



SÄDESUOJIEN MIKROBIKASVUSTOT

Riikka Ahlfors
Jaana Kilpeläinen

Opinnäytetyö
Lokakuu 2014
Bioanalytiikan
koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma
11BIO

AHLFORS RIIKKA & KILPELÄINEN JAANA:
Sädesuojien mikrobikasvustot

Opinnäytetyö 43 sivua, joista liitteitä 3 sivua
Lokakuu 2014

Mikrobit ovat joukko eläviä ja lisääntyviä organismeja, jotka ovat usein liian pieniä havaittavaksi paljaalla silmällä. Monet mikrobit ovat ihmiselle vaarattomia, mutta ympäristössämme elää harmittomien organismien lisäksi myös lukuisia patogeenejä. Koska hoitoyksiköissä monen potilaan puolustuskyky on alentunut, on tärkeää että ympäristö on riittävän puhdas. Pinnoilla olevat mikrobit ovat usein käytännössä vaarattomia, mutta päästessään kosketuksiin infektioporttien kanssa saattavat ne aiheuttaa infektion. Tällaisten infektioiden syntyyn vaikuttavia normaalisti epästeriilejä välineitä kutsutaan välittäjäesineiksi. Näitä välineitä saattavat olla esimerkiksi hoitohenkilöstön käyttämät lyijysuojat, jotka ovat välttämättömiä röntgentutkimuksia tehdessä.

Opinnäytetyön aihe on työelämälähtöinen ja se on saatu Tampereen yliopistollisen keskussairaalan yhteydessä toimivalta Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitokselta. Opinnäytetyö toteutettiin yhteistyössä radiografian ja sädehoidon koulutusohjelman kanssa. Sen tavoitteena oli tuottaa alustava selvitys tilaajan henkilökunnan työssään käyttämien säteilysuojien kunnosta. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, löytyykö sädesuojista mikrobikasvustoa ja minkälaisia löydökset ovat. Radiografian ja sädehoidon koulutusohjelman tuottaman opinnäytetyön tarkoituksena puolestaan oli selvittää ovatko valitut suojat riittävän hyvässä kunnossa vaimentaakseen tarpeeksi tehokkaasti säteilyä. Opinnäytetyön tehtävänä oli ottaa mikrobiologisia näytteitä työelämän ennalta valitsemista sädesuojista, viljellä ja analysoida näytteet, sekä tehdä selvitys löytyneistä mikrobeista.

Tämän opinnäytetyön tutkimusstrategia sisältää piirteitä sekä toiminnallisesta että kvantitatiivisesta menetelmästä. Työn toiminnallisuus ilmenee tilaajalle tuotetussa esityksessä, jonka tavoitteena on ohjata ammatillista käytännön toimintaa. Työn kvantitatiivisen osuuden muodostaa mikrobinäytteenoton organisointi sekä näytteiden ja tulosten analysointi, joiden pohjalta toiminnallinen tuotos muodostettiin.

Viljelyn perusteella yksikään tilaajan osoittama suoja ei ollut mikrobiologisesti puhdas. Pesäkemäärissä ja -tyypeissä oli sekä osasto- että suojakohtaisia eroja. Pesäkkeille suoritettuna bakteriologisen tutkimuksen perusteella löytyneet mikrobit olivat ympäristölleen tyypillisiä. On kuitenkin mahdollista että kyseiset kannat kykenevät opportunistiseen patogeneesiin esimerkiksi immuunivajeesta kärsivillä potilailla. Sairaalainfektioita aiheuttavaa metisilliiniresistenttiä *Staphylococcus aureus* eli MRSA:ta ei tunnistettu valituista suojusta.

Asiasanat: sädesuoja, kontaminaatio, viljely, sairaalainfektio

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

AHLFORS RIIKKA & KILPELÄINEN JAANA:
Microbe Colonies in Lead Rubber Aprons

Bachelor's thesis 43 pages, appendices 3 pages
October 2014

The objective of this study was to investigate the quality of lead rubber aprons and other lead-equipped protectors worn by healthcare professionals and patients during examinations that emit radiation to surroundings. The topic was provided by Medical Imaging Centre and Hospital Pharmacy.

This study was conducted as collaboration between the Degree Programme in Biomedical Laboratory Science and the Degree Programme in Radiography and Radiotherapy. Both parties examined the same protectors that were chosen by the subscriber. The students of Degree Programme in Radiography and Radiotherapy searched the protectors for cracks, lumps and other inconsistencies that might weaken the protector's ability to mute radiation. The Students of Biomedical Laboratory Science took microbiological samples from the surface of protectors to find out the level of contamination and which genres the possible bacteria represents.

The samples were collected from three different wards. The culturing was carried out in the microbiology laboratory of Tampere UAS and the identification of bacteria was performed with the assistance of Fimlab Laboratories Ltd. The study showed no presence of primary pathogens on protectors. There was also no evidence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, which can cause prolonged infections in hospitalized patients. The bacteria found during the study were typical to inhabited surroundings and are innocuous to healthy people. However, these genres may cause infections to patients with a weakened immune system.

Key words: lead protector, contamination, culture, hospital acquired infection

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	MIKROBIT SAIRAALAYMPÄRISTÖSSÄ.....	6
2.1	Mikä on sairaalainfektio?.....	6
2.2	Ympäristön ja suojainten merkitys sairaalainfektioiden synnyssä	7
2.3	Mitä hoitoon liittyvät mikrobit ovat?.....	8
2.4	Yleisimpiä sairaalaympäristöön liittyviä mikrobeja	10
2.4.1	Koagulaasinegatiiviset stafylokokit	10
2.4.2	Stafylococcus Aureus sekä metisilliiniresistentti S. aureus (MRSA)	11
2.4.3	Streptokokit.....	12
2.4.4	Mikrokokit	13
2.4.5	Bacillukset.....	13
2.5	Sädesuojat	14
2.6	Aiemmat tutkimukset.....	15
3	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄ.....	17
4	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT	18
5	OPINNÄYTETYÖPROSESSI.....	19
5.1	Opinnäytetyöprosessin suunnittelu	19
5.2	Näytteenottokohtien ja välineiden valinta	19
5.3	Kasvatusmaljojen ja tunnistusmenetelmien valinta.....	20
5.3.1	Suklaamalja.....	21
5.3.2	Verimalja.....	22
5.3.3	C.L.E.D -malja	22
5.4	Vitek®MS – analysaattori	23
5.5	Työn ensimmäinen vaihe joulukuussa 2013	24
5.6	Työn toinen vaihe huhtikuussa 2014	26
6	OPINNÄYTETYÖN TULOKSET	28
7	POHDINTA.....	33
7.1	Prosessi	33
7.2	Luotettavuus.....	34
7.3	Eettisyys.....	35
7.4	Jatkoaiheet	36
7.5	Oma oppimisprosessi	37
	LÄHTEET.....	38
	LIITTEET	41
	Liite 1. Mikrobinäytteenoton tulokset	41
	Liite 2. Vitek®MS -analysaattorilla saadut tunnistustulokset.....	43

1 JOHDANTO

Säteileviä materiaaleja tai säteilyä aiheuttavia menetelmiä hyödyntäviä tutkimuksia tehtäessä tulee aina kiinnittää huomiota sekä potilaan että henkilökunnan asianmukaiseen sädesuojaukseen. Oleellinen osa suojautumista ovat henkilökunnan käyttämät lyijykeskukset, joiden tehtävänä on vaimentaa työntekijään sekä potilaaseen kohdistuvaa säteilyä. Tampereen yliopistollisen keskussairaalan yhteydessä toimiva Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitos on Pirkanmaan sairaanhoitopiirin alainen liikelaitos, joka tuottaa radiologian, kliinisen fysiologian ja isotooppilääketieteen sekä kliinisen neurofysiologian tutkimuksia terveydenhuollon yksiköille ja potilaille. Liikelaitos on kiinnostunut heidän käytössään olevien sädesuojien suojausominaisuuksista sekä niiden mikrobiologisesta puhtaudesta.

Työn tavoitteena on välittää tilaajalle tietoa heidän käyttämiensä sädesuojien kunnosta. Opinnäytetyö toteutetaan yhteistyössä Tampereen ammattikorkeakoulun radiografian ja sädehoidon koulutusohjelman kanssa. Radiografian ja sädehoidon koulutusohjelman opiskelijat testaavat suojien suojaavia osia kolmella tavalla; silmämääräisesti arvioimalla, käsin tunnustelemalla sekä läpivalaisemalla, tarkoituksenaan kartoittaa suojista epätasaisuuksia ja halkeamia. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa työelämälle konkreettista tietoa sädesuojissa esiintyvistä mikrobikannoista ja niiden määristä. Tehtävänä on ottaa mikrobiologisia näytteitä tilaajan ennalta valitsemista sädesuojista, sekä viljellä ja analysoida näytteet.

Tutkimuksen yhtenä lähtökohtana käytetään Iso-Britanniassa tehtyä tutkimusta, joka käsittelee sairaalan osastoilla käytettävien lyijyesiliinoiden puhdistustoimenpiteiden tehokkuutta. Tutkimuksessa oli vertailtu mikrobikantojen esiintyvyyttä sekä ennen puhdistusta että sen jälkeen. Tässä opinnäytetyössä hyödynnetään tutkimuksen mallia muun muassa lyijyesiliinoiden näytteenottokehtien sijaintia valittaessa. Lisäksi verrataan tutkimuksen ja opinnäytetyön suojista tunnistettuja mikrobeita.

Työn aihe on valittu sen toiminnallisuuden vuoksi. Lisäksi on haluttu tuottaa työelämässä hyödynnettävä selvitys aiheesta, jota on tutkittu Suomessa vähän. Kliininen mikrobiologia on mielenkiintoinen ja alati kehittyvä ala, jonka henkilökohtaista osaamista saadaan tämän opinnäytetyön avulla syvennettyä.

2 MIKROBIT SAIRAALAYMPÄRISTÖSSÄ

2.1 Mikä on sairaalainfektio?

Tartuntatautilaki määrittelee sairaalainfektion terveydenhuollon toimintayksiköissä annetun hoidon aikana syntyneeksi tai alkunsa saaneeksi infektioksi. Hoitoon liittyvän infektion tulee täyttää kolme ehtoa: potilaalla todetaan mikä tahansa mikrobin tai sen toksiinien aiheuttama paikallinen tai yleistynyt infektio, joka ei ollut todettavissa tai inkuboitumassa potilaan saapuessa hoitoon ja kyseinen infektio todetaan hoitajaksolla tai sen jälkeen. (Syrjälä 2010, 18.) Hoitajaksot ovat lyhentyneet ja monet toimenpiteet ovat polikniilisiä, eli potilas ei yövy hoitoyksikössä, vaan hän vierailee vastaanotolla toimenpiteen ajan (Hellstén 1996, 29). Hoitoon liittyville infektioille altistuvien potilaiden määrä kuitenkin kasvaa jatkuvasti väestön ikääntymisen, elimistön puolustusjärjestelmään heikentävästi vaikuttavien hoitojen yleistymisen sekä vierasesineitä hyödyntävien hoitomuotojen yleistyessä. (Syrjälä 2010, 18.)

Sairaalainfektion havaitseminen ei aina vaadi mikrobiologian laboratorion apua, mutta laboratoriokokeet sekä niihin perustuva seuranta ovat oikein sovellettuina arvokas apu sairaalainfektio-ongelmien tunnistuksessa ja ratkomisessa (Salminen, Siitonen & Vuopio 2011). Merkittävä osa sairaalainfektioiden torjunnasta suuntautuu mikrobilääkeresistenssin torjumiseen. Tyypillisesti hoitotilanteessa resistentit mikrobit valikoituvat potilaan omasta mikrobikasvustosta, mutta osa resistenteista mikrobeista leviää tutkitusti pääasiassa kosketustartunnan kautta potilaasta toiseen. (Lyytikäinen, Sarvikivi & Vuopio 2011a.)

Pirkanmaan sairaanhoitopiirin sairaalahygieniatoiminnan tavoitteena on vähentää infektoriskiä potilailla ja henkilökunnalla sairaalahoidon sekä toimenpiteiden aikana. Päävastuussa sairaalahygieniasta on sairaalan johtava lääkäri, jolla on apunaan eri erikoisalojen asiantuntijoista koostuva hygieniatyöryhmä. Toimipistekohtaisesta hygieniatasosta vastaavat osastonylilääkäri ja osastonhoitaja apunaan hygieniayhdyshenkilö. Hygieniayhdyshenkilö huolehtii oman toimipisteensä sairaalahygienian osaamisesta, sekä toimintaohjeiden tiedottamisesta ja noudattamisesta. Varsinaisia sairaalahygienian asiantuntijoita ovat puolestaan infektioyksikön henkilöt. He ylläpitävät sairaalahygieniaohjeistoa ja jakavat tietoa sekä antavat asiantuntija-apua koko Pirkanmaan alueel-

le muun muassa tartuntatauteihin, epidemioihin ja henkilökunnan kouluttamiseen liittyvissä asioissa. (Pirkanmaan sairaanhoitopiiri 2012.)

2.2 Ympäristön ja suojainten merkitys sairaalainfektioiden synnyssä

Sairaalaympäristö käsittää kaikki ne tilat, pinnat, huonekalut, välineet ja aineet, joita sairaalan sisällä on. Vaikka siitä puhutaankin niin sanottuna elottomana ympäristönä, todellisuudessa ympäristö sisältää aina runsaasti mikrobeja, jotka menestyvät hyvin vähällä kosteudella ja eloperäisellä aineella ja saattavat säilyä myös kuivilla pinnoilla. Ympäristö toimii joko mikrobin alkulähteenä tai varsinaisena tartuntalähteenä. Pinnoilla olevat mikrobit ovat käytännössä vaarattomia, mutta siirtyessään ihmisten käsiin, esineisiin tai välineisiin, jotka ovat kosketuksissa infektioporttien kanssa, saattavat ne tällöin aiheuttaa infektion. Hoitoon liittyvien infektioiden synnyssä vaikuttavia, normaalisti epästeriilejä esineitä tai välineitä kutsutaan välittäjäesineiksi. (Vuento, Syrjälä, Laitinen & Siitonen 2010, 121.)

Tutkimuksissa on kuitenkin todettu nykyaikaisella sairaalaympäristöllä olevan vähäinen osuus hoitoon liittyvien infektioiden synnyssä. Syy tähän on paitsi korkeassa hygieniatasossa, myös mikrobin patogeenisyyden eli taudinaiheuttamiskyvyn heikkenemisessä, kun mikrobi sopeutuu elämään ympäristössään. Rakenteellisesti ja toiminnallisesti oikein suunnitellussa terveydenhuoltoyksikössä ympäristöperäiset mikrobit aiheuttavat aniharvoin hoitoon liittyviä infektioita, mutta mikä tahansa toiminnallinen kokonaisuus on altis häiriöille sekä inhimillisille virheille. Siksi hoitoon liittyviä infektioita tutkittaessa myös ympäristöperäinen infektiolähde on otettava huomioon. (Vuento ym. 2010, 121.) Aiheesta tehdyt tutkimukset, sekä vuosikymmenien kokemus osoittavat, että tehokkassa sairaalainfektioiden torjunnassa suurin merkitys on monipuolisella asiantuntemuksella sekä erikoisosaamisella. Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että menestyksellään torjuntatyö vaatii sille omistautunutta henkilökuntaa ja sitä, että kaikki ympäristön työntekijät hallitsevat ja ovat motivoituneita toteuttamaan oman osuutensa infektioiden torjunnassa. (Lyytikäinen, Sarvikivi & Vuopio 2011b.)

2.3 Mitä hoitoon liittyvät mikrobit ovat?

Hoitoon liittyviä infektioita aiheuttavat bakteerit, virukset, sienet ja loiseläimistä eli parasiiteista enimmäkseen alkueläimet. Mikrobit ovat eläviä ja lisääntymään kykeneviä olioita, jotka ovat liian pieniä paljaalla silmällä havaittavaksi, lukuun ottamatta joitakin parasiitteja, joilla ei yleensä ole merkitystä hoitoon liittyvien infektioiden kanssa. (Vuento ym. 2010, 43.) Tavallisimpia hoitoon liittyvien infektioiden aiheuttajia ovat bakteerit, jotka jaetaan kliinisesti käyttökelpoisiin ryhmiin muotonsa ja gramvärjäytyvyytensä perusteella (Vuento ym. 2010, 44).

Useimmat bakteerit poikkeavat eläinsoluista plasmamembraanin ulkopuolisella kerroksella, niin sanotulla soluseinällä. Soluseinä antaa bakteerisoluille niille ominaisen morfologian ja estää solun osmoottisen hajoamisen. Rakenne on bakteereille ominainen ja monien antibioottien toiminta perustuukin eri bakteerisolujen soluseinän kehittymisen estämiseen sen ominaisuuksien perusteella. (Vaara, Skurnik & Sarvas 2010, 21.) Bakteerit voidaan jakaa soluseinänsä puolesta kahteen pääluokkaan; grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin. Ero konkretisoituu gramvärjäyksessä, joka on saanut nimensä tanskalaisen lääkärin Hans Christian Gramin mukaan. Grampositiiviset bakteerit näyttäytyvät värjäyksessä tumman siniviolettina, gramnegatiivisten bakteerien jäädessä vaaleanpunaisiksi. Värjäytyvyysero perustuu soluseinän rakenteeseen. Grampositiivisen bakteerin soluseinä on huomattavasti paksumpi, mutta gramnegatiivisella bakteerilla on soluseinässään ylimääräinen kerros, niin sanottu ulkomembraani. (Vaara ym. 2010, 21.) Tämä ulkomembraani sisältää runsaasti lipidejä ja on herkkä Gram-värjäyksen aikana alkoholin avulla suoritettavalle värinpoistolle. Näin ollen gramnegatiiviset bakteerisolut eivät kykene säilyttämään prosessissa käytettyä kristalliviolettiä, joka antaa grampositiivisesti värjäytyville bakteereille niiden tunnusomaisen värin (Beveridge 1999.)

Sekä grampositiivisen että gramnegatiivisen bakteerin soluseinälle yhteistä on molekyyli nimeltä peptidoglykaani (Vaara ym. 2010, 21). Peptidoglykaani vastaa soluseinän rigiditeetistä ja estää bakteerisolun halkeamisen tilanteissa, joissa soluseinän vauriot aiheuttaisivat muutoin bakteerisolun halkeamisen osmoottisen paineen kasvaessa. Tästä syystä bakteerisolun peptidoglykaanisynteesiä estävät antibiootit ovat erityisen tehokkaita bakteeri-infektioiden hoidossa. Paksu peptidoglykaanikerros on luonteenomainen grampositiivisten bakteerien soluseinälle, jonka johdosta ne ovat herkkiä lysotsyymille sekä penisilliinille ja näiden johdannaisille. (Vaara ym. 2010, 24–25.)

Monilla grampositiivisilla bakteereilla on seinässään lisäksi myös muunlaisia polymeereja, jotka ovat yleensä polysakkaridirakenteisia. Parhaiten tunnettuja polysakkaridirakenteita ovat streptokokkien C-polysakkaridit, jotka jakavat streptokokkeja alaryhmiin. Joillakin grampositiivisilla bakteereilla on edellä mainittujen rakenteiden ulkopuolella vielä proteiinikerros. Esimerkiksi A-ryhmän streptokokin hyvin tunnettu M-proteiini muodostaa säikeisen paksun kerroksen bakteerin ympärille, joka estää fagosytoosia ja edesauttaa bakteerin kiinnittymistä ympäristöönsä. (Vaara ym. 2010, 25–26.)

Gramnegatiivisen bakteerin soluseinä on monimutkaisempi kuin grampositiivisen. Plasmamembraanin ja peptidoglykaanin ulkopuolella on aivan erityinen biologinen kalvo, ulkomembraani. Se on gramnegatiivisten bakteereiden ominaisin rakenteellinen erityispiirre. Ulkomembraanin ja plasmamembraanin väliin jäävää, peptidoglykaaniverkon sisältävää tilaa kutsutaan periplasmiseksi tilaksi. Ulkomembraani läpäisee pieniä vesimolekyylejä, mutta estää suurempien läpikäymisen. Sen tärkein tehtävä on suojata bakteeria ulkoisilta haitoilta. Estämällä suurikokoisten vesiliukoisten molekyylien pääsyn solun sisäosiin, se tekee gramnegatiiviset bakteerit resistentteiksi monille grampositiivisiin bakteereihin vaikuttaville bakterilääkkeille. (Vaara ym. 2010, 26–27.) Koska bakteerin selviytyminen kuitenkin riippuu ravintoaineiden diffuusiosta sekä kuona-aineiden poistosta, tulee ulkomembraanin läpäistä vesimolekyylien lisäksi tiettyjä aineita (Beveridge 1999). Ulkomembraani suojaa bakteereita myös isäntäelimistön puolustusmekanismeilta (Vaara ym. 2010, 26–27).

Hoitoon liittyvien infektioiden aiheuttajista grampositiivisia kokkeja ovat stafylokokit, kuten *Staphylococcus aureus*, sekä streptokokit ja enterokokit. Grampositiivisista sauvoista *Clostridium difficile* on esimerkiksi mikrobilääkehoitoon liittyvän ripulin aiheuttaja. Osa gramnegatiivisista sauvoista muodostaa hoitoon liittyvien infektioiden kannalta yhtenäisen ryhmän. Tähän ryhmään kuuluvat muun muassa enterobakteeriheimon bakteerit *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* ja *Serratia*. Muita merkittäviä gramnegatiivisia sauvoja ovat *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas* sekä *Acinetobacter* spp. -lajit. (Vuento ym. 2010, 44.)

2.4 Yleisimpiä sairaalaympäristöön liittyviä mikrobeja

Bakteereita voidaan luokitella gramvärjäytyvyyden lisäksi myös sen perusteella, tarvitsevatko ne happea kasvuunsa. Esimerkiksi *Bilophila wadsworthia* on gramnegatiivinen anaerobinen sauva, jota on eristetty lukuisista eri infektiosta. Se on tavallinen vatsansisäisten infektioiden aiheuttaja (Rautio & Vuento 2010.) Koska tällaiset anaerobiset mikrobit vaativat kasvaakseen tyypillisesti hapettomat olosuhteet, käsitellään seuraavissa kappaleissa vain pinnoilla aerobiluonteensa vuoksi menestyviä mikrobeja.

2.4.1 Koagulaasinegatiiviset stafylokokit

Stafylokit voidaan jaotella kahteen ryhmään sen perusteella, onko kannalla entsyymaattinen kyky hyydyttää eli koaguloida plasmaa (Vuento ym. 2010, 44). Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat tärkeimpiä ihmisen normaaliflooran bakteereita. Käytännössä ainut koagulaasiposiitivinen stafylokokki on *Staphylococcus aureus*, mutta koagulaasinegatiivisia lajeja on nelisenkymmentä (Vuento ym. 2010, 44). Niiden merkitys taudinaiheuttajina on kasvanut viime vuosikymmeninä, kun aiemmin niitä pidettiin lähinnä ihoperäisinä kontaminanteina. Nykylääketieteen hoidot vaativat kuitenkin usein vierasesineen asettamista potilaaseen ja nykyään koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat tärkein vierasesineinfektioita aiheuttava mikrobiryhmä ja tavallisin sairaalasyntyisten bakteremioiden aiheuttaja. (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila & Kotilainen 2010, 98.)

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat grampositiivisesti värjäytyviä, katalaasiposiitivisia kokkibakteereita. Verimaljalla koagulaasinegatiiviset stafylokokit kasvavat pieninä valkoisina pesäkkeinä. Niitä tavataan ihmisellä 15 eri lajia, joista tärkein laji on *Staphylococcus epidermidis*. Se kattaa jopa 95 % kaikista ihon ja limakalvojen pinnan normaaliflooran stafylokokkeista ja esiintyy erityisen runsaana nenän limakalvoilla, kainalon seuduissa, nivustaipeissa, varpaiden väleissä sekä periaanaaliseudulla. Jopa yli 80 % sairaalasyntyisistä koagulaasinegatiivisista stafylokokki-infektioista on *S. epidermidis*in aiheuttamia. (Lyytikäinen ym. 2010, 98–99.)

Ongelmana koagulaasinegatiivisten stafylokokkien esiintymisessä sairaalaympäristössä on, että yli 50 % kannoista on nykyään resistenttejä metisilliinille sekä monille muille mikrobilääkkeille, kuten erytomysiinille, trimetopriimille, klindamysiinille, aminogly-

kosideille, fluorokinoloneille, rifampisiinille ja fusidiinihapolle. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat kuitenkin tyypillisesti opportunistisia patogeeneja, joiden aiheuttamaan infektiin liittyy lähes aina altistava tekijä, kuten immunosuppressio tai vierasesineet. Koagulaasinegatiivisille bakteereille tyypillistä on kyky tarttua vierasesineeseen. Vierasesineeseen tartuttuaan ne erittävät ympärilleen polysakkaridikerroksen, glykokalyksin, joka suojaa bakteereita antibiooteilta ja elimistön puolustusmekanismeilta. (Lyytikäinen ym. 2010, 99.)

Valtaosa bakteremioista liittyy erilaisiin verisuonikatetreihin ja niitä esiintyy teho-osastoilla, hematologisilla osastoilla sekä vastasyntyneiden tehohoitoyksiköissä. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat runsaan ihoesiintyvyytensä vuoksi myös tyypillisiä veriviljelykontaminanteja, Yksikin positiivinen veriviljelytulos voi kuitenkin olla merkittävä immuunipuutospotilaalla sekä potilaalla, jonka elimistössä on vierasesine. (Lyytikäinen ym. 2010, 99.)

2.4.2 Stafylococcus Aureus sekä metisilliiniresistentti S. aureus (MRSA)

Staphylococcus aureus on grampositiivinen, stafylokokkiryhmään kuuluva kokkibakteeri. Se on yleinen terveillä ihmisillä esiintyvä bakteeri, joka esiintyy yleensä nenässä, nenänielussa sekä iholla. Se voi esiintyä myös muualla elimistössä, sekä siirtyä paikasta sekä henkilöstä toiseen, joko kosketuksen välityksellä tai aerosolitartuntana. Bakteeria kannetaan joko tilapäisesti tai jatkuvasti. (Vuopio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2010, 83.) Esimerkiksi Alankomaissa tunnetaan MRSA-kantoja joiden alkuperä on jäljitetty sikoihin, mutta jotka muodostavat merkittävän osan ihmisillä todetuista tapauksista (Syrjälä & Kolho 2010, 442).

S. aureus on tavallisin ihmisen märkäbakteeri ja tärkeä patogeeni (Vuopio-Varkila ym. 2010, 83). *S. aureus* aiheuttamia infektioita on tyypillisesti hoidettu sen tuottamaa penisillinaasientsyymiä kestäväillä lääkeaineilla, stafylokokkipenisilliineillä. Näitä ovat muun muassa metisilliini, oksasilliini, kloksasilliini sekä dikloksasilliini. Metisilliiniresistenssillä kuvataan mikrobin resistenssiä stafylokokkipenisilliinejä kohtaan. Puhuttaessa MRSA:sta, viitataan metisilliiniresistenttiin *S. aureus*ukseen, jonka resistenssi juontaa hankitusta *mecA*-geenistä. (Virolainen-Julkunen 2004, 145–147; Vuopio-Varkila ym. 2010, 89; Syrjälä & Kolho 2010, 442.) Resistenssi perustuu *mecA*-geenin koodaa-

maan penisilliiniä sitovaan proteiiniin, joka estää beetalaktaamiantibioottien sitoutumisen (Syrjälä & Kolho 2010, 443). Nykyisin mikrobilääkkeille herkät ja ainoastaan penisilliinille resistentit *S. aureus* -kannat leviävät melko harvoin sairaalaympäristössä muualla, kuin vastasyntyneiden osastolla. Sen sijaan moniresistenttien kantojen aiheuttamat infektiopidemioidet ovat jatkuvasti yleistyneet. (Vuopio-Varkila ym. 2010, 89.)

Erotusdiagnostiikka perustuu edellä mainittuun koagulaasireaktioon, sillä *S. aureus* on ainoa koagulaasipositiivinen ihmisen stafylokokkilaji. Nimi aureus (kreikaksi kultainen) viittaa pesäkkeen tyypillisesti keltaiseen väriin, mutta väri saattaa puuttua, eikä täten ole riittävä tunnistuskriteeri, sillä myös muut stafylokokit saattavat tuottaa keltaisia pesäkkeitä. (Vuopio-Varkila ym. 2010, 83.) Tärkeimpiä *S. aureus* aiheuttamia kliinisiä infektioita ovat märkäiset iho- ja pehmytkudosinfektiot, leikkaushaava-, luu- ja nivelinfektiot. Se aiheuttaa myös vakavia yleisinfektioita kuten endokardiittia ja sepsistä. (Vuopio-Varkila ym. 2010, 86.)

Staphylococcus aureus -kantajalla on lisääntynyt riski sairastua hoitoon liittyvään infektioon, verrattuna niihin potilaisiin, jotka eivät ole kantajia. Tämä johtuu yleensä endogeenisestä kolonisaatiosta, eli sama *S. aureus* -kloni, joka on kolonisoitunut potilaan aiheuttaa myös infektion. Riski on pienempi pitkäaikaishoidossa kuin akuuttisairaalassa, jossa riski kasvaa tehohoidossa. Invasiivisten toimenpiteiden ja hoitovälineiden käyttö kasvattaa riskiä entisestään. (Syrjälä & Kolho 2010, 443.)

2.4.3 Streptokokit

Streptokokkien suurimman ryhmän muodostavat niin sanotut viridans-ryhmän streptokokit, jotka ovat suun ja nielun normaalia mikrobiflooraa. Ne ovat pääasiallisesti hyvin kyvyttömiä aiheuttamaan tauteja, eli ovat avirulentteja. Huonokuntoisilta limakalvoilta verenkiertoon siirtyessään viridans-ryhmän streptokokit voivat kuitenkin aiheuttaa vakavia infektioita kuten endokardiittia sekä sepsisiä, varsinkin limakalvoja vaurioittaneita solusalpaajahoitoja saaneille potilaille. (Vuento ym. 2010, 45; Rantakokko-Jalava & Anttila 2010, 124.)

Streptococcus anginosus -ryhmän bakteerit ovat tavallisia löydöksiä erilaisissa absesseissa. *Streptococcus pneumoniae* aiheuttaa vakavia hengitystieinfektioita, meningiittejä

ja sepsiksiä. Merkittävimmät hemolyytiset streptokokit ovat A-ryhmän *Streptococcus pyogenes*, B-ryhmän *Str. agalactiae*, sekä C- ja G-ryhmän streptokokit. (Vuento ym. 2010, 45.) Suuripesäkkeisiä beetahemolyyttisiä C- ja G-ryhmän streptokokkeja esiintyy ihmisellä ruoansulatuskanavan, hengitysteiden ja urogenitaalialueen normaalifloorassa ja ne kykenevät aiheuttamaan erityisesti nielutulehduksia, ihotulehduksia sekä selluliitteja. G-ryhmän streptokokki aiheuttaa myös ruusutulehdusta ja on varsin yleinen veriviljelylöydös. (Rantakokko-Jalava & Anttila 2010, 122.)

2.4.4 Mikrokokit

Kliinisestä näyttemateriaalista eristettyjen grampositiivisesti värjäytyvien, katalaasiposiitivisten *Micrococcus*-suvun kokkibakteerien primaarinen esiintymisympäristö on ihmisen ja muiden nisäkkäiden iholla. Jopa 96 % väestöstä kantaa iholla esiintyviä populaatioita, joista yleisin on *M. luteus*. (Versalovic 2011, 313.) Vaikka mikrokokkeja pidetään yleisesti vaarattomina saprotrofeina, myös niillä on kyky toimia opportunistisina patogeeneina. Niiden tiedetään yhdessä *Kocuria*- ja *Kytococcus* -sukujen kanssa aiheuttavan endokardiittia, keuhkokuumetta sekä sepsistä potilailla, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt. (Versalovic 2011, 314.) *Micrococcus*-suvun lääkeaineherkkydestä on melko vähän tietoa, mutta niiden oletetaan olevan herkkiä β -laktaamille, makrolideille, tetrasykliinille, linezolideille, rifampinille sekä glykopeptideille. Resistenttejäkin kantoja on kuitenkin tavattu. (Versalovic 2011, 322.)

2.4.5 Bacillukset

Valtaosa endosporeja, eli itiöitä muodostavista aerobisista grampositiivisista sauvoista kuuluu *Bacillus*-sukuun. Vain *Bacillus anthracis* ja *Bacillus cereus* ovat tyyppillisesti patogeenisia ihmiselle. *Bacillus cereus* on yleisimmin ruokamyrkytysbakteeri, joka infektoi puutteellisesti kypsennetyn tai liian lämpimässä säilytetyn ruoan kautta. Basillukset ovat kuitenkin myös hyvin yleisiä luonnossa ja niitä tavataan pölyssä, maaperässä, vesistöissä sekä myös sairaalaympäristössä. Itiömuoto mahdollistaa bakteerin säilymisen epäedullisissa oloissa pitkiä aikoja ja tekee sen kestäväksi kemiallisia aineita kohtaan. *Bacillus cereus* saattaa aiheuttaa puolustuskyvyltään heikentyneelle potilaalle haavainfektion tai jopa sepsiksen. Se liittyy myös osaan, etenkin vamman jälkeisiin ja suo-

nensisäisten huumeiden käyttäjien vakaviin silmätulehduksiin, sillä *B. cereus* tuottaa eksoentsyymejä, jotka kykenevät vaurioittamaan silmän rakenteita. Bakteri tuottaa myös beetalaktamaasia, joka hajottaa kaikki penisilliinit ja kefalosporiinit. Basillukset ovat ympäristössä kuitenkin niin tavallisia, että niiden esiintyminen esimerkiksi veriviljelyssä on yleensä kontaminaatioperäistä. (Carlson & Järvinen 2010, 151–152.)

2.5 Sädesuojat

Röntgentutkimuksia tehtäessä on huolehdittava siitä, ettei tutkimuksen aikana kukaan tutkimuksen tekijöistä tai siinä avustavista henkilöistä altistu primaarisäteilylle. Tutkimuksen aikana on vältettävä tarpeetonta oleskelua tutkimushuoneessa potilaan ja röntgenputken välittömässä läheisyydessä. Mikäli tutkimuksen aikana joudutaan työskentelemään säteilykeilan välittömässä läheisyydessä, on käytettävä erilaisia säteilysuojaimia. Suojautumistarve ja -menetelmät vaihtelevat eri tutkimuksissa. Yksi tapa suojautua säteilyltä on käyttää suojana säteilyä vaimentavaa lyijykumiesiliinaa ja mahdollisesti muita saatavilla olevia suojia (esimerkiksi lyijykumikäsineet, kilpirauhas- tai silmäsuojukset). Erityisesti kuljetettavilla osastokuvauslaitteilla kuvatessa työntekijän on syytä suojautua lyijykumiesiliinalla, koska kuvauksia tehdään runsaasti, eikä rakenteellisia suojauksia voida käyttää. (Tapiovaara, Pukkila & Miettinen 2004, 156–158.)

Kuvantamiskeskuksen tiloissa sädesuojat ovat käytössä päivittäin, useita kertoja päivässä. Suojia käyttävät toimenpiteissä avustavat ja röntgenkuvauksia suorittavat röntgenhoitajat sekä osastokuvauksessa avustavat sairaanhoitajat. Angiografian tiloissa suojia hyödyntävät myös radiologit sekä anestesiahenkilökunta. Suojan tarkoitus on työntekijän lisäksi suojata kohdepotilasta sekä välittömästi tämän läheisyydessä olevia muita potilaita. Käytännössä suojia käyttävät siis kaikki ne osapuolet, jotka osallistuvat suoritettavaan tutkimukseen tai sijaitsevat sen välittömässä läheisyydessä. (Jylhä & Oksanen 2014.)

Kuvantamiskeskus säilyttää suojia niitä käyttävästä osastosta riippuen joko vaateripustimissa, niille varatuissa telineissä, pöydälle suoraksi asetettuna tai osastokuvauskoneiden sisäosissa. Lannesuojat pyritään peittämään muovisuojalla käytön yhteydessä ja ne puhdistetaan tarpeen mukaan, kun havaitaan epäpuhtauksia. Angiografian sekä osastokoneiden suojat puhdistetaan kerran kuukaudessa sairaalahuollon toimesta. Rutiinipuh-

distus suoritetaan mikrokuituliinalla, käyttäen heikosti emäksistä yleispuhdistusainetta. Eritetahrat puhdistetaan OxyPlus 2%:lla. Puhdistus tapahtuu kunkin suojan osastokohtaisella säilytyspaikalla. (Jylhä & Oksanen 2014.)

2.6 Aiemmat tutkimukset

Opinnäytetyöprosessin näytteenottomenetelmien valinnassa on käytetty apuna Iso-Britanniassa tehtyä tutkimusta, jossa tutkittiin diagnostisessa kuvantamisessa käytettyjen lyijysuojien puhdistustoimenpiteiden riittävyyttä sairaalainfektioiden torjunnassa ja sitä, suoritetaanko suojien huoltotoimenpiteet tarpeeksi tehokkaasti, jotta ne toimisivat infektoriskiä pienentävästi. Sairaalainfektioiden riskiä pidetään tutkimusalueella yhtenä tärkeänä terveydenhuollon laatumittarina ja asiasta ollaan aktiivisesti kiinnostuneita. (Boyle & Strudwick 2010.)

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää onko esiliinojen mahdollista kontaminoitua ja toimia kasvualustoina ristikkäisinfektioita aiheuttaville mikrobeille ja voidaanko tätä riskiä pienentää säännöllisellä puhdistuksella. Tutkimuksen päämäärinä oli selvittää, löytyykö esiliinojen pinnoilla mitattavissa olevia määriä mikro-organismeja, säilyykö mitattavissa oleva taso puhdistusaineella ja vedellä suoritettavan puhdistuksen jälkeen, sekä arvioida tutkimustuloksia hyväksi käyttäen tulisiko puhdistusmenetelmiä jatkossa parantaa. (Boyle & Strudwick 2010.)

Tutkimuksessa todettiin aiemman, nimenomaan lyijyesiliinoiniin keskittyneen kirjallisuuden ja tutkimustiedon olevan vähäistä, mutta sen perusteella voitiin päätellä, että esiliinoilla on potentiaalia toimia ristikkäisinfektioiden kasvualustoina. Tutkimukseen kerättiin näytemateriaalia 15 lyijyesiliinasta, joita käytettiin eri puolilla kohdeosastoa. Näytteet kerättiin esiliinan kummastakin kainalosta sekä kahdesta kohdasta etupuolelta. Esiliinojen lähtötilanne määritettiin ensin keräämällä näytteet puhdistamattomilta pinnoilta ja myöhemmin sekä vedellä että puhdistusaineella puhdistetuilta pinnoilta. Näin saatuja tuloksia verrattiin ja mikro-organismien määrät ilmoitettiin pesäkelukuna neliö-senttimetriä kohti, jokaista näytteenottoa kohden ennen ja jälkeen puhdistuksen. (Boyle & Strudwick 2010.)

Tutkimuksessa todettiin kaikkien lyijyesiliinon olevan mikro-organismien kontaminoimia. Onnistuneesti identifioidut mikrobit tunnistettiin koagulaasinegatiivisiksi stafylokokkeiksi, *Staphylococcus aureus* -kantoiksi, *Bacillus* -kantoiksi sekä difterioideiksi. Myös joitakin sieni-itiöitä havaittiin. *S. aureus* -kantoja ei todettu metisilliiniresistenteiksi. Puhdistuksen todettiin vähentävän mikro-organismien määrää merkittävästi, etenkin esiliinan etupuolelta. Tutkimuksen tulokset osoittivat, että esiliinon puhdistus ei ollut riittävä sairaalolosuhteisiin ja vedellä sekä puhdistusaineella suoritettavaa puhdistusta suositeltiin säännöllistettäväksi. (Boyle & Strudwick 2010.)

3 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄ

Opinnäytetyön tavoitteena on välittää Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitokselle tietoa heidän käyttämiensä sädesuojien kunnosta. Kyseessä on yhteistyö radiografian ja sädehoidon koulutusohjelman opiskelijoiden kanssa, jotka keskittyvät omassa opinnäytetyössään selvittämään samojen sädesuojien suojausominaisuuksia. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena puolestaan on selvittää, löytyykö valittujen sädesuojien pinnalta mikrobikasvustoa ja minkälaisia mikrobeja löydökset ovat. Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaite voi hyödyntää selvityksen tuloksia arvioidessaan suojien uusimistarvetta tai puhdistamiskäytäntöjä.

Opinnäytetyön tehtävänä on ottaa mikrobiologisia näytteitä työelämän ennalta valitsemista sädesuojista, viljellä ja analysoida näytteet sekä tehdä selvitys löytyneistä mikrobeista ja niiden määristä. Tarkoituksena on tuottaa samalla lisää tietoa aikaisemmin vähän tutkitusta aiheesta ja selvittää, olisiko suojien mikrobiologisen puhtauden seuraamisesta tarpeellista tehdä pysyvämpi hanke.

Opinnäytetyön tutkimuskysymykset ovat:

1. Löytyykö valittujen sädesuojien pinnalla mikrobikasvustoa?
2. Minkälaisia mikrobeja sädesuojista löytyy?

4 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Tämän opinnäytetyön tutkimusstrategia sisältää piirteitä sekä toiminnallisesta että kvantitatiivisesta menetelmästä. Keskeisin opinnäytetyön tavoite on tuottaa selvitys sädesuojista löytyvien mikrobien esiintyvyydestä ja tyypistä. Opinnäytetyön toiminnallinen osuus tulee esiin lähinnä opinnäytetyön tilaajan pyynnöstä, koska työn tarkoituksena on tuottaa kokonaisvaltaisempi selvitys mahdollisesti löytyvistä mikrobeista. Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoitus on ohjeistaa, opastaa, järjestää tai järjeistää käytännön toimintaa ammatillisessa kentässä. Toiminnallinen opinnäytetyö voi olla alasta riippuen esimerkiksi ammatilliseen käyttöön suunnattu ohje, opastus tai tapahtuman järjestäminen. Toiminnalliseen opinnäytetyöhön tulee käytännön toteutuksen lisäksi yhdistää myös tutkimusviestinnän keinoin laadittu raportti. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 9.)

Kvantitatiiviselle tutkimukselle puolestaan keskeistä ovat muun muassa johtopäätökset aiemmista tutkimuksista, aiemmat teoriat, käsitteiden määrittely sekä koejärjestelyjen ja aineiston keruun suunnitelmat (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009, 140). Jotta saatiin aikaan luotettava selvitys löytyneistä mikrobeista ja arviota niiden määristä, tarvittiin työssä myös kvantitatiivisia menetelmiä. Kvantitatiiviseen tutkimuksen periaatteisiin kuuluu tutkittavien asioiden ja niiden ominaisuuksien esittäminen numeroiden avulla. Tutkittavat asiat muodostavat perusjoukon, eli kohdejoukon, jota tutkimuksessa tarkastellaan. Otoksella puolestaan tarkoitetaan perusjoukon osaa, jonka avulla voidaan saada kokonaiskuva koko kohdejoukosta. (Vilkkä 2007, 52.) Tässä opinnäytetyössä perusjoukkoa edustaa Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitoksen käyttämät sädesuojat ja otos koostuu niistä suojista, joista näytteet otettiin. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkijan tehtävänä on myös tulkita ja selittää saatu numerotieto sanallisesti. (Vilkkä 2007, 14.) Työn kvantitatiivinen osuus syntyi siis mikrobinäytteenotosta sekä näytteiden ja tulosten analysoinnista. Aineiston keruun jälkeen näytteet analysoitiin ja niistä pyrittiin selvittämään mahdollisimman tarkasti mikrobilajit sekä -määrät. Tämän kvantitatiivisen osuuden tulosten perusteella laadittiin myös opinnäytetyön tuotoksena syntyvä esitys.

5 OPINNÄYTETYÖPROSESSI

5.1 Opinnäytetyöprosessin suunnittelu

Opinnäytetyöprosessi alkoi työelämän edustajien kanssa pidetyllä palaverilla, jossa kartoitettiin tarkemmin tilaajan toiveita opinnäytetyön suhteen. Radiografian ja sädehoidon koulutusohjelman yliopettaja Marja Jaronen edusti palaverissa omien opiskelijoidensa vastuualuetta yhdistetyssä opinnäytetyössä. Hän tarjosi myös asiantuntemustaan, sekä lähdemateriaalia bioanalytiikan koulutusohjelman osuudelle. Palaverissa keskusteltiin myös alustavasti opinnäytetyöhön liittyvistä eettisistä kysymyksistä, sekä sovittiin suullisesti opinnäytetyön pohjalta laaditusta esityksestä. Esityksen tarkoituksena on olla vain työelämän kannalta oleellista informaatiota sisältävä tiivistelmä, joka esitetään tilaajan valitsemana ajankohdassa Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitoksen tiloissa. Lupaa opinnäytetyöprosessin aloittamiseen anottiin kirjallisella hakemuksella joulukuussa 2013. Luvan myönsi Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitoksen puolesta osastonhoitaja Riitta Oksanen ja lopullisen opinnäytetyöluvan Pirkanmaan sairaanhoitopiirin opetusylihoitaja Susanna Teuvo.

Opinnäytetyöprosessin suunnitteluvaiheessa kartoitettiin myös erilaisia tapoja toteuttaa työn käytännön osuus. Suunnittelu aloitettiin näytteenottomenetelmien ja -välineiden valinnalla, sekä viljely- ja analysointimenetelmien kartoituksella. Alussa selvitettiin, olisiko mikrobittunnistus mahdollista suorittaa kokonaan Tampereen ammattikorkeakoulun tarjoamien resurssien avulla tai vaihtoehtoisesti olisiko tunnistus mahdollista hoitaa kokonaan Fimlab Laboratoriot Oy:n toimesta, jolloin työn käytännön osuudeksi jäisi ainoastaan näytteiden otto valituista suojista ja tulosten analysointi. Lopulliseksi suunnitelmaksi valikoitui, että tunnistuksia pyrittiin tekemään mahdollisimman pitkälle itse ja epäselviin pesäkkeisiin saataisiin apua Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian laboratoriolta.

5.2 Näytteenotto kohtien ja välineiden valinta

Näytteenotto paikkojen ja menetelmän valinnassa konsultoitui puhelimitse Tampereen yliopistollisen sairaalan hygieniahoitaja Jaana Sinkkosta, sekä otettiin vaikutteita Iso-

Britanniassa suoritetun tutkimuksen käytännöistä. Esiliinamallisissa suojoissa valittiin näytteenottokohdiksi alueet esiliinan edustasta vyötärön ja kainaloiden korkeudelta. Näiden kohtien oletettiin olevan eniten kosketuksissa sekä potilaaseen että tutkimusvälineistöön potilaskontaktin aikana. Lannesuojan pienen koon sekä kaksipuoleisuuden vuoksi näytteenottokohdiksi valikoituivat kummankin puolen keskikohdat. Kilpirauhasuojasta näyte otettiin myös kaksipuoleisesti, sillä sen sisäpinta asettuu hoitohenkilökunnan ihoa vasten. Eri suojien näytteenottokohdat on esitetty kuvassa 1.



KUVA 1. Erimallisten sädesuojien näytteenottokohdat (Kuva: Lasse Pekkala 2014)

Näytteenotto suoritettiin steriiliin NaCl -liuokseen kastetulla steriilillä vanupuikolla, haluttua näytteenottokohtaa muutaman neliösenttimetrin alueelta sivellen. TAYS:n hygieniahoitajan mukaan tämä on yleinen käytäntö hygienianäytteitä otettaessa ja kyseiset välineet ovat huomattavasti edullisempia kuin erilaiset samaan tarkoitukseen suunnitellut teippi- ja liimaratkaisuja käyttävät keräysmenetelmät. (Sinkkonen 2013.) Lisäksi näytteenottovaiheessa käytettiin kertakäyttöisiä nitrilikäsineitä.

5.3 Kasvatusmaljojen ja tunnistusmenetelmien valinta

Bakteeriviljely on olennainen osa mikrobiologista diagnostiikkaa gramvärjäyksen sekä mikroskopoinnin ohella. Sen etuja ovat muun muassa välineiden edullisuus ja yksinkertaisuus. Tunnistuksessa käytetään hyväksi muun muassa pesäkkeen muotoa ja kokoa,

sen tuottamaa hajua tai väriä, sekä sen kykyä hemolysoida elatusaineen punasoluja. Näiden lisäksi käytetään usein erilaisia tunnistustestejä. Primaariviljelyllä eli hajotusviljelyllä saadaan eroteltua eri bakteerikannat toisistaan. Tämä tarkoittaa sitä, että kaikki lähtömateriaalissa olevat bakteerit saadaan kasvamaan samalla elatusmaljalla yksittäisinä bakteeripesäkkeinä. Bakteerit lisääntyvät nopeasti jakautumalla ja muodostavat maljalle silmin havaittavia pesäkkeitä 12–24 tunnin kuluessa. Mikäli primaariviljelyllä elatusmaljalla kasvaa useita erityyppisiä pesäkkeitä, voidaan suorittaa puhdasviljely, eli eritellä halutut bakteeripesäkkeet kasvamaan omille maljoilleen, jolloin saadaan puhdas, vain yhden bakteerin jälkeläisiä tuottava malja. (Carlson & Koskela 2011, 41.) Kasvatusmaljoja on lukuisia erilaisia, jotka voidaan karkeasti jaotella selektiivisiin eli tietyille bakteereille tarkoitettuihin, sekä yleiselatusaineisiin, joilla kasvaa useampia erilaisia bakteereita. Tämän työn suorituksessa käytettiin primaariviljelyissä kolmea erilaista kasvatusmaljaa: suklaamaljaa, verimaljaa sekä Brolacin, eli C.L.E.D -maljaa.

5.3.1 Suklaamalja

Suklaamalja on verimaljan variaatio, jonka elatusaineen veren punasolut on verimaljasta poiketen lyysattu valmistusprosessissa. Maljan nimi juontaa hemolyysin aiheuttamasta maljalle tunnusomaisesta ruskeasta väristä, jonka vuoksi elatusaine muistuttaa suklaata. Punasolujen lyysaus vapauttaa elatusaineeseen solunsisäisiä ravintoaineita, kuten hemoglobiinia, hemiiniä sekä NAD-koentsyymiä. Tämä mahdollistaa sellaisten bakteerien kasvun maljalla, jotka eivät näiden puutteen vuoksi kykene menestymään verimaljalla. (Acharya, 2013.) Esimerkki suklaamaljasta on esitetty kuvassa 2.



KUVA 2. Mikrobikasvua suklaamaljalla (Kuva: Riikka Ahlfors 2014).

5.3.2 Verimalja

Verimalja sisältää rikastettua elatusainetta, johon on lisätty defibrinoitua nisäkkään verta (Buxton 2005). Esimerkiksi Biorad käyttää kaupallisissa valmismaljoissaan joko lampaan tai hevosen verta (Biorad 2014). Defibrinointiprosessilla käytettävän veren hyytymistekijät poistetaan, jotta elatusaineessa ei tapahtuisi hyytymistä (Smith 2005). Verimaljaa käytetään bakteriologisissa yleisviljelyissä kasvuvaatimuksiltaan pikkutarhoille bakteereille, hiivoille ja homeille, sekä bakteerien erotteluun niiden hemolyyttisten ominaisuuksien perusteella. Maljalla punasoluja hajottavan beetahemolyyttisen pesäkkeen ympärille muodostuu kirkas, maljan perustana olevan elatusaineen värinen kehä. Alfahemolyyttisen pesäkkeen aiheuttama hemoglobiinin väheneminen ympäröivissä punasoluissa näkyy puolestaan vihertävänä tai ruskeana kehänä. (Buxton 2005.) Esimerkki verimaljasta on esitetty kuvassa 3.



KUVA 3. Kokki- ja sauvabakteereita verimaljalla (Kuva: Jaana Kilpeläinen 2013)

5.3.3 C.L.E.D -malja

C.L.E.D -malja (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) sisältää elatusainetta, jota käytetään yleisesti virtsan bakteerien tunnistuksessa. C.L.E.D -malja valittiin viljelyprosessiin sen ensisijaisesta käyttötarkoituksesta huolimatta, sillä sen erilaiset kasvua inhiboivat ja katalysoivat ominaisuudet helpottavat maljalla kasvavien pesäkkeiden makroskooppista tarkastelua.

Elatusaineen ravintoaineet tuotetaan peptoneilla, gelatiinin ja kaseiinin pankreaattisilla eli haimaperäisillä pilkkojilla, sekä lihauutteella. Laktoosi toimii elatusaineessa energian lähteenä niille bakteereille, jotka kykenevät käyttämään sitä hyödykseen fermentaation avulla. Kystiini puolestaan estää koliformisten kääpiöyhdyskuntien kasvun maljalla. Bromitymolisininen toimii pH-indikaattorina, jolla kyetään erottelemaan laktoosia fermentoivat ja fermentoimattomat bakteerit toisistaan. Erottelu perustuu värinmuodostukseen maljalla. Elatusaineen elektolyyttilähteitä on vähennetty, jotta maljalla ei esiintyisi *Proteus*-suvun lajeille tyypillistä huntuilua. (BD 2006.) Esimerkki C.L.E.D. -maljasta on esitetty kuvassa 4.



KUVA 4. *Bacillus*-pesäkkeitä C.L.E.D. -maljalla (Microregistrar.com 2014)

5.4 Vitek® MS -analysaattori

Koska käytössä olleilla manuaalimenetelmillä oli mahdollista tunnistaa vain kohtalaisen pieni joukko eri mikrobeja, suoritimme manuaalimenetelmien ulkopuolelle jääneiden pesäkkeiden tunnistuksen yhteistyössä Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian laboratorion kanssa. Analyysi suoritettiin ranskalaisen bioMérieux -yhtiön valmistamalla kliinisiin laboratorioihin suunnitellulla mikrobien ja hiivojen automaattisella Vitek® MS -tunnistusanalysaattorilla. Laite tunnistaa grampositiivisten ja -negatiivisten bakteerien ja hiivojen lisäksi myös anaerobibakteereita. Laite hyödyntää tunnistuksessa MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight) -tekniikkaa ja sen määritysmenetelmä on kolometrinen. Näytesuspensio preparoidaan laitteen omille ID-testikortteille, jotka asetetaan laitteeseen yksi kerrallaan. Testikortissa on näyte-

paikkojen lisäksi kontrollisuspensioille varattuja paikkoja, joita laite käyttää referenssinä. Testikortti saatetaan tyhjiöön jossa se ionisoidaan lasersäteellä. Lasersäde vapauttaa proteiinipilven, jota kiihdytetään sähkövarauksella. Proteiinit ohittavat laitteen elektrodin, johon kulunut aika tallennetaan ja siitä muodostetaan kaavan avulla TOF (Time of Flight). Tämän jälkeen proteiineista muodostetaan sensorin avulla spektri, joka on kullekin mikrobille ominainen. Tulosten tulkinnan suorittaa laitteeseen yhteydessä oleva tietokone, joka käyttää tietojärjestelmän pohjana yli 100 000 tieteellistä tutkimusta ja raporttia. (bioMérieux 2014.)

5.5 Työn ensimmäinen vaihe joulukuussa 2013

Aineiston keruu suoritettiin Tampereen yliopistollisen keskussairaalan eri osastoilla ensimmäisen kerran joulukuussa 2013. Kuvantamiskeskus oli valinnut valmiiksi suojat, joista näytteet otettiin, mutta näytteenottoa ei ollut tilaajan puolesta ennalta määrätty. Suojia oli kolmea eri tyyppiä: esiliina, kilpirauhassuoja sekä lannesuoja. Näytteitä otettiin kolmen eri kuvauslaitteen yhteydessä olevista suojista, joista jokaisessa suojat olivat hieman erilaisessa käytössä.

Näytteenotto suoritettiin 18.12.2013, jolloin näytteitä otettiin viidestätoista suojasta. Esiliinoissa ja kilpirauhassuojissa näytteenottoa oli neljä ja lannesuojissa kaksi, joten näytteitä kertyi yhteensä 65. Valitut suojat sijaitsivat kolmen eri osaston kuvauslaitteiden yhteydessä. Osastoja kutsutaan tässä työssä nimillä osasto A, osasto B ja osasto C. Osastolla A työntekijät käyttivät pääasiassa esiliinoja sekä kilpirauhassuojia. Osa suojista oli nimikoituja, mutta osa oli kaikkien työntekijöiden yhteiskäytössä. Suojia säilytettiin niille varatuissa vaateripustimissa ja naulakoissa. Osaston A:n tiloista oli valittu kolme esiliinaa ja kaksi kilpirauhassuojaa. Toinen kuvauslaite oli Tampereen yliopistollisen sairaalan osaston B ulkopuolella, hissiaulassa. Koneen yhteydessä olevista suojista osa oli ripustettu koneen ulkopuolelle, osan ollessa säilytyksessä koneen sisäosissa. Osasto B:n suojista näytteitä otettiin kahdesta esiliinasta, kahdesta lannesuojasta, sekä yhdestä kilpirauhassuojasta. Kolmas kuvauslaite sijaitsi osastolla C, käytävän varrella. Laitteen suojat olivat vaateripustimissa koneen vieressä ja osa oli säilytyksessä koneen sisäosissa. Osaston C:n suojista oli valittu kaksi esiliinaa, kaksi lannesuojaa sekä yksi kilpirauhassuoja.

Primaariviljely suoritettiin jokaisesta näytteenottokohdasta sekä verimaljalle että selektiiviselle suklaamaljalle. Maljat merkittiin suojissa valmiiksi olleilla koodeilla, jotta yhteys myös radiografian ja sädehoidon opiskelijoiden tekemään tutkimukseen säilyisi. Näytteitä inkuboitiin lämpökaapissa +37 °C:ssa 24 tunnin ajan. Inkuboinnin jälkeen prosessista karsittiin pois ne maljat, joilla esiintyi alle 10 silmin havaittavaa kokkibakteeripesäkettä. Harvalukuisemman sauvabakteerin esiintyminen maljalla sisällytti maljan automaattisesti tutkimukseen.

Prosessiin valikoituvien maljojen kasvustot tyypitettiin alustavasti pesäkkeitä tarkastelemalla joko kokki- tai sauvabakteereihin. Kokkibakteeripesäke on maljalla kasvaessaan tyypillisesti säännömukaisen pyöreä, sauvabakteerin muodostaman pesäkkeen ollessa muodoltaan epäsäännöllisempi ja laajempi. Eri pesäketyypeille suoritettiin gramvärjäys, joka ohjasi jatkotunnistusmenetelmien valintaa. Käytössä olleet manuaalimenetelmät mahdollistivat yleisimpien grampositiivisten kokkibakteerien sekä gramnegatiivisten sauvabakteerien tunnistuksen. Grampositiivisten sauvabakteerien tunnistus siirrettiin puuttuvien tyypitysmenetelmien vuoksi suoraan automaattisille menetelmille. Jatkoviljelyt ja -tunnistukset suoritettiin näytteenottoa seuraavana päivänä.

Selektiivisten suklaamaljojen käyttö osoittautui tutkimuksen kannalta epäedulliseksi sillä näytteistä ei löytynyt käyttämiämme suklaamaljoja suosivia kantoja. Tämän vuoksi maljoilta ei voitu suorittaa luotettavasti streptokokkien ja stafylokokkien erotuksessa käytettävää katalaasikoetta, sillä verimaljalla kasvaneet bakteerit eivät sovellu kyseiseen tutkimukseen. Tutkimuksessa käytettiin myös useampia jatkomaljoja, mutta niiden avulla saatiin tunnistettua ainoastaan yksi bakteerilaji, sekä poissuljettua metisilliini-resistantin *Staphylococcus aureuksen* läsnäolo näytteissä.

Tunnistus suoritettiin valituista pesäkkeistä Vitek® MS -analysaattorilla 20.12.2013. Ongelmaksi muodostui käyttökokemuksen puute ja näin ollen suuri osa ID-testikortille preparoiduista näytteistä todettiin tutkimuskelvottomiksi. Tiedonkulussa tapahtui myös katkos, jonka vuoksi tieto näytteiden epäonnistumisesta saapui vasta, kun kasvatusmaljat olivat jo kasvaneet täyteen ja olivat täten analyysikelvottomia. Johtuen useista ongelmista käytännön osuuden eri vaiheissa, päätettiin näytteenotto suorittaa uudestaan myöhemmin keväällä. Ensimmäisen vaiheen avulla saatiin paljon arvokasta tietoa, jonka avulla seuraavan näytteenoton ja analysoinnin aikataulu sekä käytettävät välineet voitiin suunnitella tarkemmin.

5.6 Työn toinen vaihe huhtikuussa 2014

Uusintänäytteenotto suoritettiin huhtikuussa 2014. Sen yhteydessä selvisi, että lähes puolet aiemmin valituista suojista oli poistettu huonon kunnon tai puutteellisten suojausominaisuuksiensa takia. Aiempien viljelytulosten perusteella päätettiin myös vähentää näytteenottokohtia, koska merkittävää eroa saman suojan eri näytteenottokohtien mikrobimäärien välillä ei havaittu. Kilpirauhassuojan näytteenottokohtia muutettiin siten, että molemmat näytteet otettiin sisäpuolelta, koska suojan pienen koon ja sijainnin takia ulkopuoli ei ole juuri kosketuksissa työntekijään tai potilaaseen. Uusintänäytteenoton näytteenottokohdat on esitetty kuvassa 5.



KUVA 5. Työn toisessa vaiheessa käytetyt, erimallisten sädesuojien näytteenottokohdat (Kuva: Lasse Pekkala 2014)

Lopulliseksi näytteiden määräksi tuli siis 16 näytettä yhteensä kahdeksasta eri suojasta (kolme esiliinaa, kolme kilpirauhassuojaa sekä kaksi lannesuojaa). Suojien poistosta huolimatta, kaikkien eri osastojen yhteydessä olevien kuvauslaitteiden suojista oli jäljellä edelleen vähintään yksi. Näytteenottomenetelmä todettiin ensimmäisellä tutkimuskerrolla tehokkaaksi ja toimivaksi, joten sitä ei koettu tarpeelliseksi vaihtaa. Näytteet kerättiin 8.4.2014.

Selektiiviset suklaamaljat korvattiin heikkojen pesäkelukujen vuoksi epäselektiivisellä suklaamaljalla ja lisäksi jokainen näyte viljeltiin morfologista tulkintaa helpottavalle

C.L.E.D -maljalle sekä verimaljalle. Näytteitä inkuboitiin +37 °C:ssa 24 tuntia, jonka jälkeen suoritettiin maljojen makroskooppinen tarkastelu. Sen perusteella pesäkkeet jaoteltiin sauva- ja kokkibakteereihin. Jatkokasvatukseen pääsevien maljojen kohdalla pitäydyttiin samoissa kriteereissä kuin työn ensimmäisessä vaiheessa, joten kaikki alle kymmenen kokkipesäkettä sisältävät maljat karsittiin pois. Maljoilta valittiin mahdollisimman kattavasti erilaisia pesäkkeitä puhtasviljelyyn omille maljoilleen. Ensimmäisen vaiheen tutkimuksessa ei merkittävästi höydytty erilaisten jatkomaljojen käytöstä, joten niiden käyttöä ei koettu enää tarpeelliseksi.

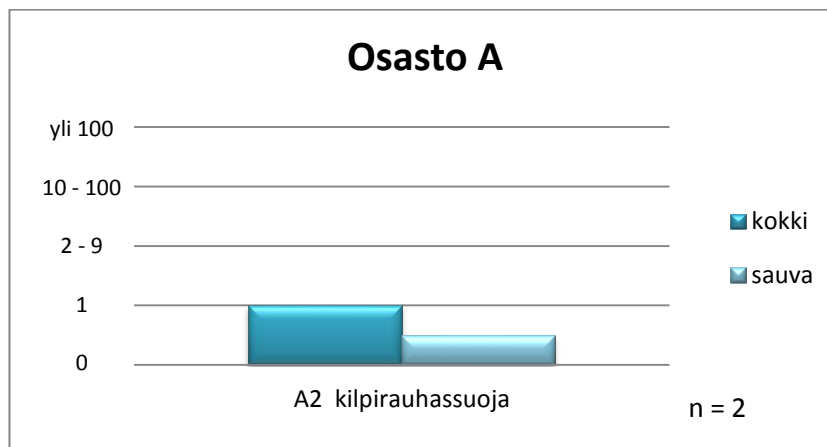
Seuraavana päivänä puhtasviljelmät tarkastettiin ja kokkibakteereille suoritettiin kata-laasikoe. Sen jälkeen puhtasviljelmät siirrettiin Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian laboratorioon, jossa tyyppitys suoritettiin Vitek® MS -analysaattorilla. Lopulliset tunnistustulokset saatiin tutkimuspäivänä 10.4.2014. Samana päivänä maljat myös luettiin viimeisen kerran, jolloin kaikki vielä kasvatuksessa olevat maljat käytiin läpi ja kirjattiin ylös kokki- ja sauvabakteerien pesäkemäärät jokaiselta eri maljalta. Tässä vaiheessa kasvu jaoteltiin enää sauva- ja kokkibakteereihin, jälkimmäisiä erittelemättä, sillä Vitek® MS -analysaattorin tulokset viittasivat siihen, että maljat eivät sisältäneet korkeasti virulenteja kantoja ja tarkempaa erottelua ei koettu oleelliseksi.

Tulosten analysointivaiheessa tuloksista pyrittiin saamaan esille oleellisimmat asiat. Koska resurssit eivät riittäneet jokaisen pesäkkeen erilliseen tunnistamiseen, tehtiin oletus, että kaikilla saman näytteenottokohdan eri maljoilla kasvoi samoja mikrobeita. Lisäksi tulosten perusteella huomattiin, että saman suojan eri näytteenottoehtien välillä ei ollut merkittäviä eroja, joten saaduista tuloksista laskettiin keskiarvo eri maljojen sekä eri näytteenottoehtien välillä. Tulosten analysoinnin perusteella tehtiin erilaisia kuvauksia, joissa tuloksia on esitetty havainnollisemmassa muodossa.

6 OPINNÄYTETYÖN TULOKSET

Tutkimuksen otos oli kahdeksan suojaa, joista kaikista otettiin näyte kahdesta eri kohdasta. Näytteitä kertyi yhteensä siis 16. Jokaisesta näytteenottokohdasta näyte viljeltiin kolmelle eri maljalle ja maljoja kasvatettiin kaksi vuorokautta, jonka jälkeen maljat luettiin lopullisia tuloksia varten. Saadut tulokset mikrobikasvun määrästä on esitetty kokonaisuudessaan malja- ja näytteenottokohtaisesti liitteessä 1. Kuvaajia varten on laskettu keskiarvot saaduista pesäkemääristä sekä maljojen että näytteenottokohtien suhteen, joten kuvaajassa yksi pylväs edustaa aina koko suojan kaikkien maljojen keskimääräistä pesäkemäärää. Kuvaajissa on eroteltu kokki- ja sauvabakteerien pesäkemäärät, mutta niissä ei oteta kantaa bakteerien tarkempaan lajiin.

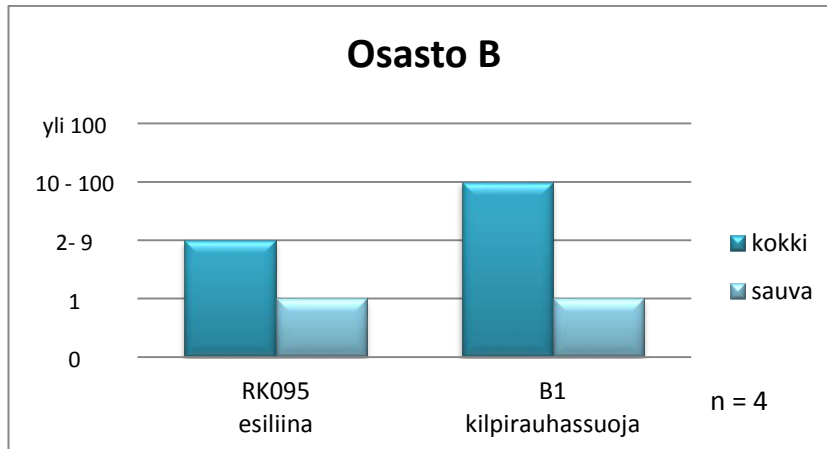
Osasto A:n kuvaustiloista otimme näytteet yhdestä kilpirauhassuojasta. Yhdestä näytteenottokohdasta otettiin näytteet kolmelle eri maljalle ja kokkibakteereita kasvoi vain osalla maljoista. Kun tulokset analysoitiin, kasvun määräksi saatiin keskimäärin yksi pesäke maljaa kohti. Sauvabakteeria kasvoi vain yksi pesäke verimaljalla. Osasto A:n suojusta löytyneistä mikrobeista ei tehty tarkempaa jatkotunnistusta pesäkkeiden vähäisen määrän takia. Osasto A:n suojan mikrobikasvun määrä on esitetty kuviossa 1.



KUVIO 1. Mikrobikasvu osasto A:n suojassa

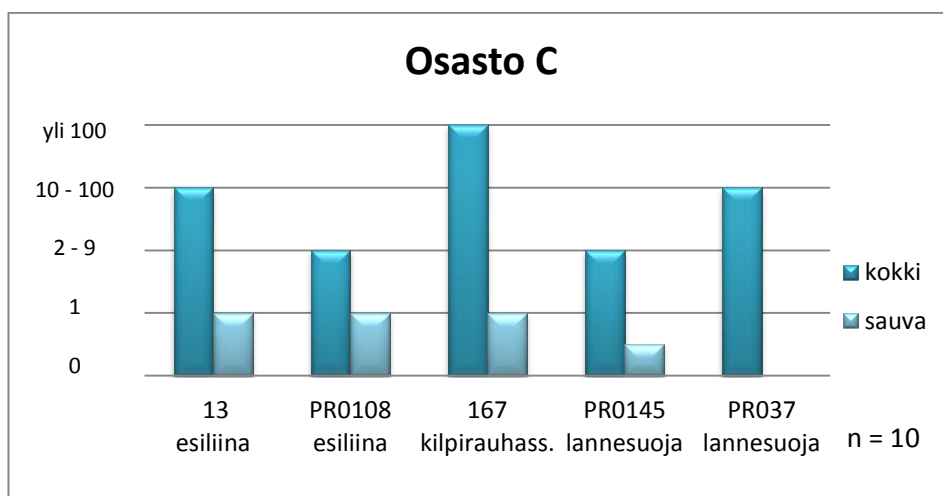
Osasto B:n kuvauslaitteen yhteydessä olevista suojusta näytteitä otettiin yhdestä esiliinasta sekä yhdestä kilpirauhassuojasta. Molemmista suojissa kasvoi sekä kokki- että sauvabakteereita. Erityisesti kilpirauhassuojasta otetuissa näytteissä kokkibakteereita kasvoi kaikilla maljoilla 10–100 pesäkettä. Myös esiliinasta otetuissa näytteissä kokkibakteereita oli useampia pesäkkeitä joka maljalla, eli keskimäärin 2–9 pesäkettä maljaa

kohden. Sauvabakteeria kasvoi molempien suojien näytteissä yksittäisiä pesäkkeitä eri maljoilla. Mikrobikasvun määrä on esitetty kuviossa 2.



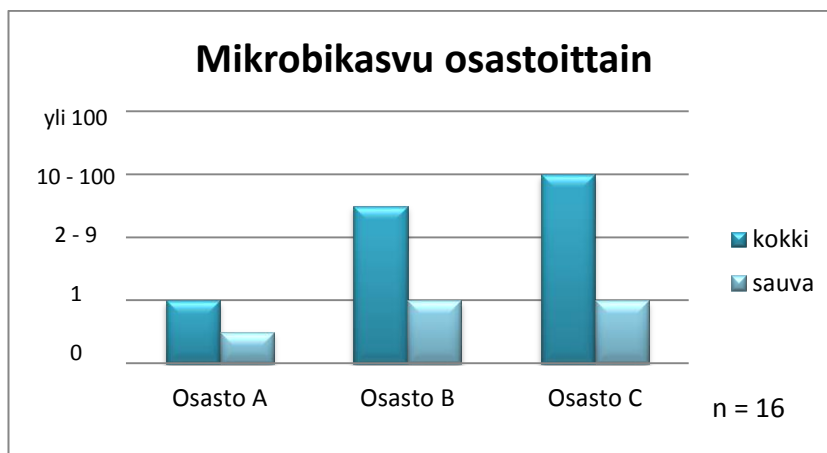
KUVIO 2. Mikrobikasvu osasto B:n suojissa

Kaikissa Osasto C:n kuvauslaitteen yhteydessä olevien suojien näytteistä löytyi kokki-bakteereita. Kasvun määrä oli keskimäärin 10–100 pesäkettä esiliinassa 13, 2–9 pesäkettä esiliinassa PR0108, 2–9 pesäkettä lannesuojassa PR0145, 10 - 100 pesäkettä lannesuojassa PR037 ja yli 100 pesäkettä kilpirauhassuojassa 167. Neljän suojan näytteissä kasvoi lisäksi sauvabakteereita. Lannesuoja PR037:n näytteistä sauvabakteereita ei löytynyt lainkaan ja lannesuoja PR0145:n näytteistäkin vain kaksi yksittäistä pesäkettä eri maljoilta. Muiden suojien näytteissä kasvoi yksittäisiä sauvabakteeripesäkkeitä lähes joka maljalla. Suojien mikrobikasvun määrä on esitetty kuviossa 3.



KUVIO 3. Mikrobikasvu osasto C:n suojissa

Tuloksista on tehty yhteenveto myös osastokohtaisesti. Kaikista tutkituista suojista löytyi sekä kokki- että sauvabakteereita, pois lukien osasto C:n lannesuoja PR037, josta löytyi vain kokkibakteereita. Osasto A:lta näytteet otettiin vain yhdestä suojasta, osasto B:llä suojia oli kaksi ja osasto C:llä viisi. Tulosten perusteella osasto A:n suojassa mikrobikasvua oli vähiten, keskimäärin vain yksi kokkibakteeripesäke ja alle yksi sauvabakteeripesäke maljaa kohden. Osasto B:llä kokkibakteeripesäkkeitä oli toisessa suojassa 2–9 pesäkettä ja toisessa 10–100 pesäkettä maljaa kohden. Sauvabakteeripesäkkeitä oli keskimäärin yksi maljaa kohden. Osasto C:n suojista mikrobikasvua löytyi eniten. Kokkibakteeripesäkkeitä oli suojissa keskimäärin 10–100 maljaa kohden ja sauvabakteeripesäkkeitä yksi maljaa kohden. Osastokohtaiset tulokset suojissa esiintyvistä mikrobikasvun määrästä on esitetty kuviossa 4.

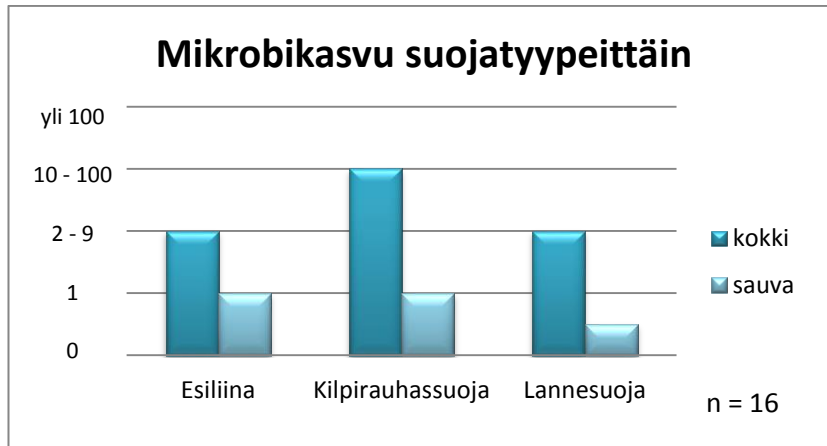


KUVIO 4. Mikrobikasvu eri osastojen suojissa

Osastoittain vaihtelevaan mikrobikasvun määrään saattaa vaikuttaa monikin asia. Osasto A:n suojia esimerkiksi säilytettiin omassa tilassa vaateripustimissa ja suojat olivat vain työntekijöiden käytössä. Osasto C:llä taas suojat sijaitsivat sellaisen käytävän varrella, jossa oli jatkuvaa kulkua ja esimerkiksi lannesuojia käytettiin myös potilaiden suojana.

Mikrobikasvun määrää on vertailtu myös suojatyypeittäin, eli kasvun määrästä on laskettu keskiarvo eri osastojen samantyyppisten suojien välillä. Esiliinoista löytyi keskimäärin 2–9 kokkibakteeripesäkettä ja yksi sauvabakteeripesäke maljaa kohden. Kilpirauhassuojissa kokkibakteeripesäkkeitä oli eniten, 10–100 pesäkettä maljaa kohden ja sauvabakteereita yksi pesäke maljaa kohden. Lannesuojista löytyi niin ikään 2–9 kokkibakteeripesäkettä maljaa kohden, mutta sauvabakteeripesäkkeitä oli keskimäärin vä-

hemmän kuin yksi pesäke maljaa kohden. Mikrobikasvun määrä erityyppisissä suojsissa on esitetty kuviossa 5.



KUVIO 5. Mikrobikasvu eri suojatyypeissä

Kun suojien mikrobikasvua verrataan suojatyypeittäin, voidaan huomata, että kilpirauhassuojissa kasvua on kaikkein eniten. Kilpirauhassuojasta näytteet otettiin vain sisäpuolelta ja työvaatteiden mallin takia suoja asettuu lähes kokonaan paljaalle iholle. Näin ollen monen työntekijän yhteiskäytössä olevassa suojsassa on ymmärrettävästi myös eniten mikrobeita.

Tunnistetut mikrobit

Tarkempaan bakteeritunnistukseen valikoitui satunnaisesti yhteensä 11 pesäkettä viiden eri suojan näytteistä. Vitek® MS -analysaattorin avulla saadut tulokset tunnistetuista mikrobeista on esitetty suojakohtaisesti liitteessä 2.

Kokkibakteeripesäkkeitä vietiin Vitek® MS -analysaattorille viiden eri suojan näytteistä, yhteensä seitsemän pesäkettä. Osasto B:n esiliinan RK095 näytteistä valittiin kaksi erilaista pesäkettä ja kilpirauhassuojan B1 näytteistä kaksi erilaista pesäkettä. Osaston C:n näytteistä valittiin kilpirauhassuoja 167:n, esiliina 13:n ja lannesuoja PR037:n näytteistä yksi pesäke kustakin. Pesäkkeistä tunnistettiin stafylokokkeja kahta lajia, *Staphylococcus epidermidis* sekä *Staphylococcus hominis*, joita kumpaakin kasvoi osasto B:n kilpirauhassuojan näytteessä. Lisäksi *S. epidermidis* kasvoi osasto B:n sekä osasto C:n esiliinoissa, kun taas *S. hominis* esiintyi kummankin osaston kilpirauhassuojissa. Lisäksi osasto C:n lannesuojasta sekä osasto B:n esiliinasta tunnistettiin mikrokokkeihin kuuluva *Micrococcus luteus*. Yhdeltäkään suojsalta ei tunnistettu *Staphylococcus aureus*-ta eikä MRSA:ta. Sauvabakteeripesäkkeitä vietiin Vitek® MS -analysaattorille neljän

eri suojan näytteistä: osasto B:n molemmat suojat sekä osasto C:n kilpirauhassuoja 167 ja esiliina 13. Kaikkien sauvabakteerien lajiksi saatiin analyysissä *Bacillus cereus*. Koska kaikkien näytteiden sauvabakteeripesäkkeet olivat morfologialtaan yhteneviä, päädyttiin oletamaan, että myös muiden näytteiden sauvabakteerien laji on todennäköisesti *Bacillus cereus*.

Vitek® MS -analysaattorilla analysoituja näytteitä pyrittiin valitsemaan mahdollisimman kattavasti eri osastojen erityyppisistä suojista. Tulosten analysointivaiheessa päädyttiin resurssikysymysten vuoksi oletamaan, että morfologialtaan yhtenevät pesäkkeet edustavat todennäköisesti samaa lajia, kuin Vitek® MS -analysaattorilla tunnistetut pesäkkeet. Tarkkoja pesäkemääriä erityyppisten kokkipesäkkeiden välillä ei edes yritetty kirjata, koska Vitek® MS -analysaattorille viedyt pesäkkeet olivat kaikki keskenään hieman erinäköisiä, mutta tulokset osoittivat niiden kuitenkin olevan samaa lajia. Lisäksi tunnistetut kokkibakteerit olivat kaikki ympäristölleen tyypillisiä, opportunistisia patogeneeneja. Vaikka onkin mahdollista, että kyseiset kannat kykenevät patogeneesiin esimerkiksi immuunivajeesta kärsivillä potilailla, niin tarkkojen lajikohtaisten määrien ei katsottu antavan merkittävää lisäinformaatiota.

Iso-Britanniassa suoritetussa tutkimuksessa suojista löydetty mikrobit on esitetty artikkelissa melko epäspesifisesti, joten vertailua tutkimuksen ja Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitoksien suojien välillä ei voi toteuttaa suoraviivaisesti. Koska artikkelissa esitetyn tutkimuksen pääpaino oli selvittää ensisijaisesti suojien pesäkemääriä sekä ennen että jälkeen puhdistuksen, ei pesäkkeiden tyyppitystä ole joko suoritettu yhtä luotettavasti tai sen tuloksien spesifiä julkistamista ei ole pidetty tutkimuksen tulosten kannalta oleellisena.

Kuten tässä opinnäytetyössä, myös Iso-Britanniassa suoritetussa tutkimuksessa todettiin, että kaikki valitut suojat olivat mikro-organismien kontaminoimia. Tutkimuksessa listattuja löydöksiä olivat useampi laji koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*-suvun bakteereita, difteroideja sekä joitakin sieni-itiöitä. Metisilliiniresistenttiä *S. aureus* ei tunnistettu myöskään tutkimuksen suojista. (Boyle & Strudwick, 2010.) Tämän perusteella voidaan todeta, että tämän opinnäytetyön sekä Iso-Britannian tutkimuksen suojat olivat pääosin kontaminoituneita samantyyppisillä potilas- ja työntekijäperäisillä mikrobeilla, joiden patogeneesi riippuu monesta tekijästä.

7 POHDINTA

7.1 Prosessi

Kokonaisuutena opinnäytetyöprosessi oli sujuva, vaikka tietyt työvaiheet uusittiinkin luotettavampien tutkimustulosten vuoksi. Analyysivaiheessa hyödynnetyt välineet ja tilat olivat tarkoituksenmukaisia, yhteys tilaajaan sekä muihin tahoihin oli toimiva ja tuoretta lähdemateriaalia oli saatavilla runsaasti. Analyysivaiheen vaativuus korreloi opiskelijoiden taito- ja tieto-osaamisen kanssa ja opinnäytetyön aihealueen rajat olivat selkeät.

Yksi tutkimusvaihetta pitkittänyt tekijä oli kenties turhan useiden elatusaineiden sekä tunnistusmenetelmien käyttö. Olisi saattanut olla tehokkaampaa perehtyä ensin siihen, minkälaisia mikrobeja sairaalaympäristöstä on mahdollista löytää ja valita sen perusteella viljelyssä käytettävät maljat. Kuitenkin liian tiukan rajauksen noudattaminen olisi saattanut jättää joitakin odottamattomia mikrobeja viljelyn ulkopuolelle ja vaikka löytyneet lajit olivatkin ympäristölleen tyypillisiä, jätettiin mahdollisuus myös harvinaisempien mikrobien löytymiselle. Tässä opinnäytetyössä mikrobeihin keskittyvä teoriaosuus aiottiin alustavan suunnitelman mukaan muodostaa löydösten perusteella, mutta lopulta päädyttiin listaamaan yleisimmät sairaalaympäristössä patogeneesiin kykenevät mikrobit, riippumatta siitä löytyikö niitä tutkimuksen kohteena olleista suojusta.

Opinnäytetyön ensimmäisen vaiheen prosessissa ei otettu etukäteen huomioon maljojen säilytykseen liittyviä seikkoja. Puhdasviljelmien tarpeellisuutta ei osattu arvioida ja kun ensimmäinen analyysivaihe olisi vaatinut uusintaa, eivät primaariviljelmät enää olleet analyysikelpoisia. Ensimmäinen viljely tarjosi toisaalta hyvää tietoa toisella kerralla odotettavissa olevista pesäkelukemista, mikä järkeisti toisen vaiheen viljelyn mitoitusta ja lisäsi suunnitelmallisuutta myös analyysivaiheeseen. Kaikista jatkotarkastelun kriteerini ylittäneistä maljoista viljeltiin puhdasviljelmät pidentämään kantojen elinikää ja toimimaan primaarimaljojen varmistusmenetelmänä. Tämä paransi prosessin sujuvuuden lisäksi myös analyysivaiheen luotettavuutta.

7.2 Luotettavuus

Tutkimus pyritään aina suorittamaan mahdollisimman virheettömästi, mutta tulosten luotettavuus saattaa silti vaihdella. Tutkimuksen luotettavuuden mittaamiseen liittyviä termejä ovat reliabiliteetti ja validiteetti. Reliabiliteetti tarkoittaa tutkimuksen kykyä antaa ei-sattumanvaraisia tuloksia, eli se kuvaa tutkimusmenetelmän luotettavuutta ja toistettavuutta. Validiteetilla tarkoitetaan puolestaan tutkimusmenetelmän kykyä mitata juuri sitä, mitä on tarkoituskin mitata. (Hirsjärvi ym. 2009, 231). Tässä opinnäytetyössä luotettavuutta tarkasteltiin erityisesti näytteenottoon, analytiikkaan ja mikrobien tunnistamiseen liittyen. Kaikissa prosessin vaiheissa pyrittiin noudattamaan mahdollisimman huolellisia työtapoja ja esimerkiksi näytteenotossa käytetyt välineet olivat asianmukaisia ja käytetyt maljat riittävän tuoreita. Lisäksi kaikissa työvaiheissa tehdyt toimenpiteet ja saadut tulokset kirjattiin ylös. Käytännön osuuden eteneminen on myös raportoitu huolellisesti tässä opinnäytetyössä. Opinnäytetyön teoriaosuudessa on pyritty käyttämään monipuolisesti mahdollisimman uutta ja luotettavaa lähdemateriaalia.

Analyysivaiheessa kysymyksiä herätti makroskooppisen tyyppityksen epävarmuus. Koska resursseja jokaisen pesäkkeen analysointiin ei ollut, tehtiin morfologisesti yhtenevistä pesäkkeistä oletus samaan sukuun kuulumisesta. Tämä herättää kysymyksen siitä, onko yleistys ollut liian karkea, eli onko mahdollista, että analyysivaiheen ohitti jokin mahdollisesti merkittävä laji. Tätä käytäntöä sovelletaan maljakohtaisesti kuitenkin myös diagnostisissa kliinisissä mikrobiologian laboratorioissa, mikä lisää menetelmän luotettavuutta. Analyysiin päätyvien pesäkkeiden valinta suoritettiin seulontatyyppisesti ja näytteitä vietiin analyysilaitteelle suojien lukumäärään nähden useita. Tämän vuoksi on epätodennäköistä, että esimerkiksi MRSA, tai muu merkittävä mikrobi olisi jäänyt löytymättä. Valittujen pesäkkeiden lopullinen tunnistus tehtiin Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian laboratorioissa, jossa analyysissä oli avustamassa laboratorion työntekijä. Tunnistustuloksia voidaan siis pitää luotettavina.

Tilaaaja on ilmaissut kiinnostuksensa suojista mahdollisesti löytyvien mikrobien kliinisestä merkityksestä, mutta sen tarkka määrittäminen tämän opinnäytetyön puitteissa ei yllä tarpeeksi luotettavalle tasolle, koska löydettyjen kantojen vaikutusten arviointi potilas- ja työturvallisuuden näkökulmasta vaatii korkeampaa asiantuntemusta. Kirjallisuuden perusteella sairaalaympäristössä esiintyvillä mikrobeilla on usein potentiaalia patogeneesiin varsinkin potilailla, joiden immuunivaste on heikentynyt.

Lopullisissa tuloksissa näytteiden lukumäärä on huomattavasti pienempi kuin alun perin oli suunniteltu. Tutkimuksen luotettavuus ei kuitenkaan merkittävästi kärsinyt näytteiden pienemmästä määrästä huolimatta, koska analytiikasta johtuen suuremmallakin näytemäärällä näytteenoton tulos olisi ollut vain suuntaa antava. Pienemmällä näytemäärällä puolestaan pystyimme arvioimaan huomattavasti paremmin eri mikrobilajeja ja kasvavien mikrobien määrää.

7.3 Eettisyys

Tutkimuksen tekoon liittyy useita erilaisia eettisiä kysymyksiä. Eettisesti hyvässä tutkimuksessa tulisikin aina noudattaa hyvää tieteellistä käytäntöä. Eettisesti hyviä tieteellisiä menettelytapoja on useita, kuten yleinen huolellisuus ja tarkkuus tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa ja esittämisessä sekä tutkimusten ja niiden tulosten arvioinnissa. Myös tutkimuksen yksityiskohtainen suunnittelu, toteutus ja raportointi kuuluvat hyviin tieteellisiin käytäntöihin. Tiedonhankintatavat tai koejärjestelyt saattavat aiheuttaa eettisyysongelmia erityisesti silloin, kun kyseessä on henkilöistä koostuva tutkimusjoukko. Tällöin tulee erityisesti huomioida ihmisarvon kunnioittaminen, ihmisten itsemääräämisoikeus sekä tutkimukseen osallistuvien vapaaehtoisuus. (Hirsjärvi ym. 2009, 23–25.)

Tässä opinnäytetyössä ei niin selkeästi tule eteen perinteisiä eettisiä ongelmia, koska tutkimusjoukko ei koostu ihmisistä. Näytteet otetaan tilaajan itse valitsemista sädesuojista, jotka on valmiiksi identifioitu numeerisesti näytteiden jäljitettävyyttä varten. Tavoitteena oli tuottaa mahdollisimman luotettava ja neutraali raportti sädesuojista mahdollisesti löytyvistä mikrobeista. Eettistä pohdintaa aiheuttaakin lähinnä siis se, miten yksityiskohtaisesti opinnäytetyössä voidaan kuvata kohdeosastoja ja esittää vertailumuotoisesti niiden välisiä eroja. Vaikka mikrobimäärät olivatkin pieniä, pylväsdia grammimuotoisesti esitetty, osastoja keskenään vertaileva tulostasoa asettaisi herkästi kontaminoituneimmat osastot epäsuotuisaan valoon. Asiasta konsultoitii työelämän yhteyshenkilöitä, jotka selvittivät tilaajan kannan. Tilaajan toiveesta osastot koodattiin tunnistamattomiksi opinnäytetyöhön. Koska osastojen väliset erot ovat kuitenkin tilaajalle arvokkaita, esitettiin tulokset työelämälle valmistellussa esityksessä alkuperäisillä tiedoilla.

Tutkimuksen kirjallisessa osassa tulee muistaa ehdottomasti, että toisten tekstiä ei tule plagioida. Myöskään itseään tai omia aiemmin tehtyjä tutkimuksiaan ei pidä plagioida. Tutkimuksen tuloksia ei saa yleistää kriittikittömästi, muunnella haluamikseen, eikä myöskään esittää niin, että ne voisi ymmärtää väärin. Raportoinnin tulee olla tarpeeksi perusteellista ja ehdottoman todenmukaista. Kenenkään tutkimukseen osallistuvan tutkijan osuutta ei saa vähätellä, eikä tutkimustuloksia tai aineistoja saa omia kokonaan itselleen. Myös tutkimukseen myönnettyjen määrärahojen käyttö pitää tarvittaessa voida selvittää. (Hirsjärvi ym. 2009, 26–27.) Tästä opinnäytetyöstä ei aiheutunut kustannuksia Kuvantamiskeskus- ja apteekkiliikelaitokselle. Kaikki näytteenottoon ja ensivaiheen analytiikkaan tarvittavat välineet saimme käyttöömmme Tampereen ammattikorkeakoululta. Myös lopullinen analytiikka Fimlab Laboratoriot Oy:ssä toteutettiin yhteistyössä Tampereen ammattikorkeakoulun kanssa, eikä näytteiden analysoinnista laskutettu erikseen.

7.4 Jatkoaiheet

Opinnäytetyön tehtäviin ei tässä vaiheessa kuulunut määrittää, olisiko valittujen sädesuojien säilytykseen tai puhdistustoimenpiteisiin syytä kiinnittää huomiota. Tilaaja voi kuitenkin opinnäytetyön avulla ja omien tietojensa perusteella tehdä alustavan vertailun eri suojatyypin pesäkemääristä. Yhtenä jatkoaiheena voisi tuottaa Iso-Britanniassa tehdyn tutkimuksen mukaisen selvityksen mikrobimäärien muutoksista suojissa puhdistus- ja säilytysrutiineja muuttamalla. Näin voitaisiin selvittää, saavutetaisiinko esimerkiksi tiheämmällä puhdistusvälillä merkittäviä muutoksia pesäkemäärisä, mikäli ne ovat tämän opinnäytetyön perusteella tilaajan näkökannasta huolestuttavalla tasolla.

Toinen jatkoaihe voisi olla tarkemman ja kattavamman tyypityksen tuottaminen suojien mikrobikannoista. Opinnäytetyön resurssit ovat aina rajalliset, ja esimerkiksi näytteenottokohtien määrä pyrittiin pitämään sellaisena, että tutkimusprosessin työmäärä ja siihen kuluva aika on opinnäytetyön kannalta järkevissä mitoissa. Analyysivaiheen vaatima erityisosaaminen saatiin ilman kustannuksia Fimlab Laboratoriot Oy:n mikrobiologian laboratoriosta, joten suuremmalla otoksella myös opinnäytetyön kustannukset olisivat nousseet.

7.5 Oma oppimisprosessi

Opinnäytetyön aiheen valintaan vaikutti työn toiminnallisuus ja mahdollisuus työskennellä konkreettisesti tutkittavan asian parissa. Vaikka aihetta oli tutkittu Suomessa ennalta melko vähän, oli teoretietoa kuitenkin saatavilla varsinkin sairaalahygieniaa koskien runsaasti. Halusimme myös syventää omaa osaamistamme mikrobiologian alueesta ja koimme aiheen ajankohtaiseksi.

Opinnäytetyön kriittinen tarkastelu niin itse prosessin kuin etiikan ja luotettavuudenkin osalta on olennainen osa opinnäytetyöprosessia, sekä sen tuottamaa ammatillista kasvua. Tämän opinnäytetyön keskeinen teema opiskelijaan kohdistuvan oppimisprosessin kannalta on ollut työn jakautuminen kahteen vaiheeseen. Tutkimusprosessin ensimmäinen vaihe suoritettiin koulutuksen aikana kertyneen teoreettisen tiedon pohjalta, jossa tunnistettiin myöhemmin puutteita ja parannusaiheita, joiden perusteella keväällä suoritettu toinen vaihe suunniteltiin. Tämä yrityksen ja erehdyksen kautta kehitetty toinen vaihe vaikutti kaikkein merkittävimmin opinnäytetyöstä saatuun oppimiskokemukseen.

Samalla opinnäytetyö kertasi ja syvensi jo opittua tietoa bakteriologisista tutkimuksista ja syvensi sitä. Pääsimme myös harjoittelemaan erilaisia alueeseen liittyviä rutiinitoimenpiteitä, kuten gramvärjäystä sekä primaari- että puhtasviljelyä. Prosessi on myös opettanut tehokkaampaa ja laajempaa tiedonhakua sekä kriittisyyttä lähdevalintojen tekemisessä. Myös opinnäytetyöprosessissa oleellinen moniammatillinen yhteistyö on ollut hedelmällistä ja tarjonnut näkökulmia meille vieraaseen radiografian ja sädehoidon ammattiosaamiseen.

LÄHTEET

Acharya, T. 2013. Chocolate Agar: Composition, uses and colony characteristics. Microbeonline. Luettu 24.8.2014.

<http://microbeonline.com/chocolate-agar-composition-uses-colony-characteristics/>

BD. 2006. BBL™ CLED Agar. Luettu 16.9.2014.

[http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L007367\(04\)\(0506\).pdf](http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L007367(04)(0506).pdf)

Beveridge, T.J. 1999. Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles. Journal of Microbiology. American Society of Microbiology. Luettu 27.8.2014. <http://jb.asm.org/content/181/16/4725.full.pdf+html>

bioMérieux. 2014. VITEK® MS. What is mass spectrometry & MALDI-TOF? Luettu

16.9.2014. [http://www.biomerieux-](http://www.biomerieux-nordic.com/servlet/srt/bio/northern/dynPage?open=NTH_CLN_PRD&doc=NTH_CLN_PRD_G_PRD_CLN_92&pubparams.sform=1&lang=en_sw)

[nordic.com/servlet/srt/bio/northern/dynPage?open=NTH_CLN_PRD&doc=NTH_CLN_PRD_G_PRD_CLN_92&pubparams.sform=1&lang=en_sw](http://www.biomerieux-nordic.com/servlet/srt/bio/northern/dynPage?open=NTH_CLN_PRD&doc=NTH_CLN_PRD_G_PRD_CLN_92&pubparams.sform=1&lang=en_sw)

Bio-Rad. 2014. Prepared Agar Plates. Luettu 16.9.2014.

http://www.bio-rad.com/en-fi/product/prepared-agar-plates?pcp_loc=catprod

Boyle, H. & Strudwick, M. R. Do lead rubber aprons pose an infection risk? 2010. Radiography, 16. ScienceDirect.

Buxton, R. 2005. Blood Agar Plates and Hemolysis protocol. American Society of Microbiology. Päivitetty 22.7.2013. Luettu 24.8.2014.

<http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2885-blood-agar-plates-and-hemolysis-protocols>

Carlson, P & Järvinen, A. 2010. Bakteerit ja niiden aiheuttamat taudit. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet osa 3. 1. painos. Jyväskylä: WS Bookwell Oy

Carlson, P. & Koskela, M. 2011. Bakteriologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet osa 3. 1. painos. Jyväskylä: WS Bookwell Oy

Hellstén, S. 1996. Uudistuva laitoshuolto: opas sairaala- ja laitospulaistyöhön. Helsinki: Suomen kuntaliitto.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. 15., uudistettu painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Jylhä, T. röntgenhoitaja. & Oksanen, R. osastonhoitaja. 2014. Sädesuojien puhdistus ja säilytys. Sähköpostiviesti. tiina.jylha@pshp.fi, riitta.m.oksanen@pshp.fi. Luettu 3.9.2014.

Lyytikäinen, O., Sarvikivi, E., Vuopio, J. 2011a. Resistentit mikrobit. Infektiosairaudet. Luettu 18.6.2014. http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/avaa?p_artikkeli=isa05004

- Lyytikäinen, O., Sarvikivi, E., Vuopio, J. 2011b. Sairaalininfektioiden torjuntatyö. Infektiosairaudet. Luettu 22.7.2014.
http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/avaa?p_artikkeli=isa05007
- Lyytikäinen, O., Vuopio-Varkila, J., Kotilainen, P. 2010. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T. Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Jyväskylä: WS Bookwell Oy.
- Microregistrar.com. 2014. Album. Bacillus Sp. Luettu 16.9.2014
<http://www.microregistrar.com/?p=979>
- Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. 2012. Sairaalahygieniatoiminta Taysissa. Luettu 8.10.2013. <http://www.pshp.fi/default.aspx?contentid=8955>
- Rantakokko-Jalava, K. & Anttila, J-V. 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T. Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Jyväskylä: WS Bookwell Oy.
- Rautio, M. & Vuento, R. 2010. Bacteroides fragilis ja muita anaerobisia gramnegatiivisia bakteereja. Duodecim oppikirjat. Luettu 16.9.2014.
http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/avaa?p_artikkeli=mbg03006
- Salminen, M., Siitonen, A., Vuopio, J. 2011. Sairaalininfektiot. Infektiosairaudet. Luettu 18.5.2014. http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/avaa?p_artikkeli=isa00702
- Sinkkonen, J. hygieniahoitaja. 2013. Haastattelu. 17.12.2013. Haastattelija Ahlfors, R. Tampere
- Smith, A. 2005. History of the agar plate. Laboratory News. Luettu 24.8.2014.
<http://www.labnews.co.uk/features/history-of-the-agar-plate/>
- Syrjälä, H. 2010. Mitä hoitoon liittyvät infektiot ovat ja voidaanko niiden esiintyvyyteen vaikuttaa? Teoksessa Anttila, V-J., Hellstén, S., Rantala, A., Routamaa, M., Syrjälä, H., Vuento, R. (toim.). Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. 6. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.
- Syrjälä, H. & Kolho, E. 2010. Metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus eli MRSA. Teoksessa Anttila, V-J., Hellstén, S., Rantala, A., Routamaa, M., Syrjälä, H., Vuento, R. (toim.). Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. 6. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.
- Tapiovaara, M., Pukkila, O & Miettinen, A. Röntgensäteily diagnostiikassa. Teoksessa Pukkila, O. (toim.) 2004. Säteilyn käyttö. Helsinki: Säteilyturvakeskus.
- Vaara, M., Skurnik, M. & Sarvas, M. 2010. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T. Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Jyväskylä: WS Bookwell Oy.
- Versalovic, J. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10. painos. Washington DC. ASM Press.

Vilkka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Kustannus-osakeyhtiö Tammi.

Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.

Virolainen-Julkunen, A. 2004. Metisilliiniresistentin *Staphylococcus aureus* (MRSA) diagnostiikkaa koskeva ohjeistus. *Moodi*. 28(5): 145-147.

Vuento, R., Syrjälä, H., Laitinen, K. & Siitonen, A. 2010. Ympäristön merkitys infektioissa. Teoksessa Anttila, V-J., Hellstén, S., Rantala, A., Routamaa, M., Syrjälä, H., Vuento, R. (toim.). Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. 6. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

Vuopio-Varkila, J., Kuusela, P., Kotilainen, P. 2010. *Staphylococcus aureus*. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T. Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., Vaara, M. (toim.) Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Jyväskylä: WS Bookwell Oy.

LIITTEET

Liite 1. Mikrobinäytteenoton tulokset

1 (2)

Jokaisesta suojasta otettiin näyte kahdesta kohdasta ja se viljeltiin kolmelle eri maljalle. Maljat luettiin kahden vuorokauden kasvatuksen jälkeen ja saadut tulokset on esitetty taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Mikrobinäytteenoton tulokset

Osasto A						
A2 kilpirauhassuoja						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	-	-	-	-	2 - 9	1
B	-	-	2 - 9	-	1	-
Osasto B						
RK095 essu						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	10 - 100	1	10 - 100	2 - 9	10 - 100	-
B	-	-	2 - 9	1	1	1
B1 kilpirauhassuoja						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	10 - 100	1	10 - 100	2 - 9	10 - 100	1
B	10 - 100	-	10 - 100	2 - 9	10 - 100	1

(jatkuu)

Osasto C						
13 essu						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	2 - 9	10 - 100	10 - 100	2 - 9	10 - 100	2 - 9
B	10 - 100	-	10 - 100	-	10 - 100	-
PR0108 essu						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	2 - 9	2 - 9	10 - 100	2 - 9	2 - 9	1
B	1	-	2 - 9	2 - 9	2 - 9	-
167 kilpirauhassuoja						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	10 - 100	1	10 - 100	1	10 - 100	1
B	yli 100	2 - 9	yli 100	-	yli 100	1
PR0145 lannesuoja						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	1	-	2 - 9	1	10 - 100	-
B	2 - 9	-	2 - 9	-	2 - 9	1
PR037 lannesuoja						
	CLED -malja		suklaamalja		verimalja	
	kokki	sauva	kokki	sauva	kokki	sauva
A	2 - 9	-	2 - 9	-	10 - 100	-
B	10 - 100	-	2 - 9	-	yli 100	-

Liite 2. Vitek® MS -analysointilaitteella saadut tunnistustulokset.

Valituista pesäkkeistä tehtiin tunnistus Vitek® MS -analysointilaitteella 10.4.2014. Saadut tulokset on esitetty taulukossa 2.

TAULUKKO 2. Vitek® MS -analysointilaitteella saadut tunnistustulokset.

Osasto B	
RK095	esiliina
sauva	Bacillus cereus
kokki	Micrococcus luteus
kokki	Staphylococcus epidermidis
B1	kilpirauhassuoja
sauva	Bacillus cereus
kokki	Staphylococcus epidermidis
kokki	Staphylococcus hominis

Osasto C	
167	kilpirauhassuoja
sauva	Bacillus cereus
kokki	Staphylococcus hominis
13	esiliina
sauva	Bacillus cereus
kokki	Staphylococcus epidermidis
PR037	lannesuoja
kokki	Micrococcus luteus