PUNKTIONESTEIDEN GRAMVÄRJÄYSTEN PEREHDYTYSMATERIAALI

Bioanalytiikan koulutusohjelma
Opinnäytetyö
21.10.2008

Tiina Nyman
Jaana Valve

Metropolia

Metropolia Ammattikorkeakoulu
Terveys- ja hoitoala

Koulutusohjelma	Suuntautumisvaihtoehto
Bioanalytiikan koulutusohjelma	Bioanalyytikko (AMK)

Tekijä/Tekijät

Nyman, Tiina – Valve, Jaana

Työn nimi

Punktionesteiden gramvärjäysten perehdytysmateriaali

Työn laji	Aika	Sivumäärä
Opinnäytetyö	Syksy 2008	35 + 3 liitettä

TIIVISTELMÄ

Gramvärjäystä käytetään yleisesti mikrobien tunnistuksen apuna tutkittaessa erilaisia potilasnäytteitä, kuten normaalisti steriilejä punktionesteitä. Värjäyksen avulla pystytään erottamaan näytteessä olevat bakteerit ja sienet. Gramvärjäyksen tulkinta voi olla haastavaa, ja perehdyttäminen aiheeseen on tärkeää, koska tulos vaikuttaa suoraan potilaan hoitoon.

Opinnäytetyönä tuotettiin kolmiosainen perehdytysmateriaali punktionesteiden gramvärjäyksistä. Perehdytysmateriaali koostuu kirjallisesta materiaalista, mikroskopoitavista gramvärjäyslaseista sekä interaktiivisista harjoituksista. Perehdysmateriaali tehtiin HUSLABin Meilahden sairaalan päivystyslaboratorion henkilökunnan käyttöön. Työ tehtiin henkilökunnan pyynnöstä, ja sitä on tarkoitus käyttää uusien työntekijöiden perehdyttämiseen sekä vakituisen henkilökunnan lisäperehdyttämiseen.

Opinnäytetyötä varten koottiin teoreettista tietoa punktionesteistä, gramvärjäyksestä ja mikrobeista sekä erilaisista oppijoista, oppimistavoista ja perehdytyksestä. Kirjallisessa materiaalissa käsitellään punktionesteitä, niiden muodostumista ja niissä tavallisimmin esiintyviä mikrobeja, bakteerien ja sienten rakennetta sekä gramvärjäystä. Kirjallisen osan liitteenä on lisäksi lista gramvärjäyslasien löydöksistä kuvineen. Gramvärjäyslasien valmistuksessa käytettiin positiivisia potilasnäytteitä sekä negatiivisia näytteitä, joihin lisättiin haluttuja mikrobeja. Laseja on 20 kappaletta, joissa on värjäytyvyyden, muodon, ryhmittymisen ja määrän suhteen erilaisia löydöksiä. Harjoitukset toteutettiin Power Point -ohjelmalla ja niissä käytettiin gramvärjäyslaseista otettuja kuvia. Harjoituksissa on 17 kysymystä, jotka opettavat perehtyjälle gramvärjäysten arviointia.

Kirjallisen materiaalin avulla perehtyjä saa tarvittavan aiheeseen liittyvän teoreettisen tiedon. Gramvärjäyslasit taas mahdollistavat perehtyjän käytännön harjoittelun punktionesteiden löydösten arviointiin teorian pohjalta. Interaktiiviset harjoitukset toimivat oppimisvälineen lisäksi jo opitun kertausvälineenä sekä oman osaamisen arvioinnin apuna. Kolmiosainen perehdytysmateriaali mahdollistaa monipuolisen perehtymisen punktionesteiden gramvärjäysten arviointiin.

Avainsanat
perehdytysmateriaali, gramvärjäys, punktionesteet

Helsinki Metropolia University of Applied Sciences

Degree Programme in	Degree
Biomedical Laboratory Science	Bachelor of Health Care

Author/Authors

Nyman, Tiina and Valve, Jaana

Title

Orientation Material of Gram-stained Puncture Fluids

Type of Work	Date	Pages
Final Project	Autumn 2008	35 + 3 appendices

ABSTRACT

Gram staining is used to aid in identifying microbes from different types of patient samples for example puncture fluids. The estimation of stainings can be challenging and orientation to it is significant because the result has a direct impact on the patient's care.

As a final project we made a three-part orientation material of Gram-stained puncture fluids. The parts were theoretical material, Gram-stained microscope slides and interactive exercises. The orientation material was made for the personnel in the laboratory of emergency duty of Meilahti Hospital of HUSLAB. The project was made from the personnel's request and is intended to be used in the orientation of employees.

For this project, we collected information about puncture fluids, Gram staining procedure and microbes but also about learning and orientation. In the theoretical material we wrote about puncture fluids, their formation and microbes that are often found in them and also about the structure of bacteria and fungi and Gram staining. In preparing the Gram-stained slides we used positive patient samples and negative samples in which we added different microbes. In total, we made 20 slides which were versatile findings regarding staining ability, form, aggregation and amount. The interactive exercises, which consisted of 17 questions, we implemented by using a Power Point -programme. In the exercises we used pictures taken from the Gram-stained slides.

Through the theoretical material one can receive all knowledge needed in the estimation. With the Gram-stained slides one can practise to estimate findings in puncture fluids. The interactive exercises can be used as learning and revision material and also in evaluation of one's progress. The three-part orientation material enables versatile learning of Gram-stained slides estimation.

Keywords

orientation material, Gram staining, puncture fluid

SISÄLLYS

1 JOHDANTO 1

2 OPINNÄYTETYÖN LÄHTÖKOHDAT 2
2.1 Työn tausta 2
2.2 Tarkoitus ja tavoitteet 3

3 PEREHDYTYSMATERIAALI 4
3.1 Kirjallisuuteen tutustuminen 4
3.2 Oppiminen 5
3.3 Perehdyttäminen 7
3.3.1 Laadukas teksti 8
3.3.2 Mikroskopointi 11
3.3.3 Interaktiivinen opetus 11

4 PUNKTIONESTEET 13
4.1 Käsiteltävät punktionesteet 13
4.2 Muodostuminen ja tehtävät 13
4.3 Yleisimmät taudinaiheuttajat 14

5 GRAMVÄRJÄYS 15
5.1 Bakteerivärjäyksen käyttö päivystyslaboratoriossa 15
5.2 Menetelmän periaate ja tulkinta 15

6 MIKROBILÖYDÖKSET 17
6.1 Löydösten vastaaminen 17
6.2 Bakteerit 17
6.3 Sienet 18

7 TYÖSKENTELYPROSESSI 18
7.1 Aikataulu ja työnjako 18
7.2 Kirjallinen materiaali 20
7.3 Gramvärjäyslasien valmistus 21
7.3.1 Likvor 22
7.3.2 Muut punktiot 23
7.3.3 Värjäysprosessi 23
7.3.4 Kontrollikannoista tehdyt näytteet 25
7.3.5 Lasien valinta 26
7.3.6 Lasien tarroitus ja kuvaaminen 27
7.4 Interaktiiviset harjoitukset 28
7.5 Perehdytysmateriaalin arviointi 30

8 POHDINTA 31

LÄHTEET 33

LIITTEET
OSA I Kirjallinen materiaali
OSA II Gramvärjäyslasit
OSA III Harjoitukset

1 JOHDANTO

Gramvärjäystä käytetään yleisesti mikrobien tunnistuksen apuna tutkittaessa erilaisia potilasnäytteitä, kuten normaalisti steriilejä punktionesteitä. Gramvärjäyksen avulla pystytään erottamaan näytteessä olevat bakteerit, sienet ja leukosyytit. Värjäyksen tulkinta voi olla haastavaa, ja perehdyttäminen aiheeseen on tärkeää, koska tuloksella on suora vaikutus potilaan hoitoon.

Teimme opinnäytetyönä punktionesteiden gramvärjäysten perehdytysmateriaalin HUSLABin, Kliinisen kemian ja hematologian vastuualueen, Meilahden sairaalan päivystyslaboratorioon yhteistyössä Kliinisen mikrobiologian vastuualueen, bakteriologian osaston kanssa. Perehdytysmateriaali koostuu kolmesta osasta: kirjallinen osuus, mikroskopoitavat gramvärjäyslasit ja interaktiiviset harjoitukset, jotka on toteutettu Microsoft Power Point -ohjelmalla. Perehdytysmateriaali on tehty päivystyslaboratorion henkilökunnan pyynnöstä.

Työn tarve heräsi keväällä 2007 ollessamme Meilahden sairaalassa terveysalan laboratoriotyön harjoittelussa. Teimme syksyllä 2007 kehittämistehtävän, jossa selvitimme, millaisen perehdytysmateriaalin tarve päivystyslaboratorion punktiotyöpisteessä on. Kehittämistehtävän tuotoksena oli alustava suunnitelma ja rajaus opinnäytteellemme. (Nyman – Valve 2007.) Käsittelemme opinnäytteessämme punktionesteistä likvor- eli aivo-selkäydinnestettä, ascites- eli vatsaontelon nestettä, pericardium- eli sydänpussin nestettä, pleura- eli keuhko-ontelon nestettä ja nivelnestettä. Työn ulkopuolelle jäivät scrotum- eli kivespussin neste sekä virtsa, koska scrotumneste on erittäin harvinainen ja virtsaa ei pidetä samalla tavalla steriilin alueen nesteenä kuin muita työssämme käsiteltäviä punktionesteitä. Tämä rajaus on tehty yhteistyössä työelämäohjaajien kanssa.

Kolmiosainen perehdytysmateriaali mahdollistaa monipuolisen perehtymisen punktionesteiden gramvärjäysten arviointiin. Materiaalin kirjallisessa osassa käsittelemme punktionesteitä, niiden muodostumista ja niissä tavallisimmin esiintyviä mikrobeja, bakteerien ja sienten rakennetta sekä gramvärjäystä. Kirjallisen materiaalin avulla perehtyjä saa tarvittavan aiheeseen liittyvän teoreettisen tiedon. Gramvärjäyslasien avulla perehtyjä voi harjoitella punktionesteiden löydösten arviointia teorian pohjalta. Teimme jokaisesta punktionesteestä neljä gramvärjättyä lasia, joissa on erilaisia mikrobilöydöksiä. Interaktiiviset harjoitukset toimivat oppimisvälineenä ja

lisäksi jo opitun kertausvälineenä sekä oman osaamisen arvioinnin apuna. Harjoituksissa käytimme gramvärjäyslaseista otettuja kuvia ja rakensimme niiden ympärille monivalintakysymyksiä. Kaikkia perehdytysmateriaalin osia voidaan käyttää myös vertailumateriaalina työtä tehdessä.

Perehdytysmateriaali on kohdistettu päivystyslaboratorion henkilökunnalle. Sitä tarvitaan uusien työntekijöiden perehdyttämiseen sekä vakituisen henkilökunnan, kuten virkavapaalta tai äitiys- tai sairaslomalta palaavien henkilöiden lisäperehdyttämiseen. Materiaalia voidaan hyödyntää myös opiskelijoiden tutustuessa punktiotyöpisteeseen. Työpisteessä ei ole tällä hetkellä käytössä materiaalia perehdytykseen. Ohjeet ovat irrallisia ja vanhentuneita, eikä opetukseen tarkoitettuja laseja ole juurikaan.

Työmme ohjaajina toimivat yliopettaja Riitta Lumme, bioanalyytikko Ennamaria Meneses ja laboratoriohoitaja Ulla Tuulos-Kontio päivystyslaboratoriosta. Bioanalyytikko Minna Tupasela ja mikrobiologi Eveliina Tarkka ohjasivat työtämme bakteriologian osastolla.

2 OPINNÄYTETYÖN LÄHTÖKOHDAT

2.1 Työn tausta

Kehittämistehtävänä teimme kyselyn, joka suunnattiin päivystyslaboratorion henkilökunnalle. Selvitimme henkilökunnan tarvetta perehdytykselle eri osa-alueisiin päivystyslaboratorion punktiotyöpisteessä. Tiedustelimme työntekijöiden mieluisia oppimistapoja (lukeminen, kuunteleminen, kuvien katsominen ja itse tekeminen) ja oppimisvälineitä (gramvärjäyslasien mikroskopointi, kuvalliset ongelmanratkaisutehtävät diaesityksessä, luettava materiaali). Kysyimme myös sopivaa gramvärjäyslasien määrää jokaisesta punktionesteestä. Tulosten perusteella henkilökunta tarvitsee lähes yhtä paljon perehdytystä kaikkien punktionesteiden gramvärjäysten arviointiin. Oppimistavoista parhaimpana vaihtoehtona koettiin itse tekeminen ja huonoimpana lukeminen. Mieluisimmaksi oppimisvälineeksi koettiin lasien mikroskopointi, mutta myös kuvalliset ongelmanratkaisutehtävät diaesityksessä saivat kannatusta. Sopivaksi lasien määräksi koettiin 3–4 kappaletta/punktioneste.

Kyselyn tulosten perusteella päivystyslaboratorion nykyiset työntekijät eivät tarvitse huomattavaa lisäperehdytystä punktionesteiden gramvärjäysten arvioinnissa. Perehdytysmateriaali ei ole kuitenkaan kohdennettu yksinomaan heille, vaan myös uusille työntekijöille, pitkiltä lomilta ja virkavapailta palaaville sekä opiskelijoille. Perehdytysmateriaalia voidaan myös hyödyntää alkuperehdytyksen jälkeen, jolloin työntekijät voivat käyttää sitä työskennellessään ja aina halutessaan palauttaa mieliin jo käsiteltyjä asioita. Työntekijät kokivat mieluisimmaksi oppimistavaksi itse tekemisen ja lasien mikroskopoinnin, joten päätimme tehdä perehdytysmateriaaliin mikroskopoitavia gramvärjäyslaseja neljä kappaletta jokaisesta punktionesteestä. Koska myös kuvalliset ongelmanratkaisutehtävät koettiin hyväksi oppimisvälineeksi, katsoimme tärkeäksi tehdä myös interaktiivisia harjoituksia diaesityksen muodossa lasien tueksi. Lukemista ja kirjallista materiaalia pidettiin huonoimpina vaihtoehtoina, joten perehdytysmateriaalin kirjallista osuutta ei tule painottaa liikaa. Päätimme kuitenkin kertoa perusteita eri punktionesteiden syntymekanismista, bakteereista, sienistä ja gramvärjäyksestä kirjallisessa osiossa, joka toimii kertausmateriaalina kokeneemmille ja teoreettisena pohjana uusille työntekijöille.

Tiedon välittäminen eri oppijoille eri tavoin, kuten tekstin, kuvien tai animaatioiden avulla tukee uuden tiedon omaksumista. Toiset ihmiset oppivat paremmin visuaalisesta esityksestä, kun taas toiset paneutuvat mieluummin tekstiin. Paras hyöty saadaan, kun voidaan laatia tarjolla olevien välineiden avulla oman näkökulman mukainen oppimismateriaali. (Meisalo – Sutinen – Tarhio 2003: 151.) Perehdytysmateriaalissamme on huomioitu erilaiset oppijat kokoamalla moniosainen materiaali, josta työntekijät voivat painottaa itselleen parhaiten sopivaa oppimisvälinettä.

2.2 Tarkoitus ja tavoitteet

Tarkoitus ja tavoitteet opinnäytteellemme muotoutuivat kehittämistehtävän tuloksena. Työn tarkoituksena on tuottaa päivystyslaboratorion henkilökunnan tarpeita vastaava mahdollisimman kattava ja monipuolinen perehdytysmateriaali. Kirjallisen materiaalin tavoitteena on antaa tarpeeksi kattavaa tietoa uusille työntekijöille ja vähemmän punktionesteisiin perehtyneille. Kirjallista materiaalia voidaan käyttää myös työtä tehdessä, joten sen tulee olla selkeä ja hyvin jäsennetty, jolloin etsitty tieto on nopeasti löydettävissä. Tavoitteena olisikin, että työntekijät kokisivat kirjallisen materiaalin

hyvänä työvälineenä, josta löytyy kaikki työssä tarvittava tieto tiiviissä muodossa, toisin kuin alan perusteoksissa, joista tarkistettavaa tietoa on hankalampi löytää. Mikroskopoitavien lasien tavoitteena on olla edustavana otoksena punktionesteissä esiintyvistä mikrobeista. Lasien avulla perehtyjä voi harjoitella mikrobien tunnistamista ja niiden värjäytyvyyden, muodon, ryhmittymisen ja määrän arviointia. Löydösten tulee olla monipuolisia, toisaalta helposti tunnistettavia, mutta myös haastavia. Tällöin laseista on hyötyä sekä uusille että myös kokeneemmille työntekijöille. Tavoitteena on valmistaa laadukkaat gramvärjäyslasit aidoista positiivisista potilasnäytteistä sekä tehdä lasit kesätyön ohella bakteriologian osastolla. Interaktiivisten harjoitusten tavoitteena on toimia haastavana ja modernina oppimisvälineenä, jolla voidaan myös kerrata kirjallisen materiaalin ja gramvärjäyslasien avulla opittua tietoa ja arvioida omaa oppimista. Harjoitukset mahdollistavat itsenäisen opiskelun työpaikalla ja kotona. Kaikkia perehdytysmateriaalin osia on tavoitteena käyttää myös vertailumateriaalina perehdytyksen lisäksi. Vertailumateriaalista on hyötyä, jos potilasnäytteestä löytyy harvinainen tai vaikeasti tunnistettava mikrobi, joka muistuttaa perehdytysmateriaalin löydöstä. Tällöin löydöksiä voi verrata toisiinsa ja saada tukea gramvärjäyksen arviointiin.

3 PEREHDYTYSMATERIAALI

3.1 Kirjallisuuteen tutustuminen

Opinnäytettämme varten olemme hakeneet tietoa kirjallisuudesta oppimisesta ja erityyppisistä oppijoista sekä perehdytyksen tavoista ja tekstin tuottamisesta. Kokosimme kirjallisuudesta tietoa eri punktionesteiden syntymekanismista sekä bakteereista, sienistä ja gramvärjäysmenetelmästä työmme kirjallista osiota varten. Olemme panostaneet kirjallisen materiaalin asiasisältöön ja tekstin luettavuuteen, jotta sitä voitaisiin hyödyntää perehdytyksessä mahdollisimman paljon.

Mikroskopoinnin opettamisesta ja gramvärjäysten arvioinnista emme ole juurikaan löytäneet tietoa kirjallisuudesta, mutta olemme saaneet käyttöömme mm. HUSLABin menetelmäohjeita, joita olemme hyödyntäneet. Interaktiivisista oppimisvälineistä sen sijaan löysimme runsaasti tietoa. Vaikeinta oli löytää omassa työssämme hyödynnettävää materiaalia kaiken tämän tiedon joukosta. Oppimiseen,

punktionesteisiin ja mikrobeihin liittyvää kirjallisuutta oli helppo löytää, mutta esimerkiksi perehdyttämisestä ei juurikaan löytynyt sopivaa ja luotettavasta lähteestä olevaa tietoa. Punktionesteissä yleisimmin esiintyvistä taudinaiheuttajista oli myös haastavaa saada ajankohtaista ja Suomessa tutkittua tietoa.

3.2 Oppiminen

Oppiminen on pysyvää tietojen, taitojen, käsitysten ja asenteiden muuttumista. Oppiminen on mukana kaikissa kokemuksissamme ja sen tuloksena voi olla käsitysten tarkentuminen tai ymmärryksen lisääntyminen. (Laine – Ruishalme – Salervo – Siven – Välimäki 2002: 95; Lindblom-Ylänne – Nevgi – Kaivola 2003: 67.) Oppimisprosessissa oppija tulkitsee havaintojaan ja uutta tietoa aikaisempien tietojensa ja kokemustensa pohjalta. Näin oppija rakentaa jatkuvasti uutta vanhan tiedon ympärille ja etsii sekä rakentaa merkityksiä. (Tynjälä 1999: 37–38.) Oppiminen on monitahoista ja siihen kuuluu monia eri tekijöitä, kuten oppija, opettaja, oppimistehtävät, oppimisvälineet ja oppimisympäristö (Kauppila 2000: 17). Oppiminen on siis sidottu aikaan, paikkaan ja tilanteeseen (Tynjälä 1999: 128).

Oppijat ovat erilaisia, eivätkä kaikki opi samalla tavoin, koska kaikilla on omat mieltymyksensä ja tottumuksensa tiettyihin opiskelutapoihin. Oppijat ovat erilaisia mm. oppimisstrategioiltaan. (Tynjälä 1999: 111–112.) Pintasuuntautuneen oppijan oppimismotivaatio on ulkoa tuleva, ja hän pyrkii painamaan tiedot mieleensä sellaisenaan. Hän panostaa määrälliseen oppimiseen, muistaa paljon erillisiä asioita ja hänellä on kyky toistaa esitetty asia. Pintasuuntautuneelle oppijalle asioiden kokonaisuuden hahmottaminen on hankalaa, ja hän muistaa nopeasti unohtuvia yksittäistietoja. Syväsuuntautunut oppija panostaa sen sijaan laadulliseen oppimiseen. Hän saa motivaation opittavan asian sisällöstä ja pyrkii ymmärtämään asiakokonaisuuksia sekä yhdistämään teorian käytäntöön. (Ruohotie 1998: 81.)

Erilaisten opetusmetodien käyttäminen tukee erilailla eri oppijoita. Oppijat ovat yksilöllisiä: visuaaliset oppijat oppivat parhaiten näkemällä ja kirjallisia ohjeita käyttämällä, auditiiviset kuulemalla ja suullisen opastuksen avulla ja kinesteettiset taas oppivat parhaiten itse tekemällä ja kokeilemalla. (Lehtoranta – Leivo – Haapasalo 2006.) Visuaaliselle oppijalle ovat tärkeitä erilaiset kirjat, kaaviot, kuvat ja monisteet. Hän saattaa muistaa missä kirjassa ja missä kohdassa jokin tietty asia oli, mutta pelkästään kuulon avulla hänen on vaikea hahmottaa asioita. Visuaaliset ihmiset

haluavat hahmottaa käsiteltävän asian kokonaisuutena ennen yksityiskohtiin menoa. Auditiivinen oppija pitää luennoista ja keskusteluista sekä oppii parhaiten kuuntelemalla. Hän etenee asioita kohta kohdalta järjestelmällisesti ja loogisesti. Kinesteettinen oppija taas oppii tekemällä ja haluaa heti kokeilla uusia asioita. Hän muistaa parhaiten sen mitä tehtiin eikä hän ole kovin innokas lukemaan. (Laine ym. 2002: 119–122.) Oppiminen on tehokkainta kun yhdistellään eri aisteja ja oppimistapoja sekä käydään asioita läpi useissa yhteyksissä (Lehtoranta ym. 2006; Uusikylä – Atjonen 2007: 175). Eri oppijat voivat kuitenkin painottaa itselleen luontaisinta oppimistapaa ja esimerkiksi käyttää kertaamisessa muita oppimisvälineitä (Lehtoranta ym. 2006). Perehdytysmateriaalissamme hyödynnetään erilaisia oppimisvälineitä ja käymällä kaikki materiaalin osat järjestelmällisesti läpi perehtyjä oppii parhaiten.

Oppimisprosessin suunnittelua varten ensin määritellään oppimisen tavoitteet, muodostetaan niiden pohjalta prosessia jäsentäviä teemoja ja lopuksi pohditaan, miten tavoitteisiin voidaan päästä. Tavoitteiden määrittely antaa kokonaiskuvan aiheesta ja rajaa opittavan asia. Tavoitteiden kautta muodostetaan teemoja, joiden avulla voidaan suunnitella opetusta ja oppimisprosessia sekä jäsentää se selkeäksi kokonaisuudeksi myös järjestykseltään. Lopuksi teemojen avulla voidaan miettiä, millaisella tiedonprosessoinnilla ja toiminnalla oppija pääsee haluttuihin tavoitteisiin. Sitä kautta teemat toimivat pohjana oppimistehtävien ja -tilanteiden suunnittelussa. (Silander – Koli 2003: 9-20.) Perehdytysmateriaalimme ns. teemat ovat teoriatiedon hallinta kirjallisen materiaalin kautta, löydösten tunnistamisen ja arvioinnin harjoittelu mikroskopoitavien lasien avulla sekä opitun kertaus ja harjoittelu diaesityksen avulla.

Oppimistehtävä voidaan määritellä keinona, jolla oppija oppii pedagogisesti mielekkäästi ja mietitysti uusia asioita. Tehtävää työstämällä oppijalle syntyy uutta tietoa. Oppimistehtävillä voidaan ohjata esimerkiksi oppijan havainnointia, tiedonprosessointia ja työskentelyä. Toisaalta tehtävä voi olla myös olemassa olevia tietoja ja taitoja harjoittava, jolloin ne kehittyvät edelleen tai niihin liitetään uusia elementtejä. Oppimistehtävät voivat olla esimerkiksi oppijaa aktivoivia ja motivoivia, aikaisempaa tietoa aktivoivia, ongelmanratkaisua kehittäviä, tiedon rakentumista ohjaavia, uuden taidon kehittymistä ohjaavia tai työskentelytapoja kehittäviä. (Silander – Koli 2003: 45–46.) Tehtävien suunnittelussa täytyy ensinnäkin hahmottaa tehtävän kytkeytyminen aikaisemmin opittuun ja sen tarkoitus ja tavoitteet oppimisprosessissa. Seuraavaksi suunnitellaan tehtävän rakenne ja selvitetään haluttu oppijan toiminta.

Lisäksi tulee kiinnittää huomiota tehtävän antoon ja oikeaan ohjeistukseen, jotta haluttu toiminta saavutetaan. (Silander – Koli 2003: 50–53.)

Oppimateriaali on johonkin materiaan sidottu oppiaines, josta tieto välittyy oppijalle ja saa aikaan oppimiskokemuksia, joiden kautta syntyy tavoitteiden mukaisia ja pysyviä tietojen ja taitojen muutoksia. Oppimateriaali voi olla esimerkiksi kirjallista, visuaalista, auditiivista, audiovisuaalista tai digitaalista materiaalia. Digitaalisessa oppimateriaalissa voidaan hyödyntää samanaikaisesti kaikkia näitä materiaalin muotoja. Materiaalin hyödynnettävyys ja sopivuus riippuu käytettävästä opetusmuodosta ja työtavoista. Myös opetusmateriaalin asettamat laitevaatimukset vaikuttavat materiaalin hyödynnettävyyteen. Oppimateriaalin tulee asettaa kysymyksiä, mahdollistaa oppijan toiminta, houkutella tutustumaan aiheeseen sekä löytämään vastauksia ongelmiin. Laadukas materiaali antaa tarpeellisen informaation sisältökysymyksiin, mutta myös haastaa oppijan ja antaa oppijalle palautetta. Materiaalin tulisi vastata oppimistempoltaan hitaampien ja nopeampien tai oppimisstrategialtaan erilaisten pinta- ja syväsuuntautuneiden oppijoiden tarpeisiin. Asiasisällön tulee edetä järkevällä tavalla oppimateriaalikokonaisuudessa niin, että se on jaksotettu loogisesti ja painotettu oikein. (Uusikylä – Atjonen 2007: 163–168.)

3.3 Perehdyttäminen

Kun työpaikkaan tulee uusi työntekijä, tulee hänelle työturvallisuuslain mukaan antaa riittävä perehdytys työtehtäväänsä. Perehdyttämisellä autetaan työntekijää tutustumaan työyhteisöön sekä harjaantumaan työtehtäviinsä. Perehdytys voi myös lisätä työntekijän mielenkiintoa ja sitoutumista työhönsä. Perehdytystä tarvitaan uusien työntekijöiden lisäksi myös jo organisaatiossa työskenteleville, jos työtehtävät tai työolot muuttuvat. Laadukas perehdyttämisprosessi vaatii suunnittelua ja valmistautumista työpaikalta. Ohjaajan ja perehdytettävän vuorovaikutuksen, keskustelujen ja yhdessä tekemisen lisäksi voi oppimisen tukena käyttää oppimistehtäviä ja erilaisia oppimismateriaaleja. Materiaalit voivat olla eri muodoissa, kuten opaskirjoina, videoina, dioina tai esitteinä. Keskeistä prosessissa on perehtyjän oppiminen ja oma aktiivisuus. (Frisk 2005: 41–43.)

Uuden työtekijän perehdytys alkaa aina tehtävään johdatuksella ja pohjatiedon rakentamisella, esim. kirjallisen tiedon avulla. Uuteen tehtävään perehtyvällä täytyy myös olla motivaatiota, jotta oppiminen mahdollistuu. (Lehtoranta ym. 2006.) Oppimateriaalin käytön täytyy olla mielekästä perehtyjälle, koska vain aktivoiva ja

motivoiva materiaali mahdollistaa oppimisen (Uusikylä – Atjonen 2007: 167–168). Motivaatiota voidaan herättää mielenkiintoisilla tehtävillä ja antamalla vastuuta perehtyjälle omasta oppimisestaan itsenäisten tehtävien avulla.

Opetuksen onnistumisen kannalta on tärkeää, että perehtyjälle suunnitellut tehtävät ovat vaativuudeltaan sopivan tasoisia. Helpot tehtävät eivät motivoi ja sitä kautta palvele oppimista, mutta liian vaativat tehtävät taas lannistavat. Sen sijaan sopivan haasteelliset tehtävät tuottavat oppijalle onnistumisen iloa. Tehtävät tulisikin suunnitella niin, että edetään yksinkertaisemmista vaativampiin. (Lehtoranta ym. 2006.) Suunnitellessamme perehdytysmateriaalin osia, olemme pyrkineet saamaan oppimisvälineidemme sisällön ja erityisesti harjoitukset riittävän haasteellisiksi ja kattaviksi. Kirjallisen materiaalin olemme suunnitelleet niin laajaksi, että siinä olisi jotakin uutta tietoa kokeneellekin laboratoriohoitajalle. Mikroskopoitavat lasit ja harjoitukset olemme suunnitelleet myös haastaviksi, jotta niitä voidaan käyttää useampaankin kertaan perehdytyksen aikana.

3.3.1 Laadukas teksti

Kirjallinen materiaali tuo perehtyjälle aiheeseen liittyvän teoreettisen tiedon. Kirjallinen osuus tukee erityisesti visuaalisia oppijoita, jotka pitävät lukemisesta. Olemme pohtineet laadukkaan tekstin kriteereitä ja pyrkineet tuottamaan hyvää ja työhömme sopivaa tekstiä kirjoittaessamme perehdytysmateriaalin kirjallista osuutta. Samalla saamme myös neuvoja tasokkaan opinnäytteen prosessikuvauksen kirjoittamiseen.

Tekstin tuottaminen alkaa sen suunnittelusta. Kirjoittajan on hyvä pohtia suunnitteluvaiheessa seuraavia asioita: mikä on tekstin tavoite ja sen ydinsisältö, millaista sävyä ja tyyliä tekstille tavoitellaan, keille teksti on suunnattu ja miten tavoite saavutetaan. (Iisa – Kankaanpää – Piehl 1998: 17–18.) Kirjallisen materiaalimme on tarkoitus toimia laadukkaana perehdytyksen ja itsenäisen perehtymisen sekä opitun kertaamisen apuvälineenä päivystyslaboratorion henkilökunnalle. Tekstin ydinsisältöä ovat punktionesteet ja niissä tavallisimmin esiintyvät bakteerit sekä gramvärjäys. Tekstin tarkoitus on välittää tietoa lukijalleen, joten tyylin on oltava asiallista. Teksti on suunnattu bioanalyytikoille, laboratoriohoitajille tai bioanalyytikko-opiskelijoille, joten voimme käyttää alamme ammattikieltä.

Kirjoittaminen parin kanssa eroaa yksin kirjoittamisesta. Parin kanssa kirjoittaminen voi olla hyvin antoisaa, koska ideoita syntyy enemmän yhdessä keskustellessa ja parilta saa

palautetta myös omasta osuudestaan. Yhdessä kirjoittamisen vaikeuksia voi välttää, kun molemmille on selvää, mikä on yhteinen tavoite ja millaista tekstin tyyliä ja sävyä tavoitellaan. Esimerkiksi itseensä eli kirjoittajiin viittaamisen tapa, kuten me-muoto, kolmas persoona tai passiivi, on hyvä päättää yhdessä. Lisäksi jo alussa kannattaa sopia kirjoittavatko osapuolet itsenäisesti omaa osuuttaan vai kirjoitetaanko kaikki yhdessä. (Iisa ym. 1998: 31–32.) Päätimme jakaa kirjallisen materiaalin kirjoittamista, koska kirjoittaminen on yksin nopeampaa. Olemme kuitenkin myös kirjoittaneet yhdessä ja käyneet läpi yksin kirjoitettuja osuuksia ja muokanneet tekstiä yhdessä. Olemme puhuneet avoimesti toisillemme tyylistä, jota tavoittelemme. Tekstin tyyli ja sävy ovatkin muokkautuneet yhteiseksi kirjoittamisen edetessä. Itseemme viitatessa käytämme me-muotoa.

Tekstin tavoitteen tietoinen jäsennys helpottaa tekstin suunnittelua ja kirjoittamista. Kun kirjoitetaan tiedottavaa tekstiä, on tärkeintä kiinnittää huomiota tekstin keskeisen sisällön esille tuomiseen. Tekstin tulee lisäksi olla helposti luettavaa, jolloin myös sisällön painuminen lukijan mieleen helpottuu. Tekstistä tulee pystyä erottamaan pää- ja sivuasiat ja karsia turhat asiat pois. (Iisa ym. 1998: 37–41.) Olemme yhdessä keskustelleet tekstin tavoitteesta ja täsmentäneet ajatuksiamme siitä, mikä kirjallisen materiaalin sisällössä on olennaista päivystyslaboratorion henkilökunnalle. Olemme saaneet työelämäohjaajilta joitakin mielipiteitä materiaalin pääsisällöstä. Kirjallisen materiaalin tehtävä on toimia perustietoa sisältävänä aiheeseen perehtymisen välineenä ja tukea gramvärjäyslasien mikroskopointia.

Kirjoittajan tulee ottaa tekstinsä lukija huomioon jo tekstiä suunnitellessaan. Kirjoittajan on hyvä miettiä lukijan lähtötasoa eli jo olemassa olevaa tietoa asiasta. Ennestään tutut asiat voi jättää pois, esimerkiksi kaikkia tuttuja termejä ei tarvitse avata. Teksti pitää rajata ja jäsentää niin, että lukija löytää tekstistä hyödyllisen aineksen. Tekstin tavoite ja pääsisältö tulee kertoa lukijalle mahdollisimman pian, esimerkiksi otsikossa tai tekstin alussa. Kielen täytyy olla ymmärrettävää, niin sanastoltaan kuin rakenteeltaankin. Kun tuotetaan ammattikielistä tekstiä alan ammattilaisille, voidaan erikoisalan termejä käyttää niitä selittämättä. Kuitenkin on yleensä ottaen aina parempi kirjoittaa liian selkeästi kuin liian mutkikkaasti. Siksi kannattaa selkeyden vuoksi avata myös termit, joista kirjoittaja ei ole varma, ymmärtääkö lukija ne. (Iisa ym. 1998: 49–55.) Tekstimme on suunnattu tietyn alan ammattilaisille, joten voimme käyttää tavallisia alan termejä niitä selittämättä. Päivystyslaboratorion henkilökunta on usein kiireistä, joten tekstin

tulee olla helppolukuista ja keskeiset asiat tulisi löytää tekstistä helposti, jos esimerkiksi työn ohessa tarvitsee tarkistaa jokin asia kirjallisesta materiaalista. Kuitenkin kirjallisen materiaalin tavoitteena on antaa lukijalleen myös laajempaa tietoa aiheesta, joka on löydettävissä tarvittaessa.

Tekstiin pitäisi sisältyä kaikki se, millä päästään sovittuun tavoitteeseen. Siinä pitää olla kaikki ne asiat, joita lukija tarvitsee ymmärtääkseen asian sisällön, mutta toisaalta tietoa ei saa olla liikaa. Liiallinen tietomäärä voi estää näkemästä tekstin tärkeitä asioita tai jopa viedä mielenkiinnon koko tekstin lukemiseen. Tarpeetonta tietoa on sellainen, jonka lukija jo tietää tai joka koskee läheisesti kirjoittajaa, mutta ei kiinnosta lukijaa. Uudet asiat on kytkettävä jo tuttuun tietoon, mutta tuttuja asioita ei ole tarpeen esittää enää yksityiskohtaisesti. (Iisa ym. 1998: 65–72.) Kirjallisen osuuden viimeistelyssä tulee vielä miettiä tarkkaan sopivaa rajausta ja mahdollisesti jättää liiallinen tieto pois. Toisaalta materiaalia käyttävät myös uudet työntekijät ja opiskelijat, joilla on koulutus, mutta jotka tarvitsevat ehkä kertausta tai heillä ei ole kokemusta vastaavasta työtehtävästä. Materiaalista on siis löydyttävä kaikki tarvittava taustatieto myös aloittelijalle. Kirjallisen materiaalin rajaus on vaativaa, koska sen käyttäjillä voi olla hyvin erilaiset lähtötiedot, mutta sen tulisi kuitenkin palvella mahdollisimman monia.

Tekstin jäsentäminen loogiseksi kokonaisuudeksi on lukijalle tärkeää. Jäsentelyratkaisuja on monia, mutta sopivin määräytyy usein tekstilajin mukaan. Aihepiirijärjestys on hyvä jäsentelyratkaisu kun kuvataan laajaa kokonaisuutta, jota voidaan luontevasti tarkastella osina. Usein aihepiirirakenteessa edetään pääkohdista pienempiin alakohtiin. Rakenteen on tarkoitus olla johdonmukainen ja lukijan on helppo löytää tarvitsemansa tieto lukematta koko tekstiä. (Iisa ym. 1998: 81–101.) Kirjalliseen materiaaliin sopii luonnollisesti aihepiirijärjestys, koska voimme käsitellä aihettamme osina, esimerkiksi punktionesteet, gramvärjäys ja mikrobit.

Tekstin alku on tärkeä, koska sen tehtävä on asiateksteissä johdattaa lukija tekstin aiheeseen. Alku sitoo tekstin oikeisiin yhteyksiin, muodostaa lukijalle odotukset tulevasta tekstistä sekä rajaa ja perustelee aiheen. Tietoa välittäviin teksteihin sopivat aloitukset, joissa mennään suoraan asiaan ja tiivistetään tekstin pääsisältö. (Iisa ym. 1998: 218–231.) Kirjallisen materiaalin alussa kerromme tekstin sisällön ja sen käyttötarkoituksen. Myös tekstin kappalejako on osa sen hierarkiaa. Kappale on niin ajatuksellinen kuin visuaalinenkin yksikkö ja molemmat kannattaa ottaa huomioon kun

miettii, milloin alkaa uusi kappale. Tekstissä täytyy olla myös jokin ns. juoni, joka kantaa läpi koko tekstin. Pää- ja alaotsikot sekä kappalejako tukevat juonen kulkemista tekstissä. (Iisa ym. 1998: 127–141.)

3.3.2 Mikroskopointi

Oppimismateriaalin tärkeimpänä osana ovat gramvärjäyslasit, koska niiden avulla perehtyjä voi harjoitella käytännön työtä. Laseja mikroskopoimalla voidaan harjoitella mikrobien tunnistamista ja niiden määrän arviointia. Lasit ovat tärkein osa materiaalia myös siksi, että työntekijät kokivat itse tekemisen ja lasien mikroskopoimisen parhaimmaksi tavaksi oppia. Gramvärjäyslasit palvelevat erityisen hyvin kinesteettisiä oppijoita, jotka tuntevat oppivansa parhaiten tekemällä ja itse kokeilemalla.

Taitojen oppiminen vaatii oppijan harjoittelua ja opittavan suorituksen tekemistä, koska vain siten syntyy sisäisiä malleja. Suoritusmalleja syntyy itse tekemällä, ei vain vierestä katsomalla. Sisäiset suoritusmallit syntyvät pikkuaivoihin mm. lihasten, ihon ja paineen ärsykeinformaatioiden seurauksena, joka ei ole korvattavissa pelkästään näkö- ja kuuloaistien informaation avulla. Taitoja opetettaessa täytyykin oppijan saada itse harjoitella opittavaa suoritusta. (Suonperä 1992: 47–48.) Gramvärjäyslasien avulla perehtyjä voi harjoitella itse ja siten muodostaa sisäisiä suoritusmalleja ja sisäistää työn suorituksen.

3.3.3 Interaktiivinen opetus

Opinnäytteemme yhtenä osana on Harjoitukset-diaesitys, jota on tarkoitus käyttää työpaikalla perehdytyksen apuna sekä itsenäisen perehtymisen, oman osaamisen arvioinnin ja opitun kertaamisen välineenä. Kehittämistehtävässä tehdyssä kyselyssä tiedustelimme työntekijöiden mieluisimpia oppimistapoja ja itsenäisen mikroskopoinnin jälkeen diaesitys sai eniten kannatusta. Pyrimme tekemään diaesityksestä työntekijöiden mielipiteet huomioonottavan ja mahdollisimman hyvin todellisuutta jäljittelevän opetusmateriaalin, josta on hyötyä perehdytyksessä. Tarkoituksena on, että diaesitys olisi helposti ja nopeasti työntekijöiden saatavilla. Päivystyslaboratoriossa on punktiotyöpisteen läheisyydessä toimisto, jossa on useita tietokoneita työntekijöiden käytettävissä. Tietokoneen käyttö oppimisessa voi olla mukavaa vaihtelua ja kiinnostavampaa kuin kirjallinen materiaali, koska esityksessä voidaan käyttää hyväksi multimediaa, kuten kuvia, tekstiä ja ääntä. Tietokoneiden käyttö motivoi usein

erityisesti nuorempia oppijoita, ja useita aisteja hyödyntävä oppiminen ja opetusmateriaalit tehostavat oppimistuloksia (Uusikylä – Atjonen 2007: 175). Päivystyslaboratorioon tulee nuoria opiskelijoita ja vastavalmistuneita bioanalyytikkoja perehdytettäväksi tulevaisuudessa enenevässä määrin.

Tietokoneen käytöstä osana opetusta on tehty muutamia tutkimuksia, mm. Kresicin projektissa, Use of interactive technology in the classroom, tutkittiin tietokoneopetuksen hyötyjä bioanalyytikko-opiskelijoille ja opettajille. Kerätyistä potilasnäytteistä tehtiin värjättyjä mikroskopoitavia valmisteita. Lasit mikroskopoitiin ja kuvattiin, jonka jälkeen opiskelijat kokosivat kuvista tietokoneelle opetusmateriaalin. Materiaalia käytettiin opetuksen apuna ja opiskelijoiden mielestä oppiminen oli paljon monimuotoisempaa ja visualisointi oli helpottanut asioiden muistamista. (Kresic 1999.)

Digitaalisen opetusmateriaalin luomisessa voidaan käyttää esimerkiksi Microsoft Power Point -ohjelmaa, joka on tunnetuin esitysohjelmista (Meisalo – Sutinen – Tarhio 2003: 112). Power Point -ohjelma on helppo tapa opetusmateriaalin laadintaan, mutta opetusmateriaalin kokoaminen alusta asti vaatii paljon suunnittelua, esim. sopivien kuvien valintaa ja muokkausta. Esitykseen voidaan lisätä erikoisefektejä, esimerkiksi animaatioita tai ääniä ja materiaali saadaan interaktiiviseksi lisäämällä esitykseen pieniä tehtäviä, joihin käyttäjä vastaa napsauttamalla painiketta. Usein digitaalisen oppimismateriaalin käyttäjän aktiivisuus jää selailemisen varaan, koska materiaali on laadittu valmiiksi. (Meisalo ym. 2003: 152, 157.) Käytämme opetusmateriaalin tekemiseen Power Point -ohjelmaa, koska sen käyttäminen on meille valmiiksi tuttua ja uuden ohjelman käytön opettelu olisi käytettävissä olevan ajan puitteissa mahdotonta. Teemme esitykseen monivalintakysymyksiä kuvista, jotta käyttäjä joutuisi pohtimaan asiaa tarkemmin eikä vain selailisi materiaalia läpi. Esityksessä edetään vastaamalla kysymykseen, oikeaa painiketta painamalla, jolloin seuraava dia antaa heti palautteen vastauksesta.

Haasteena diaesityksen toteuttamisessa on saada siitä tarpeeksi vaativa, jotta siitä on hyötyä työelämälle, eivätkä työntekijät koe sitä liian helpoksi ja menetä mielenkiintoaan sen käyttämiseen. Kuvien täytyy olla tarkkoja ja väreiltään todenmukaisia ja kysymysten täytyy olla yksiselitteisiä. Lisäksi vastausten täytyy olla riittävän laajoja, ettei vastaajalle jää mitään epäselväksi. Esityksen toteuttaminen vaatiikin paljon aikaa ja huolellista suunnittelua.

4 PUNKTIONESTEET

4.1 Käsiteltävät punktionesteet

Punktionesteillä voidaan tarkoittaa kaikkia elimistön punktoitavia nesteitä. Työssämme tarkoitamme kuitenkin käsitteellä punktioneste vain normaalisti steriilejä likvor-, ascites-, pericardium-, pleura- ja nivelnesteitä. Gramvärjäyksen avulla voidaan selvittää infektion aiheuttajabakteeri punktoimalla likvoria subaraknoidaaliontelosta, nivelnestettä nivelontelosta tai seroosisiin onteloihin muodostuneita nesteitä. Kerromme kirjallisessa materiaalissa pääpiirteittäin kunkin punktionesteen muodostumisesta ja tehtävistä. Perehtyjien on hyvä tietää, missä ja kuinka paljon nesteitä normaalisti on ja mitkä tautitilat voivat aiheuttaa niiden kertymistä.

4.2 Muodostuminen ja tehtävät

Likvornestettä muodostuu aivokammioiden suonipunoksissa ja sen muodostus perustuu plasman suodattumiseen ja joidenkin plasmassa olevien aineiden aktiiviseen kuljetukseen. Likvoria on normaalisti noin 150 ml ja se vaihtuu jatkuvasti. Sen tehtävänä on toimia iskunvaimentimena, aivokudoksen tukena sekä huolehtia keskushermoston ravitsemuksesta. (Bjålie – Haug – Sand – Sjaastad – Toverud 2005: 68–69.) Meningiitissä mikrobit voivat levitä likvoriin verenkierron kautta, kallon alueen infektioista ja kallonmurtumien sekä kirurgisten toimenpiteiden välityksellä. Bakteerimeningiittiepäilyssä likvorista tehdään bakteerivärjäys ja -viljely. (Launes 2001: 421–422; Peltola – Valtonen 2005a: 468–469.)

Pleura-, peritoneaali- ja pericardiumonteloita kutsutaan elimistön seroosisiksi onteloiksi. Onteloissa on normaalisti ohut nestekerros, joka mahdollistaa ontelon ulkoseinämän kalvon ja sisemmän elimiä verhoavan kalvon kitkattoman liikkeen toisiaan vasten. (Taskinen 1994: 297.) Onteloon päin suuntautuvan nesteen liike saa aikaan nestekertymän eli effuusion, joka on peräisin veren plasmasta. Ylimääräinen neste seroosisissa onteloissa on aina patologinen ilmiö. (Rytkönen 2004; Taskinen 1994: 297–298.)

Ascitesnestekertymä liittyy usein maksakirroosiin tai vatsanalueen laajalle levinneeseen syöpään. Nestekertymä voi olla myös sydän-, haima- tai sappiperäinen tai sen voi aiheuttaa esimerkiksi tuberkuloosi, hypotyreoosi tai munuaistauteihin liittyvä oireyhtymä. (Pikkarainen 1993.) Pericardiumnestekertymät ovat harvinaisia, mutta liittyvät vakaviin sairauksiin. Märkäinen sydänpussin tulehdus on vakava sairaus, jossa tulehdus voi levitä sydänpussiin rintakehän alueelta, esim. pneumonian, trauman tai leikkauksen seurauksena, sydämestä, esim. endokardiitin tai sydäninfarktin seurauksena, pallean alapuolelta tai verestä. Sairaus on harvinainen, mutta se voi esiintyä mm. vakavasti sairailla ja immunosupressiopotilailla. (Wilkman 1992.) Pleuranestekertymiä voivat aiheuttaa esimerkiksi erilaiset infektiot, kuten bakteeripneumonia, tuberkuloosi, virus- ja sieni-infektiot, syövät, sidekudossairaudet, keuhkoemboliat, asbesti, traumat, lääkkeet, sydämen vajaatoiminta, maksakirroosi tai uremia (Pettersson – Riska 2007).

Synoviaalinivelissä nivelontelossa on hiukan nivelvoidekalvon muodostamaa sitkeää nestettä, nivelnestettä eli synoviaa. Neste voitelee nivelpintoja ja ravitsee nivelrustoa. Nivelneste estää nivelpintoja irtoamasta toisistaan äkillisissä liikkeissä. Synoviaaliniveliä ovat esimerkiksi lonkka- ja olkanivelet. (Bjålie ym. 2005: 175.) Nivelnestettä voi kertyä niveleen tulehduksissa, nivelreumassa ja kudosvaurioiden yhteydessä (Koivuniemi – Stenbäck 1994: 341). Nivelnesteestä voidaan tehdä spesifinen diagnoosi ensisijaisesti bakteerivärjäyksen, bakteeriviljelyn sekä kidetutkimuksen avulla (TYKSLAB 2008).

4.3 Yleisimmät taudinaiheuttajat

Olemme koonneet kirjalliseen materiaaliin tietoa myös punktionesteiden yleisimmistä mikrobilöydöksistä, koska päivystyslaboratorion henkilökunta tulee todennäköisesti löytämään näitä mikrobeja bakteerivärjäyksestä. Olemme pyrkineet saamaan myös gramvärjäyslaseihin näitä löydöksiä.

Bakteerimeningiitin yleisimmät taudinaiheuttajat ovat *Streptococcus pneumoniae* ja *Neisseria meningitidis* (Peltola – Valtonen 2005a: 468–469). Ascitesnestekertymässä 60–80 % aiheuttajabakteereista on suolistosta peräisin olevia gramnegatiivisia sauvoja. Loput ovat suoliston grampositiivisia kokkeja. (Pikkarainen 1993.) Märkäisen sydänpussin tulehduksen aiheuttajista yleisimpiä ovat grampositiiviset bakteerit, esimerkiksi *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

pneumoniae. Immunosupressiivisilla potilailla myös sienet voivat olla taudinaiheuttajina. (Valtonen 2005: 389–398.) Bakteeripneumonian yleisin aiheuttaja on *Streptococcus pneumoniae.* Suurella osalla keuhkokuumepotilaista on kuitenkin sekainfektio, jolloin todennäköinen alkuperäinen taudinaiheuttaja on virus, mykoplasma tai klamydia ja muut bakteerit aiheuttavat sekundaari-infektion. Märkäisen keuhkopussintulehduksen aiheuttajina voivat olla *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus,* beetahemolyyttiset streptokokit, gramnegatiiviset sauvat tai anaerobiset bakteerit. (Korppi – Koivula – Jokinen 2005: 376–387.) Yleisimmät niveltulehdusta aiheuttavat bakteerit ovat *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Neisseria gonorrhoeae, Mycobacterium tuberculosis, Borrelia burgdorferi* ja *Treponema pallidum* (Peltola – Valtonen 2005b: 494–496).

5 GRAMVÄRJÄYS

5.1 Bakteerivärjäyksen käyttö päivystyslaboratoriossa

Gramvärjäysmenetelmää käytetään päivittäin päivystyslaboratoriossa nopeaan bakteereiden osoittamiseen bakteerivärjäys (-BaktVr) -pyynnöllä. Päivystyslaboratoriossa tutkitaan päivystyspoliklinikalta ja mm. röntgenistä sekä leikkaussaleista tulevia punktionestenäytteitä. Päivystysaikaan tutkitaan ainoastaan likvorin bakteerivärjäykset sekä leikkaussalista ja röntgenistä kiireellisenä tulevat näytteet. Leikkauksista ja röntgenistä tulevien näytteiden vastauksia odotetaan pikaisesti. Muiden punktionesteiden bakteerivärjäykset tutkitaan seuraavana päivänä.

5.2 Menetelmän periaate ja tulkinta

Kerromme kirjallisessa materiaalissa värjäysmenetelmän periaatteesta ja suorituksesta, värjäyksen arvioinnista ja tulkintaan vaikuttavista tekijöistä sekä tarpeellisesta laaduntarkkailusta. Gramvärjäyksen menetelmän ja vaiheiden ymmärtäminen on tärkeää lasien arvioinnin ja tulosten luotettavuuden kannalta. Työntekijöiden tulee osata suorittaa värjäys oikein ja tuntea värjäystulokseen vaikuttavat tekijät, jotta tuloksen oikea tulkinta mahdollistuu.

Gramvärjäys on kehitetty 1800-luvulla, ja se on osoittautunut hyödylliseksi tavaksi luokitella bakteereja ja vakiintunut bakteeridiagnostiikan käytetyimmäksi värjäysmenetelmäksi. Värjäysmenetelmän erottelukyky perustuu grampositiivisten ja gramnegatiivisten bakteerien soluseinämien eroihin. (Liimatainen 2000: 126.) Värjäyksessä grampositiiviset bakteerit näkyvät tumman sinivioletteina ja gramnegatiiviset bakteerit punaisina. Grampositiiviset bakteerit voivat joskus värjäytyä osittain punaisiksi. (Engelkirk – Duben-Engelkirk 2008: 192.) Hiiva näkyy gramvärjäyksessä grampositiivisena (HUSLAB 2005).

Gramvärjäyksessä valmiste värjätään ensin käyttäen kristalliviolettia, joka tunkeutuu kaikkien bakteerien soluseinän läpi värjäten ne sinivioleteiksi. Seuraavaksi väri kiinnitetään jodi-kaliumjodidiliuoksella. Tämän jälkeen valmiste huuhdellaan asetoni-etanolilla, jolloin väri poistuu gramnegatiivisista bakteereista. Gramnegatiiviset bakteerit saadaan näkyviin kun valmiste jälkivärjätään vastavärillä, safraniinilla. (HUSLAB 2005.) Grampositiiviset bakteerit säilyttävät violetin värin, koska muodostuneet kristallivioletti-jodi-kompleksit eivät pääse solusta pois paksun peptidoglykaanikerroksen takia. Mitä paksumpi peptidoglykaanikerros soluseinässä on, sitä tiukemmin väri sitoutuu bakteeriin. Gramnegatiivisista bakteereista väri huuhtoutuu pois, koska bakteerin soluseinässä on vain muutama kerros peptidoglykaania. Lisäksi huuhtelussa käytettävä asetoni-etanoli liuottaa bakteerin ulkomembraanin lipidejä, jolloin kristallivioletti-jodi-kompleksit huuhtoutuvat pois helpommin. Solut, joilla ei ole soluseinää, kuten mykoplasmat, värjäytyvät gramnegatiivisesti. (Engelkirk - Duben-Engelkirk 2008: 192.)

Gramvärjäyksen tulkintaa voivat vaikeuttaa monet tekijät. Bakteerien värjäytyvyyteen vaikuttavat mm. preparaatin tekotapa, kiinnitysmenetelmä ja reagenssit, esimerkiksi liian paksu valmiste voi olla hankala tulkita. Näytteen tulkintaa voivat vaikeuttaa myös mekaaninen käsittely ja antibioottihoito, jotka vaurioittavat bakteereja ja saavat grampositiiviset bakteerit värjäytymään gramnegatiivisesti. Antimikrobilääkitys voi muuttaa myös bakteerien morfologiaa. Lisäksi väärät värjäysajat, vanhentuneet, liian laimeat tai vahvat väriliuokset sekä puutteelliset tai liian pitkät huuhtelut voivat aiheuttaa bakteerien epätyypillisen värjäytymisen. (HUSLAB 2005; Liimatainen 2000: 128.)

6 MIKROBILÖYDÖKSET

6.1 Löydösten vastaaminen

Gramvärjäyksen avulla päivystyslaboratoriossa tunnistetaan punktionestenäytteistä grampositiiviset ja -negatiiviset bakteerit, niiden muoto ja ryhmittäytyminen sekä arvioidaan niiden määrät semikvantitatiivisesti (+, ++, +++). Värjäyksen avulla voidaan tunnistaa näytteistä myös sieniä, jotka värjäytyvät grampositiivisesti. Kerromme kirjallisessa materiaalissa bakteerien ja sienten rakenteesta ja taudinaiheuttamiskyvystä sekä käymme esimerkkikuvien avulla läpi grampositiivisia ja -negatiivisia bakteereja ja sieniä. Päivystyslaboratorion työntekijöiden täytyy tietää mikrobien rakenteesta, erityisesti bakteerien soluseinän eroista, koska gramvärjäytyvyys määräytyy näiden erojen pohjalta. Esimerkkikuvissa on käyty läpi bakteerien erilaiset värjäytyvyydet, muodot ja ryhmittymiset sekä muutama esimerkki sienistä. Kaikista kuvien mikrobeista on kerrottu lisäksi tarkemmin.

6.2 Bakteerit

Bakteerit ovat suhteellisen yksinkertaisia yksisoluisia organismeja. Bakteerisolut koostuvat DNA:sta, RNA:sta, proteiineista, lipideistä ja hiilihydraateista kuten muutkin solut. Bakteerisolujen sytoplasmassa tapahtuvat lähes kaikki solun kasvu-, aineenvaihdunta- ja replikaatioreaktiot. Bakteereilla ei ole tumakalvoa, ja niiden genomi muodostuu yhdestä tai useammasta yleensä rengasmaisesta DNA-molekyylistä. Lisäksi bakteerisolussa voi olla erillisiä plasmideja. Bakteereilla on kuitenkin aina solukalvo. (Vaara – Skurnik – Sarvas 2003: 51–56.)

Lähes kaikilla bakteereilla on solukalvon ulkopuolella soluseinä, jonka rakenne on vain bakteereille ominainen ja siten poikkeaa kasvien ja sienten soluseinästä. Soluseinä antaa bakteerisolulle sen ominaisen muodon, kuten kokkibakteereille pallomaisen muodon ja sauvabakteereille sauvamaisen muodon. Soluseinän rakenteen perusteella bakteerit jaetaan gramnegatiivisiin ja grampositiivisiin bakteereihin. Molempien soluseinässä on peptidoglykaania, grampositiivisilla paksu ja gramnegatiivisilla ohut kerros, mutta gramnegatiivisilla bakteereilla on tämän ulkopuolella lisäksi ulkomembraani. (Vaara ym. 2003: 58.) Monilla grampositiivisilla ja -negatiivisilla bakteereilla on uloimpana kerroksena hydrofiilinen kapseli. Kapselittomat bakteerit elävät usein iholla ja limakalvolla ja aiheuttavat vain pinnallisia infektioita. Sen sijaan bakteerien

kapselimuodot voivat aiheuttaa vakavia yleisinfektioita. (Vaara ym. 2003: 66–67.) Eräät grampositiiviset sauvat voivat muodostaa sisäänsä kuivuutta, lämpöä, säteilyä ja kemiallisia myrkkyjä kestävän itiömuodon epäedullisissa oloissa (Vaara ym. 2003: 69). Bakteerit lisääntyvät suvuttomasti jakautumalla (Vaara ym. 2003: 56).

6.3 Sienet

Sienet ovat eukaryoottisia, yksi- tai monisoluisia organismeja. Kliinisesti merkittävät sienet jaetaan hiiva- ja rihmasieniin. Hiivat ovat yksisoluisia ja lisääntyvät tekemällä kylkeensä uuden solun. Tytärsolu voi irrota emosolusta tai jäädä kiinni emosoluun ja jatkaa jakautumistaan. Tällöin ketjuuntuneiden solujen rakenne voi muistuttaa rihmarakennetta. Rihmasienet taas ovat monisoluisia ja muodostavat haarautuvia rihmoja kasvaessaan. Useat sienet, jotka aiheuttavat infektioita, voivat kasvaa elinympäristönsä olosuhteiden mukaan joko hiivamaisena tai rihmamaisena. (Kokki – Kuusela – Richardson 2003: 288–290.)

Sienet voivat aiheuttaa pinnallisia, ihonalaisia tai systeemisiä infektioita. Pinnallisilla infektioilla tarkoitetaan ihon, kynsien, hiusten ja limakalvojen infektioita. Ihonalaisilla sieni-infektioilla tarkoitetaan verinahan, ihonalaisen kudoksen tai luiden infektioita. Tavallisimmin ihonalaisinfektiot syntyvät vamman seurauksena ja ovat paikallisia. Systeemiset infektiot alkavat yleensä keuhkoista, mutta voivat levitä myös muihin kehon osiin. Systeemisiä infektioita aiheuttavat sienet voidaan jakaa todellisiin patogeeneihin ja opportunisteihin. Todelliset patogeenit voivat aiheuttaa infektioita terveilläkin henkilöillä, kun taas opportunistit aiheuttavat niitä vain immuunipuolustukseltaan heikentyneille henkilöille. (Kokki ym. 2003: 288–290.)

7 TYÖSKENTELYPROSESSI

7.1 Aikataulu ja työnjako

Opinnäytetyöprosessi alkoi tammikuussa opinnäytetyön idean työstämisellä (TAULUKKO 1.) ja valmis ideapaperi palautettiin helmikuussa. Ideaseminaarin jälkeen aloitimme tiedonhaun ja suunnitelman kirjoittamisen. Tiedonhaku ja suunnitelman kirjoittaminen jatkui toukokuun alkuun asti, jolloin suunnitelma palautettiin. Kirjallisen

materiaalin kirjoittaminen käynnistyi helmikuussa, ja saimme sen pääpiirteittäin valmiiksi kesään mennessä. Täydensimme kirjallista materiaalia koko kesän ajan kun työn ja gramvärjäyslasien sisältö tarkentui työn edetessä.

Haimme tutkimusluvan huhtikuussa ja se hyväksyttiin toukokuun alussa. Vakiosopimus työmme toteutuksesta solmittiin Helsingin ammattikorkeakoulu Stadian bioanalytiikan koulutusohjelman ja HUSLABin, Kliinisen kemian ja hematologian, Meilahden sairaalan päivystyslaboratorion sekä Kliinisen mikrobiologian vastuualueen bakteriologian osaston välillä. Vakiosopimus on siirretty sellaisenaan Metropolia Ammattikorkeakoululle 1.8.2008 alkaen.

Tutustuimme harjoittelussa bakteriologian osastolla touko–kesäkuun vaihteessa opinnäytetyössä tarvittaviin laitteisiin ja välineisiin. Harjoittelun jälkeen jäimme töihin työpisteeseen, jossa tutkitaan myös punktionestenäytteitä. Valmistimme perehdytysmateriaalin gramvärjäyslaseja kesällä töiden ohella aina kun bakteriologian laboratorioon tuli sopiva positiivinen näyte. Teimme loput tarvittavat lasit kesän lopussa laittamalla negatiivisiin punktionestenäytteisiin erilaisia bakteereita ja sieniä. Lasien lopullinen kuvaaminen mahdollistui vasta syyskuun alussa kameraongelmien vuoksi. Harjoituksia aloimme työstää vasta tämän jälkeen, kun kaikki lasit oli kuvattu. Kirjoitimme prosessikuvausta koko opinnäytetyöprosessin ajan. Viimeiset viikot ennen opinnäytetyön palautusta varasimme työn viimeistelyyn ja mahdollisiin viime hetken ongelmiin. Valmiin opinnäytetyön palautamme viimeistään 21.10.2008. Esitämme työn opinnäytetyöseminaarissa koululla sekä päivystyslaboratorion ja bakteriologian osaston henkilökunnalle. Opinnäytetyö jää päivystyslaboratorion käyttöön, ja koululle tulee työn raportista kopio sekä sähköisenä että paperiversiona.

TAULUKKO 1. Aikataulu.

kk	Ideointi-vaihe	Suunnitteluvaihe ja tiedonhaku	Kirjallinen materiaali	Harjoittelu	Gramvärjäyslasien valmistus ja kuvaaminen	Dia-esitys	Viimeistely-vaihe
Tammikuu							
Helmikuu							
Maaliskuu							
Huhtikuu							
Toukokuu							
Kesäkuu							
Heinäkuu							
Elokuu							
Syyskuu							
Lokakuu							

Kirjoitimme ideapaperin, suunnitelman ja prosessikuvauksen sekä teimme tiedonhaun yhdessä. Perehdytysmateriaalin kirjallisen osuuden kirjoittamista jaoimme, koska lähdemateriaaleista kirjoittaminen on yksin nopeampaa ja helpompaa. Kävimme kuitenkin tekstit yhdessä läpi ja täydensimme toistemme tekstejä yhtenäisen tyylin saavuttamiseksi. Gramvärjäyslasit valmistimme mahdollisuuksien mukaan vuorotellen tai yhdessä, työn ohella ja työpäivän jälkeen. Lasien kuvaamisen ja interaktiiviset harjoitukset teimme yhdessä.

7.2 Kirjallinen materiaali

Kirjallinen materiaali valmistui pääpiirteissään kevään aikana, mutta tarkensimme sitä vielä kesän aikana, kun saimme gramvärjäyslaseja valmiiksi ja meille selvisi, mitkä bakteerit ovat edustettuina niissä. Materiaalissa on tietoa punktionesteistä, bakteereista ja sienistä sekä gramvärjäyksestä. Punktionesteistä käymme läpi niiden esiintymistä eri sairauksissa ja nesteistä löydettyjä taudinaiheuttajia. Kirjallisessa osassa on myös tietoa erimuotoisista, grampositiivisista ja gramnegatiivisista bakteereista sekä niiden rakenteesta. Kerromme lyhyesti laseissa esiintyvistä bakteerilajeista ja havainnollistamme niitä laseista otettujen kuvien avulla. Kerromme yleisesti myös sienistä ja niiden rakenteesta sekä tarkemmin laseissa esiintyvistä sienilajeista. Työssä käsittelemme myös gramvärjäystä ja eri mikrobien värjäytyvyyttä. Pohdimme laadukkaiden lasien kriteerejä, niiden arviointia ja värjäyksen tulkintaan vaikuttavia tekijöitä sekä laaduntarkkailuun liittyviä asioita. Mikrobiologi Eveliina Tarkka tarkisti

tekstin asiasisällön oikeellisuuden. Kirjallisen materiaalin liitteenä on lista mikroskopoitavien gramvärjäyslasien löydöksistä kuvineen.

Kirjallisen materiaalin lopullinen muotoilu osoittautui hankalaksi, koska oli vaikea päättää, miten työ olisi lukijalle parhaiten jaksotettu ja tärkeimmät asiat oikein korostettu. Jaoimme aihealueet selkeiksi kokonaisuuksiksi ja erotimme ne toisistaan oikean laidan erivärisillä viivoilla. Tämän avulla lukijan on helpompi löytää ja erottaa asiakokonaisuudet toisistaan. Lukemisen helpottamiseksi päätimme jättää pois tekstiviitteet, koska myös ohjaajat ehdottivat tätä. Olemme käyttäneet materiaalissa melko suuria värikuvia, jotka elävöittävät tekstiä. Kuvien muokkaaminen työhön sopiviksi ja havainnollistavien kuvien valinta oli aikaa vievää. Olisi ollut hyödyllistä saada enemmän palautetta työn muotoilusta, jotta olisimme voineet muokata sitä työntekijöiden mielipiteiden mukaan.

7.3 Gramvärjäyslasien valmistus

Tavoitteenamme oli käyttää gramvärjäslasien valmistuksessa pääsääntöisesti bakteeriviljelyssä positiivisia punktionestenäytteitä ja tehdä tarpeen mukaan laseja laittamalla negatiivisiin näytteisiin mikrobeja ATCC-kannoista (American Type Culture Collection), jos emme saa tarpeeksi positiivisia näytteitä tai näytteet eivät ole tarpeeksi monipuolisia löydöksiltään. Tavoitteena oli saada laseihin mahdollisimman paljon erilaisia bakteereita (gramnegatiivisia ja -positiivisia kokkeja ja sauvoja) ja sieniä (*C. albicans* ja *C. neoformans*). Laseissa tuli olla myös harvinaisempia löydöksiä, vähäisiä bakteerimääriä, muodoltaan muuttuneita bakteereita ja harvinaisempia sieniä.

Aloitimme näytteiden keräämisen kesäkuun alussa laittamalla jokaiseen työpisteeseen, jossa käsitellään punktionestenäytteitä, tiedotteen näytteiden keräämisestä. Tämän lisäksi muistutimme lähes viikoittain osastokokouksessa keräyksestämme. Kävimme kuitenkin itse työpisteiden positiiviset bakteeriviljelytulokset läpi muutaman kerran viikossa, koska näytteitä ei juurikaan toimitettu meille annettujen ohjeiden mukaisesti. Keräsimme näytteitä yhteensä kymmenen viikkoa. Teimme gramvärjäyslasit aina, kun löysimme tuloksista bakteeriviljelyssä positiivisen punktionestenäytteen. Kun löysimme työjonosta positiivisen näytteen, oli bakteeriviljely vastattu jo alustavana ja näyte oli silloin vähintään muutaman päivän vanha. Tällaisissa näytteissä leukosyytit ovat saattaneet jo hajota. Käytimme kuitenkin tällaisiakin näytteitä, koska muita vaihtoehtoja ei ollut.

Jokaisesta näytteestä, jota oli riittävästi, teimme kaksi lasia, ja yhteensä laseja kertyi noin 70 kappaletta. Punktionestenäytteitä tuli laboratorioon enemmänkin, mutta osa niistä oli otettu tikkunäytteinä tai veriviljelypulloihin, joten emme voineet hyödyntää niitä. Teimme laseja vain näytteistä, jotka oli otettu lisäaineettomiin putkiin tai Portagerm-geelianaerobipulloihin. Pyrimme tekemään lasit bakteerivärjäysputkesta, koska usein punktionestenäytteitä tuli kahdessa putkessa, joista toinen oli bakteeriviljelyä ja toinen bakteerivärjäystä varten. Näin näytettä jäi vielä jäljelle mahdollisia lisätutkimuksia varten. Tarvitsimme kuitenkin näytettä vain pienen määrän, joten säilytimme loput näytteestä varmuuden vuoksi.

Löydettyämme positiivisen näytteen haimme näytenumerolla mahdolliset antibioottilääkitykset ja bakteeriviljelyvastauksen ja kirjasimme ne ylös. Tämän jälkeen korvasimme näytenumeron omalla juoksevalla numeroinnillamme, esim. Likvor 1, 2, 3, 4 jne. Emme käyttäneet todellista näytenumeroa tämän jälkeen. Numeroinnin jälkeen valmistimme lasit päivystyslaboratoriossa olevien sytosentrifuugivalmiste ja bakteerivärjäys -menetelmäohjeiden mukaisesti. Likvornäytteistä teimme sytosentrifuugivalmisteet parasitologian osaston sytosentrifuugilla ja muista punktionestenäytteistä teimme lasit sakasta bakteriologian osastolla. Kaikkien gramvärjäyslasien valmistukseen käytimme samoja sytosentrifuugilaseja, joissa näytepaikat oli merkitty valmiiksi. Merkattu näytepaikka helpottaa näytteen löytämistä mikroskopoitaessa. Päivystyslaboratorio hankki työtämme varten sytosentrifuugilasit, peitinlasit, Permount-liiman sekä lasien säilytyskotelon. Gramvärit kustansi bakteriologian osasto.

7.3.1 Likvor

Likvornäytteistä teimme sytosentrifuugivalmisteet. Kokosimme ensin näytekelkat asettamalla juoksevalla numerolla varustetun objektilasin, suodatinpaperin ja näytekammion vastakkain kelkkaan. Suodatinpaperin reiän, lasin näytepaikan ja näytekammion ulostuloaukon tuli olla kohdakkain. Suodatinpaperin sileä pinta asetettiin lasia vasten. Kelkat asetettiin sytosentrifuugiin ja likvoria pipetoitiin 200 µl näytekammioon. Likvoria sentrifugoitiin 4 minuuttia nopeudella 1400 rpm. Heti sentrifuugin pysähdyttyä näytekelkat otettiin pois ja purettiin varovaisesti, jotta näyte pysyi näytepaikassaan. Lasit ilmakuivattiin. (HYKS-Laboratoriodiagnostiikka 2001.) Teimme kaksi lasia, jos näytettä oli riittävästi, ja vain yhden lasin, mikäli näytettä oli

vähän. Noin puolesta likvornäytteistä teimme vain yhden lasin, koska näytettä ei ollut yli 400 µl eikä sitä olisi riittänyt mahdollisiin lisätutkimuksiin. Sytosentrifuugivalmisteiden tekeminen sujui ongelmitta ja saimme käyttää sytosentrifuugia aina tarvittaessa.

7.3.2 Muut punktiot

Muista punktionesteistä teimme gramvärjäykset sakasta. Näytteitä sentrifugoitiin 15 minuuttia nopeudella 3000 rpm. Sentrifugoimme koko näytemäärän. Pipetoimme supernatantin erilliseen, numeroituun muoviputkeen. Sekoitimme sakan ja levitimme näytettä silmukalla ohueksi kerrokseksi tehdaspuhtaalle objektilasille. Näytemäärä lasilla ei ole vakio, koska laitoimme nesteen paksuudesta riippuen näytettä ohjeen mukaan joko 1 µl:n tai 10 µl:n silmukalla tai tipan pasteurpipetillä. Paksuissa näytteissä käytimme 1 µl:n silmukkaa ja hyvin kirkkaissa näytteissä joko 10 µl:n silmukkaa tai pasteurpipettiä. (HUSLAB 2005.) Osa näytteistä oli otettu Portagerm-anaerobipulloihin, jolloin emme voineet sentrifugoida näytettä, vaan otimme näytettä suoraan pullosta silmukalla tai pipetillä. Emme tienneet, että näytteitä tulee myös kyseisissä pulloissa, mutta päädyimme ottamaan myös nämä näytteet mukaan positiivisten näytteiden vähyyden vuoksi. Kaikkia näytteitä oli kuitenkin tarpeeksi, että saimme tehtyä jokaisesta kaksi lasia. Paksuista ja limaisista näytteistä olisimme tehneet puristevalmisteet, mutta tällaisia näytteitä ei kesän aikana tullut.

Bakteriologian osastolla käytössä ollut sentrifuugi oli vanha eikä toiminut kunnolla, koska se ei ollut tasapainossa. Silloin kun emme saaneet sentrifuugia toimimaan, käytimme immunologian laboratorion sentrifuugia.

7.3.3 Värjäysprosessi

Sytosentrifuugi- ja sakkavalmisteet värjäsimme bakteriologian osaston Mirastainer-värjäysautomaatilla tasalaatuisen värjäystuloksen saavuttamiseksi. Emme värjänneet laseja käsin, koska tällöin värjäysajat olisivat voineet helposti vaihdella. Kesän alussa niin bakteriologian osastolla kuin päivystyslaboratoriossa käytettävät värit olivat Reagenan Crystal violet 2 %, Lugol solution, Safranin solution ja Aseton-sprii (TAULUKKO 2.). Elokuun puolivälissä bakteriologian osastolla otettiin käyttöön edullisemmat Merckin gramvärit: Gram’s crystal violet solution, Lugol’s solution, Gram’s safranin solution ja Gram’s decolorizing solution (TAULUKKO 3.). Noin

puolet laseistamme on värjätty näillä väreillä. Emme voineet vaikuttaa värien vaihdon ajankohtaan, emmekä ehtineet värjätä kaikkia laseja samoilla väreillä.

Ensin kuivatut näytelasit kiinnitettiin pitämällä niitä metanolissa kaksi minuuttia, jotta mahdolliset leukosyytit säilyisivät paremmin kuin liekkikiinnityksessä, jota käytetään bakteriologian osastolla. Kiinnityksen jälkeen lasit laitettiin värjäysautomaatin värjäyskelkkaan ja käynnistettiin ohjelma. Ensin automaatti upotti lasit kristallivioletti-astiaan, jonka jälkeen se huuhteli ne juoksevalla vedellä. Seuraavaksi automaatti upotti lasit jodi-kaliumjodidiliuokseen, joka kiinnitti kristallivioletin. Tämän jälkeen se huuhteli lasit upottamalla ne asetoni-etanoli-astiaan ja seuraavaksi huuhteli ne juoksevalla vedellä. Sitten automaatti jälkivärjäsi lasit upottamalla ne safraniiniin ja sen jälkeen huuhteli jälleen juoksevalla vedellä. Lopuksi automaatti kuivasi lasit puhaltimella. Puhdistimme värjättyjen lasien alapuolet ja hiospäät alkoholilla. Viimeistelimme lasit kiinnittämällä peitinlasit näytteiden suojaksi Permount-liimalla. Mikrobiologi Eveliina Tarkka tarkasti perehdytysmateriaaliin valitsemamme gramvärjäyslasit, jotta bakteerien määrät ja löydökset täsmäävät omiin tietoihimme.

TAULUKKO 2. Gramvärjäys Reagenan väreillä.

GRAMVÄRJÄYS Reagenan väreillä		
1.	Crystal violet	1,5 min
2.	Vesihuuhtelu	0,5 min
3.	Lugol	1,5 min
4.	Aseton-sprii	0,5 min
5.	Vesihuuhtelu	0,5 min
6.	Safranin	0,5 min
7.	Vesihuuhtelu	1 min
8.	Kuivaus	2 min

TAULUKKO 3. Gramvärjäys Merckin väreillä ja uusilla värjäysajoilla.

GRAMVÄRJÄYS Merckin väreillä		
1.	Crystal violet	**1 min**
2.	Vesihuuhtelu	0,5 min
3.	Lugol	**1 min**
4.	Decolorizing sol.	0,5 min
5.	Vesihuuhtelu	0,5 min
6.	Safranin	0,5 min
7.	Vesihuuhtelu	1 min
8.	Kuivaus	2 min

Reagenan väreillä värjäystulos oli hyvä ja bakteerit värjäytyivät niille tyypillisellä tavalla. Värien vaihtuessa värjäysajat pidettiin samoina, mutta käytössä ei ollut vielä Merckin asetoni-etanolia (Gram’s decolorizing solution), jolloin käytettiin Reagenan

Aseton-sprii -liuosta väliaikaisesti. Värjäsimme tällöin osan laseista. Emme odottaneet tämän vaikuttavan värjäystulokseen mitenkään, koska värjäysautomaattia käytettiin päivittäin myös veriviljelynäytteille. Kuitenkin kun mikroskopoimme laseja, huomasimme aikaisempaa selkeästi enemmän väriartefaktaa ja bakteerit värjäytyivät haaleasti tai eivät ollenkaan. Lähes kaikki tällä kertaa värjäämämme lasit olivat käyttökelvottomia ja jouduimme tekemään uusia. Myös veriviljelytyöpisteessä oli huomattu aikaisempaa huonompi värjäystulos, jonka jälkeen värjäysautomaattiin muutettiin värjäysaikoja ja vesihuuhtelun volyymia lisättiin. Seuraavalla kerralla värjäystulos oli huomattavasti parempi, kun käytössä oli myös Merckin Decolorizing solution. Noin puolet perehdytysmateriaaliin valituista laseista on värjätty Reagenan ja puolet Merckin väreillä, mutta emme ole huomanneet suuria eroja värjäystuloksissa.

7.3.4 Kontrollikannoista tehdyt näytteet

Elokuun alussa valitsimme alustavasti positiivisista potilasnäytteistä tehdyistä laseista ne, joita aioimme käyttää perehdytysmateriaalissa. Monipuolisuuden lisäämiseksi päätimme tehdä lisää likvor-, ascites-, pericardium- ja pleuralaseja laittamalla negatiivisiin näytteisiin haluamiamme mikrobeja. Nivelnesteistä olimme saaneet jo riittävän monipuolisia ja hyvin niveltulehduksen löydöksiä vastaavia laseja, joten päätimme olla tekemättä lisää niitä.

Käytimme lasien tekemiseen ATCC-kontrollikannan (American Type Culture Collection) mikrobeja. Bakteriologian osastolla on maljoille viljeltyinä ATCC-kantoja, joissa on edustettuina aerobeja, anaerobeja, gramnegatiivisia, grampositiivisia, kokkeja ja sauvoja. Valitsimme kannoista työhömme sopivia bakteereita, joita ei ollut saamissamme positiivisissa potilasnäytteissä.

Etsimme negatiiviset punktionestenäytteet bakteriologian osaston työjonoista. Kaikkia muita näytteitä löytyikin useita, mutta pericardiumnesteitä löysimme vain yhden. Teimme ensin kaikki tarvittavat neljä lasia tästä negatiivisesta pericardiumista, mutta näistä laseista kolme meni pilalle värien vaihdosta johtuvista syistä. Keskusteltuamme mikrobiologi Eveliina Tarkan ja laboratoriohoitaja Ulla Tuulos-Kontion kanssa tulimme siihen tulokseen, että emme voi odottaa enää uusia pericardiumnäytteitä, vaan päätimme tehdä loput lasit pleuranesteestä. Pystyimme käyttämään pleuranestettä pericardiumin sijaan, koska näytteessä ei ollut epiteelisoluja, joista olisi voinut päätellä nesteen

alkuperän. Likvor-, ascites- ja pleuranäytteitä löysimme riittävästi, jotta pystyimme tekemään haluamamme määrän laseja.

Teimme lasit laittamalla negatiivisiin näytteisiin haluamamme määrän valmiiksi maljalle viljeltyjä mikrobeja, osaan enemmän ja osaan hieman vähemmän, saadaksemme näytteisiin eri määriä (+, ++, +++) mikrobia. Tämän jälkeen sekoitimme näytteet huolellisesti. Likvorlasit teimme positiivisten potilasnäytteiden tapaan sytosentrifuugilla. Muista punktionestenäytteistä teimme lasit laittamalla sentrifugoimatonta näytettä 1 µl:n silmukalla kahdelle lasille. Näytteitä ei sentrifugoitu, koska katsoimme näytteissä olevan tarpeeksi mikrobia, jotta se nähdään lasilla. Jos näytteet olisi sentrifugoitu, olisi mikrobeja saattanut olla lasilla liian paksusti. Kiinnitimme ja värjäsimme lasit muiden näytteiden tavoin.

7.3.5 Lasien valinta

Valitsimme kaikista laseista lopulta 20 kappaletta, joita käytämme perehdytysmateriaalissa. Ensin valitsimme näytteet niiden löydösten ja määrän perusteella ja sen jälkeen kahdesta lasista toisen, ulkonäön ja näytteen paksuuden perusteella, jos näytteestä oli tehty kaksi lasia.

Likvorlaseja teimme yhteensä yhdeksästä näytteestä, joista positiivisia potilasnäytteitä oli seitsemän ja kaksi negatiivisia näytteitä, joihin olimme lisänneet mikrobia kontrollikannoista. Valitsimme likvorlaseista aidoista potilasnäytteistä kolme parasta lasia ja kontrollikannoista tehdyistä näytteistä valitsimme yhden, jossa on löydöksenä *Neisseria meningitidis* (Likvor 4). Valitsimme juuri tämän löydöksen, koska se on yleinen bakteerimeningiitin aiheuttaja ja lisäksi lasien ainoa gramnegatiivinen kokkibakteeri. Saimme laseihin myös *Cryptococcus neoformansin* (Likvor 1), jonka päivystyslaboratorion henkilökunta toivoi olevan edustettuna laseissa.

Asciteslaseja teimme yhteensä seitsemän. Kuusi oli positiivisia potilasnäytteitä, ja yhden teimme negatiiviseen näytteeseen. Laitoimme negatiiviseen näytteeseen *Clostridium perfringensiä* (Ascites 4), koska se on lasien ainoa grampositiivinen sauva. Lisäksi päivystyslaboratorion henkilökunta toivoi kyseistä löydöstä perehdytysmateriaaliin, koska se voi aiheuttaa vaarallista kaasukuoliota ja henkilökunnan tulee epäillä tämän tilan mahdollisuutta. Muut asciteslasit valittiin löydösten monipuolisuuden perusteella.

Bakteeriviljelyssä positiivisia pericardiumnäytteitä ei tullut koko kesän aikana bakteriologian osastolle, joten otimme käyttöön kaikki kolme negatiiviseen pleuranesteeseen ja yhden negatiiviseen pericardiumiin tehdyn lasin. Valitsimme laseille löydökset, jotka ovat mahdollisia märkäisessä sydänpussin tulehduksessa, eli *Streptococcus pyogenes* (Pericardium 1), *Staphylococcus aureus* (Pericardium 2), *Streptococcus pneumoniae* (Pericardium 3) ja *Candida albicans* (Pericardium 4). Perehdytysmateriaaliin oli hyvä saada myös sienilöydöksiä bakteerien lisäksi, joten valitsimme hiivoista yleisimmän taudinaiheuttajan, *C. albicansin.*

Pleuranäytteistä teimme laseja yhteensä 11 kappaletta, joista todellisia positiivisia potilasnäytteitä oli kahdeksan ja kolme oli tehty negatiiviseen näytteeseen. Muutama positiivisista näytteistä osoittautui lopulta negatiiviseksi ja bakteeriviljelyssä havaittu kasvu oli ollut kontaminaatiota. Osassa positiivisista näytteistä oli niin niukasti bakteeria, ettemme löytäneet niitä lasilta ja emmekä siksi käyttäneet niitä. Lopulta valitsimme vain yhden positiivisen pleuranäytteen (Pleura 1). Valitsimme lisäksi kolme mahdollista pneumonian taudinaiheuttajaa laseille, eli *Streptococcus pneumoniae* (Pleura 2), *Haemophilus influenzae* (Pleura 3) ja koagulaasinegatiivinen stafylokokki (Pleura 4).

Nivelnesteestä teimme laseja yhdeksän kappaletta, joista kaikki olivat positiivisia potilasnäytteitä. Valitsimme niistä löydökseltä ja bakteerin määrältä vaihtelevia laseja. Emme tehneet yhtään lasia kontrollikantojen mikrobeista, koska olimme tyytyväisiä laseihin ja niissä oleviin löydöksiin.

7.3.6 Lasien tarroitus ja kuvaaminen

Valittuamme lopulliset lasit perehdytysmateriaaliin, laitoimme ne haluamaamme järjestykseen niin, etteivät samanlaiset löydökset olisi peräkkäin ja sen jälkeen tarroitimme ne. Tulostimme sopivat tarrat HUSLABin Elatusaineyksikön tarratulostimella. Alun perin tarkoituksenamme oli kirjoituttaa lasit etukäteen Leica-lasinkirjoittimella, mutta työhömme valitut näytepaikalla varustetut lasit, jotka sopivat sytosentrifuugiin, eivät sopineet lasinkirjoittimeen. Olemme kuitenkin tyytyväisiä tarroihin ja lasien ulkonäköön.

Käytimme lasien kuvaamiseen bakteriologian osaston Leica-fluoresenssimikroskooppia, johon oli liitetty Leica DFC480 -kamera. Kamera taas oli liitetty tietokoneeseen, jossa

oli Leica Application Suite -kuvausohjelma. Otimme kuvat käyttämällä 100x öljyimmersio-objektiivia. Kamera oli päivittäin käytössä, joten saimme käyttää sitä iltaisin työajan jälkeen. Ohjeet kameran käyttöön olivat huonot ja puutteelliset, mutta onneksi ohjelma oli helppokäyttöinen eikä kuvien tallentamisessa ollut ongelmia.

Kuvasimme osan gramvärjäyslaseista jo elokuun alussa, mutta huomasimme, että jokaisessa kuvassa oli samoissa kohdissa mustia pilkkuja, jotka häiritsivät selkeästi kuvien löydösten tulkintaa. Otimme yhteyttä ensin bakteriologian osaston mikroskooppivastaavaan, joka puhdisti mikroskoopin, mutta ei kameran linssejä. Tämä puhdistus ei poistanut häiritseviä pilkkuja. Tämän jälkeen yritimme selvittää, kuka osaisi huoltaa kameraa, mutta bakteriologian osastolta ei tällaista henkilöä löytynyt. Saimme kuitenkin tietää, että immunologian osastolla olisi henkilö, joka voisi mahdollisesti yrittää huoltaa kameraa, mutta hän oli lomalla kyseisenä aikana. Hänen palattuaan lomalta pyysimme häntä katsomaan kameraa, mutta tarvittavien työkalujen puuttuessa, hän ei saanut avattua sitä. Lopulta löysimme itse sopivat työkalut kameran avaamiseen, ja hän sai puhdistettua kameran linssit. Kokonaisuudessaan tämä vei aikaa lähes neljä viikkoa. Puhdistuksen jälkeen kuvassa näkyi enää yksi pilkku, jonka ei katsottu häiritsevän löydösten tulkintaa. Otimme kaikista valituista laseista keskimäärin viisi kuvaa eri kohdista. Käytimme kuvia interaktiivisissa harjoituksissa ja kirjallisessa materiaalissa. Kirjallisen materiaalin liitteeksi teimme myös yhteenvedon lasien löydöksistä kuvineen.

7.4 Interaktiiviset harjoitukset

Harjoitusten toteuttamiseen käytimme Microsoft Power Point -ohjelmaa. Rakensimme harjoitukset gramvärjäyslaseista otettujen kuvien ympärille tekemällä eri vaikeusasteisia monivalintakysymyksiä. Ennen harjoitusten kokoamista opettelimme käyttämään ohjelmaa ja kokeilimme, mitä kaikkea ohjelmalla on mahdollista tehdä.

Kysymyksiä on kaiken kaikkiaan 17, jotka käsittelevät bakteerien värjäytyvyyttä, ryhmittymistä, määrää ja sienten tunnistamista. Jokaista kysymystä varten olemme tehneet yhteensä neljä diaa: kysymysdia, oikein ja väärin vastausdiat sekä informaatiodian. Harjoitukset avautuvat suoraan esitysmuodossa, jolloin dioja ei pääse muokkaamaan tai esikatselemaan. Ensimmäiseksi perehtyjä lukee ohjeet, joissa pyydetään etenemään esityksessä ainoastaan painamalla hiiren vasemmalla painikkeella haluttua vastausvaihtoehtoa tai info- tai seuraava kysymys -painiketta. Esityksen tausta

ja näppäimistön nuolinäppäimet ovat lukittu, joten vastaaja ei pysty etenemään niitä käyttäen. Kysymysdioissa on 3–4 vastausvaihtoehtoa, joista vastaaja valitsee haluamansa. Vastauksen mukaan esitys etenee joko oikea tai väärä vastaus -diaan. Vastausdiasta vastaaja etenee informaatiodiaan, jossa perustellaan vastaus ja kerrotaan näytteen laatu sekä löydös. Perustelut vastaukselle ovat yksiselitteisiä niin, ettei löydös jää vastaajalle epäselväksi.

Kysymykset harjoittavat kaikkia niitä osa-alueita, joita päivystyslaboratorion henkilökunnan tulee hallita vastatakseen gramvärjäyksen tuloksia. Työntekijät vastaavat bakteerien määrän semikvantitatiivisesti (+, ++, +++), muodon (sauvoja, kokkeja), värjäytyvyyden (grampositiivinen, gramnegatiivinen) ja ryhmittymisen (diplo-, ketju- ja ryhmäkokki), mikäli ne ovat selvästi nähtävissä. Mahdollisista sienistä vastataan vain määrä.

Värjäytyvyyteen liittyvissä kysymyksissä olemme käyttäneet kuvia, joissa on sekä grampositiivisia että gramnegatiivisia bakteereita ja lisäksi sellaisia bakteereita, joissa värjäytyvyys on epätavallista, esimerkiksi *C. perfringens*, joka värjäytyy tyypillisesti grampositiivisesti ja -negatiivisesti. Bakteerien muotoa olemme kysyneet yhdessä värjäytyvyyden kanssa. Ryhmittymiskysymyksissä olemme käyttäneet kuvia diplo-, ketju- ja ryhmäkokeista, jotka ovat vaikeusasteeltaan eritasoisia. Määräkysymyksissä vastaajan tulee arvioida bakteerien määrät päivystyslaboratoriossa olevien ohjeiden mukaisesti. Lisäksi harjoituksissa tulee erottaa sienet, esim. hiiva, bakteereista ja artefaktasta. Kuvissa on myös bakteereita, joiden muoto on muuntunut antibioottihoidon vaikutuksesta.

Muotoilimme esityksen samalla tyylillä kuin kirjallisen materiaalin, esim. tekstien fontti ja kannen kuva ovat samoja. Kaikki esityksen tekstit ovat mustalla tai valkoisella fontilla, riippuen taustakuvasta. Mustavalkoinen teema jatkuu läpi esityksen, koska taustakuvat ovat jo valmiiksi värikkäitä ja värillinen fontti voisi tehdä siitä sekavan. Tallensimme harjoitukset CD-levylle ja teimme Nero Cover Design -ohjelmalla sille kansilehdet. CD-levyn päälle tulostimme tarran iCD CoolBeLa4 -ohjelmalla. Suojasimme harjoitukset salasanalla, joten esitystä ei pääse muokkaamaan.

7.5 Perehdytysmateriaalin arviointi

Kirjallinen materiaalimme onnistui erityisesti asiasisällöltään hyvin, mutta sen muotoiluun olisimme voineet panostaa vielä enemmän. Materiaalin sisältö on kuitenkin tärkeämpi kuin muotoilu, joten käytimme enemmän aikaa sen kokoamiseen. Hankalinta meille oli rajata materiaaliin sisällytettävä tieto ja erottaa työn kannalta olennainen kaikesta mielenkiintoisesta tiedosta. Kirjallisessa materiaalissa olemme huomioineet hyvän tekstin tuottamisesta oppimiamme asioita. Teksti on helposti luettavaa, mutta se on kirjoitettu alan ammattilaisille eli emme ole avanneet alan yleisiä termejä. Jaoimme materiaalin selkeiksi asiakokonaisuuksiksi, jotka etenevät johdonmukaisesti. Tekstiä on myös elävöitetty väreillä ja kuvilla. Materiaalin lopputulos on mielestämme hyvä ja tavoitteet täyttävä.

Gramvärjäyslasit olisivat voineet olla todellisempia, esim. leukosyyttien määrältä, jos olisimme saaneet enemmän positiivisia näytteitä. Tällöin olisimme voineet valita positiivisista näytteistä työhömme parhaiten sopivat löydökset. Tiesimme kuitenkin jo prosessin alussa, ettemme voi vaikuttaa siihen, kuinka paljon näytteitä tulee ja millaisia löydöksiä niissä on. Näytteiden keräys olisi myös voinut sujua paremmin, mutta teimme mielestämme kaiken voitavan näytteiden saamisen eteen. Keräysajan pidentäminen ei olisi luultavasti auttanut asiaa, koska emme olisi voineet itse olla bakteriologian osastolla pidempään huolehtimassa keräyksestä. Saimme lasien löydöksistä kuitenkin lopulta monipuolisia, kun teimme osan laseista negatiivisiin näytteisiin. Myös kaikki päivystyslaboratorion henkilökunnan toivomat mikrobit ovat edustettuina laseissa.

Laseja tehdessämme havaitsimme käytännössä sen, kuinka eri määriä näytettä lähetetään laboratorioon ja miten lasit valmistetaan käyttämällä erilaisia silmukoita (1 µl tai 10 µl) tai pipettiä. Pohdimme tällöin, onko bakteerien määrien arviointi luotettavaa tai millään lailla mielekästä. Päivystyslaboratoriossa onkin pohdittu jo pitkään bakteerien määrän semikvantitatiivisen arvioinnin poistamista, koska näytteen konsentrointi ja määrä lasilla eivät ole vakioituja. Olemmekin sitä mieltä lasien valmistamisen jälkeen, että määrän vastaaminen bakteerivärjäyksestä kannattaisi poistaa ja vastata vain, onko näytteessä bakteeria vai ei, koska steriilin alueen näytteestä on merkittävää löytää yksikin bakteeri.

Saimme tehtyä harjoitukset odotettua nopeammassa aikataulussa ja kuvien valinta sekä niihin sopivien kysymysten laatiminen oli yllättävän helppoa. Kysymykset ovat

käyttäjää aktivoivia ja lisäksi vaativuudeltaan eritasoisia. Kuvat olivat tarkkoja ja hyvälaatuisia, emmekä joutuneet parantelemaan niitä kuvankäsittelyohjelmilla. Harjoitukset täyttivät mielestämme niille asetetut tavoitteet, ja olemme tyytyväisiä lopulliseen esityksen ulkomuotoon ja sisältöön. Koekäytimme harjoituksia ohjaajillamme, päivystyslaboratoriossa ja bakteriologian osastolla. Ohjaajiemme mielestä esitys oli onnistunut, kysymyksiä oli sopivasti ja ne olivat sopivan haastavia.

8 POHDINTA

Teimme opinnäytetyönä kolmiosaisen punktionesteiden gramvärjäysten perehdytysmateriaalin, jota tullaan käyttämään päivystyslaboratoriossa perehdyttämisen apuna. Prosessia varten tekemämme aikataulu piti hyvin, ja saimme tehtyä kaikki perehdytysmateriaalin osat riittävän ajoissa niin, että koko työn viimeistelyyn jäi hyvin aikaa. Raportin ja laadukkaan tekstin kirjoittaminen osoittautui kuitenkin aikaa vieväksi. Ongelmaksi muodostui se, että yritimme heti kirjoittaa valmista tekstiä. Emme osanneet kirjoittaa asioita ensin ylös ja muokata tekstiä vasta sen jälkeen. Olemme yrittäneet arvioida tuottamaamme tekstiä kriittisesti ja muokata sitä parhaamme mukaan. Yhteistyömme on onneksi toiminut hyvin, ja olemme molemmat tehneet oman osamme ja sitoutuneet työn valmiiksi saattamiseen. Mikrobiologinen tietämyksemme on lisääntynyt huomattavasti työn edetessä ja oppimisesta, perehdyttämisestä sekä tekstin tuottamisesta olemme oppineet myös paljon. Tietotekninen osaamisemme on myös parantunut huomattavasti, ja osaamme nyt aikatauluttaa ja arvioida eri työvaiheisiin kuluvaa aikaa paremmin.

Kehittämistehtävämme kysely, joka loi pohjan koko opinnäytetyöllemme, olisi voinut palvella työtämme paremmin, jos olisimme osanneet kysyä oikeanlasia kysymyksiä. Kyselyssä selvinneet asiat, jotka ovat palvelleet perehdytysmateriaalin tekoa, liittyivät lähinnä lasien määrään ja monipuolisuuteen sekä oppimisvälineisiin. Tarkempia kysymyksiä emme osanneet tuolloin bakteereista tai gramvärjäyksestä esittää, koska mikrobiologiset opintomme eivät olleet vielä alkaneet ja käsityksemme gramvärjäyksen arvioinnista olivat hyvin puutteellista. Paremman kyselyn tekemiseen olisi vaadittu enemmän tietoa mikrobiologian alueelta.

Kehittämistehtävästä saimme selville, että sopiva lasien määrä oli 20 kappaletta. Pohdimme kuitenkin, että olisimme voineet tehdä kaikki lasit näytteen laadusta välittämättä, koska punktionesteet eivät eroa toisistaan mikroskooppisesti, ellei näytteissä ole epiteelisoluja. Me emme nähneet yhdessäkään näytteessämme epiteelisoluja. Toisaalta eri punktionesteissä on eri taudinaiheuttajia, joten tekemämme lasit antavat perehtyjälle käsityksen eri nesteille tyypillisistä mikrobeista. Olisimme voineet järjestää myös näytteiden keräyksen toisin, mutta se olisi vaatinut pidempää suunnittelua ja toimenpiteitä myös muilta, esim. bakteriologian osaston näytteiden vastaanotolta. Emme arvanneet, että näytteiden keräämisestä muodostuisi näin suurta ongelmaa, joten emme prosessin alussa osanneet organisoida sitä paremmin.

Koko perehdytysmateriaalin olisi voinut koekäyttää päivystyslaboratorion henkilökunnalla, mutta opinnäytteeseen varattu aika ei olisi riittänyt siihen. Työelämän kannalta testikäyttö olisi todennäköisesti ollut hyödyllistä, koska materiaalia olisi voitu vielä muuttaa saadun palautteen perusteella. Materiaalin kannalta olisi ollut hyödyllisintä testata sitä uudella työntekijällä, jolla ei vielä olisi muuta kokemusta punktionesteistä tai gramvärjäyksestä kuin opintojen kautta saatu tieto. Olisi kuitenkin ollut hyvin epätodennäköistä, että päivystyslaboratorioon olisi palkattu uusi työntekijä sopivaan aikaan työmme kannalta. Olisi ollut myös tärkeää saada enemmän palautetta työelämäohjaajiltamme koko materiaalin käytettävyydestä. Muiden näkemysten puuttuessa olemme tehneet työn pitkälti omien mielipiteidemme mukaan.

Kaiken kaikkiaan olemme kuitenkin tyytyväisiä opinnäytteemme lopputulokseen ja uskomme, että perehdytysmateriaalia tullaan hyödyntämään päivystyslaboratoriossa. Emme kuitenkaan pysty vaikuttamaan siihen, kuinka paljon materiaalia tullaan käyttämään työelämässä. Työ on kuitenkin jo herättänyt kiinnostusta myös päivystyslaboratorion ulkopuolella ja sen hankinta saattaisi kiinnostaa muitakin tahoja. Voisi olla mielenkiintoista nähdä myöhemmin, esimerkiksi kehittämistehtävän tuloksena, kuinka laajasti materiaalia on käytetty ja onko se täyttänyt sille asetetut tavoitteet monipuolisena perehdytysmateriaalina.

LÄHTEET

Bjålie, Jan – Haug, Egil – Sand, Olav – Sjaastad, Øystein – Toverud, Kari 2005: Ihminen – Fysiologia ja anatomia. Meditrans Oy (suom.). 1.–2. painos. WSOY.

Engelkirk, Paul – Duben-Engelkirk, Janet 2008: Laboratory diagnosis of infectious diseases: essentials of diagnostic microbiology. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.

Frisk, Tarja (toim.) 2005: Ohjaaminen työssä. 3. painos. Helsinki: Educa-Instituutti Oy.

HUSLAB 2005: Bakteerivärjäys. Kliinisen kemian ja hematologian vastuualue. Meilahden sairaalan poliklinikan laboratorio. Meilahden sairaalan päivystyslaboratorio. Menetelmäohje. 8.8.2005.

HYKS-Laboratoriodiagnostiikka 2001: Sytosentrifuugin käyttö ja valmisteen tekeminen. Meilahden sairaala, päivystyslaboratorio. Kliinisen kemian vastuualue. Menetelmäohje. 25.1.2001.

Iisa, Katariina – Kankaanpää, Salli – Piehl, Aino 1998: Tekstintekijän käsikirja. 2. painos. Espoo: Yrityskirjat Oy.

Karttunen, Tuomo 2005: Tulehdusreaktio. Teoksessa Karttunen, Tuomo – Soini, Ylermi – Vuopala, Katri 2005: Tautioppi. Helsinki: Edita Prima Oy. 177–200.

Kauppila, Reijo 2003: Opi ja opeta tehokkaasti. Juva: WS Bookwell Oy.

Koivuniemi, Ari – Stenbäck, Frej 1994: Muut irtosolututkimukset. Teoksessa Koivuniemi, Ari (toim.) 1994: Kliininen sytologia: Irtosolu- harjairtosolu- ja ohutneulabiobsiatutkimukset. Forssa: Kandidaattikustannus Oy. 337–344.

Kokki, Maarit – Kuusela, Pentti – Richardson, Malcom 2003: Johdanto mykologiaan. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.) 2003: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 288–290.

Korppi, Matti – Koivula, Irma – Jokinen, Camilla 2005: Alahengitystieinfektiot. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.) 2005: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 374–388.

Kresic, Perka 1999: Use of interactive technology in the classroom. Clinical laboratory science. Verkkodokumentti. <http://findarticles.com/p/articles/mi_qa3890/is_199901/ai_n8851283/pg_1>. Luettu 2.5.2008.

Laine, Anne – Ruishalme, Outi – Salervo, Pirjo – Siven, Tuula – Välimäki, Päivi 2002: Opi- ja ohjaa sosiaali- ja terveysalalla. 1.–2. painos. Porvoo: WSOY.

Launes, Jyrki 2001: Hermoston infektiot. Teoksessa Soinila, Seppo – Kaste, Markku – Launes, Jyrki – Somer, Hannu (toim.) 2001: Neurologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 418–434.

Lehtoranta, P. – Leivo, H. – Haapasalo, S. 2006: Miten ohjaat työssäoppijoita. Kuntoutussäätiö. Koulutusmateriaali. Verkkodokumentti. Päivitetty 21.11.2007. <www.kuntoutussaatio.fi/terttu>. Luettu 15.5.2008.

Liimatainen, Olli 2000: Gramvärjäys. Moodi 4–5/2000 vsk 24. 126–128.

Lindblom-Ylänne, Sari – Nevgi, Anne – Kaivola, Taina 2003: Oppimis- ja tietokäsityksistä opetustapaan. Teoksessa Lindblom-Ylänne, Sari – Nevgi, Anne (toim.) 2003: Yliopisto- ja korkeakouluopettajan käsikirja. 1. painos. Vantaa: WSOY.

Meisalo, Veijo – Sutinen, Erkki – Tarhio, Jorma 2003: Modernit oppimisympäristöt – Tieto- ja viestintätekniikka opetuksen ja opiskelun tukena. 2. uudistettu painos. Pieksämäki: Tietosanoma Oy.

Nyman, Tiina – Valve, Jaana 2007: Punktionesteiden gramvärjäykset – Suunnitelma Meilahden sairaalan päivystyslaboratorion perehdytysmateriaalille. Helsingin ammattikorkeakoulu Stadia. Julkaisematon teos.

Peltola, Heikki – Valtonen, Ville 2005a: Hermoston infektiot. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.) 2005: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 468–483.

Peltola, Heikki – Valtonen, Ville 2005b: Luiden, lihasten ja nivelten infektiot. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.) 2005: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 484–501.

Pettersson, Tom – Riska, Henrik 2007: Keuhkopussin nestekertymä – pleurapunktio. Lääkärin käsikirja. Verkkodokumentti. Päivitetty 11.4.2007. <http://www.terveysportti.fi/ltk/ltk.koti>. Luettu 13.3.2008.

Pikkarainen, Pekka 1993: Askiteksen hoito. Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Verkkodokumentti. <http://www.terveysportti.fi/ltk/ltk.koti>. Luettu 13.3.2008.

Ruohotie, Pekka 1998: Motivaatio, tahto ja oppiminen. Helsinki: Oy Edita Ab.

Rytkönen, Maria 2004: Pleuriitti. Oulun yliopisto. Sisätautien klinikka. Verkkodokumentti. <http://cc.oulu.fi/~sisawww/esit/041028.htm>. Luettu 7.3.2008.

Silander, Pasi – Koli, Hanne 2003: Verkko-opetuksen työkalupakki – oppimisaihiosta oppimisprosessiin. Saarijärvi: Oy Finn Lectura Ab.

Suonperä, Matti 1992: Opettamiskäsitys: oppijakeskeisen opettamiskäsityksen perusaineksia. Hämeenlinna: Educons Oy.

Taskinen, Eero 1994: Pleura- ja askitesnesteen tutkimukset. Teoksessa Koivuniemi, Ari (toim.): Kliininen sytologia – Irtosolu-, harjairtosolu- ja ohutneulabiopsiatutkimukset. Forssa: Kandidaattikustannus Oy. 297–318.

TYKSLAB 2008: Nivelnestetutkimukset. Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiri. Tutkimusohjekirja. Verkkodokumentti. Päivitetty 4.3.2008. <http://ohjekirja.tykslab.fi/liitteet/Nivelnestetutkimukset.html>. Luettu 7.3.2008.

Tynjälä, Päivi 1999: Oppiminen tiedon rakentamisena – Konstruktivistisen oppimiskäsityksen perusteita. Helsinki: Kirjayhtymä Oy.

Uusikylä, Kari – Atjonen, Päivi 2007: Didaktiikan perusteet. 3.–4. painos. Helsinki: WSOY.

Vaara, Martti – Sarvas, Matti – Mäkelä, Pirjo 1993: Diagnostisen bakteriologian menetelmiä. Teoksessa Mäkelä, Olli – Tiilikainen, Anja S. – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville 1993: Lääketieteellinen mikrobiologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 162–167.

Vaara, Martti – Skurnik, Mikael – Sarvas, Matti 2003: Bakteerisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.) 2003: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 51–75.

Valtonen, Ville 2005: Sydämen, välikarsinan ja verisuoniston infektiot. Teoksessa Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville (toim.) 2005: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja II. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 389–402.

Wilkman, Clara 1992: Märkäinen sydänpussin tulehdus. Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Verkkodokumentti. <http://www.terveysportti.fi/ltk/ltk.koti>. Luettu 13.3.2008.