

# TERVEYSALANOPETTAJIEN TYÖPUHELIMIEN BAKTEE- RIEN TUNNISTAMINEN

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Heli Miettinen	
Työn nimi Terveysalanopettajien työpuhelimien bakteerien tunnistaminen	
Päiväys 25.05.2016	Sivumäärä/Liitteet 25/1
Ohjaaja(t) Leena Tikka	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu	
<p>Tiivistelmä</p> <p>Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli kerätä Savonia-ammattikorkeakoulun noin 50 terveystieteiden työpöydästä pintanäytteitä ja tunnistaa, mitä bakteereja puhelinten pinnalta löytyy. Tavoitteena oli siis saada kuva siitä, mitä bakteereja terveystieteiden työpöytäpuhelimien kertyy sekä selvittää hieman sitä, mistä työpöytäpuhelimien pintaan kertyneet bakteerit voisivat olla peräisin ja ovatko ne patogeenisiä. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Savonia-ammattikorkeakoulu. Alkuperäinen idea opinnäytetyölle tuli LED Suutari Oy:ltä, joka kehittää uudenlaista UV-LED-tekniikalla varustettua desinfiointitekniikkaa, jolla pystytään desinfiomaan esimerkiksi mobiililaitteita.</p> <p>Näytteitä saatiin 35:stä terveystieteiden työpöydästä. Näytteet kerättiin ja viljeltiin Savonia-ammattikorkeakoulun tiloissa. Kaikista 35 työpöydästä otetusta näytteestä löytyi bakteerikasvustoa ja niissä kasvoi stafylokokkeja, pseudomonasta, bacillusta sekä mikrokokkeja. Yhdestä puhelimesta löytyi <i>Staphylococcus aureus</i>, joka on patogeeninen bakteeri. Puhelimesta kerättiin myös tieto siitä, onko se liikkunut sairaalaympäristössä tai onko siinä näppäimistö. Sairaalaympäristössä liikkuminen ei kuitenkaan näyttänyt lisäävän työpöytäpuhelimien kertyviä bakteereja eikä myöskään perinteisellä näppäimistöllä todettu olevan juurikaan merkitystä siihen, kerääntykö erilaisia bakteereja tällaiseen puhelimeen enemmän. Stafylokokkipesäkkeitä kasvoi kuitenkin joissakin perinteisen näppäimistön puhelimissa silmämääräisesti enemmän. Lisäksi puhelinten takapuolelta otetuista näytteistä löytyi enemmän bakteerilajeja kuin puhelimen etupuolelta otetuista näytteistä.</p>	
Avainsanat UV-LED-tekniikka, bakteerit, puhelimet	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Heli Miettinen			
Title of Thesis Discover what bacterium health care teachers work mobile phones had			
Date	25.05.2016	Pages/Appendices	25/1
Supervisor(s) Leena Tikka			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p>The purpose of this thesis was to swab and collect samples from the work mobile phones of fifty health care teachers at Savonia University of Applied Sciences and discover what bacterium was present. The goal was to gain an insight into what bacterium the phones had attracted and to ascertain the origins of the bacterium. In addition to the origin, the pathogenicity of the bacterium was distinguished. The thesis was commissioned by Savonia University of Applied Sciences, however LED Suutari Oy gave the original idea for the thesis. LED Suutari Oy are in the process of developing a new technique for disinfecting using UV-LED technology, the technique could for example be used on mobile phones.</p> <p>The work mobile phones of 35 health care teachers were swabbed, the samples were collected and the cultures were studied at the facilities of Savonia University of Applied Sciences. All 35 cultures contained bacterium, including; Staphylococci, Pseudomonads, Bacilli and Micrococci. One sample contained Staphylococcus aureus which is a pathogenic bacterium. Information about the mobile phones was also recorded, did the phone have a key pad and had the phone been moved within a hospital environment. The results showed that phones that had been moved in a hospital environment did not have different results to those that had not been in hospital environments. There was also no recognizable variation in results when comparing the amount of bacterium on the phones with key pads to the phones that did not have key pads, however there did seem to be slightly larger Staphylococcus colonies from the phones with key pads. The swabs from the back covers of the phones were found to have more bacterium than the swabs from the fronts of the phones.</p>			
<p>Keywords UV-LED technology, bacterium, mobile phones</p>			

## SISÄLTÖ

1	JOHDANTO .....	5
2	BAKTEERIT .....	7
2.1	Bakteerin rakenne .....	7
2.2	Bakteerien jaottelu .....	8
2.3	Ihmisen normaalifloora .....	8
2.4	Bakteerien virulenssitekijät ja tartuntatiet .....	9
3	BAKTERIOLOGIAN TUTKIMUSMENETELMIÄ .....	11
3.1	Viljely, gram-värijäys ja mikroskopointi .....	11
3.2	Tunnistuskokeiden periaatteita .....	12
3.3	MALDI-TOF MS .....	13
4	TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSONGELMAT .....	14
4.1	Tutkimuksen tarkoitus ja tavoite .....	14
4.2	Tutkimusongelmat .....	14
5	TUTKIMUKSEN SUORITTAMINEN .....	15
5.1	Näytteiden kerääminen .....	15
5.2	Tutkimusmenetelmät .....	15
6	TUTKIMUKSEN TULOKSET JA NIIDEN ARVIOINTI .....	17
7	POHDINTA .....	20
7.1	Tavoitteiden toteutuminen ja työn onnistuminen .....	20
7.2	Eettisyys ja luotettavuus .....	20
7.3	Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu .....	21
	LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT .....	22
	LIITE 1: KIRJE OPETTAJILLE .....	25

## 1 JOHDANTO

Erilaiset mobiililaitteet ovat nykyisin osa arkea niin sairaalaympäristöissä, oppilaitoksissa kuin jokaisen yksityiselämässäänkin ja esimerkiksi matkapuhelimiin kerääntyneitä bakteereita on tutkittu ympäri maailmaa. Ulgerin, Dilekin, Esenin, Sunbulin ja Leblebicioglun kirjallisuuskatsauksessa (2015) on käyty läpi 39 vuosina 2005 - 2013 julkaistua tutkimusta siitä, ovatko terveydenhuollon henkilökunnan työpuhelimet mahdollisia sairaalainfektioiden lähteitä. Useat tutkimukset osoittivat puhelinten kontaminoituvan, mutta suoraa näyttöä sairaalainfektioiden aiheuttamisesta ei löytynyt.

Tässä opinnäytetyössä tarkoituksena on kerätä Savonia-ammattikorkeakoulun noin 50 terveystalouden opettajan työpuhelimista pintanäytteitä ja tunnistaa, mitä bakteereja puhelinten pinnalta löytyy. Tavoitteena on siis saada kuva siitä, mitä bakteereja terveystalouden opettajien työpuhelimiin kertyy sekä selvittää hieman sitä, mistä työpuhelimien pintaan kertyneet bakteerit voisivat mahdollisesti olla peräisin ja ovatko ne patogeenisiä. Tätä tietoa voidaan hyödyntää esimerkiksi silloin, kun valitaan oikeaa puhdistusmenetelmää työpuhelimien puhdistamiseen.

Aihe opinnäytetyölle tuli varkauteilaiselta LED Suutari Oy:ltä, joka kehittää uudenlaista ekologista, energiatehokasta ja täsmällistä UV-LED-tekniikalla varustettua desinfiointitekniikkaa, jolla pystytään desinfioimaan esimerkiksi mobiililaitteita ja joka soveltuu myös lääketieteeseen käyttöön (Led Suutari Oy 2016). Tämän opinnäytetyön toimeksiantajana toimii kuitenkin Savonia-ammattikorkeakoulu, sillä Led Suutari Oy vetäytyi hankkeesta.

UV-valo tarkoittaa sähkömagneettista ultraviolettisäteilyä, jonka aallonpituus on lyhyempää kuin näkyvän valon ja se jaetaan kolmeen ryhmään sen aallonpituuden perusteella. Pitkäaaltoisinta on UV-A-säteily (315 - 400 nm). Keskiaallonpituudet käsittävä on UV-B-säteily (280 - 315 nm) ja kaikista lyhytaaltoisinta on UV-C-säteily (100 - 280 nm), joka on myös elolliselle luonnolle kaikkein vaarallisin, sillä se vahingoittaa DNA:ta. Esimerkiksi Rutala kumppaneineen (2010) on tutkinut 245 nm aallonpituutta tuottavaa UV-C-säteilylaitetta pintojen desinfektiossa. Sen avulla mikrobipesäkkeet vähenivät 15 minuutissa 99,9 % ja sen teho riittää moniin patogeeneihin. (Terho ja Kurvinen 2010, 258 - 259.)

Pintojen ja välineiden desinfektio on keskeinen osa infektioiden torjunnassa ja yleensä pinnat puhdistetaan pyyhkimällä ja välineet pesemällä ne desinfiointiaineella. Kuitenkaan matkapuhelimia ja muuta elektroniikkaa ei suositella tällä tavalla puhdistettavan ja niiden puhdistaminen onkin melko uusi haaste esimerkiksi terveydenhuollossa. (Petersson, Albrecht, Sedlacek, Gemein, Gebel ja Vonberg 2014, 1334, 1336.) Esimerkiksi Apple suosittelee käyttämään vain pehmeää ja nukkaamatonta liinaa puhelimensa ja tablettiensa puhdistamiseen, eikä esimerkiksi nestemäisiä suihkeita, liuottimia tai hankaus- ja puhdistusaineita saa käyttää ollenkaan (Apple 2016). Peterssonin ym. (2014) tutkimuksessa todettiin myös, että UV-valolla puhdistaminen tuhosi vähintään 90 %:a tutkittavista organismeista ja heidän mukaansa UV-valolla puhdistaminen on järkevä vaihtoehto, jos esimerkiksi desinfiointiaineilla puhdistaminen ei ole mahdollista. Kuitenkin tutkimustuloksia on varsin vähän eikä

tietoa pidemmältä ajalta ole vielä kertynyt esimerkiksi siitä, vaurioituuko elektroninen laite UV-valon jatkuvasta käytöstä ja mitkä sen vaikutukset ovat ihmiseen.

Bioanalyytikon ammatissa voi työskennellä useilla eri erikoisaloilla, joista kliininen mikrobiologia on yksi vaihtoehto. Terveyttä uhkaavia bakteereja ja viruksia ja niiden ominaisuuksia sekä sitä, miten ne aiheuttavat tauteja, tutkitaan kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Mikrobiologian laboratoriossa on kuusi erikoisosaamisaluetta, jotka ovat bakteriologia, immunologia, parasitologia, mykobakteriologia, virologia sekä mykologia. Bakteriologiassa suurin osa näytteistä, kuten virtsa-, uloste ja nielunäytteet, tutkitaan yhä perinteisillä viljelymenetelmillä ja tunnistetaan biokemiallisiin testeihin perustuen. (Suomen Bioanalyttikoliitto ry 2016.) Tämä opinnäytetyö liittyy siis kliinisen mikrobiologian laboratorion bakteriologian erikoisosaamisalueeseen ja tukee näin ollen bioanalyytikon osaamista.

## 2 BAKTEERIT

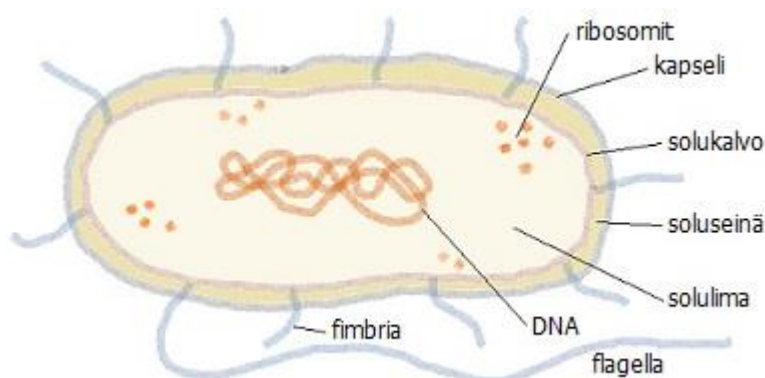
Bakteerit ovat mikrobeja ja mikrobeja esiintyy kaikkialla: ilmassa, maaperässä, vesistöissä, jäätiköillä ja kaikissa elävissä olennoissa. Jotkin bakteereista ovat sopeutuneet elämään jopa äärimmäisen vaikeissa olosuhteissa. Ne pystyvät elämään hyvin suolaisissa, happamissa tai emäksisissä oloissa sekä korkeissa paineolosuhteissa, hyvin kuumissa lämpötiloissa sekä jopa ultraviolett- tai radioaktiivisessa säteilyssä. Luonnossa bakteerit ovat välttämättömiä ravinteiden kiertokulun kannalta mm. hajottamalla ja mädättämällä kuolleita eliöitä tai sitomalla ilmakehän typpeä ja tuottamalla typpiyhdisteitä muidenkin käyttöön. (Vaara ym. 2012, 34.) Vedessä, lähinnä uimarannoilla tai uimahalleissa, voi esiintyä joitakin infektioita aiheuttavia bakteereja, kuten ulosteperäisiä kolibakteereja ja streptokokkeja. Juoma- ja talousvesistäkin on löytynyt satunnaisesti epidemioita aiheuttaneita salmonella-, koli- ja kampylobakteereja. Ilmassa bakteerit eivät kasva tai lisäännä, mutta esimerkiksi sisäilmasta voi kosteusvaurioiden takia kulkeutua bakteeri-itiöitä hengitysteihin. (Karhumäki ym. 2010, 14 - 17.)

Bakteereilla on erilaisia säilymisaikoja iholla ja pinnoilla. Esimerkiksi *Clostridium difficile*n iholla säilymisaikaa ei tunneta, mutta elävä bakteeri voi säilyä esineiden pinnalla noin vuorokauden ja itiönä 5 kuukautta. *E. coli*-bakteeri säilyy iholla 6 - 90 minuuttia ja pinnoilla kahdesta tunnista jopa 16 kuukauteen. Myös *Pseudomonas*-laji voi säilyä pinnoilla kuudesta tunnista 16 kuukauteen ja MRSA neljästä viikosta 7 kuukauteen. (Vuento, Ratia ja Laitinen 2010, 518.)

### 2.1 Bakteerin rakenne

Bakteerit ovat pieniä, vain 1 - 5 mikrometrin mittaisia, yksisoluisia organismeja. Ne havaitaan parhaiten mikroskoopilla. Silmin nähtäviä pesäkkeitä syntyy, kun bakteerit kasvavat sopivalla ravintoalustalla muodostaen pesäkkeitä. (Karhumäki, Jonsson ja Saros 2010, 21.)

Osa bakteereista on tauteja aiheuttavia ja tällaisilla bakteereilla on taudinaiheuttamisominaisuuksia, kuten kyky tarttua (adheroitua) kohteeseen tarttumakarvojen eli fimbrioiden avulla, esimerkiksi limakalvoille. Flagelloiden avulla monet bakteerit pystyvät liikkumaan suotuisiin kasvuoloihin. DNA:ta bakteerit voivat siirtää solusta toiseen pilusten eli tietyntyyppisten karvojen avulla konjugaatiossa eli ns. paritumisessa. (Vaara, Skurnik ja Sarvas 2012, 14.)



KUVA 1. Bakteerisolun perusrakenne.

Bakteerin yksinkertainen rakenne on kuvattu kuvassa 1. Kaikilla bakteereilla ei välttämättä ole kaikkia rakenteita tai rakenteiden muoto ja lukumäärä voi vaihdella. Kuten muissakin soluissa, myös bakteerisolusta löytyy proteiineja, lipidejä, hiilihydraatteja sekä DNA:ta ja RNA:ta ja lisäksi solun ympärillä on aina solukalvo. Solukalvon ympärillä oleva soluseinä antaa bakteerille sen muodon, jollaista ei eläinsoluissa ole. Bakteereille ominaista soluseinän rakennetta käytetään antibioottien toimintamekanismin perustana. (Vaara ym. 2012, 15, 21.)

## 2.2 Bakteerien jaottelu

Bakteerit aiheuttavat muita mikrobeja tavallisemmin hoitoon liittyviä infektioita. Bakteerit jaetaan kliinisesti käyttökelpoisiin ryhmiin mikroskooppisen kuvan mukaan muodon ja gram-värjäyksen perusteella ja käytännössä jaottelussa on neljä ryhmää: gram-positiiviset kokit, gram-positiiviset sauvat, gram-negatiiviset kokit sekä gram-negatiiviset sauvat. (Vuento 2010, 44 - 45.)

Kliinisessä mikrobiologiassa bakteerit jaetaan myös hapentarpeen mukaan aerobi- ja anaerobibakteereihin. Aerobibakteereja ovat ne, jotka kasvavat happipitoisessa tai hiilidioksidilla rikastetussa ilmassa. Anaerobibakteerit eivät siedä happea, vaan kuolevat herkästi ollessaan ilman kanssa kosketuksissa, joten ne vaativat hapettoman ympäristön kasvaakseen. (Vaara ym. 2012, 36.)

Bakteereista monet ovat varsin vaatimattomia ravintonsa sekä kasvuvaatimuksiensa suhteen. Ne pystyvät valmistamaan tarvitsemansa aineet ja lisääntymään erittäin nopeasti. Patogeeneista bakteereista useimmat pärjäävät parhaiten 35 - 37 °C:n lämpötilassa. (Vaara ym. 2012, 34, 36 - 37.)

Yleisiä gram-positiivisia kokkeja ovat stafylokokit, streptokokit ja enterokokit. Yleisiä gram-positiivisia sauvoja ovat Clostridium-suku. Gram-negatiivisista kokeista yleisimpiä ovat Neisseria ja Moraxella ja gram-negatiivisista sauvoista enterobakteerien heimo. (Vuento 2010, 44 - 45.)

## 2.3 Ihmisen normaalifloora

Ihmisen normaalifloora on iholla ja limakalvoilla elävää mikrobistoa, joka on tärkeä osa ihon ja limakalvojen puolustusjärjestelmää. Suurin osa normaalifloorasta on bakteereja. (Karhumäki ym. 2010, 31.) Ihmisen normaalifloora voidaan jakaa suun ja ylähengitysteiden, ruuansulatuskanavan, ihon sekä sukupuolielinten normaaliflooraan. Suun ja ylähengitysteiden normaaliflooraan kuuluu koagulaasinegatiivisia streptokokkeja, viridans-ryhmän streptokokkeja, monia hemolyyttisiä streptokokkeja sekä myös esimerkiksi enterokokkeja. Monilla terveilläkin ihmisillä on ylähengitysteiden limakalvoilla Haemophilus-ryhmän bakteereja. Ruuansulatuskanavan normaaliflooraan kuuluu ainakin 300 - 400 eri bakteerilajia, joista 99,9 % on anaerobeja. Aerobibakteereista suolen tavallisia bakteereja ovat enterobakteerit, stafylokokit, enterokokit, laktobasillit sekä korynebakteerit. (Heikkilä ja Pastila 2005, 17 - 18.)



Ihon normaaliflooran koostumukseen vaikuttavat niin ihmisen elinympäristö kuin myös hänen ammatinsa ja elintapansa. Maanviljelijän normaaliflooran mikrobisto on erilainen kuin esimerkiksi sairaalassa työskentelevän hoitajan. Tavallisimpia ihon pinnalta löytyviä bakteereja ovat koagulaasinegatiiviset stafylokokit ja korynebakteerit. Samoja bakteereja kuuluu myös virtsaputken alaosan normaaliflooraan. Lisäksi virtsaputken alaosan flooraan kuuluvat enterokokit ja apatogeenisia neisseriesioita. Sukupuolielinten normaaliflooraan kuuluvat naisilla lisäksi myös enterokokit, viridans-ryhmän streptokokit sekä B-ryhmän streptokokit. (Heikkilä ja Pastila 2005, 17 - 18.)

Vauvan synnyttyä alkaa hänen normaaliflooransa kehittyä. Geeniperimällä on vaikutusta mikrobiin, mutta ympäristö määrää mitä lajeja ja kantoja eri mikrobeja normaaliflooraan kuuluu. Ihmisen ja hänen mikrobistonsa elämä on vuorovaikutuksellista, sillä ihminen tarjoaa kasvuympäristön ja me hyödynnämme mikrobeista esimerkiksi siten, että ne muokkaavat ruuan ravintoaineita meille sopivampaan muotoon. (Jalava 2012, 81 - 82.)

Normaaliflooran mikrobisto on usein vakaa, vaikka ihminen saa koko ajan uusia mikrobeja esimerkiksi hengittämällä ja koskettamalla. Normaalifloora suojaa ihmistä patogeenisilta bakteereilta, mutta joskus se voi häiriintyä. Mikrobit voivat asettua normaaliflooraan aiheuttamatta tautia, ja sitä kutsutaan kolonisaatioksi. Elimistössä lyhytaikaisesti viipyvää mikrobistoa kutsutaan ns. transientiksi eli vaihtuvaksi flooraksi. Siinä on myös tauteja aiheuttavia mikrobeja, jotka eivät kuitenkaan yleensä aiheuta tauteja, sillä elimistön puolustusmekanismi estävät sen. Kuitenkin normaaliflooran ei-patogeeniset mikrobit voivat myös aiheuttaa infektion, jolloin niitä kutsutaan opportunistisiksi mikrobeiksi. Esimerkiksi *Staphylococcus epidermis* on opportunisti bakteeri, joka voi aiheuttaa infektion immuunipuutteiselle henkilölle. (Heikkilä ja Pastila 2005, 16.)

## 2.4 Bakteerien virulenssitekijät ja tartuntatiet

Bakteerien virulenssitekijöillä tarkoitetaan bakteerin ilmentämiä tekijöitä, joiden avulla se pystyy lisääntymään isännässä ja infektoimaan. Bakteerien tavoite ei ole suinkaan tappaa isäntänsä, sillä se tarkoittaisi myös patogeenin kuolemaa, joten bakteerit, jotka ovat sopeutuneet parhaiten patogeeniksi elävät isäntänsä kustannuksella niin, ettei isäntä tuhoudu. Silti joidenkin bakteerien lisääntymisen ja elimistöstä ravinteiden riistäminen voivat aiheuttaa oireita synnyttäessään kudostuhoa ja tulehdusta, joka äärimmäisessä tapauksessa aiheuttaa isännän kuoleman. Virulenssitekijöitä on lähes yhtä paljon kuin erilaisia patogeenisiä bakteereita. Bakteerit voivat kolonisoida elimistöä, väistää elimistön suojausmekanismi, tunkeutua kudoksiin ja aiheuttaa kudos- ja solutuhon. (Rhen, Kuusela ja Vaara 2012, 68 - 69.)

Kolonisaatiokyky on tärkeä virulenssitekijä. Patogeenisen bakteerin kyky kolonisoida isäntänsä on usein ehto taudin kehittymiselle. Kolonisaatiokykyä edistää bakteerin kyky tunnistaa ja tarttua isäntäsolujen pintaan tai solujen väliaineeseen. Keinoja kiinnittymiseen on monenlaisia, mutta tärkeimpiä ovat bakteerien fimbriat ja adheesiovalkuaiset, jonka avulla bakteeri pääsee tunkeutumaan solun sisään. Elimistön puolustusmekanismien välttämiseksi bakteereilla on useita erilaisia keinoja. Esimer-

kiksi muodostamalla limaisen kapselin ympärilleen, keräämällä isäntäperäisiä molekyylejä soluseinänsä suojaksi, muuntelemalla pinta-antigeeniensä rakennetta tai injisoimalla proteiineja isäntäsoluun bakteeri pyrkii estämään fagosytoosia tai tuhoamaan leukosyyttejä ja näin ollen välttämään puolustusmekanismeja. Elimistöä vaurioittavat myös monille bakteeritauksille ominaisten toksiinien muodostuminen, jotka kohdistuvat yleensä tiettyjä isäntäsolujen toimintoja vastaan. (Rhen ym. 2012, 68 - 71.)

Tartunnalla tarkoitetaan usein yksilöstä toiseen tapahtuvaa mikrobien tartuntaa, mutta välittäjänä voi olla myös eloton pinta. Mikrobit tarttuvat ilma-, pisara- ja kosketustartuntana. Kosketustartunta voi olla suoraa tai epäsuoraa. Suora tartunta voi tapahtua kättelemällä ja epäsuorassa tartunnassa tartunta tapahtuu esimerkiksi kontaminoituneen pinnan välityksellä. Ilmatartunta tapahtuu, kun mikrobi säilyy aerosoleissa, kuten pölyssä tai iohilseessä ja voi kulkeutua pitkiäkin matkoja päätyessään henkilön limakalvoille. Pisaratartunta edellyttää tartunnan lähteen ja kohteen pientä etäisyyttä, sillä mikrobi leviää esimerkiksi aivastaessa, puhuessa tai yskiessä. (Friman ja Kivisalmi 2015, 201 - 202.)

### 3 BAKTERIOLOGIAN TUTKIMUSMENETELMIÄ

#### 3.1 Viljely, gram-värjäys ja mikroskopointi

Mikrobiologian laboratoriossa työtä tehdään yhä hyvin paljon käsin. Kliinisessä bakteriologiassa viljely on yksi tärkeimmistä diagnostisista perusmenetelmistä. Siihen tarvitaan lisääntymiskykyisiä bakteereja, joten oikeanlainen näytteenotto, säilytys ja kuljetus ovat tärkeä osa mikrobiologista tutkimusta. (Heikkilä ja Meurman 2005, 95, Katila 2004a, 343.)

Bakteerinäytteiden ottamiseen soveltuvat valkoiset puuvillapäiset vanutikut. Ne ovat joko yksittäispakattuja steriilejä tai usean kappaleen pakkauksiin pakattuja tehdaspuhtaita näytteenottotikkuja. Kaikkien mikrobiologisten näytteiden kohdalla on tärkeää, että näyte ei kontaminoidu. On muistettava myös näytteiden tartuntavaarallisuus, joten huolellinen käsittely on tärkeää. (Ylönen 2005, 100 - 101.)

Viljely tapahtuu joko kiinteille agarpohjaisille elatusainetta sisältäville maljoille tai nestemäiseen elatusaineeseen. Yksi bakteeri voi jakaantua yön aikana miljooniksi bakteereiksi ja kiinteällä maljalla niistä syntyy silmin havaittavia pesäkkeitä. Eri bakteerilajit muodostavat erinäköisiä pesäkkeitä, joten jo maljojen tarkastelulla voidaan erottaa joitakin bakteereja toisistaan. (Heikkilä ja Meurman 2005, 95.)

Yleisimpiä käytössä olevia epäselektiivisiä maljoja ovat verimaljat, jotka valmistetaan usein miten lampaan verestä luotettavan hemolyysin indikaattoriominaisuutensa takia. Elatusaine voidaan valmistaa myös tiettyä kohdemikrobia varten selektiiviseksi lisäämällä kemikaaleja tai antibiootteja, jolloin muut bakteerit eivät siinä kasva. Valmiita maljoja saa ostettua laboratoriovälineitä myyvistä yrityksistä, mutta isoimmat laboratoriot valmistavat maljansa usein itse käyttäen kaupallisia ravinnejauheita ja täydentäviä kasvi- ja eläinperäisiä ravinteita. Jokaisesta elatusaine-erästä tarkastetaan sen steriilisyys ja haluttujen bakteerien kasvu. Tällainen laaduntarkkailu onkin tärkeä osa bakteriologiaa. (Katila 2004b, 351 - 353.)

Viljellyt maljat tai elatusaineet inkuboidaan yleensä 35 - 37 °C:ssa. Ääriämpötilat, eli yli 37 °C:ta tai lähelle 30 °C:ta laskeva lämpötila, vaikeuttavat kliinisesti merkittävien bakteerien kasvua, joten lämpökaappien lämpötiloja tulee seurata päivittäin. Myös ilmalla on väliä, sillä toiset bakteerit kasvavat paremmin CO<sub>2</sub>-rikastetussa ilmassa. (Katila 2004b, 353 - 354.)

Bakteeridiagnostiikassa yleisin värjäysmenetelmä on gram-värjäys, jonka jälkeen bakteerit voidaan mikroskopoida ja luokitella morfologian ja värjäytyvyyden mukaan sauvoihin ja kokkeihin sekä gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin bakteereihin. Jo nämä tiedot antavat viitteitä taudinaiheuttajan tunnistamiseen. (Heikkilä ja Meurman 2005, 94.)

Gram-värjäyksessä näytteestä tai kasvatetusta bakteeripesäkkeestä, johon lisätään tilkka steriiliä vettä, tehdään objektilasille ohut tasainen sively, joka ilmakehävauksen jälkeen kiinnitetään joko kuumentamalla esimerkiksi lämpölevyllä tai 95-prosenttisella metanolilla. Värjäyksessä kristallivioletti toimii primaarivärinä, joka värjää bakteerit tumman- tai punertavansiniseksi. Kiinnitysliuoksena toimii Lugolin liuos, joka sitoo kristallivioletin värin bakteerin soluseinään. Alkoholi toimii värinpoistoliuoksena, jonka jälkeen lasille tehdään vielä vastavärjäys safraniinilla. (Katila 2004b, 348 - 349.)

Gram-värjäys perustuu bakteerien soluseinämän rakenteeseen. Gram-negatiivisten bakteereiden soluseinä on lipidikoostumukseltaan runsaampaa, jolloin orgaaniset liuottimet läpäisevät sen helpommin ja värinpoistoliuoksella käsiteltäessä sininen väri poistuukin gram-negatiivisista bakteereista, jotka vastavärjäyksessä saavat punaisen värin. Gram-positiiviset bakteerit pitävät kristalliviolettiliuoksessa saamansa värin eikä safraniinikäsittely muuta sitä, sillä niillä on paksu peptidoglykaanikerros soluseinämässään. (Katila 2004b, 348 - 349.)

Mikroskooppeja on erilaisia, mutta valomikroskoopin käyttö bakteriologiassa on yleisintä. Valomikroskopiassa edustavan alueen löydyttyä 10-kertaisella suurennoksella, tarkastellaan näytettä immersioöljyä apuna käyttäen 100-kertaisella suurennoksella. Suoralinjaisella tarkastelulla lasista voidaan arvioida esiintymistä, määrää sekä niiden järjestäytymistä ketjuiksi, ryhmiksi tai pareiksi. Esimerkiksi gram-positiivisista kokeista arvioidaan ovatko ne ketjukokkeja vai ryhmäkokkeja ja gram-positiivisista sauvoista niiden kokoa, vaikkakin tarkempi analyysi vaatii kokemusta kliinisten näytteiden tutkimuksesta. (Katila 2004b, 350 - 351.)

### 3.2 Tunnistuskokeiden periaatteita

Bakteerikasvuston kasvutapa erilaisilla kasvualustoilla, mikroskooppinen tarkastelu, pesäkemorfologia, biokemialliset testit sekä kullekin ryhmälle erikseen valitut kasvutestit ovat keinoja bakteerikasvuston tunnistamiseen. Lajimäärittäykseen käytetään usein kaupallisia testejä, mutta myös lääkeaineherkkyyksistä on apua lajitunnistuksessa. (Katila 2004b, 354.)

Gram-positiiviset ryhmäkokit, stafylokokit, voidaan erottaa gram-positiivista ketjukokeista, streptokokeista, katalaasikokeen avulla. Stafylokokeista suurin taudinaiheuttamiskyky on *Staphylococcus aureuksella*, joka erotetaan koagulaasinegatiivisista stafylokokeista koagulaasia tuottavan kykynsä avulla. Streptokokit luokitellaan  $\alpha$ -,  $\beta$ - ja nonhemolyyttisiin streptokokkeihin, joista  $\beta$ -hemolyyttiset streptokokit ovat avohoitoinfektioista tärkein taudinaiheuttaja. Streptokokkien lajitunnistuksessa käytetään agglutinaatiotestejä, jotka perustuvat antigeenirakenteisiin. (Katila 2004b, 354 - 355.)

Suolistobakteerit, eli enterobakteerit, ja nonenterobakteerit ovat gram-negatiivisten sauvabakteerien tärkeimmät ryhmät. Suolistobakteerit voidaan alustavasti erottaa nonenterobakteereista oksidaasikokeen avulla. Suolistobakteerien tunnistukseen on eritasoisia kaupallisia testisarjoja, kuten API 10- ja API 20-testejä, mutta niiden tunnistukseen voidaan käyttää myös omavalmisteisia sokerisarjoja. Kaupallisissa testeissä tulokinnan apuna käytetään peräkkäisten testien positiivisten tulosten synnyttämää numeerista lukukoodia. (Katila 2004b, 356 - 357.)

### 3.3 MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS tulee sanoista Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (Manninen 2014, 146). MALDI-TOF MS on massaspektrometrinen mittaustekniikka. Siinä matriisiavusteisella laserdesorptioionisaattorilla tutkittavat molekyylit ionisoidaan ja erotellaan toisistaan massa/varaus-suhteen perusteella TOF- eli lentoaika-analysaattorissa. Tällainen teknologia on tullut Suomessa mikrobiologian laboratorioden käyttöön yleistyen 2010-luvulla lähinnä bakteereiden ja sienten tunnistukseen, sillä perinteisiin tunnistustekniikoihin verrattuna se on nopeampi, tekniseltä menetelmältään helpompi, käyttökustannuksiltaan matalampi ja samaa menetelmää voidaan soveltaa useimmille bakteeri- ja hiivalajeille ja -suvuille. Näin koko bakteeriviljelyn prosessi muuttuu nopeammaksi ja automaattisemmaksi. Näytteeksi riittää pieni määrä mikrobimassaa suoraan viljelymaljalta, joka asetetaan näytelevylle, lisätään matrixia eli väliainetta ja levy vietään massaspektrometrilaitteelle, joka erottelee proteiinit ja tunnistaa bakteerikannan laitteen ohjelmiston referenssi-profiilien avulla verraten bakteerikannalle saamaansa proteiiniprofiilia. Markkinoilla on tällä hetkellä kaksi MALDI-TOF MS-teknologiaa käyttävää laitetta, joiden toimintaperiaate on kuitenkin sama ja eroja on lähinnä vain näytekapasiteetissä ja tietokannan koossa. (Kärpänoja 2014, 143.)

## 4 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSONGELMAT

### 4.1 Tutkimuksen tarkoitus ja tavoite

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on kerätä Savonia-ammattikorkeakoulun noin 50 terveystieteiden opettajan työpuhelimista pintanäytteitä ja tunnistaa, mitä bakteereja puhelimien pinnalta löytyy. Tavoitteena on siis saada kuva siitä, mitä bakteereja terveystieteenopettajien työpuhelimiin kertyy sekä selvittää hieman sitä, mistä työpuhelimien pintaan kertyneet bakteerit voisivat mahdollisesti olla peräisin ja ovatko ne patogeenisiä. Tätä tietoa voidaan hyödyntää esimerkiksi silloin, kun valitaan oikea puhdistusmenetelmä työpuhelimien puhdistamiseksi.

### 4.2 Tutkimusongelmat

Tutkimusongelmat ovat:

- Mitä bakteereja työpuhelimista löytyy käytössäni olevilla tutkimusmenetelmillä?
- Mitä alkuperää bakteerit ovat? (Ovatko patogeenisiä vai kuuluvatko normaaliflooraan?)

## 5 TUTKIMUKSEN SUORITTAMINEN

### 5.1 Näytteiden kerääminen

Näytteiden ottamiseen saatiin lupa Savonian Sosiaali- ja terveysalan koulutusvastuupäälliköltä. Yhteydenpito terveysalanopettajiin hoitui sähköpostin välityksellä. Liitteessä 1 on kirje terveysalanopettajille, jolla tiedottiin opinnäytetyöstä ja näytteiden keräämisestä.

Terveysalanopettajien työpuhelimien pinnalta otettavien näytteiden keräämiseksi ja tutkimiseksi varattiin Savonia-ammattikorkeakoulun Microkadun kampuksen klinisen mikrobiologian, patologian ja hematologian laboratorioluokka maanantaista perjantaihin viikolla 15. Terveysalanopettajat saivat käydä tuomassa työpuhelimensa näytteenottoa varten maanantaista keskiviikkoon heille sopivaan aikaan. Näytteenotto vei pari minuuttia. Puhelimista otettiin steriilillä vanupuikolla näyte I puhelimen etupuolelta ja näyte II puhelimen takapuolelta ja ne viljeltiin hajotusviljelyn periaatetta noudattaen kahdelle erilliselle lampaanverestä valmistetulle verimaljalle, jotka laitettiin inkuboitumaan lämpökaappiin +37 °C:een. Näytteet numeroitiin 001:stä 035:een, ja jokaiselle näytteelle kirjoitettiin lähete, josta ilmeni onko kyseisessä työpuhelimessa näppäimistö ja onko puhelin liikkunut sairaalan laboratorioissa tai osastoilla tai muissa vastaavissa ympäristöissä. Näytteet kerättiin anonymieinä. Työpuhelimissa, joissa oli perinteinen näppäimistö, etupuolen näytteenotto kohdistettiin näppäimistöön. Näytteitä viljelemässä ja tutkimuksissa avustamassa oli kolmihenkisestä omia projektilunteisia kehittämisopintojaan suorittaneesta ryhmästä apuna kerrallaan yhdestä kahteen henkilöä maanantaista keskiviikkoon.

Tavoitteena oli kerätä näytteet noin 50 työpuhelimesta, mutta kolmen päivän aikana saatiin näytteet 35 puhelimesta eli maljoja tuli yhteensä 70 kappaletta. Bakteerien tunnistuksessa käytettiin Minna Heleniuksen, Kati Kilpeläisen ja Elsa Taposen (2012) opinnäytetyön Mikrobiologiaa bioanalytikoille – Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen tuotoksena syntyneitä Kliinisen mikrobiologian työohjeita sekä kaupallisten tunnistuskokeiden testikohtaisia ohjeita.

### 5.2 Tutkimusmenetelmät

Tämän opinnäytetyön tutkimuksessa on kvantitatiivisen eli määrällisen tutkimuksen piirteitä. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa on tärkeää huomioida aiempien tutkimusten johtopäätökset, hypoteesin esittäminen, käsitteiden määrittely sekä aineiston keruun suunnittelu ja päätelmien teko tilastolliseen analyysiin perustuen. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa numeerinen mittaaminen ja taulukot ovat keskeisessä osassa. Kvantitatiivinen ja kvalitatiivinen tutkimus on kuitenkin vaikea erottaa toisistaan ja ne nähdäänkin toisiaan täydentävinä tutkimusmenetelminä. Esimerkiksi mittaaminen sisältää kumpaakin puolta. Näin on myös tässä opinnäytetyössä. (Hirsjärvi, Remes ja Sajavaara 2004, 127 - 128, 131.)

Näytteiden viljelyn ja inkuboinnin jälkeen bakteeripesäkkeille tehtiin gram-värjäys objektilasille, jonka jälkeen laseja voitiin tarkastella mikroskoopilla. Mikroskopoimalla saatiin jaoteltua eri bakteeripesäkkeet gram-negatiivisiin ja gram-positiivisiin sauvoihin ja kokkeihin ja valittua näin ollen oikeat tunnistuskokeet.

Gram-positiivisille kokeille tehtiin katalaasikoe erottamaan stafylokokit streptokokeista. Stafylokokkien eli katalaasipositiivisten bakteerien jatkotutkimus on koagulaasikoe, jolla erotetaan *Staphylococcus aureus* muista stafylokokkeista käyttämällä kaupallista kaninplasmaa koagulaasireaktion saamiseksi, joka todetaan hyytyneestä plasmasta.  $\beta$ -hemolyyttisille streptokokeille tehdään streptokokkien antigeenin eli Lancefieldin ryhmitys agglutinaatikokeella, jolla saadaan selville  $\beta$ -hemolyyttisten streptokokkien ryhmät A, B, C, D, F tai G.

Gram-negatiivisille sauvoille tehtiin oksidaasikoe, jonka jälkeen ne voitiin luokitella käyttäen apuna API 10 s-liuskaa ja siihen kuuluvia reagensseja. API 10 s-testiliuska koostuu 10:stä kuivattuja substraatteja sisältävästä taskusta, joihin lisätään bakteerisuspensiota. Yön yli inkuboinnin ja seuraavana päivänä lisättyjen reagenssien aikaan saamat aineenvaihduntatuotteet aiheuttavat taskuihin värimuutoksia, jotka voidaan lukea ja saadun numerosarjan avulla bakteerien identifiointi on mahdollista pakkauksen mukana tulleen profiililistan avulla. (BioMérieux 2006.)

Maljoilta löytyi myös muutamia gram-positiivisia sauvoja sekä gram-negatiivisia kokkeja, joiden tunnistamiseksi ei ollut käytössä omia tunnistuskokeita. Näiden bakteerien tunnistamiseksi saatiin lupa tutkia muutama maljoista Mikrobiologian laboratorion MALDI-TOF MS-menetelmällä.



## 6 TUTKIMUKSEN TULOKSET JA NIIDEN ARVIOINTI

Kaikista 35 työpuhelimesta otetusta näytteestä löytyi bakteerikasvustoa. Jokaisessa 70:stä maljasta oli noin 3 - 5 erinäköistä bakteeripesäkettä, joista suurin osa oli kuitenkin erilaisia stafylokokkeja. Bakteeripesäkkeitä oli runsaasti kahden yön inkuboinnin jälkeen, jotta niitä päästiin tutkimaan. Näytteistä löytyi seuraavia bakteereja: stafylokokkeja, pseudomonasta, bacillusta sekä mikrokokkeja. MALDI-TOF MS-menetelmällä saatiin tunnistettua mikrokokeista *Rothia dentocariosa* ja *Kocuria vari-ans* -lajit ja koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista *Staphylococcus epidermidis*, *Staph. hominis* ja *Staph. capitis*. Näytteistä löytyi myös yksi *Staph. aureus*, joka on löytyneistä bakteereista ainoa ihmiselle patogeeninen eli tautia aiheuttava bakteeri. Taulukossa 1 on esitetty, kuinka monesta puhelimesta mitäkin bakteeria löytyi.

TAULUKKO 1. Puhelimien bakteerilöydökset.

Bakteeri/bakteeriryhmä	Puhelimia, joista bakteeri löytyi (kpl)
koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja	35
pseudomonas	5
bacillus	3
mikrokokki	4
<i>Staph. aureus</i>	1

Koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat ihmisen normaaliflooraan kuuluvia gram-positiivisesti värjäytyviä, katalaasiposiitivisia kokkeja, joita on tavattu 15 eri lajia. *Staphylococcus epidermidis* on kliinisesti tärkein koagulaasinegatiivisista stafylokokkeista ja niitä onkin 65 - 95 % ihon ja limakalvojen normaaliflooran stafylokokkeista. Sitä esiintyy eniten nenän limakalvoilla, nivustaipeissa ja kainalon seu-duissa. Koagulaasinegatiivisten stafylokokkien taudinaiheuttamiskyky on vähäinen, mutta merkittävän altistavan tekijän, kuten vierasesineen, immunosuppression eli immuunivasteen heikkenemisen tai ihon tai limakalvon rikkoutumisen takia kliininen infektio voi kehittyä. Näille bakteereille on tyypilistä kyky muodostaa ympärilleen suojaava glykokalysikerros ja kiinnittyä tiukasti vierasesineiden pinnalle ja siksi ne ovatkin yleisimpiä vierasesineinfektioiden aiheuttajia. (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila ja Kotilainen 2012, 98 - 99.)

*Staphylococcus aureus* eroaa muista stafylokokkeista koagulaasireaktion perusteella ja se onkin ainoa ihmisen koagulaasiposiitivinen stafylokokki. *Staph. aureus* on märkäbakteeri ja voi aiheuttaa infektiota niin perusterveille kuin vastustuskyvyltään heikentyneillekin ihmisille ja leviää usein kosketus- tai ilmatartuntana. Valtaosa kantaa sitä nenässä tai joskus myös iholla, ainakin ajoittain. *Staph. aureus* aiheuttaa leikkaushaava-, luu- ja nivelinfektioita, märkäisiä iho- ja pehmytkudos infektioita sekä vakavia sepsiksen ja endokardiitin, eli sydämen sisäkalvon tulehduksen, kaltaisia yleisinfektioita. (Vuopio-Varkila, Kuusela ja Kotilainen 2012, 83, 86.)

Tavallisen *Staphylococcus aureus* – bakteerin lisäksi on metisilliinille resistentti *Staphylococcus aureus* – kanta eli MRSA, joka on resistentti eli vastustuskykyinen metisilliinille sekä monille muille antibiooteille ja siksi sen aiheuttamien infektioiden hoito on vaikeampaa, vaikka infektiot ovat samanlaisia kuin tavallisen antibiooteille herkän *Staph. aureuksen* aiheuttamat infektiot. MRSA leviää kosketustartuntana ja on aiheuttanut sairaalainfektioepidemioita monissa maissa. (Luomio 2013.)

*Pseudomonas* on gram-negatiivinen sauvabakteeri, joka selviytyy hyvin vaatimattomissakin kasvuoissa ja on yleinen niin luonnonvesissä kuin esimerkiksi ihmisen suolistossa. *Pseudomonas* aiheuttavat infektoita, jos ihmisen vastustuskyky on heikentynyt (Terveyskirjasto 2016). *Pseudomonas*-suvun bakteereja on useita ja useimmat niistä ovat melko harvinaisia. Opportunisteina ne aiheuttavat infektoita sairaalapotilaille. *Pseudomonas aeruginosa* viihtyy kosteissa olosuhteissa, kuten pesuvesissä ja piilolasinesteissä ja ihmisessä kainaloissa ja korvissa, muttei aiheuta infektoita peristerveille ihmisille, vaikka onkin tavallisin ulkokorvatulehduksen aiheuttaja. *P. aeruginosa* kehittyy melko helposti moniresistentiksi. (Tissari ja Anttila 2012, 200 - 202.)

*Bacillus*-suvun bakteerit ovat gram-positiivisia sauvoja, jotka muodostavat endosporeja eli itiöitä ja niiden avulla voivatkin säilyä hankalissakin olosuhteissa pitkiä aikoja ja sietävät kemiallisia aineita hyvin. *Bacilluksia* esiintyy yleisesti luonnossa ja niitä onkin niin pölyssä, maaperässä ja vesissä kuin sairaalaympäristöissäkin. *Bacillus*-suvun bakteereista ihmiselle tauteja voivat aiheuttaa *Bacillus anthracis* ja *Bacillus cereus* ja muut vain ääni harvoin. *Bacillus anthracis* voi säilyä itiömuodossa maaperässä vuosikymmeniä ja aiheuttaa karjaeläimissä pernaruttoa, joka voi tarttua myös ihmiseen sairaan eläimen tai eläintuotteiden kautta, jos bakteeri pääsee elimistöön hengitysilman, ihohaavan tai ruuansulatuskanavan kautta. *Bacillus cereus* aiheuttaa ruokamyrkytystä, jos sillä on tilaisuus lisääntyä tarpeeksi kauan esimerkiksi liian lämpimässä säilytetyssä ruuassa. Se voi aiheuttaa myös silmätulehduksia. (Carlson ja Järvinen 2012, 151 - 152.)

Mikrokokit ovat ryhmä gram-positiivisia kokkibakteereja, jotka esiintyvät ihon normaalifloorassa (Heikkilä ja Meurman 2005, 32). *Micrococcaceae*-sukuun kuuluu useita eri bakteereja, eivätkä ne yleensä ole patogeenisiä. Mikrokokkeja esiintyy myös maaperässä, merivedessä ja ilmassa. (Encyclopædia Britannica 2016.)

Jokaiselle näytteelle kirjoitetusta läheteestä kävi ilmi työpuhelimen mahdollinen sairaalaympäristössä liikkuminen sekä oliko puhelimessa näppäimistö vai kosketusnäyttö. 11 työpuhelimessa 35:stä oli perinteinen näppäimistö ja 15 työpuhelimen ilmoitettiin käyneen lähiaikoina sairaalaympäristössä. Lisäksi vertailin hieman etu- ja takapuolen bakteerikasvuston eroja.

Valtaosa maljoilla kasvaneista bakteereista oli koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja eli ihon normaaliflooraan kuuluvia bakteereja ja niitä löytyikin kaikista puhelimista niin etu- kuin takapuoleltakin. Vain yhdestä näytteestä löytyi *Staphylococcus aureus* kosketusnäytöllisen työpuhelimen etupuolelta. Kyseinen puhelin oli liikkunut sairaalaympäristössä. Kolmesta työpuhelimesta löytyi *Bacillus*-sukua ja kaikissa kolmesta sitä oli vain takapuolella. Näistä puhelimista yhdessä oli näppäimistö ja vain yksi oli liikkunut sairaalaympäristössä. Viidestä työpuhelimesta löytyi *Pseudomonas*-suvun bakteereja,

joista yhdessä pseudomas löytyi kosketusnäytöllisen puhelimen etupuolelta ja muista puhelimen takapuolelta. Näistä viidestä puhelimesta, joista löytyi *Pseudomonas*-suvun bakteereja, vain yksi oli liikkunut sairaalaympäristössä.

Sairaalaympäristössä liikkuminen ei siis näyttänyt lisäävän työpuhelimiin kertyviä bakteereja eikä myöskään perinteisellä näppäimistöllä todettu olevan juurikaan merkitystä siihen, kerääntyykö erilaisia bakteereja tällaiseen puhelimeen enemmän. Stafylokokkipesäkkeitä kasvoi kuitenkin joissakin perinteisen näppäimistön puhelimesta otetuissa maljoissa silmämääräisesti enemmän kuin kosketusnäytöllisestä puhelimesta. Sen sijaan puhelimien takapuolelta löytyi enemmän bakteerilajeja kuin puhelimen etupuolelta otetuista näytteistä.

## 7 POHDINTA

### 7.1 Tavoitteiden toteutuminen ja työn onnistuminen

Opinnäytetyöni tarkoituksena oli kerätä noin 50 terveysalanopettajan työpuhelimesta näytteitä ja tunnistaa, mitä bakteereja niistä löytyy. Tavoitteena oli saada kuva siitä, mitä bakteereja työpuheliin kertyy ja mistä ne mahdollisesti voisivat olla peräisin. Tavoitteeni 50 työpuhelimista ei täyttnyt, vaan sain näytteet 35 työpuhelimesta. Näytteiden määrä riitti opinnäytetyöni tekemiseen, mutta tavoitteen täytyminen olisi antanut sille enemmän luotettavuutta. Bakteerien tunnistaminen ja niiden mahdollisen alkuperän pohtiminen erilaisten lähteiden avulla sen sijaan toteutui niin hyvin kuin käytössäni olleilla keinoilla se oli mahdollista.

Mielestäni opinnäytetyöni onnistui hyvin, sillä sain riittävästi näytteitä ja sain tunnistettua maljoilla kasvaneet bakteeripesäkkeet. Tutkimuksen tulokset vastasivat suurin piirtein odotuksiani, vaikka yhtään streptokokkia ei löytynyt ja gram-negatiivisten bakteerien kohdalla löydöksenä oli vain pseudomonaksia.

Toimeksiantajani Savonia-ammattikorkeakoulu saa tutkimustuloksistani tietoa siitä, mitä bakteereja terveysalanopettajien työpuheliin on kertynyt. Lisäksi tutkimuksestani selviää, että osa puhelimista liikkuu myös sairaalaympäristössä. Näiden tietojen pohjalta voi suositella työpuhelimien säännöllistä puhdistamista. Tämänkaltaisia tutkimuksia olisi helppo tehdä lisää myös muista ammattikorkeakoulun kohteista keräämällä näytteitä vaikka tietokoneen näppäimistöltä tai eri luokkahuoneiden pinnoilta ja ovenkahvoista. Mielenkiintoista olisi kerätä näytteitä myös sairaalaympäristöstä tai erilaisista laboratoriosta ottamalla näytteitä esimerkiksi mobiililaitteista, näytteenotokärryistä tai muilta pinnoilta, joihin työpäivän aikana tulee usein koskettaneeksi. Bakteerien lisäksi näytteistä voisi etsiä myös hiivoja.

### 7.2 Eettisyys ja luotettavuus

Ammattietiikka on hyvän ammatillisen toiminnan perusteiden pohtimista. Bioanalytikoille on omat eettiset ohjeet. Niissä määritellään, mitä ammatilaisen tulee huomioida työssään ja ne tukevat hyvää toimintaa ja antavat suuntaa vaikeimmissa tilanteissa. Hyvä työntekijä pyrkii toimimaan eettisesti ja kantaa vastuun omasta toiminnastaan. (Laine, Ruishalme, Salervo, Sivén ja Välimäki 2005, 100.)

Tässä opinnäytetyössä pyrin toimimaan hyvien tutkimuseettisten arvojen mukaan. Noudatin sovit-  
tuja aikatauluja ja käytin lähteinä vain asiantuntijoiden kirjoittamia artikkeleita ja kirjoja niitä lähde-  
kriittisesti tarkastellen. Keräsin näytteet anonyymeinä, huolehdin niiden säilytyksestä sekä hävittämi-  
sestä ja työskentelin laboratoriossa huolellisesti ja aseptisesti.

### 7.3 Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu

Opinnäytetyönä Terveystieteiden opettajien työpuhelimien bakteerien tunnistaminen oli omaa oppimistani tukeva ja ammatillisesti kasvattava. Aihe oli mielestäni mielenkiintoinen, sillä olen ollut kiinnostunut mikrobiologiasta ensimmäisistä kursseista lähtien ja motivaatiota lisäsi myös ajatus siitä, että tämä oli minun oma tutkimukseni. Työn tekeminen ja yksin työskenteleminen vaati paljon omatoimisuutta ja hyvää suunnittelua, jotta opinnäytetyä tuli tehtyä. Näytteiden keräämiseen ja tutkimiseen varatun viikon aikana luottamus omaan osaamiseen kasvoi ja huomasin kehittyneeni mikrobiologian kurssin harjoitustyötunneilta, jolloin moni aiheeseen liittyvistä asioista oli vielä uutta ja työskentely epävarmaa.

Tällaista tutkimusta tehdessä on kiinnitettävä huomiota moniin tärkeisiin asioihin laboratoriossa työskennellessä, kuten tarkkuuteen näytenumeroissa ja eri näytteiden välillä, dokumentoinnin tärkeyteen, työjärjestykseen ja ajankäytön suunnitteluun sekä aseptiikkaan. Tällaiset asiat ovat tulleet tutuksi jo mikrobiologian työtunneilta sekä työharjoitteluista ja niiden tärkeyden ymmärtää. Tällaista omaa tutkimusta tehdessä ne kuitenkin tulevat vielä tärkeimmiksi, sillä omalla työskentelyllään takaa mm. sen, että tulokset vastaavat näytteitä, aika riittää töiden tekemiseen sekä tilat pysyvät puhtaina ja näytteet hävitetään asianmukaisesti. Kaikki tällainen kehitys on osa ammatillista kasvua. Sitä kehittää myös opinnäytetyöprosessissa uuden tiedon etsiminen erilaisista lähteistä sekä sen yhdistäminen jo olemassa olevaan tietoon ja käytännön työskentelyyn.

Haasteena opinnäytetyön tekemisessä pidin sitä, että työskentelin pääasiassa yksin, sillä työmäärä oli melko suuri ja tiedonhaussa, kirjoittamisprosessissa sekä näytteiden keräämisessä ja tutkimisessa oli paljon tekemistä. Etenkin tiedonhankinnan ja kirjoittamisprosessin koin itselleni hankaliksi. Toisaalta työskenteleminen yksin oli myös yksi vahvuus, sillä työn tekeminen ei vaatinut suurta suunnittelua aikataulujen välillä eikä kirjoittamisprosessi ollut sidoksissa tiettyyn paikkaan.

## LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT

APPLE INC 2016. Apple-tuotteiden puhdistaminen. [viitattu 2016-04-23.] Saatavissa: <https://support.apple.com/fi-fi/ht204172>

BIOMÉRIEUX 2006. API 10 S. Identification system for Enterobacteriaceae and other non-fastidious Gram-negative rods [valmistajan työohje].

CARLSON, Petteri ja JÄRVINEN, Asko 2012. Muita grampositiivisia aerobisia sauvoja. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA 2016. Micrococcus [verkkoaineisto]. [viitattu 2016-04-23]. Saatavissa: <http://global.britannica.com/science/Micrococcus>

FRIMAN, Tarja ja KIVISALMI, Ville 2015. Laboratorion välinehuolto. 1. painos. Saarijärvi: Saarijärven Offset Oy.

HEIKKILÄ, Ritva ja MEURMAN, Olli 2005. Bakteriologia. Julkaisussa: HELLSTÉN, Soile (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painosa. Suomen Kuntaliitto. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

HEIKKILÄ, Ritva ja PASTILA, Satu 2005. Ihmisen normaalifloora. Julkaisussa: HELLSTÉN, Soile (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painosa. Suomen Kuntaliitto. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

HELENIUS, Minna, KILPELÄINEN, Kati ja TAPONEN, Elsa 2012. Mikrobiologiaa bioanalytikoille – Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen. Savonia-ammattikorkeakoulu. Hyvinvointi Kuopio, bioanalytiikan koulutusohjelma. Opinnäytetyö. Sijainti: [http://theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius\\_Minna%20Kilpelainen\\_Kati%20Taponen\\_Elsa.pdf?sequence=1](http://theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius_Minna%20Kilpelainen_Kati%20Taponen_Elsa.pdf?sequence=1)

HIRSJÄRVI, Sirkka, REMES, Pirkko ja SAJAVAARA, Paula 2004. Tutki ja kirjoita. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

JALAVA, Jari 2012. Ihmisen normaali mikrobisto ja sen merkitys. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

KARHUMÄKI, Eliisa, JONSSON, Anne ja SAROS, Marita 2010. Mikrobit hoitotyön haasteena. 2.-3., uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

KATILA, Marja-Leena 2004a. Diagnostiset perusmenetelmät kliinisessä bakteriologiassa ja mykologiassa. Julkaisussa: PENTTILÄ, Ilkka (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. 1. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

KATILA, Marja-Leena 2004b. Tavallisimmat menetelmät bakteriologian, mykologian ja parasitologian tutkimuksissa. Julkaisussa: PENTTILÄ, Ilkka (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. 1. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

KÄRPÄNOJA, Pauliina 2014. MALDI-TOF MS-menetelmän käyttö bakteereiden ja sienten tunnistuksessa. Moodi 4-5/2014.

LAINE, Anne, RUISHALME, Outi, SALERVO, Pirjo, SIVÉN, Tuula ja VÄLIMÄKI, Päivi 2005. Opi ammattiin. 1. painos. Werner Söderström Osakeyhtiö.

LED SUUTARI OY 2016. UV-LED desinfiointijärjestelmä. [viitattu 2016-03-19]. Saatavissa: <http://www.ledsuutari.fi/index.php/fi/>

LUOMIO, Jukka 2013. MRSA (metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus). Lääkärikirja Duodecim [verkkoaineisto]. [viitattu 2016-04-23.] Saatavissa: [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00586&p\\_haku=mrsa](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00586&p_haku=mrsa)

LYYTIKÄINEN, Outi, VUOPIO-VARKILA, Jaana ja KOTILAINEN, Pirkko 2012. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

MANNINEN, Raija 2014. Kokemuksia MALDI-TOF MS-menetelmän vaikutuksista laboratorion työprosessiin. Moodi 4-5/2014.

PETERSSON, Lasse Per, ALBRECHT, Urs-Vito, SEDLACEK, Ludwig, GEMEIN, Stefanie, GEBEL, Jürgen ja VONBERG, Ralf-Peter 2014. Portable UV light as an alternative for decontamination. American Journal of Infection Control 42 (2014). [viitattu 2016-04-23.] Saatavissa: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655314010864>

RHEN, Mikael, KUUSELA, Pentti ja VAARA, Martti 2012. Bakteerien virulenssitekijät. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

SUOMEN BIOANALYYTIKKOLIITTO RY 2016. Kliininen mikrobiologia [verkkoaineisto]. [viitattu 2016-05-11]. Saatavissa: [http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalyttikon\\_ammatti/erikoisalat/kliininen\\_mikrobiologia/](http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalyttikon_ammatti/erikoisalat/kliininen_mikrobiologia/)

TERHO, Kirsi ja KURVINEN, Tiina 2010. Ympäristön desinfektiosta ja käytettävistä menetelmistä. Yhteenvetoa SHEAN Decennial konferensista Atlantasta maaliskuulta 2010. Suomen

Sairaalahygienialehti. 28. vuosikerta. Numero 5/2010. [viitattu 2016-04-24]. Saatavissa: [http://sshy.fi/data/documents/lehdet/10\\_5.pdf](http://sshy.fi/data/documents/lehdet/10_5.pdf)

TERVEYSKIRJASTO 2016. Kustannus Oy Duodecim [verkkoaineisto]. [viitattu 2016-04-23.] Saatavissa:

[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=ltt02778&p\\_haku=pseudomonas](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt02778&p_haku=pseudomonas)

TISSARI, Päivi ja ANTTILA Veli-Jukka 2012. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

ULGER, Fatma, DILEK, Ahmet, ESEN, Saban, SUNBUL, Mustafa ja LEBLEBICIOGLU, Hakan 2015. Are healthcare workers' mobile phones a potential source of nosocomial infections? Review of the literature. The journal on infection in developing countries. 9(10):1046-1053. 8viitattu 2016-04-23.] Saatavissa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26517478>

VAARA, Martti, SKURNIK, Mikael ja SARVAS, Matti 2012. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

VUENTO, Risto, RATIA, Marja ja LAITINEN, Kirsi 2010. Puhdistus ja puhdistusmenetelmät. Julkaisussa: ANTTILA, Veli-Jukka, HELLSTÉN, Soile, RANTALA, Arto, ROUTAMAA, Marianne, SYRJÄLÄ, Hannu ja VUENTO, Risto (toim.) Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. 6. painos. Porvoo: Suomen Kuntaliitto.

VUENTO, Risto 2010. Tartunnan aiheuttajat ja tartuntatavat. Julkaisussa: ANTTILA, Veli-Jukka, HELLSTÉN, Soile, RANTALA, Arto, ROUTAMAA, Marianne, SYRJÄLÄ, Hannu ja VUENTO, Risto (toim.) Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. 6. painos. Porvoo: Suomen Kuntaliitto.

VUOPIO-VARKILA, Jaana, KUUSELA, Pentti ja KOTILAINEN, Pirkko 2012. Staphylococcus aureus. Julkaisussa: HEDMAN, Klaus, HEIKKINEN, Terho, HUOVINEN, Pentti, JÄRVINEN, Asko, MERI, Seppo ja VAARA, Martti 2012. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. Kustannus Oy Duodecim. 1.-3. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

YLÖNEN, Helga 2005. Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. Julkaisussa: HELLSTÉN, Soile (toim.) Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. uudistettu painosa. Suomen Kuntaliitto. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.



07.04 2016

**Hyvä Terveysalanopettaja!**

Olen bioanalyttikko-opiskelija TB13K-ryhmästä ja olen tekemässä opinnäytetyötä aiheesta Terveysalanopettajien työpuhelimista löytyvien bakteerien tunnistaminen.

Opinnäytetyöni tarkoituksena on kerätä Savonia-ammattikorkeakoulun noin 50 terveysterveysalanopettajan työpuhelimesta pintanäytteitä ja tunnistaa, mitä bakteereja puhelinten pinnalta löytyy. Tavoitteena on siis saada kuva siitä, mitä bakteereja terveysterveysalanopettajien työpuhelimien kertyy sekä selvittää hieman sitä, mistä työpuhelimien pintaan kertyneet bakteerit voisivat mahdollisesti olla peräisin ja ovatko ne patogeenisiä. Tätä tietoa voidaan hyödyntää esimerkiksi silloin, kun valitaan oikeaa puhdistusmenetelmää työpuhelimien puhdistamiseksi aseptisen työskentelyn mahdollistamiseksi.

Aihe opinnäytetyölleni tuli varkautelaiselta LED Suutari Oy:ltä, joka kehittää uudenlaista ekologista, energiatehokasta ja täsmällistä UV-LED-teknologialla varustettua desinfiointitekniikkaa, jolla pystytään desinfioimaan mobiililaitteita ja joka soveltuu myös lääketieteen käyttöön. Opinnäytetyöni toimeksiantajana toimii kuitenkin Savonia-ammattikorkeakoulu, sillä LED Suutari Oy vetäytyi hankkeesta.

**Näytteitä kerätään viikolla 15 maanantaista keskiviikkoon luokassa B4003. Niitä voi tulla antamaan 11.–13.04. klo 8-16 välisenä aikana.**

Näytteet pysyvät anonyymeinä. Niiden yhteyteen täytetään lähete, johon tarvitsen tiedon siitä, onko puhelin käynyt esimerkiksi sairaalan osastoilla tai laboratoriossa.

Pyydän Teitä osallistumaan työpuhelimien näytteiden keräämiseeni, sillä se olisi tärkeää opinnäytetyöni kannalta. Opinnäytetyöni ohjaajana toimii Leena Tikka.

Lisätietoja: Heli.M.Miettinen@edu.savonia.fi

Ystävällisin terveisin

*Heli Miettinen*

Heli Miettinen, TB13K