin toiset. Virulenssitekijät voidaan jakaa karkeasti kahteen kategoriaan; adhesiineihin ja endotoksiineihin. (Murray ym. 2016b, 255.)

Kuten gramnegatiivisten bakteerien yleensä, myös *E.colin* ulkokalvon yksi olennaisin osa on endotoksinen lipopolysakkaridi eli LPS. Sen uloin osa on O-antigeeni, joka suojaa solua isäntäelimistön omalta fagosytoosilta. LPS:n muut osat ovat lipidi A-osa ja ydinoligosakkaridiosa. (Sarvas ym. 2010a, 27.) Endotoksiini aiheuttaa kuumetta sekä valkosolujen ja verihiutaleiden niukkuutta (Lääketieteen sanasto 2019). Se aktivoi makrofageja, monosyyttejä ja endoteelisoluja tuottamaan tulehdustilassa vapautuvia tekijöitä, jotka aktivoivat elimistön komplementti- ja hyytymisjärjestelmää ja muiden tulehdus ja kuumereaktioissa erittyvien aineiden tuotantoa. Vaarana on endotoksiinisokki. (Kuusela ym. 2010, 72.) Monet kolikannat tuottavat myös hemolysiiniä, joka vaurioittaa solukalvoja (Siitonen ja Vaara 2010, 178).

E. colille voi kehittyä antibioottiresistenssiominaisuus ESBL eli extended spectrum beta-lactamases, joka on antibiootteja pilkkova entsyymi. Ominaisuus tekee bakteerin resistentiksi tavallisesti käytetyille antibiooteille, kuten penisilliineille ja kefalosporiineille. ESBL voi aiheuttaa samoja infektioita kuin *E. coli*, esimerkiksi virtsatieinfektion tai suoliston alueen infektioita. Ominaisuus voi kehittyä muun muassa *Escherichia coli* ja *Klebsiella pneumoniae* -bakteereille (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2015; Lumio 2018a).

E. colilla on yksinkertaiset kasvuvaatimukset. Se fermentoi glukoosia ja käyttää nitraattia. (Murray ym. 2016b, 253.) *E. coli* on bakteeritutkimusten käytetyin ja parhaiten tunnettu bakteeri. Sen ominaisuudet tunnetaan hyvin, ja sen kasvattaminen laboratorio-olosuhteissa onnistuu helposti. *E. coli* onkin bakteerien biokemiallisten, geneettisten ja molekyylibiologisten tutkimusten tärkein tutkimuskohde. (Sarvas ym. 2010a, 17.)

4 *ESCHERICHIA COLI* TAUDINAIHEUTTAJANA

E. coli aiheuttaa yleisimmin virtsatieinfektioita, mutta se voi aiheuttaa myös kirurgisia infektioita, ripulitauteja eli enteriittejä ja vastasyntyneelle äidin ulosteen mukana tarttuvan yleisinfektion. Noin 90 prosentissa virtsatieinfektiotapauksissa aiheuttajana on henkilön omasta suolistosta peräisin oleva *E. coli*. Ripulitauteja aiheuttavia *E. coli*-kantoja kutsutaan ripulikoliryhmäksi. (Siitonen ja Vaara 2010, 178-179.)

4.1 Ripulikoliryhmät

ETEC eli enterotoksigeeninen *E. coli* on ripulitautia, erityisesti turistiripulia aiheuttava kolikanta. Turistiripuli tarkoittaa nimensä mukaisesti turistimatkalta saatua ripulia. Esimerkiksi trooppisissa maissa matkaileville mahdollisuus saada turistiripuli on noin 40 prosenttia. Syy tälle on yleensä puutteellinen ravintohygienia. Vaikka turistiripuli on varsin yleinen ongelma, vain noin puolelle tapauksista löytyy aiheuttajamikrobi. Syy voikin olla eksoottisessa ruoassa. (Lumio 2018b.) ETEC-kannoilla on erityisiä colonization factor antigen eli CFA-fimbrioita, joilla ne tarttuvat suolen limakalvolle. Näin bakteeri kykenee kolonisoimaan suolen. ETEC-kantojen aiheuttama ripuli johtuu niiden enterotoksiineista; ST- ja LT-toksiinit. (Siitonen ja Vaara 2010, 180.) ST- eli heat stable toxin ja LT- eli heat labile toxin lisäävät nesteen ja elektrolyyttien erittymistä soluista ulos (Murray ym. 2016b).

EHEC (enterohemorraginen *E. coli*) -kantojen aiheuttamat infektiot ovat yleisvaarallisia tartuntatauteja. EHEC aiheuttaa elintarvikkeiden välityksellä leviävän ruokamyrkytyksen. Kypsentämätön liha, pastöroimaton maito ja pesemättömät vihannekset ovat riski infektiolle. Bakteerin alkuperäinen lähde on nautakarjan uloste. EHEC on erittäin virulentti bakteeri, ja infektiivinen annos voi olla vain noin 10 bakteerisolua. EHEC-kannat tuottavat Shiga-toksiineja. Tartunta voi johtaa massiiviseen veriripuliin, joka voi aiheuttaa myös vakavan munuaisten toiminnan häiriön eli hemolyyttis-ureemisen oireyhtymän (HUS) tai tromboottisen trombosytopeenisen purppuran (TTP). HUS:n kehittyminen on vaarana varsinkin lapsilla ja TTP:n vanhuksilla. (Siitonen ja Vaara 2010, 181-180.)

EPEC (enteropatogeeninen *E. coli*) -kantojen aiheuttamat ripuliepidemiat ovat nykyään melko harvinaisia. EPEC -kantojen bakteerit tarttuvat suoliston limakalvoon bundle forming pilus- (Bfp) fimbrioiden avulla. EIEC (enteroinvasiivinen *E. coli*) - kannat eroavat ETEC-, EHEC ja EPEC -kannoista siten, että ne tunkeutuvat suoliston epiteelisolujen sisään aiheuttaen kivuliaan veriripulin. Tämä mekanismi on tyypillinen shigella-bakteereille, ja EIEC:n aiheuttaman ripulin oireet ovat myös hyvin samankaltaiset, kuin shigellan aiheuttaman punataudin. Yhtäläisyys johtuu molempien bakteerien samankaltaisesta suuresta virulenssiplasmidista ja invaasiomekanismista. Kantoja tavataan kehitysmaissa ja joskus myös turistiripulin aiheuttajana. EAEC (enteroaggregatiivinen *E. coli*) ja DAEC (diffuusisti adheroituva *E. coli*) ovat huomommin tunnettuja kantoja. Kannat liittyvät pienten lasten ripuleihin, turistiripuliin ja ripuliin HIV/AIDS potilailla. (Siitonen ja Vaara 2010, 181-183.)

4.2 Virtsatieinfektio

E. coli aiheuttaa virtsatieinfektion (VTI), päästessään nousemaan virtsateihin virtsaputkea pitkin. Infektio voi nousta virtsaputkesta virtsarakkoon kystiitiksi ja levitä edelleen aina munuaisiin asti pyelonefriitiksi. Munuaisesta lähtöisin olevasta infektiopesäkkeestä voi kehittyä jopa vakava urosepsis, jos bakteerit pääsevät verenkiertoon aiheuttaen bakteremian. Infektion kehittyminen tähän tilaan vaatii tosin yleensä henkilöllä immunosuppression tai muun vastustuskykyä heikentävän tekijän. (Siitonen ja Vaara 2010, 178-179; Lumio 2018c.) Infektiolle altistavia tekijöitä ovat sukupuoliyhdyntä, heikentynyt limakalvopuolustus esimerkiksi vaihdevuosien jälkeen ja häiriöt virtsanjohdinten toiminnassa sekä miehillä eturauhasen liikakasvu. Myös katetrointi, rakon tyhjenemishäiriö ja virtsateihin kohdistuvat toimenpiteet lisäävät riskiä infektioille. (Virtsatieinfektiot: Käypä hoito- suositus 2019.) Virtsatieinfektioita aiheuttavilla *E. coli*-bakteereilla on erityisiä adhesiineja, joilla ne pystyvät tarttumaan virtsarakon ja ylempien virtsateiden soluihin. (Murray ym. 2016b, 258.)

Naisten virtsatieinfektioista 75-95 prosenttia on *E. colin* aiheuttamia. Miehillä virtsatieinfektion aiheuttajista *E. colin* osuus on pienempi. (Virtsatieinfektiot: Käypä hoito- suositus 2019.) Kystiitti on erityisesti naisten sairaus. Se aiheuttaa tihentynyttä virtsaamistarvetta, pakonomaista virtsaamisen tunnetta ja kivelyä. Ylemmän tason infektiin, pyelonefriittiin, ei aina liity virtsaamisongelmia, mutta oireina saattavat olla kuume ja kivut kyljessä tai selän puolella. Varsinkin iäkkäillä infektion tunnistaminen voi olla hankalaa, koska oireina voi olla vain pahoinvointia tai sekavuutta. (Arikoski ym. 2019.)

4.3 Muita *E. colin* aiheuttamia infektioita

Kirurgiset infektiot kuuluvat myös *E. colin* aiheuttamiin infektioihin. Kirurgisilla infektioilla tarkoitetaan leikkaushoitoa vaativia tulehduksia ja leikkausten infektiokomplikaatioita. Erityisesti suoliston alueella *E. coli* on usein mukana tällaisissa infektioissa. Syy infektiolle voi olla esimerkiksi tukos, umpilisäkkeen tulehdus, paksusuolen umpipussin tulehdus tai sappirakon tulehdus. Infektoituneesta kudoksesta tulehdus voi levitä myös vatsakalvon tulehdukseksi. (Siitonen ja Vaara 2010, 179.)

Vastasyntyneelle *E. coli* voi aiheuttaa vakavan yleisinfektion. Tartunnan lapsi saa äitinsä ulosteen mukana. Tähän liittyy usein aivokalvontulehdus eli meningiitti. Näitä infektioita aiheuttavilla *E. coli*-kannoilla on erityisiä fimbrioita, jotka kiinnittyvät punasolujen ja muiden kudosten siaalihapporakenteisiin. Kannoilla on myös suojanaan kapseli, jonka vuoksi ne ovat melko resistenttejä elimistön omille puolustusmekanismeille. (Siitonen ja Vaara 2010, 179.)

5 VIRTSAN BAKTEERIVILJELY

Bakteeriviljely on bakteriologian perusmenetelmä, jonka etuna voidaan pitää siihen tarvittavien välineiden edullisuutta sekä menetelmän suorittamisen yksikertaisuutta ja nopeutta. Viljelyn jälkeen voidaan tehdä erilaisia jatkotutkimuksia, kuten bakteerilajin tunnistus sekä antibioottil herkkyysmääritys. Tällä määritetään, millä annostuksella antibiootti tehoaa kyseiseen bakteeriin. Vaikka varsinainen viljelyn suorittaminen on helppoa, inkuboinnin jälkeen tulosten lukemiseen ja oikeaan tulkintaan tarvitaan erikoiskoulutettua laboratoriohenkilökuntaa. Riippuen alueiden toimintakulttuureista ja tarpeista tutkimuksia voidaan porrastaa eri laboratorioden välillä esimerkiksi siten, että vain positiiviksi osoittautuneet näytteet lähetetään keskuslaboratorioon lajintunnistukseen. (Carlson ja Koskela 2011.)

Virtsatieinfektioepäilyn vuoksi potilaalle tilataan tutkimus U-BaktVi eli virtsan bakteeriviljely. Näytteeksi otetaan puhtaasti laskettua keskisuihkuvirtsaa, josta käytetään lyhennettä PLV. (Huslab 2018c.) Puhtaasti lasketulla keskisuihkuvirtsalla pyritään siihen, että näyte olisi aina samalla tavalla annettu. Tämä mahdollistaa testien ja tulosten vertailtavuuden eri laboratorioden kesken. Huolellinen alapesu on ehdottoman tärkeää ennen näytteen antoa. Näin vältetään, ettei näytteeseen tulisi henkilön omalta iholta tai limakalvoilta bakteerikontaminaatiota, jotka antaisivat bakteeriviljelyssä väärän positiivisen tuloksen. Vakioidun viljelymenetelmän avulla selvitetään, mikä bakteeri tulehduksen aiheuttaa, minkä verran bakteeria on ja millä pitoisuudella lääkeaine siihen tehoaa. (Matikainen, Miettinen ja Wasström 2010, 86-87.)

Edustavin näyte saadaan aamuvirtsasta. Tutkittavan on paastottava yön ajan, jotta nautitun ravinnon laatu ei muuttaisi virtsan pH:ta. Juomista on pyrittävä myös välttämään, ettei virtsanäyte laimene. Mikäli aamulla virtsaaminen ei onnistu, voidaan näyte kuitenkin antaa, jos virtsa on ollut rakossa yli 4 tuntia ennen näytteen antoa. (Matikainen ym. 2010, 87.)

Virtsanäyte otetaan virtsanäytekuppiin, josta se siirretään vakuumin avulla säilöntäaineelliseen virtsanäytteen kuljetusta ja säilytystä varten valmistettuun putkeen. Näyte säilyy analysointikelpoisena säilöntäaineellisessa putkessa vuorokauden ajan, jos se on säilytetty huoneenlämmössä. Jääkaapissa säilöntäaineellisessa putkessa näyte säilyy kaksi vuorokautta. Näytteen ollessa volyymitaan pieni, voidaan näyte kuljettaa laboratorioon ilman säilöntäaineita. Tällöin kuljetuslämpötilan on oltava jääkaappilämpötila. Jäähdytettyinä säilöntäaineeton näyte säilyy analysointikuntoisena vuorokauden ajan. (Huslab 2018b; Matikainen ym. 2010, 87.)

Virtsaviljely tapahtuu viljelysilmukan avulla, jotta virtsan määrä olisi joka viljelyssä vakio, ja näin ollen voidaan inkubaation jälkeen arvioida bakteerien määrä. Virtsan bakteeriviljelyssä käytetään menetelmänä hajotusviljelmää. Viljelyssä käytetään esimerkiksi huoneenlämpöisiä CLED -maljoja. Malja täytyy silmämääräisesti tarkastaa, jotta agar-pinta on hieman kostea ja kiiltävä. Tuoreessa maljassa ei saa näkyä bakteerikasvustoa. Kun malja on avattuna, kontaminaatioiden estämiseksi on pyrittävä välttämään puhumista maljan välittömässä läheisyydessä. (Matikainen ym. 2010, 96.)

Hajotusviljely tapahtuu vetämällä ensin virtsaan kastetulla viljelysilmukalla poikkiviiva maljan keskelle. Tämän jälkeen tehdään viljelysilmukalla tiheää siksak-liikettä aiemmin vedetyn poikkiviivan suhteen kohtisuoraan maljan koko pohjan alalle. Maljan agar-pintaa on varottava särkemästä. Paras tapa estää pinnan rikkoutuminen on käyttää viljelysilmukkaa lappeellaan. Viljelysilmukalla ei saa koskea maljan reunoihin. Kun malja on viljelty, suljetaan maljan kansi. Mahdollisten sekaannusten välttämiseksi, asiakkaan tunnistetietotarra kiinnitetään maljan pohjaan. Usein viljellään monen potilaan näytteitä samaan aikaan ja tunnistetietotarran ollessa maljan kannessa, voisivat kannet mennä vahingossa sekaisin, eivätkä näyte ja tunniste vastaisi enää toisiaan. Tunnistetietotarraan merkataan myös näytteenottoaika, jotta laboratoriossa voidaan seurata, milloin bakteeria on kasvatettu riittävän pitkään. (Matikainen ym. 2010, 96.)

Virtsan bakteeriviljelyä inkuboidaan 18-24 tuntia +35°C lämpötilassa. Maljan kanteen inkubaattorissa tiivistyvän kosteuden vuoksi maljat inkuboidaan aina kansi alaspäin, etteivät kosteuspisarat tipuisi mahdollisesti kasvavien bakteerien päälle ja pilaisi viljelyä. Yön jälkeen maljat tarkastetaan. Mikäli maljalla kasvaa yli 10 bakteeripesäkettä, malja lähetetään jatkotutkimuksiin. Jatkotutkimuksissa tunnistetaan, mikä bakteeri on kyseessä, kuinka nopeasti ja paljonko se on kasvanut sekä määritetään bakteerin antibioottiherkkyys (Matikainen ym. 2010, 97).

Alustavan tuloksen saa laboratoriosta 1-2 vuorokauden kuluessa viljelystä. Tulosten valmistuttua tulokset ilmoitetaan bakteerimääränä tai tieto mahdollisesta sekafloorasta. Jos näyte lähetetään jatkotutkimuksiin, ilmoitetaan tämä alustavassa vastauksessa. (Huslab 2018a.) Kun *E. coli* vastataan alustavasti, lisätään vastaukseen maininta, että herkkyysmääritysvastauksen tulos tulee myöhemmin (Eskelinen 2016). Usein virtsatieinfektioissa bakteereita on yli 10^5 bakteeria/ml. Jos kuitenkin tulos on 10^3 - 10^5 bakteeria/ml, riippuu löydöksen tulkinta potilaan kliinisestä tilanteesta. (Huslab 2018a.)

6 VERIVILJELY

Ihmisen veressä ei normaalisti ole bakteereja. Kun epäillään bakteerien päätyneen verenkiertoon, on veriviljely paras menetelmä bakteerien osoittamiseksi ja tunnistamiseksi verestä. Veriviljelyautomaateissa bakteerien kasvu tunnistetaan veriviljelypullon sisällä olevien olosuhteiden muutoksista. Bakteerit tuottavat aineenvaihduntatuotteena hiilidioksidia. Hiilidioksidipitoisuuden nousu veriviljelypullon sisällä antaa veriviljelyautomaatille hälytyksen bakteerien lisääntymisestä veriviljelypullossa. Veriviljelyautomaatti havaitsee bakteerien kasvustot huomattavasti nopeammin, kuin maljalle tehty bakteeriviljely. (Lumio 2018c.)

6.1 Veriviljelyn preanalytiikka

Potilaalta ei vaadita erityisiä toimenpiteitä preanalytiikan kannalta. Ennen näytteenottoa tulee tarkastaa veriviljelypullojen kunto. Pullojen tulee olla ehjiä ja säilytetty valolta suojattuna. Pullojen pohjan sensorin väri, johon bakteerin tunnistus perustuu, tulee olla vihertävä. Jos sensori on muuttunut keltaiseksi tai kasvatusliuos pullossa on sameaa, ei pulloa saa käyttää. (Islab 2013; Matikainen ym. 2010, 80; Nordlab 2016.)

Veriviljelyssä potilaasta otetaan kaksi aerobipulloa ja kaksi anaerobipulloa verta. Kaikki pullot voidaan ottaa yhdellä ja samalla pistolla. (Islab 2018.) Veriviljelynäytteenotossa on ehdottomasti noudatettava aseptista työskentelytapaa. Iholta veriviljelypulloon joutunut bakteeri voi aiheuttaa väärän positiivisen tuloksen. (NordLab 2016.) Veriviljelypullot merkataan näytteenottojärjestyksessä yhdestä neljään, ja aerobinen pullo täytetään aina ensin. Näytettä otetaan merkkiviivaan asti. Pulloja ei saa ylitäyttää, eikä näyte saa yltää neulaan asti. Pulloja tulee pyrkiä pitämään pystyasennossa takaisinvirtaamisen estämiseksi. (Islab 2018.) Pullot sekoitetaan kääntelemällä ja potilastiedot merkataan pulloihin potilastarralla (NordLab 2016). Tavoitteena on ottaa näytteet ennen antibioottikuuria. Jos antibioottikuuri on jo ehditty aloittamaan, otetaan veriviljelynäyte juuri ennen antibiootin annostelua. (Islab 2018.) Potilaan ollessa vakavasti sairas, tulee veriviljelynäytteet ottaa ensi tilassa veriviljelypositiivisen infektion toteamiseksi. Antibiootihoidon aloituksen viivästyminen voi heikentää potilaan ennustetta. (Matikainen ym. 2010, 80; Nordlab 2016.)

Jos näyte otetaan ruiskulla, käytetään avoneulaa 10 ml ruiskussa. Kun neula on suonessa, ruisku täytetään hitaasti vetämällä ruiskun mäntää ulospäin. Ruiskun tullessa täyteen, otetaan neula pois suonesta. Käytetty neula laitetaan särmäjätteisiin ja uusi steriili neula kiinnitetään ruiskuun. Ennen neulan suojuksen poistamista, painetaan ruiskulla hieman verta suojukseen, jotta ilma poistuu ruiskusta. Ruiskun verimäärästä noin puolet siirretään ensin korkin läpi anaerobipulloon ja loput korkin läpi aerobipulloon. Siirrettäessä verta anaerobipulloon pidetään ruisku pystyasennossa, jotta vältetään ilman pääsyä pulloon. Aerobipulloa täytettäessä päästetään ilmaa pulloon ottamalla ruisku irti neulasta, kun neula on vielä kiinni pullossa. (Matikainen ym. 2010, 82).

6.2 Veriviljelyn ulosveto

Kun veriviljelyautomaatti on antanut hälytyksen epäilystä bakteerikasvustosta veriviljelypullosta, on veriviljelypullosta siirrettävä näytettä viljelymaljoille. Tätä tekniikkaa sanotaan veriviljelyn ulosvedoksi. Ulosvedossa näytettä otetaan neula-adapterin avulla veriviljelypullosta ja tiputetaan yksi pisara viljelymaljalle. Veriviljelyn ulosveto tehdään suklaa-, veri- sekä anaerobi-maljoille ja objektilasille. Objektilasin kuivuttua preparaatile tehdään gramvärjäys. (Hellstén 2005.)

Veripisarasta tehdään hajotusviljely ja tarpeen mukaan bakteerin kasvatusta viedään pidemmälle, jos tunnistus ei suoraan onnistu. Mikäli kasvatusaljoilla havaitaan silmämääräisesti bakteeripesäkkeiden kasvua, kun kasvatusaljat ovat yön yli olleet inkubaattorissa +35°C asteen lämpötilassa, tiedetään tällöin veressä olleen bakteereja. Jos maljalla kasvaa vain yhtä bakteeria, voidaan tunnistus tehdä suoraan bakteeripesäkkeestä eikä erillistä puhdasviljelyä tarvitse tehdä. Bakteerit, jotka aiheuttavat kliinisiä infektioita kasvavat parhaiten kehon normaalissa lämpötilassa (+35-37°C). Bakteeripesäkkeiden kasvaessa riittävän suureksi, voidaan niille tehdä lajintunnistus sekä herkkyysmäärittäykset. (Hellstén 2005.)

Viljely kasvumaljalle on edelleen tärkein tutkimus bakteerien osoittamiseksi verestä. Sillä tunnistetaan bakteerin laji ja sekä bakteerin herkkyys eri antibiooteille. Tämän perinteisen tavan rinnalle on tullut nykyään myös pikatestejä, joilla voidaan joissain tapauksissa tunnistaa näytteestä bakteerit niiden kemiallisten reaktioiden tai bakteerin geenien tunnistamisen avulla. Tavoitteena on päästä nopeammin oikean hoidon valintaan. (Lumio 2018c.)

Lajintunnistus voidaan tehdä rikastusviljelyn jälkeen spesifisillä viljelymaljoilla. Bakteerien lajintunnistus voidaan tehdä myös esimerkiksi Maldi-Tof massaspektrofotometrilaitteella tai PCR-menetelmällä, bakteerista ja laboratoriosta riippuen. Etsittäessä tiettyä bakteeria, on käytettävä elatusainetta, jonka tiedetään olevan suotuisa bakteerin lisääntymiselle. Viljelyautomaatit ovat korvanneet muut veriviljelymenetelmät lähes kokonaan, kun etsitään positiivista tulosta näytteestä. Kuitenkin lajintunnistus tehdään jatkoviljelyiden kanssa käsityönä. (Lumio 2018c.)

7 LABORATORIODIAGNOSTIIKKA

7.1 Maljat

Kromogeenisellä CHROMagar Orientation -maljalla saadaan virtsan patogeeniset bakteerit erotettua niiden värin perusteella. Esimerkiksi *E. coli* kasvaa CHROMagar Orientation -maljalla tumman pinkin värisenä, kun taas enterokokit kasvavat turkoosinsinisenä. (CHROMagar 2009.) Kromogeeni, joka on liukeneva ja väritön molekyyli, on kiinnitetty tarkoin määrättyyn spesifiseen entsyymiaktiivisuuteen reagoivaan substraattiin. Kun maljalle viljelty bakteeri alkaa kasvamaan, se tuottaa entsyymiä ja saa aikaan kromogeenin irtoamisen substraatista. Tällöin kromogeeni alkaa tuottamaan sille tyypillistä väriä ja saostuu. Tämän spesifisen menetelmän ansiosta bakteereja on mahdollista erottaa toisistaan; eri bakteerit tuottavat niille yksilöllisiä värejä. (CHROMagar s.a.) CLED eli Cystine Lactose Electrolyte Deficient -maljaa käytetään myös virtsan bakteeritutkimuksissa. Laktoosia fermentoivat bakteerit, kuten *E. coli*, muuttavat maljan pH:ta, jolloin sen väri muuttuu keltaiseksi. (Giri 2019.) Verimalja on paljon käytetty malja mikrobiologian tutkimuksissa. Verimaljalla näkyy hyvin myös joidenkin bakteerien hemolysoiva vaikutus. Suklaamalja on verimalja, jota on lämpökäsitelty niin, että sen väri muuttuu ruskeaksi. (Microbe Online 2013.)

Müller-Hinton -maljaa käytetään antibioottiherkkyyssmäärityksissä, koska lähes kaikki bakteerit kasvavat tällä maljalla (Arval 2018; Merck 2019). Müller-Hinton -malja sisältää muun muassa lampaan verta, naudanolihautetta ja tärkkelystä. Jos bakteeri tuottaa toksiinia, tärkkelys sitoo sen eikä näin häiritse tunnistusta. Müller-Hinton -malja ei ole yhtä tiivistä materiaalia kuin muut käytössä olevat maljat, jolloin bakteerien on helpompi lisääntyä. (Arval 2018.)

7.2 Gramvärjäys

Gramvärjäys on Hans Christian Gramin mukaan nimetty bakteerien värjäysmenetelmä. Värjäyksessä grampositiiviset bakteerit värjäytyvät sinisiksi ja gramnegatiiviset bakteerit punaisiksi. Erot bakteerien värjäytyvyydessä johtuvat niiden soluseinärakenteista. (Sarvas ym. 2010, 21.)

Gramvärjäys alkaa levityspreparaatin valmistamisella objektilasille. Värjäys aloitetaan kristallivioletti-värillä, joka on tumman sinistä tai violetta. Värjäystä nopeutetaan jodipohjaisella Lugolin liuoksella. Kiinnittymätön ja ylimääräinen kristallivioletti huuhdotaan pois asetonipohjaisella värinpoistoliuoksella ja vedellä. Lopuksi suoritetaan vastavärjäys punaisella safraniinilla. Grampositiiviset bakteerit värjäytyvät sinivioletiksi, koska kristallivioletti-väri tarttuu soluseinän peptidoglykaanikerrokseen. Gramnegatiivisten bakteerien ohuempaan peptidoglykaaniin kristallivioletti ei sitoudu. Punainen vastaväri safraniini värjää gramnegatiiviset bakteerit punaisiksi. (Murray ym. 2016a.)

7.3 Laktoosinkäyttö- ja oksidaasitesti

Laktoosinkäyttökoetta käytetään tunnistamaan laktoosia fermentoivat enterobakteerit niistä, jotka eivät fermentoi laktoosia. Laktoosia eivät fermentoi *Salmonella*, *Shigella* tai *Yersinia*, jolloin pesäkkeet kasvavat CLED-maljalla värittöminä. *Escherichia coli* ja *Klebsiella* fermentoivat laktoosia, jolloin pH:n muutos maljalla muuttaa värin kellertäväksi. (Giri 2019; Murray ym. 2016b.)

Oksidaasitestiä käytetään tunnistamaan bakteereita, jotka tuottavat sytokromioksidasiensyymiä. Oksidaasi aiheuttaa reagenssin värinmuutoksen siniseksi. Testi voidaan suorittaa esimerkiksi levittämällä bakteeria imupaperille, jonka jälkeen pisara reagenssia tiputetaan bakteerin päälle. Värin muuttuessa siniseksi 5-10 sekunnin kuluessa, bakteeri on oksidaasiposiitivinen. Jos värin muutoksessa menee kaksi minuuttia tai kauemmin, tulos on negatiivinen. Joillain bakteereilla reaktio on niin sanotusti viivästynyt, jolloin värin ilmenemiseen menee 60-90 sekuntia. Oksidaasiposiitivinen bakteeri on esimerkiksi *Neisseria gonorrhoeae* ja negatiivisia stafylokokit, streptokokit ja enterobakteerit, kuten *E. coli*. (Cathcart ja Shields 2010; Murray ym. 2016b.)

7.4 API 10 S

API eli Analytical Profile Index -testi on manuaalinen, biokemiallinen testi, joka on vakiinnuttanut asemansa helppoutensa ja taloudellisuutensa takia. API -testejä on erilaisia gramnegatiivisille ja grampositiivisille bakteereille sekä hiivoille. (bioMérieux-USA 2019.) API 10 S -testiä käytetään enterobakteerien ja muiden gramnegatiivisten bakteerien tunnistukseen (bioMérieux s.a.). API -testeillä on suuri tietokanta, jonka avulla bakteerien tai hiivojen lajin tunnistaminen on helppoa ja varmaa. API -testiä käytetään diagnosoimaan tartuntataudin aiheuttaja sekä sitä voidaan käyttää myös teollisuudessa mikro-organismien tunnistamiseen. (bioMérieux-USA 2019.)

API 10 S -testissä on kymmenen pientä testikaivoa, jotka sisältävät kuivatettuja substraatteja. Testi aloitetaan valmistamalla bakteerisuspensio; mahdollisimman tuore, 18-24 tuntia vanha bakteeripesäke poimitaan maljalta viljelysauvalla ja sekoitetaan steriiliin veteen koeputkessa. Testipakkauksen pohjalle lisätään tislattua vettä, jotta testiliuska ei pääse kuivumaan inkubaation aikana. Testiliuska asetetaan pakkauksen pohjalle ja testiliuskan sisältämiin testikaivoihin pipetoidaan bakteerisuspensiota Pasteur-pipetillä niin, että kaivot täyttyvät. Bakteerisuspension lisäys kosteuttaa testikaivojen sisältämät kuivatut substraatit. Ilmakuilien syntymisen välttämiseksi testipakettia on hyvä pitää hie-man kallellaan ja pipetoida bakteerisuspensio kaivoihin pitämällä pipetin kärkeä kaivon reunassa. (bioMérieux s.a.)

CIT -kaivo täytetään niin, että myös kuplaosa täyttyy. LDC, ODC, H₂S ja URE -kaivojen kuplaosaan lisätään myös öljyä anaerobiolosuhteiden luomiseksi. Lopuksi kansi asetetaan testipakkauksen päälle kosteuden ylläpitämiseksi. Testiä inkuboidaan lämpökaapissa $+36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 18-24 tunnin ajan. Inkubaation aikana aineenvaihdunta saa testikaivoissa aikaan värinmuutoksen. Joihinkin värinmuutoksiin tarvitaan reagenssin lisäys. API 10 S -testin lisäksi tulee suorittaa oksidaasitesti tutkittavasta bakteerista, sillä oksidaasitesti on olennainen osa API 10 S -tulosten tulkintaa. Oksidaasitestistä ja API 10 S -testistä saadut positiiviset tulokset lasketaan yhteen neljännumeroisen numeroprofiilin saamiseksi.

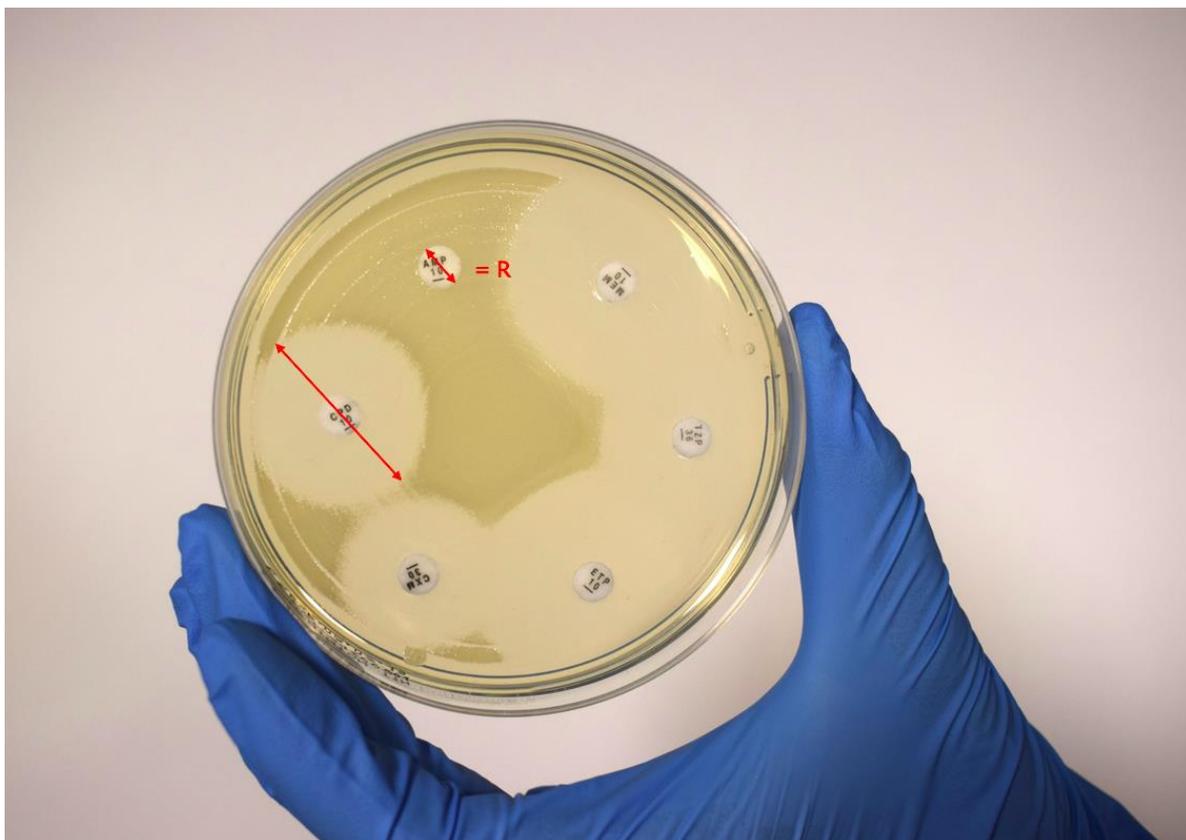
Saatu numeroprofiili etsitään API 10 S -testin mukana tulevasta ohjeesta tai apiweb -tunnistusohjelmasta, jolloin voidaan tunnistaa kyseessä oleva bakteerilaji. (bioMérieux s.a.)

7.5 Herkkyysmääritykset

Herkkyysmäärityksellä laboratorion on tarkoitus vastata kysymykseen, vaikuttaako tietty antibiootti tiettyyn bakteeriin normaalisti vai onko bakteerilla suuri sietokyky eli resistenssi käytettävää lääkeainetta kohtaan. Lääkepitoisuutena ilmaistuna bakteeria sanotaan resistentiksi, jos se sietää isompaa lääkeainepitoisuutta kuin mitä turvallisesti voidaan annostella ihmiselle. Herkkyysmäärityksiä on erilaisia, kuten kiekkoherkkyysmäärityksiä sekä Epsilon-testejä. Yhteistä molemmille testeille on bakteerisuspension levittäminen tasaisesti viljelymaljalle ja lääkeaineen lisäys levitetyn bakteerisuspension päälle. (Carlson ja Koskela 2011.)

Kiekkoherkkyysmääritystä käytetään tunnistamaan lääkeherkkydeltään erilainen bakteerikanta. Kiekkoherkkyysmenetelmää käytetään kansainvälisesti paljon helppoutensa sekä edullisuutensa takia. Menetelmän hyviä puolia on sen soveltuminen erinomaisesti nopeakasvuille bakteereille, kun taas haittana voidaan pitää hitaan kasvun anaerobibakteereiden herkkyden määrittystä. Lisäksi kiekkoherkkyysmääritys on herkkä virheille, jolloin vakiointi on vaikeaa. Menetelmällä tunnistetaan, kuinka hyvin jokin lääke tehoaa tiettyyn bakteeriin. Kiekkoherkkyysmäärityksessä tutkittavasta bakteerista tehdään suspensio, joka levitetään elatusmaljalle. Päälle lisätään lääkettä lääkeainekiekko muodossa. Bakteeri alkaa välittömästi kasvamaan maljalla ja lääkeaine alkaa samaan aikaan estämään bakteerin kasvua niissä kohdissa, joissa lääkeaine tehoaa bakteeriin. Mitä suurempi estorenkkaan halkaisijasta tulee lääkeaineen ympärille, sitä paremmin lääkeaine tehoaa bakteeriin. Herkkyysmääritystä ei tehdä sillä lääkkeellä, jolle bakteerin tiedetään olevan resistentti. (Carlson ja Koskela 2011). Kuvassa 2 on tehtynä kiekkoherkkyysmääritys Müller-Hinton maljalle.

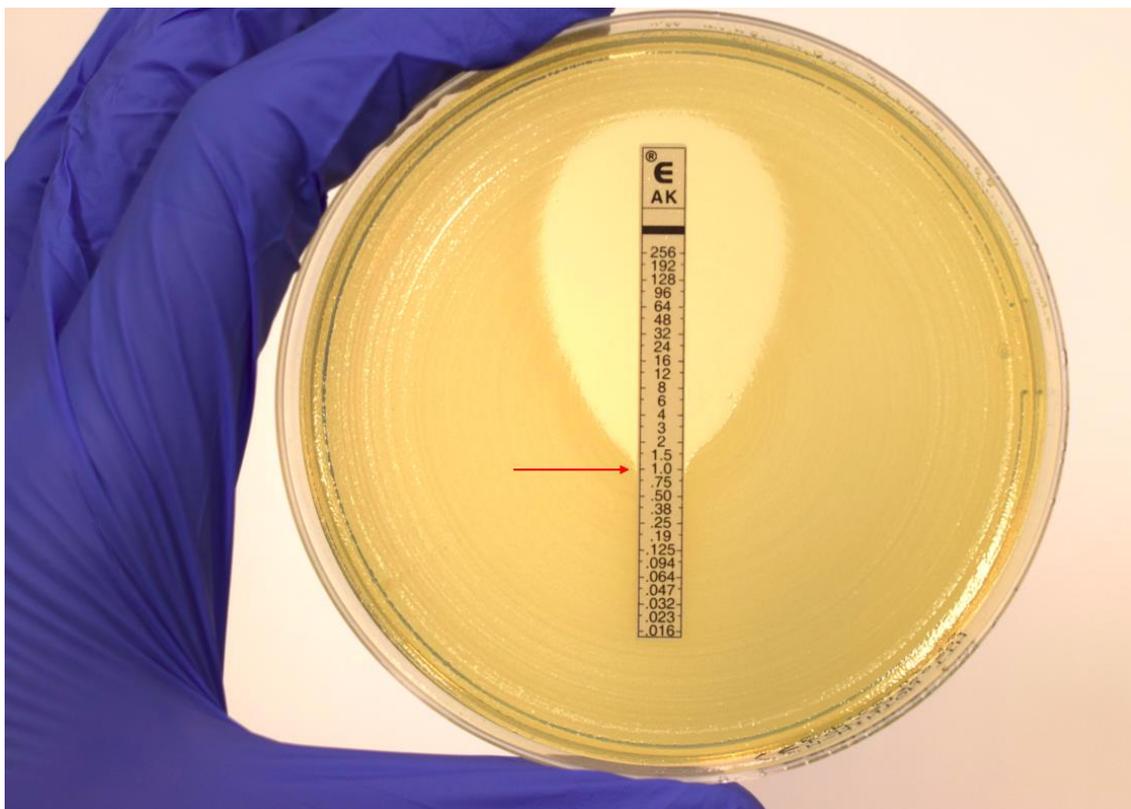
Herkkyysmalja laitetaan inkuboitumaan yön yli muiden viljeltyjen maljojen kanssa. Vastaus annetaan aamulla. Vastausvaihtoehtoina on (S) susceptible, (R) resistant tai (I) intermediate. Kirjaimet testattujen antibioottien perässä tarkoittavat: S – Bakteeri on herkkä kyseiselle antibiootille, jolloin kyseinen antibiootti parantaa tulehduksen, R – bakteeri on resistentti kyseiselle antibiootille eli kyseinen antibiootti ei tehoa bakteeriin, I – kyseinen antibiootti tehoaa kyseiseen bakteeriin vain osittain tai ei olla varma bakteerin antibioottiherkkydestä. Intermediate -aluetta voidaan pitää ikään kuin puskurivyöhykkeenä. Kaikilla bakteereilla ei ole olemassa puskurivyöhykettä, ja osa bakteereista joko tuhoutuu antibiootilla tai sitten ei. Tämä luokitus soveltuu hyvin paikallishoitoon. Tämän jälkeen voidaan tarvittaessa tehdä vielä Epsilon-testi. (Carlson ja Koskela 2011; Eskelinen 2016.)



KUVA 2. Kiekkoherkkyys (Ala-aho ja Ruohoaho 2019.)

Epsilon-testillä testataan, mikä on antibiootin pienin pitoisuus, joka estää tietyn bakteerin kasvun. Tästä käytetään myös kansainvälistä termiä, MIC-testi (Minimum Inhibitory Concentration). Bakteerien herkkyys elimistössä riippuu monesta tekijästä, kuten bakteerin määrästä, kudoksen pH:sta ja hapen osapaineesta sekä bakteerin kasvunopeudesta. Kun tiedetään, millä pitoisuudella tietty lääkeaine vaikuttaa tiettyyn bakteeriin, voidaan vakavissa infektioissa ottaa huomioon lääkeaineen farmakokineettiset ominaisuudet ja säätää lääkeaineen annostusta vastaamaan paremmin bakteeriin. Käytännössä pyritään kudoksessa 2-4 kertaiseen lääkeainepitoisuuteen kuin testatun antibiootin MIC-arvo. MIC-testillä voidaan tarkemmin määrittää bakteerin resistenssi antibiooteille kuin kiekkotestillä. (Carlson ja Koskela 2011.)

Epsilon-testinä käytetään helppoa kaupallista menetelmää, jolla saadaan määritettyä MIC-arvo. Epsilon-testissä on muovinen liuska, jonka yhdellä puolella on mitta-asteikko ja toiselle puolelle on imeytetty tietty kasvava pitoisuus lääkeainetta. Lääkeaineen pitoisuus ilmoitetaan mg/l. Kasvatusmaljalle levitetään tasaisesti suspensio tutkittavasta bakteerista, jonka päälle lisätään Epsilon-testiliuska. Maljan inkuboinnin jälkeen luetaan tulos. MIC-arvo saadaan, kun luetaan mitta-asteikon ja nähtävissä olevan estorenkään keskikohdistista. (Carlson ja Koskela 2011.) Kuvassa 3 on tehtynä E-testi Müller-Hinton -maljalle, ja nuoli havainnollistaa E-testin lukukohtaa.



KUVA 3. Epsilon-testi (Ala-aho ja Ruohoaho 2019.)

EUCAST eli European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, on Euroopan antimikrobi-testauskomitea. EUCAST on perustettu jo vuonna 1997 yhtenäistämään eurooppalaista antimikrobien testausta. EUCAST on ikään kuin kattojärjestö tämän aiheen ympärillä. Monilla Euroopan mailla on oma toimistonsa, joka sijoittuu EUCAST:n alle, myös Suomella. Suomessa vastaava toimija on ollut jo vuodesta 1992 FiRe (Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance), tarkoituksenaan yhtenäistää Suomessa tehtävät herkkyysmäärityskäytännöt. Vuonna 2018 FiReen kuului jo 23 Suomen suurinta mikrobiologian laboratoriota sekä Terveyden ja hyvinvoinnin laitos eli THL. FiRen tärkeimpiä tehtäviä on ylläpitää keskustelua laboratorioden kanssa, jotta kaikki ovat ajan tasalla jatkuvan muutoksen keskellä, tuottaa kansallisia ohjeita ja menetelmiä laboratorioihin, pitää yllä jatkuvaa vuoropuhelua EUCAST:n ja myös antaa vuotuinen resistenttiraportti EUCAST:lle. EUCAST hoitaa samat asiat kansainvälisellä tasolla ja ohjaa jatkuvasti eurooppalaisia valtioita yhdenmukaiseen toimintaan. EUCAST pitää kirjaa eri bakteerien resistentti-kannoista sekä määrittää kansainväliset kliiniset raja-arvot, joita laboratoriot käyttävät mikrobilääkehoidossa. (EUCAST 2019.)

Erilaisten oppimistyylien perusteella ihmisiä on voitu jakaa eri kategorioihin, kuten kinesteettisesti, visuaalisesti ja auditiivisesti oppiviin ihmisiin (Miah ja Newton 2017, 1, 6). Oppimistyyli siis kuvailevat millä tavalla eri ihmiset muun muassa keräävät, tulkitsevat, järjestävät ja varastoivat tietoa (Chick s.a.) Oppimistyylien takana on ajatus, että parempiin oppimistuloksiin päästään, kun oppijalle opetetaan hänen oppimistyyliinsä mukaisesti. Kyseisen teorian toimivuudesta ei kuitenkaan löydy tieteellisiä todisteita. (Miah ja Newton 2017, 1, 6.) Yksilölle parhaiten sopiva oppimistyyli usein vaihtelee kuitenkin joissain määrin ihmisten välillä. Yksi merkittävä tekijä on oppijan oma koulutustausta. Uutta tietoa niin sanotusti rakennetaan vanhan päälle, jolloin oppijan aiempi tietopohja määrää minkä tyyppinen ja tasoinen ohjaus on optimaalisinta tämän oppimisen kannalta. (Bjork, McDaniel, Pashler ja Rohrer 2009.) Oppimistyylien teoriasta voi kuitenkin olla hyötyä, kun niitä sovelletaan opetettavaan asiaan, ei itse oppijaan. Esimerkiksi auditiiviset tehtävät voivat olla hyödyllisiä musiikin ja kielten kursseilla, kinesteettiset tehtävät voivat olla hyödyllisiä anatomian ja taiteen kursseilla, visuaaliset tehtävät voivat olla hyödyllisiä maantiedon kursseilla ja niin edelleen. (Chick s.a.)

Luennot ovat perinteinen opetustapa korkeakouluissa. Opiskelijoiden parempien oppimistulosten takaamiseksi on kuitenkin kannattavampaa rohkaista opiskelijoita aktiivisempaan rooliin omassa oppimisessaan. Näin opiskelijat ryhtyvät itse etsimään ja käsittelemään tietoa sen sijaan, että vain vastaanottaisivat tietoa luennoitsijalta tai opettajalta. (Litmanen 2015.)

Käänteinen oppiminen eli flipped learning on oppimisen ideologia, jossa opettaja totuttaa opiskelijoita oma-aloitteiseen oppimiseen ja tukee opiskelijan valinnanvapautta. Käänteinen opetus eli flipped classroom taas on opetusmetodi, joka auttaa opettajaa tekemään muutoksia vanhoihin toimintatapoihin ja näin luo tilaa oppimiskulttuurin kehittämiseksi. Käänteisessä opetuksessa toimitaan nimensä mukaisesti käänteisesti; opiskelijat tutustuvat opiskeltavan aiheen teoriaan kotona ja kotitehtävät tehdään koulussa. Käsitteellä *käänteistä* ei kuitenkaan tarkoiteta vain opetustapojen muuttamista, vaan opettajien tietoista ammatillista kasvua, joka vaatii opettajuuden uudelleen rakentamista. Tällä tarkoitetaan, että opettajaa motivoidaan ajattelemaan ja näkemään opetus- ja oppimismahdollisuudet oppijan näkökulmasta. Opetusteknisen muutoksen tarkoituksena on auttaa opiskelijoita soveltamaan tietoa sen sijaan, että opettaja käyttäisi yhteistä aikaa opiskelijoiden kanssa tiedon siirtämiseen (Humaloja ym. 2017, 20-21).

Käänteinen oppiminen velvoittaa opiskelijan itsenäiseen ajatteluun ja sisäistämään opittavat asiat sen sijaan, että hän tekisi annettuja tehtäviä juuri opettajan antaman tietyn mallin mukaan. Opiskelijan ja opettajan välinen kunnioitus ja luottamus ovat tärkeitä edellytyksiä opiskelijakeskeisen oppimiskulttuurin toteutumiseksi. Opettajat kohtaavat opiskelijan yksilönä ja tukevat tämän sisäistä motivaatiota, itseohjautumista, sekä tekevät omatahtisen opinnoissa etenemisen mahdolliseksi. (Humaloja ym. 2017, 22-23, 35, 44.)

Konstruktivisessa oppimiskäsityksessä opettajan perinteinen rooli tiedon jakajana muuttuu oppimisen ohjaajaksi ja oman tiedon asiantuntijaksi. Opiskelijan oma tapa hahmottaa maailmaa on keskiössä ja opiskelijalla on siten tärkeä rooli omassa oppimisessaan. Opiskelijan oman ymmärryksen ja merkityksen rakentaminen aiemman tietopohjan päälle on hyvin merkityksellistä, sillä oppiminen ei ole pelkkää passiivista tiedon vastaanottamista. Opiskelijan täytyy osata tuottaa tietoa, ei ainoastaan kuluttaa sitä. Uutta informaatiota täytyy kyetä käyttämään, muokkaamaan ja kytkemään omaan aikaisempaan tietopohjaan. Tämä lisää oppimisen mielekkyyttä merkityksellisyyden lisäksi, ja mielekkyys taas toimii motivoivana tekijänä omassa oppimisessa. Asioiden ymmärtäminen on tärkeämmässä roolissa kuin tiedon ulkoa opettelu. (Humaloja ym. 2017, 30-31.)

Nykypäivänä opetusvideot ovat tärkeä osa korkeakoulutusta. Videoita voidaan käyttää perinteisen luokkaopetuksen rinnalla, ja ne toimivat internetissä tapahtuvan etäopiskelun pääsääntöisenä tiedonlähteenä. Teknologian käyttö opiskelussa voi tutkimusten mukaan tehostaa oppimista ja varsinkin videoiden käyttö on todettu hyvin tehokkaaksi opetusvälineeksi. (Brame 2016.) Kun video on kohdennettu oikein, sen avulla voi tavoittaa suuren määrän ihmisiä tai tietyn tarkasti rajatun kohderyhmän. Video on usein edullinen väline, kun otetaan huomioon sen avulla saavutettavat kontaktit. Videota on helppoa muokata, tallennus onnistuu eri muodoissa sekä videotiedostoa voi jakaa erilaisille alustoille. (Aaltonen 2018, 17.)

Nykyään opetuksessa käytetään yhä enemmän visuaalista mediaa oppimisen tehostamiseksi. Nuoret ovat kasvaneet maailmassa, jossa ollaan jatkuvasti visuaalisten ärsykkeiden, kuten television, tietokoneiden ja videoiden, ympäröimänä. Monet opettajat ovat kokeneet, että videoiden käyttö oppitunneilla on auttanut heitä olemaan luovampia ja tehokkaampia opetuksessaan. Videoteknologian käytön positiiviset vaikutukset ovat näkyneet opiskelijoiden oppimistuloksissa ja opiskelijat suhtautuvat myönteisesti videoteknologian käyttöön oppitunneilla. Video on joustava oppimisväline; videota on mahdollista aina tarvittaessa pysäyttää, toistaa uudelleen ja kelata eteen- tai taaksepäin. Tämän vuoksi opiskelijan on mahdollista itse vaikuttaa oppimistahtiinsa sekä saada tunne kontrollista oman oppimisensa suhteen. (Jurich 1999.)

Opetusvideoissa on hyvä minimoida kaikki ylimääräinen ja asiaankuulumaton, joka ei edistä opiskelijan oppimista. Yksi tällainen tekijä voi olla taustamusiikin poisjättäminen opetusvideoissa. Opiskelijan huomion saa kiinnittymään opetusvideoon tehokkaammin, kun videossa käytetään tuttavallista puhuttelutapaa muodollisen tai passiivimuotoisen puhuttelutavan sijaan. Tuttavallinen puhuttelutapa luo opiskelijan ja ohjaajan välille tunteen niin sanotusta sosiaalisesta kumppanuudesta, joka saa opiskelijan sitoutumaan paremmin opetusvideon sisällön ymmärtämiseen. Englannin kielisissä videoissa yhteenkuuluvuuden tunnetta voi vahvistaa sinuttelulla passiivin käytön sijaan, jolloin tuttavallinen puhetapa voi olla sanan "you" käyttö. (Brame 2016.)

Pelkkä videoteknologian saatavuus ei kuitenkaan takaa oppimista tai videoteknologian oikeanlaista käyttöä. Opettajan tulee olla tietoinen niin videoteknologian rajallisuuksista kuin mahdollisuuksista. Videoiden käyttö päälähteenä oppimiselle ei ole kannattavaa, sillä opiskelijoiden kiinnostus ja kyky oppia videoiden kautta laskee ajan myötä. Videoita kannattaa siten ripotella läpi kurssin keston ja käyttää niitä oppituntien elävöittämiseen. (Jurich 1999.) On myös todettu, että opiskelijat, joilla ei ole aiempaa tietoa opetettavasta aiheesta, oppivat paremmin jaksotetun kuin jatkuvan opetusmateriaalin avulla. Kurssin opettaja päättää, missä ja milloin opetusvideot näytetään kurssin aikana. (Ljubojevic, Vaskovic, Stankovic ja Vaskovic 2014, 279-280.) Videot toimivat samalla tavalla kuin muukin perinteinen oppimista edesauttava materiaali: videot eivät ole itsessään hyviä tai huonoja, vaan merkitys on siinä, miten niitä hyödynnetään ja mikä on niiden rooli oppimisessa (Humaloja ym. 2017, 124).

9.1 Suunnittelu ja käsikirjoitus

Ennen kuvaamisen aloittamista on tärkeää tutustua videon aiheeseen ja suunnitella videoiden kulku etukäteen (Ebner s.a.). Suunnitelma auttaa videon teon jäsentämisessä eikä turhaa kuvamateriaalia tule kuvattua (Välikylä 2005, 49). Huolella tehty käsikirjoitus on välttämätön edellytys hyvälle videolle, mutta ei yksinään riittävä. Käsikirjoitus on kuin kivijalka, joka toimii perustana myöhemmän tuotannon rakentamiselle. Kuvaus- ja editointivaihetta nopeuttaa, kun käsikirjoitus ja ylipäätään koko ennakkosuunnitelma on tehty ajatuksella. Käsikirjoitus auttaa tekijöitä hahmottamaan kuvattavan videon keskeisimmän aiheen ja sisällön. Käsikirjoitusta tehdessä sisältö tarkentuu ja hioutuu, jolloin epäoleelliset asiat jäävät pois ja videon toimivuus hahmottuu. (Aaltonen 2018, 14.)

Tuotannon ulkopuolisten tahojen, kuten tilaajan tai opinnäytetyön ohjaajan, kanssa voidaan keskustella käsikirjoituksen avulla. Tilaajan kanssa käydään läpi muun muassa sisältö ja lähestymistavan oikeellisuus. Käsikirjoitus auttaa myös työryhmän jäseniä kommunikoimaan keskenään videoon liittyvistä näkemyksistä ja päämääristä. Käsikirjoituksella on suuri merkitys tuotannollisesti, sillä sen perusteella pystytään arvioimaan toteutukseen tarvittavat resurssit, kuten ajankäyttö. Käsikirjoitus ja sen sisältämät kohtaukset jaetaan kuvauspäiviksi kuvauspaikan, esiintyjien sekä muiden huomioon otettavien asioiden perusteella. (Aaltonen 2018, 15.)

Käsikirjoitusta tehdessä täytyy olla tiedossa videon tavoite. Opetusvideon tavoitteena on aina oppiminen, esimerkiksi näyttämällä videolla mahdollisimman havainnollisesti miten jokin työvaihe tehdään. Videolla ja siten käsikirjoituksella kuuluu myös olla kohderyhmä. Kun kohderyhmä on mietitty ja rajattu tarkkaan, tuotokselle asetettu tavoite saavutetaan varmemmin. Käsikirjoitusta laadittaessa voi miettiä kysymyksiä, kuten mitä ammattiryhmää kohderyhmä edustaa, mitä he tietävät jo ennestään aiheesta ja mikä on heidän suhtautumisensa opetettavaan asiaan. (Aaltonen 2018, 19.)

Myös videon käyttötapa vaikuttaa käsikirjoitukseen. Käsikirjoitusprosessin aikana pitää ottaa huomioon, katsotaanko videota esimerkiksi oppitunnilla luokahuoneessa yhdessä opettajan ja muiden opiskelijoiden kanssa vai voivatko opiskelijat katsoa videota kotona mobiililaitteella osana itseopiskelua. Kun opetusvideota suunnitellaan, täytyy miettiä, mikä videon asema on opetuskokonaisuudessa. Onko videon tarkoitus opettaa ja sisältää kaikki opetettava materiaali vai toimia osana sitä, tukien kokonaisuutta. (Aaltonen 2018, 20.)

Kriteerit hyvälle käsikirjoitukselle ovat selkeys ja konkreettisuus. Siitä pitää välittyä vaivatta videon idea ja sisältö. Käsikirjoituksessa kuvaillaan mahdollisimman yksityiskohtaisesti kameran edessä tapahtuva toiminta. Käsikirjoituksen ei kuitenkaan kuulu sisältää teknisiä ohjeita, kuten kameran liikkeiden tai kuvakulmien kuvailua. Vastuu näistä on kuvaajalla kuvausvaiheessa. Videossa ilmi tuleva informaatio täytyy sijoittaa ja rytmittää sen mukaan, mitkä asiat ovat olennaisia ja tärkeitä, mitkä epäolennaisia. On tärkeää miettiä, mitä katsoja voi päätellä muutenkin ja varsinkin videon alun ahtamista täyteen tiedolla tulee välttää. Videon alussa on hyvä mennä suoraan asiaan. (Aaltonen 2018, 134-136.)

Käsikirjoituksesta tehdään usein monta eri versiota ennen lopullisen käsikirjoituksen syntyä. Käsikirjoitusta saatetaan vielä muuttaa kuvausten jo alettua. (Aaltonen 2018, 12.) Kuvatessa saattaa esimerkiksi huomata, että jokin käsikirjoituksen osa on toteuttamiskelvoton. Toisaalta paikan päällä kuvatessa voi keksiä paremman tavan toteuttaa jonkin osan videosta tai jotain uutta mielenkiintoista tulee eteen. (Välikylä 2005, 50.) Käsikirjoituksen sisältö tulee arvioida ennen kuvaamisen aloittamista. Siitä tulee tarkastaa, ovatko faktat oikein ja vastaako sen sisältö asetettuja tavoitteita. Käsikirjoittaja tarkastaa käsikirjoituksen ensin itse ennen tilaajalla tarkastuttamista. Tilaaajan tehtävä käsikirjoitusprosessissa on kertoa videoprojektin lähtökohdat, kertoa lisätietoa kirjoitusprosessin aikana sekä hyväksyä käsikirjoitus ennen kuvausten alkamista. (Aaltonen 2018, 24, 158.)

Kun käsikirjoitus tehdään ryhmässä, kynnys kirjoittamiseen alenee. Ryhmäläisten on tärkeää tulla toimeen toistensa kanssa, sillä toisista ryhmäläisistä saadaan tukea ja ongelmakohtista selvittää yhdessä. Ryhmässä on hyvä olla kunnollinen työnjako, vaikka yhden jäsenen kannattaa ottaa päävastuu kirjoittamisesta sekä toimia ryhmän vetäjänä. (Aaltonen 2018, 26-28.)

9.2 Kuvaaminen

Kuvausvaiheessa käsikirjoitus niin sanotusti pilkotaan palasiksi, jotka muutetaan todellisuudessa tallioituiksi hetkiksi. Leikkausvaiheessa nämä palaset kootaan taas yhteen. (Aaltonen 2018, 248.) Laadukasta kuvamateriaalia varten on hyvä valita teräväpiirtokamera. Nykypäivänä kamerat ovat hyvin kehittyneitä eikä kameroiden kuvalaadussa esiinny kovin paljoa eroa eri hintaluokissa. Jos omasta takaa ei löydy kameraa, on kamera usein mahdollista vuokrata tai lainata esimerkiksi omasta oppilaitoksesta. Laadukkaan videokuvan takaamiseksi kameran kanssa on suositeltavaa käyttää kamerajalustaa, jotta videomateriaalista tulee tasaista (Ebner s.a.). Pääkriteeri katselukelpoiselle videolle onkin vakaa kuva, sillä rauhaton ja pärisevä videokuva ei ole mieluisaa katsottavaa (Välikylä 2005, 25). Kamerajalustalta ei vaadita erityisiä toimintoja. Riittää, kun jalusta on vakaa ja se on säädettävissä. Kamerajalustan eli tripodin kaikkia kolmea jalkaa pystyy usein säätämään korkeussuunnassa. (Välikylä 2005, 18.)

9.3 Editointi

Eri valmistajien editointi- eli leikkausohjelmia on saatavilla suuri määrä. Editointiohjelmaa valittaessa tärkeintä on miettiä, mitä siltä tarvitsee. Yksinkertaisellakin editointiohjelmalla pystyy järjestelemään kohtauksia sekä muuttamaan niiden kestoa. (Välikylä 2005, 65.) Editointiohjelmiin on syytä perehtyä kunnolla, sillä se auttaa tarinankerronnassa (Ang 2006, 165). Tärkeintä editointiprosessissa on opetella yhden tietyn editointiohjelman käyttö kunnolla, sillä viime kädessä eri editointiohjelmat sisältävät hyvin samanlaisia ominaisuuksia (Välikylä 2005, 66). Editoinnin aloittamiseksi kuvattu videomateriaali varmuuskopioidaan muistikortille ja siirretään tietokoneelle. Editoinnin selkiyttämiseksi on hyvä jakaa kuvatut materiaalit omiin kansioihin niiden aiheisällön perusteella. (Ebner s.a.)

Ensimmäinen todellinen raakaeditointi tehdään jo silloin, kun päätetään, mitkä kuvatut materiaalit siirretään tietokoneelle ja mitä karsitaan pois. Videomateriaali on hyvä käydä ensin läpi ja tuoda tietokoneelle vain ne kohtaukset, joita uskoo käyttävänsä videotuotoksessa. Selvästi pilalle menneet kohtaukset on hyvä jättää kokonaan siirtämättä tietokoneelle. Tietokoneelle tuomisen jälkeen videomateriaali siirretään editointiohjelman aikajanalle, jossa varsinainen leikkaaminen ja muokkaaminen tapahtuu. Editoidessa voi muun muassa poistaa ja järjestellä kohtauksia, rajata niiden pituutta, poistaa ääniraitoja, lisätä tekstiä ja erilaisia siirtymiä. Videossa käytettävän tekstin fonttikokoon ja tekstien riittävään pituuteen tulee kiinnittää huomiota. (Välikylä 2005, 72, 76, 91.) Editointiprosessin voi-kin jakaa muutamaaan päävaiheeseen: videoleikkeiden sijoittaminen aikajanalle, leikkeiden keskinäisten suhteiden hienosäätö, jakson säätäminen otolliseksi, siirtymien lisäys, valotuksen ja värimaailman tasapainotus yhteneväiseksi kokonaisuudeksi ja äänen sekä musiikin käyttö sopivissa kohdissa videokokonaisuutta (Ang 2006, 166).

Editoinnin kuuluu olla mahdollisimman huomaamatonta ja videon tulee soljua saumattomasti, jotta sitä on miellyttävää katsoa (Ebiner s.a.). Siirtymät leikkausten välillä tulisi saada näyttämään mahdollisimman luonnollisilta eikä videossa saisi näkyä ihmisten tai esineiden yhtäkkiä siirtyvän paikasta toiseen. Usein videoissa käytetään suoraa leikkausta. Jos kuitenkin haluaa käyttää siirtymiä, kannattaa valita mahdollisimman hienovarainen siirtymä, kuten ristivaihto. Ristivaihdossa kuva häivytetään toiseen pikkuhiljaa. (Välikylä 2005, 81, 94). Jos katsoja kiinnittää huomiota editointiin videota katsolessaan, on editoinnissa parannettavan varaa. Editoinnin tarkoituksena on korjata asiat, jotka ovat menneet pieleen kuvauksen aikana. Editointiin voi kulua paljon aikaa ja videosta saattaa joutua luomaan monta versiota ennen kuin lopullinen jakamisen arvoinen versio on valmis. Videossa kannattaa käyttää vain parhaita ottoja, ja jokaisella videossa käytetyllä otolla pitää olla tarkoitus. (Ebiner s.a.)

Opiskelijoiden oppimista opetusvideoista voidaan tehostaa pitämällä videot lyhyinä (Brame 2016). Yksi leikkaajan tärkeimmistä ominaisuuksista onkin kyky tiivistää videota ja jättää kohtauksia pois (Välikylä 2005, 79). Ihanteellinen pituus opetusvideolle on kuusi minuuttia tai alle. Mitä pidempi videon kesto on, sitä vähemmän aikaa opiskelijat jaksavat katsoa kyseistä videota. Opiskelijoiden oppimisen ja videon sisältöön keskittymisen kannalta on parempi luoda monta lyhyttä, alle kuuden minuutin videota, kuin yksi pitkä video. Lyhyiden videoiden aikana opiskelijan ajatus ei karkaa yhtä helposti kuin pitkää videota katsottaessa. (Brame 2016.)

10 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

10.1 Tarkoitus ja tavoite

Opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa opetusvideoita Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille *Escherichia coli*-bakteerin tunnistuksesta ja tutkimusmenetelmistä veri- ja virtsanäytteistä. Opinnäytetyön tavoitteena on tukea bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista kliinisessä mikrobiologiassa. Opinnäytetyön tuotosten aiheet rajattiin seuraaviin kuuteen aiheeseen; Virtsan primääri- ja puhdasviljely (Liite 1), herkkyysmääritykset (Liite 2), veriviljelyn näytteenotto (Liite 3), veriviljelyn ulosveto (Liite 4), gramvärjäys (Liite 5) ja API 10 S-, laktoosinkäyttö- ja oksidaasitesti (Liite 6).

10.2 Toiminnallinen opinnäytetyö

Ammattikorkeakoulussa on mahdollista tehdä toiminnallinen opinnäytetyö tutkimuksellisen opinnäytetyön sijaan. Toiminnallisen opinnäytetyön tavoitteena on ohjeistaa, opastaa, järjestää tai järjestää käytännön toimintaa. Toiminnallinen opinnäytetyö voi olla esimerkiksi jonkin tapahtuman järjestäminen tai oppaan luominen. Erilaisia tapoja toteuttaa toiminnallinen opinnäytetyö on monia, kuten kirjan, vihkon tai kotisivujen luominen. Olennaista toiminnallisessa opinnäytetyössä on yhdistää käytännön toteutus ja sen raportointi tutkimusviestinnän tapoja käyttäen. On myös tärkeää ottaa huomioon opinnäytetyön käytännönläheisyys ja työelämälähtöisyys. Opinnäytetyön tulisi myös osoittaa alan tietojen ja taitojen hallitsemista riittävällä tasolla. Ammattikorkeakoulututkinnon tavoitteena on antaa opiskelijalle valmiudet toimia alan asiantuntijatehtävissä tämän valmistuttua. (Vilka ja Airaksinen 2003, 9-10.)

Opinnäytetyölle on tärkeää valita kohderyhmä sekä miettiä kohderyhmän mahdollista rajaamista. Toiminnallisen opinnäytetyön tuotos on aina tarkoitettu jollekin tai jonkun käytettäväksi, sillä tuotoksen tavoitteena on esimerkiksi jonkin toiminnan selkeyttäminen ohjeistuksen kautta. Kohderyhmää määritettäessä voidaan miettiä seuraavia ominaisuuksia: ikä, koulutus, sosioekonominen asema, asema työyhteisössä, toimeksiantajan toiveet sekä tavoitteeksi asetetut tuotokset. On hyvä miettiä, mikä on ongelma, jota ollaan opinnäytetyön avulla ratkaisemassa ja ketä kyseinen ongelma koskee. Opinnäytetyön tuotoksen sisällön ratkaisevana tekijänä on, mille ryhmälle idea on ajateltu. Toiminnallisen opinnäytetyön prosessi olisi vaikeaa toteuttaa ilman kohderyhmää, sillä se rajaa mahdollisten valintojen ryhmän ja auttaa valitsemaan perustellusti tuosta ryhmästä otollisimman sisältövaihtoehdon. Kohderyhmän määrittäminen auttaa myös opinnäytetyön laajuuden rajaamisessa. (Vilka ja Airaksinen 2003, 38-40.) Mikrobiologian opiskelu Savonia-ammattikorkeakoulussa alkaa toisena opiskeluvuotena. Tämän vuoksi opinnäytetyömme kohderyhmänä ovat etenkin toisen vuoden bioanalyttikko-opiskelijat, jotka ovat jo ehtineet käymään läpi mikrobiologian teoriaa ennen opetusvideoiden katsomista. Näin voimme olettaa, että kohderyhmällä on jo hieman taustatietoa opetusvideoiden aiheista sekä kiinnostusta alan taitoja ja työtehtäviä kohtaan.

10.3 Opinnäytetyön eteneminen

Opinnäytetyön aihe saatiin Savonia-ammattikorkeakoululta loppuvuodesta 2018. Päädyimme aiheeseen, sillä olimme varsin kiinnostuneita toteuttamaan toiminnallisen opinnäytetyön kliinisen mikrobiologian parissa. Opetusvideoiden luominen kuulosti mielenkiintoiselle ja videoiden kuvaaminen, editointi ja kaikki opetusvideoiden tuottamiseen liittyvä oli meille kaikille uuden oppimista. Tämä oli kuitenkin omiaan luomaan haasteita, kun aikaisempaa kokemusta opetusvideoiden teosta ei ollut.

Suunnitelma opinnäytetyölle laadittiin vuoden 2019 tammikuun aikana ja hankkeistamis- ja opinnäytetyösopimus Savonia-ammattikorkeakoulun kanssa hyväksyttiin helmikuussa 2019. Opinnäytetyön varsinaisen prosessin aloitimme tekemällä käsikirjoitukset jokaiselle opetusvideolle. Käsikirjoitukset teimme ryhmätöinä. Olimme saaneet opinnäytetyön ohjaajalta ideoita muun muassa erilaisista mikrobiologisista viljelyistä ja näytteenotoista, joista oli tarve saada opetusvideot kliinisen mikrobiologian harjoitustunteja varten. Näistä ehdotuksista valitsimme yhteensä kuusi aihetta ja näiden pohjalta tehtiin myös aiheen rajaus. Tehtävänantona oli luoda joko monta erillistä opetusvideota aihepiireittäin tai koota kaikki tuotokset yhdeksi isommaksi videoksi. Päädyimme luomaan monta erillistä videota, sillä koimme tämän olevan parempi oppimisen ja etenkin opiskelijoiden keskittymisen kannalta. Muutaman minuutin pituisten videoiden kulkuun on helpompi keskittyä ja niitä on myös helpompi kelata esimerkiksi taaksepäin, jos jonkin työvaiheen ymmärtäminen vaatii kertausta. Käytämme opinnäytteen tuotoksissa myös muita oppimista tehostavia keinoja, kuten sinuttelevaa puhe- tapaa. Päätimme myös jättää taustamusiikin kokonaan pois minimoidaksemme videoista kaiken ylimääräisen, joka ei edistä opiskelijoiden oppimista.

Kun kaikki käsikirjoituksemme oli hyväksytty, aloitimme videoiden kuvaamisen keväällä 2019. Kaikki opinnäytetyömme kuusi eri videota kuvattiin Savonia-ammattikorkeakoulun harjoitusluokissa. Alun perin suunnittelimme lainaavamme järjestelmäkameran sekä jalustan Savonia-ammattikorkeakoululta. Kameran lainaamisesta koululta olisi kuitenkin tarvinnut aina sopia etukäteen eivätkä kamera ja jalusta välttämättä olisi olleet vapaina meidän niitä tarvitessa. Lopulta käytimme kuvaamiseen omasta takaa löytyvää järjestelmäkameraa ja jalustaa, sillä totesimme näin olevan helpompi mennä koululle kuvaamaan materiaalia aina silloin, kun meille parhaaksi käy. Kuvattujen videoiden tallentamista varten hankimme oman muistitikun sekä muistikortin. Koulun tilat olivat meille ennestään tuttuja, jonka vuoksi kuvauspaikkaan tutustumiselle ei ollut sen suurempaa tarvetta. Harjoitusluokkien valotus ei ollut paras mahdollinen eikä meillä ollut ammattimaisia kuvausvaloja, joita olisimme voineet käyttää. Editointivaiheessa pystyimme korjaamaan joitain liian hämärästi valottuneita kohtauksia. Saimme Savonia-ammattikorkeakoululta tarvikkeet sekä osan tarvittavista bakteereista ja maljoista, joita oli jäänyt yli kliinisen mikrobiologian harjoitustunneilta. Olimme myöhemmin yhteydessä Puijon sairaalan kliinisen mikrobiologian laboratorioon, josta saimme käyttöömmme puuttuvat maljat ja bakteerit.

Opinnäytetyötämme varten jaoimme kuvatut videopätkät omiin kansioihin opetusvideon aiheen perusteella sekä muistitikulle että videoeditointiohjelmaan. Opinnäytetyömme tuotosten editointia varten koimme riittäväksi yksinkertaisen ja helppokäyttöisen editointiohjelman. Valitsimme Applen Macintosh -tietokoneiden oman editointiohjelman, iMovie:n, sillä se oli ilmaista ladata omalle koneelle ja vaikutti käyttäjäystävälliselle. Videoita editoitaessa pyrimme pitämään videot mahdollisimman tiiviinä

ja selkeinä. Videoiden pituutta kuitenkin väistämättä pidensi videopätkien väliin sijoitetut havainnollistavat PowerPoint -diat. Alun perin suunnittelimme ohjaavan opettajan kanssa lisäävämmä videoihin tekstitykset, jotka kulkevat yhtä aikaa videon kanssa ja selittävät juuri sillä hetkellä videossa näytettäviä työvaiheita. Editointiprosessin alussa kuitenkin huomasimme, että tekstitykset kulkisivat liian nopeasti videoiden napakkuuden ja työvaiheiden yksityiskohtaisen selittämisen vuoksi. Kohtausten väliin sijoitimme PowerPoint-dioja käyttäen Savonian virallista PowerPoint-pohjaa. Koimme tämän olevan paras ratkaisu, vaikka diat pidentävätkin videoita huomattavasti. Diojen ansiosta video voi pyöriä yhtäjaksoisesti eikä videota tarvitse pysäyttää tekstien lukemista varten. Jos katsojan tarvitsee kuitenkin perehtyä paremmin tekstissä mainittaviin asioihin, on video mahdollista pysäyttää ja tällöin diat ovat käytännöllisemmät kuin tekstitykset.

Diojen tekstit kirjoitettiin tilaajan pyynnöstä englannin kielellä. Kansainvälisyys on osa Savonia-ammattikorkeakoulun strategiaa ja Savonia-ammattikorkeakoulu tekee aktiivisesti opiskelija- ja asiantuntijavaihtoa sekä on mukana lukuisissa kansainvälisissä yhteistyöprojekteissa. (Savonia 2016; Savonia s.a.a.) Englannin kielen käytön johdosta Savonia-ammattikorkeakoulun kansainvälisten vaihtoopiskelijoiden on mahdollista oppia ja hyötyä opinnäytteemme videoista. Diojen kirjoittaminen englannin kielellä tukee myös suomenkielisten opiskelijoiden kielitaitoa ja opettavat ammattisanastoa. Vieraan kielen lukeminen ja sen sisäistäminen saattaa olla haastavampaa, jonka vuoksi kiinnitimme erityisesti huomiota tekstidiojen pituuteen ja tämä vaikutti myös diojen valitsemiseen tekstityksen sijaan. Videoiden tarkoituksena on tukea bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista ja halusimme, että diat ehtii hyvin lukea eri videopätkien lomassa niiden kuitenkin pidentämättä videoiden kestoa liikaa. On kuitenkin mahdotonta osata arvioida jokaisen opiskelijan englannin kielen taitoa, joten joillekin opiskelijoille diojen pituudet eivät välttämättä ole riittävän pitkät pysäyttämättä videota tarpeen tullen.

Kun videot olivat valmiit, lähetimme ne ohjaavalle opettajalle arvioitavaksi. Palautteen saatua teimme tarvittavia muutoksia korjausehdotusten mukaisesti, aina ohjaavalla opettajalla tarkistuttaen. Jouduimme hieman muokkaamaan käsikirjoituksia kuvausten aikana ja muutimme ne lopulta vielä selkeämpään muotoon. Myös käsikirjoitukset lähetettiin ohjaavalle opettajalle arvioitavaksi ja jälleen muutokset tehtiin korjausehdotusten pohjalta.

11 POHDINTA

Koimme videoiden kuvaamisen aloittamisen hieman haastavaksi alkuun, sillä kenelläkään meistä ei ollut aikaisempaa kokemusta videoiden kuvaamisesta tai editoinnista. Pehdyimme itsenäisesti editoimiseen muun muassa katsomalla YouTubesta opetusvideoita iMovie -editointisovelluksen käytöstä ja sen eri ominaisuuksista. Kuvasimme harjoituspätkiä ennen varsinaisia ottoja, jotta näkisimme, mikä on hyvä kuvakulma ja etäisyys videoiden kuhunkin vaiheeseen. Koeottojen avulla varmistimme, että kaikki tarvittava oli otettu oikealla tavalla huomioon, kuten esimerkiksi käsien liikeradat videolla sekä kameran kohdistus liikkuviin kohteisiin. Tästä huolimatta jouduimme kuvaamaan osan videoista uudelleen syksyllä 2019. Videoiden kanssa työ eteni niin sanotusti yrityksen ja erehdyksen kautta. Editointivaiheessa huomasimme, että jotkin videoista eivät vastanneet omia odotuksiamme soljuvuudeltaan. Vaikka videoiden uudelleenkuvaaminen tuotti lisätyötä ja vei paljon aikaa, halusimme päästä parhaimpaan mahdolliseen lopputulokseen. Uudelleen kuvatessa osasimme paremmin ottaa huomioon videoiden editointiin liittyvät seikat ja ongelmakohtat. Ensimmäisissä videoissakaan ei asiavirheitä sinänsä ollut, mutta ongelmiksi muodostuivat editointiin liittyvät asiat. Videoiden uudelleenkuvaus opetti meille kärsivällisyyttä sekä huolellisen suunnittelun tärkeyttä. Tähtäsimme videoiden kestossa kuuteen minuuttiin tai alle. Lyhyin videoista on alle kolme minuuttia, pisin video on päälle kahdeksan minuuttia pitkä. Neljässä videossa kuudesta pääsimme videoiden kestoihin itse asettamiimme tavoitteisiin.

Asuimme suurimman osan opinnäytetyöprosessin ajasta eri kaupungeissa joko alan töiden tai harjoitteluiden vuoksi. Tämä hidasti opinnäytetyöprosessia huomattavasti eikä yhteistä aikaa opinnäytetyön työstämiselle ollut aina, kun se olisi jollekulle ryhmäläisistä parhaiten sopinut. Tämän vuoksi yhteistä aikaa opinnäytetyön työstämiseen täytyi järjestää kaiken muun ohella parhaamme mukaan. Pidimme toisiimme yhteyttä puhelimitse muun muassa ryhmäkeskustelun välityksellä ja pitämällä puhelinpalavereja. Alkukesästä 2019 teimme lopullisemman aihejaon ryhmäläisten kesken ja jokainen alkoi työstää omaa aihepiiriään. Aikataulujen eroavaisuuksien vuoksi tuotosten kuvaamisesta vastasi pääasiassa kaksi ryhmäläistämme. Sovimme, että videoiden editoinnista vastaisi vain yksi ryhmäläistämme, sillä editointiohjelman käytön opettelu sekä itse videoiden editointi on aikaa vievää. Emme kokeneet järkeväksi, että kaikkien ryhmäläisten kannattaisi opetella editoimista. Kun videot on editoinut sama henkilö yhdellä tietyllä editointiohjelmalla, videot ovat tyyliltään yhteneväiset. Tuotosten kuvaamisen ja editoinnin kuitenkin ollessa yhteensä kahden ryhmäläisen vastuulla, ei opinnäytetyön työmäärä jakautunut tasavertaisesti. Olemme jälkiviisaina oppineet, että opinnäytetyön työnjako kannattaa määrittää tarkasti ryhmäläisten kesken ja miettiä kunkin vahvuuksia eri osa-alueilla. Opinnäytetyön viimeistelyyn meni enemmän aikaa kuin olimme osanneet odottaa. Kaikilla meistä oli erilaiset elämäntilanteet ja osalla meistä alan töiden viedessä aikaa, olisi opinnäytetyöhön pitänyt syventyä aikaisemmin ja vähentää alan töiden määrää.

11.1 Tavoitteiden toteutuminen

Koemme päässeemme opinnäytetyöllemme asetettuun tavoitteeseen. Opinnäytetyömme tuotoksista syntyi laadukkaita ja selkeitä kokonaisuuksia, jotka on pyritty tekemään opiskelijan näkökulma huomioon ottaen. Käsikirjoitukset ja videot vastaavat toisiaan ja kirjallinen raporttiosa sisältää tuotoksiin liittyvää teoriaa sekä prosessin edistymisen raportointia ja pohdintaa. Videoilla opetettuja tekniikoita ei käytetä kliinisissä mikrobiologian laboratorioissa pelkästään *E. coli*-bakteerin tunnistuksessa, vaan videoiden kautta opiskelu antaa valmiuksia toimia myös muiden bakteerien parissa. Videoilla opetetaan erilaisia viljelytekniikoita, herkkyysmäärytyksiä sekä gramvärjäyksen suoritus, joita käytetään myös muiden mikrobiologisten näytemuotojen ja bakteerien diagnostiikkaan.

Opinnäytetyössä ohjaavalla opettajalla on ollut tärkeä merkitys niin tuotoksen kuin raporttiosuuden oikeellisuuden varmistamisessa ja niiden hiomisessa lopulliseen versioon. Opinnäytetyön ohjaava opettaja on opiskelijan tukena ja kannustaa tätä opinnäytetyön prosessin aikana. Ohjaava opettaja toimii myös laadunvarmistajana. (Raivo ja Rissanen 2018.)

11.2 Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu

Laboratoriotyön ammattieettiseen osaamiseen ja ammatillisuuteen kuuluu vahvasti vastuun ottaminen omasta ammatillisesta kehitymisestä ja kasvusta (Savonia s.a.b.). Ammatillinen kasvu alkaa opintojen alkaessa eikä suinkaan lopu valmistumiseen, vaan jatkuu koko uran ajan. Työmaailmassa uuden oppiminen ja kouluttautuminen ovat osa ammatillista kehitystä, kuten myös tietty rutinoituminen uuteen. Oppimisen taitoihin kuuluu muun muassa kyky osata arvioida ja kehittää omaa osaamistaan kuin myös omia oppimistapoja. Tietoa pitää myös osata hankkia, käsitellä ja arvioida kriittisesti. (Savonia s.a.b.) Tiedonhaku- ja tekstinkäsittelytaitomme ovat kehittyneet opinnäytetyötä tehdessä. Olemme huomanneet itsessämme ammatillisen kasvun ja käden taitojen kehityksen opintojen, keskussairaalaharjoittelujen sekä oman alan työkokemusten karttuessa. Olemme saaneet varmuutta tekemiseen ja opinnäytetyön tuotoksia kuvatessa pääsimme kertaamaan kliinisen mikrobiologian tutkimusmenetelmiä.

Opinnäytteen työstäminen on opiskelijalle ennen kaikkea oppimisprosessi, jonka täytyy tukea ja kehittää opiskelijan työelämätaitoja, asiantuntijuutta ja ammatillista kehittymistä (Raivo ja Rissanen 2018.) Bioanalyytikolle asetettujen ammatillisten kompetenssien mukaan bioanalyytikon kuuluu osata analysoida muun muassa mikrobiologisia näytteitä laatuvaatimusten ja suositusten puitteissa (Savonia s.a.b.). Omat tietomme ja taitomme kliinisestä mikrobiologiasta syvenivät tuotosten suunnittelun ja kuvaamisen aikana. Tuotoksia suunnitellessa, kuvatessa ja editoidessa pyrimme asettumaan opiskelijan rooliin. Näin opimme ottamaan huomioon, miten esittää opiskelijoille vielä suhteellisen uudet asiat mahdollisimman selkeästi ja pääasiat huomioiden. Tuotosten tekeminen englannin kielellä veresti englannin kielen taitojamme sekä opetti meille vieraskielistä ammattisanastoa, jota on tärkeää osata nykyajan työelämässä. Bioanalyytikon töissä törmää päivittäin englannin kielisiin tuoteselosteisiin ja ohjeisiin. Analysointireiden ohjelmat ovat myös usein englannin kielisiä, ja asiakaspalvelussa pitää pystyä kommunikoidaan sujuvalla englannin kielellä eri kulttuuritaustaisten asiakkaiden kanssa. Niin koulussa kuin työelämässä tulee kohtaamaan myös kansainvälisiä vaihto-opiske-

lijoita. Opinnäytetyömme on antanut meille valmiuksia ohjata heitä englannin kielellä, oikeaa ammattisanastoa käyttäen etenkin kliinisen mikrobiologian laboratorioissa. Bioanalyytikon yleisiin kompetensseihin kuuluukin kansainvälisyysosaaminen. Tämä sisältää yhteistyötaitojen hallitsemisen monikulttuurisessa ympäristössä sekä kielitaidon hallinnan alan työtehtäviin sekä niissä kehittymiseen vaaditulla tasolla (Savonia s.a.b).

Opinnäytetyömme aihe on suhteellisen rajattu, mutta kuitenkin laaja. Aihe jättää tilaa omalle harkinnalle siitä, mikä on oleellista. Opetusvideoissa aiheen rajausta onnistui hyvin ja saimme tuotettua selkeät ja oikeaoppiset videot opetuskäyttöön. Videoiden tekeminen ilman bioanalyytikon tutkinto-ohjelmaan kuuluvia mikrobiologian kursseja ja harjoitustunteja sekä mikrobiologian harjoittelujaksoa olisi ollut mahdotonta. Opinnäytetyön teko oli kokonaisuudessaan opettavainen ja ammatillista kasvua tukeva prosessi. Saimme arvokasta kokemusta varsinkin opetusvideoiden teosta ja prosessissa huomioon otettavista asioista.

11.3 Eettisyys ja luotettavuus

Opinnäytetyön eettistä perustaa ohjaa muun muassa Ammattikorkeakoulujen rehtorineuvosto Arene ry:n kokoamat eettiset suositukset ammattikorkeakoulujen opinnäytetyöprosessista. Nämä suositukset linjaavat, kuinka tehdä eettinen sekä hyvän tieteellisen käytännön mukainen opinnäytetyö. Tavoitteena on yhdenmukaistaa eri ammattikorkeakoulujen opinnäytetyömenetelmät, pyrkiä kohti avoimempia ja rehellisiä keinoja tehdä opinnäytetyötä sekä näin ollen parantaa opinnäytetöiden laatua. Suosituksiin on koottu hyväksi havaitut ohjeet lainsäädännöstä sekä kotimaisista että ulkomaisista tutkimuseettisistä periaatteista, linjauksista ja suosituksista. Eri ammattikorkeakoulut päättävät opinnäytetyöprosessistaan, ja Arene ry:n suositukset ovatkin ikään kuin muistilistoja opinnäytetöitä koskevista tutkimuseettisistä kysymyksistä. Suosituksia on annettu opiskelijoille, ohjaajille sekä ammattikorkeakouluille organisaationa. Opiskelijan on hallittava opinnäytetyöprosessissaan muun muassa hyvä tieteellinen käytäntö ja sen vastuut. (Raivo ja Rissanen 2018.)

Kuvasimme opetusvideot aina harjoitusluokkien ollessa tyhjiillään. Näin pystyimme varmistamaan, ettei videoiden taustalla näy ketään ulkopuolisia henkilöitä. Lähtökohtaisesti henkilötunnuksia ei saa käsitellä tai kerätä, jos henkilö pystytään yksilöimään jonkin muun yksilöintitiedon avulla (Raivo ja Rissanen 2018). Opetusvideoilla näytteitä ei käsitelty kenenkään oikeilla nimillä ja videoilla näkyvät henkilötiedot ovat keksittyjä. Opetusvideot on tehty nimenomaan tukemaan bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista kliinisen mikrobiologian harjoitustunneilla. Tästä syystä videoiden sisältö vastaa sitä, kuinka menetelmät toimivat Savonia-ammattikorkeakoulun harjoitustunneilla. Videot eivät anna täysin realistista kuvaa sairaalan kliinisen mikrobiologian laboratorion toiminnasta, sillä eri työpaikkojen ja koulun harjoitustuntien välillä esiintyy eroja. Tämä ei kuitenkaan heikennä videoiden luotettavuutta, sillä menetelmät ovat samoja kuin kliinisissä mikrobiologian laboratorioissa ja tarkoituksena on käytettävien menetelmien ja niiden käyttötarkoitusten oppiminen.

Tekijänoikeuslain mukaiset säännökset koskevat opinnäytetöissäkin lähteinä käytettäviä julkaisuja, tutkimusaineistoja ja tuloksia. Toisten omistamia aineistoja, menetelmiä ja tuloksia käytettäessä täytyy pitää huoli lähdeviitteiden merkitsemisestä hyvän tutkimustavan ja lainsäädännön puitteissa. Merkinnöissä tulee käydä ilmi lähteen alkuperä ja tekijä. (Raivo ja Rissanen 2018.) Opinnäytetyössä lähteet on merkitty oikeaoppisesti tekstiin sekä lähdeluetteloon, ja näin lähteen alkuperä on helppo tarkastaa. Opimme opinnäytetyöprosessin aikana hakemaan tietoa ja arviomaan kriittisesti lähteen luotettavuutta. Pyrimme käyttämään niin kotimaisia kuin kansainvälisiä sekä mahdollisimman tuoreita, ajankohtaista tietoa sisältäviä lähteitä. Toisinaan tuoreiden lähteen keruu osoittautui kuitenkin haasteelliseksi ja jotkin opinnäytetyössä käyttämistämme lähteistä ovat yli 10 vuotta vanhoja. Vanhempia lähteitä käytettäessä pyrimme kuitenkin varmistamaan, että lähteistä peräisin oleva tieto on vielä ajankohtaista tänäkin päivänä.

LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT

AALTONEN, Jouko 2018. Käsikirjoittajan työkalut. 4. uudistettu laitos. Tampere: Jouko Aaltonen ja SKS.

ANG, Tom 2006. Digivideo – Kuvaajan käsikirja. Karkkila: Kustannus-Mäkelä Oy.

ARVAL 2018. Mueller-Hinton agar MHA [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-11-13.] Saatavissa: <https://microbiologyinfo.com/mueller-hinton-agar-mha-composition-principle-uses-and-preparation/>

ARIKOSKI, Pekka, MÄÄTTÄNEN, Petra, SIPIILÄ, Kirsi, TARNANEN, Kirsi, VALTONEN, Raija ja WUO-RELA, Maarit 2019. Virtsatietulehdus (virtsarakkotulehdus ja munuaistason tulehdus). Suomalainen Lääkäriseura Duodecim [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-15-9.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=khp00038

BIOMÉRIEUX s.a. API®10 S -ohjevihko.

BIOMÉRIEUX-USA 2019. API® [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-10-24.] Saatavissa: <https://www.biomerieux-usa.com/clinical/api>

BJORK, Robert, MCDANIEL, Mark, Pashler, Harold ja ROHRER, Doug 2009. Learning styles: Concepts and Evidence [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-11-04.] Saatavissa: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1111/j.1539-6053.2009.01038.x>

BRAME, Cynthia 2016. Effective Educational Videos: Principles and Guidelines for Maximizing Student Learning from Video Content [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-08-20.] Saatavissa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5132380/#B8>

CARLSON, Petteri ja KOSKELA, Markku 2011. Bakteriologian perustekniikat. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Infektiosairaudet [verkkokirja]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-11-05.] Saatavissa: <https://www.oppiportti.fi/op/isa00302/do#s2>

CATHCART, Laura ja SHIELDS, Patricia 2010. Oxidase test protocol [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-11-6.] Saatavissa: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3229?crawler=redirect>

CHICK, Nancy s.a. Learning Styles [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-11-04.] Saatavissa: <https://cft.vanderbilt.edu/guides-sub-pages/learning-styles-preferences/>

CHROMAGAR 2009. CHROMagar™ Orientation [verkkosivu]. [Viitattu 2019-11-7.] Saatavissa: <http://www.chromagar.com/clinical-microbiology-chromagar-orientation-focus-on-urinary-tract-pat-hogens-25.html#.XcQITCgzY2w>

CHROMAGAR s.a. Tuoteluettelo [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-11-06.] Saatavissa: http://www.chromagar.com/images_spaw/LF_EXT_029_FIN_V3.pdf?PHPSES-%20SID=f76c14ce09e1e44daf06b147fdaa6420

EBINER, Phil s.a. The Ultimate Guide to Creating Better Videos [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-08-20.] Saatavissa: <https://www.videoschoolonline.com/the-ultimate-guide-to-creating-better-videos/>

ESKELINEN, Seija 2016. Virtsan bakteeriviljely, Laboratoriotutkimuksen tulkinta [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-09-15.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03153

EUCAST 2019. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. National Antimicrobial Susceptibility Testing Committees (NAC) [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-10-20.] Saatavissa: <http://www.eucast.org/organization/nac/>

GIRI, Dhurba 2019. CLED (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) Agar: Composition, Preparation, Method of Use and Characteristics of Colonies [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-11-6.] Saatavissa: <https://laboratoryinfo.com/cled-agar/>

HELLSTÈN, Soile 2005. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

HUMALOJA, Markus, PEURA, Pekka ja TOIVOLA, Marika 2017. Flipped Learning – Käänteinen oppiminen. Helsinki: Edita Publishing Oy.

HUSLAB 2018a. Tutkimusohjekirja. Virtsan bakteeriviljely [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-09-22.] Saatavissa: https://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=1155&terms=virtsa

HUSLAB 2018b. Tutkimusohjekirja. Virtsanäytteen preanalytiikka [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-10-20.] Saatavissa: https://huslab.fi/ohjekirjan_liitteet/potilasohjeet/virtsanaytteet_ja_virtsan_ke-raykset/virtsanaytteenotto_kotona_miehet_ja_pojat/virtsanaytteenotto_kotona_miehet_ja_pojat.pdf

HUSLAB 2018c. Tutkimusohjekirja. virtsanäytteen preanalytiikka [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-10-01.] Saatavissa: https://huslab.fi/ohjekirjan_liitteet/potilasohjeet/virtsanaytteet_ja_virtsan_ke-raykset/virtsanaytteenotto_kotona_naiset_ja_tytot/virtsanaytteenotto_kotona_naiset_ja_tytot.pdf

ISLAB 2013. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. BacT/ALERT® Veriviljelyn näytteenotto-ohje [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-10-24.] Saatavissa: <https://www.islab.fi/documents/7350541/7406959/Veriviljelynaytteet.pdf/db278ab4-3cc3-4129-b289-d96007b89db7>

ISLAB 2018. Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. Tutkimusohjekirja, veriviljely [verkkójulkaisu]. [Viitattu 2019-24-02.] Saatavissa: <http://webohjekirja.mylabservices.fi/ISLAB/index.php?test=1153>

JALAVA, Jari 2010. Ihmisen normaali mikrobisto ja sen kehitys. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Mikrobiologia. Jyväskylä: WS Bookwell Oy, 76-82.

JURICH, Sonia 1999. The Impact of Video Technology in Education: From Here to Where? [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-09-15.] Saatavissa: http://www.techknowlogia.org/TKL_Articles/PDF/14.pdf

KUUSELA, Pentti, REHN, Mikael ja VAARA, Martti 2010. Bakteerien virulenssitekijät. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho (toim.), HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Mikrobiologia. Jyväskylä: WS Bookwell Oy, 68-75.

KOTILAINEN, Pirkko, KUUSELA, Pentti ja VUOPIO-VARKILA, Jaana 2010. *Staphylococcus aureus*. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Mikrobiologia. Jyväskylä: WS Bookwell Oy, 83-97.

LITMANEN, Topi 2015. Stressful, important and rewarding: How higher education students experience learning in different environments [verkkójulkaisu]. [Viitattu 2019-11-04.] Saatavissa: https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/156059/litmanen_thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y

LJUBOJEVIC, Milos, VASKOVIC, Vojkan, STANKOVIC, Srecko ja VASKOVIC, Jelena 2014. Using Supplementary Video in Multimedia Instruction as a Teaching Tool to Increase Efficiency of Learning and Quality of Experience [verkkolehti]. The International Review of Research in Open and Distance Learning 2014, 15 (3), 276-291. [Viitattu 2019-10-10.] Saatavissa: <http://www.irrodl.org/index.php/irrodl/article/view/1825/2986>

LUMIO, Jukka 2018a. ESBL ja sitä tuottavat bakteerit [verkkójulkaisu]. Duodecim. [Viitattu 2019-09-15.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk01205

LUMIO, Jukka 2018b. Turistiripuli eli matkaripuli [verkkójulkaisu]. Duodecim. [Viitattu 2019-09-15.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00613

LUMIO, Jukka 2018c. Verenmyrkytys eli sepsis [verkkolehti]. Duodecim. [Viitattu 2019-02-24.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=dlk00604

Lääketieteen sanasto 2019. Endotoksiini. [verkkojulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-11-21.] Saatavissa: https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=Ilt00702&p_hakusana=endotoksiini

MATIKAINEN, Anna-Mari, MIETTINEN, Marja ja WASSTRÖM, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Publishing OY.

MERCK 2019. Mueller-Hinton agar for microbiology [verkkosivu]. [Viitattu 2019-11-7.] Saatavissa: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/70191?lang=fi®ion=FI&qclid=Cj0KCQiAno_uBRC1ARIsAB496IXgH5q_Zqn8EPfgWu5-4DWMfLRdLpd5gAGRd-msnI5ORJ1IOagqsTJEaAg9jEALw_wcb

MIAH, Mahallad ja NEWTON, Philip 2017. Evidence-Based Higher Education – Is the Learning Styles ‘Myth’ Important? [verkkolehti.] Frontier in Psychology vol. 8 nro. 444, 1-9. [Viitattu 2019-10-10.] Saatavissa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5366351/>

MICROBE ONLINE 2013. Blood Agar: Composition, Preparation, Uses and Types of Hemolysis [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-11-7.] Saatavissa: <https://microbeonline.com/blood-agar-composition-preparation-uses-and-types-of-hemolysis/>

MURRAY, Patrick, PFALLER, Michael ja ROSENTHAL, Ken 2016a. Bacterial classification, structure, and replication. Medical microbiology. 8. painos. Philadelphia: Elsevier, 106-118.

MURRAY, Patrick, PFALLER, Michael ja ROSENTHAL, Ken 2016b. Enterobacteriaceae. Medical microbiology. 8. painos. Philadelphia: Elsevier, 251-264.

MURRAY, Patrick, PFALLER, Michael ja ROSENTHAL, Ken 2016c. Mechanisms of bacterial pathogenesis. Medical microbiology. 8. painos. Philadelphia: Elsevier, 134-142.

NORDLAB 2016. Pohjois-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. Näytteenotto veriviljelyä varten [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-10-24.] Saatavissa: https://www.nordlab.fi/sites/default/files/pdf_uploads/naytteenotto_veriviljelya_varten.pdf

RAIVO, Petri ja RISSANEN, Riitta 2018. Ammattikorkeakoulujen rehtorineuvosto ARENE ry. Ammattikorkeakoulujen opinnäytetöiden eettiset suositukset [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-11-12.] Saatavissa: http://www.arene.fi/wp-content/uploads/Raportit/2018/arene_ammattikorkeakoulujen-opinnaytetoiden-eettiset-suositukset.pdf?t=1526903222

SARVAS, Matti, SKURNIK, Mikael ja VAARA, Martti 2010a. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Mikrobiologia. Jyväskylä: WS Bookwell Oy, 14-40.

SARVAS, Matti, SKURNIK, Mikael ja VAARA, Martti, 2010b. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Mikrobiologia [verkkokirja]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-11-13.] Saatavissa: <https://www.oppiportti.fi/op/mbl00038/do>

SAVONIA 2016. Savonian strategia 2017-2020 – Suomen vaikuttavin ammattikorkeakoulu 2020 [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-11-13.] Saatavissa: <https://portal.savonia.fi/amk/sites/default/files/pdf/organisaatio/Savonia%20Strategia%202017-2020-FINAL.pdf>

SAVONIA, 2019. Kansainvälisyys Savoniassa [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-11-13.] Saatavissa: <https://portal.savonia.fi/amk/fi/tutustu-savoniaan/kansainvalisyys-savoniassa>

SAVONIA, 2019. Opetussuunnitelmat [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-11-15.] Saatavissa: <https://portal.savonia.fi/amk/fi/opiskelijalle/opetussuunnitelmat?yks=KS&krtid=1023&tab=2>

SIITONEN, Anja ja VAARA, Martti 2010. Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Mikrobiologia. Jyväskylä: WS Bookwell Oy, 177-195.

TERVEYDEN JA HYVINVOINNIN LAITOS 2015. ESBL [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-09-15.] Saatavissa: <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit/taudit-ja-mikrobit/bakteeritaudit/esbl>

VILKKA, Hanna ja AIRAKSINEN, Tiina 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. 1.-2. painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

VIRTSATIEINFEKTIOT: KÄYPÄ HOITO-SUOSITUS 2019. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin, Suomen Nefrologiyhdistys ry:n, Kliiniset mikrobiologit ry:n, Suomen Infektiolääkärit ry:n, Suomen Kliinisen Kemian Erikoislääkäriyhdistys ry:n, Suomen Lastenlääkäriyhdistys ry:n, Suomen Urologiyhdistyksen ja Suomen yleislääketieteen yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. [Viitattu 2019-09-15.] Saatavissa: <https://www.kaypahoito.fi/hoi10050>

VÄLIKYLÄ, Jaakko 2005. Digivideokoulu. Jyväskylä: Docendo Finland Oy.

LIITE 1: KÄSIKIRJOITUS: VIRTSAN PRIMÄÄRI- JA PUHDASVILJELY

Tekijät: Outi Ala-aho ja Anni Ruohoaho

Virtsan primääriviljely ja puhdasviljely

Tarvittavat välineet:

- Kromogeeninen malja (ORI-maja) 2kpl
- Malja, jolla sekalaista bakteerikasvua (*E. colia* ja enterokokkia)
- Viljelysauva
- Viljelysilmukka (1 μ l)
- Virtsanäyte säilöntäaineellisessä putkessa
- Koeputkiteline

Tekstit videossa kirjoitetaan englannin kielellä Savonia-ammattikorkeakoulun viralliseen PowerPoint -pohjaan. Videossa kuva ja PowerPoint -diat vuorottelevat. Videolla ei ole puhetta eikä musiikkia. Videolla esiintyjä käyttää laboratoriotakkia ja suojäkäsineitä. Työskentely tapahtuu vetokaapissa.

Kuva	Teksti
siirros	<p>Performing a primary urine culture and a pure culture</p> <p>Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho</p>
siirros Still-kuva tarvittavista välineistä.	<p>Items you will need: Chromogenic agar plates, Agar plate with mixed bacterial growth, Urine sample and a tube rack, Inoculation culture rods and 1μl inoculation loops</p>
siirros	<p>Mix the urine sample by turning the tube a few times.</p> <p>Dip a 1μl inoculation loop into the tube three times in a row just below the surface.</p> <p>Draw a line to the middle of the chromogenic agar plate with the inoculation loop. Culture the sample onto the plate with a side to side zigzag motion.</p> <p>Be careful not to break the surface of the agar.</p>

	To make culturing easier, you can turn the agar plate around after culturing the first half of the agar plate. Flip the loop around and continue culturing.
<p>*siirros*</p> <p>Virtsanäyteputki on asetettu putkitelineeseen vetokaappiin, vieressä viljelysilmukat, roska-astia, nimitarra ja ORI-malja. Virtsanäyteputkea käännellään ylösalaisin muutaman kerran ja korkki avataan. Viljelysilmukkaa kastetaan näytepinnan alapuolelle kolme kertaa ja näyteputki lasketaan takaisin koeputkitelineeseen. Silmukasta lasketaan tippa maljan yläosaan ja vedetään näyte läpi maljan. Malja viljellään puoleen väliin, kunnes malja ja silmukka käännetään ja malja viljellään loppuun saakka. Viljelysilmukka laitetaan roskiin ja näyteputken korkki laitetaan kiinni. Maljaan merkataan "potilastiedot".</p>	
siirros	After marking patient identification information on the agar plate, place it into a +35°C incubator for 18-24h to grow.
siirros	<p>A pure culture is performed when more than one type of bacteria is growing on an agar plate and one must be separated.</p> <p>Pick the wanted bacterial colony with a sterile inoculation culture rod. Avoid contamination with the other bacteria. Culture the bacteria on to the plate using the same inoculation culture rod the entire time.</p> <p>Mark patient identification information on the agar plate. Place the agar plate into a +35°C incubator for 16-18h to grow.</p>
siirros	
<p>Vetokaappiin on aseteltu puhdas ORI-malja ja ORI-malja, jolla on bakteerikasvua, viljelysauvat, roska-astia ja nimitarra. Maljalta, jossa kasvaa <i>E. coli</i> ja enterokokkia, otetaan yksi pesäke <i>E. coli</i> -</p>	

bakteeria viljelysauhalla. Pesäke viljellään puhtaalle ORI-maljalle hajotusviljelynä. Maljaan merkitään ”potilastiedot”.	
siirros Still-kuva ORI-maljasta puhtasviljelyn ja inkubaation jälkeen.	
siirros	www.savonia.fi
siirros	

Lähteet:

CARLSON, Petteri ja KOSKELA, Markku 2011. Bakteriologian perustekniikat. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Infektiosairaudet [verkkokirja]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-11-05.] Saatavissa: <https://www.oppiportti.fi/op/isa00302/do#s2>

HELENIUS, Minna, KILPELÄINEN, Kati ja TAPONEN, Elsa 2012. Kliinisen mikrobiologian työohjeet [verkkodokumentti.] [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa: https://moodle.savonia.fi/pluginfile.php/509314/mod_resource/content/4/Työohjeet%20mikrobiologiaan%202013.pdf

MATIKAINEN, Anna-Mari, MIETTINEN, Marja ja WASSTRÖM, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Publishing OY.

LIITE 2: KÄSIKIRJOITUS: HERKKYYSMÄÄRITYKSET

Tekijä: Outi Ala-aho

Herkkyyismääritykset

Tarvittavat välineet:

- Dreijja
- Pinsetit
- Työntömitta
- Koeputki ja koeputkiteline
- E-testi
- Antibioottiannostelija
- Pumpulitikut
- Viljelysauvat
- 0,9% natriumkloridi
- ORI -malja, jossa bakteerikasvua (*E. coli*)
- Müller-Hinton -maljoja (2 kpl)
- CLED -malja

Tekstit videossa kirjoitetaan englannin kielellä Savonia-ammattikorkeakoulun viralliseen PowerPoint -pohjaan. Videossa kuva ja PowerPoint -diat vuorottelevat. Videolla ei ole puhetta eikä musiikkia. Videolla esiintyjä käyttää laboratoriotakkia ja suojakäsineitä.

Kuva	Teksti
siirros	Antibiotic susceptibility testing Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho
siirros Still-kuva tarvittavista välineistä.	Items you will need: Disk diffuser, E-test, Tweezers, Calliper, 0,9% NaCl, Disk dispenser, Tube and a tube rack, Agar plate with bacterial growth, Cotton swabs and inoculation culture rods, Müller-Hinton agar plates, CLED agar plate.
siirros	Start by adding approximately 1ml of 0,9% natrium chloride into a test tube. Collect a sufficient number of bacterial colonies from an agar plate with an inoculation culture rod. Mix the collected bacteria with the natrium chloride to make a 0,5 McFarland bacterial suspension.

	Culture a tail onto a CLED agar plate.
<p>*siirros*</p> <p>Vetokaappiin on aseteltu kaikki tarvittavat välineet sellaiseen järjestykseen, että videossa esiintyjän on helppo työskennellä työvaiheittain. Inkuboidulta ORI-maljalta otetaan bakteeripesäkettä viljelysautalla ja sekoitetaan natriumkloridia sisältävään koeputkeen. Viljellään saman tien häntä CLED -maljalle, puolet maljan leveydestä.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Dip a sterile cotton swab into the bacterial suspension and gently drag the cotton swab across a Müller-Hinton agar plate.</p> <p>Place the agar plate onto a disk diffuser.</p> <p>Turn the power on and place the cotton swab on to the middle of the agar plate. Gently drag the cotton swab towards the edge of the agar plate while rotating the cotton swab.</p> <p>Try to avoid touching the edges of the agar plate with the cotton swab to prevent aerosols from forming.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Pumpulitikkua huljutellaan bakteerisuspensiossa ja tikkua kuivataan koeputken seinämiin. Pumpulitikulla vedetään viiva ORI-maljan halki ja malja asetetaan dreijaan. Dreija laitetaan päälle ja pumpulitikkua vedetään maljan keskeltä reunoja kohti pumpulitikkua samalla pyörittäen. Dreija sammutetaan ja pumpulitikku hävitetään.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Antibiotic susceptibility testing can be performed by either placing an E-test or antibiotic disks on to an agar plate.</p> <p>For the E-test, place an E-test strip on to the middle of the Müller-Hinton agar plate with a pair of clean tweezers.</p>

	<p>Make sure the E-test strip has completely adhered to the plate. Once the E-test has touched the agar plate, the placement cannot be changed.</p> <p>Turn the agar plate over and place it into a +35°C incubator for 16-18h to grow.</p> <p>After incubation, read the zone of growth inhibition of the E-test.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Yksi E-testiliuska ja pinsetit ovat asetettu sellun päälle pöydälle, vieressä dreijattu Müller-Hinton -malja. E-testi asetetaan varovasti Müller-Hinton -maljan keskelle pinsettejä käyttäen. E-testiä painetaan kevyesti maljan pintaan pinsettien kärjellä, kansi suljetaan.</p>	
<p>*siirros*</p> <p>Still-kuva inkuboidusta maljasta, jolla E-testiliuska on luettavissa.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>For the antibiotic disk susceptibility, add the appropriate antibiotics in to a disk dispenser and push the antibiotics onto the agar plate.</p> <p>If the disks are stuck in the disk dispenser, you can use a pair of tweezers to place the antibiotic disks onto the agar plate.</p> <p>Gently knock the agar plate to see if the antibiotic disks stay in place.</p> <p>Turn the agar plate over and place it into a +35°C incubator for 16-18h to grow.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Pöydälle on asetettu pinsetit sellun päälle, antibioottianostelija ja yksi dreijattu Müller-Hinton malja. Antibiootit painetaan annostelijan avulla maljalle. Kansi suljetaan, malja käännetään ja sitä kopautetaan kevyesti. Malja asetetaan takaisin pöydälle.</p>	

siirros	<p>After incubation, measure the zone of inhibition with a calliper for each antibiotic disk and write the numbers down. If there is no zone of inhibition around an antibiotic disk, write down the antibiotic disk's diameter (6mm).</p> <p>You can interpret the MIC (=minimum inhibitory concentration) numbers on the EUCAST website to determine the SIR (=sensitive, intermediate, resistant) rank.</p>
siirros	<p>Inkuboituneen, napitetun maljan lukeminen työntömitalla. Näytetään kaikkien kuuden napin mittaaminen rauhallisella tahdilla.</p>
siirros	<p>www.savonia.fi</p>
siirros	

Lähteet:

CARLSON, Petteri ja KOSKELA, Markku 2011. Bakteriologian perustekniikat. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Infektiosairaudet [verkkokirja]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-11-05.] Saatavissa: <https://www.oppiportti.fi/op/isa00302/do#s2>

HELENIUS, Minna, KILPELÄINEN, Kati ja TAPONEN, Elsa 2012. Kliinisen mikrobiologian työohjeet [verkkodokumentti.] [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa: https://moodle.savonia.fi/pluginfile.php/509314/mod_resource/content/4/Työohjeet%20mikrobiologiaan%202013.pdf

LIITE 3: KÄSIKIRJOITUS: VERVILJELYN NÄYTTEENOTTO

Tekijät: Outi Ala-aho ja Marko Savonkari

Veriviljelyn näytteenotto

Tarvittavat välineet:

- Särnäisjäteastia
- Veriviljelypullot, anaerobi (2kpl)
- Veriviljelypullot, aerobi (2kpl)
- Siipineula
- Holkki
- Staasi
- Haavataitokset
- Dilutus
- Tufferit
- Ihoteippi
- Käsidesi
- Suojakäsineet
- Tussi

Tekstit videossa kirjoitetaan englannin kielellä Savonia-ammattikorkeakoulun viralliseen PowerPoint -pohjaan. Videossa kuva ja PowerPoint -diat vuorottelevat. Videolla ei ole puhetta eikä musiikkia. Videolla esiintyjä käyttää laboratoriotakkia ja suojakäsineitä.

Kuva	Teksti
siirros	Collecting a blood culture sample Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho, Marko Savonkari
siirros Still-kuva tarvittavista välineistä.	Items you will need: Disposable sharps container, Hand disinfectant, Two anaerobe blood culture bottles, Two aerobic blood culture bottles, Butterfly safety needle, Holder, Pen, Gloves, Swabs, 80% ethyl alcohol, Tourniquet, Skin tape.
siirros	Wash your hands thoroughly with soap and lukewarm water. Wash your palms, thumbs, wrists, back of the palms, in between fingers and underneath the nails. Rinse well.

<p>*siirros*</p> <p>Käsien oikeaoppinen pesu noin 20 sekunnin ajan hanan alla.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Dry your hands with a paper towel. Close the tap by using the same paper towel.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Käsien kuivaus ja hanan sulkeminen käsipaperilla.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Disinfect your hands and apply gloves.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Käsien desinfektio ja suojakäsineiden laitto heti käsien pesun jälkeen.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Start by numbering the blood culture bottles from numbers 1 to 4.</p> <p>Always start with an aerobe bottle and keep alternating between an aerobe and an anaerobe bottle.</p> <p>Make sure the bottles are intact; the culture medium should be clear, and the bottoms of the bottles should be greenish in color.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Pullot ovat tarjottimella rivissä (aerobi, anaerobi, aerobi, anaerobi) ja ne numeroidaan yhdestä neljään.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Pop off the protective plastic caps and discard them.</p> <p>Be careful not to touch the rubber cap underneath the plastic cap, in order to avoid contamination.</p> <p>Wet a few swabs with 80% ethyl alcohol and apply the swabs on top of the rubber caps of the blood culture bottles.</p>
<p>*siirros*</p>	

<p>Pullojen muovikorkkien poisto ja kumikorkkien putsaus jättämällä alkoholiin kostutetut tufferit kumikorkkien päälle.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Apply a tourniquet around the patient's arm approximately 10cm above the puncture site.</p> <p>Palpate the vein using your finger.</p> <p>Clean the puncture site with an alcohol swab and place an alcohol compress to the puncture site for approximately 1 minute. Do not touch the puncture site after disinfecting the skin.</p> <p>Loosen the tourniquet.</p>
<p>*siirros*</p> <p>"Potilas" istuu näytteenottotuolilla, "potilas" ei näy videossa kokonaan. Näytteenottotarjotin on potilaan ja näytteenottajan vieressä. Näytteenottaja asettaa staasin "potilaan" käden ympärille ja tunnustelee suonen. Pistokohta puhdistetaan alkoholiin kostutetulla tufferilla ja asetetaan alkoholihaude pistokohdan päälle pullojen ja neulan valmistelun ajaksi. Staasi löysätään.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Prepare the needle by removing it from its packaging and by attaching the needle into the holder.</p> <p>Remove the swabs from the bottle's rubber caps.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Neula poistetaan pakkauksestaan ja kiinnitetään holkkiin. Tufferit poistetaan kumikorkkien päältä.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Tighten the tourniquet.</p> <p>Remove the alcohol compress. Do not palpate the vein again in order to avoid contamination.</p>

	<p>Hold the skin taut over the vein to prevent the vein from moving. Insert the needle in an approximately 30° angle. The needle is inside the vein when blood enters the tube of the needle.</p> <p>Loosen the tourniquet.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Staasi kiristetään ja alkoholihaude poistetaan. Neula pistetään suoneen noin 30 asteen kulmassa. Staasi löysätään, kun verta näkyy siipineulan letkussa.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Fill the blood culture bottles in the order of the numbers (1 aerobic, 2 anaerobic, 3 aerobic, 4 anaerobic). Keep the blood culture bottles as upright as possible during the blood draw.</p> <p>Let the bottles fill with 8-10ml of blood, the bottles have a marked line on one side. Gently mix by hand immediately after blood draw.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Pullot täytetään järjestyksessä, mutta kaikkien pullojen täyttöä ei näytetä videolla videon pituuden pitämiseksi mahdollisimman napakkana. Pulloja käännellään 1-2 kertaa.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>After filling all of the bottles, remove the needle from the vein; gently apply a swab on top of the needle and gently press the "wing" of the needle on to the patient's arm. Pull the safety cap on the needle.</p> <p>Ask for the patient to press the puncture site to prevent bleeding and bruising.</p> <p>Unscrew the needle from the holder and immediately dispose the used needle into the sharps disposal container.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Tufferit asetetaan kevyesti neulan päälle ja neula poistetaan suonesta siipineulan turvamekanismia</p>	

käyttäen. Neula hävitetään särnäisjätteisiin ja potilas painaa pistokohtaa. Näytteenottaja poistaa staasin ja hanskat ja desinfioi kädet. Tufferit kiinnitetään teipillä.	
siirros	Label the bottles with patient identification stickers. Do not cover the QR codes.
siirros Pulloihin kiinnitetään "potilaan" henkilötietotarrat, jokaisen pullon tarroitus ei näytetä.	
siirros Still-kuva täytetyistä veriviljelypulloista rivissä niin, että täyttöviivat näkyvät.	Place the blood culture bottles into a +37°C incubator for 48h to grow.
siirros	www.savonia.fi
siirros	

Lähteet:

ISLAB 2017. Veriviljelynäytteenotto [verkkodokumentti.] [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa: <https://www.islab.fi/documents/7350541/7406959/Veriviljelynäytteenotto.pdf/60c4c806-7ec4-487b-9e0e-3706bb4305e4>

MATIKAINEN, Anna-Mari, MIETTINEN, Marja ja WASSTRÖM, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Publishing OY.

NORDLAB 2016. Näytteenotto veriviljelyä varten [verkkodokumentti.] [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa: https://www.nordlab.fi/sites/default/files/pdf_uploads/naytteenotto_veriviljelya_varten.pdf

LIITE 4: KÄSIKIRJOITUS: VERIVILJELYN ULOSVETO

Tekijät: Outi Ala-aho ja Marko Savonkari

Veriviljelyn ulosveto

Tarvittavat välineet:

- Inkuboituja veriviljelypulloja, joissa bakteerikasvua (1-2kpl)
- Suojakäsineet
- Viljelysauvat
- Tufferit
- Jäteastia
- Eksikaattori
- Veri-, suklaa- ja CLED -maljat
- Tussi
- Turvaneulat
- Särmäisjäteastia
- Objektilasit
- 80% etanolia
- Tuikkukynttilä
- Tulitikut

Tekstit videossa kirjoitetaan englannin kielellä Savonia-ammattikorkeakoulun viralliseen PowerPoint -pohjaan. Videossa kuva ja PowerPoint -diat vuorottelevat. Videolla ei ole puhetta eikä musiikkia. Videolla esiintyjä käyttää laboratoriotakkia ja suojakäsineitä. Työskentely tapahtuu laminaarivirtauskaapissa.

Kuva	Teksti
siirros	Performing a blood culture Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho
siirros Still-kuva tarvittavista välineistä.	Items you will need: Disposable sharps container, Gloves, Blood culture bottles containing bacterial growth, Inoculation culture rods, Swabs, Rubbish bin, Desiccator, Blood agar plate, chocolate agar plate and CLED agar plate, Pen, Safety needles, Microscope slides, Candle, 80% ethyl alcohol, Matches.
siirros	Use an aseptic technique throughout the blood culturing and avoid contamination. Work in a laminar flow cabinet.
siirros	Gently mix the blood culture bottles by hand. Work one bottle at a time.

	<p>Clean the rubber cap of the bottle by swiping with a swab saturated in 80% ethyl alcohol.</p> <p>Unscrew the bottom cap of the needle and press the needle through the bottle's stopper. Set the bottle aside.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Laminaarivirtauskaappiin on aseteltu kaikki tarvittavat välineet sellaiseen järjestykseen, että videossa esiintyjän on helppo työskennellä työvaiheittain. Tavaroiden sama järjestys jatkuu koko videon ajan.</p> <p>Veriviljelypulloa käännellään ylösalaisin pari kertaa ja sen kumikorkki putsataan alkoholiin kostutetulla tufferilla. Neulasta poistetaan alaosan suojus ja neula painetaan kumikorkin läpi. Neulansuojus jätetään paikalleen ja pullo siirretään syrjään odottamaan.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Prepare the agar plates and the microscope slide. Discard the cap of the needle.</p> <p>Add one to two drops of blood onto each of the plates. Culture the blood on to the plates by using a sterile inoculation culture rod. The order of culturing is as follows: blood agar plate, chocolate agar plate, CLED agar plate. Use the same inoculation culture rod for each of the agar plates.</p> <p>Add one drop of blood onto the microscope slide and spread it on to the slide using the same inoculation culture rod.</p> <p>Dispose the used needle into the sharps disposal container.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Veri-, suklaa- ja CLED-maljat asetetaan riviin ja viljellään tässä järjestyksessä. Objektilasi asetetaan esille. Maljojen kannet avataan ja pullosta</p>	

<p>tiputetaan neulan avulla tipat jokaiselle maljalle. Tipat viljellään maljoille samaa viljelysauvaa käyttäen ja kannet suljetaan heti viljelyn jälkeen. Objektilasille tiputetaan tippa verta veriviljelypullosta ja levitetään maljalle samaa viljelysauvaa käyttäen. Viljelysauva hävitetään ros kiin ja neula särmäisjätteisiin.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Repeat the process for all bottles that have bacterial growth detected in them. Remember to use a new sterile needle and inoculation culture rod with each bottle.</p> <p>Mark the patient's identification information onto the plates as well as onto the microscope slide.</p>
<p>*siirros*</p>	<p>Place the chocolate agar plate into a desiccator. Light a candle and place it inside the desiccator to burn out oxygen and to create a carbon dioxide atmosphere.</p> <p>If needed, more grease can be applied onto the seal of the desiccator to seal the lid in place.</p> <p>Place the desiccator as well as the remaining agar plates in to a +35°C incubator to grow overnight.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Eksikaattori on asetettu pöydän päälle ja vieressä ovat suklaamalja, tuikkukynttilä, tulitikut ja rasvapurkki. Suklaamalja asetetaan eksikaattorin pohjalle. Tuikkukynttilä sytytetään ja asetetaan eksikaattorin pohjalle. Kansi liu'utetaan varovasti mutta napakasti paikoilleen.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>www.savonia.fi</p>
<p>*siirros*</p>	

Lähteet:

KORHONEN, Ulla s.a. Veriviljelyn ulosveto [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa:

https://moodle.savonia.fi/pluginfile.php/219773/mod_resource/content/0/Veriviljelyulosvedon%20suoritus.pdf

MATIKAINEN, Anna-Mari, MIETTINEN, Marja ja WASSTRÖM, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Publishing OY.

LIITE 5: KÄSIKIRJOITUS: GRAMVÄRJÄYS

Tekijät: Outi Ala-aho ja Anni Ruohoaho

Gramvärjäys

Tarvittavat välineet:

- Objektilasi
- Viljelysauva
- Malja, jossa bakteerikasvua
- Ajastin
- Roska-astia
- Imupaperia
- Bunsen -poltin
- Tulitikut
- Pyykkipoika (valinnainen)
- Pasteur-pipettejä
- 0,9% natriumkloridi
- Kristallivioletti (2%)
- Lugolin liuos
- Safraniini
- Etanoli-asetoni 1:1
- Tyhjä jäteastia gramväreille

Tekstit videossa kirjoitetaan englannin kielellä Savonia-ammattikorkeakoulun viralliseen PowerPoint -pohjaan. Videossa kuva ja PowerPoint -diat vuorottelevat. Varsinaisen gramvärjäyksen aikana videossa näytetään samanaikaisesti ohjaavaa tekstitystä värjäyksen suorittamiseen. Videolla ei ole puhetta eikä musiikkia. Videolla esiintyjä käyttää laboratoriotakkia ja suojakäsineitä. Työskentely tapahtuu vetokaapissa.

Kuva	Teksti
siirros	Gram stain procedure Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho
siirros Still-kuva tarvittavista välineistä	Items you will need: Matches, Timer, Bunsen burner, Crystal violet, Lugol solution, Ethanol-acetone 1:1, Safranin solution, Rubbish bin, Jar for gram waste, 0,9% NaCl, Microscope slide with patient information, Inoculation culture rod, Agar plate with bacterial growth, Clothes pin, Pasteur pipettes.
siirros	Add one drop of natrium chloride onto a microscope slide.

	<p>Pick a bacterial colony from an agar plate with an inoculation culture rod and mix it with the drop of sodium chloride.</p> <p>Let air dry.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Vetokaappiin on aseteltu kaikki tarvittavat välineet sellaiseen järjestykseen, että videossa esiintyjän on helppo työskennellä työvaihteittain. Tarvittavien sama järjestys jatkuu koko videon ajan. Steriili natriumkloridipullo avataan ja laitetaan yksi natriumkloriditippa objektilasille. Maljalta otetaan yksi bakteeripesäke viljelysauvalla ja sekoitetaan lasilla olevaan natriumkloriditippaan. Viljelysauva hävitetään roska-astiaan.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Fix the sample on to the microscope slide by briefly heating the slide on a Bunsen burner.</p> <p>Let the microscope slide cool down before starting the staining process.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Kuva objektilasille kiinnittämisestä Bunsen polttimen päällä. Kuva lähentyy hitaasti kohteeseen.</p>	
<p>*siirros*</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Start the gram staining by covering the sample with Crystal violet for 1 minute. 2. Rinse with Lugol solution. 3. Cover with Lugol solution for 1 minute. 4. Rinse with water. 5. Rinse with ethanol-acetone for 30 seconds. 6. Rinse with water. 7. Cover the sample with Safranin solution for 30 seconds. 8. Rinse with water.
<p>*siirros*</p> <p>Kristallivioletti lisätään objektilasille Pasteur-pipetillä.</p> <p>Ajastin laitetaan päälle yhden minuutin ajaksi.</p>	<p>Crystal violet, 1 minute</p>
<p>*siirros*</p> <p>Objektilasi huuhdellaan ja peitetään Lugolin liuoksella Pasteur-pipettiä käyttäen, jäteastian päällä.</p>	<p>Rinse and cover with Lugol solution for 1 minute</p>

Ajastin laitetaan päälle yhden minuutin ajaksi.	
siirros Objektilasia huuhdellaan vedellä hanan alla muutamien sekunnin ajan. Seuraavaksi objektilasia huuhdellaan etanoli-asetonilla Pasteur-pipettiä käyttäen, jäteastian päällä.	Briefly rinse with water Rinse with ethanol-acetone for 30 seconds
siirros Objektilasia huuhdellaan vedellä hanan alla muutamien sekunnin ajan. Objektilasi peitetään Safraniinillä Pasteur-pipettiä käyttäen. Ajastin laitetaan päälle kolmenkymmenen sekunnin ajaksi.	Rinse with water Cover with Safranin solution for 30 seconds
siirros	After rinsing the Safranin solution with water, use filtering paper to gently dry the microscope slide. Observe the results under a microscope. Gram negative bacteria will stain red and gram positive bacteria will stain blue.
siirros Objektilasia huuhdellaan vedellä hanan alla muutamien sekunnin ajan. Objektilasi kuivataan suodatinpaperilla kevyesti painamalla.	
siirros	www.savonia.fi
siirros	

Lähteet:

CARLSON, Petteri ja KOSKELA, Markku 2011. Bakteriologian perustekniikat. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus (toim.), HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti. Infektiosairaudet [verkkokirja]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-11-05.] Saatavissa: <https://www.oppiportti.fi/op/isa00302/do#s2>

HELENIUS, Minna, KILPELÄINEN, Kati ja TAPONEN, Elsa 2012. Kliinisen mikrobiologian työohjeet [verkkodokumentti.] [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa: https://moodle.savonia.fi/pluginfile.php/509314/mod_resource/content/4/Työohjeet%20mikrobiologiaan%202013.pdf

LIITE 6: KÄSIKIRJOITUS: API 10 S, LAKTOOSINKÄYTTÖ- JA OKSIDAASITESTI

Tekijä: Outi Ala-aho

API 10 S, laktoosinkäyttö- ja oksidaasitesti

Tarvittavat välineet:

- API 10 S testipakkaus, ohjelappu ja tulostaulukko
- CLED -malja
- Malja, jossa bakteerikasvua
- Viljelysauvat
- Parafiiniöljy
- Steriiliä vettä (dekanterilasi)
- Pasteur-pipettejä
- Koeputki ja koeputkeline
- Imupaperia
- Oksidaasireagenssi
- TDA, James ja NIT -reagenssit
- Kynä
- Jäteastia

Tekstit videossa kirjoitetaan englannin kielellä Savonia-ammattikorkeakoulun viralliseen PowerPoint -pohjaan. Videossa kuva ja PowerPoint -diat vuorottelevat. Videolla ei ole puhetta eikä musiikkia. Videolla esiintyjä käyttää laboratoriotakkia ja suojakäsineitä.

Kuva	Teksti
siirros	<p>Performing API 10 S, oxidase and lactose fermentation test</p> <p>Outi Ala-aho, Anni Ruohoaho</p>
<p>*siirros*</p> <p>Still-kuva tarvittavista välineistä API 10 S -testin ensimmäiseen osaan ja laktoosinkäyttötestiin.</p>	<p>Items you will need for lactose fermentation test and first part of API 10 S: CLED agar plate, Agar plate with bacterial growth, Inoculation culture rods, API 10 S test kit, Rubbish bin, Paraffin oil, Sterile water, Pasteur pipettes, Tube and a tube rack</p>
siirros	<p>Add 3ml of sterile water into a test tube by using a Pasteur pipette.</p> <p>Collect one bacterial colony from an agar plate with a sterile inoculation culture rod. Mix the collected bacteria into the test tube.</p>

<p>*siirros*</p> <p>Pöydälle on asetettu API 10 S testipakkaus, viljelysauvat, steriiliä vettä dekantterilasissa, Pasteur-pipetti, koeputki ja koeputkiteline sekä malja, jossa bakteerikasvua. Koeputkeen lisätään 3ml steriiliä vettä Pasteur-pipetillä, maljalta poimitaan pesäkettä viljelysauvalla ja sekoitetaan koeputkeen bakteerisuspension aikaansaamiseksi.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Add sterile water to the bottom of the API 10 S test case by using a Pasteur pipette and place the test strip onto the case.</p> <p>Add a few drops of the bacterial suspension into each of the test wells by using a Pasteur pipette. Avoid air bubbles from forming. Fill the CIT well all the way up to the cupule.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Pöydälle on asetettu parafiiniöljy, Pasteur-pipetti ja API 10 S -testipakkaus. Dekantterilasi ei näy kuvassa. API 10 S -testikotelon pohjalle lisätään vettä Pasteur-pipetillä. Testiliuska asetetaan koteloon ja taskut täytetään bakteerisuspensiolla Pasteur-pipettiä käyttäen.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Fill the LDC, ODC, H2S and URE cupules with oil after adding a few drops of the bacterial suspension into the wells.</p> <p>Cover the test strip with the lid and place it into a +36°C incubator for 18-24h.</p>
<p>*siirros*</p> <p>LDC, ODC, H2S ja URE -taskuihin lisätään parafiiniöljy ja kansi suljetaan.</p>	
<p>*siirros*</p>	<p>Culture a tail onto a CLED agar plate with the same bacterial suspension used in the API 10 S test to check for lactose fermentation and any possible contamination in the bacterial suspension.</p>

	Place the agar plate into a +36°C incubator overnight.
siirros Viljellään bakteerisuspensiosta häntä CLED-maljalle viljelysauvaa käyttäen.	
siirros	<p>After incubation, observe the lactose fermentation results on the CLED agar plate and if there are any signs of contamination.</p> <p>If the cultured bacteria is lactose positive, the growth on the agar plate will appear yellow in color. If the bacteria is lactose negative, the growth will appear blue or green.</p> <p>If there is only one type and one color of growth that is typical for the cultured bacteria, there are no contaminations present. If instead there are more than one type of growth on the agar plate, contamination is present and the results for the API 10 S test are not reliable.</p>
siirros Still-kuva inkuboidusta CLED-maljasta.	
siirros Still-kuva tarvittavista välineistä oksidaasitestiä varten.	Items you will need for oxidase test: Agar plate with bacterial growth, Blotting paper, Oxidase reagent, Rubbish bin, Inoculation culture rods
siirros	<p>For the oxidase test, add a small amount of oxidase reagent onto a piece of blotting paper by first crushing the ampoule. Collect one colony of bacteria from an agar plate and mix the colony with the oxidase reagent on the blotting paper.</p> <p>If the bacterial colony turns dark blue within a few seconds, it is an oxidase positive bacteria. If the color remains unchanged, the bacteria is oxidase negative.</p>
siirros Pöydälle on asetettu malja, jossa bakteerikasvua, viljelysauvat, suodatinpaperia, oksidaasireagenssin	

<p>ampulli ja dekantterilasi roska-astiaksi. Oksidaasi-reagenssin ampulli murskataan ja puristetaan tippa suodatinpaperille. Maljalta poimitaan pesäke viljelysauvalla ja pesäkettä hierotaan oksidaasitippaan suodatinpaperilla. Suodatinpaperia nostetaan hieman ja näytetään tulosta kameralle.</p>	
<p>*siirros*</p> <p>Still-kuva API 10 S -testin toiseen osaan tarvittavista välineistä.</p>	<p>Items you will need for the second part of API 10 S: API 10 S instruction sheet, Pencil, API 10 S result sheet, TDA, James and NIT reagents, Incubated API 10 S test kit</p>
<p>*siirros*</p>	<p>After the API 10 S test strip has incubated for 18-24h, add one drop of TDA reagent into the TDA well and one drop of James reagent into the IND well.</p> <p>Make sure to read the glucose well before adding one drop of each NIT1 and NIT2 reagent into the glucose well. Wait 2 to 5 minutes before re-reading the well.</p>
<p>*siirros*</p> <p>Pöydällä on inkuboitu API 10 S -testipakkaus kansiin ja NIT1, NIT2, James ja TDA -reagenssit. Reagensseja sekoitetaan hieman kääntelemällä ennen lisäämistä taskuihin. Glukoositaskua näytetään sormella ennen reagenssin lisäystä, muistutuksena katsojalle lukea tasku ennen reagenssien lisäystä. Lopuksi kansi suljetaan.</p>	
<p>*siirros*</p> <p>Tekstin yhteydessä näkyy kuva API 10 S -testin negatiivisista ja positiivisista tuloksista sekä tulostaulukko.</p>	<p>Observe the colors in the wells and mark the results as either positive (+) or negative (-) using the reading table as guidance (pictured on the right). Also add the oxidase test results as either positive or negative onto the result sheet. Calculate the numbers.</p> <p>Use the instruction sheet along with the results to determine the name of the bacteria. In this video the bacteria found on the instruction sheet under the code 7305 is <i>Escherichia coli</i>.</p>

	Alternatively, you can check the name of the bacteria by entering the results in to the apiweb identification software.
siirros Pöydällä on API 10 S -testin tulostaulukko ja API 10 S -testipaketti, jonka testiliuskan tiettyihin kaivoihin on lisätty reagenssit. Tulokset + ja - merkataan tulostaulukkoon lyijykynällä ja lopuksi lasketut numerot merkataan ympyröihin.	
siirros	www.savonia.fi
siirros	

Lähteet:

BIOMÉRIEUX s.a. API®10 S -ohjevihko.

CATHCART, Laura ja SHIELDS, Patricia 2010. Oxidase test protocol [Verkojulkaisu.] [Viitattu 2019-11-5.] Saatavissa: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3229?crawler=redirect>

HELENIUS, Minna, KILPELÄINEN, Kati ja TAPONEN, Elsa 2012. Kliinisen mikrobiologian työohjeet [verkkodokumentti.] [Viitattu 2019-03-10.] Saatavissa: https://moodle.savonia.fi/pluginfile.php/509314/mod_resource/content/4/Työohjeet%20mikrobiologiaan%202013.pdf