

Mengyue Li & Walitt Wengwitha

RESISTENTIT BAKTEERIT JA NIIDEN LABORATORIODIAGNOSTIIKKA

Verkko-oppimateriaali Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijoille

RESISTENTIT BAKTEERIT JA NIIDEN LABORATORIODIAGNOSTIIKKA

Verkko-oppimateriaali Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijoille

Mengyue Li & Walitt Wengwitha
Resistentit bakteerit ja niiden
laboratoriodiagnostiikka
Syksy 2024
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelman
Oulun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Tekijä(t): Mengyue Li & Walitt Wengwitha
Opinnäytetyön nimi: Resistentit bakteerit ja niiden laboriodiagnostiikka
Työn ohjaaja(t): Jaana Holappa-Girginkaya & Ulla-Maija Voutilainen
Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2024 Sivumäärä: 54+1

Tässä opinnäytetyössä käsitellään resistenttejä bakteereja ja niiden laboriodiagnostiikkaa toiminnallisena opinnäytetyönä. Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan tutkinto-ohjelma toimii toimeksiantajana, ja tavoitteena oli tuottaa verkko-oppimateriaali mikrobiologian kurssille. Verkko-oppimateriaalin tarkoituksena oli tarjota bioanalyttikko-opiskelijoille ajantasaista, laadukasta ja kattavaa tietoa resistenttien bakteerien ja niiden laboriodiagnostiikan alueelta.

Opinnäytetyö toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä, ja sen tuotoksena on Moodle-alusta, joka palvelee bioanalytiikan opiskelijoiden mikrobiologiaan liittyviä oppimistarpeita. Tavoitteena oli vastata bioanalyttikkojen koulutustarpeisiin tarjoamalla käytännönläheistä ja helposti omaksuttavaa oppimateriaalia.

Tietopohja kerättiin suomen- ja englanninkielisistä lähteistä, ja verkko-oppimateriaalissa keskityttiin bioanalyttikon näkökulmasta olennaisiin aihealueisiin. Tieto esitettiin monipuolisesti tekstin, kuvien ja kaavioiden muodossa. Materiaaliin sisällytettiin sanasto, ja lopussa on kertaustentti, joka vahvistaa opittua asiaa. Verkko-oppimateriaalista pyydettiin palaute sekä ensimmäisen, toisen että kolmannen vuoden bioanalyttikko-opiskelijoilta, että suurimmalta osalta OAMK sote-opiskelijoita. Palautteiden perusteella arvioitiin sen onnistumista. Verkko-oppimateriaali koettiin pääasiassa sopivan mittaiseksi sekä hyödylliseksi. Palautteista voitiin päätellä, että opinnäytetyön tavoitteet täyttyivät.

Jatkuvasti päivittyvän tiedon vuoksi opettajille myönnetään täydet käyttö- ja muokkausoikeudet verkko-oppimateriaaliin. Tämä mahdollistaa materiaalin päivittämisen tarpeiden mukaisesti ja sen käytön opiskelun tukena pitkällä aikavälillä.

Asiasanat: laboratoriodiagnostiikka, mikrobiologia, resistentit bakteerit, verkko-oppimateriaali

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree Programmed in Biomedical Laboratory Science

Author(s): Mengyue Li & Walitt Wengwitha
Title of thesis: Resistant Bacteria and Their Laboratory Diagnostics
Supervisor(s): Jaana Holappa-Girginkaya & Ulla-Maija Voutilainen
Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2024 Number of pages:
54+1

This thesis delved into the realm of resistant bacteria and their laboratory diagnostics as a functional thesis. Commissioned by Oulu University of Applied Sciences' Degree Programme in Biomedical Laboratory Science, the goal was to develop online learning material for a microbiology course. The online learning material was designed to furnish students in Biomedical Laboratory Science with up-to-date, high-quality, and comprehensive insights into resistant bacteria and their laboratory diagnostics. The resultant output was a Moodle platform tailored to the learning needs of students in Biomedical Laboratory Science.

The aim was to meet the educational requirements of students in Biomedical Laboratory Science by providing practical and easily comprehensible learning material. Drawing from Finnish and English sources, the knowledge base focused on essential areas from the perspective of students in Biomedical Laboratory Science. Information was presented diversely, including text, images, and diagrams. The material included a glossary and concluded with a review quiz to reinforce learning.

Feedback on the online learning material was requested from first, second, and third-year bioanalytics students as well as from the majority of OAMK healthcare students. Based on the feedback, its success was evaluated. The online learning material was mainly perceived as being of suitable length and useful. From the feedback, it could be concluded that the objectives of the thesis were achieved.

Due to the continuously evolving nature of information on resistant bacteria and their laboratory diagnostics, instructors were granted complete access and editing rights to the online learning material. This enables regular updates to keep the material current and usable as a long-term support for learning.

Keywords: laboratory diagnostics, microbiology, online learning material., resistant bacteria.

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	9
2 RESISTENTIT BAKTEERIT	10
2.1 Moniresistenttien bakteerien leviämisen rajoittaminen	10
2.2 Resistenssin mekanismit	11
2.3 Moniresistentti mikrobi (MDR-mikrobi)	11
2.3.1 Metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus (MRSA) ja S.aureus kompleksi	12
2.3.2 Extended spectrum beta-lactamase eli laajakirjoinen beetalaktamaasi (ESBL)	13
2.3.3 Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae (CPE)	15
2.3.4 Vankomysiinille resistentti enterokokkibakteeri (VRE) JA vancomycin variable enterococci (VVE)	16
3 RESISTENTTIEN BAKTEERIEN LABORATORIODIAGNOSTIIKASSA KÄYTETTÄVIÄ MENETELMIÄ	18
3.1 Viljely	18
3.2 Herkkyysmääritys & VITEK® 2	19
3.3 Lateksiagglutinaatiotesti eli latex agglutination (LA)	20
3.4 POLYMERAASIKETJUREAKTIO (PCR)	21
3.5 MALDI-TOF-Massa spektrometria	21
4 LABORATORIODIAGNOSTIIKKA	23
4.1 Metisilliiniresistentti Staphylococcus aureus (MRSA:n) laboratoriodiagnostiikka	23
4.2 Extended spectrum beta-lactamase eli laajakirjoinen beetalaktamaasi (ESBL:n) laboratoriodiagnostiikka	25
4.3 Karbapenemaasia tuottavat enterobakteerit (CPE:n) laboratoriodiagnostiikka	29
4.4 Vankomysiinille resistentti enterokokkibakteeri (VRE:n) laboratoriodiagnostiikka	32
5 VERKKO-OPPIMATERIAALI	35
Määritelmä	35
Verkko-oppimateriaalin laatukriteerit	36

6 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET	38
7 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	39
Tiedonhaku ja aineiston hankinta	39
8 TULOKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET	41
8.1 Tulokset	41
8.2 Johtopäätökset	42
9 POHDINTA	44
9.1 Eettisyys ja luotettavuus	44
9.2 Kehittämisehdotukset	45
LÄHTEET	47
LIITTEET	55

1 JOHDANTO

Runsas antibioottien käyttö aiheuttaa resistenteille bakteereille kasvuedun herkkien bakteerein kustannuksella. (Duodecim 2023.) Tämä johtaa antibioottiresistenssiin, joka tarkoittaa, että bakteeri kykenee vastustamaan antibioottia. Näistä aiheutuu ongelmia infektioiden hoidossa, koska kyseistä antibioottia ei voi käyttää tämän bakteerin hoidossa. Yleistyessään antibioottiresistenssi voi olla liitettyä esimerkiksi keuhkokuumeeseen tai leikkaussali-infektioihin. Tästä voi seurata myös vaikutuksia yleiseen terveydenhuoltoon, jos esimerkiksi syöpähoidot, elinsiirrot sekä suolistoalueleikkaukset muuttuvat vaarallisiksi, jos infektioita ei kyetä enää ehkäisemään antibiooteilla. Jotkut mikrobit saattavat kyetä kehittymään moniresistenteiksi, eli pystyvät vastustamaan useita lääkkeitä. Antibioottiresistenssi on ilmiönä maailmanlaajuinen, mutta Suomessa antibioottien teho on edelleen hyvällä tasolla. (THL 2023.) Antibioottiresistenssi on yleinen ilmiö, jonka vuoksi sen opiskelu ja lisätutkimus on tärkeää.

Toiminnallisena opinnäytetyönä tuotetaan opintomateriaalia Moodle-alusta resistenteistä bakteereista ja niiden laboratoriodiagnostiikasta. Moodle-alusta sisältää tekstiä, kuvia, kaavioita ja videoita, jotka auttaa opiskelijaa ymmärtämään sisällön. Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opinto-ohjelma on toimeksiantajana tälle opinnäytetyölle. Opinnäytetyön opiskelumateriaali tulee osaksi mikrobiologian kurssia, joka toteutetaan osana bioanalytiikan opiskelijoiden toisen vuoden opintoja.

2 RESISTENTIT BAKTEERIT

Terveysthuollossa kasvava ongelma resistenteistä bakteereista edellyttää syvällistä ymmärrystä niiden tunnistamisesta ja tehokkaista torjuntakeinoista. Antibioottiresistenssi lisääntyy, kun yhä useammat bakteerit kehittävät vastustuskyvyn antibiooteille. Antibioottiresistenttien bakteerien infektioihin kuolee vuosittain 33000 ihmistä Euroopassa ja Suomessa vastaava luku on vuodessa 90 potilasta. (THL 2023.)

Resistenssiongelma syntyy, kun tietyn tyyppiset mikrobit eivät enää reagoi tehokkaasti käytettyihin antibiootteihin, tämä voi vaikeuttaa infektioiden hoitoa, koska toimivia lääkkeitä on vähemmän saatavilla. Tämän vuoksi on tärkeää rajoittaa resistenssin leviämistä erityisesti sairaaloissa ja muissa terveydenhuollon laitoksissa. Vaihtoehtoisia antibioottihoitoja yleensä vielä löytyy, mutta niiden valinta edellyttää aina bakteerin herkkyystestien suorittamisen. (Terveyskylä 2022.) Tässä opinnäytetyössä käsitellään yleisiä moniresistenttejä bakteereita, jotka aiheuttavat sairaalainfektioita, sekä niiden laboratoriodiagnostiikkaa.

2.1 Moniresistenttien bakteerien leviämisen rajoittaminen

Moniresistenttien mikrobien torjunta pyrkii estämään hoitoon liittyvien infektioiden syntymistä, sekä varmistamaan, että mikrobilääkkeitä käytetään asianmukaisesti, ja ehkäisemään tartuntojen leviämistä. Tärkeää on myös laboratoriodien kyky tunnistaa nämä mikrobit tarkasti ja nopeasti. Moniresistenttien mikrobien torjunnassa keskitytään erityisesti sairaaloissa ja muissa hoitolaitoksissa leviäviin mikrob tartuntoihin, jotka ovat kehittäneet vastustuskyvyn useille eri mikrobilääkkeille. (THL 2020.) Siksi on ensiarvoisen tärkeää tunnistaa moniresistenttien bakteerien kantajat mahdollisimman nopeasti. Kliinisesti tärkeimpien moniresistenttien bakteerien kantajat sijoitetaan kosketuseristykseen sairaalahoitajakson aikana. Käsien desinfiointi käsihuuhteella on tärkein yksittäinen toimenpide sairaalainfektioiden torjunnassa. Kädet on desinfioitava ennen ja jälkeen jokaista potilaskontaktia ja

käsineiden poiston jälkeen sekä aina, kun ne kontaminoituvat potilaan läheisyydestä. (Duodecim 1997.)

2.2 Resistenssin mekanismit

Bakteerilla voi olla luonnollisia resistenssiominaisuuksia, eli synnynnäisiä ominaisuuksia, jotka tekevät niistä aina vastustuskykyisiä tiettyjä mikrobilääkeryhmiä vastaan, esimerkkejä näistä ovat enterokokkien vastustuskyky kefalosporiinilääkkeille ja gramnegatiivisten bakteerien vastustuskyky vankomysiinille. (Heikkilä, Helsten, Koukila-Kähkölä, Kurtinen, Meurman, Nummelin, Pastila, Richardson & Ylönen 2002, 130.)

Hankittu resistenssi bakteerilääkettä vastaan voi johtua bakteerikromosomin pistemutaatiosta tai olla seurausta plasmideissa ekstrakromosomaalisesti sijaitsevasta, resistenssiä välittävästä perintömateriaalista. (Pelkonen, Ruskoaho, Hakkola, Huupponen, MacDonald, Moilanen, Pasanen, Scheinen & Vähäkangas 2014, 920.) Resistenssigeeni voi siirtyä bakteerista toiseen sekä saman bakteerilajin sisällä että eri bakteerilajien välillä. Tämä tapahtuu usein plasmidien tai transposonien välityksellä konjugaation yhteydessä. Konjugaatiossa bakteerit asettuvat vierekkäin ja vaihtavat geenimateriaalia keskenään. VRE-bakteerin resistenssi beetalaktaameja kohtaan voi esimerkiksi siirtyä konjugaatiossa enterokokista MRSA-bakteeriin. (Heikkilä ym. 2002, 130–131.) Erityisesti gramnegatiivisten bakteerien välillä voi tapahtua konjugaatiota, jossa koko plasmidi siirtyy bakteerista toiseen. *Escherichia coli*-bakteerin kantamia resistenssiä välittäviä plasmideja voi siirtyä patogeeniseen *salmonellabakteeriin*. Monet bakteerikannat, jotka alun perin olivat herkkiä tietynlaiselle mikrobilääkkeelle, ovat ajan myötä kehittyneet vastustuskykyisiksi sille. (Pelkonen ym. 2014, 919–920.)

2.3 Moniresistentti mikrobi (MDR-mikrobi)

Moniresistentti mikrobi (MDR-mikrobi) viittaa mikro-organismiin, joka on kehittänyt vastustuskyvyn useille yleisesti käytetyille mikrobilääkkeille, jotka ovat

tavallisesti määrättyjä hoidettaessa sen aiheuttamia infektioita. Tällaisia ovat esimerkiksi metisilliinille resistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomysiinille resistentti *Enterococcus faecalis* tai *faecium* (VRE), laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä (ESBL) tuottava *Escherichia coli* (ESBL-E. coli) ja Klebsiella pneumoniae (ESBL-K. pneumoniae), sekä karbapeneemiantibiootteja hajottavia entsyymejä tuottavat enterobakteerit (CPE). (THL 2020.) Moniresistenttien mikrobien aiheuttamat infektiot eivät välttämättä eroa infektioista, jotka johtuvat herkistä mikrobeista, mutta niiden hoito on vaikeampaa. Joissakin tapauksissa sopivia hoitovaihtoehtoja voi olla vaikea löytää tai niitä ei välttämättä ole lainkaan. (THL 2020.)

Moniresistentit bakteerit (MRB) ovat osallisina joka viidennessä sairaalainfektiossa, ja näistä neljä viidesosaa ovat metisilliiniresistenttejä *Staphylococcus aureus* -bakteereita ja laajakirjoisia beeta-laktamaasia tuottavia Enterobacteriaceae-bakteereita. (Zahar & Ferroni 2006, 1397–1404.) Muita yleisiä moniresistenttejä bakteereita ovat esimerkiksi CPE, VRE, MDR-TB, MDR-Pseud, MDR-Aci, ja ne muodostavat laajamittaisen ja vakavan ongelman maailmanlaajuisesti. (Hakanen, Jalava & Kaartinen 2017.)

2.3.1 Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) ja *S.aureus* kompleksi

Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) on bakteeri, joka on saanut lisääntyneen määrän muunnettua penisilliiniä sitovaa proteiinia (penicillin-binding protein, PBP2a), johon beetalaktaamit eivät sitoudu kovin hyvin. Tämä johtuu bakteerin kantamasta *mecA*- tai *mecC*-geenistä, joka tuottaa tätä lisääntynyttä PBP:tä. Kyseessä on MRSA-kannat, joilla on joko *mecA* tai *mecC*-geeni, jonka seurauksena ne ovat resistenttejä kaikille beetalaktaamiryhmän mikrobilääkkeille. MRSA on vastustuskykyinen kaikille penisilliinille, karbapeneemeille ja kefalosporiineille, lukuun ottamatta joitain uusimpia kefalosporiineja, kuten keftobiproli ja keftaroliini. Lisäksi MRSA-kannat voivat kehittää vastustuskykyä myös muihin mikrobilääkkeisiin. (THL 2020.) MRSA aiheuttaa samanlaisia infektioita kuin tavallinen stafylokokki. Useimmat

stafylokokkien aiheuttamat infektiot ovat lieviä, ja ne paranevat usein ilman antibiootteja. Näihin kuuluvat esimerkiksi näppylät, paiseet ja muut ihoinfektiot. Stafylokokki voi pahimmillaan johtaa vakaviin infektioihin, kuten leikkaushaavojen tulehduksiin tai keuhkokuumeeseen. (THL 2023.)

Staphylococcus aureus -kompleksiin kuuluu kolme lajia: Staphylococcus aureus, Staphylococcus argenteus ja Staphylococcus schweitzeri. Tähän mennessä S. schweitzeri -kannoilla ei ole havaittu metisilliiniresistenssiä, eikä niiden ole tiedetty aiheuttaneen infektoita ihmisillä. Sen sijaan S. argenteus kykenee omaksumaan metisilliiniresistenssigeenin ja aiheuttamaan ihmisiin samanlaisia infektoita kuin S. aureus. Metisilliiniresistenttiä Staphylococcus argenteusta pidetään merkittävänä löydöksenä sairaalaympäristössä ja sitä tulee käsitellä samoin kuin MRSA-kantaa. (THL 2020.) Vaikka S. schweitzeri -kannat eivät ole osoittaneet metisilliiniresistenssiä tai aiheuttaneet infektoita ihmisillä, S. aureus -kompleksi on silti opportunistinen bakteeripatogeeni, joka voi kolonisoida monenlaisia eläinlajeja, mukaan lukien ihmiset, ja aiheuttaa vakavia infektoita. Lisäksi S. aureus -kompleksi voi muodostaa zoonoottisen riskin, koska se voi levitä ympäristöjen, ihmisten ja eri eläinten välillä. (Pumipuntu, Tanee, Thamsenanupap, Kyes, Karaket, C.Kyes 2023.) Uusimpien tietokantaversioiden avulla on mahdollista erottaa Staphylococcus aureus -kompleksin lajit toisistaan MALDI-TOF massaspektrometrian avulla. (THL 2020.)

2.3.2 Extended spectrum beta-lactamase eli laajakirjoinen beetalaktamaasi (ESBL)

ESBL:llä tarkoitetaan bakteerin tuottamaa entsyymiä eli bakteerin hankkimaa ominaisuutta, jotka tekevät bakteerin vastustuskykyiseksi ja pystyvät pilkkomaan tiettyjä antibiootteja, kuten penisilliinejä ja kefalosporiineja eli kolmannen polven kefalosporiineja. (Anttila 2022; THL 2024.) Kolmannen polven kefalosporiinit ovat lääkkeitä, joita käytetään gramnegatiivisten ja grampositiivisten organismien hoitoon. Ne kuuluvat beetalaktaamilääkkeiden luokkaan. Kolmannen sukupolven kefalosporiinit ovat mm. keftatsidiimi, kefepiimi, kefotaksiimi, keftriaksoni ja keftitsoksiini Suomessa. (Männistö & Tuomonen 2024.) Näitä bakteereja kutsutaan ESBL-bakteereiksi.

Bakteerit, joilla voi olla ESBL-ominaisuus, ovat esimerkiksi *Escherichia coli* (*E. coli*) ja *klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), ja joita löytyy kaikkien henkilöiden ulosteesta sekä eläinten suolistomikrobistosta. *E. coli* ja *K. pneumoniae* ovat gramnegatiivisia sauvabakteereja, jotka kuuluvat *Enterobacteriaceae*-heimoon. Ne ovat yleisimmät infektioiden aiheuttajia. (THL 2020, 13; THL 2024.)

ESBL-ominaisuus johtuu yleensä *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} tai *bla*_{TEM} geeneistä. (Huttunen & Syrjänen 2015, 1086.) *Bla*_{CTX-M} geenit löytyvät valtaosiltaan kannoista. ESBL-geenit sijaitsevat sekä bakteerien kromosomeissa että plasmideissa. Sekä kromosomaalisten että plasmidigeenien koodaamat entsyymit voivat kohdistaa ja katkaista lääkkeiden haavoittuvia hydrolyyttisesti herkkiä kemiallisia sidoksia. (THL 2020, 14, 50; Zhu, Huang & Yang 2021.) Penisilliinien ja kefalosporiinien lisäksi ESBL-geeniä kantavat bakteerikannat ovat usein resistenttejä fluorokinoloneille, trimetopriimille, aminoglykosideille ja tetrasykliineille. (Javala, Rintala & Lyytikäinen 2013, 1329.)

ESBL-bakteerit voivat aiheuttaa erilaisia sairauksia, mukaan lukien virtsatieinfektioita (VTI), keuhkokuume, veren tulehdukset ja haavojen infektiot. (MSKCC 2024.) Kun etsitään infektion aiheuttajaa ottamalla bakteeriviljely esimerkiksi virtsasta, verestä tai haavasta, samalla saattaa löytyä ESBL-bakteereja. (Terveyskylä 2024, 2.) ESBL-positiivisten kantojen esiintyvyys vaihtelee eri maiden välillä ja ESBL:ää tuottavat *K. pneumoniae*-kannat ovat aiheuttaneet epidemioita sairaaloissa ja hoitolaitoksessa eri puolilla maailmaa. ESBL:ää tuottavien *E. coli*-kantojen leviämisestä sairaalaympäristössä on kuitenkin vähemmän kuin *K. pneumoniae*-kantojen leviämisestä, mutta ne voivat löytää myös puhtaasti avohoitosyntysten infektioiden yhteydessä. (THL 2020, 50.) ESBL-bakteerien aiheuttamien infektioiden hoidossa käytetään erilaisia antibiootteja kuin tavallisesti hoidettaessa virtsatieinfektioita tai vatsan alueen infektiota ja oireettomat ESBL-bakteerin kantajat eivät vaadi hoitoa. Karbapeneemiryhmän lääkkeitä käytetään yleensä vain vakavien infektioiden hoidossa. (THL 2020, 14; THL 2024.)

2.3.3 Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae (CPE)

CPE on lyhenne termistä Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae, ja sillä viitataan tavallisesti suolistoperäisiin bakteereihin, jotka tuottavat karbapeneemiantibiootteja hajottavia entsyymejä. (Terveyskirjasto 2022.) EUCAST:n mukaan karbapenemaasit ovat betalaktamaasientsyymejä, jotka hydrolysoivat penisilliinejä, useimmiten kefalosporiineja ja eriasteisesti karbapeneemejä ja monobaktameeja (metallobetalaktamaasit eivät hydrolysoi monobaktaameja). (EUCAST 2017.) Bakterikannat, joita kutsutaan CPE-kannoiksi, kuten *E. coli* ja *K. pneumoniae*, ovat usein vastustuskykyisiä monille antibiooteille, mikä aiheuttaa erityisiä haasteita terveydenhuollon yksiköissä. Riippuen bakteerilajista, CPE-kannat voivat aiheuttaa erilaisia infektioita ihmisillä, kuten virtsatie- ja haavainfektioita ja vakavimmillaan ne voivat johtaa sepsikseen. Näiden bakteerien lisäksi niitä voi esiintyä myös ihmisen kainaloissa, nivusissa ja varpaanväleissä. (Friman ym. 2021, 256.)

Kreikka koki epidemian Veronan integronilla koodatun metallo- β -laktamaasin (VIM) aiheuttamana Klebsiella pneumoniae-bakteerikannassa 2000-luvun alussa, jonka jälkeen seurasi epidemia, joka liittyi *K. pneumoniae* karbapenemaasin (KPC) kanssa. Tällä hetkellä OXA-48 karbapenemaasit muodostavat nopeimmin kasvavan ryhmän karbapenemaaseja Euroopassa. Muita erityisen ongelmallisia karbapenemaaseja ovat New Delhi metallo- β -laktamaasit (NDM), jotka ovat erittäin yleisiä Intian niemimaalla ja Lähi-Idässä, jotka ovat usein levinneet Eurooppaan, ja joissakin maissa on myös alueellista leviämistä. IMP-karbapenemaasit ovat myös yleisiä joillakin maailman alueilla. (EUCAST 2017.) Sairaalahoidon ehkäisy ja hoidon kannalta suurin uhka tulee KPC-geenin kantavista Klebsiella pneumoniae -bakteerikannoista. Lisäksi on varauduttava epidemioiden, jotka aiheutuvat *K. pneumoniae* -kannoista, joilla on OXA-48-tyyppiset geenit tai NDM-geeni. (THL 2020.)

CPE-kantojen kantajiksi löydettiin yli sata potilasta vuonna 2018 ja 62 potilasta vuonna 2021. Suurin osa näistä potilaista oli saanut bakteerin ulkomailta, useimmiten ulkomaisesta sairaalasta. Usein CPE:n löytäminen tapahtui potilailla, jotka olivat äskettäin olleet ulkomailta sairaalahoidossa, ja bakteeria

etsittiin heidän suolistostaan. Joissakin tapauksissa tartunta voi kuitenkin olla peräisin kotimaisesta sairaalasta tai hoitolaitoksesta, esimerkiksi saman huoneen toverilta, jonka CPE-kantajuudesta ei ollut tietoa. Vain osa Suomessa tehdyistä CPE-löydöksistä liittyi oireelliseen infektiin. (Terveyskirjasto 2022.)

2.3.4 Vankomysiinille resistentti enterokokkibakteeri (VRE) JA vancomycin variable enterococci (VVE)

Tavallisimmat vankomysiinille resistentit enterokokkibakteerit ovat *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ja *Enterococcus faecium* (*E. faecium*), joilla on vankomysiinin MIC-arvo (minimal inhibitory concentration) suurempi kuin 4 mg/l. Ne ovat grampositiivisia kokkibakteereja ja kuuluvat ihmisen sekä monien eläinten suoliston mikrobistoon. (THL 2020, 12, 61; THL 2024.) Enterokokin aiheuttama infektio on kuitenkin pieni terveille ihmisille ja aiheuttaa infektiota vain potilaille, joiden vastustuskyky on heikentynyt. Yleisin enterokokin aiheuttama infektio on virtsatietulehdus. (THL 2024.) VRE voi myös aiheuttaa komplikaatioita useissa sairauksissa, mukaan lukien verenkierroinfektiot (sepsis), haavainfektiot, sydän- ja aivotulehdukset, keuhkokuume ja vakava yleisinfektio. (Zakaria, Hisham Hamzah, Luqman Salih, Balakrishnan & Abdul Razak 2023.)

VRE:n leviää tehokkaasti ja säilyy sairaalaympäristössä, ja se voi kolonisoida monia yksilöitä, joista vain muutama voi saada enterokokki-infektion. (EUCAST 2017.) VRE:n leviäminen voi tapahtua suorassa kosketuksessa kolonisoituneiden tai tartunnan saaneiden potilaiden kanssa tai välillisen kosketuksen terveydenhuoltohenkilöstön käsien kautta tai saastuneiden potilaiden hoitolaitteiden tai ympäristöpintojen kautta. (Tacconelli & A Cataldo 2007.) Infektioita hoidetaan bakteerien lääkeherkkyyden perusteella ja infektioiden hoidossa ei voida käyttää antibiootteja sama kuin enterokokki-infektioiden hoitoon. VRE:n kantajat eivät tarvitse hoitoa, jos oireita ei ole. (THL 2024.)

Enterokokit kuten *E. faecium* ovat luonnostaan resistenttejä monille mikrobilääkkeelle, joten niiden aiheuttamien vankomysiinin resistenttikantojen infektiohoito on haastava. Kliinisesti merkityksellistä vankomysiiniresistenssiä aiheuttaa kaksi plasmidivälitteistä geeniä *vanA* ja *vanB*. *VanA*-kannat ovat

resistenttejä sekä vankomysiinille että teikoplaniinille, mutta vanB-kannat ovat resistenttejä vain vankomysiinille. Muita geenejä ovat vanD, vanE, vanG, vanL, vanM ja vanN. (THL 2020, 12, 61.) VanA-bakteerit voivat aiheuttaa merkittäviä ongelmia sairaalahoidossa oleville potilaille, koska ne pystyvät leviämään muihin grampositiivisiin infektioihin, mikä muuttaa niiden geneettistä materiaalia lisätäkseen vastustuskykyään hoidon aikana käytetyille antibiooteille. (Zakaria ym. 2023.)

VVE eli vancomycin variable enterococci on termi, jota käytetään vanA-positiivisista, vankomysiinille herkille VRE-kannoille, joissa vanA-geeni on fenotyyppisesti hiljentynyt vanA-operonin geneettisen uudelleenjärjestelyn vuoksi. (EUCAST 2017.) Yleensä vain molekyyliomenetelmillä voidaan havaita VVE- ja matala-asteisesti resistentit vanB VRE-kantoja. VVE-kantojen havaitseminen on kliinisesti tärkeää, sillä niiden vankomysiiniresistenssin on osoitettu palautuvan glykopeptidien selektiopaineessa. (THL 2020, 62.)

3 RESISTENTTIEN BAKTEERIEN LABORATORIODIAGNOSTIIKASSA KÄYTETTÄVIÄ MENETELMIÄ

Resistenttien bakteerien laboratoriodiagnostiikassa käytetään monia erilaisia menetelmiä bakteerien seulontaan, tunnistamiseen ja niiden diagnostiikkaan. Näiden menetelmien avulla voidaan nopeasti ja tarkasti havaita bakteerikantoja, jotka ovat resistenttejä yleisesti käytetyille antibiooteille. Tämä on erityisen tärkeää infektioiden hoidossa, sillä se auttaa lääkäreitä valitsemaan tehokkaimman hoidon ja välttämään antibioottiresistenssin leviämistä. (Huovinen, Meri, Peltola, Vaara, Vaheri & Valtonen 2003, 20.) Tässä opinnäytetyössä esitellään muutamia laboratoriodiagnostiikassa käytettäviä menetelmiä ja laitteita resistenttien bakteerien tutkimiseen.

3.1 Viljely

Bakteeriviljely on keskeinen menetelmä bakteerien tutkimuksessa. Viljelyn avulla eristettyä bakteeria voidaan tarkastella tarkemmin, tutkia sen herkkyyttä erilaisille mikrobilääkkeille laboratoriossa ja tarvittaessa säilyttää pitkiä aikoja. Bakteeriviljelynäytteissä esiintyy usein monia eri bakteerilajeja ja -kantoja, ja puhdasviljelytekniikkaa tarvitaan näiden erilaisten bakteerien erottamiseksi toisistaan. (Huovinen ym. 2003, 22–23.) Puhdasviljely on kaiken tartuntatautitutkimuksen perusta.

Bakteeriviljely mahdollistaa myös bakteerien antibioottiherkkyyden määrittämisen ja on ensimmäinen askel tehokkaan hoidon suositusten laatimisessa. Bakteerien puhdasviljelyn saaminen mahdollistaa myös näiden kantojen genomisekvensoinnin, mikä edesauttaa tautien ymmärtämistä ja hoitoa. (Lagier, Edouard, Pagnier, Mediannikov, Drancourt & Raoult 2015.) Näytteet viljellään hajotustekniikalla elatusainemaljoille, ja nestemäisiä elatusaineita käytetään myös yleisesti. Bakteerit lisääntyvät nopeasti jakautumalla ja yleensä muodostavat näkyviä pesäkkeitä elatusainemaljalle alle

vuorokaudessa. Suurin osa taudinaiheuttajabakteereista kasvaa optimaalisesti +35 °C lämpötilassa. Viljelymaljat tarkastellaan perusteellisesti, ja eri pesäketypit pyritään erottamaan toisistaan niiden koon, muodon, värin, hajun ja hemolyysin perusteella. Maljoilta voidaan poimia erilaisia pesäkkeitä gramvärjäykseen, puhdasviljelyihin, tunnistustesteihin sekä herkkyysmäärittäisiin jatkotutkimuksia varten. (Huovinen ym. 2003, 23–25.)

3.2 Herkkyysmäärittäminen & VITEK® 2

Mikrobiologian laboratorio arvioi yleensä kliinisistä näytteistä eristettyjen patogeenien herkkyys eri lääkkeille, jotka voivat olla hyödyllisiä infektioiden hoidossa. Tämä arvio perustuu MIC-arvoon (minimal inhibitory concentration), joka on pienin lääkepitoisuus, joka estää bakteerin kasvun. Bakteeripopulaatioiden herkkyystutkimusten ja kudoksissa havaittavien lääkepitoisuuksien perusteella on kehitetty herkkyysluokitusjärjestelmä, jota käytetään kliinisessä käytössä. (Huovinen ym. 2003, 25–26.)

Kansainvälisiä herkkyysluokkia on kolme: S, I & R (Susceptible, Intermediate & Resistant), ja EUCAST on muuttanut herkkyysmäärittämisluokkia S, I ja R vuodesta 2019 alkaen. Eli S on herkkä, standardoitu annostusohjelma. Mikro-organismi luokitellaan herkäksi, kun on suuri todennäköisyys terapeuttiseen onnistumiseen käyttämällä lääkeaineen standardoitua annostusohjelmaa. I tarkoittaa herkkää, lisääntyneenä altistumista. Mikro-organismi luokitellaan tähän luokkaan silloin, kun terapeuttinen menestys on todennäköistä, koska altistuminen lääkeaineelle lisääntyy annostusohjelman säätelyn tai sen pitoisuuden vuoksi infektion kohdassa. R tarkoittaa resistenttiä. Mikro-organismi luokitellaan resistentiksi, kun terapeuttinen epäonnistuminen on todennäköistä, vaikka altistuminen olisi lisääntynyt. EUCAST on määritellyt myös altistumisen käsitteen, joka tarkoittaa, että Altistuminen on riippuvainen siitä, miten lääkeainetta annetaan, annoksen suuruudesta, annosteluvälistä, infuusion kestosta sekä lääkeaineen jakautumisesta ja erittymisestä, ja ne vaikuttavat infektoivaan mikro-organismiin infektion kohdassa. (EUCAST 2019.)

Kiekkodiffuusiomenetelmä on yleisesti käytetty, perusominaisuuksiltaan yksinkertainen ja edullinen menetelmä antibioottien herkkyystestauksessa. E-testi (Epsilon-testi) puolestaan on yksinkertainen ja käytännöllinen menetelmä, jolla voidaan määrittää antibiootin MIC-arvo. (Huovinen ym. 2003, 26–27.) BioMérieux'n VITEK®2 on monipuolinen terveydenhuollon työkalu, joka tarjoaa mikrobien tunnistuksen bakteereille ja hiivoille sekä antibioottien herkkyysmäärittämisestä. Järjestelmä tarjoaa nopean tunnistuksen erilaisille mikro-organismeille, mukaan lukien gramnegatiiviset ja grampositiiviset bakteerit, hiivat sekä vaativat gramnegatiiviset bakteerit kuten *Neisseria* ja *Haemophilus*. Lisäksi se tarjoaa saman päivän herkkyysmäärittämisestä, joka toimittaa MIC-arvoa useimmille organismeille, tuettuna erityisillä AST-korteilla gramnegatiivista, grampositiivista ja hiivan herkkyysmäärittämisestä varten. Järjestelmän ADVANCED EXPERT SYSTEM™ (AES) varmistaa tulosten validoinnin, kun taas tietojenhallintaohjelmisto mahdollistaa epidemiologiaraporttien ja antibiogrammien luomisen, tehostaen laboratorion tehokkuutta ja turvallisuutta. (BioMérieux 2023.)

3.3 Lateksiagglutinaatiotesti eli latex agglutination (LA)

Agglutinaatiotestit havaitsevat vasta-aineen tai antigeenin ja liittyvät bakteerien, punasolujen tai antigeeni- tai vasta-ainepäälysteisten lateksipartikkelien agglutinaation eli kasautumisen. Lateksiagglutinaatiotesti eli LA-testi on diagnostinen tekniikka hyödyntää hiukkasten kasautumista yhteen tai agglutinaatiota spesifisten vasta-aineiden läsnä ollessa. Lateksiagglutinaation periaate perustuu vasta-aine- tai antigeenimolekyylien sitoutumiseen lateksihelmien pintaan. Nämä lateksihelmet, jotka on tyypillisesti valmistettu polystyreenistä, tarjoavat suuren määrän mahdollisia sitoutumiskohtia vasta-aine- tai antigeenimolekyylien satunnaista kohdistusta ja kiinnittymistä vuoksi. (MN 2023.) Kaupallisia agglutinaatiotestejä on saatavilla useimmille patogeeneille, kuten esimerkiksi Oxoid™ PBP2' Latex Agglutination Test Kit, jota käytetään MRSA:n havaitsemiseen. (Thermo Scientific 2015.)

3.4 POLYMERAASIKETJUREAKTIO (PCR)

Polymeraasiketjureaktio eli PCR on menetelmä, jota käytetään laajasti tutkimuksessa, diagnostiikassa ja oikeuslääketieteessä. Tämä reaktio mahdollistaa tietyn DNA- tai RNA-jakson monistamisen miljoonia kertoja polymeraasin avulla lyhyessä ajassa, mikä helpottaa sen tunnistamista ja analysointia. (Terveyskirjasto 2016.) Samoin kuin antigeenimäärityksissä, bakteereita voidaan etsiä näytteestä käyttäen niille erityisesti suunniteltuja DNA- tai RNA-koettimia. Nukleiinihappotestit ovat erittäin herkkiä ja pystyvät havaitsemaan jopa yhden bakteerin. Näytteen esikäsittely saattaa heikentää bakteerin havaittavuutta ja näytteessä esiintyvät inhibiittorit voivat estää monistusreaktion käynnistymisen, mikä voi johtaa virheellisiin negatiivisiin tuloksiin. (Huovinen ym. 2003, 28.)

Gene Xpert on laite, joka voi havaita kyseessä olevan bakteeri ja onko niillä resistenssiä joillekin yleisimmille antibiooteille näytteestä. Laite etsii DNA:ta, joka on spesifistä ko. bakteereille ja tunnistaa niiden DNA:n sekä monistaa automaattisesti PCR:llä. PCR:n avulla laite tarkistaa bakteerigeenien rakennetta, mikä voi kehittyä vastustuskykyiseksi antibiootille. Näyte syötetään koneeseen, jonka jälkeen käynnistetään biokemialliset reaktiot sen selvittämiseksi. Gene Xpert havaitsee samanaikaisesti ko. bakteerit sekä niiden resistentit, jotta voidaan valita potilaalle sopivan lääkkeen hoitaakseen kyseessä olevaa bakteeria tehokkaammin. Gene Xpertin suuri etu on, että se voi antaa erittäin nopeita tuloksia muutamassa tunnissa. (Müller 2011.)

Gene Xpert Instrument Systems automatisoi ja integroi näytteen puhdistuksen, nukleiinihappojen monistamisen ja kohdesekvenssin havaitsemisen käyttämällä rT-PCR ja PCR-määrityksiä. Menetelmä vaatii kertakäyttöisten GeneXpert-kasetin, joka sisältää rT-PCR ja PCR-reagenssit ja niiden prosessin. (Cepheid 2020.)

3.5 MALDI-TOF-Massa spektrometria

MALDI-TOF-Massa spektrometria (MALDI-TOF MS) käytetään bakteerien ja hiivakantojen tunnistamiseen kliinisessä näytteessä laboratorioissa, joissa

käytetään diagnostista mikrobiologiaa. Periaatteena on, että tunnistetaan proteiinien ``sormenjäljet`` kokonaisista bakteerisoluista verrataan erilaisilla algoritmeilla näitä sormenjälkeä referenssitietokantaa, jolloin voidaan tunnistaa bakteeria nopeasti. (Guo, Ye, Zhao, Ma, Yang, & Luo 2014, 534–538.) Mikrobin tunnistus MALDI-TOF-massaspektrometrillä perustuu siihen, että laite vertaa mikrobin ribosomaalisten proteiinien ja peptidien muodostamia proteiinispektrejä eli peptidisormenjälkiä. Nämä proteiinit ja peptidit ovat tyypillisesti kooltaan 2–20 kDa. Bakteeripesäkkeen tunnistus viljelymaljan kasvustosta tapahtuu muutamassa minuutissa tai positiivisesta veriviljelypullosta 20 minuutissa MALDI-TOF-ms:lla. MALDI-TOF-ms:ssa vaatii edeltävän maljan tai rikastusviljelyn, koska muuten se ei onnistuu, tämä on rajoitustekijä. Läheistä sukua olevat bakteerit kuten *E. coli* ja *Shigella* eivät erotu toisistaan referenssimenetelmällä käytetyllä 16S rRNA-sekvensoinnilla, voivat olla vaikeita tunnistaa myös MALDI-TOF-ms:lla. (Harju & Grönroos 2020, 1660–7.)

MALDI-TOF-massa spektrometriamenetelmässä siirretään ensin bakteerikasvustosta pieni määrä näytettä erityiselle näytelevylle. Aluksi tehdään ns. matriisi eli näytteen päälle pipetoidaan heikko orgaaninen happo, joka saa bakteerinäytteen kiinnittymään levyyn. Seuraavassa vaiheessa matriisiin ja näytteeseen kohdistetaan laserimpulsseja, jolloin tapahtuu näytteen desorboituminen eli irtoaminen ja kaasuntuminen, sekä ionisoituminen. Kolmannessa vaiheessa näytteen varautuneet molekyylit kiihdytetään sähkökentässä, jolloin ne saadaan siirtymään vakuumityhjiön toiseen päähän törmäten sen päässä olevaan detektoriin. Detektori havaitsee pienimmät molekyylit ensin ja sen jälkeen suuremmat. Tästä saadaan aikaan spektri eli proteiinisormenjälki, joka ilmaisee, milloin molekyylit saapuivat detektorille. (Munukka & Eerola 2020, 60.)

4 LABORATORIODIAGNOSTIIKKA

Kasvava antibioottiresistenssi terveydenhuollossa edellyttää tarkkaa ja kattavaa diagnostiikkaa. Mikrobiologian laboratoriolla on tärkeä tehtävä myös lääkeresistenttien mikrobien, kuten metisilliinille resistenttien *Staphylococcus aureus* (MRSA)-kantojen, diagnosoinnissa ja nopeassa tunnistamisessa. (Huovinen ym. 2003, 636.) Kliinisen mikrobiologian laboratoriotutkimukset ovat välttämättömiä infektioautien diagnossissa. (Heikkilä ym. 2002, 134.) Bakteeritaudit voidaan hoitaa mikrobilääkkeillä, siksi laboratorioissa tehdään in vitro -mikrobilääkeherkkyystutkimuksia niille bakteereille, jotka ovat merkittäviä infektiön kannalta. Näiden tulosten avulla klinikko voi tehdä tarvittavat hoitopäätökset. (Huovinen ym. 2003, 20.)

4.1 Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA:n) laboriodiagnostiikka

MRSA-kantajuuden havaitseminen on osa infektioiden torjuntastrategiaa. (Terveysylä 2022.) Seulontatellit ovat saatavilla MRSA-kantajuuden tarkistamiseksi. Niitä käytetään tilanteissa, joissa tieto voi vaikuttaa potilaan hoitoon tai tartunnan leviämisen ehkäisyyn. Tällaisia tilanteita ovat esimerkiksi, kun potilas siirretään ulkomailta suomalaisen sairaalaan jatkohoitoon tai kun potilas on menossa leikkaukseen ja hänen läheisellään on todettu moniresistentin bakteerin kantajuus. MRSA-kantajuuden havaitsemiseen voidaan käyttää menetelmiä, jotka perustuvat sekä bakteeriviljelyyn että geneettiseen analyysiin. MRSA:n seulontaviljelyssä suositellaan käytettävän rikastusviljelyä (THL 2020), joka on tarkoitettu edistämään bakteerien kasvua runsaana näytteessä. (Helenius, Kilpeläinen & Taponen 2012, 44.) Rikastusviljelyllä pyritään lisäämään todennäköisyyttä bakteerin havaitsemiseen näytteessä. Sitä harkitaan erityisesti, jos potilas on ollut antibioottihoidossa, koska bakteerin kasvu saattaa heikentyä tällöin, mikä vaikeuttaa sen havaitsemista perinteisessä viljelyssä. (Helsingin yliopisto 2024.) Rikastusviljelyn jälkeen käytetään selektiivisiä kromogeenisia maljoja, jotka helpottavat MRSA:n tunnistamista. (THL 2020.) Kaupallisia kromogeenisia

maljoja MRSA:lle ovat esimerkiksi Brilliance MRSA 2 Agar ja ChromID MRSA Agar. Esimerkiksi, Brilliance™ MRSA 2 Agar -maljalla MRSA kasvaa sinisenä pesäkkeenä, jotka ovat erittäin helppoja lukea vaaleanvöröseltä, läpinäkyvältä taustalta. (Thermo Scientific 2014.)

MRSA voidaan todeta testaamalla *S. aureus* -kannan herkkyys kefoksitiinille, joko MIC-määrittäyksellä tai kiekkotestillä. Genotyyppinen havaitseminen PCR:llä on myös luotettavaa EUCAST:n mukaisesti. (EUCAST 2017.) Geenitestien on kyettävä havaitsemaan *mecA*- ja *mecC*-geenit. Geenimonistusmenetelmät ovat herkempiä kuin suora viljely selektiiviselle kromogeeniselle maljalle, ja niiden herkkyys on suunnilleen sama kuin rikastusviljelymenetelmillä. Kuitenkin nämä menetelmät voivat antaa myös väärä positiivisia tuloksia, joten niitä voidaan käyttää MRSA-kantajuden poissulkemiseen, mutta kaikki positiiviset löydökset on aina vahvistettava viljelyllä THL:n ohjeiden mukaisesti. (THL 2020.)

Viljelyn jälkeen *S.aureus*-kannat tunnistetaan selektiivisiltä kromogeenisilta maljoilta ja niille tehdään herkkyysmäärittäykset. Resistenssin heterogeeninen ilmentyminen vaikuttaa erityisesti oxacillinin minimi-inhibitorisiin pitoisuuksiin (MIC), joka voi näyttää herkältä. Kefoksitiini (Cefoxitin) on erittäin herkkä ja spesifinen merkkiaine *mecA/mecC*-välitteiselle metisilliiniresistenssille, mukaan lukien heterogeenisesti ilmentyvät kannat, ja se on valintalääke. Kannat, joilla on Kefoksitiinin minimi-inhibitorinen pitoisuus (MIC) >4 mg/l, tai kannat, joilla on kefoksitiinin (30 µg) estovyöhyke (mm) <22 mm tulisi raportoida metisilliiniresistentteinä. (EUCAST 2017.)

Taulukko 1. MRSA:n toteaminen (Herkkyysmäärittäys)

Menetelmä	Mikrotilääke	Tulkinta
Mikrodiluutio (MIC)	Kefoksitiini (cefoxitin)	MIC (mg/L): >4
Kiekkotesti		Estovyöhyke (mm) (30 µg): < 22

EUCAST 2017; THL 2020.

PBP2a-latex-agglutinaatio on myös osoittautunut erittäin tarkaksi. Agglutinaatiota voidaan käyttää PBP2a:n havaitsemiseen, mutta se ei

luotettavasti havaitse PBP2c:ta. (EUCAST 2017.) Lateksiagglutinaatiotesti PB2a:n havaitsemiseksi on vaihtoehto, jota voidaan käyttää useimmissa laboratorioissa. Tämän testin käyttö olisi käytännöllistä vastustuksen kiireellisissä varmistuksissa (Alipour, Ahmadi & Javadi 2014, 186–191.) MecA-tuote (PBP2a) havaittiin käyttäen esimerkiksi kaupallista Oxoid™ MRSA-kittia. PBP2a-latex-agglutinaatiotestit suoritettiin valmistajan ohjeiden mukaisesti. (Thermo Scientific 2015.)

PCR-menetelmää käytettiin tutkimaan MRSA:n geenin läsnäoloa mecA- ja mecC-geenien genotyyppinen havaitseminen PCR:n avulla. (EUCAST 2017.) PCR-pohjaisen testin onnistumisen kannalta kriittiset parametrit ovat luotettavuus, tarkkuus, herkkyys, kustannukset ja kääntöaika, ja näiden parametrien optimointi mahdollistaa infektioiden torjuntakäytäntöjen nopean toteuttamisen. (Alipour ym. 2014, 186–191.) Negatiivinen geenimonistustulos viittaa alustavasti siihen, että potilas ei ole MRSA-kantaja. (THL 2020.) Genotyyppiset menetelmät eivät ole myöskään 100-prosenttisen tarkkoja, koska mecA-positiivisia tuloksia voidaan saada tilanteissa, joissa geeni on viallinen metisilliiniresistenssin ilmentymisen suhteen. (Alipour ym. 2014, 186–191.) Lisäksi geenimonistuksen rinnalla suositellaan aina seulontaviljelyä, joka sisältää rikastusviljelyn ja joko selektiivisen kromogeenisen maljan tai pelkän selektiivisen kromogeenisen maljan pitkällä inkubaatioajalla. (THL 2020.)

4.2 Extended spectrum beta-lactamase eli laajakirjoinen beetalaktamaasi (ESBL:n) laboratoriodiagnostiikka

ESBL:ää tuottavien kantojen toteaminen sisältää kaksi tärkeää vaihetta. Ensimmäinen on seulontatesti indikaattori kefalosporiinilla, jolla etsitään resistenssiä tai vähentynyttä herkkyyttä ja tunnistetaan isolaatteja, joissa todennäköisesti on ESBL:itä. Toisessa testissä testataan oksiiminokefalosporiinin ja klavulanaatin välillä synergiaa, jolloin erotetaan ESBL:itä sisältävät isolaatit muista syistä resistenteistä. (Deepti & Deepthi 2010.) Fenotyyppisellä- tai automaatisoidulla menetelmällä, jotka molemmat ovat melko luotettavia, varmistetaan ESBL:ää tuottoa, joka perustuu varmistustestien klavulaanihapon kykyyn estää ESBL-entsyymiä. Poikkeustilanteissa kuten

selkeä epäily fenotyyppisen varmistustestin toimimattomuudesta tai jos on kyseessä epidemiaselvitys, voidaan tehdä molekulaarista varmistusta ja siinä tulee todeta CTX-M-, TEM-, ja SHV-geenit. Jos kromosomaalinen β -laktamaasi ei häiritse testien tulkintaa, fenotyyppiset ESBL-testit toimivat niillä lajeilla hyvin. (THL 2020, 51.)

Yli 1 mg/l:n seulonnan raja-arvoa suositellaan EUCAST:n ja CLSI:n antamien ohjeiden mukaisesti kefotaksiimille, keftriaksonille, keftatsidiimille ja kefpodoksiimille. EUCAST:n kliininen raja-arvo *En* terobakteerille on myös herkkä ≤ 1 mg/l. Kefpodoksiimi on herkin yksittäinen indikaattori kefalosporiini ESBL-tuotannon havaitsemiseksi ja sitä voidaan käyttää seulonnassa. Se on kuitenkin vähemmän spesifinen kuin kefotaksiimin (tai keftriaksonin) ja keftatsidiimin yhdistelmä. Vain jälkimmäisiä yhdisteitä käytetään vahvistustestissä. (EUCAST 2017, 13.) Taulukossa 2 on esitetty ESBL:n seulontamenetelmä enterobakteerille.

Taulukko 2. ESBL:n seulontamenetelmä enterobakteerille.

Menetelmä	Mikrobilääke	Suorita ESBL-testaus, jos
Liemin tai agar diluutio	Kefotaksiimi/ keftriaksodiimi ja keftatsidiimi	MIC > 1 mg/L kummalle aineelle
Kiekkotesti	Kefotaksiimi (5 µg) tai Keftriaksoni (3 µg) ja Keftatsidiimi (10 µg)	Estovyöhyke < 21 mm Estovyöhyke < 23 mm Estovyöhyke < 22 mm
	Kefpodoksiimi (10 µg)	Estovyöhyke < 21 mm

EUCAST 2017; THL 2020.

Kaikilla menetelmillä taulukossa mainittu testataan pelkästään joko i) kefotaksiimi tai keftriaksoni ja keftatsidiimi tai ii) kefpodoksiimi. (EUCAST 2017, 13.)

ESBL:n vahvistamiseksi suositellaan neljää fenotyyppistä menetelmää, jotka perustuvat ESBL-aktiivisuuden in vitro -estoon klavulaanihapolla. Niitä ovat yhdistelmäkiekkotesti (Combination disk diffusion test eli CDT), kaksoiskiekkotesti (Double disk synergy test eli DDST), ESBL gradientt testi (ESBL gradient test) ja mikrodiluutio (The broth microdilution test). (EUCAST 2017, 14.) Kiekkotestimenetelmällä antibioottiherkkyystestauksella voi seuloa ESBL-tuotannon havaitsemalla tietyt vyöhykkeiden halkaisijat, jotka osoittavat suurta epäilyä ESBL-tuotannosta. (Deepti & Deepthi 2010.) Taulukossa 3 on esitetty ESBL-varmistustestejä EUCAST:n ja THL:n mukaiset.

Taulukko 3. ESBL-varmistustestien tulkinta

Menetelmä	Mikrotiläke	Tulkinta on positiivinen, jos
ESBL gradienttitesti	keftatsidiimi +/- klavulaanilappo	MIC-arvon suhde ≥ 8 tai estovyöhyke muokkautunut ellipsi
	kefotaksiimi +/- klavulaanilappo	
Mikrodiluutio	keftatsidiimi +/- klavulaanilappo (4 mg/L)	MIC-arvo ≥ 8
	kefotaksiimi +/- klavulaanilappo (4 mg/L)	
	kefepiimi +/- klavulaanilappo (4 mg/L)	
Yhdistelmäkiekkotesti	keftatsidiimi 30 µg +/- klavulaanilappo 10 µg	Estovyöhykkeen erotus (mm) ≥ 5
	kefotaksiimi 30 µg +/- klavulaanilappo 10 µg	
Kaksoiskiekkotesti	keftatsidiimi + amoksisilliini- klavulaanilappo	Kefalosporiinin estovyöhykkeen työntyminen amoksisilliini- klavulaanilapon estovyöhykettä kohden
	kefotaksiimi + amoksisilliini- klavulaanilappo	
	kefepiimi + amoksisilliini- klavulaanilappo	

EUCAST 2017; THL 2020.

Yksittäisiä ESBL-kantoja terveyden ja hyvinvoinnin laitos ei pääsääntöisesti tutki. Kuitenkin jos ilmenee joku erityinen tarve ESBL-geenimääritykseen ryvästymien

yhteydessä, on otettava yhteys etukäteen THL:een ja sovittava mitä kantoja lähetetään molekyyli-epidemiologiseen analyysiin. Kaupallisilla kromogeenisillä maljoilla voidaan todeta ESBL-kantajuus seulontaviljelyn avulla. Menetelmien toimivuuden riittämättömän näytön vuoksi geenimonistusmenetelmien käyttöä kantajuuden osoittamisessa ei suositella. (THL 2020, 52–53.)

ESBL:n viljelymenetelmää käytetään MDRSVi-tutkimuksessa, joka on moniresistenttien gramnegatiivisten sauvojen viljelyä. Näyte viljellään selektiivisille elatusainemaljoille (esimerkiksi ChromID-ESBL-maljalla), joiden inkubointiaika on 24 tuntia. Maljoissa kasvavat gramnegatiiviset sauvat tunnistetaan ja tehdään herkkyysmääritys. (Nordlab 2024.)

E. coliin β -glukuronidaasia tuottavien pesäkkeiden väri vaihtelee vaaleanpunaisesta viininpunaiseen. KESC (Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter) β -glukosidaasia tuottavien pesäkkeiden vihreä/sinisestä ruskeanvihreään vaihteleva väri. E. coli ja K. pneumoniae erottuvat helposti ja selkeästi eri väreillä, mikä auttaa tunnistamaan ESBL:ää tuottavat organismit. (Biomerieux 2022.) Jotkin ESBL:ää tuottavat enterobakteerit tuottavat värittömiä pesäkkeitä, erityisesti E. coli -kannat, joilla ei ole β -glukuronidaasia. Niitä voidaan epäillä, jos oksidaasitesti on negatiivinen värittömiä pesäkkeitä käyttäen. ESBL-tuotanto on sen vuoksi vahvistettava. (Biomerieux 2010, 2.)

Brilliance™ ESBL Agar on kromogeeninen elatusaine, jolla voidaan osoittaa ja tutkia laajakirjoisen β -laktamaaseja tuottavien bakteerien ja organismeja, kuten ESBL:ää tuottavat E. coli ja Klebsiella-, Enterobacter-, Serratia- ja Citrobacter-ryhmän (KESC). E. coli ilmentää sinisiä pesäkkeitä ja K. pneumoniae vihreitä pesäkkeitä. Brilliance™ ESBL Agar inkubointiaika 24 tuntia. (Thermo Scientific 2024.)

4.3 Karbapenemaasia tuottavat enterobakteerit (CPE:n) laboratoriodiagnostiikka

Karbapenemaasia tuottavien kantojen tunnistaminen tapahtuu kahdessa vaiheessa, ja se perustuu näiden kantojen heikentyneeseen herkkyYTEEN

karbapenemeille. Aluksi alentunut herkkyys karbapeneemeille tunnistetaan käyttämällä EUCAST:n kiekkoherkkyysmenetelmää tai määrittämällä kannan karbapeneemi-MIC. Tämän jälkeen karbapenemaasigeeni havaitaan molekyylibiologisilla menetelmillä. (THL 2020.)

CPE-kantajuuden havaitseminen voidaan suorittaa selektiivisen viljelyn avulla. Viljely voidaan suorittaa suoraan erityiselle, CPE:n havaitsemista varten kehitetylle selektiiviselle maljalle, joka on yleensä kromogeeninen tai maljalle, jossa on karbapeneemikiekko. On olemassa useita kaupallisia kromogeenejä maljoja tähän tarkoitukseen. (THL 2020.) Esimerkiksi ChromID™ CARBA SMART agar malja sisältää sekoituksen antibiootteja, jotka mahdollistavat CPE:n selektiivisen kasvun ja kolme kromogeenista substraattia, jotka mahdollistavat useimmin eristettyjen CPE-lajien tunnistamisen. ChromID™ CARBA SMART agar maljassa *E. coli* muodostaa vaaleanpunaisia, viininpunaisia tai läpinäkyviä kolonioita, joissa on viininpunainen keskus, kun taas *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC-ryhmän) lajit muodostavat sinivihreitä tai sinisenharmaita kolonioita. (Biomérieux 2013.)

Meropeneemi on osoittautunut tutkimuksissa parhaaksi antibiootiksi havaitsemaan karbapenemaasia tuottavat kannat. Ertapeneemin herkkyys on kohtuullinen, mutta sen spesifisyys on alhainen. (EUCAST 2017.) Vain vähäinen osa karbapenemaasia tuottavista kannoista vastaa EUCAST:n kliinisiä herkkyystulkintarajoja, joten tietyille bakteerikannoille tarvitaan erillisiä seulontarajoja. Näitä seulontarajoja käytetään *Klebsiella*-, *E. cloacae*-, *E. coli*- ja *C. freundii* -kantojen suhteen. Muiden Enterobacteriaceae-heimon lajien tapauksessa noudatetaan kliinisiä herkkyystulkintarajoja. Valitaan maljalta tarpeeksi erilaisia pesäkkeitä, joita tunnistetaan ja testataan niiden herkkyudesta meropeneemille. Jos bakteeripesäkkeen herkkyys meropeneemille on alhainen (ks. taulukko 4), karbapenemaasigeeni vahvistetaan monistusmenetelmällä. (THL 2020.) Taulukossa 4 on esitettyä sekä seulontarajat että herkkyystulkintarajat CPE-kantojen toteamiseen THL:n ja EUCAST:n ohjeiden mukaisesti.

Taulukko 4. Seulontarajat ja herkkyystulkintarajat karbapenemaaseja tuottaville Enterobacteriaceae-heimon lajeille

Mikrobilääk e	MIC (mg/L)		Kiekkoherkkyysmenetelmä (mm, 10µg kiekko)	
	Herkkyystulkintar aja (S)	Seulontar aja	Herkkyystulkintar aja (S)	Seulontar aja
Meropenee mi	≤2	> 0.12	≥22	< 25
Ertapenee mi	≤0.5	> 0.12	≥25	< 25

EUCAST 2017; THL 2020.

Herkkyysmäärittämisen jälkeen karbapenemaasigeeni havaitaan molekyylibiologisilla menetelmillä. Karbapenemaasigeenin omaavat kannat tunnistetaan parhaiten geenimonistusmenetelmillä, jotka tarjoavat myös arvokasta epidemiologista tietoa. (THL 2020.) Kliinisesti merkittävimpiä CPE-lajeja ovat Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Enterobacter cloacae ja Citrobacter freundii. Suomessa yleisimmin kliinisistä näytteistä eristetyt bakteerit, joilla on karbapenemaasigeenejä, ovat KPC, OXA-48 ja NDM. Tämän takia Molekyylibiologisten varmistustestien tulisi ainakin havaita seuraavat karbapenemaasigeenit: KPC, OXA-48-tyypit ja NDM. (THL 2020.)

Geenimonistusmenetelmien suora käyttö CPE:n havaitsemisessa potilasnäytteestä on mahdollista. Tämän lisäksi on aina suositeltavaa suorittaa seulontaviljely. On tärkeää huomata, että geenimonistusmenetelmät voivat antaa positiivisen tuloksen, jos potilas kantaa moniresistenttiä nonfermentatiivista karbapenemaasigeeniä tuottavaa kantaa. Tällöin seulontaviljelyn yhteydessä on etsittävä näitä bakteerilajeja. (THL 2020.)

Useita kaupallisia monistustekniikoihin perustuvia menetelmiä on jo markkinoilla, esimerkiksi Check-Direct CPE for BD MAX™. (Check-Points Health 2018.) THL:n ohjeiden mukaan kaupallisesti hyvin validoituja, CE-IVD-merkittyjä

geenimonistusmenetelmiä voidaan käyttää suoraan potilasnäytteistä CPE:n osoittamiseen tilanteissa, joissa tarvitaan nopeaa tuloksen saamista. (THL 2020.)

4.4 Vankomysiinille resistentti enterokokkibakteeri (VRE:n) laboratoriodiagnostiikka

VRE:n todetaan määrittämällä vankomysiiniherkkyys mikrodiluutiomenetelmällä, liukastestillä, kiekkotestillä tai breakpoint-maljalla, EUCAST:n ohjetta inkubaatioajasta (24 h) tarkasti noudattaen, jotta indusoituva resistenssi voidaan todeta. VRE:n vanA- ja vanB-geenit voidaan todeta molekulaarisella menetelmällä. Van-geenien testausta invasiivisille *E. faecium*-isolaateille on suositeltava, koska VVE- ja matala-asteisesti resistenttien vanB kantojen esiintymisen vuoksi, vaikka ne olisivat fenotyyppisesti vankomysiinille herkkiä. On tärkeää varmistua testattavien isolaattien lajitunnistuksesta, kun tulkitaan herkkyysmääritysten testituloksia. MALDI-TOF massaspektrometria voidaan käyttää enterokokkien lajitunnistuksessa, jotta luontaisen matala-asteisen vankomysiiniresistenssin omaavat ja *E. faecium*in tavoin arabinoosi-testi positiiviset *E. gallinarum* ja *E. casseliflavus* eivät sekoitu *E. faecium*iin. (THL 2020, 62.)

VRE:n enterokokkien kantajuusseulonnassa on yksi osa infektioiden torjuntaa, joka todetaan selektiivisellä VRE-viljelyllä. Ennen varsinaista VRE-viljelyä on suositeltavaa käyttää rikastusta, sillä sen viljely parantaa kantajuusviljelyn herkkyyttä. Sen jälkeen viljely tehdään selektiiviselle kromogeeniselle maljalle, joiden antaman värireaktion avulla *E. faecalis* ja *E. faecium*-pesäkkeet tunnistetaan suhteellisesti luotettavasti. Enterokokkien laji tulee vielä varmistaa sopivalla menetelmällä ja van-geenit osoittavat molekulaarisilla menetelmillä. (THL 2020, 63.)

VRE:n seulonta määrittäessä tehdään VREVi-tutkimuksella eli enterokokki vankomysiiniresistenttejä viljelyllä VRE-kolonisaation selvittämistä varten. Näyte viljellään selektiivisellä rikastusviljelyllä, jolla *E. faecalis*- ja *E. faecium*-kannat tunnistetaan. Viljelymaljoilla kasvavat pesäkkeitä tehdään herkkyysmääritykset

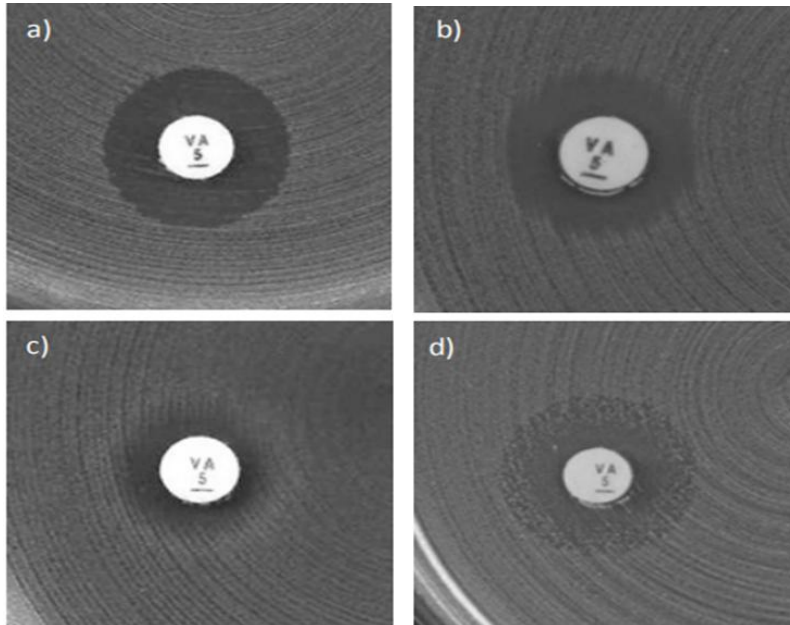
ja vanA/vanB-geenimääritys. Tarkempaa tyyppitystä varten löydetty VRE-kannat lähetetään THL:lle. (Nordlab 2024.)

ChromID® VRE sisältää kaksi kromogeenistä substraattia (α -glukosidaasi ja β -galaktosidaasi) ja vankomysiiniä, jotka mahdollistavat muun muassa *E. faecalis*- ja *E. faecium*-kannan tunnistamisen, jotta saadaan VRE:n vanA ja vanB-geenien spesifinen ja selektiivinen eristäminen sekä osoittaminen tehtyä. Erityinen värjäys helpottaa *E. faecalis*in ja *E. faecium*in erottelua, kuten *E. Faecalis* kasvaa sinivihreäksi pesäkkeeksi ja *E. faecium* violettiksi pesäkkeeksi. ChromID®VRE inkuboidaan 24 tuntia. (Biomérieux 2022.)

Brilliance™ VRE Agar on kromogeeninen VRE-seulontamalja, joissa elatusaine mahdollistaa *E. faecalis*in ja *E. faecium*in tunnistamisen. Vankomysiinille vastustuskykyisen *E. faecium*:n ja *E. faecalis*:n erottaminen toisistaan on mahdollista kahden kromogeenisen substraatin (fosfataasi ja α -galaktosidaasi) avulla, jotka on suunnattu kahta spesifistä entsyymiä vastaan. Näiden entsyymien vaikutus kromogeeneihin johtaa värien esiintymisen pesäkkeessä. Tuotettu väri riippuu siitä, mitä entsyymejä organismeilla on. Fosfataasientsyymien läsnäolo sekä *E. faecium*issa että *E. faecalis*issa johtaa vaaleansiniseen pesäkkeeseen. *E. faecium* tuottaa myös α -galaktosidaasia, mikä johtaa sinisten ja vaaleanpunaisten kromoforien sekoitukseen bakteerissa. Tämä tuottaa syvän sinisestä violetteihin vaihtelevia pesäkkeitä, jotka eroavat helposti vaaleansinisistä *E. faecalis* -pesäkkeistä. VRE:n positiiviset pesäkkeet kasvavat joko vaaleansinisinä pesäkkeinä (*E. faecalis*) tai syvä -violetteina pesäkkeinä (*E. faecium*). Negatiivisia maljoja voidaan inkuboida uudelleen 24 tuntia. Inkubointiaika on 37°C:ssa 18–24 tuntia. (Oxoid 2024; Thermo Scientific 2024.)

Kiekkotestiä varten on noudattava EUCAST:n antaman ohjeiden mukaisesti. Kiekkotestillä voi tarkistaa vyöhykkeiden tai mikrobien pesäkeitä läpivalaisulla. Pesäkkeen terävät vyöhykereunat osoittavat, että isolaatti on herkkä. Isolaatit, joissa on terävät vyöhykkeet ja sen halkaisijat yli herkkyystulkintarajan voidaan raportoida vankomysiinille herkiksi. Isolaatit, joilla on sameat vyöhykkeen reunat

tai vyöhykkeen sisällä, voivat olla resistenttejä, mutta ei voida raportoida herkäksi ilman MIC-määrityksen vahvistusta. (EUCAST 2017, 37.)



Kuva 1. Herkkyystulkinta: a) Kuvassa on terävät vyöhykkeen reunat ja vyöhykkeen halkaisija > 12 mm. Ilmoitetaan herkäksi. b-d) On sameita vyöhykkeen reunat tai pesäkkeet vyöhykkeen sisällä, voivat olla resistenttejä, mutta ei voi raportoida herkäksi ilman MIC-määrityksen vahvistusta. (EUCAST 2017, 38.)

GeneXpert:n käyttö vanA:n ja vanB:n diagnosoinnissa on nopea molekyylimääritys, joka on ainutlaatuinen ja täysin automatisoitu prosessi, jossa sisältää DNA:n uuttamisen, monistamisen ja toteamisen real-time PCR:llä. GeneXpert vanA/vanB:n tarkkuus VRE:n arvioitiin käyttämällä yhteenvetoa ominaiskäyrän, yhdistetyn herkkyuden, yhdistetyn spesifisyyden, positiivisen-, negatiivisen- ja diagnostisen todennäköisyysuhteen käyttämiseksi. GeneXpert vanA/vanB:llä on korkea tarkkuus VRE:n diagnosoinnissa verrattuna tavanomaiseen viljelyyn ja PCR:ään. Mutta GeneXpert vanA/vanB osoittaa enemmän tarkkuutta vanA:n diagnosoinnissa. vanB:n havaitsemiseen tarvitaan lisätesti. Tulokset saadaan jopa alle tunnissa. (Li, Luo, Xiao, Lin, Liu, Han, Zhong, Ji, & Guo 2021.)

5 VERKKO-OPPIMATERIAALI

Oppimateriaaliin ei ole mahdollista liittää kaikkia hyvän oppimisen piirteitä, mutta oppimateriaali voi tukea jotakin toimintaa paremmin kuin toista tai oppimateriaali voi olla tarkoitettu tietyn tyyppiseen oppimiseen. Siksi näissä verkko-oppimateriaalin laatukriteereissä on avattu jonkin verran myös yleistä pedagogista ajattelua ja kuvattu keskeisiä piirteitä, jotka oppimistutkimuksen perusteella auttavat oppimista tehokkaimmin. Oppimisalusta vaikuttaa verkko-oppimateriaalin lisäksi siihen, millaisia toimintamahdollisuuksia käyttäjällä, oppilaalla tai opiskelijalla on. Useat yhteisölliset toiminnot edellyttävät yhteistä työtä tukevan oppimisalustan kehittämistä, eikä yksittäinen oppimateriaali voi tarjota työkaluja yhteisölliseen oppimiseen. Ihanteellisen pedagogiikan kaikkia piirteitä ei löydy yhdestä verkko-oppimateriaalista. Olennaista on, että verkko-oppimateriaalin ominaisuudet suosivat pedagogisesti parhaita ominaisuuksia. (Opetushallitus 2023.)

Määritelmä

Verkko-oppimateriaali tarkoittaa verkossa digitaalisessa tallennusmuodossa olevaa oppimateriaaliksi tarkoitettua sisältöä. Tällainen sisältö voi olla oppimisaihioita, kuvapankkeja, teemakokonaisuuksia, verkkokursseja sekä oppikirjojen oheismateriaalia. (Opetushallitus 2024.)

Laadukasta verkko-oppimateriaalia voi käyttää oppilaan osaamisen tason, kiinnostuksen ja tarpeiden mukaan. Se antaa yksilöllistä ja pitkäkestoista tukea työskentelyyn sekä aktivoi oppijan ajattelua, keskittyen ydinasioihin ja oppimisen taitojen kehittymiseen. Hyvä verkko-oppimateriaali on teknisesti helppo käyttöinen, ulkoasultaan pedagoginen ja sisällöltään tavoitteita sekä oppimista tukeva. (Opetushallitus, Ilomäki 2012, 11.)

Verkko-oppimateriaalin laatukriteerit

Verkko-oppimateriaalin laatukriteerin keskeisimpiä asioita on sen käytettävyys ja pedagogian piirteet, kuinka oppimateriaali voisi tukea erityisesti opettajia ja muita kouluttajia sekä auttaa arvioimaan ja valitsemaan sopiva verkko-oppimateriaali. Pedagogisella laadulla tarkoitetaan, että oppimateriaali soveltuu luontevasti opetus- ja opiskelukäyttöön, sekä otetaan huomioon käyttöyhteys, jotta materiaali ei edellytä monimutkaisia tai vaativia teknisiä, opetuksellisia tai muita vastaavia järjestelyjä. (Opetushallitus 2024.) Verkko-oppimateriaalin sisältö on jaettu seuraaviin osiin: yhteenveto bakteereista, laboriodiagnostiikassa käytettäviä menetelmiä, resistenttien bakteerien diagnostiikka, sanasto, testaa osaamisesi, oppimateriaalin liittyvät linkit ja videot. Verkko-oppimateriaalin testiosiossa osallistujat voivat testata oppimaansa testin avulla. (Taulukko 5).

Taulukko 5. Verkko-oppimateriaalin sisältöä.

Resistentit bakteerit ja niiden laboriodiagnostiikka	1. Bakteerien yleinen esitys	Yhteenveto bakteereista
		Resistenttien bakteereista
	2. Resistenttien bakteerien laboriodiagnostiikassa käytettäviä menetelmiä	Viljely
		Herkkyyismääritys & VITEK ®2
		Lateksiagglutinaatiotesti eli latek agglutination (LA)
		PCR
		MALDI-TOF-Massaspektrometri
	3. Laboriodiagnostiikka	MRSA:n laboriodiagnostiikka
		ESBL:n laboriodiagnostiikka

		CPE:n laboratoriodiagnostiikka
		VRE:n laboratoriodiagnostiikka
	4. Sanasto	Sanastoa
	5. Testaa osaamisesi	Testaa osaamisesi
	6. Oppimateriaaliin liittyvät linkit ja videot	Brilliance™ MRSA2 Agar video
		CPE:n toteaminen
		Detection methods for antibiotic resistance
		MALDI-TOF- Mass spectrometry Explained
		MRSA
		PBP2' latex agglutination käyttöohje
		Theory of MALDI-TOF Mass Spectrometry
		What is PCR?

6 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tarjota OAMK bioanalyttikko-opiskelijoille ajantasaista, laadukasta ja kattavaa tietoa resistenttien bakteerien ja niiden laboriodiagnostiikan alueelta, varmistaen, että heillä on käytössään oppimateriaali, joka tukee heidän ammattitaitonsa kehittymistä mikrobiologian parissa. Materiaalin tuli tarjota opiskelijoille syvällistä ja luotettavaa tietoa, joka auttaa heitä ymmärtämään resistenssin merkityksen.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa Moodle-alustalle korkealaatuista oppimateriaalia, joka esittelee resistenttien bakteerien tunnistamiseen ja diagnostiikkaan liittyviä menetelmiä selkeästi ja kattavasti. Tämän saavuttamiseksi oppimateriaali suunniteltiin monimuotoiseksi, sisältäen tekstiä, kuvia, kaavioita ja kertaustentin, mitkä tukevat erilaisten oppimistapojen huomioimista, ja auttavat opiskelijoita ymmärtämään aihetta syvällisesti ja monipuolisesti. Materiaalin tuli olla helposti omaksuttavaa, monimuotoista ja päivitettävissä tarpeen mukaan, jotta se pysyy relevanttina ja käyttökelpoisena myös tulevaisuudessa. Materiaali esitettiin suomen kielellä diaesityksen muodossa ja oli suunnattu bioanalytiikan opiskelijoille.

7 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

Toiminnallinen opinnäytetyö on ohjeistavaa, opastavaa, järjestävää sekä järkeistää käytännön toimintaa. Tämän toiminnallisen opinnäytetyön sisältöön kuuluu toiminnallinen osuus, työnraportointi sen sisäisen dokumentoinnin ja arvioinnin. Tämän kokonaisuuden määrittävät tilaaja ja kohderyhmä. Toiminnallinen opinnäytetyö, johon kuuluu projektimuotoinen työskentely sekä käytännön tuotteen kehittäminen loppuun saakka, sopii toiminnallista ympäristöä miellyttävää opiskelijaryhmää. (Alahuhta, Pääatalo, Saastamoinen, Vähä & Ypyä 2018.)

Opinnäytetyössä tuotettiin verkko-oppimateriaalia bioanalytiikan opiskelijoille. Toiminnallinen osuus rajattiin käsittämään resistentit bakteerit ja niiden diagnostiset laboratoriomenetelmät, joiden parissa bioanalytiikan opiskelijat tulevat todennäköisemmin työelämässä mikrobiologiaan työskentelemään.

Tiedonhaku ja aineiston hankinta

Aiheen hyväksymisen jälkeen varattiin aika Oulun ammattikorkeakoulun kirjaston informaatikolle, jonka kanssa tehtiin alustavia tietokantahakuja. Toiminnallisen aineiston haku suoritettiin Duodecim Terveysportti, Oppiportti, PubMed, Elsevier, Google Scholar ja muihin verkkolähteisiin sekä suomeksi että englanniksi. Hakulausekkeen muodostaminen aloitettiin tutkimuksen pohjalta moniresistenttien bakteereihin liittyen sekä niiden diagnostiikkaan. Taulukossa 6 on esitetty tiedonhaussa käytetty hakusanat ja lausekkeet.

Taulukko 6. Tiedonhaussa sekä suomeksi että englanniksi käytetty hakusanoja ja -lauseita.

Hakusanoja suomeksi	Hakusanoja englanniksi
resistenssibakteerit	resistant bacteria
antibioottiresistenssi	antibiotic resistance
bakteeriresistenssi	bacterial resistance
mikrobiolääkeresistenssi	antimicrobial resistance
moniresistenssi bakteeri	multi-resistant bacteria
CPE, ESBL, MRSA, VRE	CPE, ESBL, MRSA, VRE
laboratoriodiagnostiikka	Laboratory diagnostics
bakteriologinen diagnostiikka	bacteriological diagnostics
mikrobiologinen laboratoriotutkimus	microbiological laboratory testing
mikrobiologiset viljelymenetelmät	microbiological cultivation methods
antigeenitesti	antigen testing
antigeeniosoitustesti	antigen detection test
nukleiinihapon osoitus	nucleic acid assay
PCR menetelmä	PCR method
herkkyysmäärittäminen	Antibiotic Susceptibility Testing (AST)
bakteerien tunnistus	Bacterial identification
bakteeriviljely	Bacterial culture

8 TULOKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET

8.1 Tulokset

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tarjota OAMK bioanalyttikko-opiskelijoille ajantasaista, laadukasta ja kattavaa tietoa resistenteistä bakteereista ja niiden laboriodiagnostiikasta. Tämän tarkoituksen tueksi oppimateriaalin hyödyllisyyttä arvioitiin Webropol-kyselyn avulla, kun oppimateriaali oli julkaistu Moodle-alustalla, jossa opiskelijat voivat perehtyä siihen ennen palauteen antamista. Palautekysely lähetettiin sekä ensimmäisen, toisen että kolmannen vuoden bioanalyttikko-opiskelijoille, että suurimmalle osalle OAMK sote-opiskelijoille. Verkko-oppimateriaaliin osallistuu 22 opiskelijaa. Kyselylomake on nähtävillä liitteessä 1.

Kyselyyn vastasi 11 opiskelijaa, mikä on tässä toiminnallisessa opinnäytetyössä riittävä määrä. Opiskelijat vastasivat kyselyyn anonymisti. Kyselylomakkeessa kysyttiin oppimateriaalin ulkoasusta, sisällön ja kuvien ymmärryksestä, kieliasusta, oppimateriaalin pituudesta ja järjestelystä, hyödyllisyydestä ja kehittämisestä. Aluksi suunniteltiin selkeä kyselylomake, jolla pyrittiin systemaattiseen tiedonkeruuseen. Kysymyksiä oli yhteensä 10 ja avoin palaute. Seuraavana yhteenveto kaikista vastauksista;

Suurin osa (n=6–7) vastaajista oli sitä mieltä, että oppimateriaali oli selkeä, asiasisältö ja aineiston havainnekuvat helposti ymmärrettävää, teoriaa järjestetty aineistossa loogisesti, kertaustentti tuki oppimaansa asiaa ja he kokivat oppimateriaalin hyödylliseksi. Jokseenkin samaa mieltä (n=4–5) oli, että tekstiä oli selkeä ja helppo lukea, sopiva pituinen ja oppimateriaalista löytyy tarvittavat tiedot. Oppimateriaaliin liittyvä YouTube-video tuki oppimista, jossa täysin samaa mieltä (n=5), jokseenkin samaa mieltä (n=4), mutta (n= 2) eivät osaa sanoa.

Avoimeen palautteeseen saimme kehitysideoina kolme vastaajasta;

- lyhyet johdannot aina joka osioon PowerPoint linkkiä kuvaamaan,
- jokaisen bakteerin jälkeen oma Moodle-tentti, jotta yksittäisistä asioista olisi jäänyt enemmän mieleen.

Muuna palautteensa saatiin; että tieto oli koottu laajasti ja josta opittiin resistenteistä bakteereista lisää sekä diaesitykset koettiin kuitenkin pitkiksi ja tekstimäärältään paljoksi, jonka vuoksi luenta koettiin raskaaksi, tiedon haenta koettiin, että oli useista lähteistä ja siihen oli käytetty ja panostettu paljon aikaa, diaesitykset olivat ulkoasultaan selkeitä ja helposti luettavia.

8.2 Johtopäätökset

Opinnäytetyölle asetetut tavoitteet on saavutettu. Verkko-oppimateriaalikyselyn vastaajat (noin 50 %) pitivät oppimateriaalista ja sen sisällöstä sekä sen hyödyllisyydestä. Vastausten viidestä vaihtoehdosta oppimateriaali koettiin olevan pääsääntöisesti onnistunut, eli kyselyn tulosten mukaan kokonaisuuden keskiarvo oli 4.4 (1 on täysin eri mieltä ja 5 on täysin samaa mieltä).

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa laadukasta verkko-oppimateriaalia Moodle-alustalle, joka käsittelee resistenttien bakteerien tunnistamista ja niiden laboriodiagnostiikan menetelmiä. Palautteen perusteella tavoite saavutettiin hyvin: opiskelijat kokivat materiaalin selkeäksi ja hyödylliseksi. Suurin osa piti oppimateriaalin ulkoasua pedagogisena ja sisältöä tukevana oppimisen kannalta.

Avoimesta palautteesta voi päätellä, että vaikka materiaali oli laaja, mikä koettiin paikoin raskaaksi, diaesitykset olivat selkeitä ja ymmärrettäviä. Opiskelijat arvostivat erityisesti sitä, että materiaali tarjosi ajantasaista ja luotettavaa tietoa resistenteistä bakteereista ja niiden laboriodiagnostiikan menetelmistä.

Materiaaliin oli lisätty tekstiä, kuvia ja kaavioita, jotka auttoivat opiskelijoita sisällön ymmärtämisessä, ja Moodle-alusta mahdollisti joustavan opiskelun omaan tahtiin. Tämä tukee tavoitetta luoda materiaalia, joka tukee erilaisia oppimistyyliä ja helpottaa opiskelua. Kyselyn perusteella oppimateriaalin

visuaalinen ilme ja selkeys saivat kiitosta, mikä osaltaan edesauttaa tiedon ymmärrettävyyttä ja muistettavuutta.

9 POHDINTA

Koko prosessin aikana on syvennytty aiheeseen ja pyritty luomaan materiaalia, joka tukee bioanalytiikan opiskelijoiden oppimista monipuolisesti ja kattavasti. Opinnäytetyön aikana havaittiin kuitenkin useita kehittämiskohteita. Ensinnäkin moniresistenttien bakteerien laaja kirjo ja niiden erilaiset laboratoriodiagnostiikan menetelmät osoittautuivat haasteellisiksi kattavasti käsitellä yhdessä oppimateriaalissa. Jatkossa olisi hyödyllistä rajata aihetta tarkemmin, keskittyen esimerkiksi vain yhteen bakteeriin ja sen diagnostiikkamenetelmiin. Tämä mahdollistaisi syvällisemmän ja yksityiskohtaisemman tutkimuksen.

Palautekyselyn tulokset osoittivat, että suurin osa vastaajista oli tyytyväisiä oppimateriaalin selkeyteen ja hyödyllisyyteen. Tämä antaa meille vahvistusta siitä, että olemme saavuttaneet asetetut tavoitteet. Voidaan olettaa, että tämä opinnäytetyö tarjoaa arvokasta tietoa ja työkaluja bioanalytiikan opiskelijoille. Kuitenkin jatkuva kehittäminen ja päivittäminen ovat välttämättömiä, jotta oppimateriaali pysyy ajantasaisena ja tehokkaana oppimisen tukena. Opinnäytetyöprosessi sujui pääosin hyvin ja aikataulun mukaisesti, mutta mukaan mahtui myös haasteita, kuten materiaalin laajuuden hallinta ja sisällön tarkentaminen. Näistä haasteista huolimatta prosessi tarjosi arvokasta kokemusta ja oppia.

9.1 Eettisyys ja luotettavuus

Tutkimustoiminnassa on arvioitava tehdyn tutkimuksen tuloksia, jossa pyritään havainnoimaan ja minimoidaan mahdolliset virheet, jotta lopputulos olisi luotettava. Tutkimuksen laadullinen arviointi on myös osa tätä tutkimusten analysointia. (Tuomi & Sarajärvi 2018, 118.) Tieteellisen tutkimuksen pyrkimys on saada tutkittavasta ilmiöstä mahdollisimman luotettavaa tietoa, samalla arvioiden tiedon tutkimustulosten totuudenmukaisuutta, joka on kyetty tutkimuksella tuottamaan. Tutkimuksen luotettavuuden arviointi on

välttämätöntä tutkimustoiminnan, tieteellisen tiedon ja sen hyödyntämisen kannalta. (Kylmä & Juvakka 2007, 127.)

Eettiseltä katsantokannalta hyvä tieteellisesti hyväksyttävä sekä luotettava tutkimus täyttää nämä kriteerit. Rehellisyys, huolellisuus ja tarkkuus, eettiset tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmät, avoimuus ja vastuullisuus viestinnässä, asianmukaiset tutkimusluvut ja viitaukset muiden tutkijoiden työhön ovat keskeisimpiä lähtökohtia eettiseltä kannalta. (TENK 2012, 6–7.)

9.2 Kehittämisehdotukset

Opinnäytetyön prosessin aikana on havaittu useita asioita, jotka voisivat kaivata edelleen kehittämistä. Näiden kehittämisehdotusten avulla tulevia töitä voidaan parantaa ja oppimateriaalia voidaan tehdä entistäkin paremmaksi ja kattavammaksi. Opinnäytetyöhön valittiin neljä kliinisesti yleistä moniresistenttiä bakteeria (MRSA, ESBL, CPE ja VRE), jokaisella bakteerilla on omat laboriodiagnostiikan menetelmänsä. Laajan aineiston kerääminen ja kattavaan oppimateriaaliin sisällyttäminen osoittautui haastavaksi rajallisen ajan vuoksi. Jatkossa opinnäytetyön aihetta voisi rajoittaa esimerkiksi keskittymällä vain yhteen moniresistenttiin bakteeriin. Tämä mahdollistaisi yksityiskohtaisemman tutkimuksen ja kattavamman analyysin laboriodiagnostiikan menetelmistä, mukaan lukien eri menetelmien vertailu, spesifisyys, herkkyys ja niiden etu- ja haittapuolten arviointi.

Oppimateriaalin esittämistapaa voisi rikastaa monipuolisemmilla oppimismenetelmillä, kuten videoilla ja interaktiivisilla tehtävillä. Tämä voisi auttaa erilaisia oppijoita hyödyntämään oppimateriaalia paremmin ja tehdä opiskelusta mielenkiintoisempaa. Tekstimuotoista selitystä voisi esimerkiksi tiivistää ja täydentää visuaalisilla elementeillä, jotta vältetään raskaalta tekstiesitykseltä.

Bioanalytikkojen työssä näytteenotto on keskeinen osa kliinistä työtä. Jatkossa voisi keskittyä enemmän näytteenottoon liittyvään tutkimukseen, kuten moniresistenttien bakteerien näytteiden kerääminen, kuljetus, säilytys ja

käsittely. Lisäksi voisi kehittää oppimateriaalia, joka esittää näytteenoton, säilytyksen, kuljetuksen ja laboriodiagnostiikan koko prosessin. Tämä voitaisiin esittää videoiden muodossa, mikä tekisi oppimateriaalista elävämmän ja havainnollisemman.

Tällä hetkellä oppimateriaali käsittelee neljää moniresistenttiä bakteeria, mutta kliinisessä ympäristössä on muitakin merkittäviä moniresistenttejä patogeenejä, kuten *Candida auris* (*C. auris*). Tulevaisuudessa oppimateriaalia voisi laajentaa käsittämään myös nämä muut moniresistentit mikro-organismit ja niiden laboriodiagnostiikan menetelmät. Tämä tekisi oppimateriaalista kattavamman ja hyödyllisemmän opiskelijoille.

Näiden kehittämis ehdotusten toteuttaminen auttaisi parantamaan oppimateriaalia ja tekisi siitä entistä hyödyllisemmän bioanalytiikan opiskelijoille. Samalla se tarjoaisi syvällisemmän ja monipuolisemman ymmärryksen moniresistenttien bakteerien diagnostiikasta ja käsittelystä laboratoriossa.

LÄHTEET

Alahuhta, M., Päätaalo, K., Saastamoinen, M., Vähä, T. & Ypyä, J. 2018. Toiminnallisen opinnäytetyön oppimiskokemukset. ePooki. Oulun ammattikorkeakoulun tutkimus- ja kehitystyön julkaisut 45. Hakupäivä 24.3.2024. <http://www.oamk.fi/epooki/2018/toiminnallinen-opinnaytetyo/>.

Alipour, Farzad, Ahmadi, Malahat & Javadi, Shahram 2014. Evaluation of different methods to detect methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Infection and Public Health*. May–June 2014, 186-191. Hakupäivä 3.2.2024. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034114000203>

Anttila, Veli-jukka 2022. ESBL- ja CPE-bakteerit. Lääkärikirja Duodecim. Hakupäivä 20.3.2024. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01205/esbl-ja-cpe-bakteerit?q=cpe#s1>

Biomérieux 2010. Hakupäivä 21.3.2024. https://www.mediray.co.nz/media/15750/om_biomerieux_chromogenic-media_ot-43481_package_insert_-_13594_-_e_-_en_-_43481.pdf

Biomérieux 2013. chromID® CARBA SMART Agar (CARB/OXA). Hakupäivä 22.03.2024. https://www.mediray.co.nz/media/15764/om_biomerieux_reagents_ot-414685_package_insert-414685.pdf

Biomérieux 2022. ChromID™ ESBL. Hakupäivä 22.3.2024. <https://www.biomerieux-nordic.com/product/chromidtm-esbl>

Biomérieux 2022. ChromID® VRE. Hakupäivä 24.3.2024. <https://www.biomerieux-nordic.com/product/chromidr-vre>

BioMérieux 2023. VITEK®2: Healthcare. Hakupäivä 26.03.2024.
<https://www.biomerieux-usa.com/vitek-2>

Cepheid 2020. GeneXpert, Expert MTB/RIF. Hakupäivä 7.8.2024.
<https://www.cepheid.com/content/dam/www-cepheid-com/documents/package-insert-files/Xpert-MTB-RIF-ENGLISH-Package-Insert-301-1404-Rev-G.pdf>

Check-Points Health 2018. Check-Direct CPE for BD MAX™. Hakupäivä 22.03.2024. https://check-pointshealth.com/wp-content/uploads/2019/01/Check-Direct_CPE_for_BD_MAX_EN_19-10-18_Singapore.pdf

Deepti, Rawat & Deepthi, Nair 2010. Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria NCBI 2010. Hakupäivä 30.1.2024.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2946684/>

Duodecim Oppiportti 2023. Antibioottiresistenssi. Hakupäivä 7.10.2023.
<https://www.oppiportti.fi/op/dvk00165/avaa>. Vaatii oikeutta.

EUCAST 2017. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Hakupäivä 21.03.2024.
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf

EUCAST 2019. New definitions of S, I and R from 2019. Hakupäivä 26.03.2024.
<https://www.eucast.org/newsiandr>

Friman, Tarja, Kuparinen Marja, Lehto, Liisa & Liikanen Eeva 2021. Laboratoriotutkimusten näytteenotto. 1.painos. Keuruu: Byretti kustannus avoin yhtiö.

Guo, Ling, Ye, Liyan, Zhao, Qiang, Ma, Yanning, Yang, Jiyong & Luo, Yanping 2014. Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. Journal of Thoracic Disease6 (5): 534–538.

Hakanen, Antti, Jalava, Jari & Kaartinen, Liisa 2017. Mikrobilääkeresistenssin torjunnan kansallinen toimintaohjelma 2017–2021. Sosiaali- ja terveysministeriö, Helsinki. Hakupäivä 21.03.2024.

https://julkaisut.valtioneuvosto.fi/bitstream/handle/10024/79886/STM_4_17_mikrobilaakeresistenssin_torjunnan_kansallinen_toimintaohjelma_WWW.pdf

Harju, Inka & Grönroos, Juha O. 2020. MALDI-TOF-massaspektrometria kliinisessä mikrobiologiassa. Lääketieteellinen aikakausikirja Duodecim. 2020; 136(15):1660-7

Heikkilä, Ritva, Helisten, Soile, Koukila-Kähkölä, Pirkko, Kurkinen, Tuula, Meurman, Olli, Nummelin, Raija, Pastila, Satu, Richardson, Malcolm & Ylönen, Helga 2002. Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa, Helsinki: Suomen Kuntaliitto.

Helenius, Minna, Kilpeläinen, Kati & Taponen, Elsa 2012. Mikrobiologiaa bioanalytikoille – Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen, Savonia-ammattikorkeakoulu: Theseus. Hakupäivä 15.3.2024.
https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/50982/Helenius_Minna%20Kilpelainen_Kati%20Taponen_Elsa.pdf?sequence=1

Helsingin yliopisto 2024. Yeslab-Kliinisen mikrobiologian laboratorio. Hakupäivä: 21.03.2024.
<https://www.helsinki.fi/fi/tutkimusryhmat/yeslab-kliinisen-mikrobiologian-laboratorio/elainlaakarille/usein-kysytyt-kysymykset>

Huovinen, Pentti, Meri, Seppo, Peltola, Heikki, Vaara, Martti, Vaheri, Anti & Valtonen, Ville 2003. Mikrobiologia ja infektiosairaudet, Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Huttunen, Reetta & Syrjänen, Jaana 2015. Resistentit mikrobit. Teoksessa Therapia fennica (toim. Acar Kauma & Kotila Mertsalmi) 10. laitos. Keuru: Otava Kirjapaino Oy.

Ilomäki, Liisa 2012. Laatu E-oppimateriaaleihin. E-oppimateriaalit opetuksessa ja oppimisessa. Opetushallitus. Hakupäivä 26.3.2024. https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/144415_laatu_e-oppimateriaaleihin_2.pdf

Jalava, Jari, Rintala, Esa & Lyytikäinen, Outi 2013. Suomen lääkärilehti. ESBL-entsyymejä tuottavien enterobakteerien torjunta on syytä suunnitella uudella tavalla. Hakupäivä 21.3.2024. https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/114532/ESBLn_torjunta_SLL2013.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Kylmä, Jari & Juvakka, Taru 2007. Laadullinen terveystutkimus (toim. Hanna Kokkonen) 1. painos. Helsinki: Edita Prima OY.

Lagier, Jean-Christophe, Edouard, Sophie, Pagnier, Isabelle, Mediannikov, Oleg, Drancourt, Michel & Raoult, Didier 2015. Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology. ASM Journals. Vol. 28, No. 1. Hakupäivä: 26.03.2024. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00110-14>

Li, Zhuo-Lei, Luo, Qi-Bing, Xiao, Shan-Shan, Lin, Ze-Hong, Liu, Ye-Ling, Han, Meng-Yi, Zhong, Jing-Hua, Ji, Tian-Xing, Guo, Xu-Guang 2021. NIH. Evaluation of GeneXpert vanA/vanB in the early diagnosis of vancomycin-resistant enterococci infection. Hakupäivä 7.2.2024. <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0009869>

Lääketieteellinen Aikakausikirja Duodecim 1997. Antibioottiresistenssi-säilyykö lääkkeiden teho? Hakupäivä 20.3.2024. <https://www.duodecimlehti.fi/duo70557>

Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) 2024. Extended Spectrum Betalactamase (ESBL). Hakupäivä 21.3.2024. <https://www.mskcc.org/cancer-care/patient-education/extended-spectrum-beta-lactamase>

MN Toimittajat 2023. Latex agglutination test – Definition, Procedure, Principle, Advantages, Limitation, Uses. Hakupäivä 26.03.2024.
https://microbiologynote.com/fi/lateksin-agglutinaatiotestin-menetelm%C3%A4n-periaatteen-eston-rajoittaminen/#What_is_the_latex_agglutination_test

Munukka, Eveliina & Eerola, Erkki 2020. Bakteerien luokkielu ja tyypittäminen. Teoksessa Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. (Toim. Terho Heikkinen, Asko Järvinen, Seppo Meri, Olli Vapalahti & Jaana vuopio) 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Männistö, Pekka T. & Tuomonen, Raimo K. 2024. Soluseinämää heikentävät bakteerilääkkeet. Hakupäivä 14.2.2024.
<https://asiakas.kotisivukone.com/files/medicina.kotisivukone.com/fato6painos/51.pdf>

Müller, Alex 2011. Gene Expert. Hakupäivä 7.8.2024.
<https://www.tbonline.info/posts/2011/10/3/gene-xpert/>

Nordlab 2024. VRE, Enterokokki, vankomysiiniresistentti, viljely. Hakupäivä 24.3.2024.
https://tutkimusohjekirja.nordlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=146&setid=1788

Nordlab 2024. Moniresistentit gramnegatiiviset sauvat, viljely. MDRSVi. Hakupäivä 2.2.2024.
https://tutkimusohjekirja.nordlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=146&setid=8426

Opetushallitus 2023. E-oppimateriaalin laatukriteerit 2023. Helsinki. Hakupäivä 13.11.2023. <https://www.oph.fi/fi/julkaisut/e-oppimateriaalin-laatukriteerit>

Opetushallitus 2024. Hakupäivä 26.3.2024. <https://www.oph.fi/fi/julkaisut/e-oppimateriaalin-laatukriteerit>

Oxoid 2001-2024. Brilliance VRE Agar. Hakupäivä 24.3.2024.
http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=PO1175&c=UK&lang=EN

Pelkonen, Olavi, Ruskoaho, Heikki, Hakkola, Jukka, Huupponen, Risto, MacDonald, Ewen, Moilanen, Eeva, Pasanen, Markku, Scheinin, Mika & Vähäkangas, Kirsi. 2014. Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 4. uusitettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Pumipuntu, Natapol, Tanee, Tawatchai, Thamsenanupap, Penkhae, Kyes, Pensri, Karaket, Apichat & C. Kyes, Randall 2023. Molecular Characterization of Staphylococcus aureus Complex Isolated from Free-Ranging Long-Tailed Macaques at Kosumpee Forest Park, Maha Sarakham, Thailand. Trop Med Infect Dis.2023 Jul; 8(7): 374. Hakupäivä 3.2.2024.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10386386/>

Tacconelli, Evelina & A Cataldo, Maria 2007. Vancomycin-resistant enterococci (VRE): transmission and control. NCBI. Hakupäivä 23.3.2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov.ezp.oamk.fi/2047/18164908/>

TENK 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen Suomessa. Hakupäivä 7.12.2023. https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf

Terveyskirjasto 2016. PCR. Hakupäivä 26.03.2024.
<https://www.terveyskirjasto.fi/ltt02527/pcr>

Terveyskirjasto 2022. ESBL- ja CPE-bakteerit. Hakupäivä 21.3.2024.
<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01205>

Terveyskylä 2022. Moniresistenttien bakteerien kantajuus. Hakupäivä 20.03.2024.
<https://www.terveyskyla.fi/infektio/antibioottiresistenssi/moniresistentit-bakteerit/moniresistenttien-bakteerien-kantajuus>.

Terveyskylä 2024. ESBL-E. coli-kantajuus vastasyntyneellä, lapsella. Hakupäivä 20.3.2024.

https://assets.eu.ctfassets.net/iikl9zq7hmux/BFA8F6C9A1D4994F30C903A4CB168856/d7c00edbbf959342cb550231f3098f68/ESBL_kantajuus_lapsella.pdf

Thermo Scientific 2006-2024. Brilliance™ VRE Agar. Hakupäivä 24.3.2024.

<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/PO1175A?SID=srch-srp-PO1175A>

Thermo Scientific 2014. Brilliance™ MRSA 2 Agar. Hakupäivä 22.03.2024.

<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/PO1210A?SID=srch-srp-PO1210A>

Thermo Scientific 2015. Oxoid™ PBP2' Latex Agglutination Test Kit. Hakupäivä 26.03.2024.

<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/DR0900A?SID=srch-srp-DR0900A>

Thermo Scientific 2024. Brilliance ESBL Agar. Hakupäivä 23.3.2024.

http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=PO5302&c=UK&lang=EN

THL 2020. Ohje moniresistenttien mikrobien tartunnantorjunnasta. Hakupäivä 20.03.2024.

https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/139220/THL%20OHJ_2_2020_17.2.2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y

THL 2023. Antibioottiresistenssi. Hakupäivä 20.03.2024.

<https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/antibioottiresistenssi>

THL 2023. MRSA. Hakupäivä 21.03.2024. <https://thl.fi/aiheet/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/mrsa>

THL 2024. ESBL. Hakupäivä 20.3.2024. <https://thl.fi/aiheet/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/esbl>

THL 2024. Infektiotaudit ja rokotukset. Hakupäivä 22.3.2024. <https://thl.fi/aiheet/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/vre-eli-vankomysiiniresistentti-enterokokki>

Tuomi, Jouni & Sarajärvi, Anneli 2018. Laadullinen tutkimus ja sisällönanalyysi. Helsinki: Tammi

Zahar, Jean-Ralph & Agnès, Ferroni 2006. Infections caused by multiresistant bacteria. Rev Prat 15; 56(13):1397-1404.

Zakaria, Nor Dyana, Hisham Hamzah, Hairul, Luqman Salih, Ibrahim, Balakrishnan, Venugopal & Abdul Razak, Khairunisak 2023. A Review of Detection Methods for Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) Genes: From Conventional Approaches to Potentially Electrochemical DNA Biosensors. Hakupäivä 23.3.2024. <https://www.mdpi.com/2079-6374/13/2/294>

Zhu, Y, Huang, WE & Yang, Q 2021. Clinical perspective of antimicrobial resistance in bacteria. Hakupäivä 24.3.2024. <https://www.dovepress.com/clinical-perspective-of-antimicrobial-resistance-in-bacteria-peer-reviewed-fulltext-article-IDR#cit0038>

PALAUTEKYSELY OPPIMATERIAALISTA

LIITE 1

Resistentit bakteerit ja niiden laboriodiagnostiikka -oppimateriaali

☐ Pakolliset kysymykset merkitty tähdellä (*)

Tämä palautekysely on osa opinnäytetyötä, joka käsittelee resistenttejä bakteereja ja niiden laboriodiagnostiikkaa. Ennen kyselyyn vastaamista pyydämme tutustumaan oppimateriaaliin Moodlessa. Kyselyyn vastaaminen vie vain muutaman minuutin ja on täysin anonyymiä. Kyselyn tuloksia käytetään opinnäytetyön raportin kirjoittamiseen ja sen onnistumisen arviointiin.

- Mengyue Li & Walitt Wengwith, BIO21SP

1 =Täysin eri mieltä

2 =Jokseenkin eri mieltä

3 =En osaa sanoa

4 =Jokseenkin samaa mieltä

5 =Täysin samaa mieltä

1. Oppimateriaali oli selkeä *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

2. Asiasisältö ymmärrettävää *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

3. Aineiston havainnekuvat helposti ymmärrettävissä *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

4. Teksti oli selkeä ja helppo lukea *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

5. oppimateriaali oli sopiva pituinen *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

6. Teoriaa järjestetty aineistossa loogisesti *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

7. Kertaustentti tuki oppimistani asioita *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

8. Oppimismateriaaliin liittyvä YouTube-video tuki oppimaani asioita *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

9. Koin oppimateriaalin hyödylliseksi *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

10. Löysin oppimateriaalista tarvittavan tiedon *

1	2	3	4	5
Täysin eri mieltä	Jokseenkin eri mieltä	En osaa sanoa	Jokseenkin samaa mieltä	Täysin samaa mieltä
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

11. Vapaa sana: Tähän voit kirjoittaa oppimateriaalin hyvät puolet. Onko jotain, mitä kaipasitte oppimateriaalista? Ja mitä paranneltavaa siinä olisi?
