

# **Mikrobiologiaa bioanalytikoille**

Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen

**Minna Helenius, Kati Kilpeläinen ja Elsa Taponen**

Opinnäytetyö

---



Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Minna Helenius, Kati Kilpeläinen ja Elsa Taponen	
Työn nimi Mikrobiologiaa bioanalytikoille – Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen	
Päiväys 5.11.2012	Sivumäärä/Liitteet 26/47
Ohjaaja(t) Lehtori Leena Tikka	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu	
Tiivistelmä <p>Opinnäytetyömme oli kehittämistyö, joka tehtiin yhteistyössä Savonia-ammattikorkeakoulun kanssa. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa päivitetty työohje bioanalytiikan koulutusohjelman kliinisen mikrobiologian opintojakson harjoitustunneille. Päivitetty työohje sisälsi kliinisen mikrobiologian bakteriologiaan liittyviä perustunnistuskokeita sekä yleiset työskentely- ja näytteenotto-ohjeet.</p> <p>Uusi työohje tehtiin vanhan käytössä olleen työohjeen pohjalta. Päivityksen apuna käytettiin pienimuotoista kartoitusta käytössä olevista bakteereiden tunnistuskokeista sekä kirjallisia lähteitä. Kartoitus tehtiin kyselylomakkeella yliopistollisten keskussairaaloitten kliinisen mikrobiologian laboratorioihin ja sen perusteella päätettiin työohjeeseen tulevat bakteereiden tunnistuskokeet. Uuden työohjeen laadinnassa hyödynnettiin teoriasta ilmentyneitä hyvän oppimateriaalin kriteerejä.</p> <p>Raportissa käsiteltiin työn kannalta keskeisiä teoreettisia osa-alueita. Nämä osa-alueet olivat kliininen bakteriologia, hyvän oppimateriaalin laadinta sekä bioanalytikon työn vaatimukset kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Raportti sisälsi kuvauksen opinnäytetyöprosessin eri vaiheista.</p> <p>Opinnäytetyössä syntyneen työohjeen tavoitteena oli edistää Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytikko-opiskelijoiden oppimista sekä ammattitaitoa. Lisäksi tavoitteena oli kehittää kliinisen mikrobiologian opintojakson sisältöä. Työn tulokset selviävät vasta tulevaisuudessa, kun uusi työohje otetaan käyttöön.</p>	
Avainsanat Kliininen mikrobiologia, bakteriologia, työohjeet, oppimateriaali	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Minna Helenius, Kati Kilpeläinen and Elsa Taponen			
Title of Thesis Microbiology for Medical Laboratory Scientist – Updating Clinical Microbiology working instructions			
Date	5.11.2012	Pages/Appendices	26/47
Supervisor(s) Senior Lecturer Leena Tikka			
Client Organisation/Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p><b>Abstract</b></p> <p>Our thesis was a development work, which was done in co-operation with the Savonia University of Applied Sciences. The purpose of this thesis was to produce updated working instructions for Biomedical Laboratory Science degree program in clinical microbiology course training classes. Updated working instructions contained clinical microbiology bacteriology of the basic identification tests as well as the general working and sampling instructions.</p> <p>New working instructions were made by using the old working instructions as the basis. Update is used to predict the small-scale survey of the available bacterial identification tests and the written sources. The survey was a questionnaire university hospital in clinical microbiology laboratories and the decision was made on the basis of the working instructions bacterial identification tests. The new working instructions were used in composing the theory embodied good teaching material criteria.</p> <p>The thesis report discussed the work of the key theoretical areas. These areas were clinical bacteriology, preparation of good teaching materials as well as work requirements of biomedical laboratory scientist in clinical microbiology laboratory. The report contained a description of the different stages of the thesis process.</p> <p>The thesis created the working instructions aimed to promote Savonia Biomedical Laboratory Sciences students learning as well as working skills. Additionally the aim was to develop the content of a clinical microbiology course. The result of our work will unravel when the new working instructions are put into service.</p>			
<p><b>Keywords</b> Clinical microbiology, bacteriology, working instructions, study material</p>			

## SISÄLTÖ

1 JOHDANTO.....	6
2 KLIININEN BAKTERIOLOGIA.....	7
3 BIOANALYYTIKKO KLIINISEN MIKROBIOLOGIAN LABORATORIOSSA .....	10
4 HYVÄ OPPIMATERIAALI.....	12
5 KEHITTÄMISTYÖN VAIHEET .....	15
5.1 Työn suunnittelu.....	15
5.2 Työn toteutus.....	16
6 TUOTOS.....	18
6.1 Työohjeen laatiminen.....	18
6.2 Työohjeen testaus ja arviointi .....	20
7 POHDINTA .....	21
7.1 Tavoitteiden toteutuminen.....	21
7.2 Luotettavuus & eettisyys .....	21
7.3 Opinnäytetyöprosessin kehittämishaasteet.....	22
7.4 Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu.....	23
LÄHTEET .....	24

## LIITTEET

- Liite 1 Kyselylomake
- Liite 2 Kliinisen mikrobiologian työohjeet

## 1 JOHDANTO

Opinnäytetyömme oli kehittämistyö, jonka tarkoituksena oli tuottaa uusi päivitetty versio kliinisen mikrobiologian työohjeesta Savonia-ammattikorkeakoulun käyttöön. Kliininen mikrobiologia on erikoisala, joka on keskittynyt ihmisten infektioita aiheuttavien mikrobien tutkimiseen. Kliininen mikrobiologia jaetaan bakteriologian, virologian, parasitologian, mykologian ja immunologian osa-alueisiin. (Heikkilä 2005, 9.) Kliinisen mikrobiologian työohje on osa bioanalytiikan koulutusohjelman kliinisen mikrobiologian opintojakson oppimateriaalikonaisuutta. Työohje sisältää pääasiassa bakteriologiaan eli bakteerien tutkimiseen liittyviä tunnistuskokeita. Työohjeista puuttuvat esimerkiksi virologian tutkimukset, koska kyseessä on erikoisosaamista vaativa osa-alue. Harjoitustunneilla tehtävien töiden tulee olla sellaisia, että ne pystytään toteuttamaan koulumme laboratorioluokissa käytössä olevilla resursseilla. Tavoitteenamme oli tuottaa oppimateriaali, jonka avulla voidaan kehittää koulumme mikrobiologian opintojakson harjoitustöiden sisältöä, sekä edistää bioanalyttiko-opiskelijoiden oppimista kliinisen mikrobiologian opintojaksolla. Työohje tulee olemaan sähköisessä muodossa ja jokainen opiskelija saa tulostaa tai kopioida sen itse.

Ohjeet lopulliseen työohjekokonaisuuteen valitsimme teorianäytöiden ja kyselylomakkeella tekemämme kartoituksen perusteella. Kartoitimme kyselylomakkeella sillä hetkellä käytössä olleita bakteriologian perustutkimuksia, jonka perusteella teimme päätökset työohjeeseen tulevista ohjeista. Kyselylomake lähetettiin kolmeen yliopistollisen keskussairaalan mikrobiologian laboratorioon (Kuopio, Oulu, Tampere). Kyselylomake päädyttiin lähettämään yliopistollisten keskussairaaloitten laboratorioihin, koska nämä toimivat usein referenssilaboratorioina alueidensa muille kliinisille laboratorioille ja määräävät näin ollen hyvin pitkälti näissä käytetyt menetelmät.

Tähän raporttiin kokosimme työmme teoreettisen taustan kliinisestä bakteriologiasta, työohjeiden laatimisesta, erilaisista oppimistyyleistä sekä kehittämistyöstä. Lisäksi esitämme työmme toteutuksen sekä arvion siitä kuinka mielestämme onnistuimme tässä työssä.

## 2 KLIININEN BAKTERIOLOGIA

Kliininen mikrobiologia on ihmisten infektio- ja immuunijärjestelmään liittyvä tieteenala, joka on keskittynyt taudin aiheuttajaorganismien, elimistön puolustusmekanismeihin, infektio- ja immuunijärjestelmien syntymiseen, sekä näiden diagnostiikan, hoidon ja ehkäisymenetelmien tutkimiseen (Heikkilä 2005, 9). Mikrobiologian osa-alueisiin kuuluvat bakteriologia, virologia, mykologia, parasitologia ja immunologia. Bakteriologiassa tutkimuskohteena ovat bakteerit, virologiassa virukset, parasitologiassa parasiitit (loiset), mykologiassa sienet ja immunologiassa immuunijärjestelmän toiminta. (Katila & Laatikainen 2003, 338; Heikkilä 2005, 9.)

Kliinisen mikrobiologian laboratoriotutkimuksia hyödynnetään infektio- ja immuunisairauksien diagnosoimisessa ja hoidossa. Mikrobiologian tutkimukset perustuvat mikrobin, mikrobin rakenteiden tai mikrobin aineenvaihdunnassa syntyvien tuotteiden tunnistamiseen. (Katila & Laatikainen 2003, 338.) Valtaosa mikrobiologisista tutkimuksista tehdään kliinisen mikrobiologian erikoislääkärin tai tutkinnon suorittaneen sairaalamikrobiologin vastuussa olevissa erikoislaboratorioissa. Suurin osa mikrobiologian tutkimuksista on luvanvaraisia eli laboratoriolle tulee olla toimilupa niiden tekemiseen. (Katila 2003a, 339.)

Kliininen bakteriologia tutkii nimensä mukaisesti bakteereita. Bakteerit ovat yksisoluisia organismeja, jotka voidaan jaotella muodon, rakenteen, gram-värikykyvyyden ja fysiologisten ominaisuuksien perusteella. (Heikkilä & Meurman 2005, 31–32.) Bakteereita löytyy ihmisestä normaalifloorana, opportunisteja infektioita aiheuttavina tai patogeenisinä eli tautia aiheuttavina bakteereina (Rowland 1995, 5). Bakteereita löytyy esimerkiksi iholta ja limakalvoilta, näitä bakteereita kutsutaan normaaliflooraksi. Normaalifloora ei aiheuta infektioita terveellä ihmisellä, mutta elimistön puolustusmekanismien pettäessä voi normaaliflooran bakteereistakin aiheutua infektio. (Granato 2003, 44.)

Kliinisesti tärkeät bakteerit on jaoteltu karkeasti gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin bakteereihin. (Heikkilä & Meurman 2005, 31–32.) Toinen yleinen jaottelutapa on jako kokki- ja sauvabakteereihin. Pallomaiset kokkibakteerit voivat esiintyä yksittäisinä, parettain (diplokokki), ketjuina (streptokokki) tai rykelminä (staphylokokki). Sauvabakteerit voivat esiintyä yksittäin, ketjuissa tai rinnakkain. (Rowland 1995, 11)

Bakteerit ovat kehittyneet selviämään erilaisissa ravinne- ja ympäristöolosuhteissa. Ravinteellisesti kaikki bakteerit vaativat kasvaakseen vähintään hiiltä, typpeä ja energiaa solujen rakenteisiin ja solutoimintojen ylläpitämiseen, mutta osa bakteereista on vaativampia ja tarvitsevat kasvaakseen esimerkiksi vitamiineja. Bakteerien kasvaminen on riippuvaista myös lämpötilasta, pH:sta ja kaasuolosuhteista. Suurin osa patogeenisista bakteereista kasvaa parhaiten neutraalissa pH:ssa. Eri bakteereilla on eri lämpötilat, missä ne lisääntyvät parhaiten. (Rowland 1995, 4-5, 14-15.) Kliinisesti merkittävät bakteerit kasvavat parhaiten kehonlämpötilaa vastaavassa lämpötilassa eli 35- 37 °C:ssa (Heikkilä & Meurman 2005, 35). Bakteerien kasvaminen on myös riippuvaista niiden hapensietokyvystä. Aerobibakteerit tarvitsevat kasvamiseen happea, kun taas anaerobibakteerit eivät siedä happea ollenkaan. Fakultatiivisesti anaerobibakteerit voivat kasvaa sekä hapellisissa että hapettomissa olosuhteissa. (Rowland 1995, 15.)

Bakteeriviljely on tärkein bakteriologinen tunnistusmenetelmä. Ilman viljelyä ei ole mahdollista suorittaa bakteerin tunnistamiskokeita. (Heikkilä & Meurman 2005, 95.) Bakteerinäytteet viljellään yleensä elatusainemaljoille, mutta näytteitä on mahdollista kasvattaa myös elatusaineita sisältävissä liemissä tai vinopinnoilla koeputkissa. (Sojakka & Välimäki 2011, 18.) Koska maljalla lisääntyneet bakteerit eivät pääse liikkumaan kiinteällä elatusainemaljalla, muodostavat ne bakteeripesäkkeitä. Bakteeripesäkkeiden ulkonäkö riippuu siitä, minkä bakteerin muodostama se on. (Heikkilä & Meurman 2005, 95.) Bakteeriviljelymaljaa tarkasteltaessa kiinnitetään huomiota bakteeripesäkkeen kokoon, muotoon ja pesäkettä ympäröivään alueeseen. Elatusaineessa tapahtuneista muutoksista voidaan päätellä bakteerin aineenvaihduntaan ja saada näin vinkkejä mistä bakteerista on kyse. Maljan tarkastelussa voidaan hyödyntää myös hajuaistia, nimittäin osalla bakteereista on myös ominainen haju, kuten esimerkiksi *Pseudomonas* tuoksuu kukkaiselle. (Sojakka & Välimäki 2011, 132, 134.)

Mikroskooppinen tarkastelu on yksi kliinisen bakteriologian perustutkimus. Mikroskopiointi on nopea tehdä ja kustannuksiltaan edullinen. Mikroskopiointi voi tapahtua niin sanottuna natiivitarkasteluna ilman mitään väriaineita tai sitten erilaisten värjäyksien jälkeen. Gram-värjäys on käytetyin värjäysmenetelmä kliinisessä mikrobiologiassa. Gram-värjäyksestä on eniten hyötyä tutkittaessa näytteitä, joissa ei ole normaalisti bakteereja kuten esimerkiksi selkäydinnesteessä. Näissä näytteissä kaikkien bakteerin löytäminen on aina merkityksellinen löydös, eikä mikroskopointaessa joudu miettimään voisiko bakteeri olla elimistön normaaliflooraan kuuluva bakteeri. (Heikkilä & Meurman 2005, 94.) Mikroskopiointissa tarkastellaan bakteerin muotoa, järjestäytymistä ja sekä määrää yhdessä näkökentässä. Mikroskooppinen tarkastelu vaatii har-



jaantumista, koska näytteessä voi esiintyä mikrobeja muistuttavia värjäytyneitä artefaktoja. Artefaktoilla tarkoitetaan mikroskopointia häiritseviä tekijöitä. (Katila 2003b, 346–348, 351.)

Bakteerien tunnistaminen ja nimeäminen perustuu pesäkemorfologian ja mikroskooppisen tarkastelun lisäksi erilaisten biokemiallisten testien tuloksiin. Biokemialliset testit perustuvat bakteerin biokemiallisiin toimintoihin esimerkiksi kykyyn tuottaa jotain entsyymiä. (Katila 2003b, 354; Thomson & Miller 2003, 288.) Biokemiallisia testejä ovat esimerkiksi katalaasi- ja koagulaasikoe (Katila 2003b, 354). Katalaasikokeella voidaan esimerkiksi selvittää pystyykö bakteeri hajottamaan katalaasientsyymien avulla vetyperoksidia vedeksi ja hapeksi. Katalaasikokeella voidaan erotella muun muassa *Staphylokokit* ja *Streptokokit* toisistaan. (Sojakka & Välimäki 2011, 168–169)

Bakteriologisiin tunnistusmenetelmiin kuuluu myös bakteerien lääkeaineherkkyyismääritykset. Lääkeaineherkkyyden perusteella päätetään millä lääkkeellä bakteerin aiheuttama infektio tulisi hoitaa. Lääkeaineherkkyys tutkitaan rutiinidiagnostiikassa kiekkomenetelmällä, jossa herkkyyismääritysmaljalle lisätään bakteerisuspensiota ja kyseiselle bakteerille sopivat lääkeainekiekot. Maljaa kasvatetaan yön yli, jonka jälkeen mitataan estorenkaiden halkaisija. Kun estorenkaiden halkaisija on liian vähäinen, puhutaan resistentistä bakteerista eli kyseinen lääkeaine ei tehoa bakteeriin. (Katila 2003b, 357.)

### 3 BIOANALYYTIKKO KLIINISEN MIKROBIOLOGIAN LABORATORIOSSA

Bioanalyytikon ammattitaito rakentuu teorian tiedon hallinnasta ja sen soveltamisesta käytäntöön. Teoriatieto pohjautuu kliiniseen laboratoriotieteeseen ja muihin sitä tukeviin tieteenaloihin. Bioanalyytikon ammattipätevyyteen kuuluu laboratoriotutkimusprosessin hallinta sekä työturvallisuuden ja laboratoriotyön eettisten ohjeiden noudattaminen. (Opetusministeriö 2006, 22.)

Bioanalyytikot työskentelevät monenlaisissa kliinisissä laboratorioissa ja yksi näistä on kliinisen mikrobiologian laboratorio. Kliinisen mikrobiologian laboratorioissa työskennellään yleensä yhdessä monen ammattikunnan edustajan kanssa. Yhdessä bioanalytikkojen kanssa voi työskennellä muuan muassa sairaalamikrobiologeja ja mikrobiologian erikoislääkäreitä. Bioanalyytikon roolina on toimia osana tätä moniammatillista tiimiä. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2012.)

Laboratoriotutkimusprosessi sisältää näytteen tutkimusprosessin tutkimuspyynnöstä aina luotettavaan tutkimustulokseen asti. Laboratoriotutkimusprosessin preanalyttisen, analyttisen ja postanalyttisen vaiheen osaaminen ovat bioanalyytikon ydinosaamista laboratoriotutkimusprosesseissa. Preanalyttisessä vaiheessa bioanalyytikon rooliin kuuluu toimia asiantuntijana näytteenottoon liittyvissä asioissa. Analyttisessä vaiheessa bioanalyytikon tehtävänä on suorittaa laboratoriotutkimus esimerkiksi analysoimalla näyte ottaen huomioon laatu ja luotettavuus. Postanalyttisessä vaiheessa bioanalyytikon tulee osata arvioida saadun tuloksen luotettavuutta. (Opetusministeriö 2006, 22–24.)

Työskentely mikrobiologian laboratorioissa on edelleen enimmäkseen käsityötä, vaikka automaatio on lisääntynyt, esimerkiksi virologia on nykyään hyvin pitkälti automatisoitunutta (Katila 2003b, 341). Bioanalyytikon työtehtävät mikrobiologian laboratorioissa vaihtelevat hyvin pitkälti työpisteen ja laboratorion koon mukaan. Bakteriologialla työtehtäviin kuuluu tulkita ja vastata potilasnäytteistä tehtyjä virtsa-, uloste- ja nieluviljelyitä. Immunologiassa puolestaan tehtäviin kuuluvat infektioserologiset ja autoimmunologiset tutkimukset, immunofluoresenssiä ja ELISA-testejä hyödyntäen. Virologiassa tehdään virusviljelyitä, tutkitaan viruksia ja niiden vasta-aineita PCR-menetelmillä. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2012.)

Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman opetussuunnitelman mukaan kliinisen mikrobiologian osaamistavoitteisiin kuuluu tuntee kliinisen mikrobio-

logian käsitteistö sekä tutkimusten ja menetelmien periaatteet. Opiskelijan tulee hallita kliinisen mikrobiologian perustutkimukset ja niiden suorittaminen käytännössä teoriatietoa hyödyntäen. Lisäksi opiskelijoiden tulee työskentelyssään noudattaa laadunhallinnanperiaatteita sekä työ- ja potilasturvallisuutta. Harjoitustuntien keskeisiä asioita ovat lähinnä bakteerien tutkimiseen ja tunnistamiseen liittyvät yleisimmät menetelmät: gram-värjäys, bakteeriviljely, tunnistuskokeet, lääkeaineherkkyydet ja pikadiagnostiikka. Opetussuunnitelman perusteella mikrobiologian opintojaksolla keskitytään sellaisiin perustutkimuksiin, joita toteutetaan yleisimmin kliinisen mikrobiologian laboratorioissa. Immunologian, mykologian ja virologian tutkimukset on jätetty pois harjoitustöiden osaamisvaatimuksista, koska ne vaativat erikoisosaamista, eikä koulullamme ole kyseisten tutkimusten vaatimia laitteita ja välineitä. Kliinisen mikrobiologian opintojakson tavoite on saavuttaa perusosaamistaso, jota syvennetään myöhemmin keskussairaala-harjoittelujaksoilla ja työelämässä. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2011.)

#### 4 HYVÄ OPPIMATERIAALI

Oppimateriaali on yleensä osa laajempaa kokonaisuutta, jonka tehtävänä on edistää oppimista sekä toimia oppimisen apuvälineenä. Hyvä oppimateriaali herättää opiskelijoiden kiinnostuksen ja motivoi heitä tarkastelemaan osaamistaan. Oppimateriaalia laadittaessa on tärkeää huomioida kenelle materiaalia ollaan tekemässä ja millaiselle materiaalille on tarvetta. (Oppimateriaalin kehittäminen 2012.) Jokainen ihminen oppii omalla tavallaan, joten erilaiset oppimistyyliä tulee huomioida oppimateriaalia laadittaessa. Oppimistyyliä ovat yksilöllinen tapa vastaanottaa tietoa. Oppimistyyliin vaikuttavat henkilön luonteenpiirteet, ikä sekä oppimismotivaatio. (Kauppila 2003, 59.) Henkilön tiedostaessa oman oppimistyyliänsä heikkoudet ja vahvuudet, kykenee hän huomioimaan ne opiskeluissaan ja sitä kautta myös vahvistamaan oppimistaan. (Ojala 1999, 43.)

Oppimistyyliä voidaan jaotella eri tavoin, usein käytetään joko aisteihin perustuvaa luokittelua tai luokittelua neljään oppimistyyliäryhmään (Kokkinen, Rantanen-Väntsi & Tuomola 2008, 20, 23). Aisteihin perustuvat oppimistyyliä ovat: visuaalinen, audittiivinen ja kinesteettinen/taktiilinen. (Koivusalo & Salenius 2012, 8.) Oppimistyyliäryhmät ovat: aktiivinen osallistuja, harkitseva tarkkailija, looginen ajattelija ja käytännön toteuttaja (Ojala 1999, 37.). Aisteista kuulo on audittiivisesti ja näkö visuaalisesti oppivien vahvuus. Audittiivisessa oppimistyyliä opitaan parhaiten kuuntelemalla, siksi luentomainen opetus sopii heille parhaiten. Koska audittiiviset oppijat keskittyvät kuuntelemaan ja kyselemään, jää muistiinpanojen tekeminen taka-alalle toisin kuin esimerkiksi visuaalisilla oppijoilla. Visuaaliset oppijat oppivat parhaiten näköaistin avulla, joten he tekevät muistiinpanoja ja piirroksia oppimisen helpottamiseksi. Visuaaliset oppijat muodostavat ensin opittavista asioista kokonaismielikuvan, jonka jälkeen he ymmärtävät paremmin yksityiskohtia. (Koivusalo & Salenius 2012, 9–10; Laine, Salervo, Sivén & Välimäki 2012, 42–44.) Kinesteettiset ja taktiiliset oppijat oppivat parhaiten toiminnan kautta eli heidän täytyy päästä tekemään itse. Nämä kaksi oppimistyyliä ovat lähes samanlaisia, taktiiliset oppijat hyödyntävät oppimisessaan enemmän käsiään kun taas kinesteettiset oppijat hyödyntävät koko vartaloaan. Kinesteettiset ja taktiiliset oppijat tarvitsevat oman aikansa käsitelläkseen tietoa sekä heidän on päästävä kokeilemaan teoretietoutta käytäntöön. Nämä molemmat oppimistyyliä hyötyvät muistiinpanojen tekemisestä ja piirtämisestä luennoilla visuaalisten oppijoiden tavoin. (Koivusalo & Salenius 2012, 10–11.)

Aktiiviset osallistujat oppivat parhaiten havainnoimalla ympäristöään kuuntelemalla ja katselemalla. He osallistuvat opetukseen aktiivisesti, tekemällä kysymyksiä ja muistiinpanoja. (Ojala 1999, 38–39.) Harkitsevat tarkkailijat ovat lähes aktiivisten osallistujien vastakohta. Harkitsevat tarkkailijat tykkäävät vetäytyä taka-alalle ja pohtia oppimaansa eri näkökulmista tarkastellen. Heidän oppimisensa on parasta silloin kun saavat paneutua yhteen asiaan kerrallaan. (Kauppila 2003, 63–64; Kokkinen ym. 2008, 24–25.) Loogiset ajattelijat tykkäävät yhdistellä asioita päässään loogiseksi teorioiksi. Loogisille ajatteliijoille sopii parhaiten koulumuotoinen opetus, jossa teoria on helposti kytkettävissä osaamiseen. (Ojala 1999, 41.) Opiskeluissaan loogisille ajatteliijoille ei ole apua käytännöllisyydestä vaan he nauttivat ajattelua ja loogisuutta vaativista tehtävistä (Kauppila 2003, 61–62). Käytännön toteuttajat puolestaan haluavat soveltaa oppimaansa käytäntöön. Oppiminen on tehokkainta, kun he pääsevät tekemään asioita käytännössä. (Ojala 1999, 39–40; Kokkinen ym. 2008, 25.) Käytännön toteuttajille opetuksen tulee olla käytäntöön soveltavaa sekä hyvin ohjeistettua. Käytännön toteuttajat osaavat hyödyntää oppimisessaan kaikkia aisteja, jonka vuoksi he pystyvät palauttamaan asiat helposti mieleen. (Kauppila 2003, 62–63.)

Oppimateriaalia voidaan tuottaa monin eri tavoin, eikä yhtä hyväksi todettua tapaa ole. Kaikissa materiaaleissa on syytä kiinnittää huomiota materiaalin ymmärrettävyyteen ja havainnollisuuteen. Jo suunnitteluvaiheessa on pohdittava monia asioita, kuten esimerkiksi mikä on kurssin tavoite ja sisältö tai millainen on kurssilaisten ennakkotietämys. (Oppimateriaalin kehittäminen 2012.) Kurssin tavoitteet on esitettävä selkeästi jo oppimateriaalin alussa sekä kertoa mitä oppijalta vaaditaan (Packard & Race 2003, 37). Ohjeita kirjoittaessa on kiinnitettävä huomiota niiden esittämistapaan, jotta sisällöltään hyvä ohje ei jäisi ymmärtämättä. Ohjeissa oleva tieto tulee esittää mahdollisimman yksiselitteisesti, jotta lukija löytää siitä etsimänsä ja ymmärtää sitä. (Hyvärinen 2005, 1769.) Ohjeen perimmäisenä tavoitteena on saada lukija toimimaan sen mukaisesti. Ohjeilla on omat vakiintuneet sisältönsä. (Repo & Nuutinen 2003, 138.) Ohjeiden tulisi olla sisällöltään kattavia, helposti ymmärrettäviä sekä omaan toimintaan kannustavia (Hyvärinen 2005, 1769). Repo ja Nuutinen (2003) ovat koonneet yleisiä vinkkejä hyvän ohjeen rakentamiseksi. Heidän mukaansa ohjeen tulee olla rakenteeltaan sellainen, että se herättää lukijan mielenkiinnon ja kertoo kaiken olennaisen sen tärkeydestä ja tarkoituksesta. Lukijan mielenkiinto ohjetta kohtaan saadaan heräämään havainnollistamalla tekstiä esimerkiksi kuvin ja kielen eri keinoin. (Repo & Nuutinen 2003 138–139.)

Eri tekstilajeilta odotetaan eri asioita, mutta kaikki tekstit on tarkoitettu luettaviksi ja ymmärrettäviksi. Tekstien luettavuudella tarkoitetaan pääasiassa tekstin selvyyttä ja

kiinnostavuutta, mutta myös tekstin ulkoasuun liittyvät seikat vaikuttavat luettavuuteen. Luettavuuden perustana pidetään tekstin johdonmukaisuutta, joka näkyy muun muassa tekstin otsikoinnissa ja jäsentelyssä. Otsikoiden tarkoituksena on herättää lukijan kiinnostus ja kertoa tekstin olennainen sisältö. Otsikointiin on syytä kiinnittää huomiota, koska niillä aktivoidaan lukijan muistia, tietovarastoa sekä edistetään tulkintaa ja ymmärrystä tekstistä. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2007, 273, 275, 299.)

Tekstien ymmärrettävyyttä voidaan lisätä yksinkertaisilla virkerakenteilla ja täsmällisillä sanavalinnoilla. Asianmukainen tekstin jäsentely parantaa lisäksi tekstin ymmärrettävyyttä. Hyvä teksti on yhtenäinen asiasisällöltään, rakenteeltaan ja kieliasultaan. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2007, 274.)

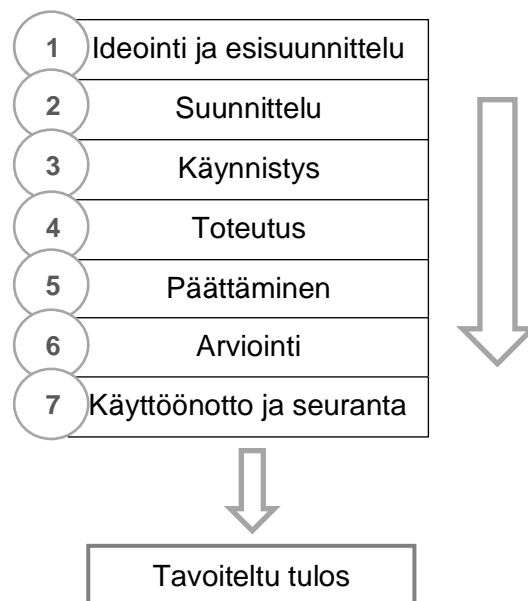
Tekstin havainnollisuutta ja ymmärrettävyyttä voidaan parantaa kuvioilla ja taulukoilla. Kuvioita ovat kaikki muut tekstin havainnollistamiskeinot paitsi taulukot. Kuvioiden avulla vertaillaan ja kuvaillaan asioita, taulukoilla puolestaan annetaan luku- ja numerotietoutta. Kuviot ja taulukot lisäävät tekstistä saatavaa tietoutta ja antavat sen sisällöstä nopeasti tietoa. Lisäksi ne selkeyttävät tekstiä oikein käytettyinä. (Niemi, Nietosvuori & Virikko 2006, 227.)

Kuvioiden ja taulukoiden on palveltava kokonaisuutta, joten ne on sijoitettava tekstin yhteyteen selkeillä kuvateksteillä ja tekstiviittauksilla. (Repo & Nuutinen 2003, 90–92.)

## 5 KEHITTÄMISTYÖN VAIHEET

Kehittämistöiden tarkoituksena on luoda uutta tai parantaa käytössä olevia menetelmiä entistä paremmiksi. Kehittämisen apuna voidaan käyttää tutkimusta, joka luo paremmat mahdollisuudet työn onnistumiselle. Kehittämistöiden laajuus ja sisältö vaihtelevat. Sen ominaispiirteinä voidaan pitää suunnitelmallisuutta, tavoitteellisuutta, järjestelmällisyyttä, toiminnan kriittistä arvioimista sekä olemassa olevan tiedon hyödyntämistä. Kehittämistyö lisää tekijöidensä motivaatiota työtä kohtaan, tarjoaa uusia haasteita sekä mahdollistaa uusien ideoiden syntyminen. (Heikkilä, Jokinen & Nurmele 2008, 21, 56–57.)

Kehittämistyö muodostuu monista eri työvaiheista (kuvio 1.). Jokaisella vaiheella on oma tyyppinen tehtävä. Vaiheet ovat erilisiä, mutta muodostavat yhdessä toimintakokonaisuuden tavoitellun lopputuloksen saavuttamiseksi. Kehittämistyö jaetaan yleensä seuraaviin vaiheisiin: ideointi-, suunnittelu-, käynnistys-, toteutus-, päättäminen-, arviointi- ja käyttöönotto vaiheisiin. (Heikkilä ym. 2008, 57–58.)



Kuvio 1. Kehittämishankkeen vaiheet Heikkilää ym. (2008) mukailten.

### 5.1 Työn suunnittelu

Aloitimme työmme suunnittelun tammikuussa 2011 saatuaamme opinnäytetyön lopullisen aiheen koulultamme eli Savonia-ammattikorkeakoululta. Koulullamme oli todettu tarve klinisen mikrobiologian työohjeiden kehittämiseksi. Työllemme asetetuista odo-

tuksista ja toiveista keskustelimme opintojaksosta vastaavan lehtorin kanssa. Keskustelussa ilmeni, että meidän täytyy varmistaa käytössä olevien harjoitustöiden ajantasaisuus sekä tehdä työhjeista selkeämmät ja havainnollisemmat. Savonia-ammattikorkeakoululla oli käytössä useamman henkilön toimesta päivitetty työhjeet. Näiden työhjeiden pohjalta lähdimme ideoimaan työmme toteutusta ja sitä, mitä työhjeita parantavia muutoksia voisimme niihin tehdä. Muutoksia suunniteltaessa huomasimme uuden työhjeen tarvitsevan yhtenäisen ulkoasun ja esimerkiksi kuvia selkeyttämään työhjetta.

Kliinisen mikrobiologian menetelmät kehittyvät koko ajan ja laboratorioissa automaatio on lisääntynyt huomattavasti (Ks. Katila 2003b, 341). Vanhojen työhjeiden ajantasaisuutta ei ollut varmennettu lähiaikoina, joten halusimme, että tuotokseemme tulevat työhjeet olisivat ajantasaisia. Jotta saimme varmuuden senhetkisistä menetelmistä, päätimme tehdä pienimuotoisen kartoituksen kaikkiin Suomen yliopistollisten keskussairaaloiden kliinisen mikrobiologian laboratorioihin (Helsinki, Oulu, Tampere, Kuopio, Turku). Kartoituksessa selvitimme laboratorioiden perusmenetelmiä pääasiassa bakteriologian osalta. Kartoituksessa käytimme itse suunnittelemaamme kyselylomaketta (Liite 1).

Kyselylomakkeen kysymykset suunnittelimme vanhan työhjeen pohjalta. Kyselylomakkeessa kysyimme muun muassa: ”Käytättekö seuraavia gram-positiivisten kokkien tunnistuskokeita laboratoriossanne?”, ”Onko laboratoriossanne käytössä mikrobiologisia pikatestejä?” Vastausvaihtoehdot kyselylomakkeessa olivat kyllä tai ei. Lisäksi kyselylomakkeessa oli avoimia kysymyksiä muista menetelmistä, joihin vastaajat saivat halutessaan vastata. Avoimella kysymyksellä selvitimme muun muassa muita käytössä olevia gram-positiivisten kokkien tunnistuskokeita sekä pyysimme toiveita/ehdotuksia mitä tutkimuksia koulumme olisi syytä ottaa opetussuunnitelmaansa.

## 5.2 Työn toteutus

Työn toteutuksen valmistelun aloitimme helmi-maaliskuun vaihteessa kyselylomakkeen suunnittelemisella. Tutkimusluvan kyselylomaketta varten haimme kesän 2012 aikana. Elokuun alkuun mennessä saimme myönteisen vastauksen kolmesta laboratoriosta (Kuopio, Tampere & Oulu). Kyselylomakkeet lähetimme näihin laboratorioihin elokuun alussa ja vastausaikaa heille annettiin kaksi viikkoa. Alkuperäisestä suunnitelmasta poiketen Helsinki jouduttiin jättämään kartoituksen ulkopuolelle, koska emme saaneet myönteistä tutkimuslupapäätöstä. Helsinki kuitenkin tarjosi vierai-



lumahdollisuutta heidän laboratorioonsa, jota emme kuitenkaan pystyneet hyödyntämään. Turku puolestaan jätettiin kartoituksen ulkopuolelle aikatauluongelmien takia, koska olisimme saaneet tutkimuslupapäätöksen vasta elokuun loppupuolella. Turun vastauksella ei ollut välttämätön työmme lopputuloksen kannalta, koska kysely oli vain pienimuotoinen kartoitus. Koimme, että pystyimme tekemään päätöksiä jo kolmen vastauksen perusteella, koska heidän vastauksensa olivat hyvin samankaltaisia.

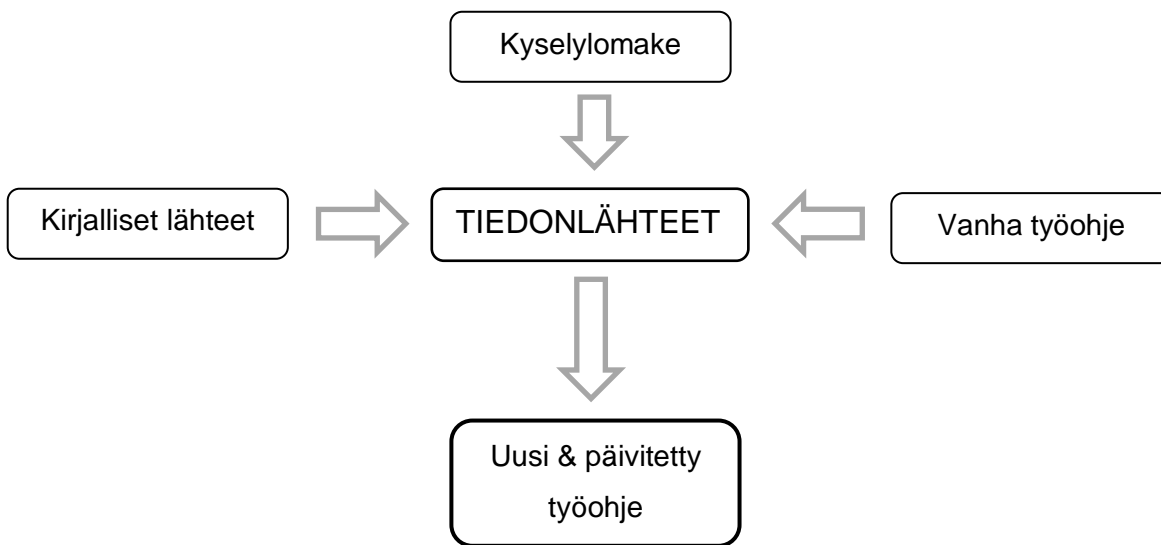
Kyselylomakkeet takaisin saatuamme työmme teko jatkui vastauksien tarkastelulla. Vastauksista ilmeni, että koulussamme käytössä olevat bakteerien tunnistuskokeet ovat edelleen monin paikoin käytössä. Vastaajat olivat vastanneet kysymyksiimme oikealla tavalla, mutta termokoe oli tuottanut päänvaivaa vastaajille, sillä termokoe kohta oli jätetty kahdessa kyselylomakkeessa vastaamatta. Kysyimme Kuopion tilannetta jälkikäteen sähköpostitse, sillä koulumme tekee läheistä yhteistyötä heidän kanssaan. Kuopion vastauksen perusteella päätimme, että termokoe poistetaan työohjeesta. Kyselylomakkeen lisäksi käytimme uutta työohjetta ja raporttia tehdessämme tiedonlähteinä uusinta kirjallisuutta ja muita aiheeseen liittyviä tiedonlähteitä. Tietolähteiden hankinta oli ajoittain vaikeaa, sillä esimerkiksi uusinta kirjallisuutta ei ole ollut saatavilla. Uusin kirjallisuus ei ole täysin välttämätöntä, sillä mikrobiologian ja bakteriologian teoreettinen tieto ei ole muuttunut lähivuosikymmeninä. Hyödynsimme myös englanninkielistä materiaalia työtämme tehdessä.

Työohjetta varten otimme sitä havainnollistavia valokuvia sekä teimme siihen pari selventävää piirrosta syksyn 2012 aikana. Kuvat otettiin koulumme mikrobiologian laboratorioluokassa. Suunnittelimme kuvauskohteet ja otokset etukäteen sekä otimme ne itse omalla kameralla. Kuvauksiin tarvittavat materiaalit ja tilat saimme Savonia-ammattikorkeakoululta. Esiinnyimme itse kuvissa, mutta veriviljelykuvissa saimme apua luokkatoveriltamme. Työohjeessa olevat piirrokset teimme Paint-ohjelman avulla. Työohjeessa olevien valokuvien ja piirrosten tekijänoikeudet kuuluvat työn tekijöille ja niiden käyttöoikeudet on luovutettu Savonia-ammattikorkeakoululle.

## 6 TUOTOS

### 6.1 Työohjeen laatiminen

Oppimateriaalin kohderyhmä on tärkeää huomioida materiaalia laadittaessa. Tämä helpottaa myös materiaalin suunnittelua ja tekemistä. (Ks. Oppimateriaalin kehittäminen 2012) Työmme kohderyhmänä olivat Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijat sekä opettajat. Kun teimme ohjetta, otimme kohderyhmämme huomiioon mahdollisimman hyvin, jotta he saisivat selkeän ja ajantasaisen työohjekokonaisuuden (Ks. Kauppila 2003, 59). Hyödynsimme uuden ohjeen (Liite 2) tekemisessä vanhaa työohjetta, tekemäämme kartoitusta sekä alan kirjallisuutta (Kuvio 2.). Työohjetta päivittäessämme hyödynsimme myös omakohtaista kokemusta mikrobiologian harjoitustunneilta. Uskomme että, pystyimme paremmin huomioimaan opiskelijoiden tarpeet, sillä olemme itsekin opiskelijoita.



Kuvio 2. Työohjeen muodostuminen.

Kyselylomakkeesta saatujen vastauksien perusteella jätimme työohjeesta termokokeen pois, sillä Kuopioon tekemämme tiedustelun perusteella ilmeni, etteivät he tee enää kyseistä tunnistuskoeita. Muita vanhassa työohjeessä olevia bakteerien tunnistuskokeita ei ollut syytä poistaa päivitetystä työohjeesta, sillä ne olivat edelleen käytössä kartoittamissamme laboratoriossa. Vastauksien perusteella ilmeni, että työohjeeseen ei ollut tarvetta lisätä uusia tunnistuskokeita. Kyselyyn vastaajat toivoivat

perusmenetelmien kuten gram-värjäyksen, mikroskopoinnin ja virtsamaljojen lukemisen hallintaa työelämään tultaessa. Kyseiset menetelmät ovat myös osana koulumme opetussuunnitelmaa (Ks. Bioanalytiikka (AMK) opetussuunnitelma 2012). Vanha työohje sisälsi seerumitestin (itutesti) ja immunologisen pikatestin nielun streptokokki A:n antigeenin tunnistamiseen. Nämä testit säilytettiin edelleen uudessa tuottamassamme työohjeessa, koska kyseiset tunnistuskokeet eivät vaadi erikoisosaamista ja ne ovat helppo toteuttaa koulumme olosuhteissa. Muita sieniin ja immunologiaan liittyviä testejä ei lisätty työohjeeseen, sillä ne vaativat erikoisosaamista. Uudesta työohjeesta jätettiin pois parasitologian osuus, koska sitä opetetaan erillisellä parasitologianopintojaksolla.

Työskentelymme pääpaino on ollut vanhan työohjeen selkeyttämisessä, luettavuuden lisäämisessä ja tyylin yhtenäistämässä. Aikaisemmassa työohjeessa kirjasintyyli ja -koko vaihtelivat, mikä vaikeutti sen lukemista ja seuraamista. Loimme uuteen työohjeeseen yhtenäisen ulkoasun, jossa kirjasintyyli ja -koko olivat samanlaiset koko työohjeessa. Huomioimme yhtenäisen ulkoasun luomisessa sen, että tilaa jäisi myös opiskelijoiden omille merkinnöille. Lisäksi selkeytimme työohjetta jäsentelemällä sen sisältämät ohjeet loogisiksi kokonaisuuksiksi. Jaoimme ohjeet työn periaate-, välineet-, suoritus- ja tulosten tarkastelu-osioihin. Periaate-osiossa kerrotaan mihin kyseessä oleva tunnistuskoe perustuu. Välineissä on lueteltuna työhön tarvittavat työvälineet ja reagenssit. Työn suorituksessa on puolestaan kerrottu kuinka tunnistuskoe suoritetaan sekä sen mahdolliset virhelähteet. Numeroimme työn suoritusosiossa työn suorituksen eri vaiheet, jotta ohjetta olisi helpompia lukea. Tulosten tulkinta osiossa selitetään kuinka saatua tulosta tulkitaan ja hyödynnetään selvitetävän bakteerin tunnistamisessa.

Oikein lisättyinä kuvat lisäävät tekstin ymmärrettävyyttä (Ks. Niemi ym. 2006, 227), siksi lisäsimme niitä havainnollistamaan työohjetta. Lisäämämme kuvat olivat mustavalkoisia, koska työohje tulee olemaan luultavimmin mustavalkoinen tuloste. Emme lisänneet kuvia kaikkiin työohjeen ohjeisiin vaan valikoimme mielestämme sellaiset kuvat, jotka helpottavat työohjeen ymmärtämistä sekä ovat selkeitä myös mustavalkoisina. Piirroksia tehdessä puolestaan huomioimme, että ne ovat selkeitä myös tulostetussa materiaalissa. Työohjeen alkuun liitimme kliinisen mikrobiologian laboratorion yleisiä työskentely- ja näytteenotto-ohjeita. Aikaisemmassa työohjeessa nämä ohjeet oli jätetty avoimiksi, ja opiskelijoiden tuli ne itse täydentää. Mielestämme työskentely- ja näytteenotto-ohjeiden puute oli ongelmallista, sillä kokemuksemme mukaan harjoitustunneilla ei ollut aikaa niiden täydentämiselle. Tämän vuoksi päädyimme laittamaan opiskelijoille valmiiksi täydennetyt ohjeet näistä asioista. Myös työtur-

vallisuuden kannalta on tärkeää, että opiskelijat voivat lukea työskentelyohjeet ennen harjoitustunneille menemistä.

Työohjetta tullaan todennäköisesti jakamaan sähköisesti ja opiskelijat tulostavat tai kopioivat sen itse. Työohjeen tulee olla sellainen, että tulostaessa se on siisti, selkeä ja helppolukuinen. Tulostetun ohjeen seuraamista helpottaaksemme laitoimme pääsääntöisesti yhden ohjeen yhdelle tulostettavalle sivulle. Useampisivuisessa ohjeessa huomioimme, että työnsuoritus-osio löytyy samalta sivulta kokonaisuudessaan eikä jakaudu useammalle sivulle. Tämä helpottaa töiden toteuttamista, kun ei tarvitse vaihdella sivuja kesken kaiken. Koska työ on sähköisessä muodossa, tiedostokoko ei saa olla liian suuri. Tästä syystä jouduimme pohtimaan esimerkiksi kuvien määrää työohjeessa, koska kuvat kasvattavat tiedostokokoa nopeasti liian suureksi.

## 6.2 Työohjeen testaus ja arviointi

Työohjeen varsinaista testausta emme suorittaneet, sillä emme lisänneet siihen uusia ohjeita. Olemme itse suorittaneet kyseisen opintojakson vanhojen työohjeiden mukaisesti helmikuussa 2011 ja todenneet tällöin työohjeet sisällöltään toimiviksi. Työohjeet helpottivat harjoitustöiden toteuttamista sekä antoivat kuvan töiden merkityksellisyydestä. Työohjeen sisältö ja selkeä rakenne edistävät opiskelijoiden oppimista ja olemme pyrkineet näiltä osin parantamaan vanhaa työohjetta.

Aikomuksenamme oli luetuttaa tuotos toisella bioanalytiikan lehtorilla, jotta olisimme saaneet toisenlaisen näkökulman tuotoksestamme. Tämä ei ollut kuitenkaan mahdollista ja saimme arvioinnin tuotoksestamme vain työtämme ohjaavalta lehtorilta. Lisäksi saimme palautetta tuotoksestamme opiskelutovereiltamme sekä ystäviltämme joilla ei ole alan asiantuntijuutta.

## 7 POHDINTA

### 7.1 Tavoitteiden toteutuminen

Tavoitteenamme oli kehittää mikrobiologian opintojaksoa sekä edistää bioanalyttiko-opiskelijoiden oppimista. Mielestämme onnistuimme tavoitteessamme hyvin, sillä työhjeesta tuli selkeä ja havainnollinen kokonaisuus. Ohjetta tehdessämme huomioimme eri oppimistyyliä, jotta suurin osa opiskelijoista hyötyisi siitä. (Ks. Kauppila 2003 59–64; Kokkinen ym. 2008 20–25; Koivusalo ym. 2012 8–11; Laine ym. 2012 42–44; Ojala 1999 38–43.)

Laatiessamme työhjetta käytimme apuna Savonia-ammattikorkeakoulun kirjallisten tehtävien arviointikriteerejä. Teimme mielestämme työhjeesta mahdollisimman luettavan, käytettävän, toimivan ja visuaalisesti selkeän kokonaisuuden, joka herättää kiinnostuksen alaa kohtaan. Toimivuudesta ja käytettävyydestä emme voi kuitenkaan olla täysin varmoja, koska emme testanneet ohjetta käytännössä. Tuotoksen luettavuutta hiomme ohjaavan opettajan, äidinkielen opettajan sekä ulkopuolisten lukijoiden avulla. Visuaalinen asu luotiin selkeiden oppimateriaalien teorian pohjalta sekä oman kokemuksemme pohjalta.

Tuotoksen kiinnostavuutta lisäsimme kuvilla ja piirroksilla. Oman haasteensa kuvien käyttöön toi kuvien mustavalkoisuus. Kuvat täytyi saada selkeiksi ilman värejä. Mielestämme onnistuimme valitsemaan tärkeimmät, selkeimmät ja havainnollisimmat kuvauskohteet. Havainnollisuudella tarkoitamme tässä yhteydessä sitä, että tekstin yhteyteen lisätyt kuvat ja piirrokset auttavat opiskelijoita luomaan mielikuvan siitä, kuinka tunnistuskoe suoritetaan. Luodessaan mielikuvan tunnistuskokeen suorittamisesta, opiskelijan on helpompi suorittaa se käytännössä. Mielestämme tavoite selkeästä työhjeesta toteutui, olemme tyytyväisiä ja ylpeitä lopputuloksestamme.

### 7.2 Luotettavuus & eettisyys

Eettisyys ilmeni työssämme kahdessa eri osassa kyselylomakkeessa ja omassa toiminnassamme. Omassa toiminnassamme noudatimme bioanalyttikon eettisiä periaatteita (Suomen Bioanalyttikoliitto 2006). Ammattikunnassa asetetuissa velvollisuuksissa korostetaan omalla toiminnallaan kehittämään ja ottamaan vastuun ammattiin kehittämisestä. Tuotosta tehdessämme ajattelimme, että työhjeet edistävät

bioanalyttikko-opiskelijoiden ammattitaidon ja asiantuntijuuden kehittymistä. Myös kyselylomakkeen osalta pyrimme toimimaan eettisesti. Kirjoittaessamme tuloksia emme ilmaise mistä vastaus on peräisin eli vastaajat säilyttivät anonymiteettinsä.

Lisäsimme työmme luotettavuutta käyttämällä useita ajantasaisia lähteitä. Lähteiden valinnassa pyrimme olemaan kriittisiä, etenkin Internet-lähteiden osalta. Luotettavuutta emme kuitenkaan voineet arvioida pelkästään lähteiden ajantasaisuuden perusteella. Haimme tietoa esimerkiksi Nelli tiedonhakupalvelun avulla sekä Aapeli-tietokannasta. Hakusanoina käytimme muun muassa kliininen mikrobiologia, mikrobiologia, oppimistyyli, oppimismateriaali, työohjeet ja clinical mikrobiology. Hakutulokset vaihtelivat paljon, ja emme löytäneet niin paljon työhömme sopivia lähteitä kuin olimme etukäteen toivoneet. Esimerkiksi aiheeseemme sopivaa tutkimustietoa ei ollut saatavilla.

Työtä tehdessämme ymmärsimme, että työmme lopputuloksella on suuri merkitys, sillä bioanalyttikko-opiskelijat tulevat käyttämään ohjetta harjoitustöissään. Tämä lisäsi motivaatiotamme työtä kohtaan. Emme puuttuneet vanhoissa mikrobiologian työohjeissa olevien töidensisältöön, koska luotimme aikaisemman tiedon todennäköisyyteen. Itse lisäämäämme tietoon suhtauduimme kriittisesti, jolla saimme parannettua ohjeen luotettavuutta. Uuden työohjeen luotettavuutta olisi lisännyt, jos olisimme pystyneet testaamaan sen käytännössä. Olisimme voineet testata työohjeen toimivuuden itse tai antaa sen testattavaksi kliinisen mikrobiologian harjoitustunneille, mutta ajanpuutteen vuoksi tämä ei ollut mahdollista.

### 7.3 Opinnäytetyöprosessin kehittämishaasteet

Opinnäytetyötä tehdessämme huomasimme muutamia kehittämiskohteita esimerkiksi aikataulutuksen ja tiedonkulun suhteen. Työn aikataulutuksen kanssa oli ongelmia, lisäksi olisi ollut helpompi keskittyä työn tekemiseen, jos samaan aikaan ei olisi ollut muuta opetusta. Ryhmässä tehtäessä yhteisen ajan löytäminen oli ajoittain hankalaa, sillä jokaisella ryhmän jäsenellä on muitakin menoja. Kehitettävää on myös tiedonkulussa. Mielestämme selviä ohjeita ei ollut saatavilla ja lisäksi jouduimme selvittämään liikaa itse esimerkiksi aikatauluja ja opinnäytetyöprosessiin liittyviä asioita. Mielestämme äidinkielen ohjausta olisi tärkeää olla ennen ABC-pajaa. ABC-paja voisikin olla kahdesti. Aluksi kerrattaisiin esimerkiksi työn sisältöön ja rakenteisiin liittyvät asiat ja toisella kerralla keskityttäisiin lähes valmiiseen työhön ja sen kielellisiin asioihin.

#### 7.4 Oman oppimisen arviointi ja ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessi on ollut luonnollisesti haastava. Olemme joutuneet hyödyntämään opinnäytetyötä tehdessämme kaiken koulutuksen aikana kehittyneen ammattitaidon. Haastavinta työssä on ollut löytää teoretietoa, koska kaikkia haluamiamme teoksia ei ole ollut saatavilla eikä aiheeseen liittyvää tutkimustietoa ole. Työ on vaatinut paljon aikaa ja panostusta, mutta se kasvatti meitä ammatillisesti. Kuten monessa isossa kirjallisessa työssä, on työn tekeminen ollut välillä ongelmallista. Selvisimme näistä ongelmista kuitenkin hyvin, kun annoimme ajatuksillemme aikaa.

Opinnäytetyöprosessissa ammatillinen osaamisemme ja tietämyksemme kasvoi kliinisen mikrobiologian sekä työohjeiden laatimisen osalta. Jokainen meistä on kiinnostunut mikrobiologiasta, joten se motivoi meitä tekemään työtä entistä paremmin. Kliininen mikrobiologia aiheena oli meille osittain tuttu aiempien opintojaksojen kautta, mutta pääsimme syventämään tietämystämme aiheeseen liittyen. Tietämyksen lisääntyminen kasvatti meitä alan asiantuntijoina, josta on todennäköisesti hyötyä tulevaisuudessa. Lisäksi mielestämme kehityimme tieteellisessä kirjoittamisessa ja esittämisessä.

Yhtenä haasteena työn tekemisessä oli ryhmätyöskentely. Ryhmätyöskentely vaati kärsivällisyyttä, kompromisseja ja organisointikykyä. Ryhmässä työskenneltäessä sai tarvittaessa tukea toisilta työn tekemiseen, mikä helpotti vaikeiden päätösten tekoa. Näkökulmien erilaisuus toi omat haasteensa, mutta siinä oli myös omat etunsa. Työn edetessä useampi silmäpari auttoi huomaamaan tekstiin liittyvät ongelmat, sillä yksin kirjoittaessa usein tulee sokeaksi omalle tekstilleen.

Työn mielenkiintoa lisäsi omakohtainen kokemus, siitä että vanha materiaali ei palvelut täysin tarkoitustaan. Omien kokemusiemme ja kirjallisuudesta saatujen kriteereiden avulla saimme mielestämme luotua selkeämmän ja käyttötarkoitukseensa sopivamman materiaalin. Työmme etuna oli se, että saimme tuoda opiskelijanäkökulman opintojakson harjoitustunneille sekä pääsimme vaikuttamaan opetusmateriaalin sisältöön ja ulkoasuun. Uskomme, että valmiista opinnäytetyöstä on hyötyä työelämään siirryttäessä. Opinnäytetyön aikana meille on kehittynyt ryhmätyötaitoja, ammatillista osaamista bakteriologiasta sekä tieteellisten tuotosten tekemisestä. Saamamme taidot ovat eduksi tulevaisuudessa työskenneltäessä missä tahansa.

## LÄHTEET

Granato, P. 2003. Pathogenic and indigenous microorganisms of humans. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover F. C. (toim.) *Manual of clinical microbiology – volume 1*. 8th edition. Washington DC: ASM Press, 44–54.

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

Heikkilä, R. 2005. Kliininen mikrobiologia tieteenalana. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto, 9–15.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Bakteriologia. Teoksessa Hellstén, S. (toim.) *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. 2. uudistettu painos. Helsinki: Suomen kuntaliitto, 31–52.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2007. *Tutki ja kirjoita*. 13. uudistettu painos. Helsinki: Tammi.

Hyvärinen, R. 2005. Millainen on toimiva potilasohje? Hyvä kieliasu varmistaa sanoman perillemenon. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 121(16), 1769–73 [viitattu 6.9.2012]. Saatavissa: <http://www.terveysportti.fi/xmedia/duo/duo95167.pdf>

Katila, M-L. 2003a. Mikrobiologiset tutkimukset muissa kuin erikoislaboratorioissa. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 339.

Katila, M-L. 2003b. Diagnostiset perusmenetelmät kliinisessä bakteriologiassa ja mykologiassa. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 341–345.

Katila, M-L. & Laatikainen, A. 2003. Kliininen mikrobiologia. Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 338–339.

Kauppila, R. 2003. *Opi ja opeta tehokkaasti - Psyykkinen valmennus oppimisen tukena*. Jyväskylä: PS-kustannus.



Koivusalo, H. & Salenius, H. 2012. *Aistit avoinna oppimaan - Opettajaopiskelijoiden oppimistyyliä ja havainnollistaminen* [verkkajulkaisu]. Tampere: Tampereen ammattikorkeakoulu. Ammatillinen opettajakorkeakoulu. Kehittämishanke [viitattu 9.9.2012]. Saatavissa:

[https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/38518/Koivusalo\\_Salenius.pdf?sequence=2](https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/38518/Koivusalo_Salenius.pdf?sequence=2)

Kokkinen, A., Rantanen-Väntsi, L. & Tuomola, A. 2008. *Aikuisen oppijan kirja*. Helsinki: Kotimaa-Yhtiöt Oy.

Laine, A., Salervo, P., Sivén, T. & Välimäki, P. 2012. *Opi ammattiin*. 4. uudistettu painos. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Niemi, T., Nietosvuori, L. & Virikko H. 2006. *Hyvinvointialan viestintä*. Helsinki: Edita.

Opetusministeriö. 2006. *Ammattikorkeakoulusta terveydenhuoltoon - Koulutuksesta valmistuvien ammatillinen osaaminen, keskeiset opinnot ja vähimmäisopintopisteet* [verkkajulkaisu]. Opetusministeriö. Opetusministeriön työryhmämuistioita ja selvityksiä 2006:24 [viitattu 5.9.2012]. Saatavissa:

<http://www.minedu.fi/export/sites/default/OPM/Julkaisut/2006/liitteet/tr24.pdf>

*Oppimateriaalin kehittäminen* 2012 [verkkosivu]. Oulun yliopisto: Opetuksen kehittämisyksikkö [viitattu 6.9.2012].

<http://www.oulu.fi/opetkeh/kehtoimi/oppimat/index.html>

Otala, L. 1999. *Osaajana opintiellä - Opas elinikäisen oppimisen matkalle*. Helsinki: WSOY.

Packard, N. & Race, P. (toim.) 2003. *Käytännön vinkkejä opetustyöhön*. Suom. Oittila, L. Järvenpää: Yrityssanoma oy.

Thomson, R. & Miller, M. 2003. Specimen collection, transport and processing: bacteriology. Teoksessa Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover, R. (toim.) *Manual of clinical microbiology – volume 1*. 8th edition. Washington DC: ASM Press, 286–330.

Rowland, S. 1995. Bacterial cell structure, physiology, metabolism, and genetics. Teoksessa Mahon, C. & Manuselis, G. Jr. (toim.) *Textbook of diagnostic microbiology*. Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 3-24.

Repo, I. & Nuutinen, T. 2003. *Viestintätaito – opas aikuisopiskelun ja työelämän vuorovaikutustilanteisiin*. Helsinki: Otava.

Savonia-ammattikorkeakoulu 2011. *Opintojaksokuvaus – kliininen mikrobiologia* [verkojulkaisu]. Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu, Sosiaali- ja terveysala. Opetussuunnitelma: Bioanalytiikan koulutusohjelma [viitattu 6.9.2012]. Saatavissa: <http://portal.savonia.fi/amk/opiskelijalle/opetussuunnitelmat/sosiaali-ja-terveysala-kuopio?konr=2483&ojnr=42269&yks=KS>

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2012. *Kliininen Mikrobiologia* [verkkosivu]. Suomen bioanalytikkoliitto ry. [viitattu 05.09.2012]. [http://www.bioanalytikkoliitto.fi/bioanalytikon\\_ammatti/erikoisalajat/kliininen\\_mikrobiologia/](http://www.bioanalytikkoliitto.fi/bioanalytikon_ammatti/erikoisalajat/kliininen_mikrobiologia/)

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2006. *Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet* [verkkodokumentti]. Suomen bioanalytikkoliitto ry. Hyväksytty 18.11.2006 [viitattu 11.10.2012]. Saatavissa: <http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+%281%29.pdf>

**KYSELYLOMAKE****Arvoisa osastonhoitaja!**

Olemme kolme bioanalytikko-opiskelijaa Savonia-ammattikorkeakoulusta ja teemme koulumme toimeksiannosta opinnäytetyötä, jonka aiheena on bioanalytiikan koulutusohjelman kliinisen mikrobiologian opintojakson harjoitustyöohjeiden päivittäminen. Työmme tavoitteena on kehittää bioanalytiikan koulutusohjelman kliinisen mikrobiologian harjoitustyöohjeita ja edistää kliinisen mikrobiologian opetusta koulussamme.

Koulumme harjoitustyötunneilla opetetaan pääasiassa kliinisen mikrobiologian perusmenetelmiä, ja pyrimme saamaan tämän kyselylomakkeen avulla tietoutta yliopistollisten keskussairaaloiden kliinisellä mikrobiologialla käytössä olevista perusmenetelmistä. Saatujen tulosten perusteella pyrimme tuottamaan tuleville bioanalytikko-opiskelijoille ajantasaiset ja parannellut työohjeet.

Toivoisimme että vastaisitte tähän kyselyyn, jotta avullanne voisimme kehittää Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman opetusta kliinisen mikrobiologian perusmenetelmien osalta. Kyselyssä kartoitamme pääasiassa nielu-, märkä- ja virtsaviljelyissä käytettäviä perusmenetelmiä, ja vastausvaihtoehtoina olevat tunnistuskokeet ovat tällä hetkellä käytössä koulussamme.

Mikäli teillä on jotain kysyttävää kyselyyn liittyen, voitte ottaa tarvittaessa yhteyttä meihin.

---

Minna Helenius  
Puh. 040-7181867  
minna.m.helenius@  
edu.savonia.fi

---

Kati Kilpeläinen  
Puh. 044-2921151  
kati.e.kilpelainen@  
edu.savonia.fi

---

Elsa Taponen  
Puh. 044-5755849  
elsa.m.taponen@  
edu.savonia.fi

Opinnäytetyön ohjaaja:

Leena Tikka  
Puh. 044-7856442  
leena.tikka@savonia.fi

Kyselyyn vastatessanne rastittakaa sopiva vaihtoehto. Lisäksi kirjoittakaa avoimiin kysymyksiin sellaisia tunnistuskokeita, jotka teidän mielestänne tulisi lisätä koulumme kliinisen mikrobiologian opintojakson harjoitustyöohjeisiin. Kysely palautetaan ohessa tulevalla palautuskuorella Savonia-ammattikorkeakoululle. Kyselylomakkeen viimeinen palautuspäivä on **13.08.2012**. Kiitos jo etukäteen.

1. Käytättekö seuraavia kokeille ja sauvoille yhteisiä tunnistuskokeita laboratoriossanne?

	Kyllä	Ei
Katalaasikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oksidaasikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Beta-laktamaasikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Värjäys/mikroskopointi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Muut käytössänne olevat kokeille ja sauvoille yhteiset tunnistuskokeet:

---



---



---



---

2. Käytättekö seuraavia gram-negatiivisten sauvojen tunnistuskokeita laboratoriossanne?

	Kyllä	Ei
Api sokerisarjat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Laktoosin käyttö	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nitraattitesti	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Satelliittikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Faktorikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Muut käytössänne olevat gram-negatiivisten sauvojen tunnistuskokeet:

---



---



---



---

3. Käytättekö seuraavia gram-positiivisten kokkien tunnistuskokeita laboratoriossanne?

	Kyllä	Ei
Koagulaasikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Novobiosiinikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Optokiinikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Basitrasiinikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Streptokokkien antigeeninenryhmitys agglutinaatiokokeella	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Termokoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sappieskuliinikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Arabinoosikoe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Muut käytössänne olevat gram-positiivisten kokkien tunnistuskokeet:

---

---

---

---

4. Onko laboratoriossanne käytössä selektiivisiä (kromogeenisiä) maljoja?

Kyllä      Ei  
     

Jos vastasit kyllä niin mitä selektiivisiä maljoja on käytössänne:

---

---

---

---

5. Onko laboratoriossanne käytössä mikrobiologisia pikatestejä?

Kyllä

Ei

Jos vastasit kyllä niin mitä mikrobiologisia pikatestejä käytätte:

---

---

---

---

6. Edellä mainittuja menetelmiä opetetaan koulussamme, olisiko teillä joitakin toiveita/ehdotuksia mitä tutkimuksia koulumme olisi syytä ottaa opetussuunnitelmaansa?

---

---

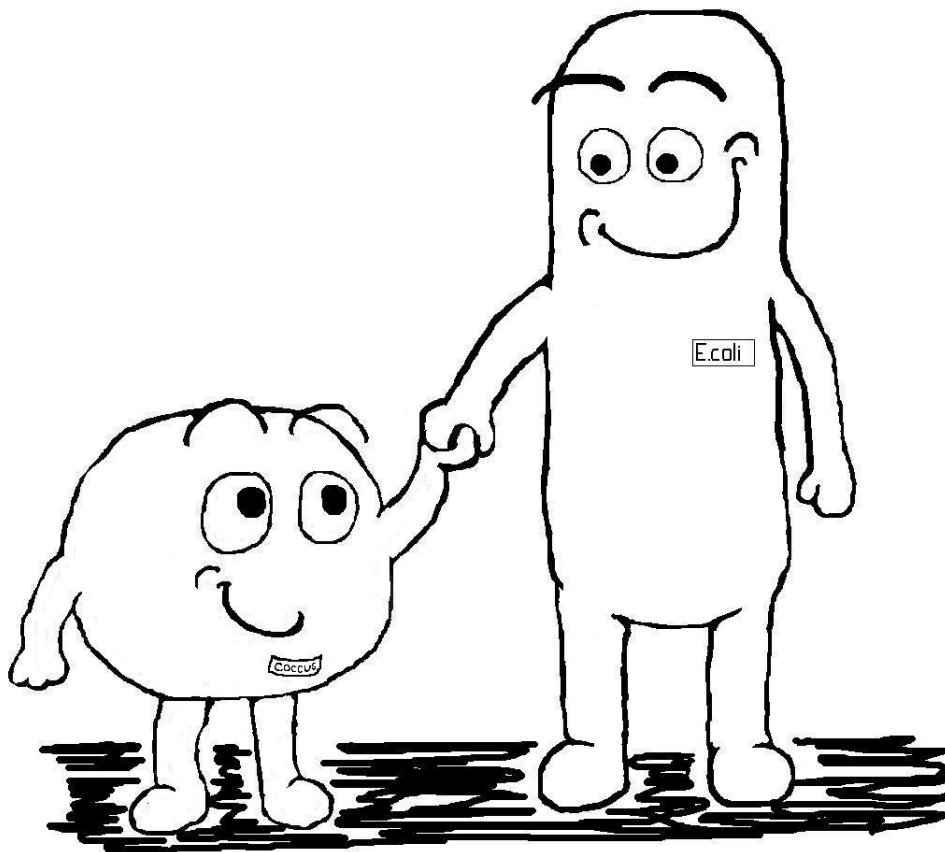
---

---

**Kiitos vastauksestasi.**

Savonia-ammattikorkeakoulu  
Sairaalakatu 6-8  
70100 Kuopio

# Kliinisen mikrobiologian työohjeet



Minna Helenius, Kati Kilpeläinen & Elsa Taponen / Leena Tikka  
Syksy 2012

## SISÄLTÖ

1	JOHDANTO .....	4
2	YLEISIÄ TOIMINTA- JA TYÖSKENTELYOHJEITA .....	5
2.1	Mikrobiologian harjoitustuntien säännöt: .....	5
2.2	Aseptinen työskentely.....	6
2.3	Jätteiden oikea jaottelu .....	7
3	BAKTEERINÄYTTEET .....	8
3.1	Nielunäyte.....	8
3.2	Virtsanäyte.....	9
3.3	Veriviljely .....	10
4	BAKTEERIEN KASVATTAMINEN JA VILJELEMINEN.....	13
5	SAUVA- JA KOKKIBAKTEEREILLE YHTEISIÄ TUNNISTUSKOKEITA.....	15
5.1	Bakteereiden mikroskooppinen tarkastelu.....	15
5.2	Gram-värjäys.....	15
5.3	Katalaasikoe .....	17
5.4	Oksidaasikoe .....	18
6	GRAM-NEGATIIVISTEN SAUVOJEN TUNNISTUSKOKEITA .....	19
6.1	Laktoosinkäyttö.....	19
6.2	API 10 s .....	20
6.3	Haemophilusten tunnistuskokeita .....	22
6.3.1	Satelliittikoe .....	22
6.3.2	Faktorikoe.....	23
7	GRAM-POSITIIVISTEN KOKKIEN TUNNISTUSKOKEITA .....	24
7.1	Gram-positiiviset ryhmäkokit.....	24
7.1.1	Koagulaasikoe .....	24
7.1.2	Staphylococcus aureuksen tunnistaminen SaSelect - Kromogeenisella maljalla.....	25
7.2	Gram-positiiviset ketjukokit.....	26
7.2.1	Hemolyysikoe.....	26
7.2.2	Optokiinikoe.....	27
7.2.3	Basitrasiiinikoe .....	28
7.2.4	Streptokokkien antigeeninen eli Lancefieldin ryhmitys agglutinaatiokokeella.....	28
7.3	D-ryhmän streptokokit = enterokokit .....	30
7.3.1	Sappieskuliinikoe .....	30
7.3.2	Arabinoosikoe.....	31



8	HERKKYYSMÄÄRITYKSET.....	32
8.1	Novobiosiinikoe .....	34
8.2	$\beta$ -laktamaasikoe .....	35
9	MUITA MIKROBIOLOGISIA TUNNISTUSKOKEITA .....	36
9.1	Seerumikoe eli itutesti.....	36
9.2	Nielun pikatesti.....	37
	LÄHTEET .....	39

#### LIITTEET

Liite 1 Gram-positiivisten kokkien jaottelua

Liite 2 Aerobien bakteereiden jaottelua

# 1 JOHDANTO

Tämä työohje on tarkoitettu Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman kliinisen mikrobiologian harjoitustunneille. Työohje sisältää harjoitustyötunneilla tehtävien tunnistuskokeiden ohjeet. Työohjeen alusta löydät myös yleisiä toiminta-, työskentely- ja näytteenotto-ohjeita. Lisäksi työohjeessa on liitteenä yleisimpien bakteereiden tunnistamista helpottavia tunnistuskaavioita.

Työohjeessa olevat ohjeet ovat kaikki tällä hetkellä kliinisen mikrobiologian laboratoriossa käytettyjä bakteereiden tunnistuskokeita. Työohjeeseen on hyvä tutustua huolellisesti jo ennen harjoitustunteja, jotta osaat toimia oikein ja turvallisesti.

Työohje on päivitetty 2012 opinnäytetyönä vanhan työohjeen pohjalta. Lisäksi työohjeeseen päivittämisen apuna on käytetty pienimuotoista kyselykartoitusta sekä muita kirjallisia lähteitä. Kaikki työohjeessa olevat kuvat ovat itse ottamia tai tekemiä ja niiden tekijänoikeudet kuuluvat työohjeen tekijöille. Lisäksi käyttöoikeudet on luovutettu Savonia-ammattikorkeakoululle.

Toivotamme mielenkiintoisia ja mukavia hetkiä mikrobiologian kiehtovassa maailmassa!

## 2 YLEISIÄ TOIMINTA- JA TYÖSKENTELYOHJEITA

Mikrobiologian laboratoriossa tulee työskennellä huolellisesti ja tarkasti, koska työskentelet tauteja aiheuttavien bakteerien kanssa. Laboratoriossa tulee toimia sovittujen sääntöjen mukaisesti. Sääntöjä noudattamalla takaat oman sekä toisten turvallisuuden laboratoriossa ja sen ulkopuolella. Tutustu alla oleviin ohjeisiin ENNEN laboratorioon menoa!

### 2.1 Mikrobiologian harjoitustuntien säännöt:

- Pukeudu asianmukaisesti suojatakkiin ja työkenkiin ennen harjoitustunneille menoa
  - Huomioi suojatakin alla olevat vaateet, jotta kuljeta bakteereita laboratorioluokan ulkopuolelle
  - Suojavaatteissa EI saa lähteä laboratorion ulkopuolelle
  - Laita takki pesuun harjoitusviikon jälkeen
- Käytä tarvittaessa muita asiaankuuluvia suojavarusteita
  - Hanskat, hengityssuojain jne.
- Ehjä iho on paras suoja. Tarkista kätesi ja peitä mahdollinen haava laastarilla sekä käytä hanskoja
- Laboratorioluokassa EI syödä eikä juoda
- Älä laita sormia tai kyniä suuhun laboratoriossa
- Älä koskettele kasvojasi tai hiuksiasi
  - Pitkien hiusten on oltava kiinni
- Älä kaivele korvasi, nenääsi tai kynnenalusiasi
- Sormuksia, kelloja, suuria kaula- ja korvakoruja tai piilolinssesi EI saa käyttää
- Pese ja desinfioi kädet huolellisesti ENNEN työskentelyn aloittamista sekä laboratorioluokasta poistumista
  - Puhelimen käyttö: Pese kädet ennen puhelimen käyttöä sekä sen jälkeen
- Älä työskentele työohjeen päällä

- Pidä työpisteesi puhtaana
  - Puhdista työtasosi ennen töiden aloittamista sekä työpäivän päätteeksi
  - Puhdista työtasosi heti etanolilla, jos siihen roiskahtaa näytettä tai muuta näytettä sisältävää materiaalia
- Siivoa työpisteesi työpäivän loppuun ja järjestele tavarat oikeille paikoilleen yhdessä muiden kanssa
  - Hävitä jätteet ohjeen mukaisesti
  - Muista sammuttaa kaasu

## 2.2 Aseptinen työskentely

Aseptisellä työskentelyllä pyritään estämään ja ehkäisemään mikrobien leviämistä ympäristöön, itseensä tai muihin ihmisiin. Aseptiseen toimintaan vaikuttaa myös oma henkilökohtainen hygienia, terveys ja oma toiminta. Kellojen ja sormusten alle jää usein vettä, jolloin ne tarjoavat edulliset olosuhteet bakteerien kasvulle, ja niiden käyttöä tulee välttää laboratoriotyöskentelyssä. Lisäksi tulee välttää kynsilakan käyttöä sekä kiinnittää huomiota kynsien pituuteen. Rikkiäinen kynsilakan pinta ja pitkien kynsien alusta tarjoavat oivan kasvualustan bakteereille. Kaula- ja korvakorut taas saattavat kontaminoitua laboratorion bakteereista, jolloin viet bakteerit mukana laboratorion ulkopuolelle. Myös nenän ja suun alueiden tai ihon epäpuhtauksien ja näppyloiden koskettelua tulee välttää. On myös tärkeää hallita oikeanlaiset yskimiset ja niistäminen, jotta et aiheuta näytteeseen kontaminaatiota. Edellä mainittuja kohtia noudattamalla voi ehkäistä kontaminaatioiden syntyä omalla kohdallaan.

Suurimpana vaikuttajana aseptiseen toimintaan on oma aseptinen omatunto. Tällä tarkoitetaan aseptisiä toimintatapoja ja työjärjestystä, joita työntekijä noudattaa. Se tarkoittaa siis sitoutumista aseptisten sääntöjen noudattamiseen omassa työskentelyssään. Käsihygienia on yksi tärkeä vaikuttava tekijä aseptisuuteen mikrobiologian laboratoriossa. Käsien pesu tulee aina suorittaa ennen laboratorioon menoa ja ennen sieltä lähtöä. Käsien pesu tulee tehdä aina huolellisesti ohjeita noudattaen. Hanskoja tulee käyttää tarvittaessa. Käytä hanskoja esimerkiksi silloin, kun käsien iho ei ole ehjä tai käsiteltäessä erityistä huomiota vaativia bakteereita

## 2.3 Jätteiden oikea jaottelu

Mikrobiologian harjoitustunneilla syntyy monenlaista jätettä, jotka tulee hävittää oikeaoppisesti. Välineiden ja näytteiden hävitykseen on erittäin tärkeää kiinnittää huomiota ja syntynyt jäte tulee AINA laittaa sille tarkoitettuun jäteastiaan. Alla on lueteltu muutamia vinkkejä, siitä minne mikäkin jäte kuuluu:

Sekajäte:

- Työvälineet

Terveystieteiden erityisjäte:

- Tartuntavaarallinen, biologinen jäte
  - Elatusainemaljat
- Tapaturmavaarallinen jäte
  - Neulat

Ongelmajäte:

- Katso käyttöturvatiedotteet
- Värjäysaineet
  - Erilliseen merkittyyn astiaan: VÄRIJÄTE
- Etanoli-asetoni
  - Erilliseen merkittyyn astiaan: ONGELMAJÄTE
- Reagenssit

Tietosuojajäte:

- Jäte, joka sisältää henkilötietoja

Hyötyjäte:

- Paperi, pakkaukset jne.
- Lasi

## 3 BAKTEERINÄYTTEET

Mikrobiologisia näytteitä otetaan esimerkiksi verestä, ulosteesta, virtsasta, haavoista sekä limakalvoilta. Hyvä mikrobiologinen näyte on otettu oikeasta paikasta, oikeaan aikaan sekä säilytetty asianmukaisesti ennen laboratorioon toimittamista. Mikrobiologisen näytteen laatu ja näytteenottotapa riippuvat epäiltävästä tulehduksesta sekä sitä aiheuttavasta mikrobista. Näyte vaatii aina lähetteen, josta tulee ainakin ilmetä henkilötiedot, näytteenottoaika- ja paikka.

Mikrobiologisia näytteitä ottavat lääkärit ja muu hoitohenkilökunta mutta myös bioanalytikot ja potilaat itse. Bioanalytikolla on iso rooli näytteenoton asiantuntijana ja etenkin potilasnäytteenotossa on tärkeää antaa oikeanlaiset ohjeet näytteenottoon tutkimuksen onnistumisen kannalta. Siksi on erittäin tärkeää ymmärtää mikrobiologisen näytteenoton perusperiaatteet.

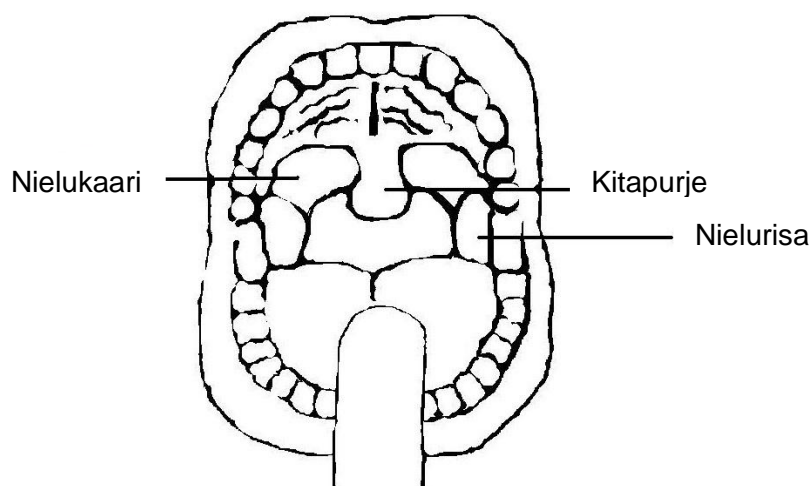
Seuraavaksi työohjeessa esitellään vain harjoitustunneilla tehtävät näytteenotto-ohjeet sekä niiden oikeaoppinen suorittaminen. Muihin näytteenotto-ohjeisiin voi ja kannattaa tutustua esimerkiksi kliinisten laboratorioiden tutkimusohjekirjoista.

### 3.1 Nielunäyte

Yleisimmin nielunäyte otetaan epäiltäessä  $\beta$ -hemolyyttisen streptokokin aiheuttamaa tulehdusta. Oireet virusten ja bakteerien aiheuttamissa tulehduksissa ovat hyvin samankaltaiset ja usein nielukivun aiheuttaja onkin virus jolloin bakteeriviljely jää negatiiviseksi. Nielutulehdusten diagnostiikassa käytetään useimmiten nielun streptokokiviljelyä sekä streptokokki A-antigeeninosoituspikatestiä.

#### **Näytteenotto:**

Ennen näytteenottoa potilaan tulisi välttää ruokailua, juomista sekä suu- ja nielutulehdusta lievittävien kurkkutablettien käyttöä, jotka heikentävät tutkimustulosta. Nielun bakteeriviljelynäyte otetaan pyyhkimällä steriilillä pumpulitikulla napakasti molemmista tonsilloista (nielurisat), nielun takaseinästä tai mahdolliselta tulehdusalueelta (kuva 1). Näytteenoton helpottamiseksi kieltä kannattaa painaa puulastalla ja pyytää potilasta sanomaan ”AAA”. Nielun muiden osien ja suun limakalvojen koskettamista näytteenottotikulla tulee välttää.



Kuva 1 Nielu

Mikäli tutkimuspyyntönä on nielun streptokokkiviljely (Ps-StrVi), näyte viljellään välittömästi hajotusviljelytekniikalla (katso s. 14) verimaljalle tai streptokokkimaljalle ja aseta basitrasiinikiekko viljelmän päälle (katso s. 28). Jos viljely ei ole mahdollista, näytteenottotikku toimitetaan laboratorioon bakteerinkuljetusputkessa. Streptokokki A-antigeeninosoitusnäyte (Ps-StrAAg) otetaan samalla tavalla kuin viljelynäyte. Testi suoritetaan välittömästi ohjeen mukaan (katso s. 37–38) tai näyte tulee toimittaa välittömästi sen tutkivaan laboratorioon. Antigeeninosoitustesti tunnistaa ainoastaan A-ryhmän  $\beta$ -hemolyyttisen streptokokin, siksi testin yhteydessä suositellaan käyttämään maljaviljelystä pikatestin tukena.

### 3.2 Virtsanäyte

Nielutulehdusten ohella virtsatieinfektiot ovat hyvin yleisiä infektioita avohoidossa. Virtsatieinfektion aiheuttavia bakteereita avohoidossa ovat pääasiassa *Escherichia coli*, *Klebsiella* ja *Proteus* – lajit sekä etenkin nuorilla naisilla *Staphylococcus saprophyticus*

#### Näytteenotto:

Virtsan bakteeriviljelystä (U-BaktVi) varten virtsan tulisi olla vähintään neljä tuntia rakossa ennen näytteenottoa. Näytteeksi otetaan keskivirtsanäyte (PLV), mutta virtsanäytteiksi kelpaavat myös katetriveritsa, pussivirtsanäyte tai rakkopunktionäyte. Lähetteeseen merkitään näytteen laatu ja kuinka kauan virtsa on ollut rakossa.

Virtsanäyte voidaan laadusta riippumatta viljellä (katso s. 14) heti näytteenoton jälkeen joko kvantitatiivisesti maljalle (esim. Gled- tai kromogeeniselle maljalle) tai semikvantitatiivisesti Uricult-levylle. Jos näytettä ei pystytä viljelemään heti, se siirretään säilöntäaineelliseen virtsanäyteputkeen.

### 3.3 Veriviljely

Veriviljely (B-BaktVi) pyydetään yleensä silloin, kun epäillään potilaalla olevan sepsis (verenmyrkytys) tai muu vakava infektio, mutta sitä käytetään myös esimerkiksi epäselvän kuumeilun selvittämiseen.

Veriviljelynäyte otetaan veriviljelypulloihin, jotka sisältävät nestemäistä elatusainetta. Aikuisten näytteenotossa veriviljelynäyte otetaan kahteen pulloon aerobi- ja anaerobipulloihin, joissa on erilaiset kasvatusatmosfäärit (Pikkulapsilla oma erityinen pullonsa). Pullopareja otetaan vähintään kahdet ja mielellään eri pistokohdista, jotta pystytään arvioimaan, onko pullossa kasvava bakteeri mahdollisesti kontaminaatio vai oikea taudinaiheuttaja.

Kontaminaation välttämiseksi veriviljelynäytteen ottamisessa on syytä kiinnittää erityishuomiota aseptiikkaa, jotta pystytäisiin estämään kontaminanttibakteereiden pääsy potilaan iholta tai näytteenottajan käsistä veriviljelypulloihin ja välttyttäisiin vääriä positiivisilta tuloksilta.

Näytteenottamisen jälkeen näyte on toimitettava mahdollisimman nopeasti mikrobiologian laboratorioon, jossa veriviljelypullot laitetaan kasvamaan niille suotuisiin olosuhteisiin (aerobi- ja anaerobiatmosfääreissä). Veriviljelyssä menetelmä on rikastusviljely, jossa kasvun ilmaantumista seurataan vähintään viisi vuorokautta.







**Näytteenotto:**

Veriviljelynäyte otetaan seuraavalla tavalla:

**HUOM! Muista että puhtaan näytteen saamiseksi aseptiikka ja hyvä käsihygie-  
nia ovat välttämättömiä!**

	<p>Ota tarvittavat näytteenottovälineet valmiiksi esille.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- siipineula + pulloadapteri</li> <li>- staasi</li> <li>- ihon puhdistustarvikkeet</li> <li>- veriviljelypullot (aerobi- ja anaerobipullo)             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Säilytä pullot huoneenlämmössä va- loilta suojattuna.</li> </ul> </li> </ul>
	<p>Tarkista asiakkaan henkilöllisyys.</p> <p>Etsi ja tunnustele näytteenottokohta.</p> <p>Puhdista näytteenottokohta huolellisesti. Jätä uusi kostutettu taitos näytteenottokoh- taan valmistelujen ajaksi (noin 1 min).</p>
	<p>Tarkista pullojen kunto.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- säröt, pvm, kasvatusliuoksen sameus &amp; pullon pohjan väri</li> </ul> <p>Merkitse pulloon mitta-asteikkoa käyttäen kohta johon asti täytät pullon.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- aikuiset 8-10ml</li> </ul>
	<p>Poista pulloista muovisuojukset.</p>

	<p>Puhdista pullojen suuosat 80 % etanolilla ja anna niiden kuivua.</p>
	<p>Liitä siipineula pulloadapteriin.</p> <p>Poista taitos ja pistä. HUOM! älä tunnustele enää näytteenottoa.</p> <p>Halutessasi voit kiinnittää siipineulan teipillä.</p>
	<p>Täytä ensin aerobipullo (vihreä korkki) painamalla pullo adapteriin. Varmista että veren virtaus alkaa. Pidä pullo pystyasennossa. Täytä pullo merkkiviivaasi asti.</p> <p><b>VÄLTÄ YLITÄYTTÖÄ!</b></p> <p>Pullon täytyttyä merkkiviivaan asti vaihda pullo.</p> <p>Samaa siipineulaa käyttäen voit ottaa muita verinäytteitä.</p>
	<p>Poista neula suonesta.</p> <p>Sekoita pulloja näytteenoton jälkeen pyörittäen, jottei veri hyydy.</p> <p>Kiinnitä tutkimuspyyntötarra pulloon.</p>

## 4 BAKTEERIEN KASVATTAMINEN JA VILJELEMİNEN

Bakteerien tunnistamista varten bakteerinäytteet viljellään keinotekoisille elatusaineille, jotka voivat olla joko kaupallisia tai itse laboratorioissa valmistettuja. Elatusaineet valitaan aina etsittävän bakteerin mukaan, sillä eri bakteereilla on erilaisia kasvuvälineitä. Elatusaineet sisältävät bakteerien kasvamiselle ja lisääntymiselle tarpeellisia ravintoaineita, kuten erilaisia orgaanisia ja epäorgaanisia kemiallisia yhdisteitä. Elatusaineissa on eläimistä tai kasveista peräisin olevia aineita kuten verta, seerumia ja lihauutetta. Maljoihin on joskus myös lisätty antibiootteja muiden bakteerien kasvun estämiseksi.

Viljelyssä käytetään eniten kiinteitä ravintoalustoja eli viljelymaljoja. Kiinteä pohja saadaan merilevypohjaisesta agarista. Kiinteällä ravintoalustalla bakteerit kasvavat erillisinä pesäkkeinä, joten pesäkkeitä on helppo ottaa maljan pinnalta tunnistuskokeita varten. Bakteerien tunnistamisen apuna voidaan hyödyntää pesäkemorfologian tarkastelua.

Puolikiinteät ravintoalustat sisältävät vähemmän agaria kuin kiinteät ravintoalustat. Puolikiinteitä ravintoalustoja hyödynnetään liikkuvien ja liikkumattomien bakteerien erottamiseksi toisistaan.

Nestemäisten ravintoliuoksien tavallisin elatusaine on lihaliemi. Nestemäisiä ravintoliuoksia hyödynnetään rikastusviljelyissä ja kasvattaessa suuria bakteerimääriä.

Viljelyä tehtäessä tulee huomioida myös bakteerin kasvuun sopiva ympäristö. Kasvuun vaikuttavat muun muassa lämpötila, kosteus, pH, osmoottinen paine, hapen ja hiilidioksidin määrä. Happea vaativat bakteerit kasvatetaan normaalissa lämpökaapissa, mutta hiilidioksidia vaativat bakteerit kasvatetaan hiilidioksidikaapissa. Tilanteissa, joissa ei ole käytettävissä hiilidioksidikaappia, voidaan maljat laittaa eksikaattorissa lämpökaappiin. Eksikaattorista poistetaan happi polttamalla sen hiilidioksidiksi palavan kynttilän avulla (kynttilä sammuu itseksensä hapen loputtua, muista valvonta!).

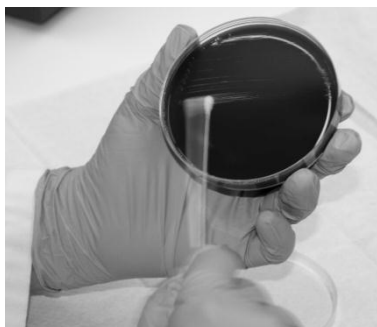
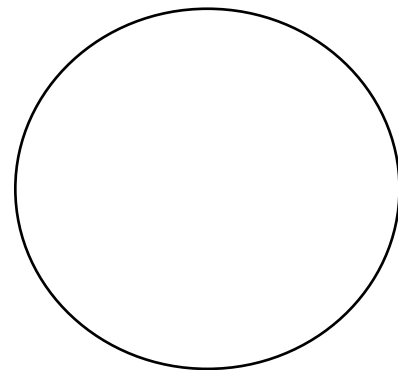
### Rikastusviljely

Tarkoitus on saada näytteessä oleva bakteeri kasvamaan runsaana.

### Hajotusviljely

Tarkoitus on saada näytteessä oleva bakteeri kasvamaan erillisinä pesäkkeinä.

1. Viljele näytteenottotikulla näytettä 1/3:lle maljaa (kuva 2)
2. Vaihda puhdas viljelysauva ja viljele loppumalja (kuva 3)
3. Tee maljaan tarvittavat merkinnät: näytenumero, viljely pvm (kuva 4)



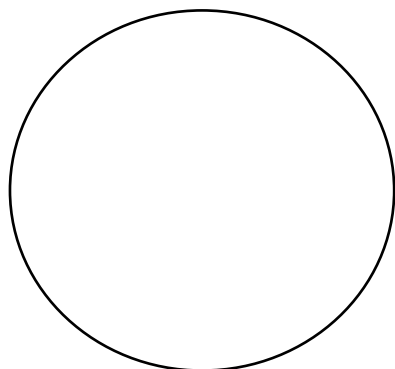
Kuva 2 Viljele 1/3 maljasta



Kuva 3 Ota viljelysauva ja viljele loppumalja



Kuva 4 Tee tarvittavat merkinnät



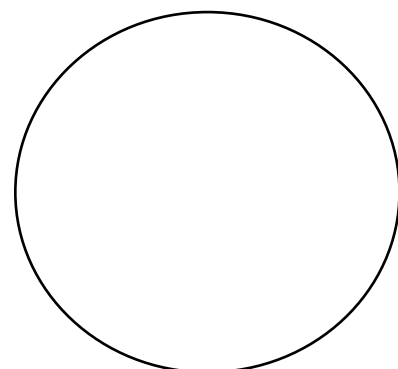
### Puhdasviljely

Tarkoituksena on saada samaa bakteeria kasvamaan runsaasti jatkotutkimuksia varten.

1. Ota tutkittavaa bakteeria viljelysauvalla sen pesäkkeistä  
HUOM! Vältä kontaminaatiota pesäkkeitä poimiessasi
2. Tee viljely samalla tavalla kuin hajotus (koko viljelyn voi tehdä samalla sauvalla).

### Virtsaviljely

1. Sekoita virtsanäyte huolellisesti ennen viljelyä.
2. Kasta 1 µl:n silmukka virtsaan työntämällä se n. 3 kertaa hieman näytteen pinnan alle.
3. Vedä silmukalla veto koko maljan poikki
4. Viljele malja siksak vedoin. Silmukka EI saa koskea maljan reunoja.  
HUOM! Käytössä saattaa olla myös vaihtoehtoisia viljelytapoja.



# 5 SAUVA- JA KOKKIBAKTEEREILLE YHTEISIÄ TUNNISTUSKOKEITA

## 5.1 Bakteereiden mikroskooppinen tarkastelu

Bakteereiden tunnistaminen mikroskopoimalla on yksi mikrobiologian perinteisimmistä bakteereiden tunnistusmenetelmistä. Ennen mikroskopointia näytteet yleensä värjätään. Yleisin mikrobiologian värjäysmenetelmä on gramvärjäys. Käytössä on myös useita muita värjäysmenetelmiä esimerkiksi erilaiset happovärjykset. Työohjeesta löytyy ohje gramvärjäyksen suorittamiseen.

Etsi aluksi näkökenttä 10-kertaisella suurennuksella. Sen jälkeen tutki bakteereita 100-kertaisella suurennoksella immersioöljyn kanssa. Valmista preparaattia mikroskopoidessasi kiinnitä huomiota ainakin seuraaviin asioihin:

1. Värjäytyvyyteen (gram-negatiivinen/positiivinen)
2. Muotoon (kokki, sauva)
3. Bakteereiden ryhmittymiseen (ryhmä, ketju)

HUOM! Muista ottaa huomioon myös mahdolliset artefaktat, sillä bakteereiden morfologia voi muuttua esimerkiksi antibioottihoidon seurauksena.

## 5.2 Gram-värjäys

### Periaate

Värjäyksen erot perustuvat gram-positiivisten ja gram-negatiivisten bakteerien soluseinämien rakenne-eroihin. Gram-negatiivisten bakteerien soluseinäma sisältää etanoliliukoisia lipidejä, jonka vuoksi kristallivioletti-jodikompleksi pääsee poistumaan solusta alkoholikäsittelyn yhteydessä. Gram-positiivisilla bakteereilla alkoholikäsittely kutistaa paksun peptidoglykaaniseinämän, jolloin muodostuu tiheä polymeeriverkko, jonka läpi kristallivioletti-jodikompleksi ei mahdu poistumaan.

Alkoholikäsittelyn yhteydessä gram-negatiivisista bakteereista tulee ”värittömiä”, siksi lopuksi suoritetaan vastavärjäys safrariinilla.

## Välineet

Objektilasi, laboratoriotikku tai viljelysauva, imupaperi

Reagenssit: 0,9 % NaCl (tai steriili vesi) Kristallivioletti 2 %, Lugolin liuos, etanoli-asetoni väriinpoistoliuos (1:1) & Safraniini

## Suoritus

### Valmisteen teko

1. Tiputa pisara 0,9 % NaCl:a objektilasille
2. Ota viljelysauvalla tutkittavaa näytettä
3. Sekoita näyte objektilasilla olevaan pisaraan
4. Ilmakuivaa preparaatti jonka jälkeen värjää se

Näyte voidaan ottaa suoraan potilaasta (esim. likvor ja nivelneste), ravintoalustalta (hajotus- tai puhdasviljelmältä) tai ravintoliuoksesta.

### Värjäys

1. Kiinnitä preparaatti kuumentamalla
2. Anna lasin jäähtyä ennen värin lisäämistä.
3. Peitä kiinnitetty näytealue kristallivioletilla, anna värin vaikuttaa 1 minuutti.
4. Poista väri huuhtelemalla Lugolin liuksella.
5. Peitä näytealue Lugolin liuksella, anna vaikuttaa 1 minuutti.
6. Huuhdo ylimääräinen Lugolin liuos pois juoksevalla vedellä
7. Huuhdo preparaatti väriinpoistoliuksella noin 30 sekuntia.
8. Huuhdo preparaatti nopeasti juoksevalla vedellä.
9. Peitä näytealue Safraniinin liuksella ja anna vaikuttaa 30 sekuntia.
10. Huuhdo nopeasti juoksevalla vedellä.
11. Kuivaa lasi imupaperilla, anna kuivahtaa hetki ilmassa ja mikroskopoi.

### Virhelähteet

Liian vanha pesäke voi aiheuttaa gram-positiivisen bakteerin virheellisen värjäytymisen gram-negatiiviseksi.

## Tuloksen tulkinta

Gram-positiivinen → Sininen / Tummanvioletti

Gram-negatiivinen → Punainen

## 5.3 Katalaasikoe

Käytetään streptokokkien ja stafylokokkien erotusdiagnostiikassa.

### Periaate

Stafylokokkien tuottama katalaasientsyymi hajottaa vetyperoksidin hapeksi ja vedeksi, mikä ilmenee kuplintana.

### Välineet

Objektilas/maljan kansi, viljelysilmukka/-sauva tai laboratoriotikku.

Reagenssi: 3 % vetyperoksidi

### Suoritus

1. Tiputa aluslasille 1-2 tippaa 3 % vetyperoksidia.
2. Ota steriilillä silmukalla/sauvalla/puutikulla bakteerimassaa maljalta.
3. Suspensoi bakteerimassa vetyperoksidi pisaraan.
4. Tarkastele kuohuuko näyte.

### Virhelähteet

Testi suositellaan tehtäväksi verettömällä alustalla kasvaneista pesäkkeistä tai varovasti pelkkää bakteerimassaa poimien verialustalta. Punaiset verisolut saattavat aiheuttaa kuplintaa. Kuplinta on tosin heikompaa verrattuna positiiviseen tulokseen.

Platinasilmukkaa ei tulisi käyttää, koska se aiheuttaa kuplintaa ollessaan tekemisissä vetyperoksidin kanssa.

### Tuloksen tulkinta

Katalaasi positiivinen (stafylokokki) → Vetyperoksidi kuohuu (kuva 5)

Katalaasi negatiivinen (streptokokki) → Vetyperoksidi ei kuohu



Kuva 5 Vetyperoksidi kuohuu (positiivinen tulos)

## 5.4 Oksidaasikoe

Käytetään gram-negatiivisten bakteereiden erotteluun. Oksidaasi-positiivisia bakteereja ovat esimerkiksi Aeromonakset, Plesiomonakset, Kampylobakteerit, Neisseriat sekä osa Pseudomonaksista ja Pasteurelloista

### Periaate

Oksidaasiposiitiivisen bakteerin sisältämä sytokromioksidaasi hapettaa oksidaasireagenssin (tetrametyyli-p-fenyleenidiamiini dihydrokloridi) indofenoliksi, mikä ilmenee sinertävänä värinä.

### Välineet

Imupaperi, laboratoriotikku/viljelysauva

Reagenssit: Oksidaasireagenssi (valmistetaan liuottamalla 50 mg tetramethyl-p-phenylenediamiini dihydrochloridi jauhe 5 ml:aan vettä)

### Suoritus

Testi suositellaan tehtäväksi epäselektiiviseltä maljalta.

Maljalla: Pudota tippa oksidaasireagenssia tutkittavan pesäkkeen päälle.

Imupaperilla: Kostuta pala imupaperia (tai muuta huokoista paperia) oksidaasireagenssilla. Ota tutkittavaa pesäkettä steriilillä puutikulla/viljelysauvalla ja hiero se kostutetulle imupaperille.

### Tuloksen tulkinta

Oksidaasiposiitiivinen → Sininen / Violettiväri (10-30 sekunnin kuluessa!)

Oksidaasinegatiivinen → Ei värin muutosta



## **6 GRAM-NEGATIIVISTEN SAUVOJEN TUNNISTUS- KOKEITA**

### **6.1 Laktoosinkäyttö**

Osa enterobakteereista on laktoosiposiitivisia ja osa laktoosinegatiivisia. Suolistopatoogeenit, kuten Salmonella ja Shigella ovat laktoosinegatiivisia. Proteukset ja Pseudomonakset ovat myös negatiivisia. E.coli -kannoissa on molempia, mutta yleisimmin ne ovat laktoosiposiitivisia.

#### **Periaate**

Bakteeri käyttää kasvualustansa laktoosia, mikä ilmenee maljan värin muutoksena.

#### **Välineet**

Cled-malja, viljelyvälineet

#### **Suoritus**

1. Viljele tutkittavaa bakteeria Cled-maljalle.
2. Inkuboi maljaa lämpökaapissa +35-36 °C:ssa yön yli.
3. Tarkastele mahdollista värin muutosta maljalla.

#### **Tuloksen tulkinta**

Laktoosiposiitivinen → Keltainen

Laktoosinegatiivinen → Sininen / Vihreä

## 6.2 API 10 s

### Periaate

Gram-negatiiviset sauvat ja enterbakteerit voidaan luokitella ja nimetä tutkimalla niiden biokemiallisia ominaisuuksia. API 10 S – liuska sisältää 10 mikrotaskua, joissa on kuivattuja substraatteja. API 20 E-liuskalla näitä mikrotaskuja on 20. Bakterin aineenvaihdunta aiheuttaa värinmuutoksen, jota tulkitaan testin mukana tulevan taulukon avulla.

### Välineet

Api-testiliuska ja -kotelo, steriiliä vettä, koeputki, Cled-malja, viljelysauva, pasteuripetti, steriiliä parafiiniöljyä

Reagenssit: TDA-reagenssi (ferrikloridi), Indolireagenssi (Kovacs)

### Suoritus

API 10 S:

1. API-kotelon pohjalle kaadetaan hieman steriiliä tislattua vettä kosteuden ylläpitämiseksi. Tunnistetiedot kirjoitetaan kotelon pidennettyyn päähän. Liuska laitetaan koteloon.
2. Otetaan yksi pesäke tutkittavaa bakteeria ja suspensoidaan se 3 ml:aan steriiliä tislattua vettä koeputkessa.
3. Pasteur-pipetillä lisätään bakteerisuspensiota kaikkiin liuskan taskuihin liuskaa kallistaen, ilmakuplien syntymistä tulisi välttää. ICITI – taskussa täytetään myös kuplaosa bakteerisuspensiolla.
4. Bakteerisuspensiosta tehdään lisäksi häntämalja testin puhtauden ja bakterin laktoosin käytön tarkastelemiseksi. Häntämalja tehdään viljelemällä bakteerisuspensiota Cled-maljalle. Vie malja inkuboitumaan lämpökaappiin +35–36 °C:een yön yli.
5. LDC-, ODC-, H<sub>2</sub>S- ja URE- taskuissa täytetään kuplaosat öljyllä anaerobisen ilmaston luomiseksi. Varotaan kontaminoimasta öljyruiskun neulaa bakteerisuspensiolla!
6. Sulje kotelo kannella ja inkuboi sitä lämpökaapissa +35–36 °C:ssa yön yli.
7. Seuraavana päivänä lisätään TDA-taskuun tippa TDA-reagenssia (ferrikloridia) ja IND-putkeen tippa indolireagenssia (Kovacs).
8. Tulokset luetaan värimuutosten perusteella reagenssivalmistajan ohjeen mukaan.

### Tuloksen tulkinta

Tulkintataulukon avulla merkitään kunkin testin kohdalle + tai - tulosliuskaan. Siinä testit on eritelty kolmen ryhmiin ja pisteytetty 1, 2 ja 4. Jokaisessa ryhmässä lasketaan positiivisten tulosten pisteet yhteen ja näin saadaan nelinumeroinen profiili, jota verrataan testivalmistajan taulukkoon.

### API 10 S:N TULKINTATAULUKKO

Testi	Negatiivinen tulos	Positiivinen tulos
ONPG	väritön	keltainen
GLU	sininen	keltainen / sinivihreä
ARA	sininen / sinivihreä	keltainen
<u>LDC</u>	keltainen	oranssi
<u>ODC</u>	keltainen	punainen / oranssi
<u>ICITI</u>	vaalean vihreä / keltainen	sinivihreä / sininen
<u>H<sub>2</sub>S</u>	väritön / harmahtava	musta sakka / ohut viiva
<u>URE</u>	keltainen	punainen / oranssi
TDA *	keltainen	tumman ruskea
IND *	väritön / vaal.vihreä / keltainen	vaalean punainen
OX	väritön	violetti
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	keltainen	punainen

\*Värimuutos välittömästi reagenssilisäyksen jälkeen!

Lopuksi tarkastellaan häntämalja, josta nähdään bakteerin laktoosinkäyttö, kasvaminen maljalla ja kasvaako se puhtaana (kontaminaatioiden mahdollisuus tekovaiheessa).

## 6.3 Haemophilusten tunnistuskokeita

Haemophilukset ovat pieniä gram negatiivisia sauvoja (joskus hyvin kokkimainen. Värjäyksessä voi myös näkyä pidempiä, ohuita sauvoja pienten sauvojen joukossa). Haemophilukset kolonisoivat nenänielua ja suun limakalvoja, joten sieltä ovat tavallisimmat infektiotkin lähtöisin: otiitti, sinuiitti ja konjunktiviitti. Ihmisellä yleisimpiä taudinaiheuttajia ovat *Haemophilus influenzae*, *H.parainfluenzae* ja *H.aphrophilus*. Bakterisuvun erikoisuus on *H.ducreyi*, joka aiheuttaa pehmeän sankkerin (sukupuolitauti).

Haemophilukset kasvavat suklaamaljalla pieninä harmaina pesäkkeinä. Verimaljalla ne eivät yleensä kasva puhdasviljelmänä (huom. satelliittikoe).

### 6.3.1 Satelliittikoe

#### Periaate

Haemofilukset tarvitsevat verimaljalla kasvaakseen lähelleen toisen bakteerin, joka hemolysoi punasoluja ja näin maljalta vapautuu haemofilusten tarvitsemia kasvutekijöitä.

#### Välineet

Verimalja, viljelyvälineet ja *Staphylococcus aureus*- kanta.

#### Suoritus

Tutkittava bakteeri viljellään verimaljalle siksak-viljelmänä, jonka yli vedetään viiva hemolyyttistä *Staphylococcus aureus*-kantaa uudella steriilillä viljelysauvalla.

Inkuboi maljaa CO<sub>2</sub>:ssa yön yli.

#### Tuloksen tulkinta

Kaikki Haemophilukset ovat satelliitti-positiivisia (=S.aureus viiva kasvaa voimakkaasti ja sen läheisyydessä Haemophilus pienenä pesäkkeenä), paitsi *H.aphrophilus*, joka kasvaa verimaljalla CO<sub>2</sub>:ssa.

### 6.3.2 Faktorikoe

#### Periaate

Eri haemofiluslajit tarvitsevat erilaisia kasvutekijöitä, joiden avulla ne voidaan erottaa toisistaan. X-kiekko sisältää hemiiniä, V-kiekko NAD:ia ja XV-kiekko hemiiniä että NAD:ia. Viljelyyn käytettävä Müller-Hinton-malja ei sisällä hemiiniä tai NAD:ia.

#### Välineet

Koeputki, Müller-Hinton-malja, X-, V- & XV-kiekot, dreijja, pumpulipuikko.

Reagenssit: 0,9% NaCl



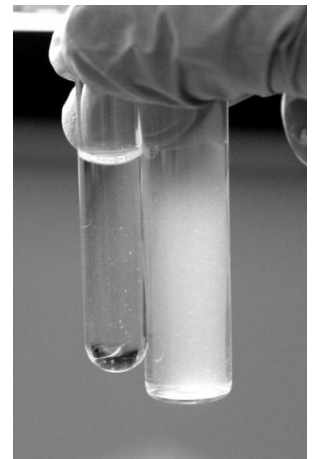
Kuva 6 Faktorikoe maljan merkinnät

#### Suoritus

1. Tee tutkittavasta bakteerista suspensio 0,9 % NaCl:iin (n.0,5 McFarland).
2. Dreijjaa (katso s. 33) suspensiota tasaisesti Müller-Hinton-maljalle
3. Merkitse faktorikiekkojen X, V ja XV paikat (kuva 6).
4. Aseta faktori kiekot merkityille paikoille
5. Inkuboi maljaa CO<sub>2</sub>:ssa yön yli.
6. Tarkastele bakteerin kasvua maljalla

HUOM! 0,5 McFarlandia tarkoittaa n. 10<sup>8</sup> elävää bakteeria/ml.

Silmämääräisesti näyttää maitomaiselta (kuva 7).



Kuva 7 0,5 McFarlandin (oikea) ja veden (vasen) ero.

#### Tuloksen tulkinta

Bakteerin kasvaessa vain XV-kiekon ympärillä, on kyseessä

*Haemophilus influenzae*

Faktori eli kasvutekijävaatimukset:

Bakteeri	X	V
<i>H.influenzae</i>	+	+
<i>H.parainfluenzae</i>	-	+
<i>H.aphrophilus</i>	-	-

Haemophiluksille on oma herkkyysmalja ja – paneeli. Haemophiluksille tehdään lisäksi aina beeta-laktamaasitesti (katso s. 35).

## 7 GRAM-POSITIIVISTEN KOKKIEN TUNNISTUS- KOKEITA

### 7.1 Gram-positiiviset ryhmäkokit

#### 7.1.1 Koagulaasikoe

Käytetään erottamaan *Staphylococcus aureus* muista stafylokokkeista. Koagulaasikokeen rinnalla tehdään aina Sa-kasvukoe, tulosten on oltava yhtäläiset.

#### Periaate

Koagulaasi on termostabiili entsyymi, jota löytyy lähinnä *S.aureuksesta*. Se aiheuttaa ihmis- tai kaninplasman fibrinogeenin koaguloitumisen eli hyytymisen. Koagulaasientsyymi on myös kahdella muulla stafylokokilla (*S. intermedius* ja *S. Hyiucus*), mutta niitä löydetään vain harvoin kliinisistä näytteistä.

#### Välineet

Koeputkia, viljelysauva

Reagenssit: Kaupallinen kaninplasma (HUOM! Testaukseen eivät sovi muut eläinplasmat), steriili vesi

#### Suoritus

Plasma liuotetaan valmistajan ohjeiden mukaan.

1. Suspensoi runsas ympäri tutkittavaa bakteeria n. 0,3ml plasmaa.
2. Inkuboi putkea +35 °C:ssa yön yli.
3. Tarkastele onko putkeen muodostunut hyytymää, putkea ei saa ravistaa! (kuva 8)



Kuva 8 Koagulaasikokeen tulosten tulkinta: ylemmässä putkessa hyytymä (positiivinen)

#### Tuloksen tulkinta

*Staphylococcus aureus* → Putkeen on muodostunut hyytymä

Koagulaasi negatiivinen stafylokokki → Plasma liikkuu vapaasti, eikä ole havaittavissa olevaa hyytymää

### 7.1.2 Staphylococcus aureuksen tunnistaminen SaSelect - Kromogeenisella maljalla

SaSelect-malja on suunniteltu *S.aureuksen* tunnistamiseen 18-24 tunnissa.

#### Periaate

Tunnistus perustuu fosfataasientsyymiin, minkä vuoksi *S. aureus* pesäkkeet ovat maljalla väriltään vaaleanpunaisesta oranssiin. Jos stafylokokilla on glykosidaasientsyymi, pesäkkeet ovat sinisiä. Jos tutkittavalla kannalla ei ole kumpaakaan entsyymiä, pesäke kasvaa valkoisena tai kellertävänä.

#### Välineet

SaSelect-malja, viljelyvälineet

#### Suoritus

1. Viljele tutkittava kanta maljalle joko suoraan pesäkkeestä tai herkkyysuspensiosta. Viljely tehdään pienelle alueelle hajotusviljelynä (yhdelta maljalla voi viljellä useamman näytteen).
2. Inkuboi maljaa 18-24 tuntia +35 °C:ssa.
3. Tarkastele maljaa ja bakteeripesäkkeiden värejä.

HUOM! Jos inkubointi ylittää 24 tuntia, pinkit ja oranssit pesäkkeet on varmistettava koagulaasi tai slide-testillä.

#### Virhelähteet

Jos maljalle siirretty bakteerimäärä on hyvin runsas, viljelykohta näyttää värikkäämmältä kuin itse pesäkkeet.

Jos maljalle viljellään näyte suoraan ilman hyvää hajotusta, pesäkkeiden väri saattaa jäädä kehittymättä.

Jotkut stafylokokkikannat eivät kasva maljalla

#### Tuloksen tulkinta

*S. Aureus* → Vaaleanpunainen / Oranssi

*S. Epidermidis* → Valkoinen / Haalean punainen (pesäkkeet pieniä)

*S. Saprophyticus* → Sininen / Turkoosi

## 7.2 Gram-positiiviset ketjukokit

### 7.2.1 Hemolyysikoe

Käytetään streptokokkien tunnistamiseen.

#### Periaate

Streptokokkien erittämät eksotoksiinit hajottavat verimaljan tai streptokokkimaljan punasoluja. Kun punasolut hajoavat kokonaan, syntyy kirkas hemolyysi eli  $\beta$ -hemolyysi. Kun punasolut hajoavat vain osittain syntyy vihreä hemolyysi eli  $\alpha$ -hemolyysi. Kun hemolyysia ei ole havaittavissa, puhutaan non-hemolyysistä.

#### Välineet

Viljelyvälineet, veri- tai streptokokkimalja

#### Suoritus

Tehdään hajotusviljely veri- tai streptokokkimaljalle. Inkuboi maljaa CO<sub>2</sub>-ympäristössä lämpökaapissa +35–36 °C:ssa yön yli.

#### Virhelähteet

HUOM! myös esim. *E. coli*, muut gram-negatiiviset sauvat, *S. aureus* ja *Listeria monocytogenes* voivat aiheuttaa kirkkaan hemolyysin verimaljalla.

#### Tuloksen tulkinta

$\beta$ -hemolyyttinen streptokokki → Kirkas hemolyysi

$\alpha$ -hemolyyttinen streptokokki → Vihreä hemolyysi

Non-hemolyyttinen streptokokki / muu bakteeri → Ei silmin nähtävää hemolyysiä (Vaalea / Harmahtava kasvu)



## 7.2.2 Optokiinikoe

### Periaate

Optokiini estää pneumokokin kasvua.

### Välineet

Verimalja, viljelyvälineet

Reagenssit: Optokiiniekko

### Suoritus

1. Viljele tutkittavaa bakteeria verimaljalle tiheäksi kasvustoksi.
2. Aseta optokiiniekko viljelmän päälle.
3. Inkuboi maljaa CO<sub>2</sub>-ympäristössä lämpökaapissa +35–36 °C:ssa yön yli.
4. Mittaa estorenkään halkaisija ja vertaa tulosta optokiiniekon valmistajan rajoihin.

### Tuloksen tulkinta

Optokiiniekkoja on saatavilla useilta eri valmistajalta, joten tarkista tulkintarajat aina valmisteen pakkauksesta!

### 7.2.3 Basitrasiiinikoe

#### Periaate

Bacitrasiiini estää *Streptococcus pyogenes* kasvu.

#### Välineet

Veri- tai streptokokkimalja tai streptocult alusta

Reagenssit: Basitrasiiinikiekko

#### Suoritus

1. Viljele tutkittavaa bakteeria maljalle tai streptocult alustalle.
2. Aseta basitrasiiinikiekko viljelmän päälle.
3. Inkuboi maljaa lämpökaapissa +35–36 °C:ssa yön yli. Streptocult alustaa kasvatetaan +35 °C:ssa yli yön.
4. Mittaa estorenkään halkaisija.

#### Tuloksen tulkinta

Bacitrasiiini positiivinen eli *S. Pyogenes* → Estorenkään halkaisija yli 15 mm

Bacitrasiiini negatiivinen → Estorenkään halkaisija alle 15 mm

### 7.2.4 Streptokokkien antigeeninen eli Lancefieldin ryhmitys agglutinaatiokokeella

#### Periaate

Tyypitys Lancefieldin ryhmiin perustuu  $\beta$ -hemolyyttisten streptokokkien pinnalla olevien erilaisten hiilihydraattirakenteiden perusteella.

#### Välineet

Koeputki, viljelysauva

Reagenssit: Kaupallinen Strep Plus Kit (Oxoid): latex reagenssit ryhmille A, B, C,G.

(Reagenssit säilytetään jääkaapissa pystyasennossa ja otetaan huoneenlämpöön n. puoli tuntia ennen käyttöä!)

**HUOM! Jos käytössä on joku muu kaupallinen kitti kuin Strep Plus Kit, niin tutustu aina ensin valmistajan ohjeeseen!**

## Suoritus

1. Tiputa koeputkeen 3 tippaa **reagenssia 1**.
2. Lisää koeputkeen 3 tippaa **reagenssia 2**, jolloin väri muuttuu sinisestä kellertäväksi.
3. Lisää koeputkeen puhtaita tutkittavia bakteeripesäkkeitä: sopiva määrä on sellainen, jolla tulee heikosti samea suspensio.
4. Lisää koeputkeen 3 tippaa **reagenssia 3**, jolloin suspensio muuttuu takaisin siniseksi.
5. Annostele jokaiseen testiympyrään yksi tippa hyvin sekoitettua huoneenlämpöistä latexreagenssia. A-latexia omaan ympyrään, B-latexia omaan jne.
6. Lisää pasteuripipetillä 1 tippa tutkittavaa bakteerisuspensiota jokaiseen testiympyrään latex-reagenssitipan viereen.
7. Sekoita kunkin ympyrän tipat keskenään esimerkiksi laboratoriotikulla. HUOM! Vaihda aina tikkua testiympyröiden välillä!
8. Keinuta testilevyä varovaisesti, korkeintaan minuutin ajan.
9. Lue muodostunut sakka (kuva 9).

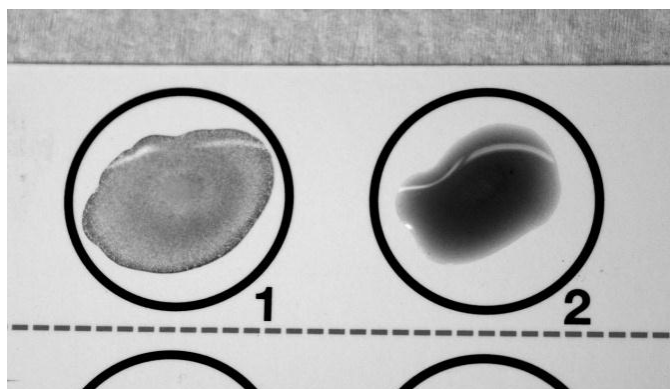
### Virhelähteet:

Epäpuhtaiden bakteeripesäkkeiden käyttö tai kontaminaatio jossain työvaiheessa voi aiheuttaa sakan muodostumisen useampaan testiympyrään. Tee uusi testi.

### Tuloksen tulkinta

$\beta$ -hemolyyttisen bakteeri → Sakka

Muu bakteeri kuin  $\beta$ -hemolyyttinen streptokokki → Ei sakkaa



Kuva 9 Sakan muodostuminen vasemalla.

## 7.3 D-ryhmän streptokokit = enterokokit

Tämän ryhmän streptokokit kuuluvat elimistön eri alueiden, varsinkin genitaalialueen ja suoliston, normaaliflooraan. Tavallisimmat kl.näytteissä esiityvät enterokokit ovat *Enterococcus faecalis* ja *Enterococcus faecium*.

Kasvuvaatimuksiltaan ne ovat vaatimattomampia. Veri- ja streptokokkimaljalla ne kasvavat harmaina pieninä pesäkkeinä. Aerobikasvatuksessa se on alfa- tai nonhemolyyttinen, mutta anaerobissa usein beta-hemolyyttinen.

### 7.3.1 Sappieskuliinikoe

Käytetään enterokokkien erottamiseksi muista streptokokeista.

#### Periaate

Enterokokit pystyvät lisääntymään maljalla, joka sisältää sappisuoloja, eskuliinia ja rautaa. Enterokokkien hajottamasta eskuliinista muodostunut metabolituote reagoi raudan kanssa, mikä ilmenee maljalla mustana värinä.

#### Välineet

Herkkyysmalja

Reagenssit: Eskuliinikiekko tai eskuliinimalja

#### Suoritus

Eskuliinikiekolla:

Herkkyysmaljalle lisätään antibioottikiekkojen lisäksi eskuliinikiekko.

Eskuliinimaljalla:

1. Vedä tutkittavasta bakteerista viiva sappieskuliinimaljalle.
2. Inkuboi maljaa lämpökaapissa +35–36 °C:ssa yön yli.
3. Tarkastele kasvaako maljalla mustia bakteeripesäkkeitä.

#### Tuloksen tulkinta

Sappieskuliinikiekko:

Sappieskuliini positiivinen → Kiekon ympärillä kasvaa mustia pesäkkeitä

Sappieskuliinimalja:

Sappieskuliini positiivinen → Maljalla kasvaa mustia bakteeripesäkkeitä

### 7.3.2 Arabinoosikoe

Käytetään *Enterococcus faeciumin* ja *Enterococcus faecalis* erottamiseen toisistaan.

#### Periaate

*E. faecium* fermentoi arabinoosia muuttaen maljan violetin värin keltaiseksi. *E. Faecalis* taas ei saa maljaa muuttamaan väriä.

#### Välineet

Viljelyvälineet, arabinoosimalja

#### Suoritus

1. Viljele tutkittavaa bakteeri arabinoosimaljalle. (Yhdelle maljalle voi viljellä useamman näytteen!)
2. Kasvata yön yli +35 °C:ssa.
3. Tarkastele maljaa seuraavana päivänä.

#### Tuloksen tulkinta

*E. faecium* → Keltainen

*E. faecalis* → Ei värimuutosta (violetti)

Bakteeri	Arabinoosi	Sappieskuliini
<i>E. faecium</i>	keltainen	positiivinen
<i>E. faecalis</i>	violetti	positiivinen

## 8 HERKKYYSMÄÄRITYKSET

Bakteerien herkkyyden ja bakteerilääkkeen tehon mittana käytetään **MIC-arvoa** eli **Minimal Inhibitory Concentration**. Voidaan määrittää myös **MBC-arvo** eli **Minimal Bacterial Concentration**. Lääkeherkkyys voidaan määrittää usealla eri menetelmällä, joita ovat agardiffuusimenetelmä (kiekkomenetelmä), laimennusmenetelmä (E-testi), entsyymimääritykset ja geenimenetelmät.

Herkkyyssluokat kansainvälisesti käytetyn SIR-järjestelmän mukaan ovat:

**S** (susceptible) = Bakteeri herkkä tutkitulle antibiootille normaalilla hoitoannoksella.

**I** (intermediate) = Tutkittu antibiootti käyttökelpoinen vain korkeilla annoksilla.

**R** (resistant) = Bakteeri vastustuskykyinen tutkitulle antibiootille eli resistentti.

### Periaate

Lääkekiekosta diffundoituva lääkeaine estää bakteerin kasvun kiekon ympäriltä ja sitä suuremmalta alueelta mitä herkempi bakteeri on kyseiselle lääkkeelle.

### Välineet

Viljelysauva, Müller-Hinton-malja, pumpulitikku, dreija

Reagenssit: 0,9 % NaCl-putki, antibioottikiekot

Avaamattomat antibiootit ja antibioottiannostelijat säilytetään jääkaapissa ja ne tulisi nostaa huoneenlämpöön noin tuntia ennen annostelua. Avatut antibiootit säilyvät noin kuukauden.

## Suoritus

1. Tee puhtaasta ja tuoreesta bakteerikasvustosta(3-5 pesäkettä) ympä 0,5 ml:aan steriiliä 0,9 % NaCl:a. McFarland 0,5 HUOM! Ympä tulee siirrostaa maljalle 15 minuutin kuluessa ympin valmistamisesta.
2. Kasta steriili pumpulitikku suspensioon ja kuivaa ylimääräinen neste putken sisäreunaan.
3. Vedä pumpulitikulla herkkyysmaljan pinnalle poikkiviiva. Levitä samalla tikulla suspensio koko maljalle dreijan avulla. HUOM! Älä paina tikkua liian kovasti! Vältä myös koskettamasta maljan reunoja, jottei syntyisi aerosoleja.
4. Annostele antibioottikiekot maljalle käsin tai antibioottiannostelijalla.
5. Inkuboi maljoja kyseessä olevan bakteerin vaatimassa kasvuympäristössä yön yli.
6. Mittaa seuraavana päivänä lääkeaineiden aiheuttamien estorenkaiden halkaisijat (mm).



Kuva 10 Dreijaamisen aloittaminen

Kuva 11 Dreijaamisen lopettaminen

Kuva 12 Antibioottikiekot maljalla

## Tuloksen tulkinta

Tarkista aina lääkeainekohtaiset rajat. Asiakkaalle annetaan vastaus herkkyysluokkina S, I tai R

## 8.1 Novobiosiinikoe

Käytetään erottamaan *Staphylococcus saprophyticus* muista stafylokokkeista virtsanäytteissä.

### Periaate

*S.saprophyticus* on resistentti novobiosiinille. Muut virtsasta löydettävät kliinisesti merkitsevät koagulaasinegatiiviset stafylokokit ovat taas herkkiä novobiosiinille.

### Välineet

Muller-Hinton-malja

Reagenssi: Novobiosiinikiekko

### Suoritus

1. Lisää herkkyysmäärityksen yhteydessä maljalle 5 µg novobiosiinikiekko.
2. Inkuboi maljaa lämpökaapissa +35–36 °C:ssa yön yli.
3. Mittaa estorenkään halkaisija.

### Tuloksen tulkinta

*Staphylococcus saprophyticus* → Estorenkään halkaisija vähemmän kuin 15 mm (Novobiosiini R)



## 8.2 $\beta$ -laktamaasikoe

Monet kliinisesti tärkeät bakteerit tuottavat  $\beta$ -laktamaasientsyymiä, joka pystyy hajottamaan  $\beta$ -laktaamiantibiootteja.  $\beta$ -laktamaasientsyymiä tavataan staphylokokeilla, haemophiluksilla, *Branhamella catarrhaliksella*, *Neisseria gonorrhoea*lla, enterokokeilla ja anaerobibakteereilla.

### Periaate

Beta-laktamaasitestissä käytetään nitrocefiinillä (värillinen kefalosporiini) kyllästettyjä paperikiekkkoja.  $\beta$ -laktamaasi hydrolysoi  $\beta$ -laktaamirenkaan amidisidoksen ja nitrocefiinin väri muuttuu keltaisesta punaiseksi.

### Välineet

Koeputki, viljelysauva

Reagenssit: 0,9 % NaCl,  $\beta$ -laktamaasikiekkko

### Suoritus

1. Ota useita pesäkkeitä maljalta (yhden vuorokauden kasvustosta) ja suspensoi ne 0,25 ml 0,9 % NaCl:a.
2. Lisää putkeen yksi  $\beta$ -laktamaasikiekkko ja sekoita.
3. Inkuboi putkea 1-2 tuntia huoneenlämmössä.
4. Tarkastele muuttuuko liuoksen väri.

### Tuloksen tulkinta

$\beta$ -laktamaasi positiivinen → Väri muuttuu kellertävästä punaiseksi

$\beta$ -laktamaasi negatiivinen → Ei värimuutosta

HUOM!  $\beta$ -laktamaasi positiivisilla kannoilla penisilliinin ja ampicilliinin herkkyudet tulkitaan R:ksi

## 9 MUITA MIKROBIOLOGISIA TUNNISTUSKOKKEITA

### 9.1 Seerumikoe eli itutesti

Harjoitustunneilla tehdään sienitutkimuksista ainoastaan seerumitesti, joka on tarkoitettu *Candida albicansin* erottamiseen muista hiivalajeista.

#### Periaate

Seerumikokeessa luodaan sellaiset olosuhteet *Candida albicansille*, jotta se kykenee muodostamaan ituputken. Ituputki(hyyfi) on paksuudeltaan noin puolet ja pituudeltaan noin nelinkertainen hiivasoluun verrattuna. Ituputken ja solun yhtymäkohdassa ei ole seinämää vaan se on avonainen.

#### Välineet

Seerumia sisältävä koeputki, viljelysauva, objektilasi, peitinlasi

Reagenssit: ihmisen tai naudan seerumia

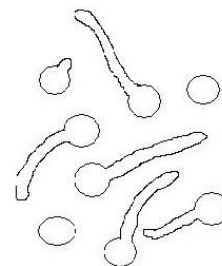
#### Suoritus

1. Suspensoi tutkittavaa hiivapesäkettä viljelysauvalla seerumia sisältävään koeputkeen.
2. Inkuboi putkea 2-3 tuntia +35 °C:ssa
3. Tiputa objektilasille tippa seerumiymppiä ja peitä tippa peitinlasilla.
4. Tarkastele tippaa mikroskoopilla.

#### Tuloksen tulkinta

Jos on havaittavissa ituputkia (kuva 13), on kyseessä *Candida albicans*.

Joskus *Candida albicans* ei tee ituputkea seerumitestissä. Ituputki muodostuu kuitenkin jatkoviljelmässä, mutta neljän tunnin kasvatuksen jälkeen myös muutkin hiivalajit alkavat muodostaa ituputkia.



Kuva 13 Ituputkien muodostuminen

## 9.2 Nielun pikatesti

A-ryhmän  $\beta$ -hemolyyttinen streptokokki aiheuttaa nielutulehduksen, jonka hoidossa penisilliini on avainasemassa. Nykyään on saatavilla kaupallisia pikatestejä, joilla voidaan hyvinkin nopeasti osoittaa A-ryhmän streptokin antigeeni nielunäytteestä. Diagnostiikassa tämä ei yksin riitä, sillä niiden herkkyys on alle 95 %, ja lisäksi C- tai G ryhmän streptokokit jäävät näillä testeillä löytymättä. Siksi nielunäytteestä pikatestin lisäksi on syytä tehdä myös viljely.

### Periaate

Perustuu streptokokin A-antigeenin osoitukseen.

HUOM! Näytteenoton oikea suorittaminen on ehdoton edellytys sille, että testillä saadaan oikea tulos (katso s. 8–9).

### Välineet

Reagenssit: Quick-Vue Dipstick Strep A test

### Suoritus

HUOM! Tutustu valmistajan ohjeeseen, jos käytössä on muu kuin Quick-Vue Dipstick Strep A test.

1. Avaa pakkaus ja aseta testiliuska telineeseen. Testiliuska tulee käyttää välittömästi foliopaketin avaamisen jälkeen. Testiliuskaan saa koskea vain siitä päästä, missä on teksti strep A.
2. Sekoita reagenssi A ja tiputa sitä koeputkeen 3 tippaa
3. Sekoita reagenssi B ja tiputa sitä koeputkeen 3 tippaa. Liuoksen pitäisi muuttua vihreäksi.
4. Laita näytteenottotikku koeputkeen.
5. Purista putken päätä, jotta tikusta saataisiin näyte mahdollisimman hyvin nesteeseen.
6. Pyöritä tikkua putkessa vähintään viisi kierrosta.
7. Anna tikun seistä nesteessä 1 minuutin ajan.
8. Minuutin kuluttua purista kaikki mahdollinen neste näytteenottotikusta samalla kun nostat tikun pois putkesta.
9. Upota testiliuska koeputkeen niin, että nuolet osoittavat alaspäin. Anna testiliuskan seistä putkessa viisi minuuttia, jonka jälkeen voit lukea tuloksen.

**Tulokset**

Streptokokki A-positiivinen → Kaksi viivaa: punainen testiviiva ja vaaleansininen kontrolliviiva. Viivojen värin voimakkuus voi vaihdella.

Streptokokki A-negatiivinen → Yksi viiva: vaaleansininen kontrolliviiva

**Testi uusittava uudella näytteellä, kun sinistä kontrolliviivaa ei ilmesty viiden minuutin kuluessa.**

## LÄHTEET

Islab [verkkosivu]. *Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja*. Saatavissa: <http://www.islab.fi/index.asp?tz=-3>

Karhumäki, E., Jonsson, A. & Saros, M. 2005. *Mikrobit hoitotyön haasteena*. Helsinki Edita Prima Oy.

Mahon, C. & Manuselis, G. Jr. (toim.) 1995. *Textbook of diagnostic microbiology*. Pennsylvania: W.B. Saunders Company.

Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M. & Tenover F. (toim.) 2003. *Manual of clinical microbiology – volume 1*. 8th edition. Washington DC: ASM Press.

Savonia-amk. *Kliinisen mikrobiologian vanhat työohjeet*.

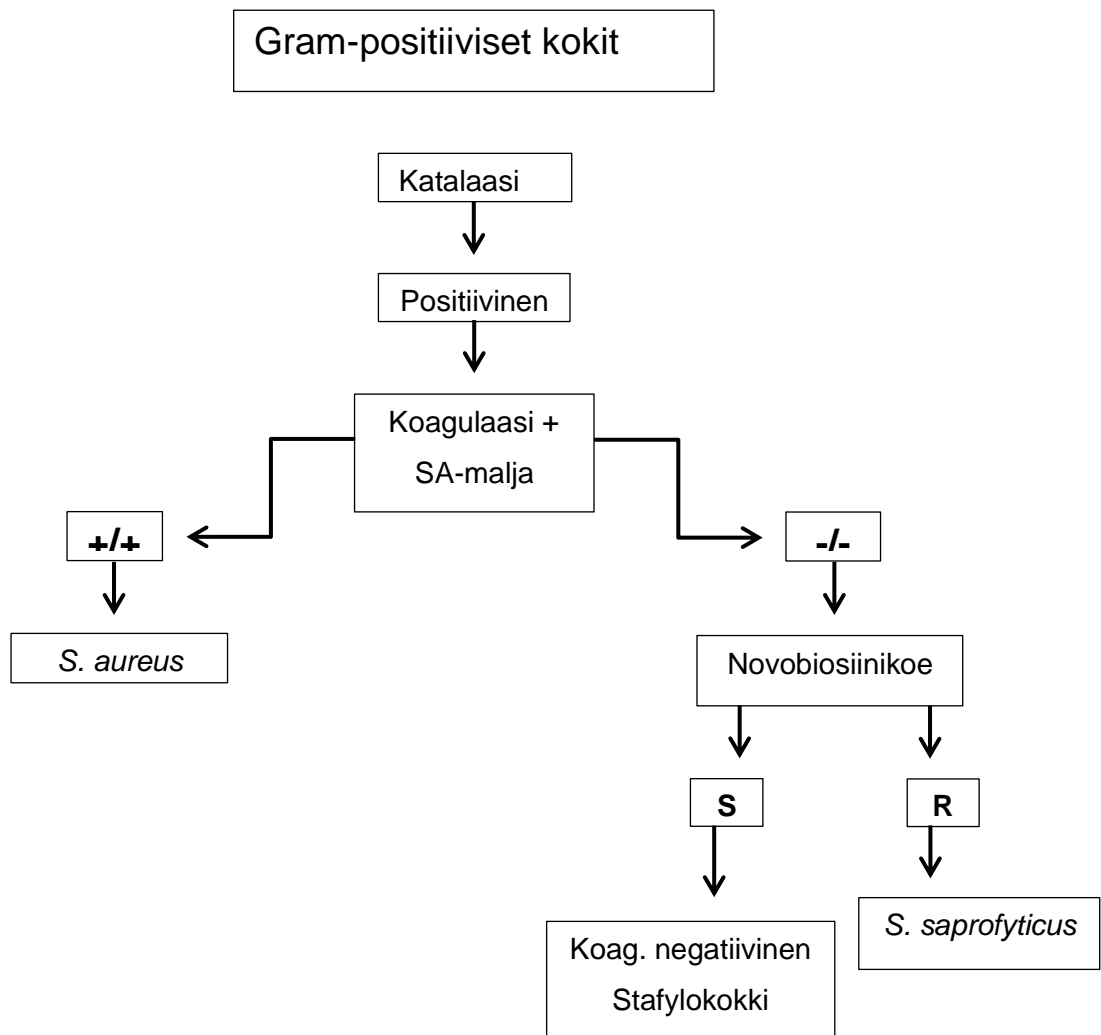
Sojakka K. & Välimäki M-L. 2011. *Ammatillinen mikrobiologia*. Helsinki: Opetushallitus.

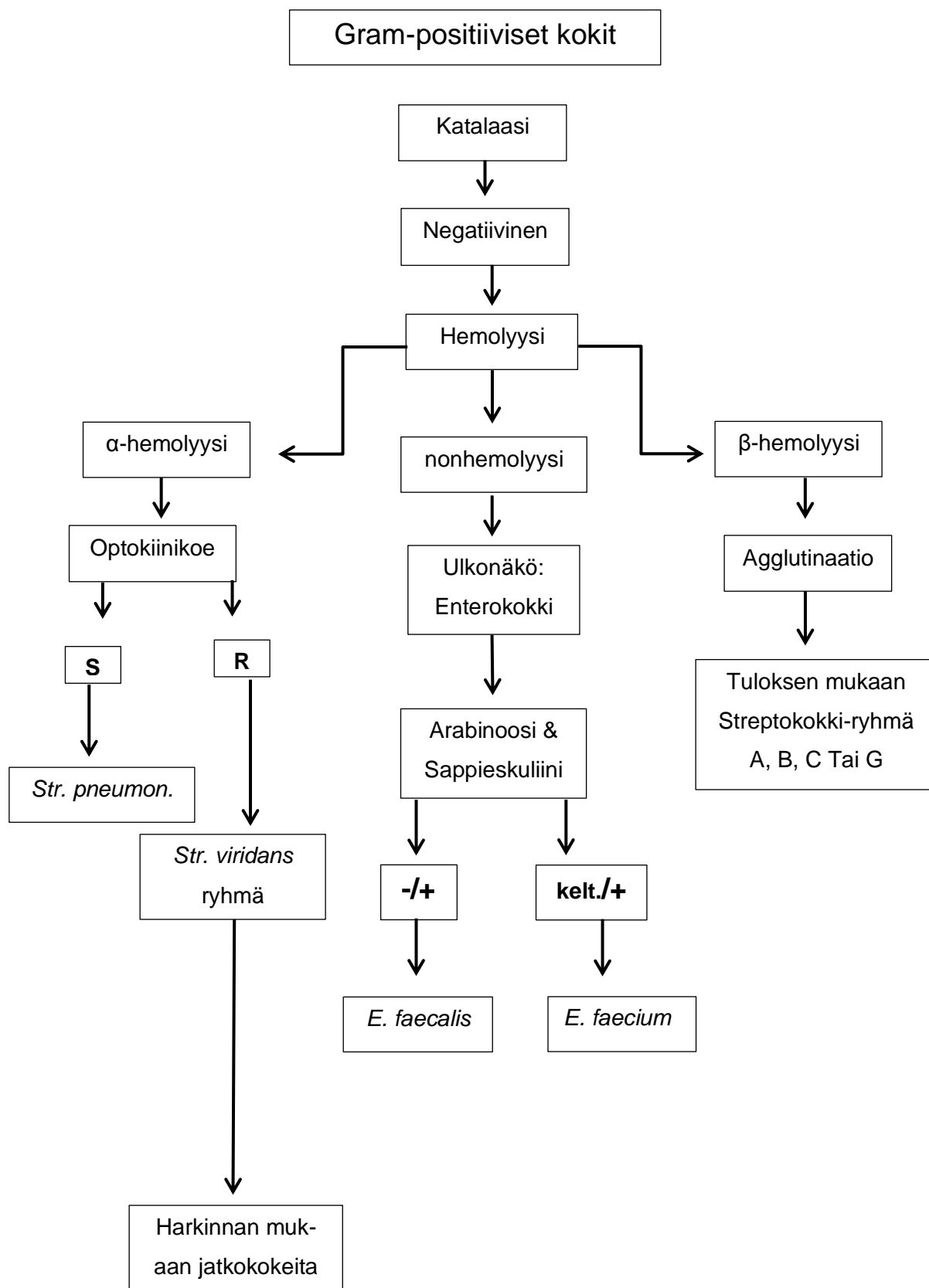
Tuokko, S., Rautjoki, A. & Lehto, L. 2008. *Kliiniset laboratorionäytteet – Opas näytteiden ottoon varten*. Helsinki: Tammi.

Tykslab. [verkkodokumentti]. 2010. Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. Saatavissa: <http://ohjekirja.tykslab.fi/liitteet/MikrobiolNaytteet.pdf>

Penttilä, I. (toim.) 2003. *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY.

## Liite 1 Gram-positiivisten kokkien jaottelua









## Liite 2 Aerobien bakteereiden jaottelua

## Aerobien bakteereiden jaottelu

