



OPPIMATERIAALI VERIVIL- JELYIDEN KLIINISESTÄ LA- BORATORIOTYÖPROSES- SISTA BIOANALYYTIKKO- OPISKELIJOILLE

Opinnäytetyö

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Paula Haatanen ja Hanna-Mari Hyvärinen	
Työn nimi Oppimateriaali veriviljelyiden kliinisestä laboratoriotyöprosessista bioanalyttikko-opiskelijoille	
Päiväys	7.11.2013
Sivumäärä/Liitteet	36
Ohjaaja(t) Lehtori Leena Tikka	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu	
Tiivistelmä	
<p>Veriviljely (B-BaktVi) on yksi tärkeimmistä kliinisen mikrobiologian tutkimuksista, jolla pyritään selvittämään, onko potilaan verenkierrossa mikrobeja. Veriviljelyiden kliininen laboratoriotyöprosessi on yksi tärkeä mikrobiologian osaamisalue, joka bioanalyttikon tulee hallita.</p> <p>Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa oppimateriaali Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille veriviljelyiden kliinisestä laboratoriotyöprosessista. Se käsittää niin veriviljelyiden näytteenoton, näytteen mikrobien kasvatuksen, mahdollisen kasvun osoittamisen sekä mikrobien tunnistamisen. Veriviljelyihin liittyvä osaaminen on osa Savonia-ammattikorkeakoulun mikrobiologian osaamistavoitteita. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on oppimateriaalin avulla antaa kattava ja selkeä kuva veriviljelyiden kliinisestä laboratoriotyöprosessista sekä tukea opiskelijoiden oppimista tällä mikrobiologian osa-alueella.</p> <p>Oppimateriaalin tiedot koostuvat useista eri luotettavista kirjallisuus- ja artikkelilähteistä. Oppimateriaali sisältää kuvia sekä opiskelijoiden oppimista tukevia kysymyksiä. Oppimateriaali julkaistaan PDF-tiedostona Savonia-ammattikorkeakoulun Moodle-oppimisympäristössä, jossa sitä on tarpeen tullen myös helppo muokata ja päivittää. Oppimateriaalia varten otetut kuvat gramvärjätyistä bakteereista sekä bakteerikasvustoista maljoilla olemme itse ottaneet. Kuvattavat gramvärjätyt lasit ja viljeltyt maljat saimme Kuopion Puijon mikrobiologian laboratoriosta. Gramvärjätyt lasit kuvasimme itse koulullamme ja viljeltyt maljat Kuopion Puijon mikrobiologian laboratoriossa.</p>	
Avainsanat	
mikrobiologia, bakteerit, veriviljely, näytteenotto, oppimateriaali	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Paula Haatanen and Hanna-Mari Hyvärinen			
Title of Thesis A study material of blood culture's clinical laboratory process for biomedical scientist students			
Date	7.11.2013	Pages/Appendices	36
Supervisor(s) Lecturer Leena Tikka			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Science			
<p>Abstract</p> <p>Blood culture is one of the most important analysis of clinical microbiology. Its purpose is to find out whether or not there are microbes in the patient's blood stream. The clinical laboratory process of the blood cultures is an important part of clinical microbiology which a biomedical laboratory scientist has to master.</p> <p>The purpose of this thesis is to produce a study material for students in biomedical laboratory science of Savonia University of Applied Sciences about the clinical laboratory process of the blood cultures. That includes the phlebotomy of blood culture samples, the growth of microbes, an indication of possible microbe growth and the recognition of the microbes. The knowledge of blood cultures is a part of learning objectives in microbiology at Savonia University of Applied Sciences. The objective of this thesis is to give inclusive information about the clinical laboratory process of the blood cultures with the help of the study material and to support the learning of students in clinical microbiology.</p> <p>The information in the study material consists of many different reliable literature and article sources. The study material includes pictures and questions which support the learning process of students. The study material will be published as a PDF-file in the Moodle learning environment of Savonia University of Applied Sciences. There it will be easy to edit and update. We took the pictures of gram-stained bacteria and bacteria growth in plates by ourselves. We got the gram-stained bacteria and cultured bacteria plates from the clinical microbiology laboratory of Puijo. We photographed the gram-stained bacteria at our school and the cultured bacteria plates at the clinical microbiology laboratory of Puijo.</p>			
<p>Keywords microbiology, bacteria, blood culture, phlebotomy, study material</p>			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO.....	5
2	TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ JA OPPIMATERIAALIN TEKO	6
2.1	Toiminnallinen opinnäytetyö	6
2.2	Oppiminen ja hyvä oppimateriaali	7
3	YLEISTÄ BAKTEEREISTA.....	9
4	VERIVILJELYIDEN TUTKIMINEN	10
4.1	Veriviljelyiden kliininen merkitys.....	10
4.2	Veriviljelyn näytteenotto.....	11
4.3	Mikrobien kasvatus, osoitus ja tunnistus.....	14
5	YLEISIMMÄT LÖYDÖKSET VERIVILJELYISSÄ.....	16
5.1	Grampositiiviset bakteerit	16
5.1.1	Staphylococcus aureus	16
5.1.2	Muut stafylokokit.....	17
5.1.3	Streptokokit.....	18
5.1.4	Streptococcus pneumoniae	20
5.1.5	Enterokokit	21
5.2	Gramnegatiiviset bakteerit.....	22
5.2.1	Escherichia coli	22
5.2.2	Klebsiellat	23
5.2.3	Pseudomonakset.....	23
5.3	Sienten tunnistaminen – Candida-suku	24
5.4	Mikrobien lääkeaineherkkyyksien määrittäminen	25
6	VERIVILJELYTULOSTEN ARVIOINTI	26
7	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET.....	27
8	OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS.....	28
9	POHDINTA	30
9.1	Tavoitteiden toteutuminen.....	30
9.2	Eettisyys ja luotettavuus.....	30
9.3	Ammatillinen kasvu	32
	LÄHTEET.....	34

1 JOHDANTO

Hengenvaaralliset yleisinfektiot, joissa mikrobi voidaan tunnistaa veriviljelynäytteistä, aiheuttavat merkittävää kuolleisuutta ja terveydenhuollon lisäkustannuksia. Nämä yleisinfektiot voivat pitkittää potilaan sairaalassaoloaikaa. Vuosina 2004–2007 ilmoitettuja veriviljelypositiivisia infektioita todettiin 33 473. Ilmaantuvuus oli suurinta 65- vuotiailla tai sitä vanhemmilla ja alle 1- vuotiaiden ikäryhmässä. 13 % sairastuneista kuoli 30 päivän sisällä infektion toteamisesta, joista aikuisten miesten kuolleisuus oli puolitoistakertainen naisiin verraten. Yleisimmät löydökset yleisinfektioista olivat *Escherichia coli* ja *Staphylococcus aureus*. Pelkästään vuonna 2011 veriviljelypositiivisia infektioita ilmoitettiin 12 775, joten siis näiden infektioiden tautitaakka on lisääntymässä. (Skogberg ym. 2013.)

Infektioautien diagnostiikassa tarvitaan mikrobiologisia laboratoriotutkimuksia. Näiden laboratoriotutkimusten takia on hallittava kliinisen mikrobiologian perusasiat, kuten tietoa tärkeimmistä infektioista aiheuttavista mikrobeista, niiden tartuntatavoista, niiden aiheuttamista infektioista sekä aseptisistä näytteenotto- ja analysointimenetelmistä. (Kuntaliitto 2005, 5.) Veriviljelynäyte on paras käytössä oleva menetelmä, jonka avulla voidaan diagnosoida mikrobien aiheuttama yleisinfektio. Tämän takia on hyvin tärkeää, että näytteitä ottavat henkilöt osaavat ottaa laadukkaan näytteen ja analysoida sen oikeaoppisesti. Opinnäytetyömme tarkoituksena on tuottaa laadukas ja selkeä oppimateriaali veriviljelyiden tutkimisesta kliinisen laboratoriotyöprosessin mukaisesti ensisijaisesti bioanalytiikko-opiskelijoille ja näytteenoton osalta myös sairaanhoitajaopiskelijoille. Opinnäytetyömme päätavoitteena on edistää opiskelijoiden osaamista veriviljelynäytteiden tutkimusprosessiin liittyen, jotta työelämässä veriviljelynäytteiden laatu paranisi, hallittaisiin yleiset tunnistuskokeet veriviljelylöydöksille ja osattaisiin arvioida näytteestä saadun tuloksen luotettavuutta potilaan hoidon kannalta.

Koska bioanalytiikon työnkuvaan kuuluu hallita koko laboratoriotyöprosessi, koimme tärkeäksi esitellä opinnäytetyössämme preanalytiikan, analytiikan ja postanalytiikan veriviljelyiden tutkimusprosessin kannalta. Preanalytiikan osalta keskitymme eritoten veriviljelynäytteenottoon, näytteen säilyttämiseen ja kuljettamiseen. Analytiikkavaihe koostuu eri mikrobien yleisten ominaisuuksien ja niille tehtävien tunnistuskokeiden esittelystä, joka antaa opiskelijalle yleiskuvan löydöksistä ja niiden analysointitavoista. Tätä osiota voidaan käyttää muulloinkin mikrobiologian opintojaksolla, ei vain pelkästään veriviljelyiden yhteydessä. Tunnistuskokeet ovat kuvatut toimintaperiaatteen tasolla, sillä Savonia-ammattikorkeakoululle on tehty aikaisemmin opinnäytetyönä mikrobiologisten työohjeiden päivittäminen, josta löytyy tarkemmin tietoa tunnistuskokeista ja kuinka niitä tehdään. Veriviljelytulosten arviointi muodostaa postanalytiikan osion, jossa pohditaan veriviljelynäytteestä löytyneen mikrobien merkitystä potilaan taudinkuvan suhteen.

2 TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ JA OPPIMATERIAALIN TEKÖ

2.1 Toiminnallinen opinnäytetyö

Toiminnallinen opinnäytetyö on ammattikorkeakouluissa vaihtoehtoinen tutkimukselliselle opinnäytetyölle. Sen tarkoituksena on käytännön toiminnan ohjeistaminen ja opastaminen. Kohderyhmästä riippuen toiminnallinen opinnäytetyö voi olla kirjan, kansion, vihkon, oppaan tai esimerkiksi kotisivujen laatiminen. Toiminnallisessa opinnäytetyössä yhdistyvät niin käytännön toteutus kuin myös sen raportointi tutkimusviestinnän keinoin. (Vilkkä & Airaksinen 2004, 9.)

Toiminnallista opinnäytetyötä voi myös kutsua kehittämistyöksi, jonka synonyyminä voidaan käyttää kehittämistoimintaa. Se tähtää uusien palvelujen, tuotteiden tai esimerkiksi tässä opinnäytetyössä uuden oppimateriaalin aikaansaamiseen, tai jo olemassa olevien asioiden olennaiseen parantamiseen. Kehittäminen voi tapahtua joko tutkimustulosten avulla tai ilman tutkimusta. (Heikkilä, Jokinen & Nurmela 2008, 21.)

Toiminnallisen opinnäytetyön lopputuloksena on aina jokin konkreettinen tuote (esim. ohjeistus, tietopaketti). Toiminnallinen opinnäytetyö alkaa tuotoksen tarpeen selvittämällä, ja raportoinnissa käsitellään niitä keinoja, joilla konkreettinen tuotos on saatu aikaan. Toiminnallisessa opinnäytetyössä pyritään luomaan viestinnällisin ja visuaalisin keinoin tuotokselle kokonaisilme, josta voidaan tunnistaa tavoitellut päämäärät. Tuotos, joka sisältää tekstejä, on suunniteltava niin, että se on kohderyhmää palveleva. Ilmaisuu on mukautettava tekstin sisältöä, tavoitetta, vastaanottajaa, viestintätilannetta ja tekstilajia palveleviksi. Tuotoksessa ensisijaisia kriteereitä ovat tuotteen uusi muoto, käytettävyys kohderyhmässä ja käyttöympäristössä, asiasisällön soveltuvuus kohderyhmälle sekä tuotteen informatiivisuus, selkeys ja johdonmukaisuus. (Vilkkä & Airaksinen 2004, 51.)

Ohjeistusta, opasta, käsikirjaa tai tietopakettia tehtäessä, on lähdekritiikki erityisessä asemassa. Tällöin tulee pohtia, mistä tiedot esimerkiksi oppaaseen on hankittu (Internet, kirjallisuus, tutkimukset, artikkelit). Tässä yhteydessä on myös kuvattava, miten käytettyjen lähteiden luotettavuus on varmistettu. Tutkimuksellinen selvitys opinnäytetyössä kuuluu idean tai tuotteen toteutustapaan. Toteutustavalla tarkoitetaan sekä niitä keinoja, joilla materiaali oppaan tekemiseksi hankitaan, että keinoja, joilla oppaan valmistus toteutetaan. Toiminnallisessa opinnäytetyössä ei välttämättä tarvitse käyttää tutkimuksellisia menetelmiä. (Vilkkä & Airaksinen 2004, 53, 56.)

Toiminnallisen opinnäytetyön raportti on teksti, jossa on tietoa siitä mitä, miksi ja miten opinnäytetyötä on tehty, millainen työprosessi on ollut sekä minkälaisiin tuloksiin ja johtopäätöksiin on päädytty. Raportissa ilmenee oman prosessin, tuotoksen (opas) sekä oppimisen arviointi. Raportin lisäksi opinnäytetyöhön kuuluu tietysti myös itse tuotos, produkti, jolta vaaditaan toisenlaista tekstuaalista sisältöä kuin raportilta: produktissa puhutellaan nimenomaan kohde- ja käyttäjäryhmää. (Vilkkä & Airaksinen 2004, 65.)

2.2 Oppiminen ja hyvä oppimateriaali

Oppimisessa pidetään yhtenä päätavoitteena sitä, että oppija pystyy yhdistämään tiedot ja taidot toimivaksi kokonaisuudeksi. Se tarkoittaa käytännössä sitä, että oppijan tulisi jokapäiväisessä toiminnassaan kyetä hyödyntämään tietojaan ja taitojaan mahdollisimman tarkoituksenmukaisella tavalla. Oppiessaan opiskelija työstää eri aistikanavilta saatua tietoa niin tietoisesti kuin alitajuntaisesti. Opiskelu on kuitenkin hyvin luovaa ja yksilöllistä, sillä jokaisella opiskelijalla on omat erityispiirteensä oppimisen suhteen. Näitä erilaisia oppimismielityksiä ovat visuaalinen, audiitiivinen, kinesteettinen ja taktiilinen. Visuaalinen oppimistyyli on näköaistiin perustuvaa. Oppijalle on tärkeää, että opetuksessa käytetään paljon havaintomateriaalia, kuten kuvia ja kalvoja. Audiitiivisessä oppimistyyliässä oppiminen perustuu kuuloaistiin. Tällöin oppija keskittyy pääasiassa opettajan puheeseen ja hänelle on tärkeää, että asiat selitetään perusteellisesti. Kinesteettinen oppija oppii parhaiten itse tekemällä ja kokeilemalla. Hänelle on hyödyllistä, mikäli teoria ja käytäntö kohtaavat motivoivalla tavalla, esim. erilaisten simulaatioiden ja erilaisten aktiivisuutta vaativien toiminnallisten menetelmien muodossa. Taktiilinen oppimistyyli perustuu kosketukseen, jolloin oppija oppii tuntoaistin kautta. Käsien kosketeltava opiskelumateriaali auttaa näin ollen häntä oppimisprosessissa. Olipa oppimistyyli mikä tahansa, hyvin keskeinen valmius oppimiseen on opiskelijan motivaatio. (Kauppila 2003, 17–18; Kokkinen, Rantanen-Väntsi & Tuomola 2008, 18, 20–23.)

Oppimateriaalilla tarkoitetaan johonkin aineeseen kytkeytyvää oppiainesta, jonka tulee välittyä oppijoille ja saada heissä aikaan sellaisia elämyksiä ja oppimiskokemuksia, jotka ovat tavoitteidenmukaisia tietojen ja taitojen pysyväislaatuista muunnoksia. Oppimateriaali on siis oppiainesta sisältävä tietolähde. Oppimateriaalit voivat olla tyypiltään erilaisia, kuten kirjallista oppimateriaalia (oppi- ja tehtäväkirjat, opettajan materiaalit ja monisteet), visuaalista oppimateriaalia (opetus- ja kuvataulut, piirtoheitinkalvot ja diat), audiitiivista oppimateriaalia (äänitteet), audiovisuaalista oppimateriaalia (elokuvat, videot) sekä muuta oppimateriaalia (simuloinnit, oppimispelit). Hyvä oppimateriaali ei pyri tavoittelemaan yksinomaan vain hetkellisiä, pinnallisia ja nopeasti näkyviä muutoksia, vaan sen on tarjottava muutakin kuin vain kognitiivisen tietämisen kartuttamista. Hyvä oppimateriaali vastaa sisältökysymyksiin ja antaa oppijalle palautetta, tarjoaa haastetta sekä muuntuvia lisätehtäviä. Oppimateriaalin tulee olla loogisesti ja psykologisesti oikein rakennettua, joka tarkoittaa sitä, että asioiden tulee edetä oppimateriaalissa järkevästi. (Heinonen 2005, 30; Uusikylä & Atjonen 2005, 163–167.)

Verkko-oppimateriaalin laatuun vaikuttavat samat tekijät, kuin muunkin oppimateriaalin tuottamiseen. Näitä ovat esimerkiksi sisällön tarkoituksenmukaisuuden rajausta, kohderyhmän tuntemus, sisältötuottajien asiantuntemus, oppimiskäsitys sekä viestinnän ja ilmaisun hallinta. Verkkomateriaalin ominaispiirteitä ovat päivitettävyyden, vuorovaikutteisuuden ja yhteisöllisyyden. Kun materiaali on verkossa, on sen käytön mahdollisuus entistä laajempaa ja sitä voi hyödyntää etäopetuksena. Verkko-oppimateriaali voi olla monimuotoista, kuten esimerkiksi perinteisiä oppimateriaaleja kopioivia, osa verkon ominaisuuksille rakentuvia, uudenlaisia ja kehittyviä ratkaisuja. (Högman 2006, 9.)

Oppimateriaalissa tulee olla pedagoginen lähtökohta, joten sen tulee soveltua luontevasti opetus- ja opiskelukäyttöön sekä tukea opetusta ja oppimista. Jotta oppimateriaali soveltuu opetus- ja opiske-

lukäyttöön, on sen oltava yhteydessä käyttötilanteeseen ja käyttäjien odotuksiin ja osaamiseen. Pedagogista laatua on myös se, että käyttökonteksti otetaan huomioon. Tämä tarkoittaa sitä, että oppimateriaali on sovellettavissa tavanomaisessa opetus- ja opiskelutilanteessa. (Högman 2006, 14-15.)

3 YLEISTÄ BAKTEEREISTA

Bakteerit ovat mikroskooppisia, yksisoluisia ja suhteellisen yksinkertaisia organismeja. Bakteerit ovat prokaryootteja eli niillä ei ole varsinaista tumaa vaan niiden DNA on kiinni solukalvossa. Kasvatettaessa bakteereita kiinteällä ravintoalustalla ne muodostavat pesäkkeitä, jotka voidaan havaita silmin. Kukin pesäke muodostuu sadoista miljoonista erillisestä bakteerisolusta. Ihmisellä on luonnostaan normaalia bakteeristoa iholla, ruuansulatuskanavassa sekä genitaalialueella, jota kutsutaan normaaliflooraksi. Normaaliflooran päätehtävä on ylläpitää elimistön tasapainoista toimintaa. Ne suojaavat ihmistä ympäristön patogeeneilta ja muokkaavat ruoan sisältämiä ravintoaineita hyödylliseen muotoon. Näin ollen ihminen saa hyödynnettyä tehokkaammin ravintoaineiden sisältämää energiaa. (Jalava 2010, 81–82; Solunetti 2006; Vaara, Skurnik & Sarvas 2010, 14.)

Bakteerilla voi olla aerobinen (hapekas) tai anaerobinen (hapeton) metabolia (aineenvaihdunta). Eräät bakteerit pystyvät käyttämään happea elääkseen, kun taas toiset bakteerit eivät siedä happea lainkaan. Happea elääkseen tarvitsevia bakteereja kutsutaan aerobisiksi bakteereiksi ja happea siedättömiä bakteereja kutsutaan anaerobisiksi bakteereiksi. On kuitenkin olemassa myös bakteereja, jotka pystyvät elämään sekä hapekkaissa että hapettomissa oloissa (fakultatiiviset aerobit/anaerobit bakteerit). Veriviljelyissä otetaan aerobi- ja anaerobiveriviljelypullo juuri bakteerien erilaisen hapen tarpeen vuoksi. (Vaara, Sarvas & Skurnik 2005, 72.)

Bakteerit voidaan luokitella myös niiden gramvärjäytyvyyden perusteella. Grampositiiviset bakteerit värjäytyvät tumman sinivioleteiksi ja gramnegatiiviset vaalean punertaviksi. Gramnegatiiviset ja grampositiiviset bakteerit poikkeavat toisistaan soluseinän osalta. Grampositiivisen bakteerin soluseinälle on ominaista paksu ja jäykkä peptidoglykaanikerros, joka määrää bakteerin muotoa ja kokoa. Myös gramnegatiivisella bakteerilla on peptidoglykaanikerros, mutta se on ohuempi. Lisäksi gramnegatiivisella bakteerilla on peptidoglykaanikerroksen ulkopuolella erityinen, ylimääräinen biologinen kalvo, jota kutsutaan ulkomembraaniksi. Sen tehtävä on suojata bakteeria ulkopuolelta tulevilta haitallisilta aineilta. Näistä soluseinän rakenne-eroista johtuen grampositiiviset ja gramnegatiiviset bakteerit värjäytyvät gramvärjäyksessä eri tavalla. Soluseinämän rakenne vaikuttaa siten myös lääkeaineiden läpäisevyyteen, ja siten lääkeaineiden tehoon. Gramnegatiiviset bakteerit ovatkin resistenttejä monille grampositiivisille bakteereille tarkoitetuille lääkeaineille. (Vaara, Sarvas & Skurnik 2005, 58–59, 62–64.)

4 VERIVILJELYIDEN TUTKIMINEN

4.1 Veriviljelyiden kliininen merkitys

Veriviljelyllä (Kuntaliiton lyhenne B-BaktVi tai B-VerVi) tarkoitetaan verinäytteistä bakteerien ja hiivojen etsimistä niiden lisääntymistä suosivissa kasvatusolosuhteissa eli veriviljelypulloissa. Veriviljelypulloja on kahdenlaisia, ilmastoitu aerobinen sekä hapeton anaerobinen pullo. Veriviljely onkin eräs tärkeimmistä mikrobiologisista tutkimuksista, sillä viljelystä saatu tulos vaikuttaa ratkaisevasti potilaan hoitoon. (Kauppila 2007, 36; Koskela 2001, 34; Ojanen 2003, 37.)

Normaalisti veri on steriiliä, eikä siinä esiinny bakteereja, sieniä tai muitakaan mikrobeja. Bakteremialla tarkoitetaan elimistön tilaa, jossa bakteereja on veressä. Vastaavasti, kun sieniä on päässyt verenkiertoon, puhutaan fungemiasta, viremiasta (viruksia verenkierrossa) ja parasitemiasta (parasiitteja verenkierrossa). Aika ajoin bakteereja pääsee jokaisen ihmisen verenkiertoon pääasiassa limakalvojen kautta. Normaalisti toimiva elimistön puolustuskyky kykenee poistamaan vereen joutuneet bakteerit nopeasti ilman että minkäänlaisia oireita kerkeää ilmaantua. Oireita antava bakteremia alkaa monessa tapauksessa paikallisesta infektiosta, jossa bakteerien omat virulenssitekijät (taudinaiheuttamiskyky) auttavat niitä etenemään syvemmälle kehoon. Ne voivat levitä myös fagotsyttien eli solusyöntiin kykenevien solujen sisällä. Toinen vaihtoehto leviämiseen on bakteerien läpäisemät vaurioituneet limakalvot, kuten sytostaattihoidon aikana tai endoskoopilla tehtävien tutkimusten yhteydessä. Mikäli henkilöllä on jokin kontaminoitunut vierasesine kehossaan, kuten ihon läpi verisuoneen pistetty kanyyli, se voi ylläpitää bakteerien pääsyä verenkiertoon. Usein bakteremian taustalla on jokin potilaan elimistön puolustuskykyä heikentävä perussairaus, joka altistaa vakavalle yleisinfektioille. (Kauppila 2007, 36; Koskela 2001, 34; Nissinen 2010, 238; Terveyskirjasto 2013.)

Sepsis (”verenmyrkytys”) tai septikemia liittyvät läheisesti bakteremiaan. Niillä tarkoitetaan vakavaa sairaustilaa, jossa mikrobin aiheuttama infektio tai jokin muu seikka yhdessä elimistön puolustuskyvyn kanssa aiheuttaa henkeä uhkaavan tulehdusreaktion. Hoitamaton sepsis johtaa useimmissa tapauksissa kuolemaan. Nykyisin sepsiksestä on otettu käyttöön termi SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome). (Kauppila 2007, 36; Nissinen 2010, 238.)

Kliininen kuva sepsiksessä voi olla hyvin erilainen eri potilailla ja oireita voi tulla mistä elimestä hyvänsä. Yleisoireina ovat kuitenkin kuumeilu ja huonokuntoisuus, mutta kuume voi puuttua noin 5 %:lta potilaista. Kuumeisuus on horkkamaista ja useaan otteeseen vuorokaudessa nousevaa ja laskevaa. Muita sepsiksen oireita ovat sekavuus, keltaisuus eli ikterus, lihas- ja nivelvaivat sekä erilaiset iho-oireet, kuten märkärakkulat ja petekiat eli hiussuoniverenvuodot. Sepsiksen ennusteeseen vaikuttavat huonontavasti monet tekijät, kuten potilaan perussairauden vaikea tilanne, syvän infektiopesäkkeen olemassaolo (kuten keuhkokuume tai aivokalvontulehdus) ja mahdollinen sokki. Sepsiksen hoidon kulmakivenä on varhaisessa vaiheessa aloitettu antibioottihoito sekä muut tukevat hoitotoimet, kuten kirurginen hoito, respiraattorihoito, nestehoito ja muu lääkehoito. (Tohtori 2013, Valtonen & Rintala 2005; 504–506.)

Laboratoriotutkimuksen preanalyttinen vaihe alkaa tutkimuksen tarpeen määrittelyllä. Veriviljely tilataan silloin, kun bakteremiaa epäillään potilaan oireiden aiheuttajaksi tai osaltaan niihin liitty-

viksi. Tutkimus on aiheellinen tilata myös silloin, kun epäillään endokardiittia (sydänläppien tulehdus) tai meningiittiä (aivokalvontulehdus). Toinen tärkeä laboratoriokoe on seerumin CRP- pitoisuus (C-reaktiivinen proteiini) määrittäminen, jolla saadaan selville tulehdusreaktion voimakkuus. Tulehdusparametreista myös veren leukosyyttien määrä tutkitaan. Muista infektiopesäkkeistä (yskökset, virtsa) pyritään myös ottamaan bakteeri- ja sieniviljelynäytteet. (Islab 2013; Lumio 2012; Mustajoki 2012; Nissinen 2010, 238; Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 8; Valtonen & Rintala 2005, 506.)

4.2 Veriviljelyn näytteenotto

Septisesti kuumeilevan potilaan veren bakteeripitoisuus on usein matala, jopa alle 1 bakteeri/ml, jonka takia veriviljelynäyte otetaan suoraan veriviljelypullossa olevaan elatusaineeseen. Suurin osa merkittävistä taudinaiheuttajista kasvaa hyvin veriviljelyelatusaineissa, mutta mykobakteereita varten on kehitetty omat elatusaineet (Oma tutkimusnimike Mykobakteeriviljely verestä, B-MycoVi). Elatusaineessa bakteerien kasvu alkaa välittömästi. Veriviljely on täten rikastusviljely, joka mahdollistaa yhdenkin bakteerin rikastumisen muutamassa tunnissa runsaaksi kasvustoksi. (Islab 2013; Kauppila 2007, 37; Nissinen 2010, 238; Ojanen 2009, 55.)

Näytteenotto kuuluu olennaisesti preanalytiikkaan. Perinteisesti veriviljelyiden näytteenotto on pyritty ajoittamaan oireilun perusteella, koska veren bakteeripitoisuus vaihtelee ajan kuluessa. Korkeakuumeiselta potilaalta suositellaan näytteet otettavaksi milloin hyvänsä, jolloin riittää 1-2 tunnin välein otetut kaksi näytettä. Mikäli kuume on ajoittaista, täytyisi näytteenotto ajoittaa kuumeen nousuvaiheeseen. Käytännössä peräkkäin otetut kaksi veriviljelyä on kuitenkin tarkoituksenmukaisin tapa toteuttaa tutkimus. Lisäksi veriviljelynäyte suositellaan otettavaksi ennen antimikrobilääkityksen aloittamista, sillä se voi aiheuttaa viiveen tuloksen valmistumisessa tai jopa väärän negatiivisen tuloksen. Kuitenkaan mikrobilääkehoito ei ole estävä syy näytteen ottamiseen. Potilaan saadessa antimikrobilääkehoitoa näyte otetaan juuri ennen uutta annosta, jolloin lääkepitoisuus on veressä pienimmillään. Normaalisti kaksi veriviljelyn ottoa ennen mikrobilääkkeen annon aloittamista on riittävä määrä osoittamaan bakteremian. Mikäli muita tutkimuksia on tilattu otettavaksi yhtä aikaa veriviljelyiden kanssa, veriviljelynäytteet otetaan ensimmäisenä. (Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011; Fimlab 2011; Huslab 2013; Mäki 2000, 174; Nissinen 2010, 239.)

Oikea näytemäärä on ratkaisevan tärkeä bakteremian havaitsemisessa. Joka viides bakteremia jää havaitsematta, mikäli tyydytään vain yhteen veriviljelyyn (aerobi- ja anaerobipullo 10+10 ml). Kasvattamalla näytemäärää toisen veriviljelyn avulla 40 millilitraan, havaitaan 90 % kaikista bakteremioidista. Yli 40 millilitran näytemäärät eivät enää oleellisesti lisää havaittujen bakteremioidien määrää. Nykyinen käytäntö Suomessa onkin ottaa kaksi veriviljelyä. On olemassa viitteitä, että bakteremiassa bakteerien määrä veressä on kääntäen verrannollinen potilaan ikään. Käytännössä tämä on havaittu niin, että jopa alle yhden millilitran näyte vastasyntyneeltä voi antaa positiivisen tuloksen. (Nissinen 2010, 238–239.)

Veriviljelyn optimaalinen näytemäärä niin aerobi- kuin anaerobipullossa on 8-10 ml eli yhteensä 16–20 ml/veriviljely. Näytemäärä määräytyy elatusaineen määrän mukaan, kun suositeltu veri/elatusaine pitoisuus on 1/5. Lapsilta näytemääräksi riittää painon mukaan ad 4 ml. Mikäli näyte-

määrä jää optimaalista tasoa vähemmäksi, mahdollisuudet havaita veressä olevat taudinaiheuttajat vähenevät ja voidaan saada vääriä negatiivisia tuloksia. Mikäli molempiin pulloihin saadut näytemäärät alittavat minimin, suositellaan aerobipullon täyttää optimaalitasolle. Tämä pitää tehdä, koska suurin osa bakteremian aiheuttajista on aerobisia tai fakultatiivisesti anaerobisia, jotka sietävät happellisia olosuhteita. Veriviljelypulloja ei saa täyttää ylikään, sillä se voi johtaa vääriin positiivisiin tuloksiin. Automaattiset veriviljelyautomaatit mittaavat veriviljelypullojen CO₂:n konsentraatioita ja vertaavat näitä arvoja perustason, kun pullot asetettiin automaattiin. Kun bakteerit lisääntyvät, CO₂:n konsentraatiot kasvavat. Kynnysarvon ylittyessä automaatti antaa hälytyksen positiiviseksi havaitusta pullosta. Kuitenkin näytteen mukana pulloon tulee veren leukosyyttejä, jotka tuottavat myös tietyn määrän CO₂. Mikäli näytteessä ei ole bakteereita, automaatti havaitsee leukosyyttien tuottaman CO₂:n ja antaa virheellisen hälytyksen, joka johtaa ylimääräisiin ja turhiin testauksiin. (Ernst 2004, 17–18; Islab 2013; Kauppila 2007, 37.)

Veriviljely on erittäin kontaminaatioherkkä tutkimus, sillä jo yksikin elävä bakteeri voi veriviljelypulloon joutuessaan saada aikaan positiivisen tuloksen. Yleensä kontaminantit ovat ihon normaaliflooran bakteereita. Tämän vuoksi näytteenoton aseptiikkaan tulisi kiinnittää erityistä huomiota. Näytteenottokohdan perusteellinen ja huolellinen puhdistaminen on merkitsevin asia, jolla voi estää kontaminanttien pääsyn veriviljelypulloihin. Tehokkain tapa tappaa iholla elävät normaaliflooran bakteerit olisi käyttää joditinktuuraa, mutta se on poistettu käytöstä tiettyjen jodin haittavaikutusten takia. Joditinktuurin hyvä korvike on 70–80 % etanoli, joka käytettynä oikein omaa riittävän bakteereita tuhoavan vaikutuksen. Suurin todennäköisyys veriviljelyn kontaminoitumiselle on silloin, kun suonet ovat vaikeasti löydettävät ja näytteenottoa palpoidaan uudestaan jo ihon puhdistamisen jälkeen. Uudelleen palpoimisen välttämiseksi voidaan yrittää painaa tuntuva suonon paikka tarkasti mieleen käyttäen apuna esimerkiksi ihon pigmenttieroja. Mikäli oikean paikan valinta on silti epävarmaa, voi palpoida näytteenottoaikan ylä- ja alapuolelta, muttei juuri siitä, mihin neulan aikoo pistää. Lisäksi ottamalla veriviljely eri pistopaikasta kuin toinen, voidaan mahdollinen kontaminaatio sulkea pois. Kuitenkin tämä on joskus vaikea toteuttaa mm. huonosti tuntuvien suonien tai kädessä olevan tipan takia ja näin ollen veriviljelyt voidaan ottaa samalla pistolla hyvin huolellisen ihon desinfektion jälkeen. (Ernst 2004, 16–17; Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011; Fimlab 2011; Nissinen 2010; 239–240.)

Näytteenottoaikan valinnalla voidaan myös estää kontaminanttien joutumisen veriviljelyihin. Verisuonen läpäisevistä hoitovälineistä, kuten suonikatetrasta, otettu näyte kontaminoituu vähintään kaksinkertaisella todennäköisyydellä verraten tavalliseen ihopistoon. Koska nämä välineet lävistävät ihon ja ovat paikallaan joskus pitkiäkin aikoja, ylläpitävät ne normaaliflooran bakteerien kolonisaatiota. Suonikatetrasta suositellaan näyte otettavaksi vain silloin, kun ihopistonäytteen saaminen on kohutuuttoman hankalaa. Mikäli näyte on otettu suonikatetrasta, tulee tämä mainita näytetiedoissa, jolloin laboratorio ja hoitava lääkäri voivat arvioida kontaminaation todennäköisyyttä mahdolliseen löydöseen. (Ernst 2004, 16–17; Nissinen 2010, 239–240.)

Veriviljelyn näyteastioina käytetään Bact/ALERT- FA- aerobipulloja ja Bact/ALERT- SN- anaerobipulloja. Lasten näytteenottoon on tarkoitettu Bact/ALERT- PF- aerobipullo. Muu tarvittava välineistö on vakuuminäytteenottoon tarkoitettu siipineula (tai kertakäyttöruiisku ja neula), steriilit käsineet ja des-

infektioaine (A12T Dilutus). Pullot täytyy säilyttää valolta suojattuina pystyasennossa huoneenlämmössä, joihin sitten näytteet voidaan suoraan ottaa. (Fimlab 2011; Islab 2013.)

Näytteenoton jälkeen veriviljelypullot viedään mahdollisimman nopeasti mikrobiologian laboratorion veriviljelyautomaattiin, kuitenkin viimeistään 4 tunnin kuluttua näytteenotosta. Väärien negatiivisten tulosten mahdollisuus on olemassa, mikäli kuljetusmatka on pitkä ja mikrobit ovat ehtineet lisääntyä niin paljon, ettei niiden määrä enää merkittävästi muutu. Näin ollen veriviljelyautomaatti ei enää tunnista niiden lisääntymistä pullossa. Niitä ei myös suositella saa laitettavaksi tavalliseen lämpökaappiin ennen mikrobiologian laboratorion veriviljelyautomaattia, sillä edellä mainittu asia toistuu mikrobien lisääntyessä paremmin lämpimässä. Näin ollen säilytys ja kuljetus tulisi tapahtua huoneenlämmössä. Mikäli näytettä on kuitenkin säilytetty lämpökaapissa, täytyy siitä ilmoittaa tutkivalle laboratoriolle. (Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011; Islab 2013; Kauppila 2007, 37.)

Vakuumilla suoritettava näytteenotto tapahtuu seuraavanlaisesti Islabin (2013) ohjeiden mukaan lukuun ottamatta erästä asialisäystä:

1. Potilaan käsivarteen laitetaan normaalisti staasi ja kiristetään sitä näytteenottoon soveltuvimman suonen löytämiseksi. Tämän jälkeen staasi löysätään. Suonesta, jossa on infuusiokanyyli, näytettä ei kuitenkaan suositella otettavaksi.
2. Kohta, josta näyte otetaan, puhdistetaan huolellisesti puhdistusaineeseen kostutetulla sidetaitoksella. Sen ajaksi, kun näytteenottoa valmistellaan, jätetään puhdistusaineella kostutettu sidetaitos kohdan päälle n. 1 minuutin ajaksi.
3. Veriviljelypullojen asteikolle merkitään kohta, johon asti pullon sisällön tulee ulottua, kun verinäytteenotto on suoritettu. Tässä vaiheessa pulloihin voi myös laittaa potilaan tunnistamistarrat niille varattuun kohtaan.
4. Pulloista otetaan suojakorkit pois ja alla olevat tulpat puhdistetaan puhdistusaineella. Kumitulppiin päälle jätetään puhdistuslaput.
5. Siipineulapakkaus avataan ja letkun pää kiinnitetään kiertämällä se veriviljelypullojen adapteriin.
6. Staasi kiristetään. Tässä vaiheessa pistokohtaa voi tunnustella ainoastaan joko steriileillä käsineillä tai huolellisesti puhdistusaineella puhdistetuilla käsillä.
7. Kun suoni on löydetty, poistetaan neulan suojuksen ja pistetään suoneen. Kun neula on suonessa, letkuun tulee 1-2 ml verta. Staasi löysätään tässä vaiheessa.
8. Aerobipulloon otetaan ensimmäisenä näyte, koska siipineulan letkussa on pieni määrä ilmaa, joka anaerobipulloon joutuessaan voisi estää anaerobibakteerien kasvua (Ernst 2004; 17). Pullo ohjataan adapteriin niin että neula lävistää korkin ja pidetään siitä napakasti kiinni koko näytteenoton ajan.

Jotta pullosta ei virtaisi nestettä takaisin siipineulaa pitkin, pulloa pidetään mahdollisimman pystyasennossa näytteenottotason alapuolella. Samalla seurataan pullon täyttymistä asteikolta. Merkityn kohdan yli veriviljelypullon sisältö ei saisi olla. Neulaan asti pullon sisältö ei saisi milloinkaan ulottua.

9. Toista edellä mainittu anaerobipullon kanssa.

10. Näytteenoton jälkeen pulloja sekoitetaan pyörittelemällä varovasti hyytymisen estämiseksi.

4.3 Mikrobien kasvatusta, osoitus ja tunnistus

Näytteen esikäsittelyn jälkeen alkaa analyttinen vaihe, jolloin näytteestä määritetään halutun tutkitavan analyytin pitoisuus. Veriviljelyistä etsitään minkä tahansa mikrobin esiintyvyyttä. Veriviljelypulloja viljellään 35-37° C lämpötilassa, jossa suurin osa mikrobeista kasvaa hyvin. Automaatti mittaa mikrobien tuottamia aineenvaihduntatuotteita, yleisimmin hiilidioksidia. Veriviljelyautomaatin ilmoittaessa positiivisesta löydöksestä, tehdään näytteistä gram-värjäys ja tarvittaessa AO- eli akriidiinioranssivärjäys mykobakteereita varten. Myös viljelyt maljoille tehdään mikrobien tunnistamista ja antibioottiherkkyyden määrittämiä varten. Kun automaatti on todennut pullon positiiviseksi, on alustava gramvärjäys tulos käytettävissä muutaman tunnin sisällä, jolloin vastaus on ilmoitettava viipymättä puhelimitse hoitavalle yksikölle. Mahdollinen kontaminaatioepäily on ilmoitettava myös vastauksen yhteydessä. Yhden yön inkubaation jälkeen alustava lajitasoinen tunnistus sekä herkkyysmääritys voidaan tehdä. Normaali tapauksissa, kun potilaalla ei ole bakteeremista infektiota, veriviljely todetaan negatiiviseksi. Negatiivisia veriviljelyitä täytyy seurata 5 vuorokauden ajan, jonka jälkeen ne voidaan vastata. (Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011; Fimlab 2013; Kauppila 2007, 37; Koskela 2011; Tuokko, Rautajoki ja Lehto 2008, 12.)

Näytteenoton jälkeen, kun veriviljelypullot on asetettu veriviljelyautomaattiin ja automaatti on todennut kasvua, on syytä tarkastella tutkimuksen lähetetietoja. Nämä ovat erittäin tärkeä osa kaikkien mikrobiologisten tutkimusten onnistumiselle. Näytteellä on tutkimuspyyntö, joka on suuntaa antava, kuten veriviljelyissä B-BaktVi. Potilasta koskevat lähetetiedot ohjaavat tutkimuksen etenemistä ratkaisevasti, sillä ilman hyviä lähetetietoja voi varsinainen taudinaiheuttajamikrobi jäädä löytymättä muun muassa poikkeavien kasvuolojen tai hitaan kasvun takia. Läheteessä tulee kuvata potilaan infektiioireita (esimerkiksi perusterveellä sahaava kuume), infektiölöydöksiä tai kliinistä infektiopäilyä niin, että laboratorio saa muodostettua kuvan todennäköisestä infektiotaudista ja oletuspatogeenista. Esim. sieni-infektiopäilystä on syytä mainita, jolloin inkubaatioaika pidennetään 14 vuorokautteen. Mahdolliset antibioottilääkitykset, joita potilas saa näytteenoton aikaan tai joita hänelle aletaan antaa näytteenoton jälkeen, tulee myös mainita. Tällöin voidaan huomioida antibiootinhoidon vaikutus tutkimustulokseen, varsinkin jos tulos on negatiivinen ja harkita uuden näytteen ottoa. Lisäksi lääkityksen ollessa tiedossa laboratorio osaa tutkia bakteerien herkkyden näille antibiooteille sekä kommentoida kyseisten antibioottien tehoa. Läheteessä on oltava myös potilaan mahdolliset perustaudit, sillä tietyissä taudeissa tietynlaisia bakteereita esiintyy enemmän. Myös potilaalla olevat mahdolliset vierasesineet ja hänelle tehdyt toimenpiteet on ilmoitettava, sillä ne saattavat toimia

portteina mikrobien elimistöön leviämislle. (Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011; Kanta-Hämeen sairaanhoitopiiri; Katila 2003, 342.)

Bakteeri- ja sienikasvuston tunnistaminen perustuu mikrobin kasvutapaan eri kasvualustoilla, sekä kasvuston mikroskooppiseen tarkasteluun ja pesäkemorfologiaan. Mikroskooppisessa tarkastelussa on arvioitava mikrobien esiintymisen lisäksi myös niiden järjestäytyminen ryhmiksi, pareiksi tai ketjuiksi sekä gramvärjäyksen tulos (positiivinen tai negatiivinen värjäystulos). Mikrobien tunnistamisessa käytetään myös erilaisia biokemiallisia tunnistuskeinoja sekä kasvutestejä. Testit perustuvat esimerkiksi mikrobin kykyyn sietää tai käyttää kemikaaleja. Myös mikrobin kyky tuottaa indikaattoreiksi sopivia aineenvaihduntatuotteita tai entsyymejä, käytetään testeissä hyväksi. Yleisesti lajitason määritykseen käytetään kaupallisia testisarjoja (esim. API-testit). Näiden kaupallisten testisarjojen etuna on mahdollisuus käyttää numeeriseen lukemiskoodin perustuvaa taustatietoa nimeämispuna. Myös bakteerilajien lääkeaineherkkyyttä voidaan hyödyntää lajitunnistuksessa. (Katila 2003, 354, 356.)

Gramvärjäyksen avulla voidaan erotella mikrobit värjäytyvyyden ja morfologian perusteella gramposiitivisiin/negatiivisiin sauvoihin/kokkeihin. Primäärivärinä käytetään kristalliviolettiä, josta aiheutuu tumman- tai punertavansininen väri. Kristallivioletti värjää lähes kaikki kliinisesti merkittävät mikrobit. Värjäyksen toisessa vaiheessa sivelynäyte laitetaan Lugolin jodiliuokseen, jonka tehtävä on kemiallisesti sitoa emäksinen väri bakteerin soluseinämään. Tämän jälkeen sivelynäyte käsitellään värinpoistoliuoksella, joka on yleensä joko alkoholi tai alkoholi-asetoni. Kristallivioletin aiheuttama sininen väri poistuu gramnegatiivisista mikrobeista, mutta säilyy gramposiitivisissa (soluseinämän rakenne). Tämän jälkeen sivelynäyte vastavärjätään safraniinilla, jossa kristalliviolettivärin menettäneet gramnegatiiviset mikrobit saavat eriateisen punaisen värin. Mikrobien värjäytyvyyteen vaikuttaa häiritsevästi näytteen epätasaisuus objektilasilla. Lasin ylikuumentamista kiinnitettäessä tulee myös välttää. Käytännöistä riippuen värjäysajat vaihtelevat. Kristallivärin ja Lugolin jodiliuoksen kummankin annetaan vaikuttaa 1 minuutin ajan. Ylimääräinen Lugoli huuhdellaan pois juoksevilla vedellä. Värinpoistoliuoksessa näyte on n. 30 sekuntia, jonka jälkeen se huuhdellaan jälleen juoksevilla vedellä. Safraniinissa näytteen annetaan olla n. 30 sekuntia. Gramvärjäyksen jälkeen objektilasilla oleva näyte kuivataan ja tarkastellaan sitä mikroskoopilla. Värjäys on onnistunut, mikäli bakteerien muoto ja väri erottuvat mikroskoopilla hyvin. (Katila 2003, 348–349.)

Työskenneltäessä mikrobiologian laboratoriossa täytyy työntekijän aina ottaa työturvallisuuden periaatteet huomioon. Kaikkia käsiteltäviä näytteitä on kohdeltava niin kuin niissä olisi mahdollinen taudinaiheuttaja, joten työskenneltäessä on noudatettava huolellisesti aseptista tekniikkaa. Tämä edellyttää näytteiden käsittelyä siihen tarkoitettuun paikassa, kuten vetokaapissa sekä itsensä suojaamista mm. suojakäsinein. Työskentelyn jälkeen työtaso pyyhitään desinfioidulla aineella ja tarpeettomat näytteet laitetaan niille varattuun jäteastiaan. Mikäli laboratoriossa tapahtuu jokin tapaturma, on siitä ilmoitettava heti lähimmälle esimiehelle. (Ouweland, Nuutila & Niemi 2012.)

5 YLEISIMMÄT LÖYDÖKSET VERIVILJELYISSÄ

Yleisin sepsiksen aiheuttaja niin Suomessa kuin muuallakin maailmassa on *E.coli*. Seuraavaksi tavallisimpia aiheuttajabakteereita ovat koagulaasinegatiiviset stafylokokit, kuten *Staphylococcus epidermis*, jotka ovat voimakkaasti yleistymässä. Pneumokokin ja *Staphylococcus aureuksen* aiheuttamien sepsiksien määrät ovat pysyneet melko vakaina. Viime vuosina löydöksissä on alkanut yleistyä erilaiset streptokokit, erityisesti D-ryhmän enterokokit. Erilaisten hiivasienten sekä aerobisten gramnegatiivisten sauvabakteerien määrä on myös ollut kasvussa. (Valtonen & Rintala 2005, 503.)

5.1 Grampositiiviset bakteerit

5.1.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus on yleinen iholla elävä normaaliflooraan kuuluva bakteeri, jota voi esiintyä myös nenänielussa ja joskus harvoin myös emättimessä, peräsuolen ja välilihan alueella. Merkitys taudinaiheuttajana on suuri, sillä erilaiset iho- ja haavatuulehdukset (märkärupi, ruusu ja paiseet) ja erityisesti leikkausten jälkeiset sairaalainfektiot ovat useimmiten sen aiheuttamia. Niin ikään päästyään verenkiertoon se aiheuttaa vakavan yleisinfektion, sepsiksen. Tällöin potilaalla on jokin sopiva tartuntaportti, kuten haava tai ihorikko, jota kautta bakteeri pääsee leviämään verenkiertoon. Heikentyneen vastustuskyvyn myötä potilaat, joilla on diabetes, munuaisten vajaatoiminta tai sidekudossairaus, altistuvat herkimmin vakaville stafylokokki-infektioille. (Meurman & Heikkilä 2005, 41; Vuopio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2010, 83.)

Jotkut stafylokokit ovat kehittyneet vastustuskykyisiksi niitä vastaan käytetyille antibiooteille. Näistä kannoista käytetään nimitystä MRSA eli metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus*. Metisilliiniresistentillä bakteerilla on *mecA*-niminen geeni, joka koodittaa muuntunutta penisilliiniä sitovaa proteiinia. Tämä samainen geeni estää myös joidenkin muiden beetalaktaamiantibioottien tehoamista. (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila & Kotilainen 2010, 99; Vuopio-Varkila ym. 2010, 90.)

S. aureus on grampositiivinen, fakultatiivisesti anaerobinen kokkibakteeri, joka esiintyy mikroskooppinäytteessä joko yksittäin, pareittain tai pienissä ryhmissä. Laboratoriodiagnostisesti *S. aureus* kasvaa hyvin ei-selektiivisellä verimaljalla happipitoisessa ympäristössä 34–37 °C:ssa. Tyypillinen pesäke maljalla on halkaisijaltaan 1-3 mm, väriltään kellertävä, pyöreä ja hieman kohoava. Väri voi joissain tapauksissa kuitenkin puuttua, joten se ei ole tunnistamiseen riittävä kriteeri. Verimaljalla kasvaessaan *S.aureus* tekee myös hemolysin eli aiheuttaa punasolujen hajoamisen. (Bannerman & Peacock 2007, 395; Pathogen Profile Dictionary 2010; Stöppler 2012.)

Stafylokokit ja streptokokit voidaan erottaa toisistaan katalaasikokeen avulla. Testin periaate on, että bakteerin tuottama katalaasientsyymi hajottaa vetyperoksidin vedeksi ja hapeksi. Tällöin vetyperoksidiin ilmestyy heti kuplia ja kuohuntaa. Testillä testataan siis, tuottaako bakteeri kyseistä entsyymiä. Stafylokokit ovat katalaasi-positiivisia ja streptokokit katalaasi-negatiivisia. (Baron, Petersen, Finnegold 1994, 101; Chapin & Lauderdale 2007, 335.)

Jotta *S.aureus* voidaan erottaa muista stafylokokkeista, erotusdiagnostisena menetelmänä käytetään koagulaasikoetta. *S.aureus* erittää koagulaasiksi kutsuttua entsyymiä, joka hyydyttää plasmaa. Se on ihmisen stafylokokkeista ainoa, joka on koagulaasiposiitivinen. Testi tulkitaan positiiviseksi, kun vähäinenkin määrä hyytymää havaitaan koeputkessa. Koagulaasikokeen yhteydessä tehdään myös *S.aureuksen* tunnistaminen SaSelect- kromogeenisellä maljalla. Kyseinen malja on selektiivinen, sisältäen erilaisia suoloja ja antibiootteja ja se on suunniteltu *S.aureuksen* tunnistamiseen 18-24 tunnissa. Menetelmän periaate perustuu fosfataasientsyymiin, jonka vuoksi pesäkkeiden väri vaihtelee vaaleanpunaisesta oranssiin. Mikäli bakteerilla on glykosidaasientsyymi, pesäkkeet ovat väriltään sinisiä. Pesäkkeet ovat valkoisia tai kellertäviä, mikäli kanta ei tuota kumpaakaan entsyymiä. *S. aureuksen* pesäkkeiden väri on joko vaaleanpunainen tai oranssi. *S. aureuksen* tunnistamisen apuna voidaan käyttää myös pika-agglutinaatiotestiä. (Bannerman & Peacock 2007, 395–396; Helenius, Kilpeläinen & Taponen 2012, 25; Tikka & Pylkkönen 2011, 27; Vuopio-Varkila ym. 2010, 83.)

5.1.2 Muut stafylokokit

S.aureuksen lisäksi muita merkittäviä stafylokokkeja ovat koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Useat niistä ovat kehon normaaliflooran bakteereja iholla, limakalvoilla ja nenässä. Nykyään niiden merkitys sairaalasyntyisten bakteremioiden aiheuttajina on kasvamassa. Osaltaan tähän vaikuttaa se, että ne ovat pääasiallinen löydös vierasesineinfektioihin. Ne kiinnittyvät tehokkaasti vierasesineiden pinoille muodostaen ympärilleen polysakkaridipitoisen limakerroksen ja näin ne peittävät vierasesineen muodostuvalla biofilmillä, joka estää mikrobilääkkeiden pääsyn niiden luo. (Lyytikäinen ym. 2010, 98; Meurman & Heikkilä 2005, 41.)

Ihmisellä on tavattu monia stafylokokkilajeja. Kliinisesti tärkeimmät lajit ovat *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus saprophyticus* ja *Staphylococcus haemolyticus*. *S.epidermis* esiintyy iholla ja limakalvoilla ja sen osuus normaaliflooran stafylokokkeista on 65–90%. Se viihtyy nenän limakalvoilla, kainalon alueella, nivusissa ja varpaiden väleissä. Erityisesti *S. epidermis* on todettu löydökseksi endokardiitista, kirurgisista haavoista ja virtsateistä alkaneessa sepsiksessä. *S. saprophyticus* eroaa hieman muista koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista aiheuttaen erityisesti nuorille naisille virtsateiden infektioita. *S. haemolyticus* aiheuttaa myös endokardiittia, sepsistä ja peritoniittia (vatsakalvon tulehdusta). (Bannerman & Peacock 2007, 393; Lyytikäinen ym. 2010, 98–99; Scheinin & Lepäniemi.)

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat, kuten *S.aureus*, grampositiivisia kokkibakteereja. Kuten jo nimi sanoo, ne ovat koagulaasinegatiivisia, jonka avulla ne erotetaan *S.aureuksesta*. Ne kasvavat myös hyvin verimaljalla ja kasvaneet pesäkkeet ovat pieniä ja valkoisia. Novobiosinia (antibiootterherkkyyskiekko) voidaan käyttää erottamaan *S. saprophyticus* muista koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista, sillä se on resistentti kyseiselle antibiootille. SaSelect- maljalla *S.epidermiksellä* on pienet, haaleanpunaiset tai valkoiset pesäkkeet ja *S.saprophyticuksella* siniset tai turkoosit pesäkkeet. (Bannerman & Peacock 2007, 400; Helenius, Kilpeläinen & Taponen 2012, 25; Lyytikäinen ym. 2010, 98.)

Veriviljelynäytettä analysoitaessa on huomioitava mahdollinen iholta peräisin olevien kontaminanttien mahdollisuus, mikäli näytteestä löytyy koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja. Kuitenkin aitoa bakteremiadiagnoosia tukee se, että samaa bakteeria löytyy useammasta kuin yhdestä näytteestä. Tämän vuoksi eri näytteenottokerroilla otetut näytteet auttavat erottamaan oikean taudinaiheuttajan kontaminantista. Mikäli samaa bakteerilajia löytyy useammasta kuin yhdestä näytteestä ja mikrobi-lääkeherkkyydet ovat samat, on mitä todennäköisimmin kyseessä bakteremian aiheuttava koagulaasinegatiivinen bakteeri. Erityisesti henkilöillä, joilla on alentunut elimistön puolustusjärjestelmän toiminta tai vierasesineen kehossa omaavalla voi yksikin löydös olla jo merkitsevä. Diagnoosin tueksi on tärkeä analysoida myös La- ja CRP-arvot. (Lyytikäinen ym. 2010, 100.)

5.1.3 Streptokokit

5.1.3.1 A-ryhmän streptokokki

A-ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki eli *Streptococcus pyogenes* on yleinen taudinaiheuttaja niin aikuisten kuin lasten keskuudessa. Pyogenes viittaa bakteerin kykyyn tuottaa märkää, jonka vuoksi sen aiheuttamat infektiot ovat märkiviä. Ylivoimaisesti suurin määrä sen aiheuttamista infektiosta ovat nielurisatulehdukset eli tonsilliitit, mutta se aiheuttaa myös erilaisia iho- ja pehmytkudosinfektioita, kuten tulirokkoa, märkärupsea eli impetigoa ja ruusua eli erysipelasta sekä vakavia sepsiksiä. A-streptokokkia esiintyy iholla ja nielussa 10–20 % lapsista ja n. 5 % aikuisista. Kirjallisuudessa bakteerista käytetään lyhennettä GAS (Group A Streptococcus). (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013; Vuopio- Varkila, Syrjänen & Kotilainen 2010, 102.)

Sepsis voi olla komplikaatio mihin tahansa A-streptokokin aiheuttamaan infektiin. Terveillekin ihmisille A-streptokokki voi aiheuttaa vakavan yleisinfektion, mikäli se pääsee verenkiertoon esim. ihorikon kautta. Potilaalla ei välttämättä ole paikallisia tulehdukseen viittaavia merkkejä, mutta veriviljely antaa positiivisen tuloksen. Kuitenkin A-streptokokin osuus kaikista veriviljelylöydöksistä on vain 1–2 %, kun muiden streptokokkien osuus on jopa 20–25 %. Veriviljely on kuitenkin aina syytä ottaa, mikäli sairaalahoidossa olevalla potilaalla on kuumetta tai oireet ovat muuten rajut. Puerperaalisepsis eli lapsivuodekuume on A-streptokokin aiheuttama synnytyskomplikaatio. Se täytyy ottaa huomioon juuri synnyttäneellä, mikäli hänellä ilmenee kuumetta, lihaskipuja ja voimakkaita vatsakipuja. (Salmela 2007; Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013; Vuopio- Varkila ym. 2010, 104–105.)

A-ryhmän streptokokki on grampositiivinen fakultatiivisesti anaerobi ketjukokki ja katalaasia tuottamaton bakteeri. Varmin tapa osoittaa A-streptokokki kaikista näytteistä on tehdä viljely. A-streptokokki kasvaa hyvin tavallisella verimaljalla sekä selektiivisellä streptokokkimaljalla +35–37°C:ssa. Niiden kasvua edistää 5 % hiilidioksidiympäristö. Jo 18–24 tunnin kuluttua A-streptokokki on tunnistettavissa kirkkaan hemolyysinsä (β -hemolyysi) ansiosta. Sen erottaminen muista streptokokeista ja muista hemolyyttisistä bakteereista vaatii kuitenkin kokemusta. Pesäkkeet ovat harmaita tai melkein valkoisia ja ne ovat kiiltäviä. (Islab 2013; Spellerberg & Brandt 2007, 413, 418; Vuopio- Varkila ym. 2010, 106.)

Viljelystä havaittu hemolyyttisen streptokokin helppo ja nopea laboratoriodiagnostinen menetelmä on määrittää sen Lancefieldin ryhmä. Lancefieldin ryhmän määrittämiseen on saatavilla kaupallisia kittejä. Testin periaate on, että erityiset latex-helmet on päällystetty Lancefieldin ryhmän vasta-aineella, jotka agglutinoivat streptokokin soluseinässä olevan hiilihydraateista koostuvan antigeenin. Agglutinaatio muodostuu, kun latex-helmet kiinnittyvät antigeeniin. Jokaista antigeeniryhmää vastaava latex-liuos on erilainen. A-streptokokin kuuluu luonnollisesti ryhmä A:han. Jotta voidaan varmistaa, että tietty streptokokkikanta on A-ryhmää, tehdään basitrasiin testi. Kyseinen herkkyyskierros aiheuttaa estorenkkaan jopa 97 % A-ryhmäisistä streptokokeista. Testi suoritetaan siten, että kiekko asetetaan joko primaariviljelmälle tai jo eristetyn kannan puhdasviljelmälle. (American Society for Microbiology 2011; Spellerberg & Brandt 2007, 420; Vuopio-Varkila ym. 2010, 107.)

5.1.3.2 B-ryhmän streptokokki

B-ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki eli *Streptococcus agalactiae* kuuluu emättimen ja alemman suoliston normaaliflooraan. Sitä esiintyy myös virtsarakossa, suussa ja iholla ilman että se aiheuttaa tautia. Emättimessä tai peräsuoleissa kyseistä bakteeria kantaa 10–30 % raskaana olevista naisista, joten synnytyksen yhteydessä voi lapsikin saada tartunnan. B-streptokokki onkin yksi merkittävimpiä vastasyntyneiden infektioiden aiheuttajia. Se voi aiheuttaa tartuntoja myös raskaana oleville, vanhuksille ja pitkäaikaissairaille. Kirjallisuudessa siitä käytetään myös nimitystä GBS (Group B Streptococcus). (Saxén & Vuopio-Varkila 2010, 110; Terveystieteiden tutkimuskeskus 2013.)

Vastasyntyneiden infektiot voidaan jakaa kahteen eri muotoon, varhaisinfektioon ja myöhäisinfektioon. Varhaisinfektion oireet alkavat pian synnytyksen jälkeen, viimeistään viiden vuorokauden kuluessa synnytyksestä, kun taas myöhäisinfektion oireet puhkeavat yli viikon iässä. B-streptokokki aiheuttaa tällöin vaikean yleisinfektion eli sepsiksen, meningiitin tai keuhkokuumeen. Riskitekijöinä tunnetaan mm. keskosuus, ennenaikainen lapsivedenmeno ja äidillä oleva runsas B-streptokokkikolonisaatio vaginassa. Myös synnyttäjällä voi sairastua B-streptokokin aiheuttamaan sepsikseen. (Saxén & Vuopio-Varkila 2010, 110.)

B-ryhmän streptokokki kuuluu grampositiivisiin, fakultatiivisesti anaerobisiin diplokokkeihin. Ne kasvavat muiden streptokokkien tapaan hyvin verimaljalla +35–37 °C:ssa ja muodostuvat pesäkkeet ovat harmaita tai melkein valkeita sekä kiiltäviä. Kaikista streptokokeista B-streptokokilla on isoimmat pesäkekoot, mutta pesäkkeiden kokoon nähden hemolyysin alue on suhteellisen kapea. Joskus voi esiintyä myös täysin ei-hemolyyttisiä kantoja, jotka muistuttavat enterokokkeja. (Pathogen Profile Dictionary 2010; Spellerberg & Brandt 2007, 418–420.)

Tärkeä laboratoriodiagnostinen testi B-streptokokeille on Lancefieldin ryhmän määrittäminen. Kun näytteestä peräisin olevan B-antigeeni ja Lancefieldin vasta-aine synnyttävät agglutinaation, viittaa tämä suoraan siihen että kyseessä on B-streptokokki. (American Society for Microbiology 2011; Spellerberg & Brandt 2007, 420.)

5.1.3.3 Muut streptokokit

Suuripesäkkeiset ja beetahemolyttiset C- ja G-streptokokit kuuluvat normaalimikrobistoon hengitysteissä, ruuansulatuskanavassa ja urogenitaalialueella. Ryhmäntigeenin perusteella ne eivät kuitenkaan määritä mitään tiettyä streptokokkilajia. Ne pystyvät kuitenkin aiheuttamaan samankaltaisen nielutulehduksen kuin A-streptokokki, minkä takia ne tunnistetaan viljelyistä. Laboratoriot raportoivat löydöksen pinta-antigeenin mukaan C- tai G-streptokokeiksi. Erityisesti G-streptokokki on varsin yleinen veriviljelylöydös. (Rantakokko- Jalava & Anttila 2010, 122–123.)

S. anginosus-ryhmään kuuluu niin beeta-, alfa- ja ei-hemolyttisiä kantoja. Ryhmän beetahemolyttisten kantojen pesäkkeet ovat usein pieniä (alle 0,5 mm), jonka takia niitä kutsutaan pienipesäkkeiksi beetahemolyttisiksi streptokokeiksi. Kyseisen ryhmän kantoja kuuluu ihmisen normaaliflooraan suolistossa, ylähengitysteissä ja urogenitaalialueella. *Anginosus*-lajeja ei pidetä nielutulehdusten aiheuttajina, joten ne erotetaan näytteissä C- ja G-streptokokeista Voger-Proskaerin testin avulla. VP-testissä testataan pystyykö bakteeri tuottamaan asetoinia. (Baron, Peterson & Finegold 1994, 346; Rantakokko- Jalava & Anttila 2010, 124.)

Viridans-streptokokeilla tarkoitetaan alun perin kaikkia alfa-hemolyttisiä streptokokeja paitsi pneumokokkia. Sitä käytetään edelleen, vaikka osa ryhmään kuuluvista bakteereista ei muodostakaan hemolyysiä tai vaikka monet alfa-hemolyttiset ketjukokit eivät muiden ominaisuuksiensa takia taksonomisesti sovi tähän ryhmään. Viridans-streptokokeja esiintyy suussa, ruuansulatuskanavassa sekä emättimessä. Vaikka ne ovat muutoin hyvin avirulentteja eli kyvyttömiä aiheuttamaan infektiota, ovat ne kuitenkin yksi yleisimmistä endokardiitin eli sydämen sisäkalvon tulehduksen aiheuttajista. Myös merkittävän osan immuniteetiltaan heikentyneiden syöpäpotilaiden sepsiksistä aiheuttavat juuri kyseiset bakteerit. (Rantakokko- Jalava & Anttila 2010, 124.)

5.1.4 Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae eli pneumokokki on merkittävä ihmisen taudinaiheuttajabakteeri. Vaikka se kuuluu hengitysteiden normaaliflooraan, se kykenee aiheuttamaan erilaisia infektiota. Näistä yleisimpiä ovat avohoitokeuhkokuume ja erityisesti lasten välikorvatulehdus niin Suomessa kuin muualakin maailmassa. Erityisesti kehitysmaissa miljoonia lapsia menehtyy sen aiheuttamaan keuhkokuumeeseen. Vakavia pneumokokin aiheuttamia infektiota ovat sepsis ja meningiitti (aivokalvontulehdus). Myös pneumokokin aiheuttama bakteeripneumonia kehittyi jälkitaudiksi osassa tapauksista vuonna 1918–1919 riehuneessa espanjantaudissa. (Kauma & Virolainen-Julkunen 2010, 112; Meurman & Heikkilä 2005, 37.)

Pneumokokit kuuluvat erään streptokokkisuvun *Streptococcus mitis*-ryhmään. Ne ovat grampositiivisesti värjäytyviä kapselillisiä diplo- tai ketjukokeja ja fakultatiivisesti anaerobisia eli ne pystyvät lisääntymään niin hapellisissa kuin hapettomissakin olosuhteissa. (Kauma & Virolainen-Julkunen 2010, 112; Meurman & Heikkilä 2005, 37.)

Diagnostiikassa pneumokokkitulehdusten perusmenetelmänä käytetään viljelyä, kun näyte on otettu tulehdukskohdasta. Pneumokokki on herkkä alhaisillekin antibioottipitoisuuksille, joten sen vuoksi

näytteet tulisi ottaa ennen antibiootihoidon aloitusta ja otetut näytteet tulisi mahdollisimman nopeasti toimittaa laboratorioon. (Kauma & Virolainen-Julkunen 2010, 116.)

Pneumokokki kasvaa parhaiten verimaljalla 5 %:ssa hiilidioksidiatmosfäärissä. Pesäkkeet ovat vaaleita, säännöllisen pyöreitä ja keskellä on matala syvennys. Muodon vuoksi niiden sanotaan muistuttavan donitsia. Lisäksi pesäkkeitä ympäröi vihertävä alfahemolyysi, joka on muodostunut kun punasolut ovat vain osittain hajonneet. Mikäli on kyse veri- tai aivo-selkäydinnestänäytteestä, tehdään ensimmäisenä gramvärjäys. Tärkeä erotusdiagnostinen menetelmä on optokiini-nimisen antibiootikiekkon käyttö, joka estää spesifisesti pneumokokkien lisääntymistä. Optokiinikiekkon avulla pneumokokit erotetaan muista alfahemolyttisistä, *viridans*-ryhmän streptokokeista. Joskus harvoin voi ilmetä kantoja, jotka ovat optokiinille resistenttejä, jolloin tunnistuksessa käytetään hyödyksi mm. pneumokokin sappiliukoisuutta, polysakkaridikapselin läsnäoloa tai PCR-menetelmää, jolla osoitetaan pneumokokille spesifiset geenit. (Chapin & Lauderdale 2007, 335; Helenius, Kilpeläinen & Taponen 2012, 26; Kauma & Virolainen-Julkunen 2010, 116.)

5.1.5 Enterokokit

1980-luvun puolivälissä *Enterococcus*-suku erotettiin omakseen streptokokeista. Enterokokit ovat suoliston normaaliflooraan kuuluvia bakteereita, joista tavallisimmat lajit ovat *Enterococcus faecalis* ja *Enterococcus faecium*. Näitä kahta lajia tavataan 90 % klinismikrobiologisista näytteistä. Näiden lisäksi muita lajeja ovat mm. *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* ja *E. hirae*. Enterokokeja esiintyy myös urogenitaalialueella, kuten välilihassa, ja vähäisissä määrin suussa. Yleisin enterokokin aiheuttama infektio on virtsatietulehdus, mutta se pystyy aiheuttamaan myös erilaisia haavatulehduksia ja vakavia sepsiksiä. Sen taudinaiheuttamiskyky on kuitenkin varsin alhainen ja useimmiten sairastuneiden elimistön puolustuskyky alentunut. Osa enterokokeista ovat vastustuskykyisiä vankomysiini-antibiootille ja näitä kantoja kutsutaan VRE:ksi (vankomysiiniresistentti enterokokki). Nämä kannat voivat aiheuttaa vaikeahoitaisia sairaalainfektioita (Fraser 2012; Meurman & Heikkilä 2005, 40; Rantakokko- Jalava & Anttila 2010, 126; Terveyden ja Hyvinvoinnin laitos 2013.)

Enterokokit ovat fakultatiivisesti anaerobeja grampositiivisia ketjukokkeja. Ne ovat luonteeltaan hyvin kestäviä, sillä ne selviytyvät ja kasvavat monenlaisissa elinympäristöissä. Ne sietävät hyvin lämpötilan vaihtelua (10–45 °C), suolaista ympäristöä (6,5 % NaCl) ja korkeaa pH:ta (9,6). (Fraser 2012; Rantakokko- Jalava & Anttila 2010, 126.)

Enterokokit kasvavat hyvin verimaljoilla 35–37 °C:een lämpötilassa ja niiden pesäkkeet ovat harmaita ja pieniä. Ne eivät yleisimmin muodosta beetahemolyysiä, mutta alfahemolyysiä voi joskus esiintyä. Harvinaisissa tapauksissa voi kuitenkin esiintyä beetahemolyttisiä kantoja. Enterokokeille voidaan soveltaa Lancefieldin ryhmän tunnistusta, jonka mukaan ne kuuluvat D-ryhmään. Muita erotusdiagnostisia testejä ovat sappieskuliinitesti sekä arabinoosikoe. Sappieskuliiniagarilla ilmentyvät enterokokit hajottavat eskuliinia ja reaktiossa muodostunut tuote reagoi raudan kanssa, mikä ilmenee maljalla mustana värinä. Sappi toimii reaktiossa selektiivisenä aineena, joka mahdollistaa reaktion. Arabinoosikokeen avulla pystytään erottamaan *E. faecium* ja *E. faecalis* toisistaan. Testin periaate on, että arabinoosimaljalla *E. faecium* fermentoi arabinoosia ja maljan väri muuttuu violetista kel-

taiseksi. *E. faecalis* ei sen sijaan fermentoi arabinoosia eli maljan väri pysyy violetina. (Chapin & Lauderdale 2007, 347; Helenius, Kilpeläinen & Taponen 2012, 30–31; Martins Teixeira, Siqueira Carvalho & Facklam 2007, 434; Rantakokko- Jalava & Anttila 2010, 126.)

5.2 Gramnegatiiviset bakteerit

5.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli on gramnegatiivinen, fakultatiivisesti anaerobinen sauvabakteeri, joka esiintyy ihmisellä suolistossa. Valtaosa suoliston aerobisesta bakteerifloorasta onkin juuri *E. coli*a, jota on suolistossa lukuisia erilaisia kantoja. Monilla *E. coli* kannoilla on polysakkaridikapseli, jota sanotaan K-antigeeniksi. Tämä polysakkaridi on erityisesti bakteereemisia infektioita aiheuttavilla kolikannoilla. Useimmilla kannoilla on myös flagelloja (värekarvoja), eli H-antigeeni. *E. coli*lla on monenlaisia fimbrioita (ripsejä) ja adhesiineja (mikrobin kiinnittymistä edistäviä pinta-antigeenejä), joiden avulla kiinnittyminen erilaisiin kudoksiin ja pintoihin on mahdollista. (Pathogen Profile Dictionary 2010; Siitonen & Vaara 2005, 176–181; Terveyskirjasto 2013.)

E. coli on ihmisen normaaliflooran bakteerina ihmiselle hyödyllinen, mutta se pystyy aiheuttamaan infektioita päästessään parenteraalitalaan ihmisen vastustuskyvyn heikennettyä tai vamman johdosta. Bakteriemia ja sepsis voivat komplisoida *E. colin* aiheuttamia kirurgisia ja sekainfektioita, sekä virtsatieinfektioita, joka on tavallisin *E. colin* aiheuttama infektio. (Siitonen & Vaara 2005, 176–181.)

E. colin tunnistaminen veriviljelystä alkaa gram-värjäyksen tarkastelulla. Gram-värjäyksessä nähdään gramnegatiivinen sauvabakteeri. Toisinaan *E. coli* näkyy mikroskoopilla gram-värjättyinä melko lyhyenä sauvana, joten sen voi helposti luulla olevan kokkibakteeri. Gramnegatiiviset sauvat voidaan erottaa toisistaan oksidaasikokeen sekä laktoosikokeen avulla. Oksidaasikokeen periaate on, että bakteerin tuottama sytokromioksideasi-entsyymi hapettaa tietyn oksidaasireagenssin indofenoliksi, mikä ilmenee tummanvioletina värinä. *E. coli* kuuluu oksidaasinegatiivisiin bakteereihin. Laktoosipositiiviset bakteerit fermentoivat kasvualustansa (esim. Cled-malja) laktoosia, jolloin maljan väri muuttuu keltaiseksi. *E. coli* on laktoosipositiivinen. Gramnegatiivinen sauvabakteeri saadaan nimettyä API- testin avulla (API 10S tai API 20E). API 20E:ssä on kaksikymmentä pientä testikammiota (API 10S sisältää kymmenen), jotka sisältävät kuivatettuja substraatteja. Kun bakteerisuspensiota laitetaan kammioihin, substraatit eivät ole enää kuivia, ja värimuutokset bakteerin aineenvaihdunnan ja pH-muutosten takia voivat tapahtua 18–24 tunnin sisällä 37 asteen lämpötilassa. Tuloksia tulkitaan siis tapahtuneiden värimuutosten perusteilla joko negatiivisiksi tai positiivisiksi, perustuen testi valmistajan tulkintataulukon. Tulkinnassa hyödynnetään kolmen peräkkäisen testin positiivisista tuloksista muodostuvaa koodia, jonka perusteella bakteeri voidaan melko luotettavalla prosenttiosuudella tunnistaa. (Atlas & Snyder 2011, 275; Baron ym. 1994, 103, 381; Helenius, Kilpeläinen & Taponen 2012, 19; Katila 2003, 356; American Society for Microbiology 2011.)

E.coli on herkkä yleisesti gramnegatiivisiin bakteereihin tehoaville lääkkeille. Kuitenkin moniresistenssi on yleistä sairaaloissa, joissa käytetään paljon bakteerilääkkeitä, joten yleensä herkkyysmäärittäminen on tarpeen. Kun *E.coli* on aiheuttanut septisen infektion, on tärkeää käyttää mahdollisimman varmasti tehoavaa lääkettä. (Siitonen & Vaara 2005, 180.)

5.2.2 Klebsiellat

Klebsiella-suku kuuluu gramnegatiivisiin anaerobisiin sauvabakteereihin. Ne ovat liikkumattomia, käymisen avulla energiaa käyttöönsä vapauttavia ja lysiinidekarboksylaasia tuottavia bakteereja. *Klebsiellat* ovat yleinen bakteerilaji ihmisen suolistossa, jossa se ei kuitenkaan ole taudinaiheuttaja. *Klebsiellan* ominaisuuksiin ja sen taudinaiheuttamiskykyyn kuuluu sen kyky muodostaa polysakkariidikapselia. Kapselityyppejä (K-antigeenityyppejä), on yli 70. Kuitenkin vain kahden kapselityypin, K1 ja K2, ajatellaan olevan kaikkein taudinaiheuttamiskykyisimpiä. *Klebsiella* lajeista *K. pneumoniae* ja *K. oxytoca* ovat ihmiselle patogeenisia. *Klebsiellan* aiheuttamia infektioita esiintyy yleensä potilailla, jotka ovat jo sairaalassa muista syistä. Täysin terveet ihmiset eivät yleensä saa *Klebsiellan* aiheuttamia infektioita. (Tissari & Anttila 2005, 192.)

Polysakkariidikapselin muodostuksen vuoksi *Klebsiellat* näkyvät elatusainemaljoilla limaisina pesäkkeinä. Voges-Proskauerin (VP) testissä *Klebsiellat* ovat yleensä positiivisia. Testiä käytetään asetoiinin havaitsemiseen. Asetoiinia muodostuu kun tietty bakteeri tuottaa sitä kasvaessaan puskuroidussa peptiini-glukoosi liemessä. *Klebsiella* on positiivinen myös lysiinidekarboksyylin osalta, sillä se tuottaa lysiinidekarboksylaasia. *Klebsiellat* ovat myös laktoosipositiivisia, mutta oksidaasinegatiivisia. Eräät *Raoultella*-bakteerilajit ovat ominaisuuksiltaan hyvin samanlaisia kuin *K. pneumoniae*, joten niiden erottaminen biokemiallisesti ilman erityisiä testejä on vaikeaa. Laboratorioissa tarkempi lajityypitys tehdään API-testillä, josta on kerrottu jo *E.colin* yhteydessä. (Abbott 2011, 643; 646; Anttila & Tissari 2005, 192; Atlas & Snyder 2011, 273–274.)

K. pneumoniaesta, kuten myös *E. colista*, esiintyy ESBL-kantaa. ESBL tarkoittaa laajakirjoista beeta-laktamaasientsyymiä, jolla on kyky pilkkoa mikrobilääkkeitä. Kyseistä entsyymiä tuottavat bakteerit ovat vastustuskykyisiä yleisimmille sairaaloissa käytettäville antibiooteille. ESBL:ään voi liittyä myös moniresistenttiys, jolloin bakteeri voi olla vastustuskykyinen useimmille antibiooteille. (Terveystieteiden tutkimuskeskus ja Hyvinvoinninlaitos 2013.)

5.2.3 Pseudomonakset

Pseudomonaksista tärkein on *P. aeruginosa*. Se on aerobisissa oloissa viihtyvä bakteeri, mutta pysyy kasvamaan myös anaerobisissa oloissa, mikäli olosuhteet ovat otolliset. Muuten *P.aeruginosa* on kasvuvaatimuksiltaan melko vaatimaton, mutta kosteat olosuhteet ovat sitä suosivia. Ihmisillä sillä esiintyy tavallisimmin välilihassa, kainaloissa ja korvissa. Altistavia tekijöitä kolonisaatiolle ovat sairaalahoitossa mm. palovammat, krooniset säərihaavat sekä respiraattorihoito. Infektioiden aiheuttajana se on opportunisti. Vaikka sillä on useita virulenssitekijöitä, ei se pysty aiheuttamaan infektiota perusterveelle ihmiselle, vaan varsinaisen infektion syntyyn tarvitaan jokin immuunipuolustusta hei-

kentävä tekijä. Kun *P.aeruginosa* löytyy veriviljelystä, on sen saaneista potilaista yli 90 %:lla jokin perussairaus. Bakteremiariskiä lisääviä tekijöitä ovat muun muassa antimikrobihoito, katetrit, jokin invasiivinen toimenpide tai kirurginen operaatio. Pesäkkeinen *P.aeruginosa*-bakteremia liittyy tavallisesti keuhkokuumeeseen, virtsatieinfektioon tai kirurgiseen toimenpiteeseen. (Anttila & Tissari 2005, 195–199.)

P. aeruginosa on gramnegatiivinen, fakultatiivisesti anaerobinen sauvabakteeri. Maljalla se kasvaa litteänä, värillisen ja metallinkiiltoisena pesäkkeenä. Oksidaasireaktiossa se on positiivinen. *P. aeruginosa*lla on myös tyypillinen hedelmäinen tuoksu. *P.aeruginosa*-viljelmät saattavat olla kannan tuottaman pigmentin perusteella joko sinertäviä, vihertäviä, punertavia tai mustia. Kuten muutkin gramnegatiiviset sauvabakteerit, myös *P. aeruginosa* voidaan lopullisesti tunnistaa API-testin avulla. (Anttila & Tissari 2005, 195–196.)

P.aeruginosa rakenne suojaa sitä tehokkaasti useimmilta antimikrobeilta. Sen ulkomembraani on tehokas läpäisyeste ja sen seinämässä on myös antibiootteja solusta pois kuljettavia ”pumppuja”. Nämä tehostavat *P. aeruginosan* tuottamien beetalaktamaasien vaikutusta. (Anttila & Tissari 2005, 199.)

5.3 Sienten tunnistaminen – Candida-suku

Candida on opportunistisista taudinaiheuttajista yleisin hiivasienisuku. Viljelyalustalla ne muodostavat kermanvaaleita pesäkkeitä. Yleisimmät infektion aiheuttajat ovat: *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* ja *C. parapsilosis*. Hiivasienet kasvavat hyvin agarmaljoilla ja tavallisissa veriviljelypulloissa, eivätkä ne välttämättä vaadi erillistä sienten viljelyyn tarkoitettua kasvualustaa. Gramvärjäyksessä *Candida albicans* on gram-positiivinen ja värjäyksessä voi näkyä myös valerihmaa. (Anttila ym. 2005, 298; Meurman 2010.)

Candida albicans on yleisin ihmisessä esiintyvä hiivasieni. Terveen ihmisen normaalifloorassa sitä on niin iholla kuin myös limakalvoilla (suussa, maha-suolikanavassa ja genitaalialueella). *Candida albicans* on opportunisti, joten sen taudinaiheuttamiskyky on terveellä ihmisellä vähäinen. Oireisen infektion voi saada henkilö, jolla immuunipuolustus on heikentynyt. Kandidainfektiot ovatkin yleensä lähtöisin potilaan omasta normaalifloorasta. (Anttila ym. 2005, 298–299.)

Candida albicansin voi erottaa muista *Candida*-suvun hiivasienistä siten, että se muodostaa itiöputkia. Tätä varten voidaan tehdä seerumitestit, jossa hiivakantaa inkuboidaan seerumissa 2-3 tuntia. (Silvennoinen-Kassinen 1996, 442.; Anttila ym. 2005, 298.) Näytteestä otetaan tippa objektilasille, jota tarkastellaan natiivisti mikroskoopilla. Natiivisesti mikroskoopilla tarkastelu tarkoittaa sitä, että mikrobien esiintymistä ja rakennetta arvioidaan ilman värien käyttöä. Näytettä ei kiinnitetä lasiin, vaan se tutkitaan nesteinä peitinlasiin alla. Menetelmä soveltuu hyvin bakteereja suurempien mikrobien, kuten tässä tapauksessa sienten, osoittamiseen. (Katila 2003, 347.)

5.4 Mikrobien lääkeaineherkkyyksien määrittäminen

Lääkeaineherkkyyismääritysten tarkoituksena on saada selville tutkittavan antimikrobilääkkeen hoitovaste tutkittavan bakteerin aiheuttamaa infektiota vastaan. Lääkeaineherkkyydet tehdään, kun bakteeri on saatu tunnistettua. Lisäksi tarkoituksena on havaita kyseisen bakteerikannan mahdollinen resistenssi (vastustuskyky) antimikrobilääkettä vastaan. Tästä syystä lääkeaineherkkyys tulee tehdä vain niille lääkkeille, joille bakteeri on luonnostaan herkkä. Toisin sanoen, kunkin bakteerilajin herkkyysmäärittämiseen valitaan vain tietty valikoima lääkkeitä, jotka ovat suositeltuja kyseisen bakteri-infektion hoitoon. Määrittystä ei kuitenkaan tehdä, jos laji on poikkeuksetta aina herkkä tai aina resistentti kyseiselle antimikrobilääkkeelle. (Katila 2003, 357; Nissinen 2006, 202.)

Lääkeherkkyyden mittaaminen tapahtuu bakteerikasvun estymisen perusteella, kun tutkittavaa lääkettä on läsnä. Rutiinisti lääkeaineherkkyyismäärittämisessä käytetään ns. kiekkomenetelmää, jossa määritetään lääkeaineen tietyn pitoisuuden estovaikutus tutkittavan kannan kasvulle. Kiekkomenetelmä on suhteellinen, ja siinä mittaustulos on estorenkään halkaisija millimetreinä (mm). Lääkkeet on yleensä annosteltu 6 mm läpimittaisiin kiekkoihin, jotka lisätään herkkyysmäärittämaljalle. Maljalle on ensin siirrostettu tutkittavasta kannasta tehtyä solususpensiota. Maljan annetaan kasvaa 18 tuntia, jonka jälkeen voidaan mitata kiekkojen aikaansaamat estorenkaat millimetreinä. (Katila 2003, 357; Nissinen 2006, 202.)

Millimetreinä saatua tulosta verrataan kyseisen lajin herkillä ja resistenteilla kannoilla saatuihin estorengastuloksiin. Tulos ilmoitetaan SIR-tulkinnan mukaisesti, jossa S (sensitive) tarkoittaa bakteerin olevan herkkä kyseiselle lääkeaineelle ja R (resistant) tarkoittaa kyseisen bakteerin olevan vastustuskykyinen kyseiselle lääkeaineelle. I (intermediate) tarkoittaa, että bakteerin sietokyky lääkkeelle saattaa olla normaalia korkeampi. Kiekkomenetelmässä bakteerin sietokyky lääkkeelle voidaan luotettavasti havainnoida vasta sitten, kun sietokyky on kasvanut kymmenkertaiseksi. Tämä kymmenkertainen kasvu resistenssissä vastaa noin 7-8 mm pienenemää estorenkään halkaisijassa. (Katila 2003, 357; Nissinen 2006, 202.)

Sienille voidaan tehdä lääkeherkkyyismäärittämiä samalla tavalla kuin bakteereillekin. Edellytyksenä kuitenkin on, että sieni kasvaa sopivalla herkkyysmaljalla 1-2 vuorokauden ajassa kasvustona, jonka estyminen lääkeaineen aiheuttamana voidaan havaita ja mitata. Lääkeherkkyyismäärittäminen sienille tulisi laboratoriossa tehdä silloin, kun infektion aiheuttajana on sieni, jonka herkkyden epäillään alentuneen ensisijaiselle sienilääkkeelle. Määrittämiä tehdäänkin pääsääntöisesti *Candida*-suvun hiivoille, vaikka sienten lääkeherkkyyismäärittämiä on ollut vaikeampi vakioida rutiinimenetelmiksi (vrt. bakteerien herkkyysmäärittämiä) erityisesti sienen kasvun estorenkään tulkitsemisen hankaluuden vuoksi. *Candida albicans* on kuitenkin pääsääntöisesti katsoen herkkä sienilääkkeille. (Koskela 2006, 208.)

6 VERIVILJELYTULOSTEN ARVIOINTI

Kliinisen laboratoriotutkimusprosessin viimeinen vaihe on postanalyttinen vaihe. Postanalyttisessä vaiheessa arvioidaan analyysien onnistumista ja tulosten luotettavuutta. Tulosten tarkastamisen ja hyväksymisen jälkeen laboratorio raportoi ne pyytävälle lääkärille tietojärjestelmiä hyväksi käyttäen. Lääkäri tulkitsee vastauksen ja tekee vastauksen perusteella hoitopäätöksen. Hoitopäätös tehdään usein jo gramvärjäystuloksen saatua, jolloin aloitetaan ensilinjan antibioottihoito potilaalle. Tämä tehdään, koska varhain aloitettu antibioottihoito parantaa potilaan ennustetta. Veriviljelyiden tulosten luotettavuutta on tärkeää arvioida mahdollisten häiriötekijöiden, kuten kontaminaatioiden varalta. Mikäli tullaan siihen tulokseen, että näyte ei ole kelvollinen syystä tai toisesta, voidaan pyytää uusi näyte. Analysoidut näytteet säilytetään tietyn ajan mahdollisia uusintatutkimuksia, tarkistuksia tai jatkomäärittämyksiä varten. (Hautala 2007, 38; Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008; 12–13.)

Veriviljelylöydöksen osalta on tärkeää arvioida, onko kyseessä näytteenottokontaminaatio vai aito, tautia aiheuttava mikrobi. Löydöksen arviointia merkittävänä patogeenina edesauttaa positiivisten veriviljelypullojen määrä. Kun löydös tunnistetaan vain yhdestä pullosta, kasvun merkitsevyys riippuu niin potilaan taudinkuvasta kuin eristetyistä bakteerista. Mikäli eristetty bakteeri on jokin ihon normaaliflooran bakteeri, kuten *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus* spp., propionibakteeri tai aerobinen korynebakteeri ja ylipäättään bakteremia on epätodennäköinen potilaan taudinkuvaan nähden, tulosta voidaan pitää mitä todennäköisimmin kontaminaationa. Mitä useammassa pullossa ja mitä useammin näyte on otettu, sitä varmempana voidaan pitää todellista bakteremiaa. Välttämättä tässä vaiheessa ei ole selvillä, mistä patogeeni on tunkeutunut elimistöön. Lisäveriviljelyiden avulla löydöksen arviointi voi muuttua kontaminaatiosta oikeaksi taudinaiheuttajaksi tai toisin päin potilaan hoidon myöhemmässä vaiheessa. Kontaminaation mahdollisuus on aina huomioitava tarkasteltaessa veriviljelyn tuloksia, sillä väärällä positiivisella tuloksella on niin inhimillisiä kuin taloudellisiakin seurauksia. Inhimillisiä seurauksia ovat mm. potilaan sairaalassa olon pidentyminen ja tarpeettomien antibioottikuurien syöminen, kun taas taloudellisia seurauksia ovat laboratorion ajan ja resurssien kuluttaminen turhiin lisämäärittämyksiin. (Ernst 2004, 14; Fimlab 2011; Koskela 2001, 34.)

7 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

Opinnäytetyömme tarkoituksena on tuottaa oppimateriaali veriviljelyiden kliinisestä laboratoriotyöprosessista. Tavoitteenamme on oppimateriaalin avulla antaa kattava ja selkeä kuva veriviljelyiden kliinisestä laboratoriotyöprosessista Savonia-AMK:n bioanalyttikko-opiskelijoille sekä tukea heidän oppimistaan mikrobiologian osa-alueella. Oppimateriaalimme gramvärjäyksestä ja erilaisista bakteereista voi käyttää myös muuhunkin mikrobiologian opiskelemiseen kuin vain pelkästään veriviljelyihin liittyvään opiskelemiseen. Oppimateriaali voi soveltua preanalytiikan osalta myös veriviljelynäytteitä ottaville sairaanhoitajaopiskelijoille. Tämä opinnäytetyö on tarpeellinen, sillä siitä bioanalyttikko-opiskelijat saavat yhdestä paikasta tiedon veriviljelyiden koko kliinisestä laboratoriotyöprosessista, joka on olennainen osa bioanalyttikon ammattiosaamista. Aiemmin koulullamme on tehty muun muassa mikrobiologian työohjeita ja mikrobiologisten näytteiden ottoon perehdyttävä DVD, mutta ei varsinaisesti pelkästään veriviljelyn tutkimista prosessina käsittelevää opinnäytetyötä.

Oppimateriaali on tarkoitus julkaista verkossa, jossa sen päivittäminen ja saatavuus ovat parhaimmillaan. Oppimateriaaliin on tarkoitus myös liittää havainnollistavia kuvia maljakasvustoista sekä gramvärjätyistä bakteereista. Lisäksi oppimateriaalissa on oppimisen sisäistämistä ja soveltamista tukevia tehtäviä, kuten oikein/väärin-tehtäviä sekä muita erilaisia kysymyksiä. Opinnäytetyömme on toiminnallinen opinnäytetyö, jota varten olemme keränneet mahdollisimman paljon tietoa eri kirjallisuuslähteistä sekä kuvanneet itse kuvamateriaalia. Työssämme emme paneudu varsinaisiin mikrobiologisiin työohjeisiin.

8 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

Ajatus veriviljelyistä opinnäytetyön aiheena tuli talvella 2013, kun meille pidettiin erilaisia opinnäytetyöprosessiin liittyviä pajoja. Oma, henkilökohtainen mielenkiintomme mikrobiologian erikoisalaa kohtaan oli taustalla, jonka vuoksi halusimme aiheen kyseiseltä osa-alueelta. Pohdimme ohjaavan opettajamme kanssa, että voisimme opinnäytetyömme toteuttaa toiminnallisena opinnäytetyönä, johon kuuluisi niin raportti kuin toteutettava tuotos. Päädyimme siihen, että tuotoksena olisi oppimateriaali veriviljelyistä ensisijaisesti bioanalyttikko-opiskelijoille. Selvittäessämme tuotoksen tarpeellisuutta huomasimme, että koululla ei juuri ollut konkreettista oppimateriaalia veriviljelyiden tutkimisprosessista paitsi niiden näytteenotosta. Tekemällä opinnäytetyön tästä aiheesta se lisäisi niin omaa ammatillista osaamistamme veriviljelyiden laboratorioprosessista ja oppimateriaalin teosta kuin hyödyttäisi tulevia opiskelijoita selkeän ja laadukkaan teorian avulla.

Opinnäytetyöprosessi pääsi alkamaan kevättalvella 2013, kun aloitimme tiedonhaun ja tekemällä aihekuvauksen. Allekirjoitimme myös ohjeis- ja hankkeistamissopimuksen Savonia-ammattikorkeakoulun kanssa. Oppilaitoksen bioanalytiikan koulutusohjelma tuli opinnäytetyömme tilaajaksi. Tiedonhaun aikana käytimme pääsääntöisesti CINAHL-, Medic- ja PubMed- tietokannoista löytämiämme artikkeleita opinnäytetyömme teorian kirjoittamiseen. Käytimme myös Internetin vapaata sanahakua. Käytettyjä hakutermejä suomenkielisistä tietokannoista olivat mm. veri, veriviljely, mikrobiologia, bakteremia, bakteerit, näytteenotto ja mikrobiologinen diagnostiikka. Englanninkielisistä tietokannoista etsimme mm. blood-, cultures-, bacteremia-, microbiology- ja diagnostics- hakutermeillä. Näitä käytettiin monesti yhdistettynä, jotta tietokannoista löytyisi tarkoituksenmukaisia tietolähteitä.

Kun olimme saaneet riittävästi tiedonlähteitä, valmistui keväällä 2013 myös opinnäytetyösuunnitelma. Jatkoimme kuitenkin tiedonhakua edelleen saadaksemme hyvän teoriapohjan opinnäyteteraportille ja tuotokselle. Loppukevästä kävimme kuvaamassa ISLAB:n Puijon mikrobiologian laboratoriossa valmiiksi viljeltyjä bakteerimaljoja havainnollistaviksi kuviksi oppimateriaaliimme. Valitsimme kuvattavat bakteerimaljat luonnollisesti sen perusteella, mitä aioimme esitellä oppimateriaalissamme. Kun päätimme kuvata maljat itse, ei meidän tarvinnut kysyä kuvien käyttämisoikeutta alkuperäiseltä kuvaajalta.

Opinnäyteteraporttia ja tuotosta varten käytimme tiedonlähteenä mikrobiologista kirjallisuutta, ammattialamme lehtiä sekä luotettavia Internet-lähteitä. Tärkeimpiä lähteitä olivat Moodi 5/2010- lehden Veriviljelyn näytteenotto (Nissinen 2010), Moodi 1/2007- lehden Veriviljely vaikeiden infektioiden diagnostiikassa- laboratorion näkökulma (Kauppila 2007) sekä Medical Laboratory Observer- lehden verkkojulkaisu Controlling blood-culture contamination rates. Bakteriologisen tiedon tärkeimpiä lähteitä olivat Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet- kirjasarjan ensimmäinen kirja Mikrobiologia (Hedman ym. 2010), Mikrobiologia ja infektiosairaudet- kirjasarjan ensimmäinen kirja Mikrobiologia (Huovinen ym. 2005), Kliiniset laboratoriotutkimukset- kirja (Penttilä 2003) sekä Manual of Clinical Microbiology (Murray ym. 2007).

Kesän ja syksyn 2013 aikana kirjoitimme työmme teoriapohjaa. Syksyn aikana meillä oli palavereita ohjaavan opettajamme kanssa, joka antamalla hyviä ehdotuksia selkeytti paljon opinnäytetyöprosessia, mikäli olimme kohdanneet epäselviä tilanteita. Kävimme myös ABC- pajassa, joka tarjosi neuvoja kielenohjaukseen. Syksyllä saimme Puijon mikrobiologian laboratoriosta gramvärjättyjä laseja, jotka sitten kuvasimme koulullamme hematologian luokassa mikroskoopin ja siihen kytkettävän kamerasen avulla asiaan perehtyneen opettajan avustuksella. Nämäkin kuvat tulivat oppimateriaaliin niiden havainnollisuuden vuoksi.

Kun teoriapohja oli saatu tehtyä kokonaan loppuun, kokosimme sen pohjalta valmistuneen tuotoksemme, oppimateriaalin veriviljelyistä. Ennen oppimateriaalin kokoamista tutustuimme Savonia-ammattikorkeakoulun mikrobiologian kurssikuvaukseen, jotta osaisimme koota oppimateriaalin oppimistavoitteiden mukaisesti. Oppimistavoitteiden mukaan pyrimme sisällyttämään materiaaliimme veriviljelyihin liittyvät käsitteet ja bakteriologisten tutkimusten perusteet sekä teorian tietoa koko kliinisestä laboratoriotyöprosessista, jotta oppija harjaantuisi mahdollisimman hyvin soveltamaan tätä tietoa käytännössä.

Tuotos palvelee pääasiassa bioanalytiikan opiskelijoita. Se on kirjoitettu siihen muotoon olettaen, että lukijalla ei ole minkäänlaisia perustietoja veriviljelyistä, mutta omaa perustiedot anatomiasta, fysiologiasta ja näytteenotosta. Tuotoksen näkökulma on bioanalytiikan ammatillinen osaaminen veriviljelyiden tutkimusprosessissa. Määritelmät ovat avatut selkeästi ja perusteellisesti, joten se on selkokielen. Näin ollen sitä voidaan suositella käytettäväksi myös muiden alojen, kuten sairaanhoitajaopiskelijoiden, oppimateriaalina. Sairaanhoitajaopiskelijoille voidaan suositella eritoten Veriviljelyiden näytteenotto- lukua. Selkeyden ja ymmärrettävyyden takia teoriapohjasta on koottu tiivistävästi tärkeimpiä asioita oppimateriaaliin, jotta se ei sisältäisi tarpeetonta tietoa. Se etenee johdonmukaisesti alkaen esittelemällä yleisesti bakteerien ominaisuuksia ja sen jälkeen edeten kliinisen laboratoriotyöprosessin mukaisesti käsittelemällä ensin preanalytiikkaa, analytiikkaa ja lopuksi postanalytiikkaa. Analytiikkaosa koostuu suurelta osin tärkeimpien löydösten esittelystä, jossa on kerrottu lajikohtaisia bakteriologisia menetelmiä. Veriviljelyihin liittyviä sairaustiloja on myös esitelty alussa, jotta lukija sisäistäisi niiden kliinisen merkityksen.

Käytimme tekstissä tehokkeinona tärkeimpien termien ja asioiden kohdalla tekstin lihavoitinta ja punaista väriä. Liitimme oppimateriaaliin havainnollistavia kuvia ja lisäsimme loppuun aiheeseen liittyviä kysymyksiä. Tällä tavoin pyrimme ottamaan huomioon erilaiset oppimistyyliä ja tehostamaan oppimista olemalla informatiivinen. Tunnit voidaan aloittaa kysymyksen avulla johdattelulla aiheeseen, johon opiskelijat ovat voineet tutustua oman halunsa mukaan jo aiemmin. Tuotos on jäsennetty niin, että sitä voidaan käyttää aiheen mukaisesti opettamisen tukena esimerkiksi tunnin aiheena ollessa laadukas veriviljelynäyte ja sen näytteenotto. Kurssin edetessä voidaan opetuksen tukena käyttää bakteriologista tietoa niin veriviljelyiden yhteydessä kuin esiteltäessä yleisesti bakteerien perusominaisuuksia, joten tuotos palvelee monia opetustarkoituksia. Tuotoksesta tehtiin PDF-tiedosto, jolloin laajempi lukijakunta pääsee siihen käsiksi verraten yhteen painettuun kappaleeseen. PDF-tiedostona se voidaan myös helposti tulostaa halukkaille. Tuotoksen käyttöoikeudet luovutettiin Savonia-ammattikorkeakoululle, jolloin heillä on oikeudet tarvittaessa päivittää sitä.

9 POHDINTA

9.1 Tavoitteiden toteutuminen

Opinnäytetyömme tuotos oli oppimateriaali veriviljelyiden laboratoriotutkimusprosessista bioanalyttikko-opiskelijoille. Pää tavoitteena oli tuotoksen avulla edistää opiskelijoiden teoriaosaamista tällä mikrobiologian osa-alueella. Mielestämme pääsimme tavoitteeseemme hyvin, sillä oppimateriaalista tuli selkeä, johdonmukainen, havainnollistava ja kohderyhmänsä huomioiva.

Opinnäytetyömme oli toiminnallinen opinnäytetyö. Kun aloimme työstämään oppimateriaalia, selvitimme millainen toiminnallisen opinnäytetyön tuotos kuuluu olla. Toiminnallisessa opinnäytetyössä luodaan viestinnällisin ja visuaalisin keinoin kokonaisilme, josta voidaan tunnistaa tavoitellut päämäärät. Tekstejä sisältävä tuotos on suunniteltava niin, että se on kohderyhmää palveleva. Tuotoksen kuuluu myös olla informatiivinen, selkeä ja johdonmukainen. (Vilkkä & Airaksinen 2004, 51.) Työstäessämme oppimateriaalia tutustuimme myös Savonia-ammattikorkeakoulun klinisen mikrobiologian opintojakson osaamistavoitteisiin. Osaamistavoitteiden mukaan oppija tuntee klinisen mikrobiologian käsitteistön ja tutkimusten perusteet sekä harjaantuu soveltamaan opinnoissaan klinisen laboratoriotutkimusprosessin vaiheita työ- ja potilasturvallisuuden periaatteita noudattaen. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2010.)

Huomioiden nämä osaamistavoitteet teimme oppimateriaalista mahdollisimman selkeän, informatiivisen ja kiinnostusta herättävän. Tuotoksen aiheet etenevät johdonmukaisesti esitellen ensin veriviljelyiden klinistä taustaa ja edeten preanalytiikan ja analytiikan kautta postanalytiikkaan. Näin tuotos myös huomioi bioanalyttikko-opiskelijat, sillä heidän täytyy hallita nämä kaikki klinisen laboratorio-prosessin vaiheet. Kuitenkin oppimateriaali on kirjoitettu tiiviiseen muotoon sisällyttäen tärkeimmät asiat oppimisen kannalta, jotta turha tieto ei alentaisi opiskelumotivaatiota. Tärkeimmät käsitteet lihavoiitiin ja kirjoitettiin huomiovärillä, jotta tuotos saataisiin mahdollisimman informatiiviseksi. Visuaalisia keinoja on sovellettu tuotokseen erilaisten kuvien muodossa, jotka herättävät kiinnostusta aiheita kohtaan. Myös oppimateriaalin lopussa olevien kysymysten tarkoitus on herättää kiinnostusta ja tehostaa oppimista. Samoin näiden kaikkien keinojen tarkoitus on huomioida opiskelijoiden erilaiset oppimistavat, jotta tuotos olisi hyödyllinen mahdollisimman monelle opiskelijalle.

Oppimateriaalin toimivuudesta emme kuitenkaan voi olla täysin varmoja, sillä emme ehtineet pyytää mitään opiskelijaryhmää antamaan siitä palautetta. Toimivuus voidaan todeta vasta sitten, kun sitä käytetään opintojaksolla oppimistilanteessa.

9.2 Eettisyys ja luotettavuus

Tehdessämme opinnäytetyötä pyrimme toimimaan tutkijan ammattietiikan ja bioanalyttikon eettisten ohjeiden mukaisesti. Tutkijan ammattietiikka koostuu eettisistä periaatteista, säännöistä, normeista, arvoista ja hyveistä, joita tutkijan tulisi noudattaa harjoittaessaan tutkimustyötä. Opinnäytetyömme kannalta meitä koskivat erityisesti tutkijan ammattietiikan älyllisen kiinnostuksen, tunnollisuuden ja rehellisyyden vaatimukset. Älyllisen kiinnostuksen vaatimus pitää sisällään, että tutkija on aidosti kiinnostunut uuden informaation hankkimisesta ja tunnollisuuden vaatimus sen, että tutkijan

on paneuduttava tunnollisesti alaansa, jotta hänen tuottamansa informaatio olisi mahdollisimman luotettavaa. Viimeinen, rehellisyyden vaatimus tarkoittaa, että tutkija ei saa syyllistyä vilpin harjoittamiseen. (Pietarinen 1999.) Älyllisen kiinnostuksen vaatimuksen huomioimme siten, että olimme hyvin motivoituneita hankkimaan tietoa opinnäytetyöhömmme. Tämä ilmeni niin, että etsimme tietoa luotettavista lähteistä ja käytimme paljon aikaa tiedonhakuun. Tähän voidaan sisällyttää myös tunnollisuuden vaatimus. Rehellisyyden vaatimusta pidimme itsestään selvänä, emmekä käyttäneet vilpillisiä keinoja opinnäytetyötä tehdessämme.

Bioanalyytikon eettiset ohjeet ohjasivat myös omaa toimintaamme. Bioanalyytikon toiminnan ensisijaisia tavoitteita ovat asiakkaan/potilaan hyvinvointi ja hänen oikeuksiensa kunnioittaminen. Lisäksi bioanalyytikon tulee käyttää hyväksytyjä menetelmiä ja vastata laadusta ja luotettavuudesta laboratoriotutkimusprosessin kaikissa vaiheissa. Hän myös käsittelee kaikkia näytteitä kunnioittaen luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia. Bioanalyytikolla on velvollisuus ylläpitää ja kehittää ammattitoimintansa edellyttämää osaamista sekä omaksua uusia, tieteellisesti tutkittuja ja hyväksytyjä menetelmiä ja työtapoja. (Suomen Bioanalytikkoliitto 2006.) Koska opinnäytetyömme tavoite on edistää bioanalytikko-opiskelijoiden osaamista mikrobiologian osa-alueella, palvelee tämä asiakkaan/potilaan hyvinvointia ja oikeuksia. Kun työelämässä osataan käsitellä veriviljelynäytteitä jokaisessa kliinisen laboratoriotyöprosessin vaiheessa laadukkaasti, edistää tämä potilaan oikeuksiin kuuluvaa hyvää hoitoa. Opinnäytetyö esittelee opiskelijoille vain niitä tieteellisesti tutkittuja ja hyväksytyjä toimintatapoja, jotka ovat yleisesti käytössä veriviljelydiagnostiikassa eri paikkakuntien laboratorioissa Suomessa. Pyrimme painottamaan opinnäytetyössämme laadukkaita ja luotettavia työskentelytapoja, joihin sisältyy ehdoton yksityisyydensuoja.

Kun arvioimme opinnäytetyömme luotettavuutta, pohdimme ensimmäisenä käyttämiemme lähteiden laatua. Pyrimme opinnäytetyötämme tehdessämme käyttämään lähteitä, jotka eivät olisi yli kymmenen vuotta vanhoja. Varsinkin artikkelilähteiden ja verkkosivustoilta käyttämiemme tietojen yhteydessä pyrimme kiinnittämään huomiota niiden ajantasaisuuteen. Muutamia poikkeuksia jouduimme kuitenkin tekemään muun muassa kirjallisuuslähteiden kohdalta. Mikrobiologia on sellainen laboratoriotyöskentelyn osa-alue, jossa ei suuria muutoksia muun muassa bakteerien tunnistusmenetelmiin ja tietoihin itse bakteereista ole tullut. Tästä syystä pidimme luotettavina myös hieman vanhempiaakin lähteitä. Muutenkin lähteitä arvioidessamme pyrimme kiinnittämään huomiota lähdekritiikkiin, eli käytimme vain lähteitä, jotka olivat julkaistu luotettavilla Internet-sivuilla, alan lehdissä (esimerkiksi *Moodissa*) tai alan kirjallisuudessa (oppikirjat).

Opinnäytetyötämme varten kuvaamissamme kuvissa pyrimme kiinnittämään erityistä huomiota kuvien laatuun ja siihen että kuvat palvelevat käyttötarkoitustaan. Kuvien tarkoituksena opinnäytetyössämme on antaa havainnollistava kuva opiskelijoille siitä, minkä näköisinä gramvärjätyt bakteerit näkyvät mikroskoopilla ja minkä näköistä on erilaisten mikrobien kasvustot maljoilla. Sekä gramvärjätyt bakteerit että mikrobikasvustot maljoilla saimme Puijon kliinisen mikrobiologian laboratoriosta, joten pystyimme luottamaan niiden laatuun. Kuvia ottaessa luotettavuuteen vaikutti olennaisesti oma tasomme kuvata kyseisiä kuvia. Kuvatessa mikrobikasvustoja maljoilla meillä olikin hieman vaikeuksia saada hyviä ja selviä kuvia aikaiseksi, joten jouduimme ottamaan monia kuvia ennen kuin olimme

tyytyväisiä niiden laatuun. Käytössämme oleva kamera ei myöskään ollut parhain mahdollinen, mutta kuvat onnistuivat silti mielestämme hyvin käyttötarkoitukseensa nähden. Mikroskooppikameraa emme ennestään osanneet käyttää, mutta asiaan perehtyneen opettajan opastuksella saimme myös gramvärjätystä bakteereista kuvat onnistumaan hyvin.

Arvioimme opinnäytetyömme luotettavuutta oppimateriaalina tehdessämme työtämme. Pohdimme niin oppimateriaalin yleisiä laatukriteereitä kuin myös verkko-oppimateriaalin laatukriteereitä. Oppimateriaalissamme toteutuu pedagoginen laatu, sillä se soveltuu mielestämme luontevasti opetus- ja opiskelukäyttöön bioanalyttikoiden kliinisen mikrobiologian kurssilla. Se voi olla tukena opetuksessa ja oppimisessa sekä se on yhteydessä käyttötilanteeseen ja käyttäjien odotuksiin ja osaamiseen. Käyttökonteksti on pyritty ottamaan huomioon. (Högman 2006, 14, 15.) Oppimateriaalin kriteereistä (Högman 2006, 9.) sisällön tarkoituksenmukaisuuden rajaus, kohderyhmän tuntemus ja sisällöntuottajien asiantuntemus toteutuivat tuotoksessamme. Oppimateriaalimme sisältö on rajattu liittymään veriviljelyiden tutkimisprosessiin, vaikkakin oppimateriaalimme sisältää myös tietoja, joita voidaan käyttää myös muun mikrobiologian opiskelun yhteydessä. Tunsimme kohderyhmän entuudestaan, sillä olemmehan itsekkin kuuluneet siihen. Meillä oppimateriaalin tekijöillä on asiantuntemusta aiheesta niin suoritettujen mikrobiologian kurssien ja harjoitusten ansiosta, kuin myös joiltain osin työelämästä saatujen käytännön kokemusten myötä. Kehitimme asiantuntijuuttamme jatkuvasti oppimateriaalia tehdessämme. Pyrimme tekemään siitä mahdollisimman helppolukuisen sekä loogisesti etenevän ja tarjoamaan opiskelijalle mahdollisuuden testata tietojaan kysymyksiensä avulla.

9.3 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyön prosessi oli luonteeltaan haastava sen laajuuden vuoksi. Haastavaa oli myös se, ettei meistä kumpikaan ollut aikaisemmin tehnyt opinnäytetyötä. Tämä aiheutti välillä hieman epäselviä tilanteita, mutta onneksi ohjaava opettajamme osasi antaa hyviä neuvoja. Ajankäytön ongelmia ilmaantui myös aika ajoin, mutta saimme onneksi aina lopulta organisoitua tekemisemme. Välillä myös tiedonhaku tuotti päänvaivaa, kun monissa tietolähteissä painotettiin pelkästään veriviljelyiden näytteenottoa.

Ennen kuin aloitimme tekemään opinnäytetyötä, olimme kiinnostuneita kliinisen mikrobiologian erikoisalasta. Tämä vaikutti paljon opinnäytetyön aiheen valintaan. Perehtyessämme mikrobiologiseen teoriatietoon syvensimme asiantuntijuuttamme tästä erikoisalasta. Opinnäytetyömme luonteen vuoksi saimme perehtyä niin veriviljelynäytteiden käsittelyyn kuin eri bakteerien perusominaisuuksiin ja tunnistusmenetelmiin. Koemme tämän hyvin tärkeäksi ammatillisen kasvun takia, koska nyt ymmärrämme kuinka jokainen laboratoriotyöprosessin vaihe nivoutuu yhteen ja niiden jokaisen onnistuminen on tärkeää potilaan hoidon kannalta. Olemme hyvin tyytyväisiä, kun olemme saaneet perehtyä kyseiseen aiheeseen ja uskomme tästä olevan merkittävää hyötyä työelämässä. Tuntemus eri bakteereista on myös hyödyksi ja tätä tietoa voi soveltaa yleisesti mikrobiologian työmenetelmissä, sillä tuotoksessa esitellyt bakteerit ovat myös yleisiä löydöksiä muissa näyttemateriaaleissa. Koska teimme opinnäytetyön kahdestaan, koemme yhteistyö- ja organisointitaitojemme parantuneen. Parityöskentely vaatii suunnitelmallisuutta, ajankäytön hallintaa sekä kykyä jakaa tehtävät ta-

sapuolisesti. Alussa tämä tuntui vähän haasteelliselta, mutta pian totuimme organisoimaan toimintamme tehokkaasti. Työskennellessä pareittain saimme toinen toiseltamme tukea opinnäytetyön tekemiseen. Opinnäytetyöprosessin aikana kehittyivät myös tiedonhankinnan ja – käsittelyn, ongelmanratkaisun ja itsenäisen ajattelun taidot. Hankkiessamme tietoa opinnäytetyötämme varten meidän täytyi miettiä, mitkä hakusanat palvelisivat parhaiten tarkoitusta. Samoin lähteitä löydettyä oli arvioitava niiden pätevyys ja luotettavuus. Koemme myös, että tieteellisen tekstin työstämisen ja oppimateriaalin teon taidot ovat karttuneet.

LÄHTEET

- Abbott, S. 2011. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other *Enterobacteriaceae*. Teoksessa Carroll, K., Funke, G., Jorgensen, J., Landry, M-L., Versalovic, J., Warnock, D. (editors). *Manual of clinical microbiology*. 10th Edition. Volume 1. Washington DC: ASM Press. 639-657.
- American Society for Microbiology 2011. *Lancefield Grouping for Streptococcus Showing Agglutination* [verkkojulkaisu]. American Society for Microbiology [viitattu 10.9.2013]. Saatavissa: <http://www.microbelibrary.org/library/2-associated-figure-resource/3523-lancefield-grouping-for-streptococcus-showing-agglutination-labeled-view>
- Anttila, V-J & Tissari, P. 2005. Muu *Enterobacteriaceae*-heimo. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja I. Helsinki: Duodecim. 192–194.
- Anttila, V-J & Tissari, P. 2005. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja I. Helsinki: Duodecim. 195–202.
- Anttila, V-J., Kokki, M., Richardson, M. 2005. Kandidat. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja I. Helsinki: Duodecim. 298–309.
- Atlas, R & Snyder, J. 2011. Reagents, Stains, and Media: Bacteriology. Teoksessa Carroll, K., Funke, G., Jorgensen, J., Landry, M-L., Versalovic, J., Warnock, D. (editors). *Manual of clinical microbiology*. 10th Edition. Volume 1. Washington DC: ASM Press. 272-303.
- Bannerman, T. L. & Peacock, S. J. 2007. *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci*. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (editors) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Volume 1. Washington: ASM Press, 390-411.
- Baron, E. J., Peterson L. R. & Finegold, S. M. 1994. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th edition. St. Louis: Mosby- Year Book, Inc.
- Chapin, K. C. & Lauderdale, T-L. 2007. Reagents, Stains and Media: Bacteriology. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (editors) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Volume 1. Washington: ASM Press, 334-364.
- Ernst, D.J. 2004. Controlling blood-culture contamination rates. *Medical Laboratory Observer* [verkkojulkaisu] 14-18 [viitattu 20.9.2013]. Saatavissa: <http://www.mlo-online.com/articles/200403/0304coverstory.pdf>

Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011. *Bakteeriviljely, verestä* [verkkosivu]. Kliininen mikrobiologia. Seinäjoen keskussairaala [viitattu 4.4.2012]. Saatavissa: <http://www.epshp.fi/files/3395/B-BaktVi-1153-2.pdf>

Fimlab Laboratoriot Oy 2011. *Bakteeri, viljely (verestä)* [verkkosivu]. Fimlab Laboratoriot Oy [viitattu 4.4.2012]. Saatavissa: http://www.fimlab.fi/laboratoriotutkimukset/nayta.tmp?siivu_id=34;id=3990;talleta_url=1

Fimlab Laboratoriot Oy 2013. *Kaikkiin tutkimuksiin vaadittavat yleistiedot* [verkkosivu]. Kanta-Hämeen sairaanhoitopiiri [viitattu 30.9.2013]. Saatavissa: <http://www.khshp.fi/laboratorio-ohjeet/L%C3%84HETEVERIVILJELY.htm>

Fraser, S.L. 2012. *Enterococcal Infections. Background* [verkkójulkaisu]. WebMD LLC [viitattu 4.9.2013]. Saatavissa: <http://emedicine.medscape.com/article/216993-overview>

Hautala, T. 2007. Veriviljely vakavien yleisinfektioiden diagnostiikassa- klinikon näkökulma. *Moodi* 1 (31), 38–39.

Heikkilä, A., Jokinen, P., Nurmela, T. 2008. *Tutkiva kehittäminen- avaimia tutkimus- ja kehittämishankkeisiin terveysalalla*. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit Oy.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Bakteriologia. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. Toinen, uudistettu painos. Helsinki: Kuntaliitto, 31–50.

Heinonen, J-P. 2005. *Opetussuunnitelmat vai oppimateriaalit* [verkkójulkaisu]. Soveltavan kasvatustieteen laitos. Helsingin yliopisto [viitattu 21.10.2013]. Saatavissa: <http://www.doria.fi/bitstream/handle/10024/3770/opetussu.pdf?sequence=1>

Helenius, M., Kilpeläinen, K., Taponen, E. 2012. *Mikrobiologiaa bioanalytikoille. Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen*. [verkkójulkaisu]. Savonia amk. [Viitattu 8.10.2013]. Saatavissa: https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius_Minna%20Kilpelainen_Kati%20Taponen_Elsa.pdf?sequence=1

Huslab 2013. *Bakteeri, veriviljely, seulomaton näyte* [verkkosivu]. Huslab [viitattu 19.9.2013]. Saatavissa osoitteessa: <http://huslab.fi/ohjekirja/1153.html>

Högman, E. 2006. *Verkko-oppimateriaalin laatukriteerit* [verkkójulkaisu]. Opetushallitus [viitattu 10.8.2013]. Saatavissa: http://www.oph.fi/download/47132_verkko-oppimateriaalin_laatukriteerit.pdf

ISLAB 2013. *Veriviljely* [verkkosivu]. ISLAB [viitattu 25.8.2013]. Saatavissa: www.islab.fi

- ISLAB 2013. *Mykobakteeriviljely verestä* [verkkosivu]. ISLAB [viitattu 19.9.2013]. Saatavissa: <http://www.islab.fi/index.asp?tz=-3>
- ISLAB 2013. *Streptokokkiviljely nielusta* [verkkosivu]. ISLAB [viitattu 6.9.2013]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp?indeksi=3088>
- Jalava, J. 2010. Ihmisen normaali mikrobisto ja sen merkitys. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 76–82.
- Katila, M-L. 2003. Diagnostiset perusmenetelmät kliinisessä bakteriologiassa ja mykologiassa. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY. 341–345.
- Katila, M-L. 2003. Tavallisimmat menetelmät bakteriologian, mykologian ja parasitologian tutkimuksissa. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY. 346–358.
- Kauma, H. & Virolainen-Julkunen, A. 2010. Pneumokokki. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 112–121.
- Kauppara, J. 2007. Veriviljely vaikeiden infektioiden diagnostiikassa- laboratorionnäkökulma. *Moodi 1* (31), 36–37.
- Kauppara, R. A. 2003. *Opi ja opeta tehokkaasti*. Jyväskylä: PS-kustannus.
- Kokkinen, A., Rantanen-Väntsi, L., Tuomola, A. 2008. *Aikuisen oppijan kirja*. Helsinki: Kirjapaja.
- Koskela, M. 2006. Sienten herkkyyismääritykset. *Moodi 6* (30), 208–209.
- Koskela, M. 2001. Veriviljelylöydökset ja niiden kliininen merkitys. *Moodi 1* (25), 34–35.
- Koskela, M. 2011. *Ulkoisen laadunarviointikierros, bakteeriviljely 1* [verkkojulkaisu]. Labquality [viitattu 19.9.2013]. Saatavissa: http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3&path=Kuvat/MB/bakteeriviljely%204%202011_nettikuvat.pdf
- Kuntaliitto. 2005. Lukijalle. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. Helsinki: Kuntaliitto. 5-6.
- Lumio, J. 2012. *Aivokalvontulehdus (meningiitti)* [verkkojulkaisu]. Duodecim [viitattu 27.9.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00558

Lumio, J. 2013. *MRSA (metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus)* [verkkajulkaisu]. Duodecim [viitattu 26.8.2013]. Saatavissa:

http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00586

Lyytikäinen, O., Vuopio-Varkila, J. & Kotilainen, P. 2010. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 98–101.

Martins Teixeira, L., Siqueira Carvalho, M. da G & Facklam, R., R. 2007. *Enterococcus*. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (toim.) *Manual of Clinical Microbiology*. 9. painos. Washington: ASM Press. 430-442.

Meurman, O. 2010. *Gram-värjäykset* [verkkajulkaisu]. Labquality. Tykslab [viitattu 30.9.2013]. Saatavissa: <http://labquality-fibin.directo.fi/@Bin/981ccd36785ad6934cece8b5213c0c71/1377098892/application/pdf/2028802/Meurman%20Gram%20nettiin.pdf>

Mustajoki, P. 2012. *Endokardiitti (sydänläppien tulehdus)* [verkkajulkaisu]. Duodecim [viitattu 27.9.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00679

Mäki, T. 2000. Verinäyteputkien ottojärjestys. *Moodi* 6 (24), 174–175.

Nissinen, A. 2010. Veriviljelyn näytteenotto. *Moodi* 5 (34), 238–241.

Nissinen, A. 2006. Bakteerin lääkeherkkyyden määrittäminen. *Moodi* 6 (30), 202–204.

Ojanen, T. 2003. Veriviljelyn laadunarviointi. *Moodi* 1 (27), 37–38.

Ojanen, T. 2009. Veriviljelyn laadunarviointi. *Moodi* 1 (33), 55-57.

Pathogen Profile Dictionary 2010. *Enteropathogenic Escherichia coli* [verkkosivu]. The Journal of Undergraduate Biological Studies [viitattu 22.10.2013]. Saatavissa:

<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/enteropathogenic.htm>

Pathogen Profile Dictionary 2010. *Staphylococcus aureus* [verkkosivu]. The Journal of Undergraduate Biological Studies [viitattu 22.10.2013]. Saatavissa:

<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/aureus.htm>

Pathogen Profile Dictionary 2010. *Streptococcus agalactiae* [verkkosivu]. The Journal of Undergraduate Biological Studies [viitattu 22.10.2013]. Saatavissa:

<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/agalactiae.htm>

- Pietarinen, J. 1999. Tutkijan ammattietiikan perusta. Teoksessa Lötjönen, S. (toim.): *Tutkijan ammattietiikka* [verkkójulkaisu]. Opetusministeriö [viitattu 1.11.2013]. Saatavissa: http://www.minedu.fi/export/sites/default/OPM/Julkaisut/1999/liitteet/tutkijan_ammattietiikka_99.pdf?lang=fi
- Rantakokko-Jalava, K. & Anttila, V-J. 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 122–129.
- Salmela, K. 2007. *Harvinaista lapsivuodekuumetta KYS:ssä* [verkkójulkaisu]. Kantti.net [viitattu 6.9.2013]. Saatavissa: <http://www.kantti.net/artikkeli/2007/11/harvinaista-lapsivuodekuumetta-kyssä>
- Salonen, J. 2013. *Punasolujen kiihtynyt anemia (hemolyyttinen anemia)* [verkkójulkaisu]. Duodecim [viitattu 26.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00923
- Savonia-ammattikorkeakoulu 2010. *Bioanalytiikan koulutusohjelma. Opintojaksokuvaus* [verkkosivu]. Savonia- ammattikorkeakoulu [viitattu 2.11.2013]. Saatavissa: <http://portal.savonia.fi/amk/node/209?konr=2410&ojnr=32552&yks=KS&tab=6>
- Saxén, H. & Vuopi-Varkila, J. 2010. B-ryhmän streptokokki. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 110–111.
- Scheinin, T. & Leppäniemi, A. 2007. *Äkillinen vatsakipu* [verkkójulkaisu]. Kandidaattikustannus Oy [viitattu 7.10.2013]. Saatavissa: http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=%C3%84killinen_vatsakipu
- Siitonen, A & Vaara, M. 2005. *Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia*. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I*. Helsinki: Duodecim, 176–191.
- Silvennoinen-Kassinen, S. 1996. Sienet, mycota (fungi). Teoksessa Tiilikainen, A. Vaara, M. Vaheri, A. (toim.). *Lääketieteellinen mikrobiologia*. Helsinki: Duodecim. 440–449.
- Skogberg, K., Ollgren, J., Nuorti, P., Ruutu, P. & Lyytikäinen O. 2013. *Veriviljelypositiivisten infektioiden aiheuttama tautitaakka lisääntymässä Suomessa* [verkkójulkaisu]. Suomen Lääkärilehti [viitattu 28.10.2013]. Saatavissa: <http://www.fimnet.fi.ezproxy.savonia-amk.fi:2048/cgi-cug/brs/artikkeli.cgi?docn=000038722>

Solunetti 2006. *Bakteerit (prokaryootti)* [verkkosivu]. Solunetti [viitattu 30.3.2013]. Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/bakteerit/2/>

Spellerberg, B. & Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (editors) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Volume 1. Washington: ASM Press, 412–429.

Stöppler, M. C. 2012. *Staph Infection (Staphylococcus aureus)* [verkkójulkaisu]. MedicineNet [viitattu 26.8.2013]. Saatavissa: http://www.medicinenet.com/staph_infection/article.htm

Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2006. *Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet* [verkkójulkaisu]. Suomen Bioanalytikkoliitto ry. Hyväksytty 18.11.2006 [viitattu 1.11.2013]. Saatavissa: [http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+\(1\).pdf](http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+(1).pdf)

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *A-ryhmän streptokokki (Streptococcus pyogenes)* [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [viitattu 5.9.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/a-ryhman-streptokokki

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *B-ryhmän streptokokki* [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [viitattu 10.9.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/b-ryhman-streptokokki

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *ESBL*. [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. [viitattu 10.6.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/esbl

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *VRE* [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [viitattu 4.9.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/vre

Terveyskirjasto 2013. *Adhesiini* [verkkosivu]. Duodecim [viitattu 10.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=ltt00023&p_teos=ltt&p_osio=108&p_selaus=

Terveyskirjasto 2013. *Fagosytoosi* [verkkosivu]. Duodecim [viitattu 18.9.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt00804

Terveyskirjasto 2013. *Fimbria* [verkkosivu]. Duodecim [viitattu 10.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt00859&p_teos=ltt&p_selaus=

Tikka, L. & Pylkkönen, R. *Kliinisen mikrobiologian harjoitustyömoniste*. Savonia-ammattikorkeakoulu.

Tohtori 2013. *Petekia* [verkkosivu]. Terve Media Oy [viitattu 18.9.2013]. Saatavissa: <http://www.tohtori.fi/?page=4069997&search=petekia>

Tohtori 2013. *Virulenssi* [verkkosivu]. Terve Media Oy [viitattu 18.9.2013]. Saatavissa: <http://www.tohtori.fi/?page=4069997&search=virulenssi>

Tuokko, S., Rautajoki, R. & Lehto, L. 2008. *Kliiniset laboratorionäytteet- opas näytteiden ottoa varten*. Helsinki: Tammi.

Uusikylä, K. & Atjonen, P. 2005. *Didaktiikan perusteet*. Helsinki: WSOY.

Vilka, H. & Airaksinen, T. 2004. *Toiminnallinen opinnäytetyö*. Helsinki: Tammi.

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. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 14–40.

Vaara, M., Skurnik, M. & Sarvas, M. 2005. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.) *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I*. Helsinki: Duodecim, 51–75.

Valtonen, V. & Rintala, E. 2005. Sepsis ja epäselvä kuumeilu. Teoksessa Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.) *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II*. Helsinki: Duodecim, 502–511.

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. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 83–97.

Vuopio-Varkila, J., Syrjänen, J. & Kotilainen, P. 2010. A-ryhmän streptokokki. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 102–109.



SAVONIA

OPPIMATERIAALI VERI- VILJELYISTÄ BIO- ANALYYTIKKO- OPISKELIJOILLE

TEKIJÄ/T: Paula Haatanen
Hanna-Mari Hyvärinen

LUKIJALLE

Tämä oppimateriaali on tarkoitettu Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille mikrobiologian opintojaksolle. Veriviljelyiden näytteenoton osalta oppimateriaali soveltuu myös sairaanhoitaja-opiskelijoille. Oppimateriaali käsittelee veriviljelyiden tutkimista koko kliinisen laboratoriotyöprosessin näkökulmasta. Tavoitteena on antaa opiskelijalle kattava kuva bioanalyttikon ammatillisesta roolista veriviljelyiden tutkimisprosessissa. Oppimateriaalia voidaan käyttää itseopiskelumateriaalina teoriaopintojen ja harjoitustuntien tukena.

Oppimateriaali ei sisällä varsinaisia työohjeita, vaan keskittyy enemmänkin teoriakatsauksiin veriviljelyiden kliinisestä merkityksestä, oikeanlaisesta näytteenotosta, veriviljelyistä löydettyjen yleisimpien mikrobien perusominaisuuksista sekä mikrobien tunnistuskokeista ja lääkeaineherkkyysien määrittämisestä niiden menetelmäperiaatteiden osalta. Lisäksi oppimateriaalissa kerrotaan veriviljelytulosten arvioinnin tärkeydestä.

Oppimateriaalin loppupuolella on kysymyksiä, joiden avulla opiskelija voi kontrolloida omaa oppimistaan. Oppimateriaali sisältää myös havainnollistavia kuvia, jotka helpottavat bakteerien tunnistamista jatkossa.

Kiitämme kaikkia ohjaavia opettajia saamastamme ohjauksesta oppimateriaalin tekoon ja Puijon mikrobiologian laboratoriota gramvärjätyistä laseista sekä viljelyistä bakteerimaljoista, joita kuvattiin tähän oppimateriaaliin.

SISÄLTÖ

1	YLEISTÄ BAKTEEREISTA.....	1
2	VERIVILJELY.....	2
2.1	Veriviljelyiden kliininen merkitys.....	2
2.2	Veriviljelyn näytteenotto.....	3
3	MIKROBIEN KASVATUS, OSOITUS JA TUNNISTUS.....	6
4	YLEISIMMÄT LÖYDÖKSET VERIVILJELYISSÄ.....	10
4.1	Grampositiiviset bakteerit	10
4.1.1	Staphylococcus aureus	10
4.1.2	Muut stafylokokit.....	11
4.1.3	A-ryhmän streptokokki	13
4.1.4	B-ryhmän streptokokki	14
4.1.5	Muut streptokokit.....	15
4.1.6	Streptococcus pneumoniae	15
4.1.7	Enterokokit	16
4.2	Gramnegatiiviset bakteerit.....	17
4.2.1	Escherichia coli	17
4.2.2	Klebsiella-suku	19
4.2.3	Pseudomonas-suku	20
4.3	Sienten tunnistaminen – Candida-suku.....	21
5	MIKROBIEN LÄÄKEAINEHERKKYYKSIEN MÄÄRITTÄMINEN	22
6	VERIVILJELYTULOSTEN ARVIOINTI	23
7	KYSYMYKSIÄ	24

LÄHTEET

1 YLEISTÄ BAKTEEREISTA

Bakteerit ovat mikroskooppisen pieniä, yksisoluisia organismeja. Ne ovat **prokaryootteja** eli niillä ei ole varsinaista tumaa vaan niiden DNA on kiinni solukalvossa. Kasvaessaan bakteerit muodostavat pesäkkeitä, jotka koostuvat sadoista miljoonista erillisestä bakteerisolusta. Ihmisellä on luonnostaan normaalia bakteeristoa iholla, ruuansulatuskanavassa sekä genitaalialueella, jota kutsutaan **normaaliflooraksi**. Normaaliflooran päätehtävä on ylläpitää elimistön tasapainoista toimintaa. Ne suojaavat ihmistä ympäristön patogeeneilta ja muokkaavat ruoan sisältämiä ravintoaineita hyödylliseen muotoon. Näin ollen ihminen saa hyödynnettyä tehokkaammin ravintoaineiden sisältämää energiaa.

Bakteerilla voi olla **aerobinen** (hapekas) tai **anaerobinen** (hapeton) metabolia (aineenvaihdunta). Happea sietäviä bakteereja kutsutaan aerobisiksi bakteereiksi ja happea sietämättömiä bakteereja kutsutaan anaerobisiksi bakteereiksi. On kuitenkin olemassa myös bakteereja, jotka pystyvät elämään sekä hapekkaissa että hapettomissa oloissa (**fakultatiiviset aerobit/anaerobit bakteerit**).

Bakteerit voidaan luokitella myös niiden gramvärjäytyvyyden perusteella. **Grampositiiviset** bakteerit värjäytyvät **tumman sinivioleteiksi** ja **gramnegatiiviset vaalean punertaviksi**. Gramnegatiiviset ja grampositiiviset bakteerit poikkeavat toisistaan soluseinän osalta. Grampositiivisen bakteerin soluseinälle on ominaista paksu ja jäykkä **peptidoglykaanikerros**, joka määrää bakteerin muotoa ja kokoa. Myös gramnegatiivisella bakteerilla on peptidoglykaanikerros, mutta se on ohuempi. Lisäksi gramnegatiivisella bakteerilla on peptidoglykaanikerroksen ulkopuolella erityinen, ylimääräinen biologinen kalvo, jota kutsutaan **ulkomembraaniksi**. Sen tehtävä on suojata bakteeria ulkopuolelta tulevilta haitallisilta aineilta. Näistä soluseinän rakenne-eroista johtuen grampositiiviset ja gramnegatiiviset bakteerit värjäytyvät gramvärjäyksessä eri tavalla.

2 VERIVILJELY

2.1 Veriviljelyiden kliininen merkitys

Veriviljelyllä (Kuntaliiton lyhenne **B-BaktVi** tai **B-VerVi**) tarkoitetaan verinäytteistä bakteerien ja hiivojen etsimistä niiden lisääntymistä suosivissa kasvatusolosuhteissa eli veriviljelypulloissa. Veriviljelypulloja on kahdenlaisia, ilmastoitu **aerobinen** sekä hapeton **anaerobinen** pullo. Veriviljely onkin eräs tärkeimmistä mikrobiologisista tutkimuksista, sillä viljelystä saatu tulos vaikuttaa ratkaisevasti potilaan hoitoon.

Normaalisti veri on steriiliä, eikä siinä esiinny bakteereja, sieniä tai muitakaan mikrobeja. **Bakteremia** tarkoitetaan elimistön tilaa, jossa bakteereja on veressä. Vastaavasti, kun sieniä on päässyt verenkiertoon, puhutaan **fungemiasta**. Oireita antava bakteremia alkaa monessa tapauksessa paikallisesta infektiosta, jossa bakteerien omat virulenssitekijät auttavat niitä etenemään syvemmälle kehoon. Erityisesti vaurioituneet limakalvot mahdollistavat bakteerien pääsemisen verenkiertoon, kuten sytostaattihoidon aikana tai endoskoopilla tehtävien tutkimusten yhteydessä. Mikäli henkilöllä on jokin kontaminoitunut vierasesine kehossaan, kuten ihon läpi verisuoneen pistetty kanyyli, se voi ylläpitää bakteerien pääsyä verenkiertoon. Usein bakteremian taustalla on jokin potilaan elimistön puolustuskykyä heikentävä perussairaus, joka altistaa vakavalle yleisinfektioille.

Sepsis ("verenmyrkytys") tai **septikemia** liittyvät läheisesti **bakteremiaan**. Niillä tarkoitetaan vakavaa sairaustilaa, jossa mikrobin aiheuttama infektio tai jokin muu seikka yhdessä elimistön puolustuskyvyn kanssa aiheuttaa henkeä uhkaavan tulehdusreaktion. Hoitamaton sepsis johtaa useimmissa tapauksissa kuolemaan. Kliininen kuva sepsiksessä voi olla hyvin erilainen eri potilailla ja oireita voi tulla mistä elimestä hyvänsä. Yleisoireina ovat kuitenkin **kuumeilu** ja **huonokuntoisuus**. Kuumeisuus on horkka- maista ja useaan otteeseen vuorokaudessa nousevaa ja laskevaa. Sepsiksen ennusteeseen vaikuttavat huonontavasti monet tekijät, kuten potilaan perussairauden vaikea tilanne, syvän infektiopesäkkeen olemassaolo (kuten keuhkokuume tai aivokalvontulehdus) ja mahdollinen sokki. Sepsiksen hoidon kulmakivenä on varhaisessa vaiheessa aloitettu antibioottihoito.

Laboratorioprosessin **preanalyttinen vaihe** alkaa tutkimuksen tarpeen määrittelemisellä. Veriviljely tilataan silloin, kun bakteremiaa epäillään potilaan oireiden aiheuttajaksi tai osaltaan niihin liittyviksi. Tutkimus on aiheellinen tilata myös silloin, kun epäillään **endokardiittia** (sydänläppien tulehdus) tai **meningiittia** (aivokalvontulehdus). Toinen tärkeä laboratoriotutkimus on seerumin **CRP- pitoisuus** (C-reaktiivinen proteiini) määrittäminen, jolla saadaan selville tulehdusreaktion voimakkuus. Tulehdusparametreista myös **veren leukosyyttien** määrä tutkitaan. Muista **infektiopesäkkeistä** (yskökset, virtsa) pyritään myös ottamaan bakteeri- ja sieniviljelynäytteet.

2.2 Veriviljelyn näytteenotto

Veriviljelynäyte otetaan suoraan veriviljelypullossa olevaan **elatusaineeseen**. Suurin osa merkittävistä taudinaiheuttajista kasvaa hyvin veriviljelyelatusaineissa, mutta mykobakteereita varten on kehitetty omat elatusaineet (Oma tutkimusnimike Mykobakteeriviljely verestä, **B-MycoVi**). Elatusaineessa bakteerien kasvu alkaa välittömästi. Veriviljely on täten **rikastusviljely**, joka mahdollistaa yhdenkin bakteerin rikastumisen muutamassa tunnissa runsaaksi kasvustoksi.

Näytteenotto kuuluu olennaisesti preanalytiikkaan. Perinteisesti veriviljelyiden näytteenotto on pyritty ajoittamaan oireilun perusteella, koska veren bakteeripitoisuus vaihtelee ajan kuluessa. Tarkoituksenmukaisin tapa toteuttaa tutkimus on ottaa kaksi peräkkäistä veriviljelynäytettä (**2 x pullopari**). Veriviljelynäyte suositellaan otettavaksi **ennen antimikrobilääkityksen** aloittamista, sillä se voi aiheuttaa viiveen tuloksen valmistumisessa tai jopa väärän negatiivisen tuloksen. Kuitenkaan mikrobilääkehoito ei ole estävä syy näytteen ottamiseen. Potilaan saadessa antimikrobilääkehoitoa näyte otetaan juuri ennen uutta annosta, jolloin lääkepitoisuus on veressä pienimmillään. Mikäli muita tutkimuksia on tilattu otettavaksi yhtäaikaan veriviljelyiden kanssa, veriviljelynäytteet otetaan ensimmäisenä.

Veriviljelyn optimaalinen näytemäärä niin aerobi- kuin anaerobipullossa on **8-10 ml** eli yhteensä 16–20 ml/veriviljely. Näytemäärä määräytyy elatusaineen määrän mukaan, kun suositeltu veri/elatusaine pitoisuus on 1/5. Lapsilta näytemääräksi riittää painon mukaan ad 4 ml. Mikäli näytemäärä jää optimaalisesta tasoa vähemmäksi, mahdollisuudet havaita veressä olevat taudinaiheuttajat vähenevät ja voidaan saada väärä negatiivisia tuloksia. Mikäli molempiin pulloihin saadut näytemäärät alittavat minimin, suositellaan aerobipullon täyttöä optimaalitasolle. Tämä pitää tehdä, koska suurin osa bakteremian aiheuttajista on aerobisia tai fakultatiivisesti anaerobisia, jotka sietävät hapellisia olosuhteita.

Veriviljelypulloja ei saa täyttää yli rajankaan, sillä se voi johtaa väärin positiivisiin tuloksiin. Automaattiset veriviljelyautomaatit mittaavat veriviljelypullojen **CO₂:n konsentraatioita** ja vertaavat näitä arvoja perustasoon, kun pullo asetettiin automaattiin. Kun bakteerit lisääntyvät, CO₂:n konsentraatiot kasvavat. Kynnysarvon ylittyessä automaatti antaa hälytyksen positiiviseksi havaitusta pullosta. Kuitenkin näytteen mukana pulloon tulee veren leukosyyttejä, jotka tuottavat myös tietyn määrän CO₂. Mikäli näytteessä ei ole bakteereita, automaatti havaitsee leukosyyttien tuottaman CO₂:n ja antaa **virheellisen** hälytyksen, joka johtaa ylimääräisiin ja turhiin testauksiin.

Veriviljely on erittäin **kontaminaatioherkkä** tutkimus, sillä jo yksikin elävä bakteeri voi veriviljelypulloon joutuessaan saada aikaan positiivisen tuloksen. Yleensä kontaminantit ovat ihon **normaaliflooran bakteereita**. Tämän vuoksi näytteenoton **aseptiikkaan** tulisi kiinnittää erityistä huomiota. Näytteenotokohdan perusteellinen ja huolellinen puhdistaminen on merkitsevin asia, jolla voi estää kontaminanttien pääsyn veriviljelypulloihin. 70–80 % etanoli oikein käytettynä omaa riittävän bakteereita tuhoavan

vaikutuksen. Lisäksi ottamalla veriviljely eri pistopaikasta kuin toinen, voidaan mahdollinen kontaminaatio sulkea pois. Kuitenkin tämä on joskus vaikea toteuttaa mm. huonosti tuntuvien suonten tai kädessä olevan tipan takia ja näin ollen veriviljelystä voidaan ottaa samalla pistolla hyvin huolellisen ihon desinfektion jälkeen.

Näytteenottoapaikan valinnalla voidaan myös estää kontaminanttien joutumisen veriviljelyihin. Verisuonen läpäisevistä hoitovälineistä, kuten suonikatetrasta, otettu näyte kontaminoituu vähintään kaksinkertaisella todennäköisyydellä verraten tavalliseen ihopistoon. Koska nämä välineet lävistävät ihon ja ovat paikallaan joskus pitkiäkin aikoja, ylläpitävät ne normaaliflooran bakteerien kolonisaatiota. Mikäli näyte on otettu suonikatetrasta, tulee tämä mainita näytetiedoissa, jolloin laboratorio ja hoitava lääkäri voivat arvioida kontaminaation todennäköisyyttä mahdolliseen löydökseen.

Veriviljelyn näyteastioina käytetään **Bact/ALERT- FA- aerobipulloja** ja **Bact/ALERT- SN- anaerobipulloja**. Lasten näytteenottoon on tarkoitettu Bact/ALERT- PF- aerobipullo. Muu tarvittava välineistö on vakuuminäytteenottoon tarkoitettu **siipineula** (tai kertakäyttöruisku ja neula), **steriilit käsiaineet** ja **desinfektioaine** (A12T Dilutus). Pullot täytyy säilyttää valolta suojattuina pystyasennossa huoneenlämmössä, joihin sitten näytteet voidaan suoraan ottaa.

Näytteenoton jälkeen veriviljelypullot viedään mahdollisimman nopeasti mikrobiologian laboratorion **veriviljelyautomaattiin**, kuitenkin viimeistään 4 tunnin kuluttua näytteenotosta. Niitä ei saa laittaa tavalliseen lämpökaappiin ennen mikrobiologian laboratorion veriviljelyautomaattia, sillä veriviljelyautomaatti ei välttämättä tunnista enää niiden kasvua, kun suurin kasvu on jo tapahtunut tavallisessa lämpökaapissa. Näin ollen säilytys ja kuljetus tulisi tapahtua **huoneenlämmössä**. Mikäli näytettä on kuitenkin säilytetty lämpökaapissa, täytyy siitä olla maininta näytteen tiedoissa.

Vakuumilla suoritettava näytteenotto tapahtuu seuraavanlaisesti Islabin (2013) ohjeiden mukaan:

1. Potilaan käsivarteen laitetaan normaalisti staasi ja kiristetään sitä näytteenottoon soveltuvimman suonen löytämiseksi. Tämän jälkeen staasi löysätään. Suonesta, jossa on infuusiokanyyli, näytettä ei kuitenkaan suositella otettavaksi.
2. Kohta, josta näyte otetaan, puhdistetaan huolellisesti puhdistusaineeseen kostutetulla sidetaitosella. Sen ajaksi, kun näytteenottoa valmistellaan, jätetään puhdistusaineella kostutettu sidetaitos kohdan päälle n. 1 minuutin ajaksi.
3. Veriviljelypullon asteikolle merkitään kohta, johon asti pullon sisällön tulee ulottua, kun verinäytteenotto on suoritettu. Tässä vaiheessa pulloihin voi myös laittaa potilaan tunnistamistarrat niille varattuun kohtaan.

4. Pulloista otetaan suojakorkit pois ja alla olevat tulpat puhdistetaan puhdistusaineella. Kumitulppien päälle jätetään puhdistuslaput.
5. Siipineulapakkaus avataan ja letkun pää kiinnitetään kiertämällä se veriviljelypullojen adapteriin.
6. Staasi kiristetään. Tässä vaiheessa pistokohtaa voi tunnustella ainoastaan joko steriileillä käsineillä tai huolellisesti puhdistusaineella puhdistetuilla käsillä.
7. Kun suoni on löydetty, poistetaan neulan suojus ja pistetään suoneen. Kun neula on suonessa, letkuun tulee 1-2 ml verta. Staasi löysätään tässä vaiheessa.
8. Aerobipulloon otetaan ensimmäisenä näyte. Pullo ohjataan adapteriin niin että neula lävistää korkin ja pidetään siitä napakasti kiinni koko näytteenoton ajan. Jotta pullosta ei virtaisi nestettä takaisin siipineulaa pitkin, pulloa pidetään mahdollisimman pystyasennossa näytteenottotason alapuolella. Samalla seurataan pullon täyttymistä asteikolta. Merkityn kohdan yli veriviljelypullon sisältö ei saisi olla. Neulaan asti pullon sisältö ei saisi milloinkaan ulottua.
9. Toista edellä mainittu anaerobipullon kanssa.
10. Näytteenoton jälkeen pulloja sekoitetaan pyörittelemällä varovasti hyytymisen estämiseksi.



KUVA 1. Aerobi- ja anaerobiveriviljelypullot.

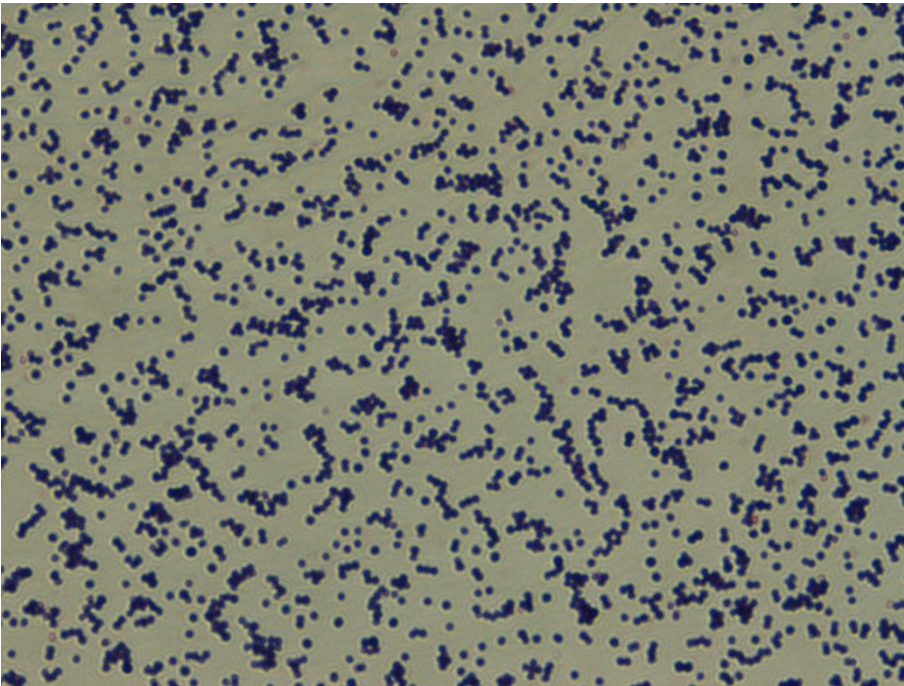
3 MIKROBIEN KASVATUS, OSOITUS JA TUNNISTUS

Näytteen esikäsittelyn jälkeen alkaa **analyttinen vaihe**, jolloin veriviljelyistä etsitään minkä tahansa mikrobin esiintyvyyttä. Veriviljelypulloja viljellään **35-37° C lämpötilassa**, jossa suurin osa mikrobeista kasvaa hyvin. Automaatti mittaa mikrobien tuottamia aineenvaihduntatuotteita, yleisimmin hiilidioksidia. Veriviljelyautomaatin ilmoittaessa positiivisesta löydöksestä, tehdään näytteistä **gramvärjäys** ja tarvittaessa AO- eli akridiinioranssivärjäys mykobakteereita varten. Myös viljelyt maljoille tehdään mikrobien tunnistamista ja antibioottilääkityksen määrityksiä varten. Kun gramvärjäystulokset on saatu, on ne viipymättä ilmoitettava hoitavalle yksikölle puhelimitse. Normaalitytapauksissa, kun potilaalla ei ole bakteerimista infektiota, veriviljely todetaan **negatiiviseksi**. Negatiivisia veriviljelyitä täytyy seurata 5 vuorokauden ajan, jonka jälkeen ne voidaan vastata.

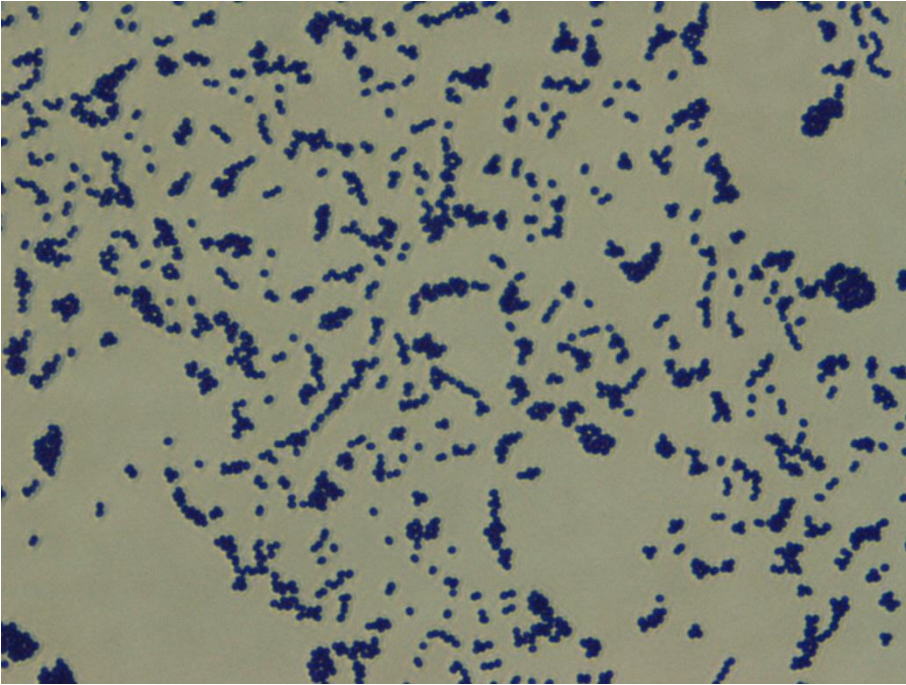
Näytteen **lähetetietoja** on syytä tarkastella, sillä niillä on tärkeä osa tutkimuksen onnistumiselle. Potilasta koskevat lähetetiedot ohjaavat tutkimuksen etenemistä ratkaisevasti, sillä ilman hyviä lähetetietoja voi varsinainen taudinaiheuttajamikrobi jäädä löytymättä muun muassa poikkeavien kasvuolojen tai hitaan kasvun takia. Läheteessä tulee kuvata potilaan **infektio-oireita** (esimerkiksi perusterveellä sahaava kuume), **infektiolöydöksiä** tai **kliinistä infektiopäilyä** niin, että laboratorio saa muodostettua kuvan todennäköisestä infektiotaudista ja oletuspatogeneista. Mahdolliset **antibioottilääkitykset**, joita potilas saa näytteenoton aikaan tai joita hänelle aletaan antaa näytteenoton jälkeen, tulee myös mainita. Tällöin voidaan huomioida antibioottilääkityksen vaikutus tutkimustulokseen, varsinkin jos tulos on negatiivinen ja harkita uuden näytteen ottoa. Lisäksi lääkityksen ollessa tiedossa laboratorio osaa tutkia bakteerien herkkyiden näille antibiooteille sekä kommentoida kyseisten antibioottien tehoa. Läheteessä on oltava myös potilaan mahdolliset **perustaudit**, sillä tietyissä taudeissa tietyntyyppisiä bakteereita esiintyy enemmän. Myös potilaalla olevat mahdolliset **vierasesineet** ja hänelle tehdyt **toimenpiteet** on ilmoitettava, sillä ne saattavat toimia portteina mikrobien elimistöön leviämiseksi.

Bakteeri- ja sienikasvuston tunnistaminen perustuu mikrobin kasvutapaan eri **kasvualustoilla**, sekä kasvuston **mikroskooppiseen tarkasteluun** ja **pesäkemorfologiaan**. Mikroskooppisessa tarkastelussa on arvioitava niiden järjestäytyminen **ryhmiksi, pareiksi** tai **ketjuiksi** sekä **gramvärjäyksen tulos** (positiivinen tai negatiivinen värjäystulos). Mikrobien tunnistamisessa käytetään myös erilaisia **biokemiallisia tunnistuskeinoja** sekä kasvutestejä. Testit perustuvat esimerkiksi mikrobin kykyyn sietää tai käyttää kemikaaleja. Myös mikrobin kyky tuottaa indikaattoreiksi sopivia aineenvaihduntatuotteita tai entsyymejä, käytetään testeissä hyväksi. Yleisesti lajitason määritykseen käytetään kaupallisia testisarjoja (esim. **API-testit**). Näiden kaupallisten testisarjojen etuna on mahdollisuus käyttää numeeriseen lukemiskoodin perustuvaa taustatietoa nimeämispuna. Myös bakteerilajien **lääkeaineherkkyttä** voidaan hyödyntää lajitunnistuksessa.

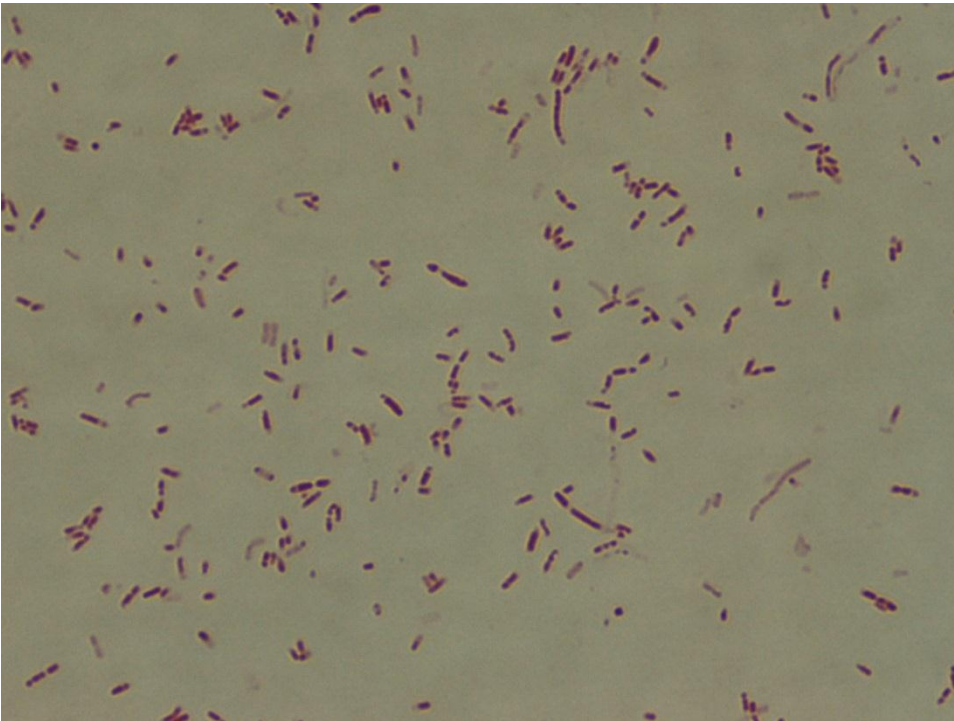
Gramvärjäyksen avulla voidaan erotella mikrobit värjäytyvyyden ja morfologian perusteella **grampositiivisiin/negatiivisiin sauvoihin/kokkeihin**. Primäärivärinä käytetään **kristalliviolettia**, josta aiheutuu tumman- tai punertavansininen väri. Värjäyksen toisessa vaiheessa sivelynäyte laitetaan **Lugolin jodiliuokseen**, jonka tehtävä on kemiallisesti sitoa emäksinen väri bakteerin soluseinämään. Tämän jälkeen sivelynäyte käsitellään **värinpoistoliuoksella**, joka on yleensä joko alkoholi tai alkoholi-asetoni. Kristallivioletin aiheuttama sininen väri poistuu gramnegatiivisista mikrobeista, mutta säilyy grampositiivisissa (soluseinämän rakenne). Tämän jälkeen sivelynäyte vastavärjätään **safraniinilla**, jossa kristalliviolettivärin menettäneet gramnegatiiviset mikrobit saavat eriateisen punaisen värin. Mikrobin värjäytyvyyteen vaikuttaa häiritsevästi näytteen epätasaisuus objektilasilla. Lasin ylikuumentamista kiinnittäessä tulee myös välttää. Gramvärjäyksen jälkeen objektilasilla oleva näyte kuivataan ja tarkastellaan sitä mikroskoopilla. Värjäys on onnistunut, mikäli bakteerien **muoto** ja **väri** erottuvat mikroskoopilla hyvin.



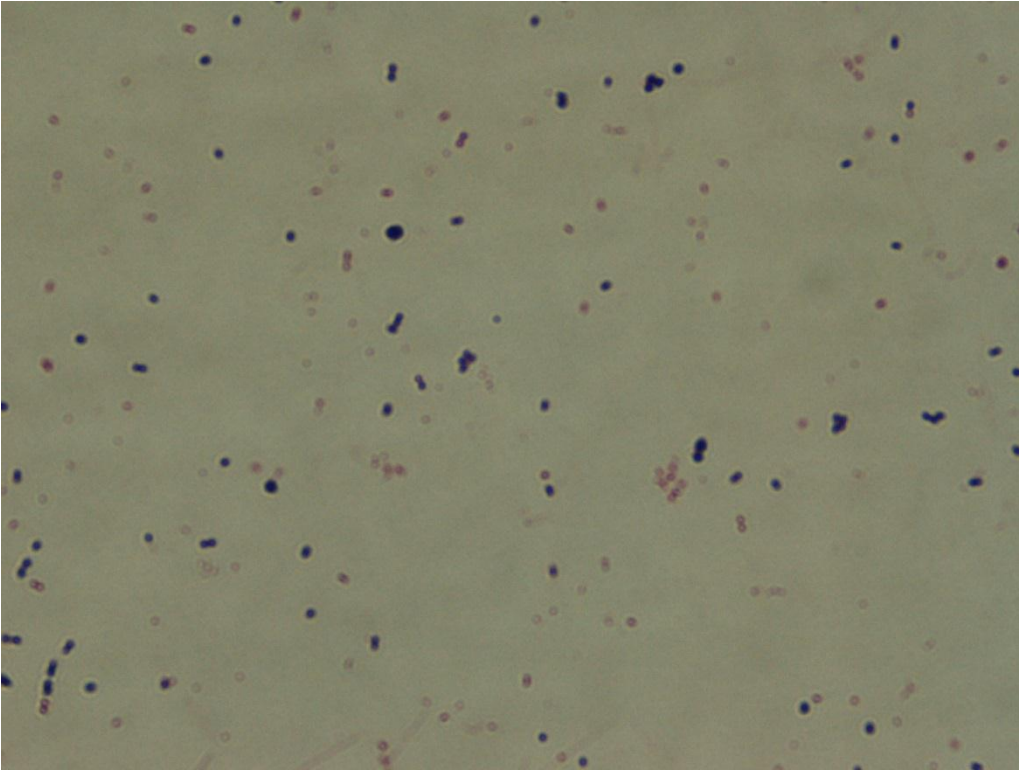
KUVA 2. *Staphylococcus aureus* gramvärjättyinä.



KUVA 3. Beetahemolyttinen streptokokki gramvärjätynä.



KUVA 4. *Escherichia coli* gramvärjätynä.



KUVA 5. *Streptococcus pneumoniae* gramvärjätynä.

Työskenneltäessä mikrobiologian laboratoriossa täytyy työntekijän aina ottaa **työturvallisuuden** periaatteet huomioon. Kaikkia käsiteltäviä näytteitä on kohdeltava niin kuin niissä olisi mahdollinen taudinaiheuttaja, joten työskenneltäessä on noudatettava huolellisesti aseptista tekniikkaa. Tämä edellyttää näytteiden käsittelyä siihen tarkoitettuun paikassa, kuten vetokaapissa sekä itsensä suojaamista mm. suojakäsinein. Työskentelyn jälkeen työtaso pyyhitään desinfioidulla aineella ja tarpeettomat näytteet laitetaan niille varattuun jäteastiaan.

4 YLEISIMMÄT LÖYDÖKSET VERIVILJELYISSÄ

Yleisin **sepsiksen** aiheuttaja niin Suomessa kuin muuallakin maailmassa on *Escherichia coli*. Seuraavaksi tavallisimpia aiheuttajabakteereita ovat **koagulaasinegatiiviset stafylokokit**, kuten *Staphylococcus epidermis*, jotka ovat voimakkaasti yleistymässä. Pneumokokin ja *Staphylococcus aureuksen* aiheuttamien sepsiksien määrät ovat pysyneet melko vakaina. Viime vuosina löydöksissä on alkanut yleistyä erilaiset streptokokit, erityisesti D-ryhmän enterokokit. Erilaisten **hiivasienten** sekä **aerobisten gramnegatiivisten sauvabakteerien** määrä on myös ollut kasvussa.

4.1 Grampositiiviset bakteerit

4.1.1 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus on yleinen **iholla** elävä **normaaliflooraan** kuuluva bakteeri, jota voi esiintyä myös nenänielussa ja joskus harvoin myös emättimessä, peräsuolen ja välilihan alueella. Merkitys taudinaiheuttajana on suuri, sillä erilaiset **iho- ja haavatulehdukset** (märkärupi, ruusu ja paiseet) ja erityisesti leikkausten jälkeiset sairaalainfektiot ovat useimmiten sen aiheuttamia. Niin ikään päästyään verenkiertoon se aiheuttaa vakavan yleisinfektion, sepsiksen. Tällöin potilaalla on jokin sopiva tartuntaportti, kuten haava tai ihorikko, jota kautta bakteeri pääsee leviämään verenkiertoon. Heikentyneen vastustuskyvyn myötä potilaat, joilla on diabetes, munuaisten vajaatoiminta tai sidekudossairaus, altistuvat herkimmin vakaville stafylokokki-infektioille.

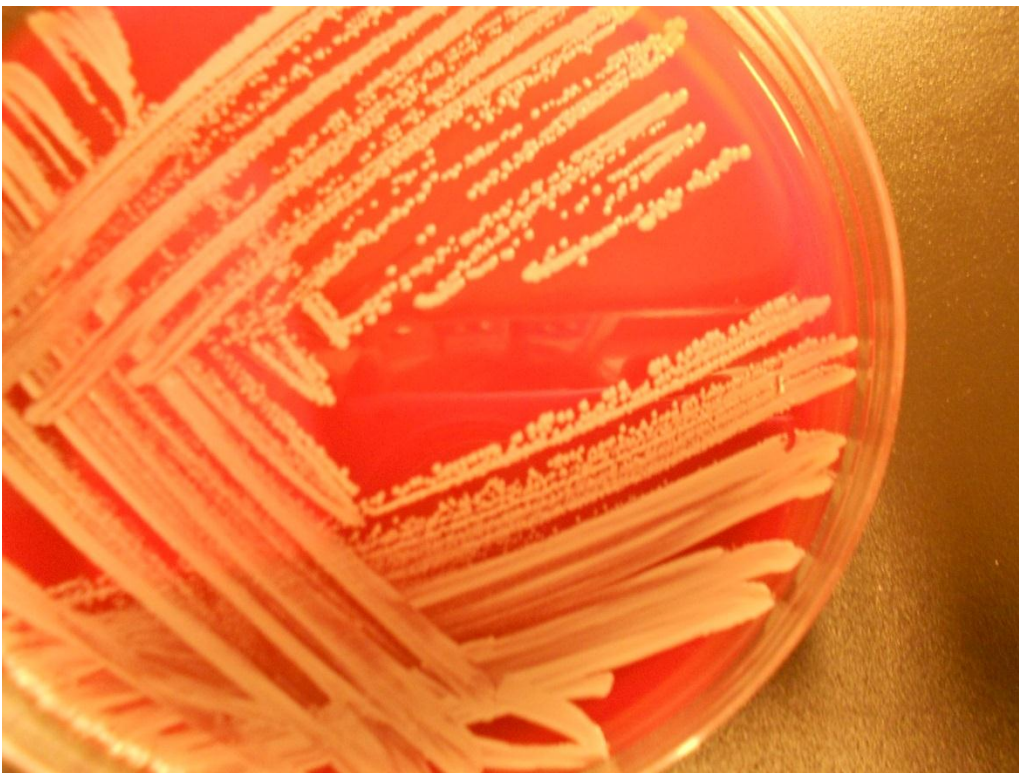
S. aureus on **grampositiivinen**, fakultatiivisesti anaerobinen **kokkibakteeri**, joka esiintyy mikroskooppinäytteessä joko yksittäin, pareittain tai pienissä ryhmissä. Laboratoriodiagnostisesti *S. aureus* kasvaa hyvin ei-selektiivisellä verimaljalla happipitoisessa ympäristössä 34–37 °C:ssa. Tyypillinen pesäke maljalla on halkaisijaltaan 1-3 mm, väriltään kellertävä, pyöreä ja hieman kohoava. Väri voi joissain tapauksissa kuitenkin puuttua, joten se ei ole tunnistamiseen riittävä kriteeri. Verimaljalla kasvaessaan *S. aureus* tekee myös **hemolyysin**, eli aiheuttaa punasolujen hajoamisen.

Stafylokokit ja streptokokit voidaan erottaa toisistaan **katalaasikokeen** avulla. Testin periaate on, että bakteerin tuottama katalaasientsyymi hajottaa vetyperoksidin vedeksi ja hapeksi. Tällöin vetyperoksidiin ilmestyy heti kuplia ja kuohunaa. Testillä testataan siis, tuottaako bakteeri kyseistä entsyymiä. Stafylokokit ovat **katalaasi-positiivisia** ja streptokokit **katalaasi-negatiivisia**.

Jotta *S. aureus* voidaan erottaa muista stafylokokeista, erotusdiagnostisena menetelmänä käytetään **koagulaasikoetta**. *S. aureus* erittää koagulaasiksi kutsuttua entsyymiä, joka hyydyttää plasmaa. Se on ihmisen stafylokokeista ainoa, joka on koagulaasiposiitivinen. Testi tulkitaan positiiviseksi, kun vähäinenkin määrä hyytymää havaitaan koeputkessa. Koagulaasikokeen yhteydessä tehdään myös *S. aureuksen* tunnistaminen **SaSelect- kromogeenisellä maljalla**. Kyseinen malja on selektiivinen, sisältäen erilai-

sia suoloja ja antibiootteja ja se on suunniteltu *S. aureuksen* tunnistamiseen 18–24 tunnissa. Menetelmän periaate perustuu **fosfataasientsyymiin**, jonka vuoksi pesäkkeiden väri vaihtelee vaaleanpunaisesta oranssiin. Mikäli bakteerilla on **glykosidaasientsyymi**, pesäkkeet ovat väriltään sinisiä. Pesäkkeet ovat valkoisia tai kellertäviä, mikäli kanta ei tuota kumpaakaan entsyymiä. *S. aureuksen* tunnistamisen apuna voidaan käyttää myös **pika-agglutinaatiotestiä**.

S. aureuksella on myös olemassa kantoja, jotka ovat vastustuskykyisiä metisilliinille. Näistä kannoista käytetään nimitystä **MRSA** eli metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus*. Metisilliiniresistentillä bakteerilla on mecA- niminen geeni, joka koodittaa muuntunutta penisilliiniä sitovaa proteiinia. Tämä samainen geeni estää myös joidenkin muiden **beetalaktaamiantibioottien** tehoamista.



KUVA 6. *Staphylococcus aureus*-kasvustoa verimaljalla.

4.1.2 Muut stafylokokit

S. aureuksen lisäksi muita merkittäviä stafylokokkeja ovat **koagulaasinegatiiviset stafylokokit**. Useat niistä ovat kehon **normaaliflooran** bakteereja iholla, limakalvoilla ja nenässä. Nykyään niiden merkitys sairaalasyntyisten bakteremioiden aiheuttajina on kasvamassa. Osaltaan tähän vaikuttaa se, että ne ovat pääasiallinen löydös **vierasesineinfektioihin**. Ne kiinnittyvät tehokkaasti vierasesineiden pinnoille muodostaen ympärilleen polysakkaridipitoisen limakerroksen ja näin ne peittävät vierasesineen muodostuvalla **biofilmillä**, joka estää mikrobilääkkeiden pääsyn niiden luo. Ihmisellä on tavattu monia stafylokokkilajeja, joista kliinisesti tärkeimmät lajit ovat *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus saprophyti-*

cus ja *Staphylococcus haemolyticus*. *S. epidermis* esiintyy iholla ja limakalvoilla ja sen osuus normaaliflooran stafylokokeista on 65–90 %.

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat, *S. aureuksen* tapaan **grampositiivisia kokkibakteereja**. Kuten jo nimi sanoo, ne ovat koagulaasinegatiivisia, jonka avulla ne erotetaan *S. aureuksesta*. Ne kasvavat myös hyvin verimaljalla ja kasvaneet pesäkkeet ovat pieniä ja valkoisia. **Novobiosiinia** (antibioottiherkkyyskiekko) voidaan käyttää erottamaan *S. saprophyticus* muista koagulaasinegatiivisista stafylokokeista, sillä se on **resistentti**, eli vastustuskykyinen kyseiselle antibiootille. **SaSelect- maljalla** *S. epidermiksellä* on pienet, haaleanpunaiset tai valkoiset pesäkkeet ja *S. saprophyticuksella* siniset tai turkoosit pesäkkeet.

Veriviljelynäytettä analysoitaessa on huomioitava mahdollinen iholta peräisin olevien **kontaminanttien** mahdollisuus, mikäli näytteestä löytyy koagulaasinegatiivisia stafylokokeja. Kuitenkin aitoa bakteremiadiagnoosia tukee se, että samaa bakteeria löytyy useammasta kuin yhdestä näytteestä. Tämän vuoksi eri näytteenottokerroilla otetut näytteet auttavat erottamaan oikean taudinaiheuttajan kontaminantista. Mikäli samaa bakteerilajia löytyy useammasta kuin yhdestä näytteestä ja mikrobilääkeherkkydet ovat samat, on mitä todennäköisimmin kyseessä bakteremian aiheuttava koagulaasinegatiivinen bakteeri.



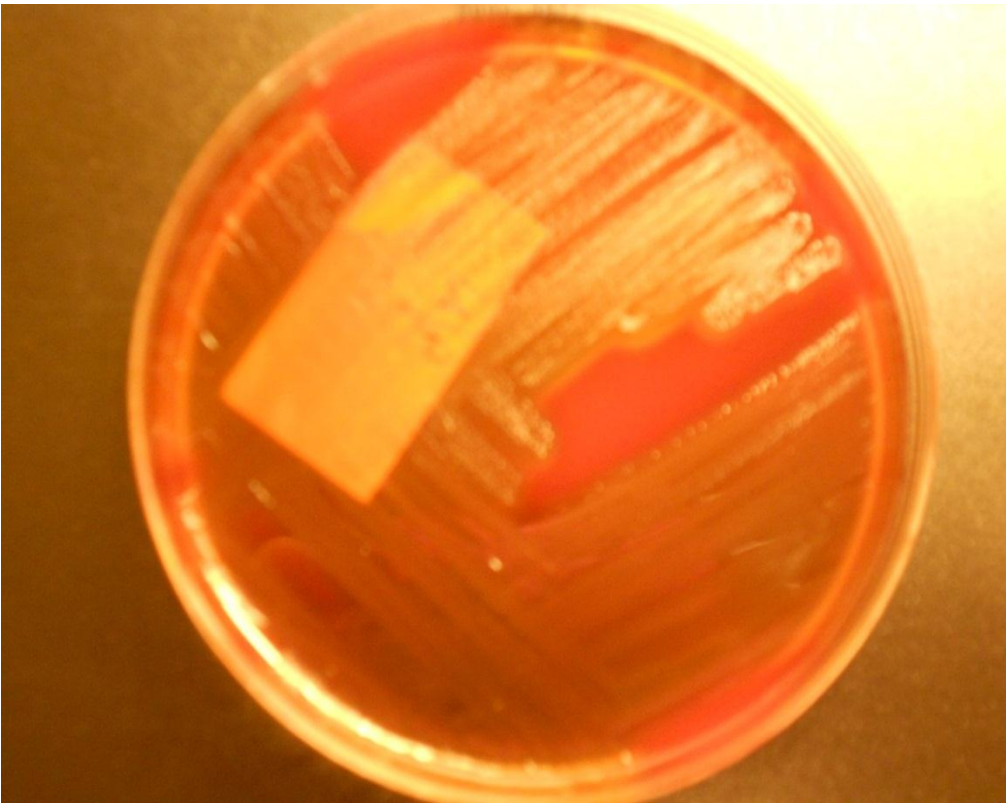
KUVA 7. *Staphylococcus epidermis*-kasvustoa verimaljalla.

4.1.3 A-ryhmän streptokokki

A-ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki eli *Streptococcus pyogenes* on yleinen taudinaiheuttajabakteeri. Pyogenes viittaa bakteerin kykyyn tuottaa märkää, jonka vuoksi sen aiheuttamat infektiot ovat märkiviä. Ylivoimaisesti suurin määrä sen aiheuttamista infektioista ovat nielurisatulehdukset eli **tonsilliitit**, mutta se aiheuttaa myös erilaisia iho- ja pehmytkudosinfektioita, kuten tulirokkoa, märkärupsea eli impetigoa ja ruusua eli erysipelasta sekä vakavia sepsiksiä.

Sepsis voi olla komplikaatio mihin tahansa A-streptokokin aiheuttamaan infektiin. Terveillekin ihmisille A-streptokokki voi aiheuttaa vakavan yleisinfektion, mikäli se pääsee verenkiertoon esim. ihorikon kautta. Potilaalla ei välttämättä ole paikallisia tulehdukseen viittaavia merkkejä, mutta veriviljely antaa positiivisen tuloksen. Veriviljely on kuitenkin aina syytä ottaa, mikäli sairaalahoidossa olevalla potilaalla on kuumetta tai oireet ovat muuten rajut. **Puerperalisepsis** eli lapsivuodekuume on A-streptokokin aiheuttama synnytyskomplikaatio. Se täytyy ottaa huomioon juuri synnyttäneellä, mikäli hänellä ilmenee kuumetta, lihaskipuja ja voimakkaita vatsakipuja.

A-ryhmän streptokokki on **grampositiivinen** fakultatiivisesti anaerobi **ketjukokki** ja **katalaasia** tuottamaton bakteeri. A-streptokokki kasvaa hyvin tavallisella verimaljalla sekä selektiivisellä streptokokkimaljalla +35-37asteessa. Niiden kasvua edistää 5 % hiilidioksiidiympäristö. Jo 18–24 tunnin kuluttua A-streptokokki on tunnistettavissa **kirkkaan hemolyysinsä** (β -hemolyysi) ansiosta. Pesäkkeet ovat harmaita tai melkein valkoisia ja ne ovat kiiltäviä. Viljelystä havaittu hemolyyttisen streptokokin helppo ja nopea laboratoriodiagnostinen menetelmä on määrittää sen **Lancefieldin ryhmä**. Testin periaate on, että erityiset latex-helmet on päällystetty Lancefieldin ryhmän **vasta-aineella**, jotka **agglutinoivat** streptokokin soluseinässä olevan hiilihydraateista koostuvan **antigeenin**. Agglutinaatio muodostuu, kun latex-helmet kiinnittyvät antigeeniin. Jokaista antigeeniryhmää vastaava latex-liuos on erilainen. A-streptokokin kuuluu luonnollisesti ryhmä A:han. Jotta voidaan varmistaa, että tietty streptokokkikanta on A-ryhmää, tehdään basitrasiinitesti. Kyseinen herkkyyskiekko aiheuttaa estorenkään jopa 97 % A-ryhmäisistä streptokokeista. Testi suoritetaan siten, että kiekko asetetaan joko **primaariviljelmälle** tai jo eristetyn kannan **puhdasviljelmälle**.

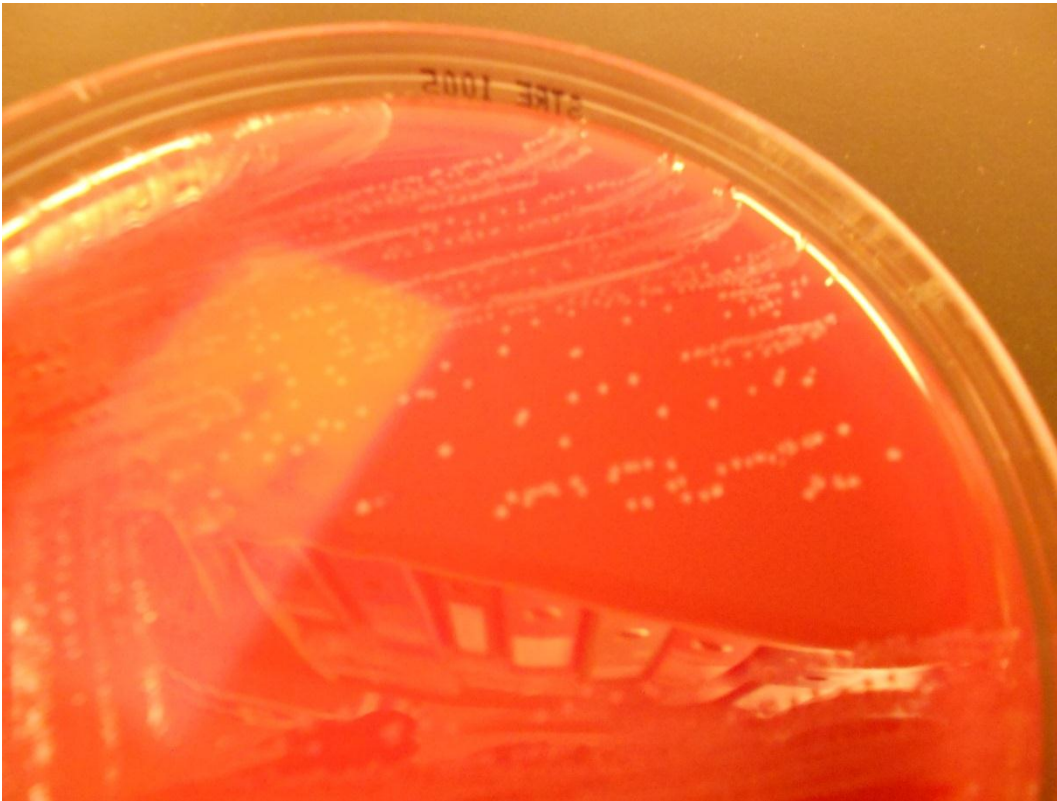


KUVA 8. A-ryhmän streptokokki (*Streptococcus pyogenes*)- kasvustoa streptokokkimaljalla.

4.1.4 B-ryhmän streptokokki

B-ryhmän beetahemolyyttinen streptokokki eli *Streptococcus agalactiae* kuuluu **emättimen** ja **aleman suoliston normaaliflooraan**. Sitä esiintyy myös virtsarakossa, suussa ja iholla ilman että se aiheuttaa tautia. Emättimessä tai peräsuolella kyseistä bakteeria kantaa 10–30 % raskaana olevista naisista, joten synnytyksen yhteydessä voi lapsikin saada tartunnan. B-streptokokki onkin yksi merkittävimpiä **vastasyntyneiden infektioiden aiheuttajia**. Se voi aiheuttaa tartuntoja myös raskaana oleville, vanhuksille ja pitkäaikaissairaille. B-ryhmän streptokokki voi aiheuttaa vastasyntyneelle vaikean yleisinfektion eli sepsiksen, meningiitin tai keuhkokuumeen. Myös synnyttäjä voi sairastua B-streptokokin aiheuttamaan sepsikseen.

B-ryhmän streptokokki kuuluu **grampositiivisiin**, fakultatiivisesti anaerobisiin **diplokokkeihin**. Ne kasvavat muiden streptokokkien tapaan hyvin verimaljalla +35–37 °C:ssa ja muodostuvat pesäkkeet ovat harmaita tai melkein valkeita sekä kiiltäviä. Kaikista streptokokeista B-streptokokilla on **isoimmat pesäkekoot**, mutta pesäkkeiden kokoon nähden hemolyysin alue on suhteellisen kapea. Joskus voi esiintyä myös täysin ei-hemolyyttisiä kantoja, jotka muistuttavat enterokokkeja. Tärkeä laboratoriodiagnostinen testi B-streptokokeille on **Lancefieldin ryhmän** määrittäminen. Kun näytteestä peräisin olevan B-antigeeni ja Lancefieldin vasta-aine synnyttävät **agglutinaation**, viittaa tämä suoraan siihen että kyseessä on B-streptokokki.



KUVA 9. B-ryhmän streptokokki (*Streptococcus agalactiae*)-kasvustoa streptokokkimaljalla.

4.1.5 Muut streptokokit

Suuripesäkkeiset ja beetahemolyttiset C- ja G-streptokokit kuuluvat **normaalimikrobistoon** hengitysteissä, ruuansulatuskanavassa ja urogenitaalialueella. Ryhmäantigeenin perusteella ne eivät kuitenkaan määritä mitään tiettyä streptokokkilajia. Ne pystyvät kuitenkin aiheuttamaan samankaltaisen nielutulehduksen kuin A-streptokokki, minkä takia ne tunnistetaan viljelyistä. Laboratoriot raportoivat löydöksen **pinta-antigeenin** mukaan C- tai G-streptokokeiksi. Erityisesti G-streptokokki on varsin yleinen veriviljelylöydös.

4.1.6 *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae eli pneumokokki on merkittävä ihmisen taudinaiheuttajabakteeri. Vaikka se kuuluu **hengitysteiden normaaliflooraan**, se kykenee aiheuttamaan erilaisia infektioita. Näistä yleisimpiä ovat **avohoitokeuhkokuume** ja erityisesti lasten **välikorvatulehdus** niin Suomessa kuin muuallakin maailmassa. Erityisesti kehitysmaissa miljoonia lapsia menehtyy sen aiheuttamaan keuhkokuumeeseen. Vakavia pneumokokin aiheuttamia infektioita ovat sepsis ja **meningiitti** (aivokalvontulehdus).

Pneumokokit kuuluvat erään streptokokkisuvun *Streptococcus mitis*-ryhmään. Ne ovat **grampositiivisesti** värjäytyviä kapselillisiä **diplo- tai ketjukokkeja** ja fakultatiivisesti anaerobisia eli ne pystyvät lisääntymään niin hapellisissa kuin hapettomissakin olosuhteissa.

Diagnostiikassa pneumokokkitulehdusten perusmenetelmänä käytetään viljelyä, kun näyte on otettu tulehduskohdasta. Pneumokokki on herkkä alhaisillekin antibioottipitoisuuksille, joten sen vuoksi näytteet tulisi ottaa **ennen antibiootihoidon aloitusta** ja otetut näytteet tulisi mahdollisimman nopeasti toimittaa laboratorioon. Pneumokokki kasvaa parhaiten verimaljalla 5 %:ssa hiilidioksidiatmosfäärissä. Pesäkkeet ovat vaaleita, säännöllisen pyöreitä ja keskellä on matala syvennys. Muodon vuoksi niiden sanotaan muistuttavan donitsia. Lisäksi pesäkkeitä ympäröi **vihertävä alfa-hemolyysi**, joka on muodostunut kun punasolut ovat vain osittain hajonneet. Mikäli on kyse veri- tai aivo-selkäydinnestenäytteestä, tehdään ensimmäisenä **gramvärjäys**. Tärkeä erotusdiagnostinen menetelmä on **optokiini-** nimisen antibioottikiekon käyttö, joka estää spesifisesti juuri pneumokokkien lisääntymistä. Optokiinikiekon avulla pneumokokit erotetaan muista alfa-hemolyttisistä, **viridans-ryhmän streptokokeista**. Joskus harvoin voi ilmetä kantoja, jotka ovat optokiinille resistenttejä, jolloin tunnistuksessa käytetään hyödyksi mm. pneumokokin **sappiliukoisuutta**, polysakkaridikapselin läsnäoloa tai PCR-menetelmää, jolla osoitetaan pneumokokille spesifiset geenit.

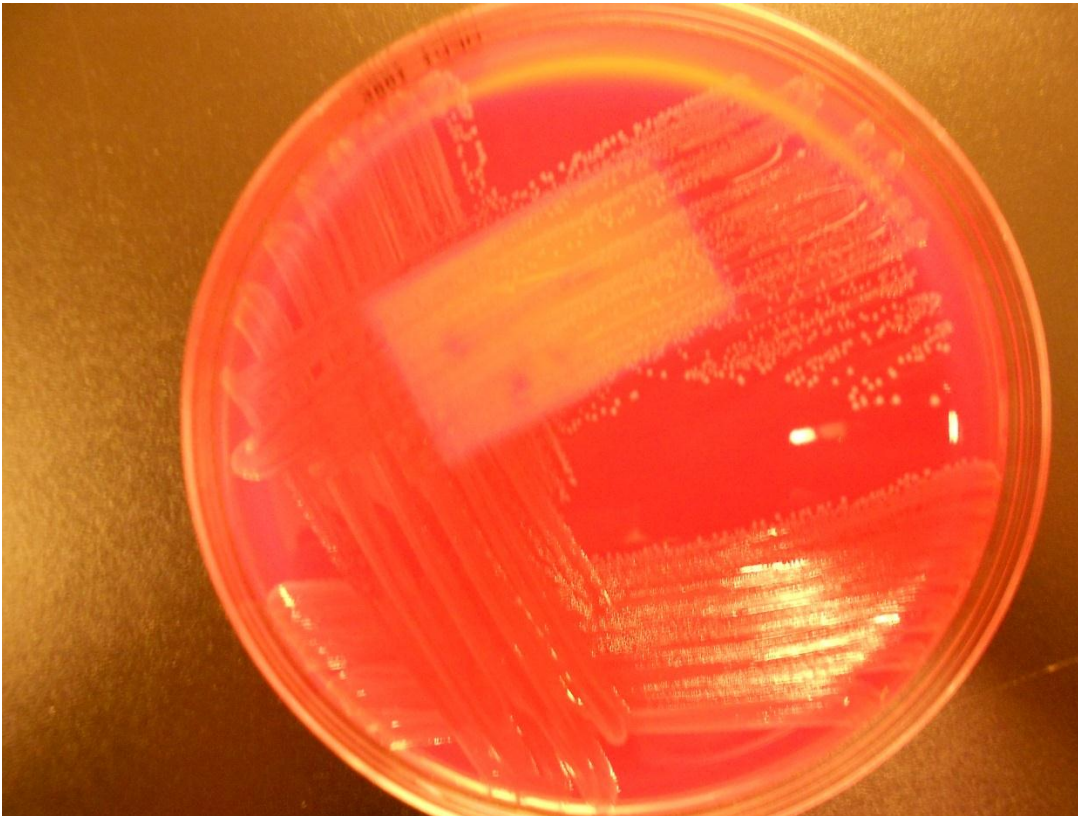
4.1.7 Enterokokit

Enterokokit ovat **suoliston normaaliflooraan** kuuluvia bakteereita, joista tavallisimmat lajit ovat *Enterococcus faecalis* ja *Enterococcus faecium*. Näitä kahta lajia tavataan 90 % kliinismikrobiologisista näytteistä. Näiden lisäksi muita lajeja ovat mm. *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* ja *E. hirae*. Enterokokeja esiintyy myös urogenitaalialueella, kuten välilihassa, ja vähäisissä määrin suussa. Yleisin enterokokin aiheuttama infektio on **virtsatietulehdus**, mutta se pystyy aiheuttamaan myös erilaisia haavatulehduksia ja vakavia sepsiksiä. Sen taudinaiheuttamiskyky on kuitenkin varsin alhainen ja useimmiten sairastuneiden elimistön puolustuskyky alentunut. Osa enterokokeista ovat vastustuskykyisiä **vankomysiini-antibiootille** ja näitä kantoja kutsutaan **VRE:ksi** (vankomysiiniresistentti enterokokki). Nämä kannat voivat aiheuttaa vaikeahoitaisia sairaalainfektioita

Enterokokit ovat fakultatiivisesti anaerobeja **grampositiivisia ketjukokkeja**. Ne ovat luonteeltaan hyvin kestäviä, sillä ne selviytyvät ja kasvavat monenlaisissa elinympäristöissä. Ne sietävät hyvin lämpötilan vaihteluja (10–45 astetta), suolaista ympäristöä (6,5 % NaCl) ja korkeaa pH:ta (9,6). Enterokokit kasvavat hyvin verimaljoilla 35–37 asteen lämpötilassa ja niiden pesäkkeet ovat harmaita ja pieniä. Ne eivät yleisimmin muodosta beetahemolyysiä, mutta **alfahemolyysiä** voi joskus esiintyä. Harvinaisissa tapauksissa voi kuitenkin esiintyä beetahemolyttisiä kantoja.

Enterokokeille voidaan soveltaa **Lancefieldin ryhmän tunnistusta**, jonka mukaan ne kuuluvat D-ryhmään. Muita erotusdiagnostisia testejä ovat **sappieskuliinitesti** sekä **arabinoosikoe**. Sappieskuliiniagarilla ilmentyvät enterokokit hajottavat eskuliinia ja reaktiossa muodostunut tuote reagoi raudan kanssa, mikä ilmenee maljalla mustana värinä. Sappi toimii reaktiossa selektiivisenä aineena, joka mah-

dollistaa reaktion. Arabinoosikokeen avulla pystytään erottamaan *E. faecium* ja *E. faecalis* toisistaan. Testin periaate on, että arabinoosimaljalla *E. faecium* fermentoi arabinoosia ja maljan väri muuttuu violetista keltaiseksi. *E. faecalis* ei sen sijaan fermentoi arabinoosia eli maljan väri pysyy violetina.



KUVA 10. *Enterococcus faecalis*-kasvustoa verimaljalla.

4.2 Gramnegatiiviset bakteerit

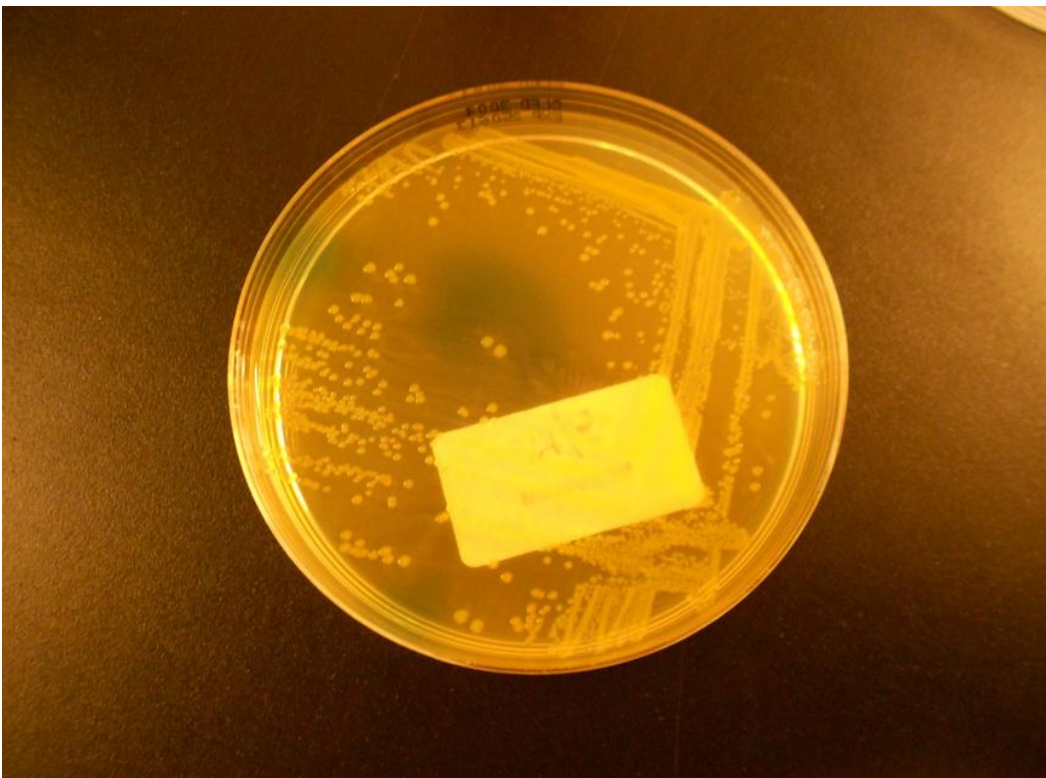
4.2.1 Escherichia coli

Escherichia coli on **gramnegatiivinen**, fakultatiivisesti anaerobinen **sauvabakteeri**, joka esiintyy ihmisellä **suolistossa**. Valtaosa suoliston aerobisesta bakteerifloorasta onkin juuri *E. colia*, jota on suolistossa lukuisia erilaisia kantoja. Monilla *E. coli* kannoilla on polysakkaridikapseli, jota sanotaan **K-antigeeniksi**. Tämä polysakkaridi on erityisesti bakteeremisia infektioita aiheuttavilla kolikannoilla. Useimmilla kannoilla on myös flagella ("siima"), eli H-antigeeni. *E. colilla* on monenlaisia fimbrioita ("rip-sejä") ja adhesiineja (mikrobien kiinnittymistä parantavia pinta-antigeenejä), joiden avulla kiinnittyminen erilaisiin kudoksiin ja pintoihin on mahdollista.

E. coli on ihmisen normaaliflooran bakteerina ihmiselle hyödyllinen, mutta se pystyy aiheuttamaan infektioita päästessään parenteraalitalaan ihmisen vastustuskyvyn heikennettyä tai vamman johdosta. Bakteremia ja sepsis voivat komplisoida *E. colin* aiheuttamia kirurgisia ja sekainfektioita, sekä **virtsatieinfektioita**, joka on tavallisin *E. colin* aiheuttama infektio.

E. coli tunnistaminen veriviljelystä alkaa **gramvärjäyksen** tarkastelulla. Gramvärjäyksessä nähdään gramnegatiivinen sauvabakteeri. Toisinaan *E. coli* näkyy mikroskoopilla gramvärjättyinä melko lyhyenä sauvana, joten sen voi helposti luulla olevan kokkibakteeri. Gramnegatiiviset sauvat voidaan erottaa toisistaan **oksideasikokeen** sekä **laktoosikokeen** avulla. Oksidaasikokeen periaate on, että bakteerin tuottama sytokromioksideasi-entsyymi hapettaa tietyn oksidaasireagenssin indofenoliksi, mikä ilmenee tummanviolettina värinä. *E. coli* kuuluu **oksideasinegatiivisiin bakteereihin**. Laktoosiposiitiviset bakteerit fermentoivat kasvualustansa (esim. Cled-malja) laktoosia, jolloin maljan väri muuttuu keltaiseksi. *E. coli* on **laktoosiposiitivinen**. Gramnegatiivinen sauvabakteeri saadaan nimettyä **API- testin** avulla (API 10S tai API 20E). API 20E:ssä on kaksikymmentä pientä testikammiota (API 10S sisältää kymmenen), jotka sisältävät kuivatettuja substraatteja. Kun bakteerisuspensiota laitetaan kammioihin, substraattit eivät ole enää kuivia, ja värimuutokset bakteerin aineenvaihdunnan ja pH-muutosten takia voivat tapahtua 18–24 tunnin sisällä 37 asteen lämpötilassa. Tuloksia tulkitaan siis tapahtuneiden värimuutosten perusteilla joko negatiiviseksi tai positiiviseksi, perustuen testivalmistajan tulkintataulukoon. Tulkinnassa hyödynnetään kolmen peräkkäisen testin positiivisista tuloksista muodostuvaa koodia, jonka perusteella bakteeri voidaan melko luotettavalla prosenttiosuudella tunnistaa.

E. coli on herkkä yleisesti gramnegatiivisiin bakteereihin tehoaville lääkkeille. Kuitenkin **moniresistenssi** on yleistä sairaaloissa, joissa käytetään paljon bakteerilääkkeitä, joten yleensä herkkyysmääritys on tarpeen. Kun *E. coli* on aiheuttanut septisen infektion, on tärkeää käyttää mahdollisimman varmasti tehoavaa lääkettä.



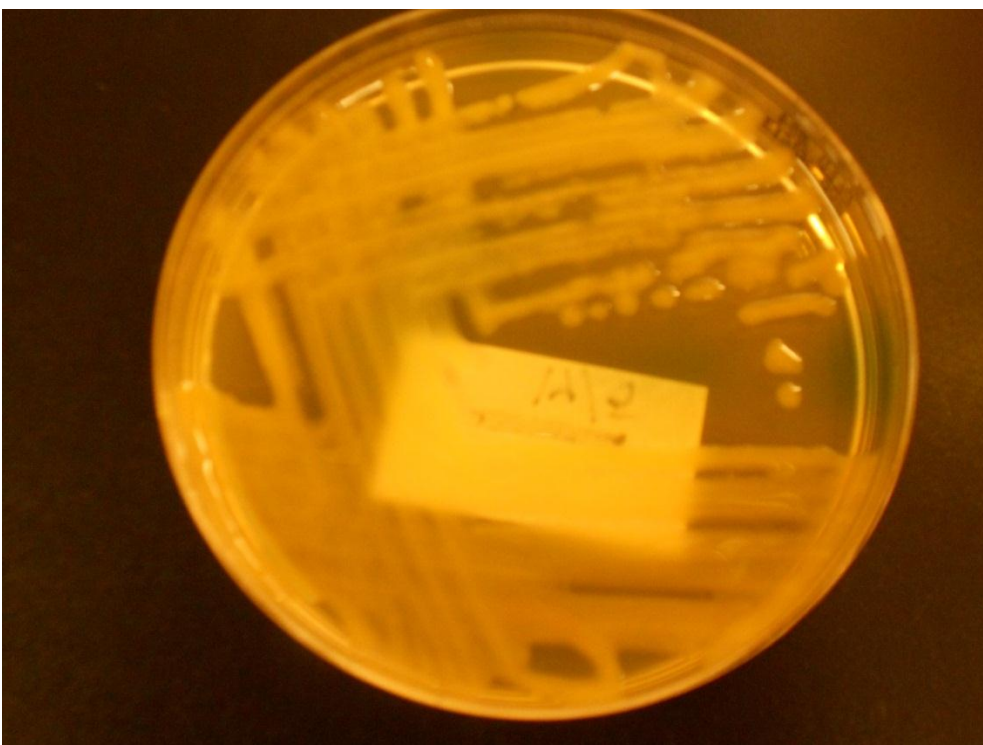
KUVA 11. *Escherichia coli* kasvustoa Cled-maljalla.

4.2.2 Klebsiella-suku

Klebsiella-suku kuuluu **gramnegatiivisiin anaerobisiin sauvabakteereihin**. Ne ovat liikkumattomia, käymisen avulla energiaa käyttöönään vapauttavia ja lysiinidekarboksylaasia tuottavia bakteereja. *Klebsiellat* ovat yleinen bakteerilaji ihmisen **suolistossa**, jossa se ei kuitenkaan ole taudinaiheuttaja. *Klebsiellan* ominaisuuksiin ja sen taudinaiheuttamiskykyyn kuuluu sen kyky muodostaa polysakkaridikapselia. *Klebsiella* lajeista *K. pneumoniae* ja *K. oxytoca* ovat ihmiselle patogeenisia. *Klebsiellan* aiheuttamia infektioita esiintyy yleensä potilailla, jotka ovat jo sairaalassa muista syistä. Täysin terveet ihmiset eivät yleensä saa *Klebsiellan* aiheuttamia infektioita.

Polysakkaridikapselin muodostuksen vuoksi *Klebsiellat* näkyvät elatusainemaljoilla **limaisina pesäkkeinä**. **Voges-Proskauerin (VP)** testissä *Klebsiellat* ovat yleensä positiivisia. Testiä käytetään asetoiinin havaitsemiseen. Asetoiinia muodostuu kun tietty bakteeri tuottaa sitä kasvaessaan puskuroidussa peptiini-glukoosi liemessä. *Klebsiella* on positiivinen myös lysiinidekarboksyylin osalta, sillä se tuottaa lysiinidekarboksylaasia. *Klebsiellat* ovat myös **laktoosipositiivisia**, mutta **oksidaasinegatiivisia**. Eräät *Raoultella*-bakteerilajit ovat ominaisuuksiltaan hyvin samanlaisia kuin *K. pneumoniae*, joten niiden erottaminen biokemiallisesti ilman erityisiä testejä on vaikeaa. Laboratorioissa tarkempi lajimääritys tehdään API-testillä, josta on kerrottu jo *E. coli*n yhteydessä.

K. pneumoniaesta, kuten myös *E. coli*ta, esiintyy **ESBL-kantaa**. ESBL tarkoittaa laajakirjoista **beeta-laktamaasientsyymiä**, jolla on kyky pilkkoa mikrobilääkkeitä. Kyseistä entsyymiä tuottavat bakteerit ovat vastustuskykyisiä yleisimmille sairaaloissa käytettäville antibiooteille. ESBL:ään voi liittyä myös moniresistenttiys, jolloin bakteeri voi olla vastustuskykyinen useimmille antibiooteille.



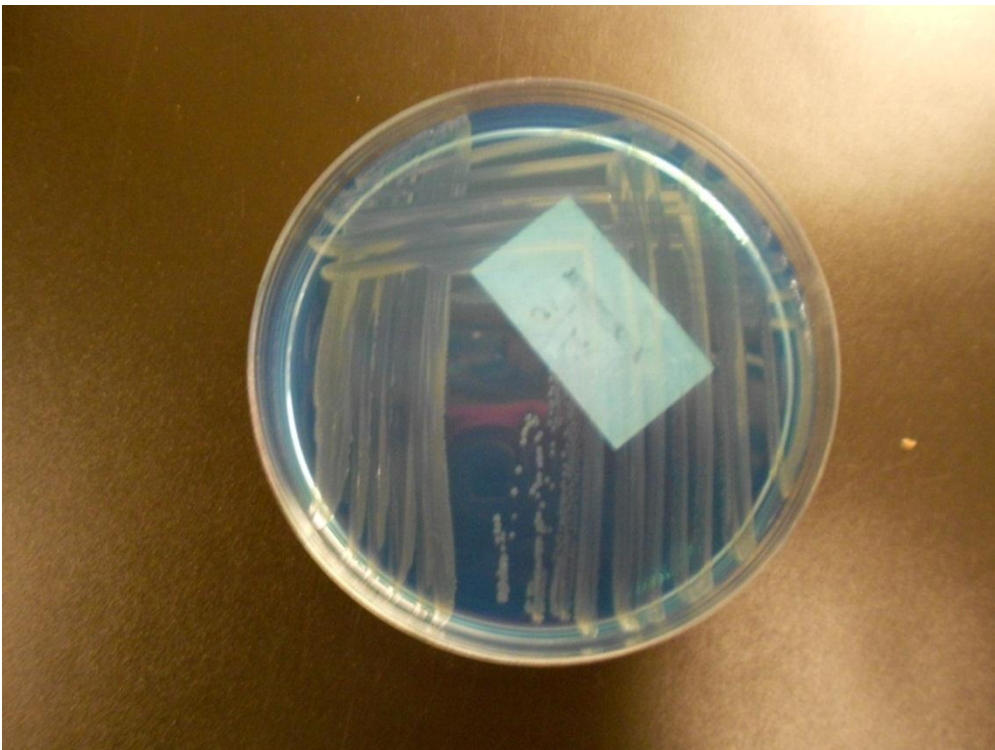
KUVA 12. *Klebsiella pneumoniae*-kasvustoa Cled-maljalla.

4.2.3 Pseudomonas-suku

Pseudomonaksista tärkein on ***P. aeruginosa***. Se on aerobisissa oloissa viihtyvä bakteeri, mutta pystyy kasvamaan myös anaerobisissa oloissa, mikäli olosuhteet ovat otolliset. Muuten *P.aeruginosa* on kasvuvaatimuksiltaan melko vaatimaton, mutta kosteat olosuhteet ovat sitä suosivia. Ihmisillä sillä esiintyy tavallisimmin välilihassa, kainaloissa ja korvissa. Infektioiden aiheuttajana se on **opportunisti**. Vaikka sillä on useita virulenssitekijöitä, ei se pysty aiheuttamaan infektiota perusterveelle ihmiselle, vaan varsinaisen infektion syntyyn tarvitaan jokin immuunipuolustusta heikentävä tekijä. Kun *P.aeruginosa* löydytään veriviljelystä, on sen saaneista potilaista yli 90 %:lla jokin perussairaus. Bakteremiariskiä lisääviä tekijöitä ovat muun muassa antimikrobihoito, katetrit, jokin invasiivinen toimenpide tai kirurginen operaatio. Pesäkkeinen *P.aeruginosa*-bakteremia liittyy tavallisesti keuhkokuumeeseen, virtsatieinfektioon tai kirurgiseen toimenpiteeseen.

Gramvärjäyksessä *P. aeruginosa* on **gramnegatiivisesti** värjäytyvä **sauvabakteeri** ja fakultatiivisesti anaerobinen. Maljalla se kasvaa litteänä, värillisen ja **metallinkiiltoisena** pesäkkeenä. **Oksidaasireaktiossa** se on positiivinen. *P. aeruginosalla* on myös tyypillinen **hedelmäinen tuoksu**. *P.aeruginosa*-viljelmät saattavat olla kannan tuottaman pigmentin perusteella joko sinertäviä, vihertäviä, punertavia tai mustia. Kuten muutkin gramnegatiiviset sauvabakteerit, myös *P. aeruginosa* voidaan lopullisesti tunnistaa API-testin avulla.

P.aeruginosa rakenne suojaaa sitä tehokkaasti useimmilta antimikrobeilta. Sen ulkomembraani on tehokas läpäisyeste ja sen seinämässä on myös antibiootteja solusta pois kuljettavia "pumppuja". Nämä tehostavat *P. aeruginosan* tuottamien **beetalaktamaasien** vaikutusta.



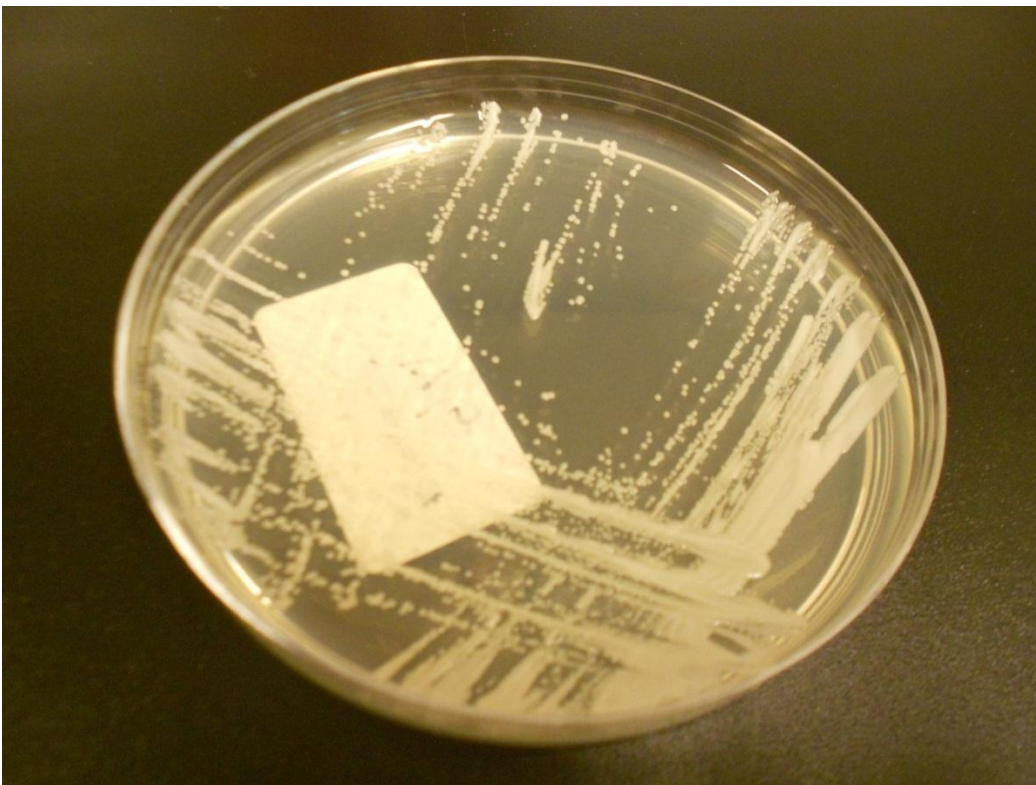
KUVA 13. *Pseudomonas aeruginosa*-kasvustoa Cled-maljalla.

4.3 Sienten tunnistaminen – Candida-suku

Candida on opportunistisista taudinaiheuttajista yleisin **hiivasienisuku**. Viljelyalustalla ne muodostavat kermanvaaleita pesäkkeitä. Yleisimmät infektion aiheuttajat ovat: *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* ja *C. parapsilosis*. Hiivasienet kasvavat hyvin agarmaljoilla ja tavallisissa veriviljelypulloissa, eivätkä ne välttämättä vaadi erillistä sienten viljelyyn tarkoitettua kasvualustaa. Gramvärjäyksessä *Candida albicans* on **grampositiivinen** ja värjäyksessä voi näkyä myös valerihmaa.

Candida albicans on yleisin ihmisessä esiintyvä hiivasieni. Terveen ihmisen normaalifloorassa sitä on niin **iholla** kuin myös **limakalvoilla** (suussa, maha-suolikanavassa ja genitaalialueella). *Candida albicans* on **opportunisti**, joten sen taudinaiheuttamiskyky on terveellä ihmisellä vähäinen. Oireisen infektiota voi saada henkilö, jolla immuunipuolustus on heikentynyt. Kandidainfektiot ovatkin yleensä lähtöisin potilaan omasta normaalifloorasta.

Candida albicansin voi erottaa muista *Candida*-suvun hiivasienistä siten, että se muodostaa itiöputkia. Tätä varten voidaan tehdä **seerumitesti**, jossa hiivakantaa inkuboidaan seerumissa 2-3 tuntia. Näytteestä otetaan tippa objektilasille, jota tarkastellaan **natiivisti mikroskoopilla**. Natiivisesti mikroskoopilla tarkastelu tarkoittaa sitä, että mikrobien esiintymistä ja rakennetta arvioidaan ilman värien käyttöä. Näytettä ei kiinnitetä lasiin, vaan se tutkitaan nesteinä peitinlasin alla. Menetelmä soveltuu hyvin bakteereja suurempien mikrobien, kuten tässä tapauksessa sienten, osoittamiseen.



KUVA 14. *Candida albicans*-kasvustoa TSA(tryptiinisoija)-maljalla.

5 MIKROBIEN LÄÄKEAINEHERKKYYKSIEN MÄÄRITTÄMINEN

Lääkeaineherkkyysmääritysten tarkoituksena on saada selville tutkittavan antimikrobilääkkeen **hoito-vaste** tutkittavan bakteerin aiheuttamaa infektiota vastaan. Lääkeaineherkkydet tehdään, kun bakteeri on saatu tunnistettua. Lisäksi tarkoituksena on havaita kyseisen bakteerikannan mahdollinen **resistenssi** (vastustuskyky) antimikrobilääkettä vastaan. Tästä syystä lääkeaineherkkyys tulee tehdä vain niille lääkkeille, joille bakteeri on luonnostaan herkkä.

Lääkeherkkyden mittaaminen tapahtuu bakteerikasvun estymisen perusteella, kun tutkittavaa lääkeainetta on läsnä. Rutiinisti lääkeaineherkkyysmäärittämissä käytetään ns. **kiekkomenetelmää**, jossa määritetään lääkeaineen tietyn pitoisuuden estovaikutus tutkittavan kannan kasvulle. Kiekkomenetelmä on suhteellinen, ja siinä mittaustulos on **estorenkään** halkaisija millimetreinä (mm). Lääkeaineet on yleensä annosteltu 6 mm läpimittaisiin kiekkoihin, jotka lisätään herkkyysmäärittämaljalle. Maljalle on ensin siirrostettu tutkittavasta kannasta tehtyä solususpensiota. Maljan annetaan kasvaa 18 tuntia, jonka jälkeen voidaan mitata kiekkojen aikaansaamat estorenkaat millimetreinä.

Millimetreinä saatua tulosta verrataan kyseisen lajin herkillä ja resistenteillä kannoilla saatuihin estorengastuloksiin. Tulos ilmoitetaan **SIR-tulkinnan** mukaisesti, jossa S (sensitive) tarkoittaa bakteerin olevan herkkä kyseiselle lääkeaineelle ja R (resistant) tarkoittaa kyseisen bakteerin olevan vastustuskykyinen kyseiselle lääkeaineelle. I (intermediate) tarkoittaa, että bakteerin sietokyky lääkkeelle saattaa olla normaalia korkeampi.

Sienille voidaan tehdä lääkeherkkyysmäärittäksiä samalla tavalla kuin bakteereillekin. Edellytyksenä kuitenkin on, että sieni kasvaa sopivalla herkkyysmaljalla 1-2 vuorokauden ajassa kasvustona, jonka estyminen lääkeaineen aiheuttamana voidaan havaita ja mitata. Lääkeherkkyysmäärittäminen sienille tulisi laboratoriossa tehdä silloin, kun infektion aiheuttajana on sieni, jonka herkkyden epäillään alentuneen ensisijaiselle sienilääkkeelle. Määrittäksiä tehdäänkin pääsääntöisesti *Candida*-suvun hiivoille, jotka ovat pääsääntöisesti herkkiä sienilääkkeille.

6 VERIVILJELYTULOSTEN ARVIOINTI

Kliinisen laboratoriotutkimusprosessin viimeinen vaihe on **postanalyttinen vaihe**. Postanalyttisessä vaiheessa arvioidaan **analyysien onnistumista** ja **tulosten luotettavuutta**. Tulosten tarkastamisen ja hyväksymisen jälkeen laboratorio raportoi ne pyytävälle lääkärille tietojärjestelmiä hyväksi käyttäen, joka tulkitsee vastauksen ja tekee vastauksen perusteella hoitopäätöksen. Hoitopäätös tehdään usein jo gramvärjäystuloksen saatua, jolloin aloitetaan ensilinjan antibioottihoito potilaalle. Tämä tehdään, koska varhain aloitettu antibioottihoito parantaa potilaan ennustetta. Veriviljelyiden tulosten luotettavuutta on tärkeää arvioida mahdollisten **häiriötekijöiden**, kuten kontaminaatioiden varalta. Mikäli tullaan siihen tulokseen, että näyte ei ole kelvollinen syystä tai toisesta, voidaan pyytää uusi näyte. Analysoidut näytteet säilytetään tietyn ajan mahdollisia uusintatutkimuksia, tarkistuksia tai jatkomäärittelyjä varten.

Veriviljelylöydöksen osalta on tärkeää arvioida, onko kyseessä näytteenottokontaminaatio vai aito, tautia aiheuttava mikrobi. Löydöksen arviointia merkittävänä patogeenina (taudinaiheuttajana) edesauttaa **positiivisten veriviljelypullojen määrä**. Kun löydös tunnistetaan vain yhdestä pullosta, kasvun merkittävyys riippuu niin potilaan taudinkuvasta kuin eristetyistä bakteerista. Mikäli eristetty bakteeri on jokin **ihon normaaliflooran bakteeri**, kuten *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus* spp., propionibakteeri tai aerobinen korynebakteeri ja ylipäättään bakteremia on epätodennäköinen potilaan taudinkuvaan nähden, tulosta voidaan pitää mitä todennäköisimmin kontaminaationa. Mitä useammassa pullossa ja mitä useammin näyte on otettu, sitä varmempana voidaan pitää todellista bakteremiaa. Välttämättä tässä aiheessa ei ole selvillä, mistä patogeeni on tunkeutunut elimistöön. Lisäveriviljelyiden avulla löydöksen arviointi voi muuttua kontaminaatiosta oikeaksi taudinaiheuttajaksi tai toisin päin potilaan hoidon myöhemmässä vaiheessa.

7 KYSYMYKSIÄ

1. Mitä tarkoittaa prokaryootti?
2. Mitä tarkoittaa normaalifloora ja mitä ovat sen tehtäviä?
3. Millä tavoin erilaiset bakteerit värjäytyvät gramvärjäyksessä? Mistä johtuu bakteerien erilainen värjäytyminen?
4. Millaisia veriviljelypulloja on olemassa? Miksi?
5. Mitä tarkoitetaan termeillä bakteremia ja fungemia?
6. Millaiset tilanteet "edistävät" mahdollisten bakteremioiden syntyä?
7. Mitä tarkoittaa sepsis?
8. Miksi veriviljelyn yhteydessä otetaan usein myös CRP- ja PVK (perusverenkuva)-laboratoriokokeet?
9. Mitä tarkoitetaan rikastusviljelyllä?
10. Pitääkö väite paikkansa: Monet merkittävät taudinaiheuttajabakteerit kasvavat hyvin veriviljelypullojen elatusaineessa, mutta sienille on kehitetty omat elatusaineet.
11. Miten potilaan mahdollinen antibioottihoito vaikuttaa näytteenottoon ja näytteen analysoimiseen?
12. Pitääkö väite paikkaansa: Veriviljelyn optimaalinen näytemäärä on 16–20 ml/ pullo.
13. Miten veriviljelyautomaatti havaitsee kasvun veriviljelypullossa? Miten kasvu voidaan todeta, jos veriviljelypulot ovat olleet vain tavallisessa lämpökaapissa?
14. Mikä merkitys aseptiikalla on veriviljelyiden näytteenotossa?
15. Saako näytteenoton jälkeen veriviljelypulloja asettaa tavalliseen lämpökaappiin? Miksi/miksi ei?
16. Jos pullosta havaitaan kasvua, mitä näytteelle tehdään ensimmäisenä?
17. Miksi lähetetiedot ovat tärkeitä tutkimuksen onnistumiselle?
18. Mikä on biokemiallisten testien toimintaperiaate?
19. Minkälaisena *Staphylococcus aureus* näkyy gramvärjäyksessä? Entäs maljalla?
20. Miten *Staphylococcus aureuksen* voi erottaa muista stafylokokkeista?
21. Mitä tulee huomioida, jos veriviljelynäytettä analysoidessa löytyy koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja?
22. Mikä on tärkein menetelmä pneumokokin tunnistamiseen?
23. Mihin bakteeriin liittyy termi VRE? Mitä se tarkoittaa?
24. Milloin käytetään arabinoosikoetta? Mihin se perustuu?
25. Miltä streptokokit näyttävät gramvärjättyinä? Entä maljalla?
26. Mitä tarkoitetaan Lancefieldin ryhmän määrittämisellä? Mihin se perustuu?
27. Minkänäköinen *E. coli* on värjättyinä/maljalla?
28. Miten gramnegatiiviset sauvabakteerit tyypillisesti tunnistetaan?
29. Mikä bakteeri kasvaa maljalla limaisina pesäkkeinä?
30. Mitkä tilanteet/olosuhteet altistavat *P. aeruginosa*-bakteremialle?
31. Minkä mikrobin tunnistamiseen käytetään seerumitestä?

32. Miksi määritetään bakteerien lääkeaineherkkyydet?

33. Mitä tarkoittaa estorengas?

34. Mitä tarkoitetaan SIR- tulkinnalla?

35. Potilaasta on otettu kaksi veriviljelyä (2x pullopari) samalla kertaa ja veriviljelyautomaatti hälyttää yhden pullon kohdalla. Näyte analysoidaan ja löydökseksi saatiin eräs *Bacillus*- suvun bakteeri. Mitä tuloksesta voisi sanoa?

LÄHTEET

- Abbott, S. 2011. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other *Enterobacteriaceae*. Teoksessa Carroll, K., Funke, G., Jorgensen, J., Landry, M-L., Versalovic, J., Warnock, D. (editors). *Manual of clinical microbiology*. 10th Edition. Volume 1. Washington DC: ASM Press. 639-657.
- American Society for Microbiology 2011. *Lancefield Grouping for Streptococcus Showing Agglutination* [verkkojulkaisu]. American Society for Microbiology [viitattu 10.9.2013]. Saatavissa: <http://www.microbelibrary.org/library/2-associated-figure-resource/3523-lancefield-grouping-for-streptococcus-showing-agglutination-labeled-view>
- Anttila, V-J & Tissari, P. 2005. Muu *Enterobacteriaceae*-heimo. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja I. Helsinki: Duodecim. 192–194.
- Anttila, V-J & Tissari, P. 2005. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja I. Helsinki: Duodecim. 195–202.
- Anttila, V-J., Kokki, M., Richardson, M. 2005. Kandidat. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja I. Helsinki: Duodecim. 298–309.
- Atlas, R & Snyder, J. 2011. Reagents, Stains, and Media: Bacteriology. Teoksessa Carroll, K., Funke, G., Jorgensen, J., Landry, M-L., Versalovic, J., Warnock, D. (editors). *Manual of clinical microbiology*. 10th Edition. Volume 1. Washington DC: ASM Press. 272-303.
- Bannerman, T. L. & Peacock, S. J. 2007. *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci*. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (editors) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Volume 1. Washington: ASM Press, 390-411.
- Baron, E. J., Peterson L. R. & Finegold, S. M. 1994. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th edition. St. Louis: Mosby- Year Book, Inc.
- Chapin, K. C. & Lauderdale, T-L. 2007. Reagents, Stains and Media: Bacteriology. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (editors) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Volume 1. Washington: ASM Press, 334-364.
- Ernst, D.J. 2004. Controlling blood-culture contamination rates. *Medical Laboratory Observer* [verkkojulkaisu] 14-18 [viitattu 20.9.2013]. Saatavissa: <http://www.mlo-online.com/articles/200403/0304coverstory.pdf>
- Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2011. *Bakteeriviljely, verestä* [verkkosivu]. Kliininen mikrobiologia. Seinäjoen keskussairaala [viitattu 4.4.2012]. Saatavissa: <http://www.epshp.fi/files/3395/B-BaktVi-1153-2.pdf>

- Fimlab Laboratoriot Oy 2011. *Bakteeri, viljely (verestä)* [verkkosivu]. Fimlab Laboratoriot Oy [viitattu 4.4.2012]. Saatavissa: http://www.fimlab.fi/laboratoriotutkimukset/nayta.tmp?sivu_id=34;id=3990;talleta_url=1
- Fimlab Laboratoriot Oy 2013. *Kaikkiin tutkimuksiin vaadittavat yleistiedot* [verkkosivu]. Kanta-Hämeen sairaanhoitopiiri [viitattu 30.9.2013]. Saatavissa: <http://www.khshp.fi/laboratorio-ohjeet/L%C3%84HETEVERIVILJELY.htm>
- Fraser, S.L. 2012. *Enterococcal Infections. Background* [verkkojulkaisu]. WebMD LLC [viitattu 4.9.2013]. Saatavissa: <http://emedicine.medscape.com/article/216993-overview>
- Hautala, T. 2007. Veriviljely vakavien yleisinfektioiden diagnostiikassa- kliinikon näkökulma. *Moodi* 1 (31), 38–39.
- Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Bakteriologia. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. Toinen, uudistettu painos. Helsinki: Kuntaliitto, 31–50.
- Helenius, M., Kilpeläinen, K., Taponen, E. 2012. *Mikrobiologiaa bioanalytikoille. Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen*. [verkkojulkaisu]. Savonia amk. [Viitattu 8.10.2013]. Saatavissa: https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius_Minna%20Kilpelainen_Kati%20Taponen_Elisa.pdf?sequence=1
- Huslab 2013. *Bakteeri, veriviljely, seulomaton näyte* [verkkosivu]. Huslab [viitattu 19.9.2013]. Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/1153.html>
- ISLAB 2013. *Veriviljely* [verkkosivu]. ISLAB [viitattu 25.8.2013]. Saatavissa: www.islab.fi
- ISLAB 2013. *Mykobakteeriviljely verestä* [verkkosivu]. ISLAB [viitattu 19.9.2013]. Saatavissa: <http://www.islab.fi/index.asp?tz=-3>
- ISLAB 2013. *Streptokokkiviljely nielusta* [verkkosivu]. ISLAB [viitattu 6.9.2013]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp?indeksi=3088>
- Jalava, J. 2010. Ihmisen normaali mikrobisto ja sen merkitys. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 76-82.
- Katila, M-L. 2003. Diagnostiset perusmenetelmät kliinisessä bakteriologiassa ja mykologiassa. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY. 341–345.
- Katila, M-L. 2003. Tavallisimmat menetelmät bakteriologian, mykologian ja parasitologian tutkimuksissa. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY. 346–358.

- Kauma, H. & Virolainen-Julkunen, A. 2010. Pneumokokki. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 112–121.
- Kauppila, J. 2007. Veriviljely vaikeiden infektioiden diagnostiikassa- laboratorionnäkökulma. *Moodi* 1 (31), 36–37.
- Koskela, M. 2006. Sienten herkkyysmääritykset. *Moodi* 6 (30), 208–209.
- Koskela, M. 2001. Veriviljelylöydökset ja niiden kliininen merkitys. *Moodi* 1 (25), 34–35.
- Koskela, M. 2011. *Ulkoinen laadunarviointikierros, bakteeriviljely 1* [verkkojulkaisu]. Labquality [viitattu 19.9.2013]. Saatavissa: http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3&path=Kuvat/MB/bakteeriviljely%204%202011_nettikuvat.pdf
- Lumio, J. 2012. *Aivokalvontulehdus (meningiitti)* [verkkojulkaisu]. Duodecim [viitattu 27.9.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00558
- Lumio, J. 2013. *MRSA (metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus)* [verkkojulkaisu]. Duodecim [viitattu 26.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00586
- Lyytikäinen, O., Vuopio-Varkila, J. & Kotilainen, P. 2010. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 98–101.
- Martins Teixeira, L., Siqueira Carvalho, M. da G & Facklam, R., R. 2007. *Enterococcus*. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (toim.) *Manual of Clinical Microbiology*. 9. painos. Washington: ASM Press. 430-442.
- Meurman, O. 2010. *Gram-värijäykset* [verkkojulkaisu]. Labquality. Tykslab [viitattu 30.9.2013]. Saatavissa: <http://labquality-fi-bin.directo.fi/@Bin/981ccd36785ad6934cece8b5213c0c71/1377098892/application/pdf/2028802/Meurman%20Gram%20nettiin.pdf>
- Mustajoki, P. 2012. *Endokardiitti (sydänläppien tulehdus)* [verkkojulkaisu]. Duodecim [viitattu 27.9.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00679
- Mäki, T. 2000. Verinäyteputkien ottojärjestys. *Moodi* 6 (24), 174–175.
- Nissinen, A. 2010. Veriviljelyn näytteenotto. *Moodi* 5 (34), 238–241.
- Nissinen, A. 2006. Bakteerin lääkeherkkyden määrittäminen. *Moodi* 6 (30), 202–204.

Ojanen, T. 2003. Veriviljelyn laadunarviointi. *Moodi* 1 (27), 37–38.

Ojanen, T. 2009. Veriviljelyn laadunarviointi. *Moodi* 1 (33), 55-57.

Pathogen Profile Dictionary 2010. *Enteropathogenic Escherichia coli* [verkkosivu]. The Journal of Undergraduate Biological Studies [viitattu 22.10.2013]. Saatavissa:

<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/enteropathogenic.htm>

Pathogen Profile Dictionary 2010. *Staphylococcus aureus* [verkkosivu]. The Journal of Undergraduate Biological Studies [viitattu 22.10.2013]. Saatavissa: <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/aureus.htm>

Pathogen Profile Dictionary 2010. *Streptococcus agalactiae* [verkkosivu]. The Journal of Undergraduate Biological Studies [viitattu 22.10.2013]. Saatavissa: <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/agalactiae.htm>

Rantakokko-Jalava, K. & Anttila, V.-J. 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 122–129.

Salmela, K. 2007. *Harvinaista lapsivuodekuumetta KYS:ssä* [verkkojulkaisu]. Kantti.net [viitattu 6.9.2013]. Saatavissa: <http://www.kantti.net/artikkeli/2007/11/harvinaista-lapsivuodekuumetta-kysssa>

Salonen, J. 2013. *Punasolujen kiihtynyt anemia (hemolyyttinen anemia)* [verkkojulkaisu]. Duodecim [viitattu 26.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00923

Saxén, H. & Vuopi-Varkila, J. 2010. B-ryhmän streptokokki. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 110–111.

Scheinin, T. & Leppäniemi, A. 2007. *Äkillinen vatsakipu* [verkkojulkaisu]. Kandidaattikustannus Oy [viitattu 7.10.2013]. Saatavissa: http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=%C3%84killinen_vatsakipu

Siitonen, A & Vaara, M. 2005. *Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia*. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltonen, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V., (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I*. Helsinki: Duodecim, 176–191.

Silvennoinen-Kassinen, S. 1996. Sienet, mycota (fungi). Teoksessa Tiilikainen, A. Vaara, M. Vaheri, A. (toim.). *Lääketieteellinen mikrobiologia*. Helsinki: Duodecim. 440–449.

Solunetti 2006. *Bakteerit (prokaryootti)* [verkkosivu]. Solunetti [viitattu 30.3.2013]. Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/bakteerit/2/>

Spellerberg, B. & Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. Teoksessa Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller M., A. (editors) *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Volume 1. Washington: ASM Press, 412–429.

Stöppler, M. C. 2012. *Staph Infection (Staphylococcus aureus)* [verkkójulkaisu]. MedicineNet [viitattu 26.8.2013]. Saatavissa: http://www.medicinenet.com/staph_infection/article.htm

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *A-ryhmän streptokokki (Streptococcus pyogenes)* [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [viitattu 5.9.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektioaudit-fi/a-ryhman-streptokokki

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *B-ryhmän streptokokki* [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [viitattu 10.9.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektioaudit-fi/b-ryhman-streptokokki

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *ESBL*. [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. [viitattu 10.6.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektioaudit-fi/esbl

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2013. *VRE* [verkkójulkaisu]. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [viitattu 4.9.2013]. Saatavissa: http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektioaudit-fi/vre

Terveyskirjasto 2013. *Adhesiini* [verkkosivu]. Duodecim [viitattu 10.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=ltt00023&p_teos=ltt&p_osio=108&p_selaus=

Terveyskirjasto 2013. *Fagosytoosi* [verkkosivu]. Duodecim [viitattu 18.9.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt00804

Terveyskirjasto 2013. *Fimbria* [verkkosivu]. Duodecim [viitattu 10.8.2013]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt00859&p_teos=ltt&p_selaus=

Tikka, L. & Pylkkönen, R. *Kliinisen mikrobiologian harjoitustyömoniste*. Savonia-ammattikorkeakoulu.

Tohtori 2013. *Virulenssi* [verkkosivu]. Terve Media Oy [viitattu 18.9.2013]. Saatavissa: <http://www.tohtori.fi/?page=4069997&search=virulenssi>

Tuokko, S., Rautajoki, R. & Lehto, L. 2008. *Kliiniset laboratorionäytteet- opas näytteiden ottoa varten*. Helsinki: Tammi.

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. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Duodecim. 14–40.

- Vaara, M., Skurnik, M. & Sarvas, M. 2005. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.) *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I.* Helsinki: Duodecim, 51–75.
- Valtonen, V. & Rintala, E. 2005. Sepsis ja epäselvä kuumeilu. Teoksessa Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.) *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II.* Helsinki: Duodecim, 502–511.
- 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. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet.* Helsinki: Duodecim. 83–97.
- Vuopio-Varkila, J., Syrjänen, J. & Kotilainen, P. 2010. A-ryhmän streptokokki. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S., & Vaara, M. (toim.) *Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet.* Helsinki: Duodecim. 102–109.

