

Opinnäytetyö

Bioanalyttikko (AMK)

2018

Heidi Kaukkila

Proteesinäytteen bakteeriviljely sonikointimenetelmällä

– opetusvideo Satadiagin kliinisen mikrobiologian laboratorion henkilökunnalle



PROTEESINÄYTTEEN BAKTEERIVILJELY SONIKOINTIMENETELMÄLLÄ | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Bioanalyttikko

2018 | 23 sivua

Heidi Kaukkila

PROTEESINÄYTTEEN BAKTEERIVILJELY SONIKOINTIMENETELMÄLLÄ

Suomessa tehdään vuosittain yli 20 000 tekonivelleikkausta. Onnistuessaan leikkaus parantaa potilaan elämänlaatua merkittävästi, mutta joskus leikattu nivel voi tulehtua. Tekonivelinfektiossa vierasesineen pinnalle saattaa muodostua biofilmi, joka on bakteereja suojaava rakenne. Mikäli biofilmissä kasvavien bakteerien lajia ei perinteisillä bakteeriviljelyn menetelmillä pystytä määrittämään voidaan poistettu nivel käsitellä sonikointimenetelmällä eli ultraäänipuhdistusmenetelmällä infektion aiheuttajan selvittämiseksi.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä työn kulkua kuvaava opetusvideo bakteeriviljelystä sonikointimenetelmällä. Opetusvideo on tarkoitettu laboratorion henkilökunnan käyttöön. Kyseisen menetelmän vaativia näytteitä tulee laboratorioon harvoin ja opetusvideon avulla työntekijöiden on helppo kerrata työmenetelmä vaihe vaiheelta. Opinnäytetyön tavoitteena on parantaa laboratoriohoitajien osaamista sekä yhtenäistää toimintatapoja.

Hyvä opetusvideo huomioi kohderyhmänsä ja on lisäksi loogisesti etenevä ja selkeä. Videolla kuvattiin työn suoritus vaihe vaiheelta. Videolle ei liitetty ääntä vaan ohjeet olivat lyhyinä teksteinä kuvauksen yhteydessä. Näin mahdollinen taustahälinä ei vaikeuta videon katsomista. Tämän opinnäytetyön tuotoksena syntyi noin kuusi minuuttia pitkä video, joka oli saadun palautteen perusteella tavoitteiden mukainen, selkeä ja havainnollinen.

ASIASANAT:

Tekonivelinfektio, biofilmi, opetusvideo

BACHELOR'S / MASTER'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme

2018 | 23 pages

Heidi Kaukkila

BACTERIAL CULTURE OF PROSTHETIC-JOINT SAMPLE USING SONICATION

- Educational video for biomedical laboratory scientists of clinical microbiological laboratory of Satadiag

There are over 20,000 prosthetic-joint surgery made in Finland annually. If successful, the surgery will significantly improve the patient's quality of life, but sometimes the joint which is operate may become inflamed. Biofilm, which is a bacterial protective structure, may be formed on the surface of the foreign substance in the infection of the foreign material. If the type of bacteria growing in the biofilm cannot be determined by conventional methods of bacterial culture, the removed joint can be treated by the sonication method, i.e. the ultrasonic purification method to determine the source of the infection.

The purpose of this thesis was to make the educational video of bacterial cultivation a sonic method describing the work flow. The educational video is intended for use by laboratory staff. This kind of samples rarely takes place in the laboratory, and it is easy for the biomedical laboratory scientist to repeat the working method step by step through the video tutorial. The aim of the thesis is to improve the skills of biomedical laboratory scientists and to harmonize operating methods.

Good educational video takes into account of the target group and is also logical and clear. In the video work flow filmed in step by step. There was no sound attached to the video, but the instructions were short texts in the description. This way the potential background noise does not make it difficult to watch the video. Output of this study was about six minutes long video. By received feedback the video was line with the objectives, clear and intuitive.

KEYWORDS:

biofilms, arthosis, audiovisual aids

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	5
2 OPINNÄYTETYÖN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT	6
2.1 Tekonivelinfektio	6
2.2 Biofilmi	8
2.3 Sonikaatio	9
2.4 Opetusvideo	10
3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSTEHTÄVÄ	12
4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS	13
4.1 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	13
4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	13
4.3 Opinnäytetyön toteutus	14
4.4 Tuotoksen kuvaus	14
5 POHDINTA	19
6 LÄHTEET	21

1 JOHDANTO

Nivelrikko on yleinen sairaus, jonka yhtenä hoitomuotona käytetään tekonivelleikkausta. Onnistuessaan tekonivelleikkaus parantaa selvästi potilaan elämänlaatua. (Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri 2016; Huotari & Leskinen 2016.) Ong ym. (2009) tutkimuksen mukaan lonkan nivelproteesileikkaus johtaa infektiioon 1,63 % tapauksista kahden vuoden kuluessa leikkauksesta ja 0,59 % tapauksissa 2-10 vuoden kuluessa. Tekonivelinfektiossa vierasesineen pintaan saattaa muodostua biofilmi, joka antaa suojaa mikrobeille (Huotari & Leskinen 2016).

Biofilmi on mikrobien muodostama rakenne, joka antaa suojaa immuunijärjestelmää ja mikrobilääkkeitä vastaan. Diagnoisitaessa infektiota tavanomainen bakteeriviljely saattaa jäädä biofilmirakenteen vuoksi virheellisesti negatiiviseksi. Sonikaatio on menetelmä, jossa ultraäänen avulla saadaan proteesin pinnasta irrotettua biofilmin muodostaneet bakteerit. (Tapaninen ym. 2010.)

Opinnäytetyön aihe on lähtöisin Satadiagin kliinisen mikrobiologian laboratorion osastolta. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tehdä opetusvideo sonikaatiosta laboratoriohoitajien käyttöön. Video on tarkoitettu kertaukseksi työntekijöille, jotka tekevät proteesinäytteiden bakteeriviljelyä sonikointimenetelmällä. Työssä keskitytään sonikaation suorittamiseen, sillä kyseisen menetelmän vaativia näytteitä tulee verrattain harvoin. Tällöin työntekijöiden on helppo kerrata työmenetelmä vaihe vaiheelta opetusvideon avulla. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on opetusvideon avulla parantaa laboratoriohoitajien osaamista sekä yhtenäistää toimintatapoja.

2 OPINNÄYTETYÖN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT

2.1 Tekonivelinfektio

Maailman yleisin nivelsairaus on nivelrikko, jolle on tyypillistä rustopinnan vaurioituminen, mutta muutoksia voi esiintyä lisäksi luussa ja nivelkapselissa (Pohjolainen 2016). Nivelrikkoa pyritään ensisijaisesti hoitamaan muun muassa kipulääkkeillä ja fysioterapialla, mutta jos näistä ei ole apua voidaan päätyä tekonivelleikkaukseen (Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri 2016).

Fortin ym. (1999) tutkivat tekonivelleikkauksen vaikutusta toimintakykyyn. Heidän mukaansa huonompi toimintakyky ennen leikkausta ennusti myös huonompaa toimintakykyä leikkauksen jälkeen. Tutkimus tehtiin kyselytutkimuksena kuusi kuukautta tekonivelleikkauksen jälkeen Bostonissa ja Montrealissa.

Terveiden ja hyvinvoinninlaitoksen ylläpitämästä FAR (Finnish Arthroplasty Register) rekisteristä käy ilmi, että lonkan ja polven tekonivelleikkaukset ovat yleistyneet selvästi. Esimerkiksi polven tekonivelleikkauksia on 2010-luvulla tehty vuosittain noin 10 kertaa enemmän kuin 1980-luvulla. Vuonna 2016 tekonivelen primaarileikkauksia tehtiin Suomessa yli 20 000, uusintaleikkauksia tehtiin vajaa 3 000. Polven uusintaleikkauksia tehtiin noin puolet vähemmän kuin lonkan uusintaleikkauksia, vaikka primaarileikkauksia tehtiin polviin enemmän. (ENDOnet 2016.)

Onnistuessaan tekonivelleikkaus parantaa selvästi potilaan elämänlaatua vähentämällä kipuja sekä kohentamalla toimintakykyä. Yksi vakavammista tekonivelleikkauksen komplikaatioista on tekonivelinfektio. Vierasesineen, tässä tapauksessa tekonivelen, pintaan muodostuu helposti biofilmi, jonka sisällä bakteerit ovat suojassa elimistön puolustusjärjestelmältä sekä mikrobilääkkeiltä. Kirurgisen puhdistuksen ja irto-osien vaihdon yhteydessä mikrobilääkehoito kestää yleensä kolme kuukautta. (Huotari & Leskinen 2016.)

Puhdon (2018) väitöstutkimuksessa todetaan, että tekonivelinfektion seurauksena tekonivelleikkauksen sairaalakustannukset yli kolminkertaistuvat. Väitöskirjassa selvitettiin vuosien 2013-2015 Oulun yliopistollisessa sairaalassa tehtyjen tekonivelleikkausten kustannuksia. Tutkimukseen sisältyi 1768 tekonivelleikkausta, joista 42 todettiin infektioksi.

Infektoitumattomien tekonivelleikkauksien sairaalakustannukset olivat 7 200 € keskimäärin ja tekonivelinfektioiden kohdalla summa nousi keskimäärin 25 100 €:on.

Varhainen puhdistusleikkaus yhdessä antibioottihoidon kanssa on havaittu tehokkaaksi keinoksi tekonivelinfektioiden hoidossa. Lisäksi leikkauksen onnistumiseen vaikuttavat potilaan perussairaudet. Sen sijaan infektion aiheuttajabakteerilla ei havaittu olevan merkittävää vaikutusta puhdistusleikkauksen onnistumiseen. (Vuorinen ym. 2013.)

Epäiltäessä tekonivelinfektiota, tavoitteena tulisi olla mahdollisimman nopea ja täsmällinen diagnoosi. Diagnoosi voidaan määrittellä tulehdusparametrien, natiiviröntgenkuvan, ja mikrobinäytteen avulla. Mikrobiologialla on merkitystä sekä hoitolinjan että antibioottilääkityksen valinnan kannalta. Yleensä infektiopäilyissä riittävät tavanomaiset diagnostiset menetelmät, mutta atyyppiset patogeenit sekä kliinisesti vähäoireinen infektio saattavat vaatia erikoistutkimuksia, esimerkiksi ultraäänisonikaatiota. (Päivärinta. 2010.)

Tekonivelinfektiot voidaan luokitella perioperatiiviseen infektiin, myöhäiseen operaatioon liittyvään infektiin ja hematogeeniseen infektiin. **Perioperatiivinen infektio** alkaa kolmen kuukauden sisällä leikkauksesta. Oireina esiintyy kuumetta ja tekonivelen alueen kuumotusta. Aiheuttajabakteerina on yleensä *Stafylococcus aureus*, streptokokki tai enterokokki. **Myöhäinen operaatioon liittyvä infektio** alkaa 3-24 kuukauden kuluessa leikkauksesta. Oireet ovat epäselvemmät kuin edellä; kivut, proteesin irtoaminen tai fistelöityminen. Aiheuttajabakteerina on yleensä koagulaasinegatiivinen stafylokokki tai *Propionibacterium acnes*. **Hematogeeninen infektio** alkaa vasta vuosien kuluttua leikkauksesta. Aiheuttajabakteerina on yleensä *Stafylococcus aureus* tai *Escherichia coli* tai jokin muu virulentti bakteeri. (Mölänen. 2013.)

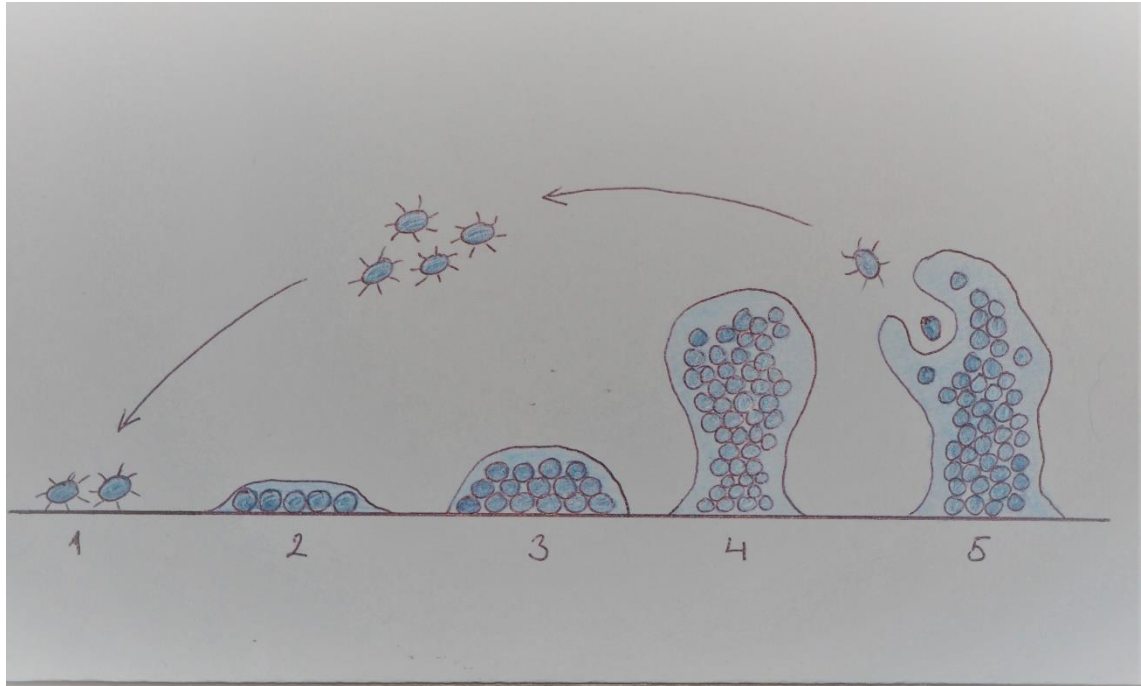
Varhaiset ja viivästyneet infektiot ovat usein saaneet alkunsa jo proteesia asetettaessa, kun taas myöhemmät infektiot ovat usein hematogeenisia, eli bakteerit ovat kulkeutuneet infektoituneelle alueelle veren kautta. Tekonivelinfektioista noin neljännes alkaa hematogeenisesti, loput kolme neljännestä saa alkunsa jo proteesin asettamisleikkauksessa. (Huotari. 2010.)

2.2 Biofilmi

Biofilmi on suljettu mikrobikasvusto, joka voi kiinnittyä erilaisiin pintoihin. Biofilmit edustavat bakteereille merkittävää kasvumallia. Tämä kasvutapa on peräisin miljardien vuosien takaa ja se on välttämätön osa selviytymistä monimuotoisessa ympäristössä. Biofilmin muodostaneet bakteerit ovat suojassa ja pystyvät hyvin elämään vihamielisessä ympäristössä. Biofilmit ovat rakenteeltaan monimutkaisia järjestelmiä, joilla voi olla sekä monisoluisien eliöiden organismeja että monimutkaisia ekosysteemejä. (Hall-Stoodley ym. 2004.)

Useimmat luonnossa esiintyvät bakteerit elävät biofilmissä ja tämä onkin erittäin vastustuskykyinen elämän muoto. Elimistössä vierasesineen pinnalle joutuneet bakteerit pystyvät muodostamaan biofilmin minuuteissa. Biofilmin muodostaneet bakteerit ovat fenotyyplitään resistentimpiä antibiooteille kuin vapaasti liikkuvat planktoniset bakteerit. Bakteereista yleisesti tutkittavat antibioottiherkkyudet ovat peräisin planktonisista bakteereista, ja biofilmissä elävien bakteereiden herkkyys saattaa poiketa näistä. (Mölkänen. 2013.)

Biofilmillä tarkoitetaan rakennetta, jonka bakteerit muodostavat suojakseen. Biofilmin muodostuminen alkaa yksittäisten bakteerien kiinnittymisellä pintaan. Ajan kuluessa bakteerit muodostavat useita kerroksia biofilmiin ja niitä peittää usein solunulkoinen matriksi. (Kuva 1) Rakenne saattaa olla myös hyvin pitkälle järjestäytynyt. Biofilmistä irtoaa ajoittain bakteereita, jotka saattavat saada latentin taudin aktivoitumaan tai edesauttaa taudin puhkeamista. Biofilmirakenteessa bakteerit pystyvät tuottamaan useampia proteiineja kuin yksittäisinä ollessaan. Elimistössä eri bakteerilajit muodostavat usein yhdessä biofilmirakenteen. Bakteerit, jotka ovat muodostaneet biofilmin, saattavat toimia taudinaiheuttajina, vaikka perinteinen bakteeriviljely olisi negatiivinen. Lisäksi biofilmissä elävien bakteerin hävittämiseen tarvitaan monin kertaiset annokset mikrobilääkkeitä irrallisiin bakteereihin verrattuna. (Tapiainen ym. 2010.)



Kuva 1 Biofilmin synty:

1 Mikrobit tarttuvat pinnalle 2 mikrobien pysyvä kiinnittyminen pintaan 3 monisolainen kerroksittainen rakenne, ympärillä solunulkoisen matriksi 4 biofilmin rakenne voi olla monimutkainen, jolloin syntyy sienimäisiä rakenteita ja vesikanavia 5 biofilmistä saattaa irtautua mikrobeja, jotka voivat aiheuttaa infektion (Tapiainen ym. 2010.)

Gbejuade ym. (2015) mukaan Yhdysvalloissa biofilmeistä johtuvien infektioiden hoitoon liittyvät kustannukset nousevat vuosittain 6 miljardiin dollariin eli noin 5,3 miljardiin euroon. Kyseiset infektiot koskettavat yli 12 000 ihmistä.

2.3 Sonikaatio

Bakteerit kasvavat usein proteesin pinnalla biofilmissä, jolloin ne saadaan irrotettua äänienergian avulla, sonikoimalla (Tapiainen ym. 2010). Trampuzin ym. (2007) tutkimuksessa sonikaation todettiin parantavan tutkimuksen herkkyyttä 60,8 %:sta 78,5 %:iin verrattuna perinteiseen bakteeriviljelyyn. Menetelmä paransi tutkimuksen herkkyyttä etenkin potilailla, joilla oli ollut mikrobilääkitys 14 vuorokauden sisällä ennen leikkausta. Näissä tapauksista herkkyys parani 45 %:sta 75 %:iin. Sorli ym. (2012) ovat myös osoittaneet tutkimuksessaan, että sonikaatiota käyttämällä saadaan luotettavampi tulos. Tutkimus tehtiin Barcelonassa, Espanjassa ja siihen osallistui 55 potilasta.

Tekonivelinfektiota epäiltäessä mikrobiologiset näytteet tulisi ottaa ennen kuin mikrobilääkehoitoa aloitetaan, sillä lääkehoito vähentää bakteeriviljelyn herkkyyttä. Lääkehoidon aloitusta ei kuitenkaan voida viivyttää, mikäli potilas on septinen. Lisäksi revisiokirurgiassa käytetään usein lääkehoitoa ennen uusintaleikkausta. Sonikaatiosta saadaan suurin hyöty silloin kun potilas on edeltävästi saanut mikrobilääkehoitoa (Huotari & Leskinen. 2016, Mölkänen. 2013.)

Sonikaatiolla saadaan selville myös sekainfektiot, jota on tekonivelinfektioista noin 30%. Lisäksi sonikaatio nopeuttaa diagnoosin saamista, bakteerikasvua voidaan nähdä jo seuraavana päivänä. (Mölkänen. 2013.)

Sonikaatio on ultraääneen perustuva halpa ja helppokäyttöinen työkalu, jonka on osoitettu parantavan bakteeri-infektion havaitsemista (Gbejuade ym. 2015, Trampuzin ym. 2007). Kun käsiteltävä näyte upotetaan nesteeseen ja lisätään tähän ultraäänivärähtelyä, syntyy miljoonia mikroskooppisia ilmakuplia. Tämän prosessin energia irrottaa biofilmissä eläviä bakteereita. (Gbejuade ym. 2015.)

2.4 Opetusvideo

Hyvä opetusvideo on havainnollinen, mutta ei liian pitkä. Opetusvideon tekemiseen liittyy useita työvaiheita. Työ aloitetaan ennakkosuunnittelulla, jonka tavoitteena on tehdä käsikirjoitus sekä tuotantosuunnitelma. Toisena vaiheena on tuotanto, jolloin videossa tarvittava materiaali kuvataan ja äänitetään. Lopuksi siirrytään jälkikäsittelevävaiheeseen, jolloin video editoidaan, yleensä tietokoneella (Keränen & Penttinen 2007, 198.)

Lopullinen käsikirjoitus on oleellinen tekijä kuvauksen sujuvuuden kannalta. Kun kuvaukset, valaistus, äänitys ja kameran paikka on suunniteltu valmiiksi, itse kuvauksen saa sujumaan jouhevasti. Editointivaiheessa kuvatusta materiaalista tehdään kokonaisuus, tällöin lisätään myös tarvittavat selostukset, äänitehosteet ja grafiikka. (Keränen ym. 2005, 186-193.)

Videota kuvatessa tulisi huolehtia, että käytössä on hyvä kamera sekä jalusta, jolloin saadaan estettyä kuvan heiluminen. Riittävä valon määrä on myös oleellinen tekijä onnistuneessa kuvauksessa. Kuvatessa kameraa tulisi liikuttaa vain vähän ja liikkeiden tulisi olla tasaisia ja rauhallisia. Yksinkertainen tausta sekä pienten yksityiskohtien puuttuminen tekevät videosta selkeän. (Keränen ym. 2005, 193.)

Suunniteltaessa multimediaan ääntä, puhetta ei kirjoiteta luettavaksi vaan puhuttavaksi. Asioiden muistaminen kuullun perusteella on rajallista. joten tärkeimpiä asioita ei ole hyvä jättää pelkän puheen varaan. Samoin vaikeita käsitteitä sekä numeroita on hyvä välttää. Esimerkiksi numerot voivat näkyä ruudulla puheen aikana. (Keränen ym. 2003, 81.)

Stefanovan (2014) mukaan opetusvideo auttaa opiskelijaa muuttamaan teoretietoa käytännön tietämykseksi ”training videos help students to convert information into knowledge” eli opetusvideo tukee teoretiedon syventymistä käytännön tiedon ymmärtämiseen.

Hakkarainen & Kumpulainen (2011) kertovat Schwartz & Hartman (2007) mukaillen, että liikkuvan kuvan käyttö oppimisessa mahdollistaa näkemisen ensisijaiseksi oppimisen ulottuvuudeksi. Videota voidaan käyttää kohteen tutuksi tulemiseen ja sen avulla voidaan tukea muistamista.

3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSTEHTÄVÄ

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tehdä laadukas opetusvideo bakteeriviljelystä sonikaatiomenetelmällä laboratorion henkilökunnan käyttöön. Tarkoituksena on, että video kuvaa työn kulkua mahdollisimman selkeästi ja havainnollisesti. Työssä keskitytään sonikaation suorittamiseen, sillä kyseisen menetelmän vaativia näytteitä tulee verrattain harvoin. Tällöin työntekijöiden on helppo kerrata työmenetelmä vaihe vaiheelta opetusvideon avulla. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on opetusvideon avulla parantaa laboratoriohoitajien osaamista sekä yhtenäistää toimintatapoja

4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

4.1 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Tieteellisen tutkimuksen hyväksyttävyyden ja luotettavuuden edellytyksenä on tutkimuksen suorittaminen hyvän tieteellisen käytännön edellyttämällä tavalla. Tämä tarkoittaa, että tutkimuksessa tulee noudattaa rehellisyyttä, huolellisuutta ja tarkkuutta sekä tutkimustyössä että tulosten tallentamisessa ja esittämisessä. Lisäksi muiden tutkijoiden työ tulee huomioida muun muassa asian mukaisilla lähdeviitteillä. Hyvään tieteelliseen käytäntöön ei myöskään kuulu piittaamattomuus ja vilppi, joka kattaa sepittämisen, havaintojen vääristelyn, plagioinnin ja anastamisen. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012.)

Tämä opinnäytetyö tehtiin hyviä tieteellisiä käytäntöjä noudattaen eli sen tekemisessä noudatettiin rehellisyyttä ja huolellisuutta kaikissa vaiheissa. Tälle opinnäytetyölle haettiin tutkimuslupa Satakunnan sairaanhoitopiiriltä ja tehtiin toimeksiantosopimus.

Tämän opinnäytetyön aihe on tärkeä sillä mikrobiologian laboratoriossa jokaisen hoitajan tulisi pystyä tekemään sonikaatio. Kyseisiä näytteitä tulee kuitenkin verrattain vähän, jolloin selvää rutiinia ei pääse syntymään. Opetusvideon avulla työntekijät pystyvät kertamaan sonikaation suorituksen ennen varsinaiseen työhön ryhtymistä.

4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Opinnäytetyötyypit voidaan jakaa kahteen toisistaan eroavaan osaan; toiminnalliseen ja tutkimukselliseen. Toiminnallisella opinnäytetyöllä pyritään ohjeistamaan, opastamaan tai järjestämään tai järjeistämään toimintaa. Tuotoksena voi olla esimerkiksi ohje tai opas. Toki tuotoksena voi olla myös jonkin tapahtuman järjestäminen. Toiminnallisessa opinnäytetyössä tarkoituksena on yhdistää teoretieto käytäntöön, joten työssä tarvitaan myös selvityksen tekemistä. (Vilkkä & Airaksinen. 2003.9-10,41.)

Toiminnallisen opinnäytetyön raportoinnissa on tarkoitus selvittää mitä, miksi ja miten työ on tehty sekä millaisia tuloksia ja johtopäätöksiä on syntynyt. Lisäksi raportista tulee ilmetä työn tekijän arvio omasta oppimisprosessista ja onnistumisesta. Toiminnalliseen opinnäytetyöhön liittyvä tuotoksessa puhutellaan sen käyttäjäryhmää, kun taas

raportissa keskitytään kuvaamaan työn tekoon liittyvää prosessia. (Vilkkä & Airaksinen. 2003,65.)

Tämä opinnäytetyö on toiminnallinen, koska tuotoksena syntyy opetusvideo laboratoriohoitajille proteesinäytteen bakteeriviljelystä sonikointimenetelmällä.

4.3 Opinnäytetyön toteutus

Opinnäytetyön aihe saatiin Satadiagin mikrobiologian laboratoriolta syventävän harjoittelun aikana. Aiheena sonikaatio vaikutti mielenkiintoiselta, tosin videon kuvaaminen ja muokkaus mietitytti, sillä minulle ei ennestään ollut juurikaan kokemusta videokuvaamisesta ja editoinnista.

Tämän opinnäytetyön teoriaosuuden kirjoittaminen aloitettiin keväällä 2018 ja sitä jatkettiin vielä syksyllä. Opinnäytetyön tekemiselle laadittiin toimeksiantosopimus ja haettiin tutkimuslupaa syyskuussa 2018. Käsikirjoitus syntyi lokakuun aikana ja materiaalia opetusvideota varten kuvattiin marraskuussa 2018. Heti tämän jälkeen aloitettiin videon editointi.

Editointiohjelmaksi valittiin ilmainen Shotcut-ohjelma. Ennen valintapäätöstä vertailtiin internetistä ladattavia ilmaisia editointiohjelmiä ja luettiin niiden arvosteluja. Jyväskyläläisen Kilpisen yhtenäiskoulun peda.net sivuilta löytyi selkeä opetusvideo Shotcut-ohjelman käytöstä, ja tämän avulla harjoiteltiin editointia jo ennen kuvausta.

Opetusvideon käsikirjoitus tehtiin Satakunnan sairaanhoitopiirin kliinisen mikrobiologian laboratorion laatiman Proteesinäytteiden bakteeriviljely sonikointimenetelmällä -työohjeen perusteella. Koska työ oli prosessikuvaus, käsikirjoituksessa pyrittiin seuraamaan tarkasti menetelmän työohjetta. Opinnäytetyön tuotoksena syntyneessä videossa käydään läpi proteesinäytteen sonikointi vaihe vaiheelta.

4.4 Tuotoksen kuvaus

Video kuvattiin Porissa Satadiagin kliinisen mikrobiologian laboratorion tiloissa. Työvälineet ja tilat olivat samoja, joissa sonikoitavat potilasnäytteet käsitellään. Poikkeuksena tunnistus ja herkkyys työpisteen biosuojakaapin sijasta käytössä oli asiakaspalvelu työpisteen biosuojakaappi, joka on tilavampi kuvauksen kannalta. Työssä ei käytetty aitoa

potilasnäytettä tietoturva syiden vuoksi. Sonikoitavaksi harjoitusnäytteeksi valikoitui golfpallo. (Kuva 2.) Näytteenkäsittelyn tekijäksi pyydettiin bioanalyttikkoa klinisen mikrobiologian laboratoriosta.



Kuva 2. Sonikoitava golfpallo säilötölkissä

Video alkaa välineiden esittelyllä, jonka jälkeen aloitettiin näytteen käsittely. Näyte tulee usein miten leikkaussalista muovipurkissa, jollaista tässäkin työssä käytettiin. Astiaan lisättiin 400 ml keittosuolaliuosta, joka mitattiin steriilillä autoklavoidulla 600 ml dekantterilasilla. Koska nesteestä tehdään kvantitatiivinen viljely, lisättävä nestemäärä on tarkka, jotta vastausvaiheessa pystytään vastaamaan bakteerien esiintyvyyksiheys (yksikkönä cfu/10ml, cfu=colony forming unit, pesäkkeen muodostava yksikkö) (Manninen 2017). Näyteastian kansi suljettiin huolellisesti ja purkkia vorteksoitiin ja sekoitettiin huolellisesti.

Seuraavassa vaiheessa aloitettiin sonikaatio. (Kuva 3.) Aluksi valmisteltiin sonikaattori käyttövalmiiksi, eli kiinnitettiin virtajohto ja varmistettiin, että pohjan vedenpoisto hana on suljettuna. Lopuksi sonikaattoriin lisättiin vettä ja viimeisenä näyteastia. Varmistettiin vielä, että sonikoitava näyte on veden pinnan alapuolella ja suljettiin kansi. Sonikaattorin etuseinän valintakiekoista varmistettiin vielä, että lämpötilan ja ajan valintakiekot ovat

oikeassa asennossa eli 0 °C ja 5 min. Sonikaattoriin laitettiin virta päälle ja käynnistettiin ohjelma. Ohjelma päättyi itsestään, kun valittu aika oli kulunut.



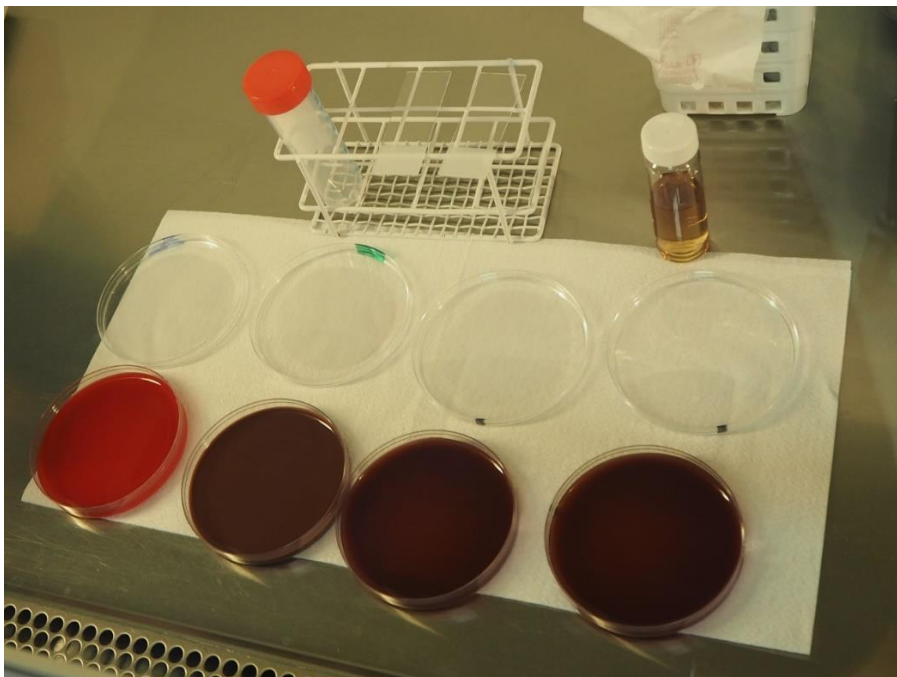
Kuva 3. Sonikaattori

Ohjelman loputtua kansi avattiin ja näyteastia nostettiin vedestä. Astia kuivattiin puhdistusliinalla ja vietiin viljelypisteen biosuojakaappiin. Näyteastian sekä 50 ml punakorkkisen putken ulkopinnat suihkutettiin ja pyyhittiin 80% etanolilla. Näiden annettiin kuivua rauhassa biosuojakaapissa. Tässä vaiheessa vaihdettiin käsiin. seuraavaksi näyteastiaa sekoitettiin ja vorteksoitiin hyvin. Näyteastiasta siirrettiin 50 ml nestettä punakorkkiseen putkeen pipetoimalla 5 ml ilmamäntäpipetillä 10 kertaa. Tätä putkea sentrifugoitiin mykobakteeriviljelyhuoneen sentrifuugilla 5 min, 3150 g. Putki tuotiin jälleen viljelypisteen biosuojakaappiin, jossa supernatantti kaadettiin jätepulloon. (Kuva 4) Putkeen pyrittiin jättämään 600 µl nestettä. Nestemäärä mitattiin pasteuripipetillä, 1 tippa on 50 µl, joten laskettiin, että putkeen jää 12 tippaa nestettä. Koska viljely on kvantitatiivinen, määrän on oltava mahdollisimman tarkka.



Kuva 4. Supernatantti kaadettiin jättepulloon

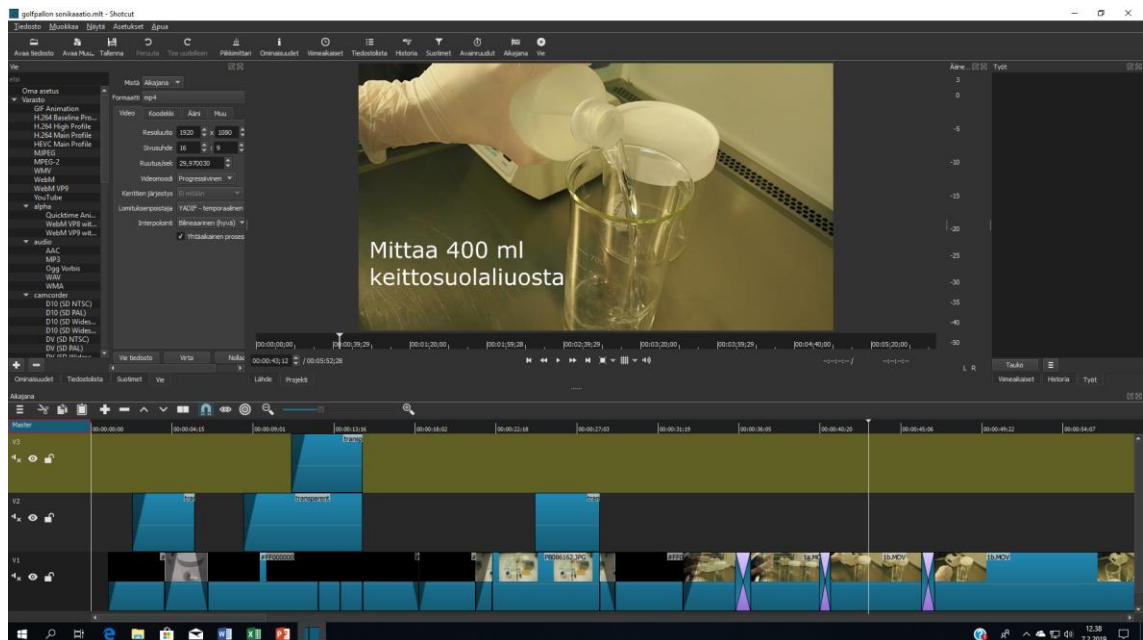
Tämän jälkeen näytettä vorteksoitiin ja viljeltiin maljoille. (Kuva 5) Viljeltäessä näytettä pipetoitiin 100 μ l veri-, suklaa- ja CDC-maljoille sekä vielä toiselle CDC-maljalle, jota kasvatettaisiin 14 vuorokautta. Lisäksi lisättiin 100 μ l näytesuspensiota FAB-putkeen rikastusviljelyä varten sekä kahdelle näytelasille kummallekin tippa näytettä gramvärjäystä varten. Viljelymaljoille tiputetut näytetipat hajotettiin silmukalla normaalisti.



Kuva 5. Viljelymaljat, FAB-putki ja näytelasit

Viimeiseksi tyhjennettiin sonikaattorista vedet ja laitettiin laite odottamaan seuraavaa näytettä. Laitteesta irrotettiin virtajohto ja nostettiin laite lavuaarin reunalle. Takaa avattiin vedenpoistoputken korkki sekä sivussa oleva hana ja valutettiin vesi ulos. Tämän jälkeen allas ja kori kuivattiin sekä suihkutettiin ja pyyhittiin etanolilla.

Kuvauksen jälkeen aloitettiin editointi. Aluksi kuvat ja videot siirrettiin kameran muistikortilta tietokoneelle, jolloin ne käytiin vielä läpi ja valittiin lopulliseen videoon tulevat otokset. Valitut otokset siirrettiin Shotcut-ohjelmaan ja aseteltiin työn etenemisen kannalta oikeaan aikajärjestykseen. (Kuva 6.) Osaa otoksista lyhennettiin ja joihinkin väleihin lisättiin kuvia yksityiskohdista. Otosten vaihtumiskohtaa pehmennettiin muokkaustyökalun avulla, jotta videon katsominen olisi miellyttävämpää.



Kuva 6. Editointiohjelma Shotcut

Editoinnissa kului noin neljä tuntia kerrallaan useampana päivänä. Työ oli mielekästä, mutta hidasta, pientä parantelua olisi voinut tehdä loputtomiin.

Videon valmistuttua sitä testattiin Stadiagin klinisen mikrobiologian laboratorion henkilökunnan kanssa ja kysyttiin samalla parannusehdotuksia. Näiden parannusehdotusten perusteella osaa tekstikohdista pidennettiin, jotta asian sisäistämiseksi jäi enemmän aikaa. Lisäksi korjattiin löytyneitä kirjoitusvirheitä. Saadun palautteen perusteella video etenee selkeästi vaihe vaiheelta. Video tallennetaan sisäiseen verkkoon, jonne on tallennettu muutkin yksikön työohjeet. Tällöin opetusvideo on helposti kaikkien työntekijöiden saatavilla.

5 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä selkeä ja havainnollinen opetusvideo bakteeriviljelystä sonikaatiomenetelmällä mikrobiologian laboratorion henkilökunnan käyttöön. Tavoitteena oli yhtenäistää toimintatapoja ja parantaa laboratoriohoitajien osaamista.

Videosta tuli hieman alle 6 minuuttia pitkä informatiivinen opastus. Saadun palautteen perusteella video onnistui tavoitteiden mukaisesti; siitä tuli loogisesti etenevä selkeä ja havainnollinen kokonaisuus.

Suunniteltu aikataulu hieman venyi, mutta video valmistui silti ajallaan. Yksin työskenteilyn haasteena on motivaation ylläpitäminen. Monesti olisi kaivannut toisen ihmisen mielipidettä, miten joku asia kannattaisi ilmaista. Usein myös jonkun toisen näkökulma voisi selkeyttää pohdintoja. Toisaalta työn yksin tekeminen on kuitenkin mielekästä, kun voi työskennellä omaa tahtiaan ja omalla tavalla. Tämä luo myös haasteita aikataulun pitämisen kannalta, yksin työskennellessä on ehkä liiankin helppo siirtää tehtäviä myöhäisemmäksi. Samoin yksin työskennellessä täysin uuden asian opettelu, kuten tässä videokuvaaminen ja editointi, vaatii hyvää itseluottamusta, joka tuntui varsinkin työn alkuvaiheessa olevan välillä hukassa.

Aihe osoittautui mielenkiintoiseksi, mutta samalla myös haastavaksi. Sonikaatio ei ole kovinkaan laajasti käytössä oleva menetelmä, joten aikaisemmista tutkimuksista ei ollut mitenkään runsaudenpulaa.

Alussa itseäni mietitytti varsinkin editointi, sillä en ollut ennen tehnyt mitään vastaavaa. Videokuvauskin oli melko vierasta itselleni. Työ osoittautui kuitenkin suhteellisen helppoksi, kun aiheeseen hieman syvenyi. Internetistä Kilpisen yhtenäiskoulun peda.net sivuilta löytynyt opetusvideo osoittautui hyvinkin selkeäksi ja auttoi huomattavasti editointiohjelman ymmärtämistä. Koko videon tekoprosessi oli itselleni täysin uutta ja se piti opetella alusta asti. Se vaikutti kuitenkin varsin mielenkiintoiselta ja todennäköisesti tulen vapaa-ajallakin hyödyntämään tässä opittuja taitoja. Shotcut-editointiohjelman käyttö oli myöskin suhteellisen helppoa ja tätä voi suositella muillekin.

Myös työelämässä voi tulevaisuudessa tulla vastaan tilanteita, joissa asia olisi hyvä esittää videon muodossa. Tällöin tämän opinnäytetyön prosessin aikana opituista taidoista voisi olla hyötyä.

Videon suunnitteluvaiheessa pohdin, tuleeko videoon ääntä vai lisätäänkö videoon ohjeet ainoastaan tekstinä. Äänittäminen ja äänen lisääminen videoon olisi vaatinut lisää perehtymistä ja enemmän työtunteja. Yksin työtä tehtäessä päädyin jättämään äänen pois. Työvaiheiden ohjeet ovat kuitenkin lyhyitä eikä videoon tullut liian pitkiä ohjeistuksia kirjoitettuna. Nyt ilman ääntä, videota katsottaessa ei tarvitse miettiä onko käytössä tietokone, johon on liitetty kaiuttimet. Samoin ympäristön äänet eivät vaikuta videon katsomiseen. Opetusvideota todennäköisesti katsotaan suurimmaksi osaksi laboratoriossa työn ohessa, jolloin ympärillä on myös ylimääräistä hälinää.

6 LÄHTEET

Fortin P, Clarke A, Joseph L, Liang M, Tanzer M, Ferland D, Phhillips C, Partridge A, Belisle P, Fossil A, Mahomed N, Sledge C. & Katz J. 1999. 42(8):1722-28 Outcomes of total hip and knee replacement. *Arthritis & Rheumatology*. https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43268889/Fortin_PR_Clarke_AE_Joseph_L_et_al_Outc20160302-28874-chwj82.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAI-WOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1525612045&Signature=Xy1a5vWTx2An2wmofxLgrYELakY%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DOutcomes_of_total_hip_and_knee_replaceme.pdf

Gbejuade O, Lovering A, Webb J. 2015. 86(2): 147–158 The role of microbial biofilms in prosthetic joint infections. *Acta Orthopaedica* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4404764/> (Viitattu 22.10.2018)

Hakkarainen P & Kumpulainen K 2011. Liikkuva kuva – Muuttuva opetus ja oppiminen. Kokkola: Kokkolan yliopistokeskus Chydenius

Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P 2004. 2:95-108 Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology*. <http://www.readcube.com/articles/10.1038/nrmicro821> (Viitattu 22.10.2018)

Huotari K 2010. 33:104-106 Tekonivelininfektio: luokitus, esiintyminen, diagnostiikka, antibioottihoito. *Suomen Ortopedia ja Traumatologia* <http://www.soy.fi/files/30.pdf> (Viitattu 22.10.2018)

Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri 2016. Polven tekonivelleikkaus, potilasopas. http://www.hus.fi/sairaanhoito/sairaanhoitopalvelut/ortopedia/tekonivelkirurgia/Documents/polven_tekonivelleikkaus_potilasopas_2016.pdf (Viitattu 22.1.2018)

Huotari K & Leskinen J 2016. 132(11):1009-16 Lonkan ja polven tekonivelinfektioiden diagnostiikka ja hoito. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*. <http://www.duodecim-lehti.fi/lehti/2016/11/duo13165> (Viitattu 20.1.2018)

Keränen V, Lamberg N. & Penttinen J 2005. Digitaalinen media. Porvoo: WS Bookwell

Keränen V, Lamberg N. & Penttinen J 2003. Digitaalinen viestintä. Porvoo: WS Bookwell

Keränen V & Penttinen J 2007. Verkko-oppimateriaalin tuottajan opas. Porvoo: WS Bookwell

Manninen R 2017. Proteesinäytteiden bakteeriviljely sonikointimenetelmällä -työohje. Satakunnan sairaanhoitopiirin kuntayhtymän sairaanhoidollisten palveluiden liikelaitos SataDiag.

Mölkänen T 2013. 31:100-105 Nivelproteesi-infektiot. Suomen Sairaalahygienialehti. http://sshy.fi/data/documents/lehdet/13_2.pdf (Viitattu 15.10.2018)

Ong KL, Kurtz SM, Lau E, Bozic KJ, Berry DJ & Parvizi J 2009. Sep;24:105-9 Prosthetic joint infection risk after total hip arthroplasty in the Medicare population. The journal of arthroplasty. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19493644?dopt=Abstract>

Pohjolainen T 2016. Nivelrikko (artroosi). Lääkärikirja Duodecim. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00673 (Viitattu 20.1.2018)

Puhto T 2018. The burden of healthcare associated infections in primary and tertiary healthcare wards and the cost of procedure-related prosthetic joint infections. University of Oulu <http://jultika.oulu.fi/files/isbn9789526219851.pdf> (Viitattu 12.11.2018)

Päivärinta U 2010. 107-108. Tekonivelinfektioiden kirurginen hoito ja tulokset sekä toiminta infektiöepäilyssä. Suomen ortopedia ja traumatologia Vol. 33. <http://www.soy.fi/files/31.pdf> (Viitattu 15.10.2018)

Sorli L, Puig L, Torres-Claramunt R, Gonzalez A, Alier A, Knobel H, Salvado M, Horcajada JP 2012. 94-B(2):249-253 The relationship between microbiology results in the second of a two-stage exchange procedure using cement spacers and the outcome after revision total joint replacement for infection – The use of sonication to aid bacteriological analysis. The journal of bone & joint surgery. <https://online.boneand-joint.org.uk/doi/pdf/10.1302/0301-620X.94B2.27779> (Viitattu 22.10.2018)

Stefanova T 2014. Using of training video films in the engineering education. Procedia – Social and Behavioral Sciences (116). 1181-1186 https://ac.els-cdn.com/S1877042814003838/1-s2.0-S1877042814003838-main.pdf?_tid=1436a380-5bc9-47c3-820b-543625c0384b&acdnat=1537436169_1c73b4d81073af82c3775ceb9a74d7d (Viitattu 20.9.2018)

Tapiainen T, Salo J & Uhari M 2010. 126(7):765-72 Bakteeribiofilmit infektiotaudeissa. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim. <http://www.duodecim-lehti.fi/lehti/2010/7/duo98732> (Viitattu 20.1.2018)

Terveyden ja hyvinvoinninlaitos 2016. FAR Finnish Arthroplasty Register ENDOnet. <https://thl.fi/far/#html/update2016> (Viitattu 4.4.2018)

Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF & Patel R 2007. 16;357 (7):654-69 Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. The New England journal of medicine. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa061588>

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyt Suomessa http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf (Viitattu 25.1.2018)

Vilkkä H & Airaksinen T 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy

Vuorinen M, Huotari K Remes V 2013. 272-276 Varhaisvaiheen puhdistusleikkauksen tulokset lonkan ja polven tekonivelinfektion hoidossa – retrospektiivinen seurantatutkimus. Suomen ortopedia ja traumatologia Vol. 36. http://soy.fi/files/1sot_32013_varhaisvaiheen.pdf (Viitattu 12.10.2018)