

BAKTEERIPESÄKKEIDEN MAKROSKOOPPINEN TARKASTELU

Sofia Lähdemäki
Soile Lonka

Opinnäytetyö
Lokakuu 2011
Bioanalytiikan koulutusohjelman
Tampereen ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma, K08MBIOAN

LÄHDEMÄKI, SOFIA & LONKA, SOILE:
Bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu

Opinnäytetyö 43 s., liitteet 56 s.
Lokakuu 2011

Bakteerisoluja ei voida havaita paljaalla silmällä, mutta bakteerikasvua voidaan kuitenkin havaita ravintorikkailla pinnoilla, missä ne muodostavat silmin havaittavia pesäkkeitä. Bakteerien viljely sekä pesäkkeiden tunnistaminen ovat keskeisin osa bakteriologista tutkimusta. Perinteisin työskentelymenetelmä on maljaviljely, jonka lopputuloksesta voidaan visuaalisesti tarkastella bakteeripesäkkeiden kasvua elatusmaljalla. Viljelymaljoilta pyritään erottamaan eri pesäketypit toisistaan värin, koon, muodon, tuoksun sekä hemolyysin perusteella. Maljaviljelyllä eristetyt bakteerit voidaan tunnistaa suku- tai lajitasolle.

Bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta ei ole aikaisemmin tehty opiskelijoiden käyttöön oppimateriaalia, josta opiskelijat löytäisivät tietoa yhdestä lähteestä. Opinnäytetyön tavoitteina olivat, että bioanalyttikko-opiskelijat hyödyntäisivät itseopiskelumateriaalia bakteriologian opinnoissaan sekä edistävät omaa oppimistaan bakteeripesäkkeiden alustavassa tunnistuksessa. Oppimateriaali on suunnattu sekä Savonian että Tampereen ammattikorkeakoulujen toisen vuoden opiskelijoille. Lisäksi oppimateriaalia voi hyödyntää kliinisen mikrobiologian työharjoittelujaksolla. Opinnäytetyö tehtiin yhteistyönä Savonian ja Tampereen ammattikorkeakoulujen kesken.

Työ toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä, joka koostuu kahdesta eri osasta eli raportista ja tuotoksesta. Raporttiosa täydentää toiminnallisesta osuudesta syntynyttä tuotosta eli itseopiskelumateriaalia. Raporttiosassa kuvataan bakteriologian opinnot, teoriaosuus oppimateriaali oppimisen tukena, käsitteitä kokki- ja sauvabakteereista, primääri- ja puhdasviljelymenetelmät sekä tietoa bakteerien kasvuvaatimuksista. Raportissa kuvataan myös toiminnallisen opinnäytetyön suunnitteluvaihe sekä työprosessi. Itseopiskelumateriaalia varten perehdyttiin siihen, miten laadukas oppimateriaali tehdään ja mikä merkitys valokuvilla on oppimateriaalissa.

Tuotoksessa kuvataan patogeenisten bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu sekä tekstein että valokuvin, jotka auttavat opiskelijaa tunnistamaan erilaisia pesäkkeitä. Tuotos sisältää 54 sivua ja 158 valokuvaa. Lisäksi itseopiskelumateriaalissa kuvataan työssä käytettyjen elatusmaljojen teoretietoja sekä toiminnallinen osuus bakteerien pesäkemorfologian tuloksista. Työhön valittiin 15 kliinisesti merkittävää patogeenistä bakteeria. Maljaviljelyt suoritettiin Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Puijon kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Valmis tuotos on saatavilla PDF-tiedostona Theseus-tietokannassa, josta se on myös tulostettavissa. Lisäksi sama tiedosto on saatavilla Flash-animoituna interaktiivisena kirjana.

Avainsanat: bakteeri, elatusmalja, mikrobiologia, pesäke, patogeeni, viljely

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Technology, K08MBIOAN

LÄHDEMÄKI, SOFIA & LONKA, SOILE:
Macroscopic analysis of bacterial colonies

Bachelor's Thesis 43 pages, appendices 56 pages.
October 2011

In general, bacterial cells cannot be seen by the naked eye. Nonetheless, bacterial growth can be seen on food-rich surfaces where they tend to form visible colonies. Cultivating pure bacteria colonies and their identification is the most important part of bacteriological examination. The traditional method of investigation is to form bacterial colonies whereby bacterial growth can be visually examined on the surface of the culture media. By using this method of cultivation, bacteria can be isolated in order to identify the genus or species level. The bacterial colonies can also be examined macroscopically, where differences based on colonies' colour, size, shape, smell and hemolysis are investigated.

The objective of this study is to provide comprehensive information on the macroscopic examination of bacterial colonies in a single publication. Thus, the current study is intended for use by biomedical laboratory students, in the second year of their studies, and others who wish to identify bacterial colonies by using macroscopic identification as a self-study material. Specifically, it is suitable for students studying at Tampere Polytechnic University of Applied Sciences and Savonia University of Applied Sciences.

This study has been carried out as a practical report, which consists of two parts: the report and the output. The report section highlights the work carried out by the principal investigators and therefore, forms the self-study material for others. First, it contains a description of the bacteriology studies. Second, the theoretical element is outlined and forms the primary learning materials for students. Finally, it illustrates the concepts of cocci and rod bacteria together with practices used in order to primary cultivation and pure cultivation practices with the requirements of bacterial growth. The report also includes a description of the design and practical work process.

The need for high quality educational materials and in particular, illustrations, are crucial considerations when designing self study materials. Thus, the report includes pictures and detailed descriptions of pathogenic bacterial colonies which assist students in the colony identification process. Additionally, this report contains the theory behind used culture medium and reports the results of colonial bacteria. The final output is available in the Theseus database as a PDF file. Furthermore, the same file is available as an animated Flash file.

Keywords: bacteria, culture medium, microbiology, colony, culture

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	5
2	KLIINISEN BAKTERIOLOGIAN OPINNOT	7
3	OPPIMATERIAALI	9
3.1	Toimivan oppimateriaalin kriteerit	10
3.2	Visuaalinen oppiminen	11
3.3	Kuvat oppimisen tukena.....	12
4	BAKTEERIEN KASVUVAATIMUKSET	14
4.1	Ravinnevaatimukset.....	14
4.2	Kasvutekijät	17
5	OPINNÄYTETYÖHÖN VALITUT BAKTEERIT	20
5.1	Kokkibakteerit.....	20
5.2	Sauvabakteerit.....	23
6	MALJAVILJELY	28
6.1	Primaariviljely.....	28
6.2	Puhdasviljely.....	29
7	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT	30
8	TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ	31
8.1	Opinnäytetyöprosessin kuvaus.....	31
8.2	Tuotoksen kuvaus	36
9	POHDINTA	37
	LÄHTEET	40
	LIITTEET	44

1 JOHDANTO

Mikrobiologian diagnostiikassa käytetään useita eri menetelmiä, joiden tarkoituksena on laboratoriotutkimusten löydösten perusteella saada informaatiota potilaan sairaudesta, tartuntavaarasta, mikrobilääkehoidosta, infektioiden epidemiologiasta sekä bakteerien herkkyytilanteesta (Vuento & Lappalainen 2010). Bakteriologisen diagnostiikan perusta muodostuu bakteeriviljelystä, joka on perinteisin bakteriologian perusmenetelmä (Carlson & Koskela 2011, 40). Bakteeriviljelyssä bakteerit viljellään elatusmaljalle, johon eri bakteerit muodostavat erinäköisiä ja tuoksuisia pesäkkeitä. Bakteerisolusta kehittyneitä bakteeripesäkkeitä tarkastellaan makroskooppisesti. (Heikkilä & Meurman 2005, 95; Carlson & Koskela 2011, 41.)

Bakteeripesäkkeen tunnistamista bakteerin ominaisuuden perusteella kutsutaan pesäkemorfologiaksi (Karhumäki, Jonsson & Saros 2009, 191). Viljelyn tarkoituksena on löytää patogeeninen bakteeri, joka aiheuttaa ihmiselle sairautta. Elatusmaljalla kasvavat bakteerit voidaan tunnistaa joko suku- tai lajitasolle. (Carlson & Koskela 2011, 37.) Useimmat bakteerit kasvavat silmin nähtäviksi pesäkkeiksi jo alle vuorokaudessa. Viljelymaljojen makroskooppisessa tarkastelussa eri pesäketyypit pyritään tunnistamaan toisistaan värin, koon, muodon, tuoksun sekä hemolyysin perusteella. Alustavan bakteerilajin tunnistamisen perusteella voidaan päättää bakteereille tehtävistä biokemiallisista jatkotunnistuskokeista. (Carlson & Koskela 2011, 42.)

Bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta ei ole aikaisemmin tehty opiskelijoiden käyttöön ohjekirjaa, josta he löytäisivät tietoa nopeasti ja kattavasti. Idea aiheeseen luotiin omasta mielenkiinnosta bakteriologiaa kohtaan. Opinnäytetyöhön haluttiin valita aihe, jossa pääsee konkreettisesti selvittämään bakteerimaljojen tarkastelua. Aihe rajattiin tiettyihin elatusmaljoihin, kliinisen mikrobiologian laboratorion virtsaviljelytyöpisteen patogeenisiin bakteereihin sekä pesäkemorfologiaan. Opinnäytetyö ei sisällä bakteereille tehtäviä biokemiallisia jatkotunnistuskokeita. Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda toisen vuoden bioanalyttikko-opiskelijoille oppimateriaali bakteeripesäkkeiden makroskooppisen tunnistamisen avuksi. Tavoitteena opinnäytetyöllä on lisätä bioanalyttikko-opiskelijoiden osaamista bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta.

Opinnäytetyö toteutettiin yhteistyönä sekä Savonian ja Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalytiikka opiskelijoiden kesken. Tuotos on suunnattu molemmille kouluille toisen opintovuoden opiskelijoille bakteriologian kurssille itseopiskelumateriaaliksi. Maljaviljelyt suoritettiin Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) Puijon klinisen mikrobiologian laboratoriossa. Laboratoriosta saatiin bakteerien kontrolli- sekä laaduntarkkailukannat, joista tiedettiin, mitä bakteereja niissä on. Työhön valittiin 15 kliinisesti merkittävää patogeenistä bakteeria, joita kasvatettiin veri-, suklaa- ja CLED-maljoilla, kahden eri valmistajan kromogeenisillä maljoilla sekä *Escherichia coli* eosiinimetyleenisini- eli EMB-maljalla.

2 KLIINISEN BAKTERIOLOGIAN OPINNOT

Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalytiikan kliinisen bakteriologian opinnot ja Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan kliinisen mikrobiologian opinnot sijoituvat toiselle vuodelle. Opinnoissa käsitellään samanlaisia bakteriologian tutkimuksia, kuten viljelyä ja pesäkkeiden tunnistamista. Näin ollen opinnäytetyö palvelee kummankin koulun tarpeita.

Bioanalytiikan koulutusohjelman laajuus Tampereen ammattikorkeakoulussa on 210 opintopistettä. Koulutus kestää 3,5 vuotta. Koulutusohjelmaan sisältyy 12 opintopistettä kliinisen mikrobiologian opintoja, joista on 3 opintopistettä bakteriologian opintoja sekä 3 opintopistettä ammattitaitoa edistävää harjoittelua kliinisen mikrobiologian laboratoriossa. Kliinisen mikrobiologian bakteriologian opintojakso järjestetään toisena opintovuotena ja ammattitaitoa edistävä harjoittelu kolmantena opintovuotena. (Opetussuunnitelma 2009.)

Opintojaksossa opiskelijan tavoitteena on osata ottaa edustavia kliinisen bakteriologian näytteitä ja ohjata muita näiden näytteiden ottamiseen sekä tietää bakteriologisten tutkimusten preanalyttiset vaatimukset ja niiden kliininen merkitys. Opiskelijan tavoitteena on tuntea bakteriologisten tutkimusprosessin eri osavaiheet, pystyä tekemään kliinisen bakteriologian perusanalytiikkaa luotettavasti ja turvallisesti sekä tuntea yleisimmät bakteriologisen diagnostiikan menetelmät ja ymmärtää diagnostiikan perusteet. Opiskelijan tulee osata myös kiinnittää huomiota työskentelyssään työturvallisuuteen, jätekäselyyn ja bakteriologisten tutkimusten laatuun. (Opetussuunnitelma 2009.)

Kliinisen bakteriologian opintojakso sisältää bakteriologisten näytteiden oton, käsittelyn, säilytyksen ja lähettämisen sekä aseptiset ja työturvalliset työtavat. Opintojaksolla käsitellään bakteriologista tutkimusprosessia, erilaisia tunnistamismenetelmiä sekä tutkimusten laadunhallinnan perusteita. Bakteerit taudinaiheuttajina ja niiden aiheuttamat keskeiset infektioaudit sekä lääkkeet, niiden vaikutus- ja resistenssimekanismit kuuluvat myös opintojakson sisältöön. Opinnot sisältävät myös tarttuvien tautien ilmoittamisen sekä rekisteröinnin. (Opetussuunnitelma 2009.)

Opiskelu tapahtuu luento-opetuksena, ohjattuna käytännön harjoitteluna opetuslaboratoriossa sekä itsenäisenä opiskeluna. Opiskelija suorittaa käytännön harjoittelussa opetuslaboratoriossa veri- ja nieluviiljelyiden näytteenoton sekä viljelee veri-, nielu- ja virtsanäytteitä sekä kiekkoherkkyksiä. Harjoittelussa opiskelija perehdytetään bakteerikasvuston makroskooppiseen tarkasteluun ja jatkotutkimuksiin sekä niiden tuloksien tulkintaan. (Opetussuunnitelma 2009.)

Savonia-ammattikorkeakoulussa bioanalytiikan koulutusohjelman laajuus on 210 opintopistettä. Koulutus kestää 3,5 vuotta. (Opetussuunnitelma 2008, 8.) Koulutusohjelmaan sisältyy 10 opintopistettä kliinisen mikrobiologian opintoja, joista 2 opintopistettä on teoriaa, 3 opintopistettä harjoittelua koululla sekä 5 opintopistettä ammattitaitoa edistävää harjoittelua työelämässä. (Opetussuunnitelma 2008, 49.)

Kliinisen mikrobiologian bakteriologian opintojakso järjestetään toisena opintovuotena. Opintojaksossa opiskelijan tavoitteena on ymmärtää kliinisen mikrobiologian keskeiset käsitteet ja tutkimuskohteet. Opiskelijan tulee tietää kliinisesti tärkeimpiä bakteereita, niiden aiheuttamia sairauksia sekä tutkimusmenetelmiä. Lisäksi opiskelija pääsee tutustumiskäynnillä näkemään ja kokemaan kliinisen mikrobiologian laboratorion toimintaa. Kliinisen mikrobiologian opintojakso sisältää bakteriologian osalta mikrobien luokittelun ja niiden esiintymiset elimistössä sekä gram-positiivisten ja gram-negatiivisten kokkien ja sauvojen aiheuttamia sairauksia. Lisäksi opintojaksolla kuvataan bakteerien rakenne, ominaisuudet, muodot ja koot sekä perehdytään ihmisen normaaliflooraan. (Opetussuunnitelma 2008, 49 – 50.)

Harjoittelun sisältöön kuuluu laboratoriotutkimusprosessin mukaisen työskentelyn sisäistäminen. Opiskelija harjaantuu suositusten mukaiseen näytteenottoon ja käsitteelyyn, maljaviljelyyn kuten virtsa- ja nieluviiljelyn tekemiseen, gram-värjäykseen, biokemiallisiin tunnistuskokeisiin, herkkyysmäärittäisiin, laite- ja työturvallisuuteen sekä aseptiseen työskentelyyn. Opiskelija perehtyy myös elatusaineiden valmistamiseen sekä jäte- ja välinehuoltoon. (Opetussuunnitelma 2008, 50 – 51.)

3 OPPIMATERIAALI

Oppimateriaalilla tarkoitetaan johonkin aineeseen, materiaan, kytkettyä oppiainesta, jonka tulee välittyä oppilaille ja aikaansaada heissä elämyksiä sekä oppimiskokemuksia, joiden seurauksena syntyy tavoitteiden mukaisia, pysyväisluonteisia tietojen ja taitojen muutoksia sekä affektiivisiä vaikutuksia (Uusikylä & Atjonen 2007, 141). Oppimateriaali on oppimisen auttamisen väline. Hyvä oppimateriaali on sekä opettajan että opiskelijan edun mukaista. Oppimateriaalia laatiessaan joutuu pohtimaan, miksi ja millaista materiaalia tarvitaan ja kenelle materiaali on tarkoitettu. (Oulun yliopisto 2007.)

Oppijan oma aktiivisuus on tärkeää oppimisessa. Valmiin materiaalin sijaan opiskelijaa tulee kannustaa hankkimaan ja arvioimaan tietoa. Oppimateriaalin tulisikin herättää opiskelijan kiinnostus, kannustaa itsenäiseen ajatteluun, aktivoida häntä tarkastelemaan omaa osaamistaan, tietojaan ja asenteitaan. Ennalta valmistetun materiaalin ohessa myös opetustilanteessa syntyvällä materiaalilla on tehtävänsä. Pedagogisesti perusteltu ja hyvin valmisteltu oppimateriaali auttaa opettajaa seuraamaan opiskelijan oppimisprosessia ja helpottaa opetuksen suunnittelua, toteutusta ja arviointia. Oppimateriaalin kannalta on tärkeää, millaisen ajatteluprosessin se saa aikaan oppijassa. Hyvä oppimateriaali monipuolistaa ja havainnollistaa opetusta ja vaatii käyttäjältään intensiivistä ajattelua ja toimintaa. (Oulun yliopisto 2007.)

Oppimateriaali on väline tavoitteen saavuttamiseksi. Oppimateriaalia tulisikin tarkastella aina suhteessa tavoitteeseen: mihin kokonaisuudella pyritään tai mikä on erityisesti käytettävän materiaalin tavoite. Oppimisen tavoitteena voi olla muistaminen, toistaminen, tietäminen, tunnistaminen tai syvemmällä tasolla ymmärtäminen, soveltaminen, arvioiminen ja uuden luominen. Lisäksi tarvitaan opiskelijalta motivoitumista oppimiselle. Oppimateriaali ja opetusmenetelmät täytyvät valita suhteessa edellä mainittuun tavoitteeseen. (Jyväskylän avoin yliopisto 2011.)

Engeströmin oppimisprosessimallin mukaan aktiivinen oppiminen on prosessi, jossa aikaisempi osaaminen aktivoidaan ja asetetaan mahdollisesti itselle tavoitteita, luodaan kokonaiskuvaa asiasta, lisätään tietopohjaa, omakohtaistetaan opittava asia, sovelletaan

opittua sekä arvioidaan opitun käyttökelpoisuutta (Engeströmin oppimisprosessimalli, Jyväskylän avoimen yliopiston 2011 mukaan).

3.1 Toimivan oppimateriaalin kriteerit

Oppimateriaalin johdonmukaiseen laadintaan tarvitaan laatukriteereitä (Parkkunen, Vertio & Koskinen-Ollonqvist 2001, 4). Oppimateriaalin laatuun vaikuttavat muun muassa sisällön tarkoituksenmukainen rajaus, kohderyhmän tuntemus, sisällöntuottajien asiantuntemus, didaktinen lähestymistapa, oppimiskäsitys sekä viestinnän ja ilmaisun hallinta. Oppimisen kannalta tärkeää on pedagogisen laadun mittaaminen eli sen arvioiminen, kuinka hyvin oppimateriaali soveltuu opetus- ja opiskelukäyttöön ja kuinka hyvin se tukee oppimista. Laadun kriteereinä ovat pedagoginen laatu, käytettävyys, esteettömyys ja tuotannon laatu. (Högman 2006, 9, 12 - 13.)

Oppimateriaalin pedagogisella laadulla tarkoitetaan sitä, että oppimateriaali soveltuu luontevasti opetus- ja opiskelukäyttöön, tukee opetusta ja oppimista sekä tarjoaa pedagogista lisäarvoa. Oppimateriaalin soveltuvuus on yhteydessä käyttötilanteeseen, käyttäjien odotuksiin ja osaamiseen. Keskeisiä tuettavia pedagogisia piirteitä ovat erityisesti oppimisen yhteisöllisyys ja työskentely yhteisen kohteen parissa, oppijan oppimisen taitojen merkityksellisyys, oppijan aktiivisuus opittavan asian suhteen sekä oppimistehtävien haasteellisuus, avoimuus ja merkityksellisyys ja aitous oppijan kokemusten kannalta. Näin oppimateriaali tarjoaa sekä opettajille että oppijoille lisäarvoa. (Högman 2006, 12.)

Laadukas oppimateriaali tukee oppijaa antamalla hänelle soveltuvia itsenäisiä haasteita ja tekemällä oppimisen näkyväksi ja tietoiseksi. Tärkeää on, että oppija pystyy työskentelemään opittavan asian parissa, innostuu sen sisällöllisistä ja toiminnallisista mahdollisuuksista niin, että työskentely asian parissa motivoi ja tuottaa tuloksia, eikä hän joudu työskentelemään pedagogisesti toisarvoisten ongelmien parissa. Pedagogista laatua on edelleen käyttökontekstin huomioon ottaminen niin, että oppimateriaali ei edellytä monimutkaisia tai vaativia teknisiä, didaktisia järjestelyjä, vaan on sovellettavissa tavanomaisessa opetus- ja opiskelutilanteessa. Pedagoginen laatu on tekijöiden osaamisen yhteistulosta: siinä yhdistyvät oppimisen kannalta keskeinen sisältö visuaalisesti mielekkäästi ja hyvin toteutettuun sekä teknisesti toimivaan kokonaisuuteen. (Högman 2006, 14 – 15.)

Käytettävyydellä tarkoitetaan oppimateriaalin rakenteen sekä teknisen toteutuksen tuottamaa käytön sujuvuutta ja helppoutta. Käytettävyys on oppimateriaalin käyttäjän kokemus. Käytettävyys on heikkoa, kun käyttäjä esimerkiksi turhautuu materiaalin etsimiseen, epäselvään ilmaisuun tai ohjeiden puutteeseen. (Högman 2006, 18.) Esteettömyydellä tarkoitetaan sitä, että oppimateriaali on erilaisten ihmisten käytettävissä riippumatta heidän fyysisistä ja psyykkisistä ominaisuuksistaan ja terveydentilastaan. Esteettömyyskriteerit ovat samansuuntaisia monessa suhteessa kuin käytettävyyskriteerit. Käytännössä esteettömyystavoitteita joudutaan rajaamaan sen mukaan, mikä on mahdollista, kun otetaan huomioon muut tavoitteet, oppimateriaalin kohderyhmä ja käytettävissä olevat voimavarat. Esteettömyyskriteereitä sovellettaessa otetaan huomioon oppimateriaalille asetetut tavoitteet. Opiskelun tavoitteisiin saattaa sisältyä esimerkiksi sellaista osaamista, joka edellyttää normaalia näkökykyä, motoriikkaa tai oivaltamista. (Högman 2006, 21.)

Oppimateriaalin tuotantoprosessiin liittyy lisätekiäjiä, joita ei voi jättää huomiotta. Näitä ovat erityisesti tiedollisten, taidollisten ja oppimaan oppimisen tavoitteiden ohjaava rooli valittaessa toteutustapoja. Tämä tuotannon laadun kriteeristö kokoaa yhteen laadukkaan tuotannon vaiheet ja keskeiset huomioon otettavat elementit. Käytännössä ei voi pitäytyä pelkästään prosessin vaiheiden tarkistuksessa, vaan on varmistuttava siitä, että tuotanto on pedagogisesti laadukasta ja, että se täyttää käytettävyyden ja tavoitteena olevan esteettömyyden vaatimukset. (Högman 2006, 24 – 25.)

3.2 Visuaalinen oppiminen

Oppimateriaalia laadittaessa on huomioitava oikean opetusmenetelmän valinta. Opetusmenetelmän valinta perustuu yksilöllisten oppimistapojen tuntemiseen ja tiedon omaksumiseen, jolloin oppimateriaali saadaan toimimaan ja saavutetaan eri tavoin oppivat yksilöt. (Heikkilä & Rönkkö, 2006.) Valtaosa oppijoista pystyy tilanteen mukaan käyttämään visuaalista, auditiivista tai kinesteettistä tiedon oppimisen kanavaa. (Marckwort & Marckwort 1994, 48 – 49.)

Kuvanlukutaito tarkoittaa visuaalista lukutaitoa (Seppänen 2008, 141). Visuaalisella oppimisella tarkoitetaan näköhavaintoon perustuvaa oppimista. Tällöin oppija kiinnittää

huomiota siihen miltä asiat näyttävät. Visuaaliselle oppijalle tärkeitä ovat tekstit, kuvat, värit ja asioiden ulkonäkö sekä kokonaisuuksien hahmottaminen, jolloin näköaistin ja näkemisen merkitys korostuvat. Oppija kykenee palauttamaan mieleensä erilaisia näkömielikuvia, joiden avulla hän rakentaa uutta oppimaansa. Visuaalinen oppija tekee mielellään muistiinpanoja sekä muistaa erilaisia asioita näön varassa syntyvien mielikuvien avulla. Visuaalinen oppija oppii paremmin, kun hän hahmottaa asiasta kokonaiskuvan. (Oulun yliopisto 2005, 7; Koskinen & Hautaluoma 2009, 12 – 15.)

Auditiivista kanavaa käyttävät prosessoivat kaiken korvillaan, mutta kuuntelevat myös sisäistä ääntään (Marckwort & Marckwort 1994, 51). Itsenäisesti luettu teksti toimii hyvin valokuvan seuralaisena, sillä kaikki näköaisteilla tavoitettava informaatio on visuaalista. Sanat voivat maistua, kuulua, tuntua, ja näkyä, joten aistillisesti ajateltuna teksti tehostaa valokuvaa. (Seppänen 2008, 37 – 39.) Kinesteettiselle oppijalle on tärkeää tunne ja liike, koska kineettinen oppija haluaa kokeilla asioita itse ja saada näin tuntuman opittavaan asiaan (Marckwort & Marckwort 1994, 52). Osa oppijoista on kääntäjiä, eli he kääntävät heille esitetyn asian, esimerkiksi visuaalisen aineksen auditiiviseksi tai päinvastoin. Käyttävät oppijat sitten mitä kanavaa tahansa niin oppimista yhdistää kuvallisuuden havainnointi. (Marckwort & Marckwort 1994, 49, 53.)

3.3 Kuvat oppimisen tukena

Kuvien käytön avulla laajennetaan opiskelijan käsityksiä asioista ja ilmiöistä, koska kuvat täydentävät tekstiä ja luovat uusia merkityksiä. Oppimisessa kuvan tehtävänä on havaintojen rikastuttaminen ja niiden ohjaaminen sekä tekstin tai kerronnan organisoiminen. Kuvat ja tekstit puhuttelevat ihmisen psyykeen eri osia. Yhdessä kuvassa varastoituvat kokonaiset kappaleet teoriaa, monet tiedot ja yksityiskohdat. Kuva antaa esteettisen elämyksen, jonka saaminen muulla tavoin on työläämpää. Kuva voi myös selventää vaikeita sanoja tai käsitteitä. (Ikonen & Virtanen 2007, 262 – 263.)

Opiskelijan kuvien katselun strategiat saattavat olla epäsystemaattisia eikä käyttäytyminen ole määrätietoista. Katse voi kiinnittyä epäolennaisiin asioihin, eikä opiskelija tutki kuvaa kunnolla. Kuvan tulkitseminen on prosessi, joka etenee oivaluksesta tunnistamiseen ja muuttuu lopulta ymmärtämiseksi. Tämä prosessi on

harjaantuneelle ja kuvaan tottuneelle automaattinen, mutta harjaantumattomalle hidas. Kuvan tulkitseminen riippuu myös opiskelijan kokemuksesta ja kypsyydestä. (Ikonen & Virtanen 2007, 263.)

Kuva vaikuttaa katsojaansa monin tavoin. Se luo mielikuvia, tunnelmia ja väittämiä. Kuva voi pidempään tarkasteltuna antaa tilaa katsojan uusille oivalluksille. Julkaisussa kuvalla on tehtävänä kiinnittää huomiota, houkutella, orientoida lukijaa ja helpottaa viestin perillemenoä sekä täydentää tekstisisältöä. Lisäksi kuvalla voidaan myös tukea tekstin sanomaa. Kuva voi olla informatiivinen, jolloin se tuo tekstiä täydentävää tai uutta tietoa. Kuva voi myös olla dekoratiivinen, jolloin se luo ilmettä ja tunnelmaa yhdessä typografian ja sommittelun kanssa. Hyvä kuvitus välittää tarpeellisen viestin ja samalla jäsentää ja rikastuttaa ulkoasua. Julkaisun kuvittaminen on tekstin ja kuvien yhteen rakentamista. (Pesonen & Tarvainen 2003, 46 – 51.)

Kuvan on oltava tarkoituksenmukainen, eikä sitä tule käyttää vain pelkkänä koristuksena tai tilan täyttäjänä. Kuvaa kannattaa käyttää silloin, kun se sisältää tarpeellisen viestin ja tuo olennaista lisätietoa tai se tuo asiaan uuden ja kiinnostavan näkökulman. Kuvaa voi myös käyttää, kun se herättää lukijan mielenkiinnon ja elävöittää julkaisua sekä silloin, kun se esittää asian selkeämmin ja ytimekkäämmin kuin teksti. (Pesonen & Tarvainen 2003, 46 – 51.)

Kuvan merkitys syntyy monista tekijöistä sen sisällä ja siinä yhteydessä, jossa se esitetään. Myös kuvan dynamiikka sekä kuvien rakenne toimivat viestinviejinä. Kuvien sommittelulla voidaan vaikuttaa kuvan tunnelmaan ja niihin mielikuviin, joita kuva katsojassa herättää. Kuvaa rajaamalla voidaan jäntevoittää kuvaa ja tehostaa sen viestiä. Rajaamisella leikataan kuvasta asiayhteyden kannalta tarpeeton pois ja kiinnitetään huomio olennaiseen. (Pesonen & Tarvainen 2003, 46 – 51.)

4 BAKTEERIEN KASVUVAATIMUKSET

Bakteerien viljelyssä käytettävän elatusaineen tulisi sisältää kaikki tarvittavat ravinnevaatimukset bakteerisolun kasvuun ja kasvun ylläpitoon. Elatusaineen tulee sisältää sopivat hiili- ja energialähteet sekä muita ravinteita ja joskus kasvutekijöitä. Yksi elatusaine ei tue kaikkien bakteerien kasvua. (Wilson 2009, 18; Rohilla 2010, 207.) Gram-positiivisten bakteerien kasvuvaatimukset ovat usein kompleksisia ja siten ne vaativat rikkaan kasvualustan (Haahtela 1997, 45). Bakteerit, jotka eivät tarvitse ulkoisia kasvutekijöitä, koska ne pystyvät syntetisoimaan niitä itse, kutsutaan prototrofisiksi. Auksotrofiset bakteerit tarvitsevat kasvutekijöiden lisäämistä elatusaineeseen ennen kuin kasvaminen voi alkaa. (Rohilla 2010, 210.)

Bakteerien kasvuun vaikuttavat ympäristö ja fysiokemialliset tekijät. Tärkeimmät tekijät ovat lämpö, pH, hapetus-pelkistysaste (Eh), ilmakehän koostumus, veden aktiivisuus (a_w), suolapitoisuus ja valo. Bakteerien selviytyminen laboratoriossa, kuten luonnossakin, riippuu bakteerien kyvystä kasvaa tietyissä kemiallisissa ja fyysisissä olosuhteissa. Näiden edellytysten ymmärtäminen mahdollistaa bakteeripesäkkeiden tarkastelemisen, jolloin voidaan erotella erityyppiset pesäkkeet toisistaan. Tätä tietoa voi myös soveltaa kontrolloidukseen bakteerien kasvua. (Wilson 2009, 18; Rohilla 2010, 207.)

4.1 Ravinnevaatimukset

Monet bakteerit ovat hyvin vaatimattomia ravintonsa suhteen ja kykenevät niukallakin ravinnolla lisääntymään erittäin nopeasti (Vaara, Skurnik & Sarvas 2003, 73). Tarvittavia ainesosia kaikkien bakteerien kasvuun ovat hiili, happi, typpi, vety, fosfori, rikki, kalium, natrium, kalsium, magnesium, kloori ja rauta. Lisäksi pieniä määriä hivenaineita kuten kobolttia, kuparia, mangaania, sinkkiä ja molybdeenia tarvitaan kofaktoreina erilaisille entsyymeille sekä proteiinien ja muiden solujen komponentteina. (Wilson 2009, 14.)

Monet bakteerit tarvitsevat myös pieniä määriä orgaanisia kasvutekijöitä kuten aminohappoja, vitamiineja, rasvahappoja tai lipidejä. Bakteeri voi kolonisoida vain niitä paikkoja, jotka turvaavat sopivan energialähteen ja joissa on kaikki tarvittavat ravinteet

siinä muodossa, että bakteeri voi niitä hyödyntää kasvaakseen. (Wilson 2009, 14.) Jotta bakteerit voivat hyödyntää monimutkaisia makromolekyylejä kuten polysakkarideja, proteiineja, glykoproteiineja, rasvoja, glykolipidejä ja lipoproteiineja, bakteerin täytyy ensin hydrolysoida molekyyli pienempiin yksikköihin, jotka voidaan kuljettaa soluun (Wilson 2009, 15).

Hiili on tärkeä ja olennainen tekijä kaikessa elävässä ja se toimii bakteerien energianlähteenä (Rohilla 2010, 208; Haahtela 1997, 4). Hiili on bakteerien lisääntymisen ja kasvun kannalta tärkeä ja sen käyttökyky vaihtelee prokaryoottisilla bakteereilla enemmän kuin eukaryoottisilla soluilla (Haahtela 1997, 4). Bakteerit voidaan jakaa kahteen isoon ryhmään niiden hiililähteiden käytön mukaan litotrofisiin tai autotrofisiin sekä organotrofisiin tai heterotrofisiin bakteereihin. Litotrofiset bakteerit voivat käyttää hiilidioksidia hiililähteenä. Litotrofiset bakteerit pystyvät hapettamaan epäorgaanisia yhdisteitä. (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger & Winn 1997, 20 – 21; Rohilla 2010, 208.) Myös autotrofiset bakteerit hyödyntävät hiilidioksidia hiililähteenä. Autotrofisilla bakteereilla hiilenlähteenä voi toimia hiilidioksidi (CO₂) tai joku muu yksihiilinen yhdiste. Nämä pystyvät käyttämään hiilidioksidia ensisijaisena hiililähteenä biosynteettisille reaktioille. (Haahtela 1997, 4; Koneman ym. 1997, 20 – 21.)

Organotrofiset bakteerit hapettavat orgaanisia yhdisteitä eivätkä pysty käyttämään hiilidioksidia hiililähteenä, mutta vaativat hiiltä orgaanisessa muodossa kuten glukoosina (Rohilla 2010, 208). Heterotrofisilla bakteereilla hiilen lähteenä voi toimia esimerkiksi sokeri, orgaaninen happo ja aminohappo. Bakteerit, jotka vaativat orgaanisen hiililähteen vaativat myös hiilidioksidia tiettyihin makromolekyyli-synteesiin kuten rasvahappojen biosynteesiin. Näihin reaktioihin hiilidioksidi on usein saatu orgaanisen substraatin hajoamisesta. (Haahtela 1997, 4; Koneman ym. 1997, 20 – 21; Rohilla 2010, 208.)

Happea voi saada ilmasta tai isäntäkudoksesta, jossa se esiintyy vedessä ja useimmissa orgaanisissa yhdisteissä (Wilson 2009, 15). Happea hyödykseen käyttävät bakteerit ovat aerobeja. Pelkästään hapellisissa oloissa kasvavat bakteerit ovat obligatorisesti aerobeja, mutta jos ne pystyvät kasvamaan myös hapettomissa oloissa, ne ovat fakultatiivisia. (Haahtela 1997, 5.)

Bakteerit, jotka eivät pysty käyttämään happea ovat anaerobeja, mutta bakteerit, jotka pystyvät sietämään happea ympärillään, ovat aerotolerantteja (Haahtela 1997, 5). Aerotolerantit anaerobit ovat anaerobisia bakteereja, jotka eivät kuole altistuttuaan hapelle ja voivat kasvaa hapen läsnäollessa, mutta ne eivät käytä happea. Useat kliinisesti merkittävät aerobiset bakteerit ovat fakultatiivisia anaerobeja, jotka pystyvät elämään hapen läsnäollessa tai ilman happea. Obligatorisille anaerobibakteereille happi on tappava, happi stimuloi toksisen peroksidaasin tuotantoa, jolle niillä ei ole puolustusmekanismia. (Koneman ym. 1997, 21; Murray ym. 1999, 262; Cullimore 2000, 3; Forbes ym. 2007, 142.) Mikroaerofiiliset bakteerit sietävät happea vain rajoitetussa määrin ja kasvavat parhaiten matalassa happipitoisuudessa, korkeampi happipitoisuus voi olla inhiboiva. Mikroaerofiilit kasvavat optimaalisesti happikonsentraatiossa välillä 0,02 – 1,5 mg/l. (Koneman ym. 1997, 21; Cullimore 2000, 4; Forbes ym. 2007, 142.)

Obligatorisilla ja fakultatiivisilla aerobeilla glukoosin imeytyminen päättyy vapaiden radikaalien superoksidien lopulliseen kehittymiseen. Superoksidi pelkistetään entsyymien avulla, jolloin superoksidi muuntuu happikaasuksi ja vetyperoksidiksi. Myöhemmin toksinen vetyperoksidi kehittyy reaktiossa vedeksi ja hapeksi katalaasientsyymillä, jota on löydetty olevan aerobisilla ja fakultatiivisilla bakteereilla tai peroksidaasilla, joita on useilla aerotoleranteilla bakteereilla. (Koneman ym. 1997, 21.)

Tietyt bakteerit voivat käyttää puhtaassa molekyyli muodossa happea, typpeä, vetyä ja rikkiä. Muussa tapauksessa alkuaineet otetaan aina osana yhdisteistä, joissa on toisia alkuaineita. Esimerkiksi aerobiset ja fakultatiiviset anaerobit käyttävät molekyylistä happea hengityksessä. Typpeä sitovat bakteerit voivat saada typpeä pelkistämällä ilmasta peräisin olevan typen ammoniumiksi; typpi tuotetaan aminohapoiksi ja lopuksi proteiineiksi. (Rohilla 2010, 210.) Typpilähteitä on saatavilla monesta ravinteesta, kuten proteiinit, glykoproteiinit, lipoproteiinit, aminohapot, urea, ammonium-ionit ja nitraatti-ionit (Wilson 2009, 15).

Tärkeiden biomolekyylien kuten aminohappojen, puriinien ja pyrimidiinien, typpiatomit tulevat ammonium-ioneista (NH_4^+). Ammonium-ionien tuottaminen alkaa pelkistämällä ilman typen ammonium-ioneiksi. Ammonium mukautetaan monimutkaisiksi makromolekyyleiksi glutamaatilla ja glutamiinilla. (Koneman ym. 1997, 21.) Eräät bakteerit pystyvät sitomaan ilman typen käyttökelpoisempaan orgaaniseen muotoon. Typen

kolmoissidosten lujuuden takia, typen korjaus vaatii solun energiaa, adenosiinitrifosfaattia (ATP) ja voimakasta pelkistäjää. Prosessi käynnistyy nitrogenaasi-kompleksilla. Ihmisille sairauksia aiheuttavat bakteerit voivat korjata ilman typpeä, kuten *Klebsiella pneumoniae*. (Koneman ym. 1997, 21 – 22.)

Rauta on erinomainen sytokromien ja muiden entsyymien ainesosa, jota bakteeri voi hyödyntää kasvaakseen ja lisääntyäkseen. Monet bakteerit tarvitsevat rautaa elinympäristössään konsentraatiossa 6 – 10 M (molaarinen pitoisuus). Ihmiskehossa enimmäkseen rautaa on hemoglobiinissa, myoglobiinissa ja sytokromeissa. Lisäksi rautaa on sitä sitovissa proteiineissa, transferriinissa, laktoferriinissa, albumiinissa sekä ferritiinissa, jolloin bakteereille rautaa jää vain noin 10 – 15 M. (Wilson 2009, 15.)

Jotta bakteeri saa vähimmäismäärän saatavilla olevasta raudasta, se tuottaa rautaa sitovia yhdisteitä, sideroforeja. Tietyt lajit tuottavat entsyymejä hajottaakseen isäntänsä rautaa sitovia yhdisteitä vapauttaakseen raudan, toisilla on reseptoreja näille yhdisteille ja näin ne poistavat raudan sitovasta kompleksista. Lisäksi monet bakteerit tuottavat hemolysiinia, mikä hajottaa punasoluja ja näin vapauttaa rautaa sisältävät yhdisteet, kuten hemoglobiinin, josta bakteeri saa rautaa. (Wilson 2009, 15.)

Tärkeitä ravintoaineita bakteereille ovat eri ruumiinosissa olevat musiinit. Nämä ovat komplekseja mykoproteiineja, joiden hajottaminen vaatii monia entsyymejä, sulfataaseja, sialidaaseja, glykoosidaaseja, proteaaseja ja peptidaaseja. Vain muutamat organismeista tuottaa näin paljon entsyymejä, sen vuoksi usean eri lajin ko-operaatio on usein tarpeellista, jotta saadaan aikaan täydellinen mykoproteiinien hajoaminen. (Wilson 2009, 16.) Korkeat suolakonsentraatiot ovat haitallisia monille bakteereille, niiden aiheuttaessa dehydraatiota ja proteiinien denaturointia. Hien höyrystymisen johdosta, on monia ihon kohtia, joita halotolerantit bakteerit, kuten stafylokokit, voivat kolonisoida. (Wilson 2009, 22.)

4.2 Kasvutekijät

Monet patogeeniset bakteerit ja normaaliflooran bakteerit ovat vaativia ravinteiden suhteen (Vaara ym. 2003, 73). Kasvutekijät edistävät bakteerin kasvua ja niitä saadaan erilaisilta elimistön nesteiltä ja kudoksilta sekä hiivauutteilta, verestä ja verituotteilta elatusmaljalta. Riippuen bakteerien kyvystä tuottaa tärkeitä orgaanisia yhdisteitä ne

tarvitsevat metaboliaan tiettyjä aminohappoja, rasvahappoja, nukleiinihappoja, vitamiineja tai muita yhdisteitä, jotka sopivat tietylle bakteerille. (Rohilla 2010, 210.) Bakteerin kasvuun vaikuttavat tärkeät ravintoaineet ovat joko epäorgaanisina suoloina tai pienimolekyyllisinä orgaanisina yhdisteinä (Wilson 2009, 15).

Lämpötila vaikuttaa bakteerien kasvuun ja hengissä selviämiseen. Lämpötilan noustessa entsyymaattiset ja kemialliset toiminnot solussa kiihtyvät. Jos lämpötila pääsee nousemaan liian korkeaksi tai laskemaan alle solun minimi lämmönsietokyvyn, solun toiminnot hidastuvat jyrkästi ja pysähtyvät. (Haahtela 1997, 5.) Patogeeniset bakteerit yleensä lisääntyvät parhaiten lämpötilassa, joka vastaa ihmisen sisälämpötilaa. Useimmissa kehon osissa lämpötila on +37 °C. (Wilson 2009, 18.)

Bakteerit, jotka voivat kolonisoitua +37 °C, ovat mesofiilejä. Ne pystyvät kasvamaan +25 – +40 °C lämpötilassa ja niiden optimaalinen kasvlämpötila on noin +37 °C. Sen vuoksi useimpia lääketieteellisesti merkittäviä bakteereja kasvatetaan inkubaattoreissa, joissa lämpötila pidetään +35 °C – +37 °C välillä. (Forbes ym. 2007, 142; Wilson 2009, 18.) Näkyvien alueiden kuten ihon, lämpötila on muutamaa astetta matalampi noin +33 °C, mutta sidekalvollaisten pintojen lämpötila voi olla tätä alhaisempi (Wilson 2009, 18).

Organismin ympäristön vety-ionien konsentraation mittana toimii pH-arvo (Forbes ym. 2007, 142). Luonnossa pH-arvon ääriarajat ovat 0,5 pH ja 10,5 pH. Bakteerit kasvavat näissä ääriarajoissa ja niiden välisissä arvoissa. Suurin osa kliinisesti merkittävistä bakteereista pitävät neutraalista tai lievästi emäksisistä kasvuolosuhteista 6,5 – 7,5 pH välillä. Samoihin arvoihin sijoittuu myös kudosten ja elinten pH. Kaupallisesti valmistetut elatusaineet on puskuroitu tälle alueelle. (Forbes ym. 2007, 143.) Elatusaineen pH nousee bakteerin fermentaation tuottamien happamien tuotteiden takia. Puskureita, kuten fosfaatti ja kalsiumkarbonaatti, käytetään hyväksi stabilisoimaan pH:ta bakteeriviljelyssä. (Rohilla 2010, 210.)

Jotkut bakteerit sietävät erittäin happamaa ja alkaalista pH:ta, vaikka ne eivät pysty kasvamaan optimaalisesti. Tällaisia bakteereja nimitetään asiduurisiksi ja alkaliduurisiksi. Asidogeeninen viittaa niihin bakteereihin, jotka tuottavat happamia metabolian lopputuotteita, esimerkiksi streptokokki ja laktobasilli. Vaikka asiduurisia ja asidofiilisiä bakteereja on eristetty matalasta pH:sta, kaikki bakteerit, jotka kolonisoivat happamia alueita, eivät kuulu kumpaankaan kategoriaan. (Wilson 2009, 18 – 19.)

Kasvualustan happipitoisuuteen liittyy hapetus-pelkistysaste eli Redox-potentiaali, joka määrittää nesteessä olevien hapetus- tai pelkistysaineiden määrän. Tämä järjestelmä on pelkistykseen voiman mitta ja sillä on vaikutus entsyymaattisten reaktioiden toiminnalle, jotka osallistuvat samanaikaiseen yhdisteiden hapettamiseen ja pelkistämiseen. Jotkut bakteerit voivat saada aikaan tällaisia reaktioita vain hapettamalla ympäristön, kun toisilla bakteereilla pelkistetty ympäristö on ihanteellinen. Obligatoriset aerobit ovat metaboliaaltaan aktiivisia, jos elinympäristö on positiivisella hapetus-pelkistysasteella. Obligatoriset anaerobit vaativat negatiivisen hapetus-pelkistysasteen. Fakultatiiviset anaerobit pystyvät toimimaan laajoilla hapetus-pelkistysaste-arvoilla, koska niiden hapetusominaisuudet ovat voimakkaat. (Wilson 2009, 20.)

Inkuboidessa bakteerikasvustoa optimilämpötilassa, suuri osa vedestä haihtuu. Veden menetys elatusaineesta voi olla vahingollista bakteerikasvustolle kahdella tapaa, vettä on vähemmän tarjolla normaalille bakteerin metabolialle tai veden menetyksen myötä tapahtuu liuoskonsentraation suhteellinen nousu elatusaineessa. Liuoskonsentraation nousu voi aiheuttaa osmoottisen sokin bakteerisolulle ja siten aiheuttaa solukuoleman. (Koneman ym. 1997, 22.) Vesi tarjoaa vetyä ja happea tietyissä kemiallisissa reaktioissa. Liuenneita aineita sisältävä vesi ei välttämättä ole osmoottisesti sopivaa tai ”saatavilla” bakteerien käyttöön, joten saatavilla oleva vesi tulee huomioida. (Rohilla 2010, 207 – 208.)

Kasvualustan veden aktiivisuus on merkki veden osuudesta, joka on saatavilla bakteerien toiminnalle ja on poikkeuksetta vähemmän, kuin koko veden määrä ja siihen vaikuttaa liuenneiden aineiden/liuosten konsentraatio. Puhtaassa vedessä on 1.0 aw ja ihmisen solu vaatii 0.997 aw kasvaakseen. Monet patogeeniset bakteerit tarvitsevat veden aktiivisuudeksi vähintään 0,96 aw aktiiviselle metabolialle ja monet ihmisessä olevat kasvualustat täyttävät nämä vaatimukset, poikkeuksena monet ihon alueet. Staphylokokki, toisin kuin monet muut bakteerit, voi kasvaa veden aktiivisuuden ollessa 0.85 aw ja näin se voi kolonisoida kehon kuivia alueita. (Wilson 2009, 21.)

5 OPINNÄYTETYÖHÖN VALITUT BAKTEERIT

Bakteerit ovat suhteellisen yksinkertaisia yksisoluisia organismeja. Bakterisolut koostuvat DNA:sta, RNA:sta, proteiineista, lipideistä ja hiilihydraateista. Bakterisolun sytoplasmassa tapahtuu lähes kaikki solun kasvu-, aineenvaihdunta- ja replikaatioreaktiot. Bakteerien genomi koostuu yhdestä tai useammasta yleensä rengasmaisesta DNA-molekyylistä. (Vaara ym. 2003, 51 – 52, 55, 58.)

Lähes kaikilla bakteereilla on solukalvon ulkopuolella soluseinä. Soluseinä antaa bakterisolulle sen ominaisen muodon, kokkibakteerille (coccus) pallomaisen muodon ja sauvabakteerille (bacillus) sauvamaisen muodon. Soluseinän rakenteen perusteella bakteerit jaetaan gram-negatiivisiin ja gram-positiivisiin bakteereihin. (Vaara ym. 2003, 52, 58.)

Kokkibakteereista viljeltiin *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* ja B-ryhmän streptokokki. Sauvabakteereista viljeltäviksi valittiin *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter koseri*, *Corynebacterium renale*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus* sp. (laji), *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa* sekä *Serratia marcescens*.

5.1 Kokkibakteerit

Tavallisin enterokokin aiheuttama infektio on virtsatieinfektio (Koivula, Leinonen & Nuorti 2003, 129). Enterokokki on gram-positiivinen, fakultatiivinen anaerobi (Murray ym. 1999, 299). Enterokokit eivät tuota itiöitä. Liikkuvuutta voidaan havaita joillain lajeilla. Enterokokit voivat kasvaa +10 – +45 °C ja niiden optimilämpötila on +35 – +37 °C. (Wilson 2009, 285.) Ne eivät tarvitse nostettua hiilidioksidipitoisuutta, vaikka jotkut lajit kasvavat paremmin hiilidioksidipitoisessa ympäristössä (Murray ym. 1999, 299). Enterokokeilla on monipuoliset ravinnevaatimukset ja ne fermentoivat sokereita ja lopputuotteena on usein laktaattia (Wilson 2009, 285).

Enterokokit ovat kasvuvaatimuksiltaan joustavia. Ne ovat halotoleranteja ja kykenevät siten kasvamaan suolaisessa ympäristössä (6,5 % NaCl) ja korkeassa pH:ssa (9,6 pH). Enterokokit sietävät myös hypertonisia ja hypotonisia sekä happamia ja emäksisiä

olosuhteita. (Rantakokko-Jalava & Anttila 2010, 126; Wilson 2009, 285.) Enterokokki on sappiresistentti ja sietää 40 % sappihapon suoloja (Wilson 2009, 285). Enterokokit kasvavat nonhemolyttisinä pesäkkeinä, joskus saattaa esiintyä myös α - ja β -hemolyttisiä kantoja (Rantakokko-Jalava & Anttila 2010, 126).

Tietyt enterokokit, kuten *Enterococcus faecalis*, voivat hydrolysoida proteiineja, kuten kollageenia, kaseiinia, insuliinia, hemoglobiinia, fibrinogeenia ja gelatiinia, yhdessä peptidien kanssa. Ne pystyvät hydrolysoimaan lipidejä ja hyaluronihappoa. (Wilson 2009, 285.) Lampaan verta sisältävillä agareilla jotkut *Enterococcus faecalis* kannat ovat nonhemolyttisiä, kun taas jäniksen, hevosen tai ihmisen verta sisältävillä agareilla ne ovat β -hemolyttisiä (Murray ym. 1999, 299).

Staphylokokki on fakultatiivinen anaerobi, liikkumaton gram-positiivinen kokki. Se ei tuota itiöitä. Suvun lajeista noin puolet voi elää iholla. (Rohilla 2010, 224.) Staphylokokit voivat fermentoida useita sokereita tuottaen pääasiassa maitohappoa. Staphylokokit voivat kasvaa +10 – +45 °C lämpötilan alueella vaikka niiden optimilämpötila on +30 – +37 °C:ta. Staphylokokin optimi pH-alue on 7.0 – 7.5 pH, mutta ne voivat kasvaa myös alueella 4.0 – 9.0 pH. (Wilson 2009, 71 – 72.)

Staphylokokit ovat halotolerantteja, kaikki lajit kasvavat 10 % suolakonsentraatiossa ja useat kasvavat jopa 15 % suolakonsentraatiossa. Se myös kasvaa veden aktiivisuuden ollessa noin 0,85 aw. Staphylokokki tuottaa monia hydrolyttisiä entsyymejä; proteaasia, lipaasia, keratinaasia ja nukleaasia. Monet lajit hydrolysoivat ureaa. (Wilson 2009, 71 – 72.) Staphylokokki muodostaa isompia pesäkkeitä kasvaessaan hapen läsnä ollessa (Murray ym. 1999, 262).

Staphylococcus aureus on ihmisen tavallisin patogeeninen märkäbakteeri (Vuopio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2003, 98). Se kuuluu suun, nielun, nenän ja ihon normaaliflooraan, mutta se voi olla erityisen tehokas ja taudinaiheuttamiskykyinen bakteeri ihmisille, joiden vastustuskyky on heikko (Haahtela 1997, 44). *Staphylococcus aureus* voi aiheuttaa paiseita useisiin elimiin, endokardiittia maha-suolitulehdusta, toksisen sokkioireyhtymän, pneumonian, haavojen infektoita ja sepsistä (Levinson 2004, 469).

Staphylococcus aureus muodostaa nimensä mukaisesti kullankeltaista väripigmenttiä, mutta väri voi puuttua eikä se siten ole tunnistamiseen riittävä kriteeri (Haahtela 1997, 44; Vuopio-Varkila ym. 2003, 98). *S. aureus* pesäkkeet voivat olla väriltään harmaita, kermanvärisiä, keltaisia tai oransseja (World Health Organization 2003, 94). *S. aureus* pesäkkeet ovat kooltaan viisi prosenttisella lampaanverimaljalla keskikokoisesta isoon, sileitä, kokonaisia, hieman kohonneita ja läpikuultavia. Jotkut harvinaiset *Staphylococcus aureus* -kannat tuottavat ”tihru” eli kääpiöpesäkkeitä. Harvinaiset kannat, joilla on suhteellisen suuret kapselit, tuottavat märkiä, kiilteleviä pesäkkeitä, jotka ovat pienempiä ja kuperampia kuin kapselittomilla kannoilla. (Murray ym. 1999, 264, 267, 271; Forbes ym. 2007, 289.) Useimmat kannat tuottavat β -hemolyyysiä. *Aureus* tuottamat hemolysiinit hajottavat punasoluja. (Vuopio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2010, 83 – 85; Rohilla 2010, 224.)

Staphylococcus saprophyticus on virtsatiehakuinen ja aiheuttaa virtsatieinfektioita erityisesti nuorille naisille, joten sen löytyminen virtsaviljelynäytteestä on merkitsevä löydös (Lyytikäinen & Vuopio-Varkila 2003, 107, 109; Pallen, Nelson & Preston 2007, 132). *S. saprophyticus* pesäkkeet ovat viisi prosenttisella lampaanverimaljalla suuria, kokonaisia, kiiltäviä, läpikuultamattomia, sileitä ja kuperampia kuin muiden staphylokokki -lajien pesäkkeet. Suunnilleen puolet kannoista tuottaa pigmenttiä pesäkkeisiin, kermansävyisestä keltaoranssiin. (Murray ym. 1999, 271; Forbes ym. 2007, 289.) *Staphylococcus saprophyticus* on non-hemolyyttinen (Levinson 2004, 104).

Streptokokki on gram-positiivinen, liikkumaton fakultatiivinen anaerobinen bakteeri. Streptokokit eivät tuota itiöitä. Kaikki streptokokki -suvun lajit ovat vaativia ravinnon suhteen ja ne kykenevät respiratoriseen metaboliaan. Streptokokkien kasvua elatusaineella voidaan parantaa lisäämällä siihen verta tai seerumia. (Murray ym. 1999, 263; Wilson 2009, 123.) Jotkut streptokokki -lajit tarvitsevat korkean hiilidioksidipitoisuuden kasvaakseen. Streptokokit voivat kasvaa +20 – +42 °C lämpötilan alueella, optimilämpötila on kuitenkin +37 °C. (Wilson 2009, 124.) Streptokokki -viljelmä tulee inkuboida +35 – +37 °C:ssa. Streptokokki kasvaa hyvin anaerobisessa tilassa, mutta fakultatiivisuutensa vuoksi anaerobinen inkubaatio ei ole välttämätön. (Murray ym. 1999, 263.) Streptokokit fermentoivat hiilihydraatteja lopputuotteenaan laktaattia. Jotkut lajit ovat asidofiilejä, ja voivat elää pH:n ollessa 4.1. (Wilson 2009, 124.)

Streptokokit voidaan luokitella kolmeen ryhmään punasoluja hajottavan kykynsä perusteella. Verimaljalla kasvaessaan β -hemolyyttiset streptokokit hajottavat punasolut täydellisesti, jolloin pesäkkeen ympärille muodostuu kirkas kehä. α -hemolyyttiset streptokokit aiheuttavat epätäydellisen hajoamisen, joka näkyy vihertävänä kehänä. γ -tai non-hemolyyttiset streptokokit eivät hajota lainkaan punasoluja (Haahtela 1997, 43.) B-streptokokin pesäkkeet ovat läpikuultavia tai kuultamattomia, matalia ja kiiltäviä. β -hemolyysi näkyy ohuena alueena pesäkkeen ympärillä, jotkut kannat voivat olla nonhemolyyttisiä. (Forbes ym. 2007, 309.)

5.2 Sauvabakteerit

Citrobakteeri kuuluu *enterobacteriaceae* -sukuun. Citrobakteerit ovat gram-negatiivisia, fakultatiivisia anaerobi-sauvoja, jotka pystyvät liikkumaan värekarvallisten flagellojen avulla. (Cullimore 2000, 41.) Citrobakteeri kuuluu maha-suolikanavan normaaliflooraan ja se voi aiheuttaa virtsatietulehduksen sekä sepsiksen (Brooks 2007, 255; Forbes ym. 2007, 367). Hiililähteenä Citrobakteeri voi käyttää sitraattia. Glukoosi fermentoidaan hapoksi ja kaasuksi. (Cullimore 2000, 41.) Citrobakteeri on yleensä laktoosiposiitivinen ja se fermentoi laktoosia hitaasti (Gomella ym. 2001, 126; Brooks 2007, 251). *Citrobacter koseri* on aikaisemmin tunnettu nimellä *Citrobacter diversus* (Farber & Forsythe 2008, 3).

Corynebakteeri on iholla elävä mikrobi. Se on fakultatiivinen liikkumaton anaerobinen tai aerobinen gram-positiivinen sauva. Se ei muodosta itiöitä eikä kapselia. Se pystyy kasvamaan suurissa lämpötilan vaihtelussa +15 – +40 °C, mutta sen optimilämpötila kasvaakseen on +37 °C:ta. Corynebakteeri on *C. jeikeiumia* lukuun ottamatta, halotolerantti ja se voi kasvaa 10 % suolakonsentraatiossa. *C. urealyticumia* lukuun ottamatta, corynebakteeri voi käyttää hiilihydraatteja sekä aminohappoja energia- ja hiililähteenä. Lipofiilinen Corynebakteeri vaatii kasvaakseen vitamiineja kuten riboflaviini, nikotiiniamidi, tiamiini, pantotenaatti ja biotiini. Näitä vitamiineja on hiessä ja niitä vapautuu kuolevista keratinosyyteistä. (Wilson 2009, 67 – 68.)

Enterobakteerit kuuluvat suoliston normaaliflooraan (Haahtela 1997, 51). Enterobakteeri on gram-negatiivinen fakultatiivinen anaerobinen sauva. Useimmat lajit pystyvät liikkumaan harvakseltaan olevien värekarvallisten flagellojen avulla. (Cullimore 2000, 42; Wilson 2009, 286.) Ne eivät tuota itiöitä. Ne fermentoivat

glukoosia hapoksi ja pelkistävät nitraatin nitriitiksi. Enterobakteerit pystyvät kasvamaan +25 – +37 °C:n välillä. *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus* ja *Serratia* kuuluvat *Enterobacteriaceae* -sukuun. (Brooks 2007, 249; Wilson 2009, 286.) Suoliston bakteereja voidaan myös kutsua koliformeiksi (Brooks 2007, 249).

Enterobakteeri ei tavallisesti muodosta polysakkaridikapselia (Tissari & Anttila 2003a, 193). Enterobakteerit fermentoivat glukoosin hapoksi ja kaasuksi, mutta +44,5 °C kaasuuntumista ei enää tapahdu (Cullimore 2000, 42; Gomella & Haist 2001, 126; Ryan & Ray 2003, 370). Enterobakteeri voi käyttää sitraattia tai malonaattia hiililähteenä. Enterobakteeri on yleensä laktoosiposiitivinen ja muodostaa pesäkkeitä, jotka muistuttavat Klebsiellan pesäkkeitä, mutta eivät ole yhtä limamaisia. (Cullimore 2000, 42; Gomella & Haist 2001, 126; Ryan & Ray 2003, 370.) *Enterobacter cloacae* aiheuttaa pneumoniamia, virtsatieinfektioita ja sepsiksen (Levinson 2004, 477).

Escherichia coli on ihmisen normaaliflooraan kuuluva bakteeri. *E. coli* tuottaa K-vitamiinia, jonka takia ihminen ei tarvitse ravinnossaan kyseistä vitamiinia. *E. coli* aiheuttaa suolisto- ja virtsatieinfektioita sekä vastasyntyneillä aivokalvontulehdusta. (Haahtela 1997, 51.) *E. coli* aiheuttaa 90 % virtsatieinfektioista. Virtsa on hyvä elatusaine *E. coli*lle. Tartunta saadaan yleensä omasta suoliston ja välilihan alueen floorasta. (Siitonen & Vaara 2003, 177.)

Escherichia coli on fakultatiivinen anaerobi gram-negatiivinen sauva, joka pystyy liikkumaan värekarvallisten flagellojen avulla. Glukoosi ja muutamat muut hiilihydraatit fermentoituvat puryvaatin ansiosta, jotka siten muuttuvat maito-, muurahaish- ja etikkahapoiksi. Osa muurahaishaposta puolittuu hydrogenylaasin avulla hiilidioksidiksi ja hapeksi. Tämän vuoksi on tavallista, että *E. coli* tuottaa happoja ja kaasuja fermantoidessaan sokeria. Useimmat kannat fermentoivat myös laktoosia. (Cullimore 2000, 41.) *E. coli* on usein β -hemolyyttinen (Forbes ym. 2007, 371). *Escherichia coli* ja useimmat muista suoliston bakteereista muodostavat pyöreitä, kuperia ja tasaisia pesäkkeitä, joilla on selkeät reunat. Jotkut *E. coli* -kannat tuottavat hemolyysiä verimaljalla. (Brooks 2007, 249.) *E. coli* on laktoosiposiitivinen (Siitonen & Vaara 2003, 176).

Klebsiella kuuluu ihmisellä suoliston normaaliflooraan (Haahtela 1997, 52). *Klebsiella* on liikkumaton fakultatiivinen anaerobi gram-negatiivinen sauva. Sillä on kyky

muodostaa polysakkaridikapseleita, mikä näkyy kupumaisina, kiiltävinä ja tahmamaisina pesäkkeinä elatusmaljoilla. (Cullimore 2000, 43; Wilks, Farrington & Rubenstein 2008, 279; Tissari & Anttila 2003a, 192.) Klebsiellan pesäkkeet ovat erittäin limaisia ja niillä on tapana yhdistyä pitkittyneessä inkubaatioissa (Brooks 2007, 249). Klebsiellan ravintovaatimukset kasvaakseen ovat yksinkertaiset ja normaalisti sekä glukoosi että sitraatti voivat toimia hiililähteenä. Glukoosi fermentoidaan pienissä määrin tuottamalla happoa ja kaasua. (Cullimore 2000, 43.) *Klebsiella* on laktoosipositiivinen (Gomella ym. 2001, 126).

Lactobacillus kuuluu ihon normaaliflooraan ja niitä esiintyy mm. ihon, suoliston ja emättimen limakalvoilla (Haahtela 1997, 45). *Lactobacillus* on liikkumaton gram-positiivinen sauva, joka ei kykene muodostamaan itiöitä. Useat kannat ovat fakultatiivisesti psykrotrofisia. *Lactobacillus* on mikroaerofiilinen tai obligatorinen anaerobi, useimmat ovat mikroaerofiilisiä ja kasvua voidaan parantaa nostamalla ilman hiilidioksidipitoisuutta viiteen prosenttiin. (Cullimore 2000, 91 – 92; Wilson 2009, 181.)

Lactobacillus fermentoi sokereita lopputuotteena kuten happoja, alkoholia ja hiilidioksidia. Lajit, jotka tuottavat suurimmaksi osaksi maitohappoja glokoosista, ovat homofermentatiivisia. Ne, jotka tuottavat pienempiä määriä maitohappoa ja etikkahappoa sekä muurahaishappoa ja alkoholia, ovat heterofermentatiivisia. Niillä on kompleksiset ravintovaatimukset ja ne voivat tarvita aminohappoja, peptidejä, rasvahappestereitä, suoloja, nukleiinihappojen johdannaisia tai vitamiineja. *Lactobacillus* on asiduurinen ja asidofiilinen. Se pystyy kasvamaan pH:n ollessa 3,5 – 6,8 pH, mutta sen optimaalinen pH on noin 6,0 pH. Se pystyy kasvamaan +15 – +45 °C lämpötilassa. (Cullimore 2000, 91 – 92; Wilson 2009, 181.)

Morganella on fakultatiivinen anaerobi gram-negatiivinen sauva, joka liikkuu usein värekarvallisten flagellojen avulla matalassa lämpötilassa. *Morganella morganii* voi aiheuttaa virtsatieinfektion ja sepsiksen. (Levinson 2004, 477.) Pesäkkeen kasvaessa agarilla ei tapahdu aggressiivista hunnuttamista. Muutamat hiilihydraatit fermentoituvat ja tartraatti hyödynnetään, mutta sitraattia ei hyödynnetä. (Cullimore 2000, 45.) *Morganella morganii* on laktoosinegatiivinen (Gomella & Haist 2001, 126). *Morganella morganii* tuottaa ureaasia (Murray ym. 1999, 491).

Proteus kuuluu suoliston normaaliflooraan ja se voi aiheuttaa opportunistia virtsatieinfektioita iäkkäimmillä ihmisillä (Haahtela 1997, 52). *Proteus* voi aiheuttaa virtsatieinfektioita, bakteremiaa ja pneumoniaa (Brooks 2007, 255). *Proteus* on gram-negatiivinen fakultatiivinen anaerobinen sauva, joka pystyy liikkumaan värekarvaisten flagellojen avulla. *Proteus* on helpoimmin tunnistettavissa niiden kyvystä muodostaa aaltoilevaa hunnutusta elatusmaljoille. Hunnutus on limamaista pesäkkeiden kasvua, joka näkyy agarin pinnassa säännöllisen tai epäsäännöllisen muotoisena kasvuna. Tämä ilmiö johtuu solujen leviämisestä kosteiden pintojen yli, kuten agarin pinnan, muodostaen sarjan samankeskisistä rikkonaisista tai ehjistä renkaista. (Cullimore 2000, 44.) *Proteus* tuottaa rikkivetyä (Cullimore 2000, 44). *Proteus* hydrolysoi ureaasilla urean nopeasti, josta muodostuu ammoniakkin tuoksu (Brooks 2007, 251, 255). Pesäkkeet, joiden ympärillä on ”aaltoilua” eli hunnuttamista, viittaa siihen, että bakteeri on liikkuva ja luultavasti *Proteus mirabilis* (Koneman ym. 1997, 172). *Proteus mirabilis* on laktoosinegatiivinen (Gomella & Haist. 2001, 127).

Providencia on gram-negatiivinen fakultatiivinen anaerobinen sauva, joka liikkuu värekarvallisten flagellojen avulla (Cullimore 2000, 45). *Providencia* -lajit *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* ja *Providencia stuartii* kuuluvat suoliston normaaliflooraan. Ne voivat aiheuttaa virtsatieinfektioita sekä joskus muitakin infektioita. (Brooks 2007, 255.) *Providencia* pystyy tuottamaan happoa yhdestä tai useammasta enemmän, kuin kaksi hydroksyyliiryhmää sisältävästä alkoholista. Happoa voi muodostua myös mannoosista ja sitraatista. (Cullimore 2000, 45.) *Providencia* fermentoi laktoosia hitaasti (Brooks 2007, 251).

Pseudomonas aeruginosa on ihmisen normaaliflooraan kuuluva bakteeri ja se voi aiheuttaa pahoja haavainfektioita huonokuntoisessa ihmisessä (Haahtela 1997, 49). *Pseudomonas* -lajit ovat aerobisia gram-negatiivisia sauvoja, jotka eivät tuota itiöitä. Ne ovat ravinnoltaan sekä muilta kasvuvaatimuksiltaan vaatimattomia, eri lajit voivat hyödyntää vaihtelevasti hiilihydraatteja, alkoholeja ja aminohappoja hiililähteinä. Jotkut lajit pystyvät kasvamaan +4 °C, mutta monet ovat mesofiilejä, joiden optimilämpötila kasvaakseen on +30 – +37 °C välillä. *Pseudomonas* -lajit kasvavat helposti viisi prosenttisella lampaanverimaljalla tai suklaamaljalla. (Murray ym. 1999, 517, 521.) *Pseudomonas aeruginosa* on laktoosinegatiivinen (Gomella & Haist 2001, 127).

P. aeruginosa tuottaa helposti tunnistettavan pesäkkeen (Murray ym. 1999, 517, 521). Pesäkkeet ovat usein leviäviä ja litteitä, reunat rosoisia ja niissä on metallinhohtoa, joka on usein liitetty pesäkkeiden autolyysiin. Pesäkkeet voivat olla myös sileitä, hyytelömäisiä, tihruja tai limamaisia. (Murray ym. 1999, 521.) *Pseudomonas aeruginosa* tuottaa useita vesiliukoisia pigmenttejä, kuten kelta-vihreää tai kelta-ruskeaa fluerisoivaa pigmenttiä pyoverdiinia sekä sinistä pigmenttiä pyosyaniinia. Kun pyoverdiini yhdistyy vesiliukoisen sinisen fenatsiini pigmentin, pyosyaniinin kanssa, syntyy *Pseudomonas aeruginosa*lle ominainen kirkas vihreä väri. (Murray ym. 1999, 517, 521; Vaara ym. 2003, 75.) Pesäkkeen tuoksu on makea ja muistuttaa greippiä tai maissitacoa (Murray ym. 1999, 521; Brooks 2007, 251).

Serratia on fakultatiivinen anaerobi gram-negatiivinen sauva, joka normaalisti pystyy liikkumaan värekarvallisten flagellojen avulla (Cullimore 2000, 43). *Serratia marcescens* voi aiheuttaa pneumoniaa, virtsatieinfektioita ja sepsiksen (Levinson 2004, 477). Pesäkkeet ovat usein läpinäkymättömiä, mutta hieman irisoivia, joka voi vaihdella kasvustojen välillä valkoisesta vaaleanpunaiseen tai punaiseen. Tämä johtuu prodigiosiinin ja pyrumiinin tuottamisesta. Prodigiosiini on non-diffusoiva veteen liukenematon pigmentti. (Cullimore 2000, 42.) Pyrumiini on veteen liukeneva vaaleanpunainen pigmentti, joka tuottaa agariin vaaleanpunaisen halon pesäkkeen ympärille (Cullimore 2000, 43). *Serratia* tuottaa normaalisti lipaasi- ja proteaasi- eksoentsyymejä, mutta ei amylaasia. Pesäkkeet voivat tuottaa kahdenlaisia hajuja, voimakkaan kalan tai virtsan hajua tai tunkkaista perunaa muistuttavaa hajua. (Cullimore 2000, 43.) *Serratia* -lajit fermentoivat laktoosia hitaasti, 3 – 4 vuorokaudessa, jos ollenkaan (Gomella & Haist 2001, 127; Ryan & Ray 2003, 370).

6 MALJAVILJELY

Kliinisen mikrobiologian perinteisin menetelmä on bakteerien maljaviljely, jonka avulla sairautta aiheuttava bakteerilaji voidaan selvittää alustavasti. Maljaviljely aloitetaan primaariviljelyllä, joka tehdään hajotustekniikalla kiinteälle elatusmaljalle. Hajotustekniikalla saadaan aikaan lähtömateriaalin laimeneminen. Alkuperäistä materiaalia laitetaan aluksi pieni määrä elatusmaljalle ja viljelysauvaa apuna käyttäen materiaali levitetään asteittain koko maljan pinnalle. Viimeiselle hajotusalueelle kulkeutuu vain murto-osa materiaalin bakteereista. (Heikkilä & Meurman 2005, 95; Carlson & Koskela 2011, 40 – 41.)

Bakteerit lisääntyvät nopeasti jakautumalla kahtia ja muodostavat vajaassa vuorokaudessa paljain silmin havaittavia bakteeripesäkkeitä. Jokainen bakteeripesäke syntyy yhdestä ainoasta bakteerisolusta. Primaariviljelmältä voidaan siirtää yksittäinen bakteeripesäke kasvamaan uudelle puhtaalle maljalle, jolloin saadaan aikaan puhdasviljelämä. (Carlson & Koskela 2011, 41.) Kliinisen mikrobiologian laboratoriossa bakteereiden kasvattaminen sekä puhdasviljelminä viljeleminen ovat perusedellytyksiä mikrobiologiselle työskentelylle (Haahtela 1997, 6).

6.1 Primaariviljely

Primaariviljelyllä eli hajotusviljelyllä saadaan eroteltua eri bakteerikannat toisistaan. Tämä tarkoittaa sitä, että kaikki lähtömateriaalissa olevat bakteerit saadaan kasvamaan samalla elatusmaljalla yksittäisinä bakteeripesäkkeinä. (Carlson & Koskela 2011, 41.) Primaariviljely bakteerikannoista aloitetaan lämmittämällä bakteerisuspensiota sisältävät maitoputket huoneenlämpöiseksi. Sulaneet maitoputket sekoitetaan hyvin koeputkiravistelijalla ennen primaariviljelyä, jolloin suspensiosta saadaan mahdollisimman homogeeninen seos. Viljely aloitetaan pipetoimalla steriilillä pasteur-pipetillä tippa bakteerisuspensiota elatusmaljan reunaan. Primääriviljely voidaan tehdä steriilillä lasisauvalla tai 10 µl kertakäyttösilmukalla. Tällöin viljelysauva tai -silmukka kastetaan kerran maitoputkessa olevaan bakteerisuspensioon. (Lynnea 2007.)

Ensimmäinen, tiheä kolmasosa viivaviljely tehdään elatusmaljan neljännekseen pyörittäen lasisauvaa tai kääntämällä silmukka kerran vetojen välillä. Toinen, kolmas ja

neljäs viivaviljely tehdään steriilillä lasisauvalla tai kertakäyttösilrukalla kääntäen samalla maljaa kädessä. Lasisauva tai silrukka tulee vaihtaa puhtaaseen jokaisen osaviljelyn jälkeen. Viivaviljelyiden tulee harventua loppua kohden, jotta hajotuksessa saadaan aikaiseksi selkeitä yksittäisiä bakteeripesäkkeitä. Primaariviljelyn jälkeen maljoja inkuboidaan 16 – 24 tuntia +37 °C. (Lynnea 2007.)

6.2 Puhdasviljely

Puhdasviljelytekniikan periaatteena on, että kiinteän elatusaineen pinnalle saadaan aikaiseksi vain yhden bakteerilajin yksittäisiä bakteerisoluja (Carlson & Koskela 2011, 41). Puhdasviljelyssä hajotusmaljalta siirretään vain yksi bakteeripesäke uudelle elatusmaljalle, jolloin maljalla tulee kasvamaan vain yhden bakteerikannan jälkeläisiä (Mikes 2006).

Puhdasviljely aloitetaan siirtämällä valitun bakteeri -lajikkeen yksi pesäke steriilillä lasisauvalla tai 10 µl kertakäyttösilrukalla elatusmaljalle tekemällä ensimmäiseksi tiheä, kolmasosa viivaviljely elatusmaljan neljännekseen kääntäen viljelysauva tai -silrukka kerran vetojen välillä. Toinen, kolmas ja neljäs viivaviljely tehdään kääntämällä maljaa kädessä käyttäen kokoajan samaa lasisauvaa tai kertakäyttösilrukkaa (Kuva 1). Viivaviljelyiden tulee harventua loppua kohden, jotta hajotuksessa saadaan aikaiseksi selkeitä yksittäisiä bakteeripesäkkeitä. (Carlson & Koskela 2011, 41.) Puhdasviljelyn jälkeen maljoja inkuboidaan +37 °C 16 – 24 tuntia. Elatusmaljan pinnan kontaminoitumista esimerkiksi sormella tulee välttää, jolloin varmistutaan puhtausviljelmän onnistumisesta. (Lynnea 2007.) Rutiinikäytössä viljelytekniikoissa voi olla erilaisia modifikaatioita.



KUVA 1. Hajotus- ja puhtausviljelytekniikka (Carlson & Koskela 2011, 41).

7 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda opiskelijoille oppimateriaali bakteeripesäkkeiden makroskooppisen tunnistamisen avuksi. Oppimateriaali on suunnattu toisen vuoden opiskelijoille kliinisen mikrobiologian bakteriologian opintojaksolle itseopiskelumateriaaliksi. Tavoitteena opinnäytetyöllä on osaltaan lisätä bioanalyttikko-opiskelijoiden osaamista maljaviljelyn tulosten tulkinnessa.

Opinnäytetyön tehtäviä olivat:

Tehtävä 1: viljellä kliinisen mikrobiologian virtsaviljelytyöpisteen yleisimmät patogeenibakteerit CLED-, EMB-, veri- ja suklaamaljoille sekä kahden eri valmistajan kromogeenimaljoille

Tehtävä 2: valokuvauttaa bakteeripesäkkeet tarkasti ja selkeästi

Tehtävä 3: kuvailla ymmärrettävästi tekstein pesäkkeiden koko, muoto, väri sekä tuoksu

Tehtävä 4: nimetä ja järjestää kuvattu aineisto selkeäksi oppimateriaaliksi

Oppimateriaalimme tavoitteena on edistää bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista liittyen bakteeripesäkkeiden alustavaan tunnistamiseen. Sisällytimme oppimateriaaliin havainnollistavia valokuvia, jotta opiskelija pystyy niitä apuna käyttäen tunnistamaan erilaisia pesäkkeitä.

8 TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ

Toiminnallisella opinnäytetyöllä tarkoitetaan opinnäytetyötä, jossa tarkoituksena on tavoitella käytännön toiminnan opastamista, ohjeistamista, järjestämistä tai järjeistämistä kirjan, oppaan, portfolion, CD-rom:in tai kotisivun muodossa. Opinnäytetyön olisi hyvä olla työelämälähtöinen ja tutkimuksellinen, jolloin opiskelijan tiedot ja taidot tulevat esille. Opinnäytetyölle hyvä aihe on sellainen, johon idea tulee koulutuksesta ja luo yhteyksiä työelämään. Hyvä aihe myös kasvattaa taitoja jostain kiinnostavasta aiheesta. (Vilka & Airaksinen 2003, 9 – 10, 16.)

Toiminnallinen opinnäytetyö on vaihtoehto niin sanotulle tutkimukselliselle opinnäytetyölle. Ideana on pyrkiä yhdistämään ammatillinen teoreettinen tieto ammatilliseen käytäntöön. Se voi olla esimerkiksi ammatilliseen käyttöön suunnattu ohje tai ohjeistus, jolla pyritään opastamaan käytännön toimintaa. Tavoitteena on yhdistää opinnäytetyössä käytännön toteutus ja sen raportointi toisiinsa ja näin ollen saada aikaan valmis tuotos. (Vilka & Airaksinen 2003, 9, 10, 16, 65.)

Toiminnallisen opinnäytetyön pitäisi olla käytännönläheinen ja mielellään työelämälähtöinen prosessi, jossa opiskelija osoittaa alan tietojen ja taitojen hallintaa. Toiminnallisen opinnäytetyön raportti on teksti, josta selviää, mitä, miksi ja miten työ on tehty sekä millainen työprosessi on ollut. Raportista ilmenee myös se, kuinka oppija arvioi omaa oppimistaan ja tuotostaan. (Vilka & Airaksinen 2003, 9, 10, 16, 65.)

8.1 Opinnäytetyöprosessin kuvaus

Opinnäytetyöhön valittiin aihe, jossa päästiin konkreettisesti selvittämään bakteerimaljojen tarkastelua. Idea aiheeseen luotiin omasta mielenkiinnosta bakteriologiaa kohtaan. Pesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta ei ole tehty opiskelijoiden käyttöön ohjekirjaa, josta he löytäisivät tietoa nopeasti ja kattavasti. Opinnäytetyön suunnitelmaa alettiin tehdä syksyllä 2010. Valmis opinnäytetyösuunnitelma jätettiin hyväksyttäväksi Tampereen ammattikorkeakoululle vararehtori Päivi Karttuselle 16.3.2011. Tutkimuslupa myönnettiin 22.3.2011. Savonia-ammattikorkeakoululle valmis suunnitelma jätettiin koulutuspäällikkö Maritta Pitkäselle 7.3.2011 ja tutkimuslupa myönnettiin 24.3.2011. Raportin kirjoittamista varten kerättiin

teoriatietoa mahdollisimman monista eri lähteistä bakteereista ja niiden kasvuominaisuuksista, maljaviljelymenetelmistä sekä oppimateriaalin valmistuksen perusteista. Raporttiosuutta alettiin kirjoittaa keväällä 2011.

Raporttiosuuden teoriasisältö selvisi suunnitelmaa tehtäessä. Sen valmistuttua ryhdyttiin edelleen suunnittelemaan ja rajaamaan sitä, mitä asioita bakteereista käsiteltäisiin, jotta raportin sisällöstä tulisi selkeä tuotosta tukeva kokonaisuus. Heti alussa päätettiin esimerkiksi se, ettei opinnäytetyössä käsitellä bakteerien biokemiallisia jatkotun-
nistustestejä. Lisäksi päätettiin tehdä liitteeksi sanasto, joka aukaisee opinnäytetyössä käytettäviä termejä (Liite 1). Kirjoitusprosessi eteni alkuperäisen suunnitelman mukaisesti kevään 2011 aikana. Tämän jälkeen kirjoitusprosessi jatkui siten, että tekstiin tehtiin ehdotetut korjaukset ja kirjoittamista jatkettiin. Kevään aikana kävi ilmi, ettei opinnäytetyötä ehditä saada valmiiksi ennen kesäkuuta. Raporttiosuuden kirjoittamista ja tuotoksen kokoamista jatkettiin kesäloman aikana.

Työssä käyttämämme bakteerien kontrollikantojen maitoputket, laboratorion omat laaduntarkkailukannat, lasiviljelysauvat, veri-, suklaa-, CLED- ja EMB-maljat sekä BioMeriuksen valmistamat CPS ID3-maljat saimme Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Puijon klinisen mikrobiologian laboratorion kautta. Becton Dickinsonin valmistamat CHROMagar Orientation-maljat tilasi Becton Dickinsonilta Tampereen ammattikorkeakoulun lehtori Marja Kuparinen.

Opinnäytetyöhön valittiin 15 eri patogeenistä bakteeria, jotka esiintyvät yleisimmin klinisen mikrobiologian laboratorion virtsaviljelytyöpisteessä. Valittuja bakteereja käsitellään toisen vuoden klinisen mikrobiologian bakteriologian kurssilla. Laboratorion saatiin virtsaviljelytyöpisteen patogeenibakteerien kontrollikannat. Bakterikannoista *Citrobacter koserii*, *Corynebacterium renale*, *Enterobacter cloacae*, *Lactobacillus* sp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens* sekä *Staphylococcus saprophyticus* olivat -70 °C pakasteessa maitoputkissa.

B-streptococcus, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Staphylococcus aureus* olivat valmiina viljeltyinä elatusmaljoille. Nämä valmiiksi viljeltyt kontrollikannat olivat käytössä Puijon klinisen mikrobiologian laboratoriossa päivittäisessä laaduntarkkailussa. Bakteerit viljeltiin

CLED-, veri- ja suklaamaljoille, kahden eri valmistajan kromogeenisille maljoille sekä *E. coli* viljeltiin selektiiviselle EMB-maljalle.

Bakteerien viljelyt suoritettiin Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Puijon klinisen mikrobiologian laboratoriossa 8.–15.4.2011. Viljelyprosessin aikana meitä ohjasivat laboratoriohoitajat. Ennen toiminnallisen osuuden aloittamista tehtiin alustava työsuojelu-toimintaohjelma, johon kirjattiin tiedot klinisen mikrobiologian työn vaaroista ja niiden välttämistä sekä siitä, miten työturvallisuus on organisoitu ja miten vastuu tullaan jakamaan tekijöiden kesken. Lisäksi tarkkailtiin työympäristön vaaroja ja haittoja.

Työturvallisuuslaki 738/2002 40 § edellyttää; "Työntekijän altistuminen turvallisuudelle tai terveydelle haittaa tai vaaraa aiheuttaville biologisille tekijöille on rajoitettava niin vähäiseksi, ettei näistä tekijöistä aiheudu haittaa tai vaaraa työntekijän turvallisuudelle tai terveydelle taikka lisääntymisterveydelle." (Finlex 2008). Biologisia tekijöitä ovat esimerkiksi homeet, bakteerit, sädesienet ja virukset (Työsuojeluhallinto 2010).

Biologiset tekijät jaotellaan neljään vaaraluokkaan. Valtioneuvoston erilaiset päätöksen edellyttämät toimenpiteet, kuten torjuntakeinot, ennakoilmoitukset ja altistuvien työntekijöiden luettelointivelvoitteet sekä terveystarkastustarve määräävät eri vaaraluokat. Vaaraluokkiin ryhmittelyyn vaikuttavat seuraavat asiat; "Aiheuttaako biologinen tekijä ihmiselle sairautta, leviääkö biologinen tekijä todennäköisesti väestöön ja onko sen aiheuttamaan sairauteen tehokasta ehkäisykeinoa tai hoitoa." (Työsuojeluhallinto 2010.) Opinnäytetyötä varten käyttämämme bakteerit kuuluvat vaaraluokkaan kaksi; "Vaaraluokkaan kuuluva biologinen tekijä tarkoittaa sellaista tekijää, joka voi aiheuttaa ihmiselle sairauden tai voi olla vaaraksi työntekijälle, mutta ei kuitenkaan todennäköisesti leviä väestöön". (Työsuojeluhallinto 2010).

Työn aloitusvaiheessa kiinnitettiin huomiota työskentelytarkkuuteen ja suunnitelmallisuuteen, jotta välttyttiin maljojen kontaminoitumiselta ja näin ollen kasvatusten epäonnistumisilta. Luottamuksellista sisältöä meidän ei tarvinnut käsitellä, koska emme olleet tekemisissä henkilötiedoin merkattujen näytteiden tai potilastietojen kanssa. Työskennellessä noudatettiin kirjallisia työohjeita ja käytettiin laboratorion omia työvälineitä. Näitä olivat bakteerien viljelyyn tarkoitettut puhtaat työtilat ja -tasot sekä steriilit lasiset viljelysauvat ja petrimaljat. Lisäksi huomioitiin työturvallisuus sekä

työskentelystä syntyneiden bakteerijätteiden oikeanlainen hävitys. Tartuntavaarallisten viljelymaljojen käsittely tuli olla huolellista ja suunniteltua. Tämän vuoksi pidettiin huolta käsihygieniasta, aseptisesta työskentelystä ja henkilökohtaisesta suojauksesta. Työohjeistuksesta poikettiin ainoastaan maljaviljelyn hajotusmenetelmästä siten, että hajotus tehtiin vain kolmeen osaan, vaikka ohje määrää hajotuksen tekemään neljään osaan. Hajotusviljelytekniikassa työntekijä voi käyttää erilaisia modifikaatioita ja se on riippuvainen työntekijän käsialasta.

Työprosessi aloitettiin sulattamalla huoneenlämmössä kontrollikannat $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ pakasteesta sekä keräämällä valmiiksi viljellyt kontrollikannat $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ jääkaapista. Sulaneet maitoputket sekoitettiin Vortex-Genie koeputkiravistelijalla, jotta maitoputken seoksesta saatiin homogeeninen. Steriilillä pasteur-pipetillä pipetoitiin yksi tippa maitoputken bakteerisuspensiosta verimaljalle, jonka jälkeen tehtiin primaariviljelyn steriileillä lasisauvoilla hajotustekniikkaa käyttäen. Valmiiksi viljellyiltä kontrollimaljoilta otettiin lasisauvalla yksi bakteeripesäke verimaljalle hajotusviljelyä varten. Hajotusviljelyllä varmistettiin puhtaat bakteerikasvustot lopullista puhtasviljelyä varten. Hajotusviljelyitä kasvatettiin vuorokausi $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$ lämpökaapissa aerobitilassa.

Seuraavana päivänä tehtiin hajotusviljelyiden bakteerikasvustoista puhtasviljelyt CLED-, veri-, suklaa-, CPS ID3- ja CHROMagar Orientaation-maljoille. Lisäksi viljeltiin *E. coli* EMB-maljalle. CLED-, veri-, EMB-, CPS ID3- ja CHROMagar Orientaation-maljoja kasvatettiin vuorokausi $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$ lämpökaapissa aerobitilassa. Suklaamaljat kasvatettiin yön yli $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$ hiilidioksidilämpökaapissa ($+35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 6 %, CO_2 , Thermo Scientific, Incubator, Sanyo). Kasvaneet bakteeripesäkkeet tarkasteltiin yhdessä ISLAB klinisen mikrobiologian laboratoriohoitajien kanssa ja analysoinnin tulokset dokumentoitiin muistiin. Tarkastelun jälkeen valokuvautettiin bakteeripesäkkeet sekä puhtaat elatusmaljat.

Valokuvauksen ja -kuvien käsittelyn suoritti Muotoiluakatemia graafisen viestinnän opiskelija Jaakko Laukkanen. Ensimmäiseksi Jaakko Laukkanen valokuvasi yön yli kasvaneet bakteeriviljelmät koko maljalta. Tämän jälkeen hän otti makrokuvat yksittäisistä pesäkkeistä sekä valokuvasi verimaljat, joihin tietyt bakteerit tuottivat β -hemolyysia. Lopuksi hän valokuvasi viljelyissä käytetyt puhtaat elatusmaljat. Valmiit valokuvat näimme heti reaaliaikaisesti kannettavan tietokoneen näytöltä, koska kamera oli yhdistetty tietokoneeseen. Tietokoneessa käytettiin Adobe Lightroom

3 –ohjelmistoa. Tämän avulla pystyimme heti valitsemaan onnistuneimmat valokuvat bakteeripesäkkeistä ja maljoista. Näin etenimme nopeammin kuvattavasta kohteesta toiseen ja välttyimme valokuvien epäonnistumiselta.

Valokuvauksessa käytettiin Canon 50D -järjestelmäkameraa ja Tamron 18 – 270 mm Di II -objektiivia. Valokuvaus suoritettiin käyttämällä jalustaa ja lankalaukaisinta. Kuvaustilan heikon valoisuuden vuoksi käytettiin pitkää valotusaikaa. Tällöin kameraan ei saa koskea, jottei kamera tärähtäisi ja valokuvasta tulisi epätarkka. Vaihtoehtoisesti olisi voinut käyttää salamaa, mutta se olisi lisännyt heijastusta maljoille. Valokuvat pyrittiin ottamaan sellaisessa valaistuksessa, ettei heijastuksia pääsisi syntymään, mutta silti osissa pesäkkeistä valon heijastus on havaittavissa. Oppimateriaaliin valittiin makro-optiikalla suurta aukkoa käyttäen otettuja valokuvia, jotka ovat syväterävyydeltään lyhyitä, eli tuovat kuvattavan kohteen esiin sumentaen taustan.

Jaakko Laukkanen käsitteli valokuvat Photoshop CS5 -ohjelmalla, hyödyntäen CameraRaw-plugin-ominaisuutta, jolla valokuvat muunnettiin käytettävään muotoon. Kuvien käsittelyvaiheessa tehtiin värikylläisyyden säätö, terävöitys, valituksen korjaus sekä kirkkauden ja kontrastin säätö. Tuotoksen kokonaiset maljakuvat ovat syvätyt, eli kuvan kohde on irrotettu taustastaan. Yksittäiset bakteerien pesäkekuvat rajattiin pyöreään muotoon, jotta kuvista on saatu yhteneväiset. Pesäkkeiden lähikuvat tallennettiin JPG-muotoon ja syvätyt koko maljojen kuvat tallennettiin PNG-muotoon, koska tiedostomuotona PNG tukee läpinäkyvää taustaa.

Valokuvamateriaalin ollessa kuvattuna alettiin tehdä itseopiskelumateriaalia sekä sovittaa valokuvia tuotokseen. Ensimmäiseksi muokattiin tuotoksen tekstit selkeäksi kokonaisuudeksi. Tämän jälkeen oli helppo liittää valmiit valokuvat tuotokseen. Ideoimamme etu- ja takakannen kuvituksen suunnitteli ja toteutti Jaakko Laukkanen Photoshop kuvankäsittelyohjelmalla. Valmis oppimateriaali muutettiin Adoben Indesign taitto-ohjelmassa julkaisumuotoon, joka käännettiin Flash-tiedostoksi eli animoiduksi interaktiiviseksi kirjaksi. Samasta Indesign-tiedostosta luotiin myös PDF-versio Theseus-tietokantaa sekä tulostamista varten. Tiedosto on myös mahdollista liittää mikrobiologian opintojakson Moodle-kurssiin, joka auttaa opiskelijaa hyödyntämään oppimateriaalia itsenäisessä opiskelussa. Tekijänoikeus opinnäytetyöhön ja tuotokseen kuuluvat opinnäytetyön tekijöille. Valokuvien tekijänoikeudet ovat Jaakko Laukkasella.

Käyttö- tai muut oikeudet opinnäytetyön tuotokseen ja niiden kaupalliseen hyödyntämiseen saa sopimalla niistä erikseen tekijöiden kanssa.

8.2 Tuotoksen kuvaus

Opinnäytetyön tuotoksena syntyi itseopiskeluun tarkoitettu oppimateriaali bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta. Oppimateriaali on myös DVD-levyllä. Kirjallinen tuotos on opinnäytetyössä liitteenä. Tuotoksessa on 54 sivua sisältäen 158 kuvaa. Oppimateriaalissa käsitellään työssä käytetyt elatusmaljat sekä bakteeripesäkkeet valokuvoin ja tekstein. Tekstin luettavuuden kannalta jätettiin tuotoksesta kursivoimatta bakteerien nimet. Tuotos sisältää teoretietoa yhdistettynä valokuvamateriaaliin bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta.

Tuotoksessa kuvataan elatusmaljat sekä bakteeripesäkkeiden ominaispiirteet. Tuotos on ensisijaisesti suunnattu toisen vuoden opiskelijoille kliinisen mikrobiologian bakteriologian opintojaksolle sekä Savonian että Tampereen ammattikorkeakouluille. Bioanalytiikan opiskelijat sekä kliinisen mikrobiologian laboratorion henkilökunta voivat hyödyntää tuotosta opiskeluissaan ja tunnistessaan bakteeripesäkkeitä. Vaikka suurimmissa laboratorioissa on mahdollisuus tehdä yhteistyötä muiden laboratoriohoitajien kanssa sekä konsultoida mikrobiologia, on helposti saatavilla oleva opas tarpeellinen.

Valmis itseopiskelumateriaali on saatavilla animoituna Flash-tiedostona. Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että tuotos muutettiin interaktiiviseksi kirjaksi, johon on animoitu sivujen kääntyminen. Interaktiivisen kirjan sivujen kääntäminen tapahtuu siten, että tietokoneen hiiren kursori vie sivun yläkulmaan, hiiren vasemmanpuoleista painiketta pidetään pohjassa ja kursoria liikutetaan samoin, kun kääntäisi tavallisen kirjan sivua. Itseopiskelumateriaali on saatavilla myös PDF-versiona Theseus-tietokannassa. Lisäksi PDF-versio mahdollistaa tuotoksen tulostamisen.

9 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda opiskelijoille oppimateriaali bakteeripesäkkeiden makroskooppisen tunnistamisen tueksi. Bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta ei ole tehty kattavaa ohjekirjaa opiskelijoiden käyttöön. Aihe oli mielestämme kiinnostava ja löysimme yhteisymmärryksen aiheen rajaamisesta ohjajiemme kanssa. Meillä oli samanlainen näkemys siitä millainen itseopiskelumateriaalin tulisi olla. Itseopiskelumateriaalin tulisi olla helposti luettavissa oleva, havainnoiva ja informatiivinen opas. Olimme yksimielisiä siitä, että bakteerikannat valittaisiin siten, että ne vastaavat kliinisen mikrobiologian yhtä osa-aluetta. Tämän perusteella valitsimme työhömmme kliinisen mikrobiologian virtsaviiljelytyöpisteessä yleisimmin esiintyviä bakteereita, jotta opiskelijat voivat hyödyntää oppimateriaalia myös ammattitaitoa edistävällä ohjatulla harjoittelujaksolla.

Opinnäytetyön tavoite oli osaltaan lisätä bioanalyttikko-opiskelijoiden osaamista tarkastella maljaviljelyn tuloksia sekä helpottaa oppimista. Lopullisen tuotoksen sisältämät valokuvat ja tekstit ovat informatiivisia ja selkeitä. Pesäkkeiden luonnehtimisen kirjoitimme tiiviisti sisältäen tärkeimmät kriteerit pesäkkeen ominaisuuksista ja työn valokuvat ovat tarkkoja. Selkeyttä tuotokseen tuo bakteerien looginen kuvaamisjärjestys. Tavoitteena tuotoksesta oli tehdä mahdollisimman helppolukuinen. Mielestämme onnistuimme siinä, koska itseopiskelumateriaali sisältää paljon havainnollistavia valokuvia.

Olemme tyytyväisiä siihen, että saimme tuotoksesta kokonaisuuden, josta löytyy tärkeimmät tiedot yleisistä virtsaviiljelytyöpisteessä esiintyvien bakteerien pesäkkeiden kuvailusta. Tuotoksessa valokuvien osuus on erittäin olennainen, koska niitä hyödynnetään kuvittamaan tekstiä. Bakteeripesäkettä on vaikea kuvailla pelkästään sanoin ja toisaalta pelkkiä valokuvia on vaikea ymmärtää ilman tekstiä. Pyrimme selittämään asiat mahdollisimman selkeästi, sillä osa lähteistä sisälsi hankalaa sanastoa. Tämän vuoksi olemme tehneet raporttiin liitteeksi sanaston, joka aukaisee tekstissä käytettyjä ammattitermejä.

Toiminnallinen opinnäytetyö oli opinnäytetyöaiheeseemme ainoa vaihtoehto, koska tarkoituksena oli luoda oppimateriaali opiskelijoiden käyttöön. Aineiston hankkiminen

tuntui hankalalta, koska varsinkin prosessin alussa tarpeeksi informatiivisia suomenkielisiä lähteitä oli hankala löytää, toisaalta englanninkielisiä lähteitä löytyi helposti. Opinnäytetyöprosessin alussa lähdetekstien lukeminen oli haastavaa, sillä bakteriologiaan liittyvä englanninkielinen termistö ei ollut ennalta tuttua. Kun tekstin merkityksen oli ymmärtänyt englanniksi, tuotti lisähaastetta erityisesti yksittäisten termien kääntäminen suomeksi.

Englanninkielinen lähdemateriaali ei välttämättä ollut suoraan käyttökelpoista, koska viljelymaljat ja -menetelmät saattavat olla erilaisia kuin Suomessa. Tieto on suurimmalta osin ajantasaista, sillä suurin osa lähteistä on 2000-luvulta, olemme käyttäneet muutamia lähteitä 1990-luvulta, koska aiheemme on rajautunut hyvin pieneen osa-alueeseen mikrobiologian osalta. Näin ollen tuoreempia lähteitä pienistä osa-alueista oli hankala löytää. Toisaalta bakteeripesäkkeiden kasvuvaatimukset tai ulkonäkökriteerit eivät ole muuttuneet tässä ajassa. Prosessin edetessä kielitaitomme erityisesti bakteriologisen sanaston osalta kehittyi, sillä suurin osa lähteistä oli kirjoitettu englanniksi. Samalla taitomme kääntää lähdetekstiä sujuvalle suomenkielelle kehittyi. Teoria osan tekeminen olisi kannattanut aloittaa aiemmin, sillä se oli koko opinnäytetyön aikaa vievin osa.

Yhteistyö Savonian ja Tampereen ammattikorkeakoulujen välillä toimi mielestämme hyvin. Kirjallisissa raportointiohjeissa oli joitakin erilaisuuksia. Valmiit kirjalliset osuudet palautimme kouluille niiden omien kirjallisten ohjeiden mukaan tehtyinä. Opinnäytetyön teon aikana olemme tehneet tiiviisti yhteistyötä käyttäen apuna tietotekniikkaa kuten sähköpostia ja pitäneet yhteyttä puhelimitse. Työnjako ei ole tuottanut meille ongelmia, vaan olemme pyrkineet tasaamaan työmäärän sekä auttamaan toista aina tarpeen vaatiessa. Välimatkaa emme ole pitäneet esteenä tehdessämme opinnäytetyötä, koska matkustamisen työn takia, olemme ajoittaneet vain tuotoksen toiminnallisen osuuden tekemiseen ja lopullisen raportin sekä tuotoksen kokoamiseen.

Opinnäytetyömme luotettavuutta lisää se, että viljellessämme käytimme kliinisen mikrobiologian laboratorion omia kontrollikantoja, emmekä käyttäneet työssä potilasnäytteitä. Bakteeripesäkkeiden morfologisessa tulkinnassa meitä auttoivat ISLAB kliinisen mikrobiologian laboratoriohoitajat. Valokuvamateriaalina käytimme Savonia-ammattikorkeakoulun Muotoiluakatemia graafisen viestinnän opiskelijan Jaakko

Laukkasen ottamia valokuvia, jonka vuoksi valokuvien laatu on parantunut huomattavasti.

Tavoitteenamme ollutta oppimisen helpottamista on mahdotonta vielä testata, koska tuotoksen toimivuus näkyy vasta, kun itseopiskelumateriaali otetaan käyttöön. Henkilökohtaisena tavoitteenamme oli saada tehtyä laajamittainen projekti valmiiksi aikataulussa ja laadullisten tavoitteiden mukaisesti. Vaativuudessaan projekti oli meille ensimmäinen, ja siten myös kasvattava kokemus. Yksi parhaista oppimismenetelmistä on tekemällä oppiminen ja helpoin tapa oppia on tehdä tietty opittava asia käytännössä. Kehityimme kliinisen mikrobiologian työhön kuuluvan maljaviljelyn sekä bakteeripesäkkeiden tunnistamisen osa-alueilla.

Opinnäytetyömme jatkotutkimusaiheena voisi olla tästä tuotoksesta pois jääneiden virtsaviljelytyöpisteen bakteerien pesäkemorfologia tai bakteereille tehtävät biokeemialliset jatkotunnistusmenetelmät. Aiheena voisi olla myös Moodle-kurssin toteutus, bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu erilaisilta selektiivisiltä maljoilta tai esimerkiksi ulosteviljelyissä käytettäviltä maljoilta. Jatkotutkimuksen voisi tehdä myös sienipesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta.

Kiitämme Savonia-ammattikorkeakoulun Muotoiluakatemia graafisen viestinnän opiskelijaa Jaakko Laukkasta sekä Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Puijon kliinisen mikrobiologian laboratorion laboratoriohoitajia hyvästä yhteistyöstä sekä asiantuntija-avusta. Lisäksi kiitämme Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Puijon kliinisen mikrobiologian laboratoriota työhön käytetyistä materiaaleista sekä laboratoriotilojen käyttöoikeudesta.

LÄHTEET

- Brooks, G. 2007. Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. 24. painos. Blacklick, OH, USA: McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Carlson, P. & Koskela, M. 2011. Bakteriologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, P., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja III. Helsinki: DUODECIM.
- Cullimore, D. 2000. Practical atlas for bacterial identification. Florida: CRC Press LLC.
- Farber, J. & Forsythe, S. 2008. Enterobacter Sakazakii. Washington, DC, USA: ASM Press.
- Finlex. 2008. Työturvallisuuslaki. 2002/738. 40 §. Luettu 16.7.2011.
<http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2002/20020738>.
- Forbes, B., Sahm, D. & Wiessfeld, A. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 12. painos. St. Louis, Missouri: Mosby Inc.
- Gomella, L. & Haist, S. 2001. Clinician's Pocket Reference. 9. painos. Blacklick, OH, USA: McGraw-Hill Professional Publishing.
- Haahtela, K. 1997. Teoksessa Eklund, J., Haahtela, K., Huovinen, P., Kiviranta, J., Kuronen, T., Laakso, T., Lapinkoski, S., Nummela, L., Nurmi, H., Ojajärvi, J., Rauramaa, V., Sairio, E., Torniaainen, K. & Vuorela, P. (toim.). Farmaseuttinen mikrobiologia. Suomen Farmaseuttinen Yhdistys ry. Helsinki: Hakapaino Oy.
- Heikkilä, P. & Rönkkö, M. 2006. Opetusmenetelmät opetuksen monipuolistajana. Oulun seudun ammattikorkeakoulu. Luettu 13.12.2011.
<http://www.oamk.fi/amok/oppimat/LO/Opetusmenetelmat06a/html/johdanto.html>.
- Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Teoksessa Hellstén, S. (toim.). Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. painos. Suomen Kuntaliitto. Helsinki: Gummerus.
- Högman, E. (toim.). 2006. Verkko-oppimateriaalin laatukriteerit. Opetushallitus. Työryhmän raportti 16.12.2005. Helsinki: Edita Prima Oy. Luettu 8.3.2011.
http://www.edu.fi/download/47132_verkko-oppimateriaalin_laatukriteerit.pdf.
- Ikonen, O. & Virtanen, P. (toim.). 2007. Erilainen oppija- yhteiseen kouluun. Kokemuksia yksilöllisyyden ja yhteisöllisyyden kehittämisestä. Juva: WS Bookwell Oy.
- Jyväskylän avoin yliopisto. 2011. Materiaali oppimisen tukena. Luettu 22.3.2011.
<https://www.avoin.jyu.fi/optimakurssit/terveystieto/terv102/materiaali-osana-terveyden-edistamista-1/materiaali-oppimisen-tukena>.
- Karhumäki, E., Jonsson, A. & Saros, M. 2009. Mikrobit hoitotyön haasteena. Toinen painos. Helsinki: EDITA.

- Koivula, I., Leinonen, M. & Nuorti, P. 2003. Pneumokokki. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.). Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Koneman, E. Allen, S. Janda, W. Schreckenberger, P. & Winn, W. 1997. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Viides painos. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilins.
- Koskinen, K. & Hautaluoma, M. (toim.). 2009. Valmennuksessa erilainen oppijavälineitä työ- ja yksilövalmennukseen. Tampere: Valtakunnallinen työpajayhdistys RY.
- Levinson, W. 2004. Medical Microbiology and Immunology: Examination and Board Review. 8. painos. New York, USA: McGraw-Hill Professional Publishing.
- Lynnea, C. 2007. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, USA: American society for Microbiology.
- Lyytikäinen, O. & Vuopio-Varkila, J. 2003. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.). Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Marckwort, A. & Marckwort, R. 1994. Kouluttajan uudet vaatteet. Tampere: MERMERUS.
- Mikes. 2006. Mikrobiologian laboratorion elatusaineiden sisäinen laadunvarmistus. Metrologia. Espoo. Luettu 7.8.2011.
http://www.mikes.fi/documents/upload/j6_2006_ehder.pdf.
- Murray, P., Baron, E., Pfaller, M., Tenover, F. & Tenover, R. 1999. Manual of clinical microbiology. 7. painos. Washington, DC: American society for microbiology.
- Opetussuunnitelma. 2008. Bioanalyttikko. Terveysala. Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu. Luettu 11.3.2011.
- Opetussuunnitelma. 2009. Bakteriologia. Kurssisuunnitelma. Tampere: Tampereen ammattikorkeakoulu. Luettu 11.8.2011.
- Oulun yliopisto. Opetuksen kehittämissyksikkö. 2005. Ajattele. Luettu 23.3.2011
<http://www.oulu.fi/opetkeh/oppimisklinikka/ajattelesivut/AJATTELE.pdf>.
- Oulun yliopisto. Opetuksen kehittämissyksikkö. 2007. Oppimateriaalin kehittäminen. 31.01.2007. Luettu 01.01.2011
<http://www.oulu.fi/opetkeh/kehtoimi/oppimat/index.html>.
- Pallen, M. Nelson, K. & Preston, G. 2007. Bacterial Pathogenomics. Washington, DC, USA: ASM Press.
- Parkkunen, N. Vertio, H. & Koskinen-Ollonqvist, P. 2001. Terveysaineiston suunnittelun ja arvioinnin opas. Helsinki: Terveystieteiden tutkimuskeskus.
- Pesonen, S. & Tarvainen, J. 2003. Julkaisun tekeminen. Porvoo: WS Bookwell.

- Rantakokko-Jalava, K. & Anttila, V-J. 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). Mikrobiologia – Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Rohilla, A. 2010. Handbook of Bacteriology. Jaipur, IND: Global Media.
- Ryan, K. & Ray, G. 2003. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases. 4. painos. New York, USA: McGraw-Hill Professional Publishing.
- Seppänen, J. 2008. Katseen voima. Kohti visuaalista lukutaitoa. 5. painos. Tampere: Vastapaino.
- Siitonen, A. & Vaara, M. 2003. *Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia*. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheeri, A. & Valtonen, V. (toim.). Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Tissari, P. & Anttila, V-J. 2003. Muu Enterobacteriaceae-heimo. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheeri, A. & Valtonen, V. (toim.). Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Työsuojeluhallinto. 2010. Riskien arviointi. Luettu 22.7.2010.
<http://www.tyosuojelu.fi/fi/biologisetvaarat>.
- Uusikylä, K. Atjonen, P. 2007. Didaktiikan perusteet. 3. - 4. uudistettu painos. Helsinki: WSOY.
- Vaara, M., Skurnik, M. & Sarvas, M. 2003. Bakterisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheeri, A. & Valtonen, V. (toim.). Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Vilkka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Tammi.
- Wilks, D. Farrington, M. & Rubenstein, D. 2008. Infectious Diseases Manual. Chichester, GBR: Wiley.
- Wilson, M. 2009. Bacteriology of Humans: An Ecological Perspective. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell.
- Vuento, R. & Lappalainen, M. 2010. Mikrobiologinen diagnostiikka. Therapia Fennica.fi. Kandidaattikustannus Oy. Luettu 9.10.2010.
http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=Mikrobiologinen_diagnostiikka.
- Vuopio-Varkila, J., Kuusela, P. & Kotilainen, P. 2003. Staphylococcus aureus. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheeri, A. & Valtonen, V. (toim.). Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.
- Vuopio-Varkkila, J., Kuusela, P. & Kotilainen, P. 2010. Staphylococcus aureus. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). Mikrobiologia - mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja I. Helsinki: DUODECIM.

World Health Organization. 2003. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. 2. painos. Albany, NY, USA: World Health Organizatio.

LIIITEET

Terminologian avaamiseen olemme käyttäneet suurimmaksi osaksi kirjaa:
Duodecim. 2007. Lääketieteen termit. 5. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Aerobi, aerobinen: happea käyttävä eliö

Affektiivinen: mielialaan liittyvä, mieltä liikuttava, tunnepitoinen

Affiniteetti: yhtymistaipumus | esim. taudin taipumus kohdistua tiettyyn rakenteeseen tai elimeen, kemiallisen aineiden taipumus yhdistyä kemiallisen reaktion avulla tai immunologiassa antigeeni-vasta-ainesidoksen voimakkuus

Agar: eräs merilevä | ruskolevistä valmistettu hapan polysakkaridivalmiste (sis. galaktoosia ja sulfaattiryhmiä), jota käytetään mm. bakteerielatusaineiden hyödyttämiseen; agaria sisältävä bakteerielatusaine

α -hemolyysi: vihreänsävyinen hemolyysi pesäkkeen ympärillä

Alkaliduurinen: kyky kasvaa emäksisessä ympäristössä

Anaerobi, anaerobinen: hapetta elävä bakteeri

Asidofiilinen: happomielteinen | happamilla väriaineilla värjäytyvä

Asiduurinen: kyky kasvaa happamassa ympäristössä

Auksotrofia: mikrobikannan ominaisuus, että se tarvitsee kasvaakseen jotakin yhdistettä, jota saman mikrobin peruskanta ei tarvitse

Bakteeri: yksisolainen, tumaton (esitumainen) pieneliö eli mikro-organismi

Bakteerikanta: yhdensolun geneettisesti identtisiä jälkeläisiä (klooni)

Bakteerilaji: ryhmä kantoja, jotka muistuttavat riittävästi toisiaan ja eroavat taas tarpeeksi muista kannoista

Bakteerisuku: sisältää vähintään yhden, mutta usein useita eri bakteerilajeja

Bakteremia: bakteereiden esiintyminen veressä

Bakteriologia: bakteerioppi | bakteereja tutkiva tieteenala

β -hemolyysi: kirkas hemolyysi bakteeripesäkkeen ympärillä

Biosynteesi: orgaanisten yhdisteiden rakentuminen elävissä soluissa

Dekoratiivinen: koristeellinen

(jatkuu)

Diagnostiikka: taudin määrittäminen, taudin määrittämisen tekeminen taito

Didaktinen: opetusopillinen

Divalenttinen: kahdenarvoinen

Eh: hapenpelkistysaste

Elatusmalja: agarialla sisältävä petrimalja

Eukaryootti: aito tumainen solu tai eliö

Fakultatiivinen: valinnainen, ehdollinen, ei pakollinen | esim. fakultatiivisesti anaerobinen bakteeri tulee toimeen ilman happea, mutta toisaalta myös sietää happea

Fermentaatio: käyminen

Flagella: siima, värähtävä | solun ulkopinnasta työntävä aktiivisesti liikkuva soluelin, jossa on pienoisputkien (mikrotubulusten) muodostama runko

Floora: pieneliöstö, mikrobikasvusto, mikrofloora, normaalifloora | tietyssä paikassa (elimistössä) kasvavien mikrobien kokonaisuus

γ -hemolyysi, nonhemolyysi: hemolyysiä ei synny pesäkkeen ympärille

Gramnegatiivinen bakteeri: gramvärjäyksellä vaaleanpunaiseksi värjäytyvä bakteeri, jonka soluseinässä on lipopolysakkaridia sisältävä ulkokalvo

Grampositiivinen bakteeri: gramvärjäyksellä violetiksi värjäytyvä bakteeri, jonka soluseinässä on teikkohappoja, mutta ei ulkokalvoa

Halo: värillinen kehä

Hemi: protoporfyyriinin ja ferroraudan muodostama yhdiste | verenpunan ja monen muun hengitysproteiinin osa, johon sitoutuu tai josta irtoaa happea kudosten happitilanteen mukaan

Hemolyysi: punasolujen hajoaminen

Heterotrofinen: bakteeri, muu eliö tai solu, joka käyttää hiilen lähteenä orgaanisia yhdisteitä (eläimet, sienet, useimmat bakteerit) | kuluttajat, hajottavat

Inhiboida: estää, estetty, estynyt

Inhibiittori: estäjä | tekijä, joka estää tai hidastaa esimerkiksi entsyymattista reaktiota tai fysiologista toimintaa

Irisoiva: vaihtelee väriä, kun sitä katsotaan eri näkökulmista

(jatkuu)

Kationi: positiivisesti varautunut ioni (joka elektrolyysin aikana kulkeutuu negatiiviseen elektrodiin eli katodiin)

Keratinosyytti: sarveissolu | sarveisainetta (keratiinia) tuottavia orvaskeden soluja, joita on n. 95 % kaikista orvaskeden soluista

Kliininen: sairaanhoidollinen | potilaiden tutkimiseen tai hoitoon liittyvä

Kliininen mikrobiologia: laboratorioaloihin luettu lääketieteen erikoisala, joka tutkii mm. pieneliöiden aiheuttamien tautien diagnostiikkaa ja hoitoa

Kokkibakteeri: pallobakteeri | muodoltaan pallomainen bakteeri esimerkiksi stafylokokki sekä streptokokki

Kolonisaatio: mikrobin asettuminen lisääntymään normaaliflooran osaksi aiheuttamatta tautia

Maitoputki: pieni putki, jossa säilytetään bakteerikantaa

Maljaviljely: bakteeriviljely | bakteerien kasvattaminen elatusaineessa elimistön ulkopuolella

Makroskooppinen: ilman suurennusta näkyvä, paljaalla silmällä näkyvä

Mesofiili: bakteereita, jotka lisääntyvät parhaiten tasalämpöisten eläinten ja ihmisten elimistön lämpötilassa | normaali lisääntymislämpötila on $+30 - +37$ °C, mutta kykenevät lisääntymään myös $+20 - +45$ °C:ssa

Metabolia: aineenvaihdunta | kudoksissa tapahtuvien kemiallisten reaktioiden summa

Mikro: pieni, niukka | miljoonasosaa tarkoittava mittayksikön etuliite

Mikrobi: mikro-organismi, pieneliö | pienikokoisten, yleensä vain mikroskoopilla näkyvien, yksisoluien tai vain muutamasta solusta muodostuneiden eliöiden yleisnimitys (bakteeri, alkueläin, yksisoluien levä, joidenkin luokitteluiden mukaan myös virus)

Musiini: lima-aine

Normaalifloora: normaalikasvusto | mm. iholla, suussa, suolessa ja emättimessä elävä tavallinen bakteerikasvusto, joka on haitaton ja estää osaltaan haitallisten mikrobien kasvua

Opportunistinen: otollinen tilaisuus | olevia oloja hyväkseen käyttävä

Opportunistinen mikrobi: mikrobi, joka ei normaalisti ole taudinaiheuttaja, mutta muuttuu sellaiseksi isäntäelimistön puolustuskyvyttömyyden takia

(jatkuu)

Patogeeni: taudinaiheuttaja | sairautta aiheuttava loinen, bakteeri, virus tai prioni

Peroksidaasi: oksidoreduktaaseihin kuuluvia entsyymejä, jotka hapettavat yhdisteitä käyttäen hapettimena vetyperoksidia

Petrimalja: bakteeriviljelyssä käytettävä matala ja pyöreä lasimalja

Primaarinen: ensimmäinen, alkuperäinen, ensisijainen

Primaariviljely: alkuperäinen tai ensimmäinen viljelmä

Prioni: pienin tunnettu taudinaiheuttaja

Prokaryootti: tumaton solu tai eliö

Prototrofia: mikrobikanna kyky kasvaa samoilla ravinteilla, kuin saman mikrobin peruskanta

Psykrofiilinen: eliö, joka on sopeutunut elämään ja lisääntymään jatkuvasti kylmissä olosuhteissa tai jopa edellyttää sellaisia

Puhdasviljelmä: vain yhtä bakteeri- tai viruslajia sisältävä viljelmä

Respiratorinen: hengitykseen liittyvä

Resistenssi: vastustuskyky | organismin vastustuskyky sairautta kohtaan; mikrobin vastustuskyky antibioottia kohtaan

Sauvabakteeri: basilli | moneen eri bakteerisukuun kuuluvia, pienen sauvan muotoisia bakteereja

Sekafloora: monia kasvavia eri bakteerilajeja, joita ei ole tarpeen yleensä enempää selvittää

Siderofori: raudansitoja-aine

sp.: laji

Sytokromi: erityisesti mitokondrioissa ja solulimakalvostossa esiintyviä, soluhengitykseen (elektronisiirtoon) osallistuvia hemoproteiineja

Tartraatti: viinihapon anioini | suola tai esteri

Toksinen: myrkyllinen

Tolerantti: sietävä, suvaitseva

Tuma: tumallisille soluille ominainen tumakotelon ympäröimä solun osa, jossa kromosomit sijaitsevat

BAKTEERIPESÄKKEIDEN

makroskooppinen tarkastelu

Soile Lonka | Sofia Lähdemäki





SAVONIA
AMMATTIKORKEAKOULU



TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

BAKTEERIPESÄKKEIDEN MAKROSKOOPPINEN TARKASTELU

Soile Lonka
Sofia Lähdemäki

Syksy 2011

Savonia ammattikorkeakoulu
PL 6 (Microkatu 1 D)
70201 KUOPIO
puh: (017) 255 6000
faksi: (017) 255 5014
www.savonia.fi

Tampereen ammattikorkeakoulu
Kuntokatu 3
33523 TAMPERE
puh: (03) 245 2111
faksi: (03) 245 2222
www.tamk.fi

Kuvat: Jaakko Laukkanen
Kansi: Jaakko Laukkanen
Graafinen suunnittelu ja toteutus: Jaakko Laukkanen

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	ELATUSMALJAT	7
2.1	Verimalja	9
2.2	Suklaamalja.....	9
2.3	Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient -malja eli CLED-malja	9
2.4	Kromogeenimalja	10
2.4.1	CHROMagar Orientation -malja.....	11
2.4.2	CPS ID3 -malja	11
2.4.3	Levine Eosin-Methylene Blue -malja eli EMB-malja	12
3	BAKTEERIPESÄKKEIDEN MAKROSKOOPPINEN TARKASTELU	13
3.1	Enterococcus faecalis	14
3.2	Staphylococcus aureus.....	16
3.3	Staphylococcus saprophyticus.....	19
3.4	B-ryhmän streptokokki	21
3.5	Citrobacter koseri.....	24
3.6	Corynebacterium renale.....	26
3.7	Enterobacter cloacae	29
3.8	Escherichia coli	31
3.9	Klebsiella pneumoniae.....	34
3.10	Lactobacillus sp.....	37
3.11	Morganella morganii.....	39
3.12	Proteus mirabilis.....	42
3.13	Providencia stuartii.....	44
3.14	Pseudomonas aeruginosa	47
3.15	Serratia marcescens	49
	LÄHTEET	52

1 JOHDANTO

Bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu on keskeinen osa bakteriologian tutkimusta, jolla pyritään tunnistamaan alustavasti mahdollinen patogeeninen bakteeri. Alustava bakteerin tunnistaminen auttaa kliinisen mikrobiologian ammattinharjoittajaa päättämään bakteereille tehtävistä biokemiallisista jatkotunnustuskokeista. Bakteeripesäkkeiden tarkastelu elatusmaljoilta vaatii mikrobiologian laboratoriohenkilökunnalta hyvää ammattitaitoa ja sen ylläpitämistä jatkuvalla koulutuksella. Tunnistamisen osaaminen on usein kokemuksellisesti opittua, hiljaista tietoa. (Heikkilä & Meurman 2002, 93; Heikkilä & Meurman 2005, 95; Vuento & Lappalainen 2010; Carlson & Koskela 2011, 37, 40.)

Opinnäytetyö on toteutettu yhteistyössä Savonian ja Tampereen ammattikorkeakoulun kanssa. Tämä itseopiskelumateriaali sisältää teoretietoa yhdistettynä valokuvamateriaaliin bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta. Havainnollistavat bakteeripesäkkeiden valokuvat on esitetty ensin kokonaisina maljakuvina sivun vasemmassa reunassa ja niiden viereen on liitetty suurennetut pesäkekuvat. Lisäksi itseopiskelumateriaali sisältää valokuvat niistä verimaljoista, joille bakteerit muodostavat β -hemolyysiä. Bakteerikannat olemme valinneet työhömmme siten, että ne vastaavat kliinisen mikrobiologian yhtä osa-aluetta. Tämän perusteella työhömmme valitsimme kliinisen mikrobiologian virtsaviljelytyöpisteessä yleisimmin esiintyviä bakteereita. Itseopiskelumateriaalissa kuvataan elatusmaljat, bakteeripesäkkeiden ominaispiirteet sekä ominaistuoksut niistä bakteeripesäkkeistä, joissa on selvästi tunnistettavissa oleva tuoksu. Työssämme käsittelemme ensin kokkibakteerit ja tämän jälkeen sauvabakteerit. Tietoa ja opiskelumateriaalia aiheesta on saatavissa eri lähteistä, mutta sitä ei ole saatavana yhtenäisenä kuvallisena tuotoksena.

Itseopiskelumateriaali bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta on ensisijaisesti suunnattu toisen vuoden opiskelijoille kliinisen mikrobiologian bakteriologian opintojaksoille Savonian ja Tampereen ammattikorkeakouluille. Bioanalytiikan opiskelijat sekä kliinisen mikrobiologian laboratorion henkilökunta voivat hyödyntää bakteeripesäkkeiden makroskooppinen tarkastelu- itseopiskelumateriaalia opiskeluissaan ja tunnistessaan bakteeripesäkkeitä. Tavoitteena on edistää bioanalyttikko-opiskelijoiden oppimista liittyen bakteeripesäkkeiden alustavaan tunnistamiseen. Vaikka suurimmissa laboratorioissa on mahdollisuus tehdä yhteistyötä muiden laboratoriohoitajien kanssa sekä konsultoida mikrobiologia, on lähellä helposti saatavilla oleva opas tarpeellinen.

Bakteeripesäkkeiden makroskooppisesta tarkastelusta ei ole tehty aikaisemmin ohjekirjaa opiskelijoiden käyttöön, josta he löytäisivät tietoa nopeasti ja kattavasti. Perusteena itseopiskelumateriaalille on suomenkielisten kirjojen huono saatavuus. Vieraskielinen aineisto ei ole suoraan käyttökelpoista, koska elatusmaljat saattavat olla erilaisia kuin Suomessa. Olemme koonneet itseopiskelumateriaaliin teoretietoa, joka vastaa tällä hetkellä olemassa olevaa tietoa bakteeripesäkkeiden ominaispiirteistä. Itseopiskelumateriaalin teoretieto on koottu kliinisen mikrobiologian bakteriologian osa-alueen käsittelevän, vuosina 1996 – 2011 julkaistun kirjallisuuden perusteella.

Valokuvamateriaali on kuvattu kokonaan Canon 50D -järjestelmäkameralla käyttäen Tamron 18 – 270 mm Di II -objektiivia. Valokuvaajana ja valokuvien käsitteijänä toimi Savonia-ammattikorkeakoulun muotoiluakatemian graafisen viestinnän opiskelija Jaakko Laukkanen. Itseopiskelumateriaalin bakteeripesäkkeet on tarkasteltu yhdessä Itä-Suomen kliinisen mikrobiologian laboratorion laboratoriohoidajien kanssa.

2 ELATUSMALJAT

Elatusmaljaksi sanotaan pyöreää muovista petrimaljaa, johon on valettu puolijähmeää tai geelimäistä elatusainetta eli agaria. Elatusaineen kiinteyttäjänä toimii merilevistä saatu agar eli kompleksinen polysakkaridi. Agar-alustat toimivat bakteereille kasvupaikkana, jolloin agarin on sisällettävä kaikki bakteerin kasvulle välttämättömät ravinteet. Bakteerit kasvavat agar-alustojen pinnalla tai sisällä. Rikkaasta alustasta bakteerit saavat paljon erilaisia ravinteita, kun taas köyhästä eli ns. minimaalialustasta ne saavat vain välttämättömät ravinteet. (Haahtela 1997, 6; Carlson & Koskela 2011, 41.)

Elatusmaljat voidaan erotella lähtöaineidensa mukaan synteettisiin ja kompleksisiin elatusmaljoihin. Synteettiseen alustaan on lisätty kaikki yksittäiset yhdisteet erikseen ja ne ovat tarkasti tiedossa. Kompleksinen elatusmalja sisältää yleensä orgaanisia joko eläin-, kasvi- tai mikrobiperäisiä uutteita kuten lihauutetta, hiivauutetta, peptoneja, kaseiinia sekä tryptonia. Lisäksi elatusmaljat sisältävät proteiineja, hiilihydraatteja, vitamiineja sekä muita orgaanisia yhdisteitä. Sekä synteettisillä, että kompleksisilla maljoilla kasvaa iso määrä erilaisia bakteereja. (Haahtela 1997, 6.)

Kiinteisiin elatusaineisiin voidaan myös lisätä defibrinoitua eläimen verta, esimerkiksi hevosen tai lampaan. Verimaljalla voidaan nähdä tietyille bakteereille tyypillinen hemolyysi pesäkkeen ympärillä. Verimaljaa rikkaampi kasvualusta on suklaamalja, joka sisältää kuumentamalla hajotettua verta. Veri- ja suklaamaljat ovat yleiselatusaineita, joilla useimmat patogeeniset bakteerit kasvavat. (Carlson & Koskela 2003, 24.)

Elatusaine voi olla selektiivinen tai non-selektiivinen. (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger & Winn 1997, 98.) Selektiivisillä elatusmaljoilla voidaan eristää ja rikastaa sellaisia bakteereita, jotka suosivat tiettyjä organismeja (Haahtela 1997, 6). Selektiivisellä elatusmaljalla voidaan etsiä vain tiettyä bakteerilajia, koska elatusaineeseen voidaan lisätä antibiootteja tai muita bakteerimyrkkyjä, mitkä estävät häiritsevien bakteerien kasvua. Selektiiviset elatusmaljat voivat olla samalla myös erottelevia. (Carlson & Koskela 2003, 24.)

Escherichia coli hajottaa CLED-maljan sisältämän laktoosin happamiksi aineenvaihduntatuotteiksi, jotka muuttavat pH-indikaattorin värin pesäkkeen ympäriltä keltaiseksi (Carlson & Koskela 2003, 24). Kromogeeninen elatusmalja sisältää värillisiä substraatteja, joita bakteerien lajispesifiset entsyymit hajottavat. Subs-

raattien hajotessa bakteeripesäkkeeseen saadaan väri. Koska substraattia hajottava entsyymi on lajispesifinen, ainoastaan tietyn lajin bakteerit värjäytyvät. (Peltola 2010.)

Non-selektiivisessä elatusaineessa ei ole inhibiittoreita ja ne tukevat useimpien kliinisesti merkittävien bakteerien kasvua. Usein käytetty non-selektiivinen elatusaine on viisi prosenttinen lampaan veri-agar. Hevosen- tai lampaanverimaljan agariin on lisätty lisäaineita, jotka sisältävät monia hemin tuotteita. (Koneman ym. 1997, 98.)



KUVA 1. Maljat ylhäältä vasemmalta oikealle: Verimalja, suklaamalja, CLED-malja, CPS ID3-malja, CHROMagar Orientation-malja, EMB-malja

2.1 Verimalja

Verimalja on runsasravinteinen elatusaine, jolla useimmat kliinisesti tärkeät bakteerit pystyvät kasvamaan. Merkittävä tunnistuskriteeri joissakin bakteeriryhmässä on bakteerin kyky hajottaa osittain tai kokonaan punasoluja. (Esko 1995, 59.) Jotkut bakteerit tuottavat solunulkoisia entsyymejä, jotka hajottavat agarissa olevat punasolut. Tämä voi näkyä punasolujen hajottua kirkkaana hemolyysinä bakteeripesäkkeen ympärillä eli β -hemolyysinä tai vain osittaisena hemolyysinä, joka näkyy vihreänsävyisenä hemolyysinä pesäkkeen ympärillä eli α -hemolyysinä. Joillain bakteereilla ei ole vaikutusta punasoluihin, eikä hemolyysiä synny pesäkkeen ympärille. Tätä kutsutaan γ - tai non-hemolyysiksi. Jotta hemolyysiä voidaan tarkastella, on sitä katsottava valoa vasten. (Forbes, Sahm & Wiessfeld 2007, 138.)

Veren ja elatusaineen laatu vaikuttavat hemolyysin syntymiseen. Esimerkiksi hevosonverimaljalla kasvatettuna voivat α -hemolyyttiset streptokokit virheellisesti näyttää β -hemolyyttisiltä. Anaerobiolosuhteissa kasvatettaessa hemolyysireaktio tulee selvemmin esiin kuin huoneilmassa hiilidioksidiatmosfäärissä. Alustan alhainen pH voi ehkäistä hemolyysiä ja hiilidioksidi voi vääristää sitä. Tästä johtuen kasvatusta olisi hyvä tehdä normaaliatmosfäärissä, mikäli bakteerin kasvunopeus ei siitä oleellisesti hidastu. (Esko 1995, 31.)

2.2 Suklaamalja

Suklaamalja on runsasravinteinen elatusaine, jolla useat kliinisesti merkittävät bakteerit pystyvät kasvamaan (Esko 1995, 59). Suklaamalja on tavallaan samanlainen kuin verimalja sillä erolla, että valmistuksen aikana punasolut on hajotettu lisäämällä ne sulaan agar-pohjaan. Punasolujen hajotus vapauttaa solunsisäiset ravinteet, kuten hemoglobiinin, hemiinin ja koentsyymi nikotiiniamidiadeniiniidinkleotidin agariin ”nirsojen” bakteerien hyödynnettäväksi. Suklaamalja valmistetaan kuumentamalla seos $+80\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa 5 minuutin ajan. Punasolujen hajotus tekee kasvualustan suklaanruskean värin, mistä tämä viljelyalusta saa nimensä. (Forbes ym. 2007, 140.)

2.3 Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient -malja eli CLED-malja

CLED-malja on non-selektiivinen erotteleva yleiselatusaine lähinnä virtsan bakteerien eristämiseen. Se sopii helposti kasvavien gram-negatiivisten sauvojen, stafylokokkien ja enterokokkien kasvattamiseen. (Esko 1995, 24.) CLED-malja sisältää pH-indikaattorina bromtymolisiniä. Bromtymolisiniä käytetään, jotta

voidaan erottaa laktoosia fermentoivat bakteerit fermentoimattomista. Laktoosia fermentoivat bakteerit alentavat pH:n, jolloin elatusaineen väri muuttuu sinisestä keltaiseen. (Kouri, Anttinen, Icen, Ikäheimo, Irtala, Kontiainen, Koskimies, Lipponen, Penttilä, Siitonen, & Suikola 1999, 46; Becton, Dickinson and Company 2006b.)

CLED-maljan ravinteita ovat peptonit, gelatiinin ja kaseiinin pankreaattiset eli hai-maperäiset pilkkojat sekä lihauute. CLED-malja sisältää laktoosia turvatakseen energialähteen bakteereille, jotka pystyvät hyödyntämään laktoosia fermentoi-van mekanismin ansiosta. Elatusaineen sisältämä kystiini mahdollistaa ”tihru” eli kääpiöpesäkkeisten koliformien kasvamisen. Elatusaineen vähäinen elektrolyyt-tipitoisuus estää proteus -suvun bakteerien huntumaisen leviämisen pesäkkeen-sä ympäristöön. Pitkällä kasvatusajalla vahvat laktoosia fermentoivat bakteerit jatkavat pilkkoutumistuotteiden metabolointia, jolloin alusta muuttuu uudelleen neutraaliksi tai jopa emäksiseksi. (Esko 1995, 24; Kouri ym. 1999, 46; Becton, Dickinson and Company 2006b.)

2.4 Kromogeenimalja

Kromogeenisella maljalla tarkoitetaan elatusainetta, joka sisältää väriä muodosta-via yhdisteitä eli kromogeeneja. Värinmuodostus perustuu spesifiseen entsyymi-substraattireaktioon, jossa muodostuu värillinen lopputuote. Kromogeeni on liitetty substraattiin ja bakteerin kasvaessa se tuottaa entsyymiä, jolloin kromogeeni vapautuu ja muodostuu väriä. Kromogeenisella maljalla kasvava bakteeripesä-ke värjätty lajille tyypilliseen tapaan ja se voidaan näin tunnistaa. (Kärpänoja 2007a, 39; Kärpänoja 2007b.)

Kromogeenisia maljoja voidaan käyttää näytteiden primaariviljelyyn, jolloin voi-daan tehdä mikrobien alustavaa tai lopullista tunnistusta, tai niitä voidaan käyt-tää jatkotunnistustesteinä. Eniten kromogeenisia maljoja on Suomessa käytetty virtsaviljelyissä, jolloin bakteerien tunnistus ei välttämättä vaadi jatkotunnistus-testejä. Esimerkiksi E. coli ja enterokokki voidaan tunnistaa suoraan monien eri valmistajien kromogeenimaljoilta. Mikrobien alustava tunnistus on kromogeenisil-ta maljoilta tarkempaa kuin esimerkiksi CLED-maljalta. Lisäksi sekaflooran tun-nistaminen kromogeenisilta maljoilta on helpompaa. (Kärpänoja 2007a, 39 – 40; Kärpänoja 2007b.)

CHROMagar Orientation- ja CPS ID3 -maljoilta voidaan tunnistaa E. coli luo-tettavasti. Pesäkkeen ulkonäön perusteella tunnistetuista kannoista n. 99,5 % varmistuu biokemiallisten jatkotunnistuskokeiden avulla E. coliksi. Klebsiella-,

Enterobacter-, Citrobacter-, Serratia- sekä Proteus-, Morganella- ja Providencia -kannat voidaan tunnistaa ryhmätasolle, mutta sukutason tunnistus edellyttää biokemiallisten jatkotunnistuskokeiden tekemistä. Pseudomonas aeruginosa voidaan tunnistaa alustavasti pesäkkeen ulkonäön sekä tuoksun avulla, samoin kuin myös CLED-maljalta. Enterokokit, jotka ovat toiseksi yleisin virtsatieinfektion löydös, voidaan tunnistaa alustavasti suoraan pesäkkeen ulkonäön perusteella, samoin osa Streptococcus agalactiae ja Staphylococcus saprophyticus kannoista. (Meurman 2007, 41 – 42.)

2.4.1 CHROMagar Orientation -malja

CHROMagar Orientation on Becton, Dickinson & Companyn elatusmalja. Se on non-selektiivinen elatusaine bakteeripesäkkeiden eristykseen ja identifiointiin viljelymaljalta. Kromogeeniseos sisältää keinotekoisia substraatteja, jotka vapauttavat erilaisesti värjäytyt komponentit pilkkomalla ne bakteereista erittyvillä entsyymeillä, näin ollen varmistetaan suora tiettyjen lajien erotus. Proteuksen hunnuttaminen on inhiboitu tällä kromogeenimaljalla. Elatusaine sisältää peptoneja ja hiivauutetta ja sen pH on 7.0 pH +/- 0.2 pH. Tämä elatusaine ei tue niiden bakteerien kasvua, jotka ovat ravintovaatimuksiltaan vaativia. (Becton, Dickinson and Company 2004; Becton, Dickinson and Company 2005.)

Bakteerit tuottavat niille ominaista entsyymiä. Näin ollen on mahdollista identifioida nämä bakteerit lajitasolle tiettyjen substraattien fermentaation ansiosta. Jotkut virtsatieinfektioita aiheuttavat bakteerit tuottavat entsyymejä laktoosin tai glukoosidien tai molempien pilkkomiseen. Jotkut bakteerit eivät tuota näitä entsyymejä. Esimerkiksi E. coli tuottaa entsyymejä laktoosin fermentaatiota varten mutta on β -glukosidaasi-negatiivinen. Jotkut koliformisista bakteereista on β -glukosidaasi-positiivisia, mutta eivät tuota entsyymiä laktoosifermentaatiota varten, jotkut voivat tuottaa molempia entsyymejä ja jotkut ei kumpaakaan. β -glukosidaasia tuottavat myös gram-positiiviset kokit, kuten Staphylococcus agalactiae ja enterokokki. Tryptofaani-deaminaasi on entsyymi, jota tuottavat Proteus-Morganella-Providencia -ryhmä. (Becton, Dickinson and Company 2005.)

2.4.2 CPS ID3 -malja

CPS ID3 on bioMérieux'n kromogeeninen elatusmalja. Maljaa käytetään eristämään ja identifioimaan bakteereita virtsanäytteistä. Maljalta on mahdollista tunnistaa ja nimetä näytteestä Escherichia coli, Enterococcus, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter, Proteus, Providencia ja Morganella -bakteeriryhmät. CPS ID3 -malja koostuu ravintoainepohjasta, jossa on eri peptoneita ja kahta

kromogeenista substraattia. Indolin havaitsemista on parannettu sisällyttämällä tryptofaani agariin. Proteuksen leviäminen on estetty tällä agarilla. (Biomerieux 2009.)

Escherichia colin pesäkkeiden väri perustuu β -glukoronidaasin tuotantoon. Noin viisi prosenttia Escherichia coli bakteereista on β -glukuronidaasi-negatiivisia, jolloin syntyy värittömiä pesäkkeitä. Muutkin bakteerilajit voivat tuottaa pieniä pinkkejä pesäkkeitä, kuin E. coli, esimerkiksi Staphylococcus. Enterococcus -kannat, jotka tuottavat β -glukoosidaasia, tuottavat turkoosin värisiä pesäkkeitä. Myös muut bakteerilajit kuin Enterococcus voi tuottaa turkooseja pesäkkeitä, esimerkiksi Staphylococcus, Streptococcus, erityisesti S. agalactiae. Jos sekaflooraviljelmissä enterokokin suhde on pienempi kuin toisen mikro-organismien, niiden esiintymistä ei välttämättä huomata. (Biomerieux 2009.)

Klebsiella-, Enterobacter-, Serratia- ja Citrobacter -kannat tuottavat β -glukoosidaasin avulla vihreitä tai ruskeanvihreitä pesäkkeitä. Proteae -lajit tuottavat vaalean ruskeasta tummanruskeaan pesäkkeitä deaminaasin avulla. Jotkut Pseudomonas -lajit voivat tuottaa pesäkkeisiin ruskeaa pigmenttiä. Jotkut Citrobacter -lajit voivat tuottaa pesäkkeitä värittömästä ruskeaan. Suurin osa atyyppisistä enterobakteeri -lajien kannoista, E. colia lukuun ottamatta, voivat tuottaa värillisiä pesäkkeitä pinkistä viininpunaiseen. (Biomerieux 2009.)

2.4.3 Levine Eosin-Methylene Blue -malja eli EMB-malja

EMB-agar on selektiivinen elatusmalja gram-negatiivisten koliformien bakteerien määrittämiseen. EMB-malja sisältää eosini Y- ja metyleenisini- väriaineita, jotka osittain inhiboivat gram-positiivisia bakteereita, kuten Enterococcus faecalisin kasvamista. Väriaineet toimivat myös erottelevina indikaattoreina bakteerien laktoosifermentaatiolle. Laktoosia fermentoivat koliformiset bakteerit tuottavat vihreän metallinhohtoisia sinimustia pesäkkeitä, kun taas laktoosi-nonfermentoivien bakteerien pesäkkeet ovat värittömiä tai läpikuultavan meripihkan värisiä. (Becton, Dickinson and Company 2006a; Becton, Dickinson and Company 2007.)

Jotkut gram-negatiiviset bakteerit, kuten suolistosta peräisin oleva streptokokki ja staphylokokki kasvavat tällä elatusmaljalla ja normaalisti ne muodostavat keskeltä tummempia ja reunoilta vaaleampia pesäkkeitä. Useat non-patogeeniset gram-negatiiviset bakteerit, jotka eivät fermentoi laktoosia, kasvavat tällä elatusaineella ja ne tulevat erottaa patogeenisistä bakteerikannoista biokemiallisilla jatkotesteillä. (Becton, Dickinson and Company 2006a; Becton, Dickinson and Company 2007.)

3 BAKTEERIPESÄKKEIDEN MAKROSKOOPPINEN TARKASTELU

Lisääntymiskykyinen bakteeri jakaantuu 18 tunnissa lukuisiksi jälkeläisiksi. Bakteerit eivät pysty liikkumaan vapaasti kiinteällä elatusaineella, jolloin niistä muodostuu pesäke. Eri bakteerilajit muodostavat erilaisia pesäkkeitä, jolloin ne voidaan visuaalisesti erottaa toisistaan. Monet aerobiset bakteerit kasvavat silmin nähtäväksi pesäkkeiksi alle vuorokaudessa. Elatusmaljalta havaitaan gram-negatiiviset sauvabakteerit ja gram-positiiviset kokit. Maljoilla kasvavia pesäkkeitä tarkastellaan huolellisesti ja niiltä pyritään erottelemaan eri pesäketyyppit toisistaan värin, koon, muodon, hemolyysin sekä tuoksun perusteella. (Kouri ym. 1999, 47; Carlson & Koskela 2011, 42; Heikkilä & Meurman 2005, 95.)

Maljaviljelyn puhtauden arvioimisessa tulee ottaa huomioon, että kaikki pesäkkeet omaavat samanlaiset piirteet, rakenteet, värin ja reunat. Pesäkkeiden ulkonäössä voi olla erilaisuuksia pesäkkeen kypsyyden takia eri pesäkkeiden välillä, esimerkiksi pesäkkeen koko, mutta kaikkien pesäkkeiden tulisi olla ominaisuuksiltaan samanlaisia. Sekaflora, jossa on useampia bakteerilajeja, voi näkyä pesäkkeiden erilaisuutena, eikä tietyn pesäkkeen ominaisuudet kuvaa toista pesäkettä. (Cullimore 2000, 1 – 2.)

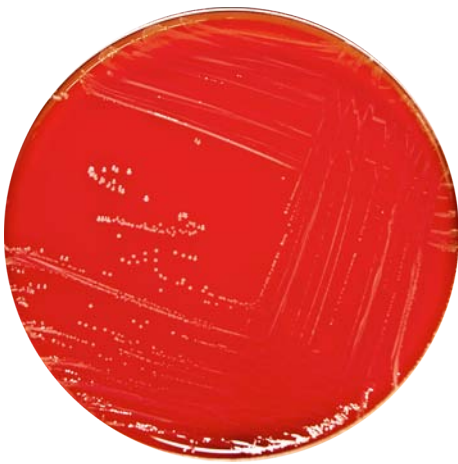
Bakteeripesäkkeiden tarkastelu tapahtuu tutkimalla visuaalisesti kasvustoa agarin pinnalta. Tarkastelu toteutetaan pitämällä maljaa kädessä tarkastellen mahdollisia bakteeripesäkkeitä agarin pinnasta. Hitaasti kasvavien bakteerien pesäkkeet voi jäädä huomaamatta isojen pesäkkeiden joukosta. Tarkastelun aikana maljaa tulisi kallistella eri suunnista, kirkkaan valaistuksen alla, jotta valo heijastuu monesta kulmasta. Suurennuslasia voi käyttää tarkastellessa pieniä tai keskenkasvuisia pesäkkeitä. (Koneman ym. 1997, 99 – 100.)

Verimaljoja tulee tarkastella niin, että valo on maljan takana ja näkyy siitä läpi. Näin voidaan huomata mahdollinen bakteerin aiheuttama hemolyysi. Joidenkin bakteerien tuottamat tuoksut voivat olla avuksi bakteerin identifioinnissa, esimerkiksi *Pseudomonas* -lajien pesäkkeet tuoksuvat greippimehulta, *Proteus* -lajien pesäkkeet poltetulta suklaalta ja *Corynebacterium* -lajien pesäkkeet tuoksuvat hedelmäiseltä. Pesäkkeiden tarkastelu bakteerin alustavaa tunnistusta varten on diagnostisen mikrobiologian kulmakiviä. (Koneman ym. 1997, 99 – 100.)

3.1 *Enterococcus faecalis*

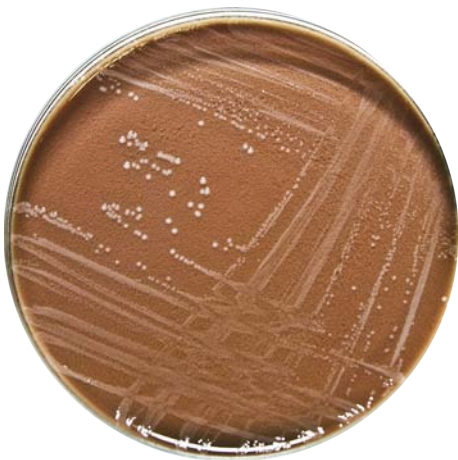
Verimalja

*Enterococcus faecalis*in bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on kooltaan pieni ja muoto on pehmeä ja tiivis. *Enterococcus faecalis* on nonhemolyytinen.



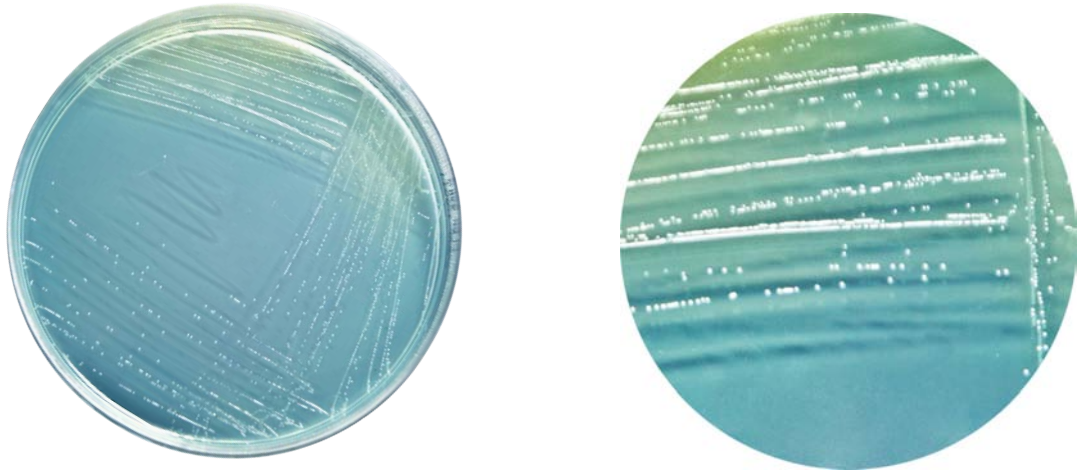
Suklaamalja

*Enterococcus faecalis*in bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on kooltaan pieni ja muodoltaan pyöreä.



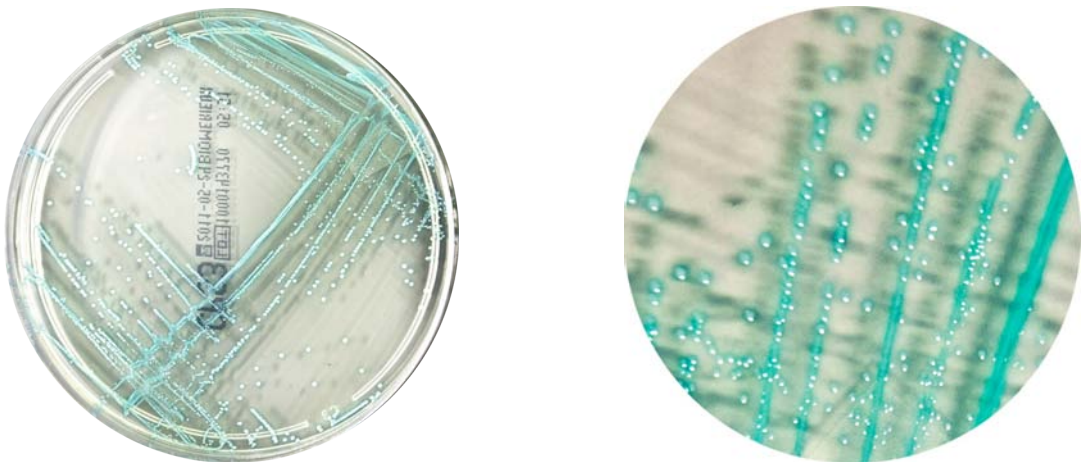
CLED-malja

Enterococcus faecalisin bakteeripesäke on kellertävä, vaalea ja maitomainen. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta kuiva. Enterococcus faecalis on laktoosiposiitivinen.



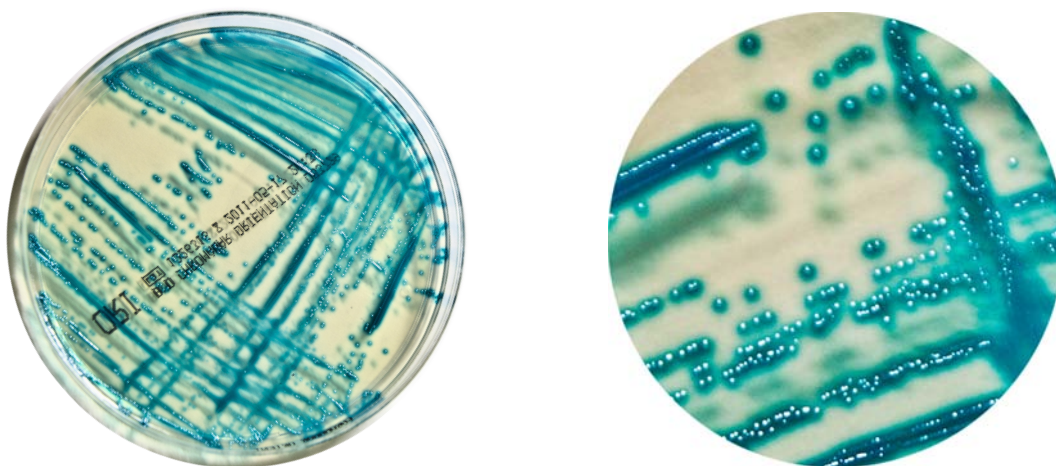
CPS ID3 -malja

Enterococcus faecalisin bakteeripesäke on väriltään turkoosi ja se on mattapintainen. Pesäkkeen ympäriltä agar on väriltään tummempi. Pesäke on kooltaan pieni ja sen muoto on pyöreä. Valmistajan mukaan enterococcus -lajit tuottaa turkooseja ja pieniä pesäkkeitä (Biomérieux 2006; Biomérieux 2009).



CHROMagar orientation -malja

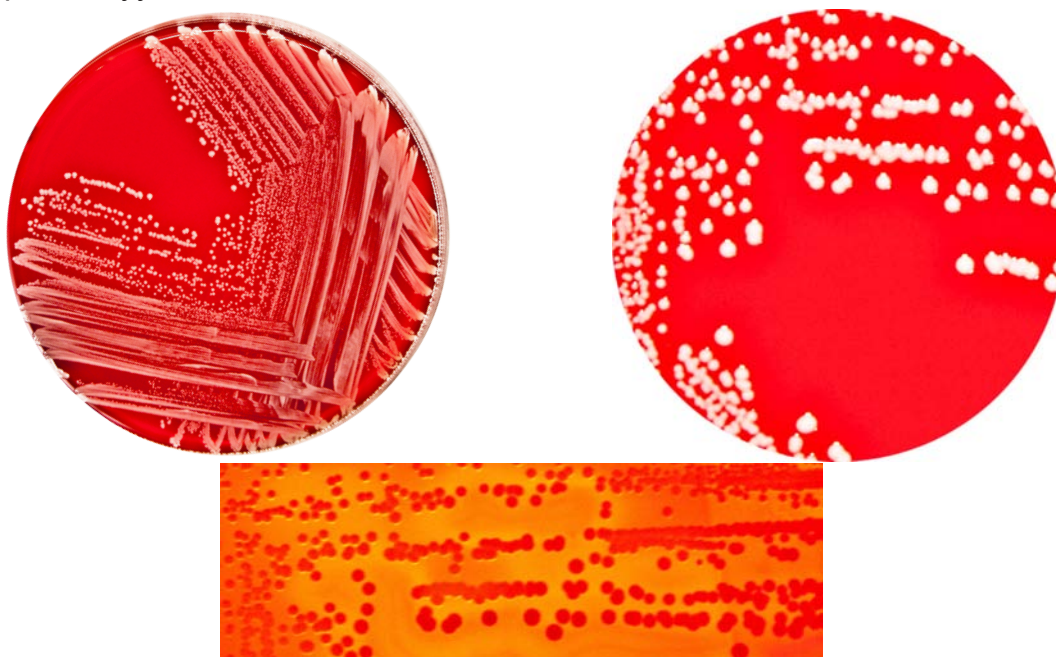
Enterococcus faecalisin bakteeripesäke on väriltään sinivihreä (petrooli). Agar on värjätynyt pesäkkeen ympäriltä sinivihreäksi. Pesäke on vaaleampi, kun sitä ympäröivä agar. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta kuiva. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään sininen tai turkoosi ja kooltaan pieni (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.2 Staphylococcus aureus

Verimalja

Staphylococcus aureuksen bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa ja siinä on kellertävä sävy. Pesäke on kooltaan pieni ja muoto on pyöreä ja tasainen. Pesäke on pinnaltaan kostea. Staphylococcus aureus muodostaa verimaljalla β -hemolyysiä.



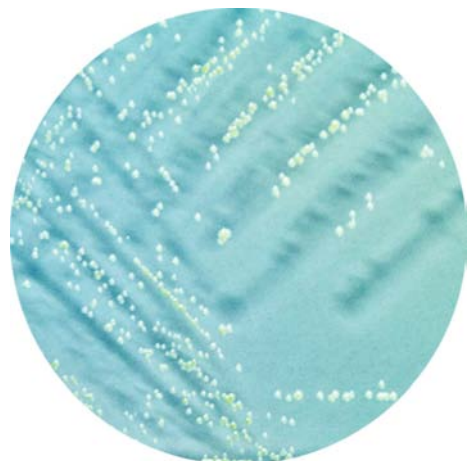
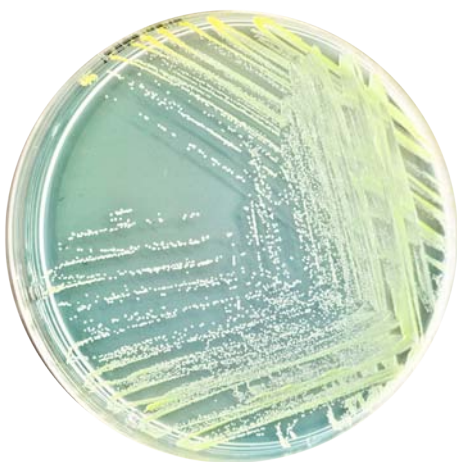
Suklaamalja

Staphylococcus aureuksen bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäke on muodoltaan pyöreää, matala ja tasainen.



CLED-malja

Staphylococcus aureuksen bakteeripesäke on keltainen ja mattapintainen. Pesäke on kooltaan pieni ja muoto on pyöreä. Staphylococcus aureus on laktoosi-positiivinen.



CPS ID3 -malja

Staphylococcus aureuksen bakteeripesäke on väriltään valkokeltainen. Pesäke on kooltaan ”tihru”. Pesäke on pinnaltaan kuiva. Valmistajan mukaan Staphylococcus aureus tuottaa vaaleankeltaisia ja pieniä pesäkkeitä (Biomerieux 2009).



CHROMagar orientation -malja

Staphylococcus aureuksen bakteeripesäke on väriltään valkoinen. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäkkeen muoto on pyöreä ja se on pinnaltaan kiiltävä. Valmistajan mukaan pesäkkeet voivat olla väriltään kullasta läpinäkymättömään valkoiseen ja kooltaan pieniä tai keskikokoisia (Becton, Dickinson and Company 2004; Becton, Dickinson and Company 2005).



3.3 Staphylococcus saprophyticus

Verimalja

Staphylococcus saprophyticuksen bakteeripesäke on väriltään mattavalkoinen. Pesäke on kooltaan pieni ja muoto on pyöreä ja se on pinnaltaan kuiva. Staphylococcus saprophyticus on nonhemolyyttinen.



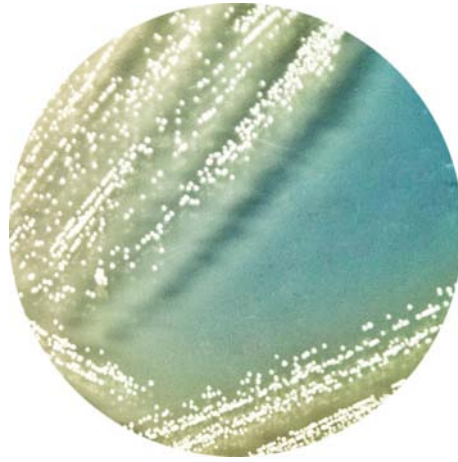
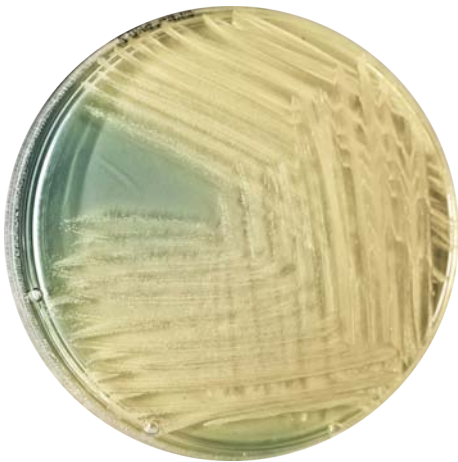
Suklaamalja

Staphylococcus saprophyticuksen bakteeripesäke on väriltään valkoinen. Pesäke on kooltaan pieni. Pesäke on muodoltaan pyöreä ja pinnaltaan se on kostea.



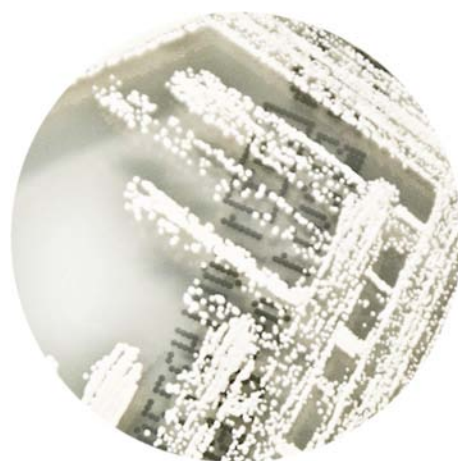
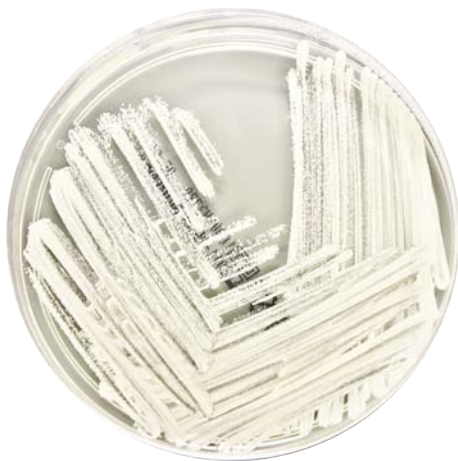
CLED-malja

Staphylococcus saprophyticuksen bakteeripesäke on väriltään vaaleankeltainen. Pesäke on kooltaan pieni tai ”tihru”. Staphylococcus saprophyticus on laktoosi-positiivinen.



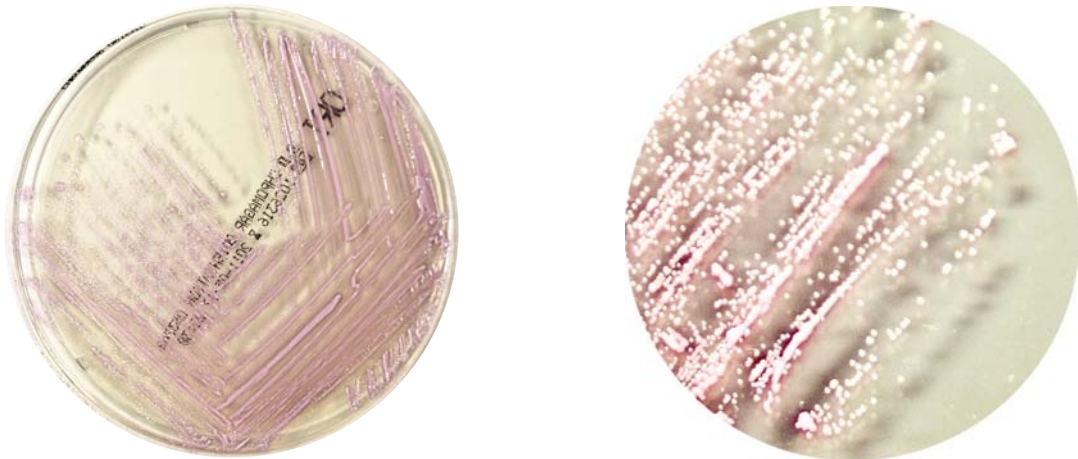
CPS ID3 -malja

Staphylococcus saprophyticuksen bakteeripesäke on väriltään valkokeltainen. Pesäke on kooltaan pieni. Muodoltaan pesäke on pyöreä ja pinnaltaan se on kuiva. Valmistajan mukaan Staphylococcus saprophyticus tuottaa vaaleankeltaisia pieniä pesäkkeitä (Biomerieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

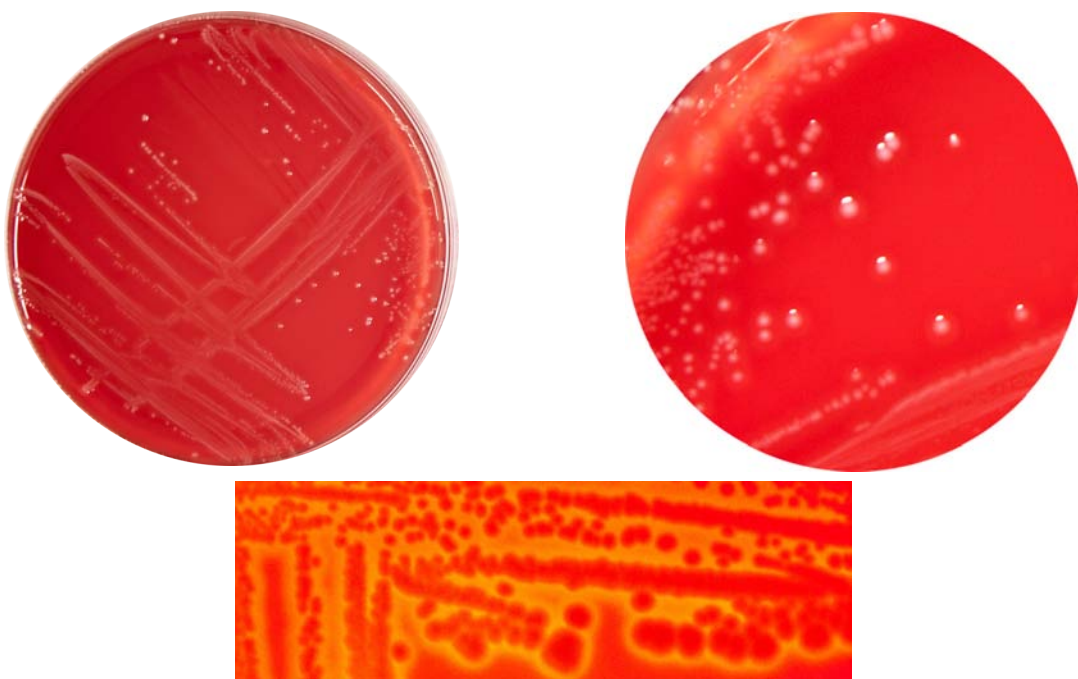
Staphylococcus saprophyticus bakteeripesäke on väriltään vaaleanvioletti tai pinkki. Pesäke on kooltaan pieni. Pesäkkeen muoto on pyöreä ja se on pinnaltaan kuiva. Tuoksu muistuttaa vesimelonin tuoksua. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään vaaleanpunainen ja läpinäkymätön pieni pesäke (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.4 B-ryhmän streptokokki

Verimalja

B-ryhmän streptokokin bakteeripesäke on väriltään valkoinen ja läpikuultava. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä. Pesäke on pinnaltaan kostea. B-ryhmän streptokokki muodostaa verimaljalla β -hemolyysiä.



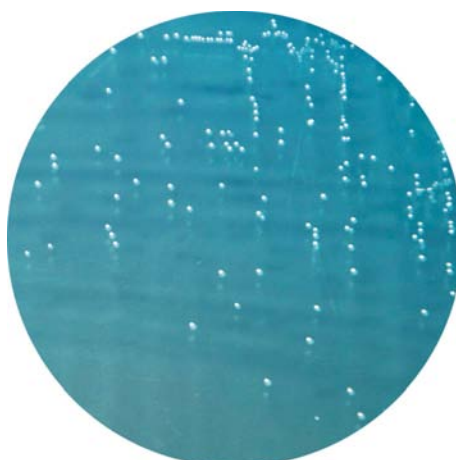
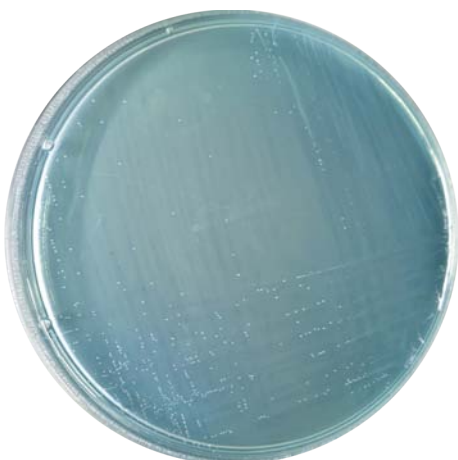
Suklaamalja

B-ryhmän streptokokin bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäke on muodoltaan pyöreä ja pinnaltaan kostea.



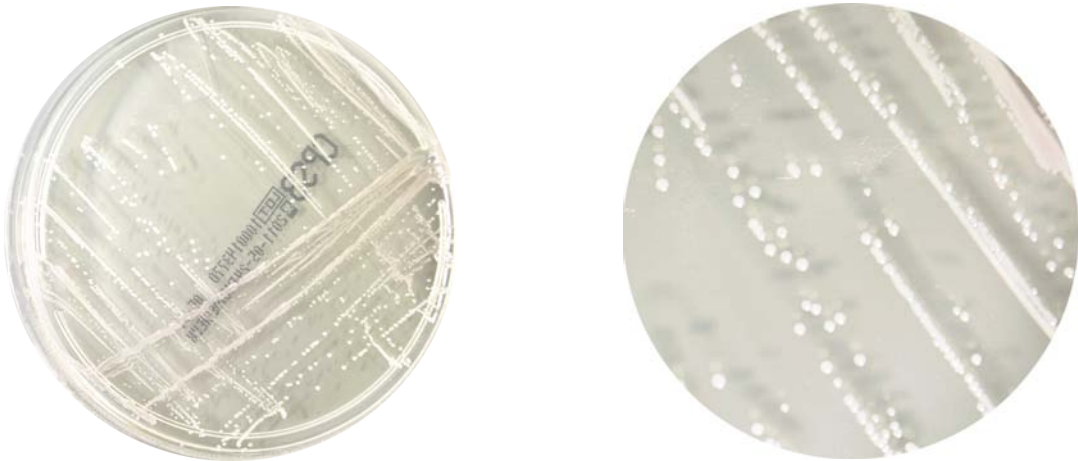
CLED-malja

B-ryhmän streptokokin bakteeripesäke on valkoinen. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pinnaltaan kuiva. B-ryhmän streptokokki on laktoosinegatiivinen.



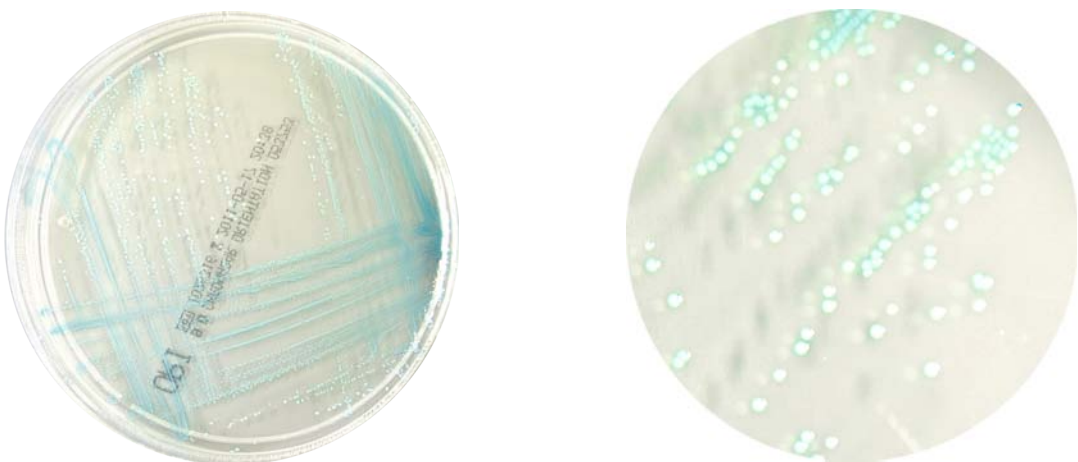
CPS ID3 -malja

B-ryhmän streptokokin bakteeripesäke on väriltään helmiäisenvalkoinen. Kasvuston tiheällä alueella pesäkkeet punertavat. Pesäke on kooltaan pieni. Muodoltaan pesäke on pyöreä ja pinnaltaan kuiva. Valmistajan mukaan B-ryhmän streptokokki tuottaa violetteja pieniä pesäkkeitä (Pentikäinen & Erola 2009).



CHROMagar orientation -malja

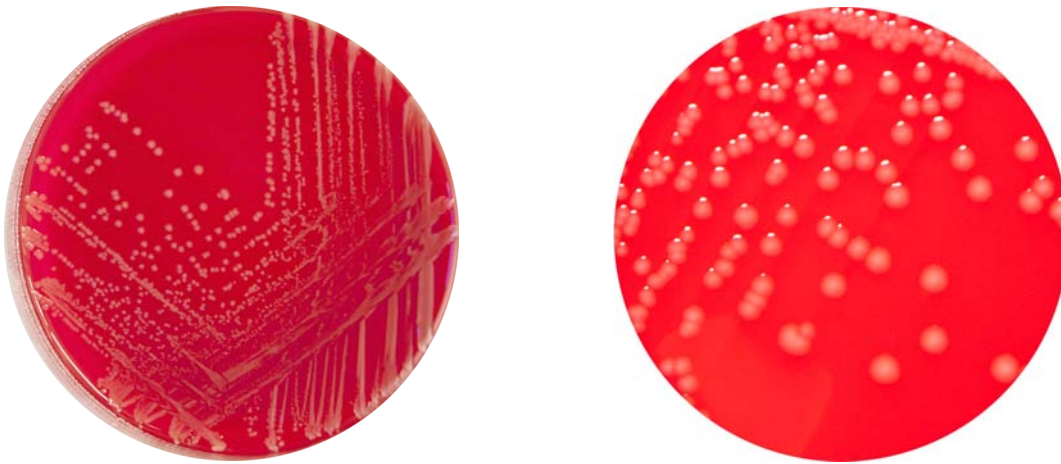
B-ryhmän streptokokin bakteeripesäke on väriltään vaaleansininen. Pesäke on kooltaan pieni ja muoto on pyöreä. Valmistajan mukaan *Streptococcus agalactiae*, eli B-ryhmän streptokokki, tuottaa pieniä vaaleansinivihreitä tai vaaleansinisiä pesäkkeitä (Becton, Dickinson and Company 2004; Becton, Dickinson and Company 2005).



3.5 Citrobacter koseri

Verimalja

Citrobacter koserin bakteeripesäke on väriltään harmaanrusehtava (beige). Pesäke on kooltaan iso. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan sileä ja kostea. Citrobacter koseri on nonhemolyyttinen.



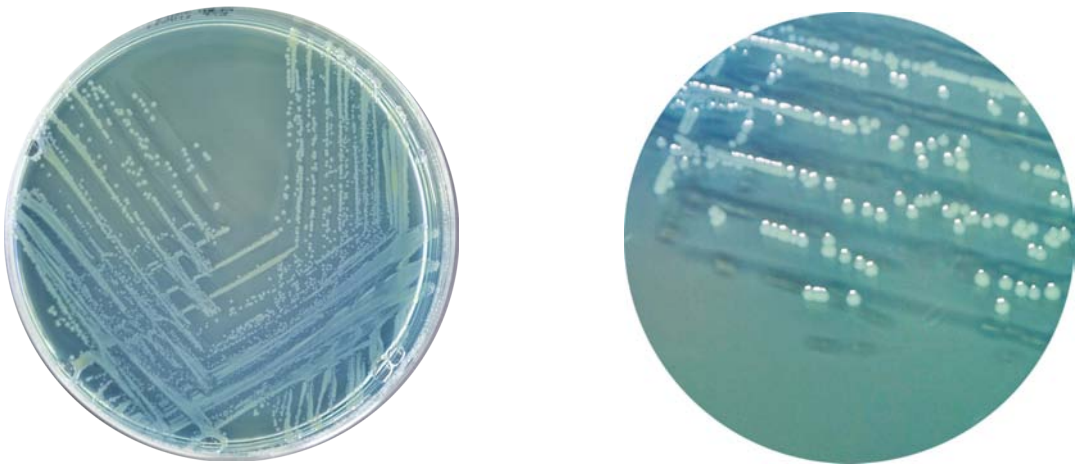
Suklaamalja

Citrobacter koserin bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan iso ja muoto on pyöreä. Pesäkkeen pinta on limainen.



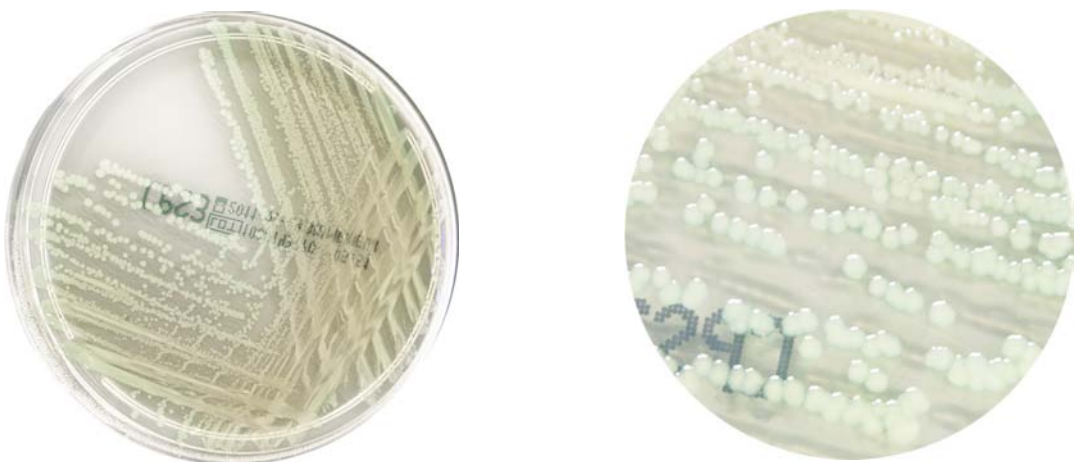
CLED-malja

Citrobacter koserin bakteeripesäke on väriltään vaaleankeltainen. Pesäke on kooltaan pieni tai keskikokoinen. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta limainen. Citrobacter koseri on laktoosinegatiivinen.



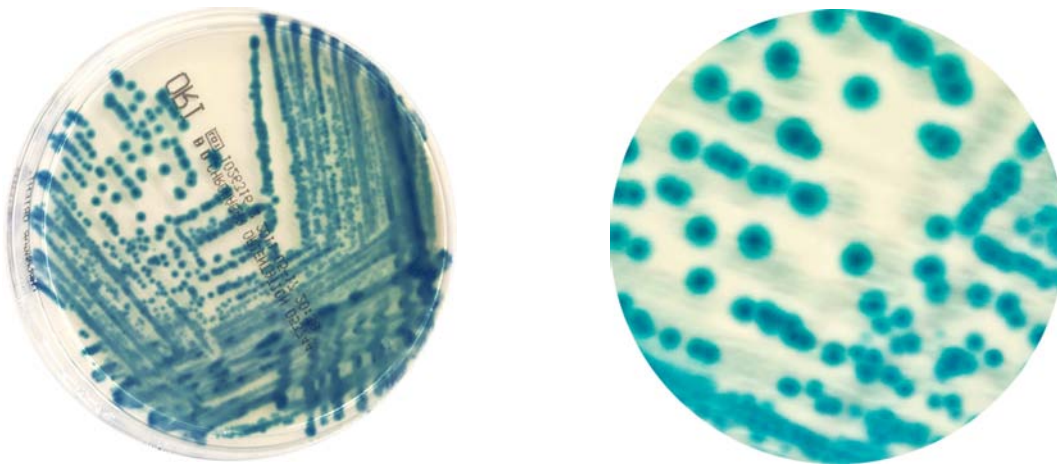
CPS ID3 -malja

Citrobacter koserin bakteeripesäke on väriltään vaaleanvihreä. Pesäke on kooltaan iso. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan limainen. Valmistajan mukaan Citrobacter koserin pesäkkeet ovat vaaleanvihreitä tai vihreitä ja kooltaan isoja (Biomerieux 2006; Pentikäinen & Erola 2009).



CHROMagar orientation -malja

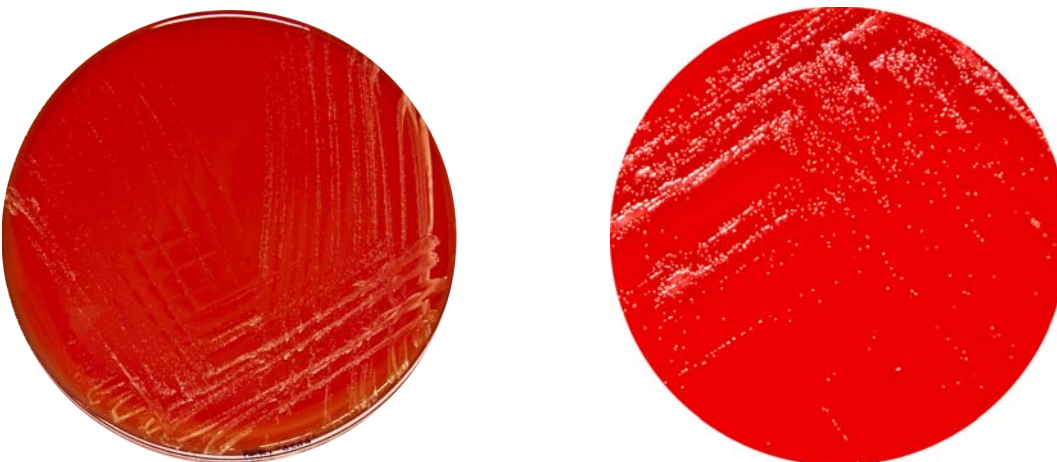
Citrobacter koserin bakteeripesäke on väriltään sinivihreä (petrooli). Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan iso. Pesäkkeen muoto on pyöreä, matala ja se on reunoilta epäsäännöllinen. Pesäkkeen pinta on limainen. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään metallisininen, jossa on vaaleanpunainen halo, tai se voi olla vaaleanpunainen (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.6 Corynebacterium renale

Verimalja

Corynebacterium renalen bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa, valkoinen. Pesäke on kooltaan ”tihru”. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan kuiva. Corynebacterium renale on nonhemolyyttinen.



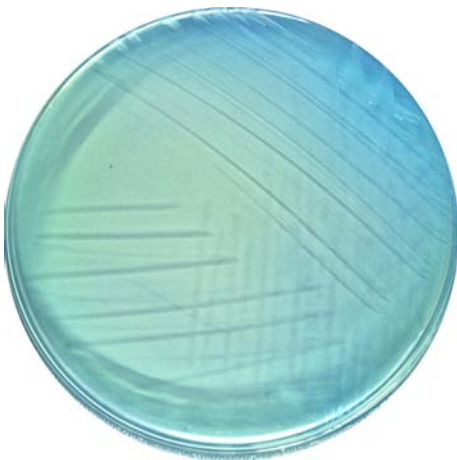
Suklaamalja

Corynebacterium renale bakteeripesäke on väriltään matta vaaleanharmaa. Pesäke on kooltaan pieni ja muodoltaan pyöreä.



CLED-malja

Corynebacterium renale ei kasva cledillä.



CPS ID3 -malja

*Corynebacterium renale*n bakteeripesäke on väriltään pinkki. Pesäke on kooltaan "tihru" ja pinnaltaan kuiva. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään vaalea ja pesäke on pieni, mutta se voi olla joskus "tihru" (Pentikäinen & Erola 2009).



CHROMagar orientation -malja

*Corynebacterium renale*n bakteeripesäke on väriltään valkoinen. Pesäke on kooltaan "tihru" ja pinnaltaan kuiva. Tutkimuksen mukaan corynebakteeri tuottaa värittömiä tai valkoisia pesäkkeitä, jotka ovat keskeltä tummempia ja reunoilta vaaleampia (Ritter, Vaziri, Warns & Dick 2004).



3.7 *Enterobacter cloacae*

Verimalja

Enterobacter cloacae bakteripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäkkeen koko on pieni. Muoto on pyöreä ja pesäkkeen pinta on kostea. *Enterobacter cloacae* on nonhemolyyttinen.



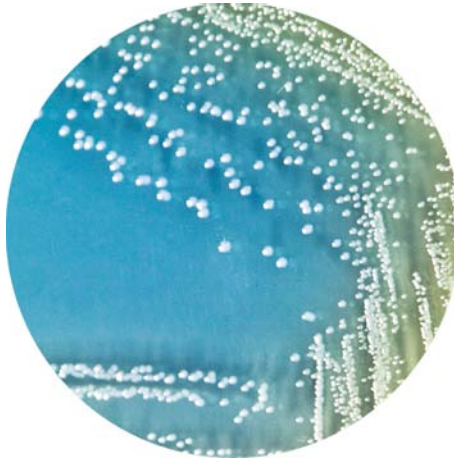
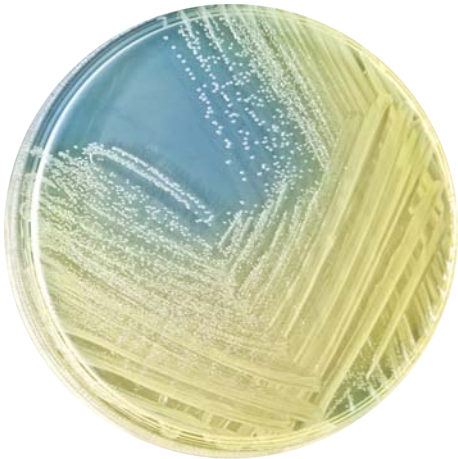
Suklaamalja

Enterobacter cloacae bakteripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäkkeen keskellä on vaalea "napa" ja vaaleanharmaa väri häivenee reunoille. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäkkeen muoto on pyöreä ja se on pinnalta limainen.



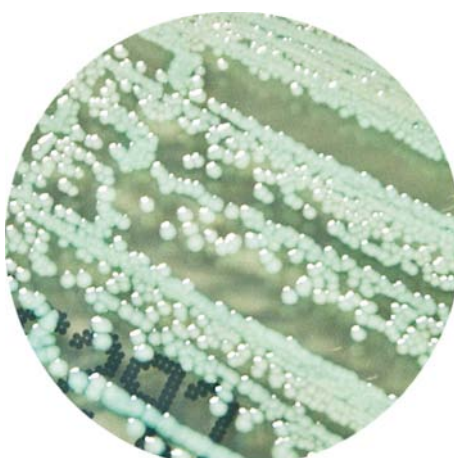
CLED-malja

Enterobacter cloacae bakteeripesäke on väriltään vaaleankeltainen. Pesäkkeen koko on pieni. Muoto on pyöreä ja pesäkkeen pinta on kiiltävä. Bakteri on laktoosiposiitivinen.



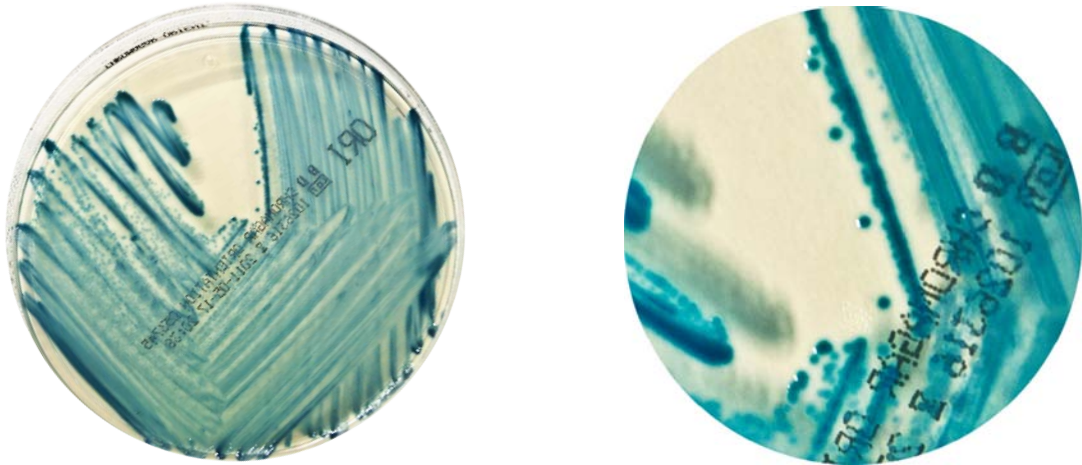
CPS ID3 -malja

Enterobacter cloacae bakteeripesäke on väriltään vaaleanvihreä. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan kostea. Valmistajan mukaan enterobakteeri tuottaa vihreitä tai vihreänruskeita pesäkkeitä (Pentikäinen & Erola 2009).



CHROMagar orientation -malja

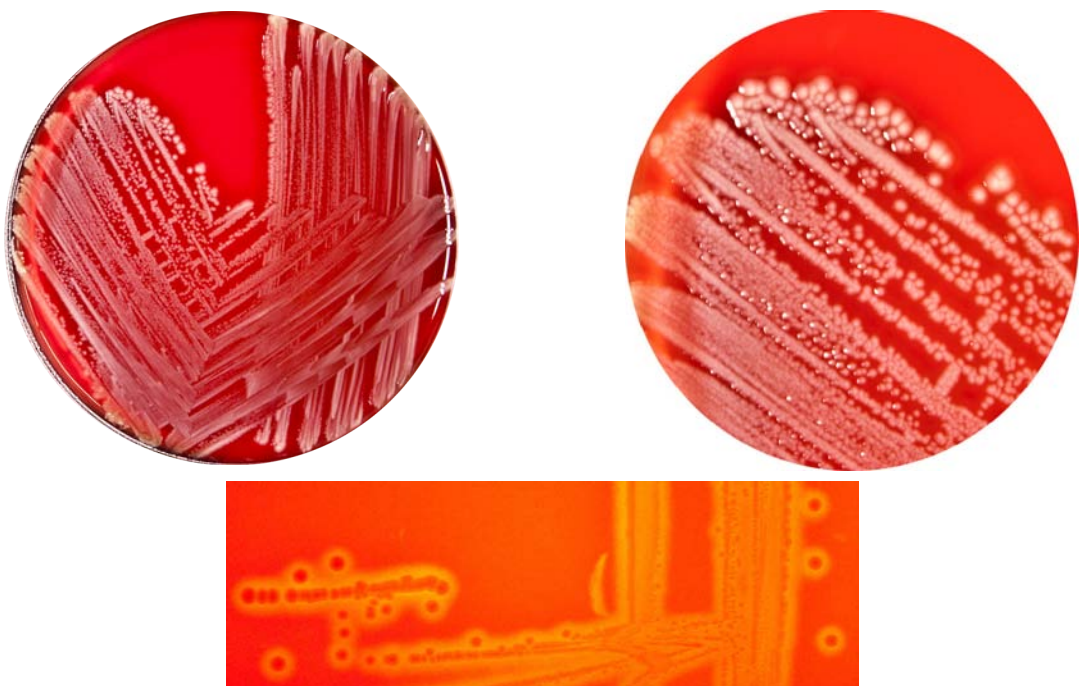
Enterobacter cloacae bakteripesäke on väriltään sinivihreä (petrooli). Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäkkeen pinta on kostea. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään metallinsininen, ja agarissa voi olla vaaleanpunainen halo (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.8 Escherichia coli

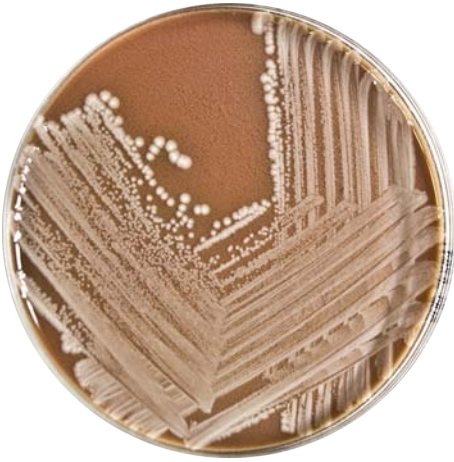
Verimalja

E. coli bakteripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Muoto on pyöreä ja pinta kostea. *E. coli* muodostaa verimaljalla β -hemolyyysiä.



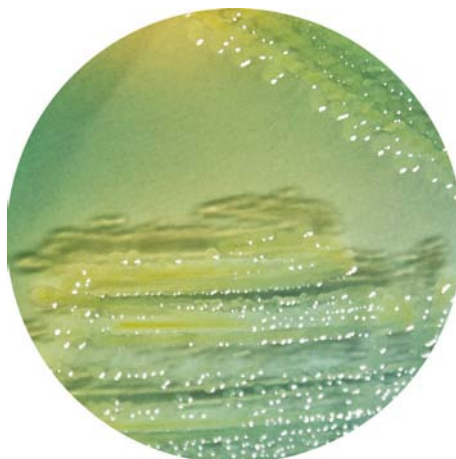
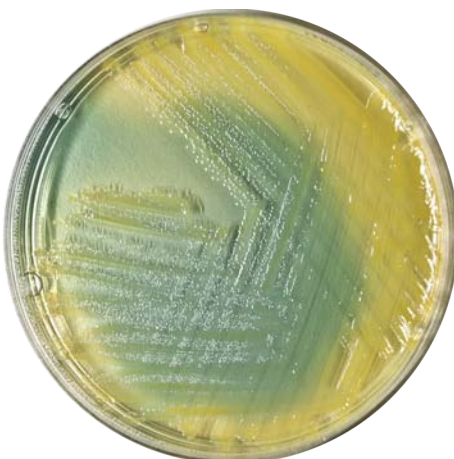
Suklaamalja

*E. coli*in bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan iso. Muoto on pyöreä ja matala. Pesäkkeen pinta on limainen. Tuoksu muistuttaa vahvasti lannan hajua.



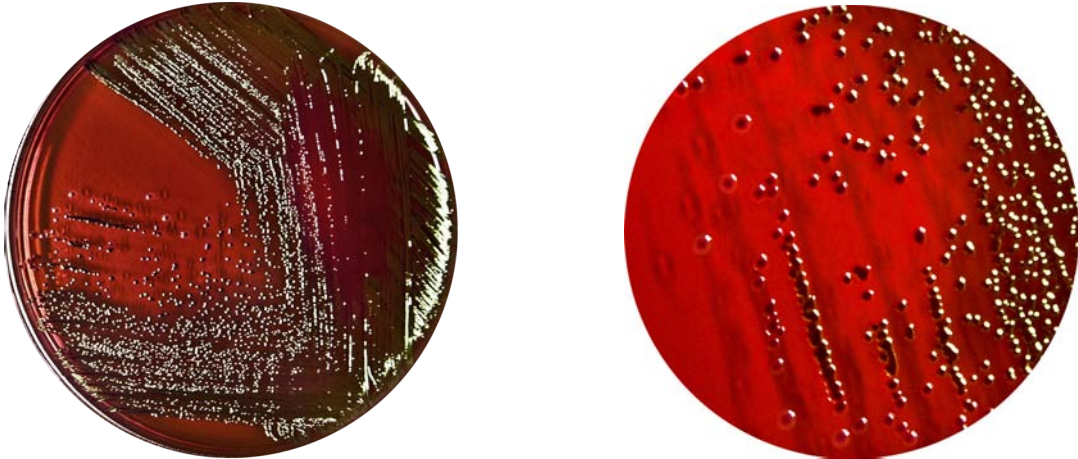
CLED-malja

*E. coli*in bakteeripesäke on väriltään keltainen. *E. coli* on useimmiten laktoosi-positiivinen. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Muoto on pyöreä ja pinta on limainen.



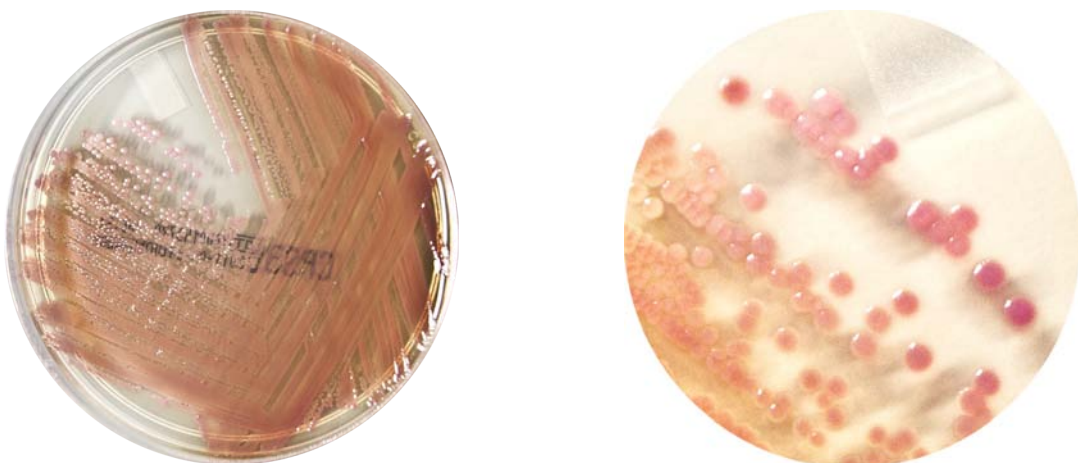
EMB-malja

*E. coli*in bakteeripesäke on väriltään purppura. Kasvusto kuultaa tiheällä alueella kauniin metallinhohtovihreänä. Pesäke on keskeltä tumman purppura ja reunoilta vaalea. Pesäke on kooltaan keskikokoinen ja muodoltaan pyöreä. Valmistajan mukaan pesäkkeet ovat isoja, sinimustia, vihreän metallinhohtoisia. *Escherichia coli*in pesäkkeet näkyvät vihreän metallinhohtoisina, johtuen nopeasta laktoosi-fermentaatiosta (Becton, Dickinson and Company 2006a.)



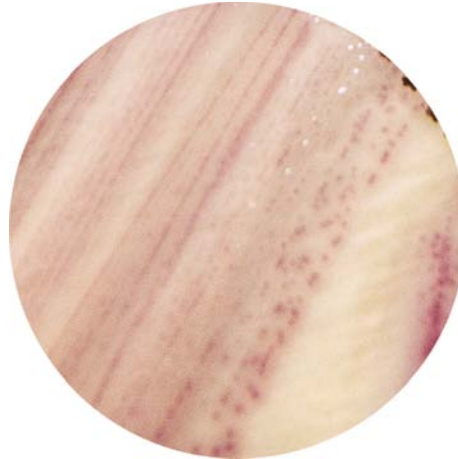
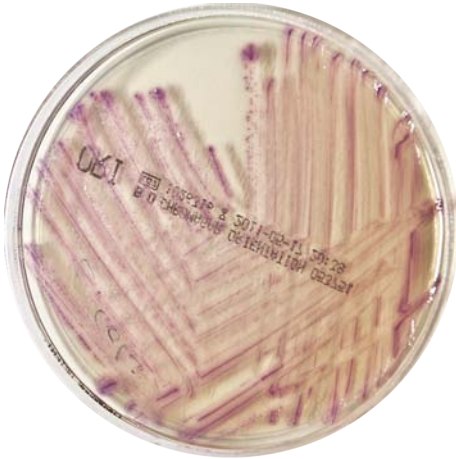
CPS ID3 -malja

*E. coli*in bakteeripesäke on väriltään roosa. Pesäke on kooltaan suuri. Muoto on pyöreä ja pinta on limainen. Pesäke on reunoilta kidemäinen ja epäsäännöllinen. Valmistajan mukaan *E. coli* tuottaa suuria pesäkkeitä, jotka ovat väriltään vaaleanpunaisesta viininpunaiseen (Biomérieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

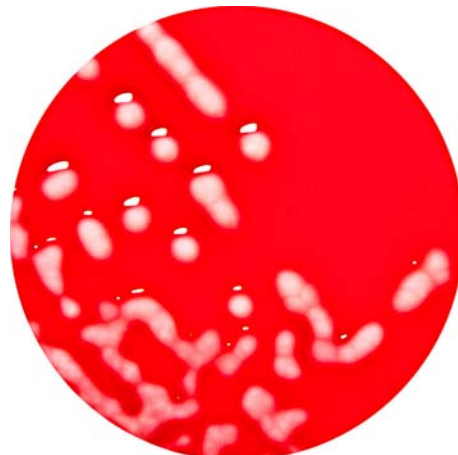
E. coli bakteeripesäke on väriltään violetti. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pinta limainen. Valmistajan mukaan pesäke voi olla roosan värisestä punertavaan, mutta se voi olla myös beige. Agariin voi muodostua halo. Pesäke on keskikokoinen tai iso (Becton, Dickinson and Company 2004; Becton, Dickinson and Company 2005.)



3.9 Klebsiella pneumoniae

Verimalja

Klebsiella pneumoniae bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa tai valkoinen. Pesäke on kooltaan iso ja sen pinta on limainen. *Klebsiella pneumoniae* on nonhemolyyttinen.



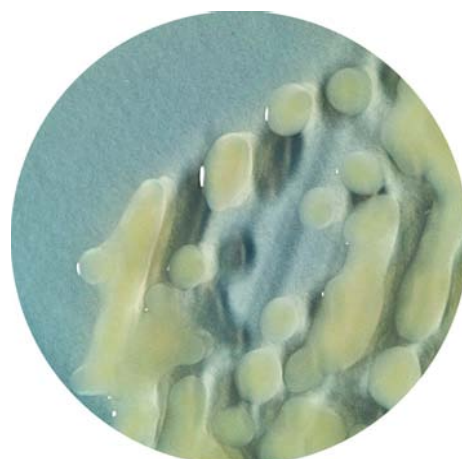
Suklaamalja

Klebsiella pneumoniae bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa tai valkoinen. Pesäke on kooltaan iso ja sen pinta on limainen. Muodoltaan pesäke on pyöreä.



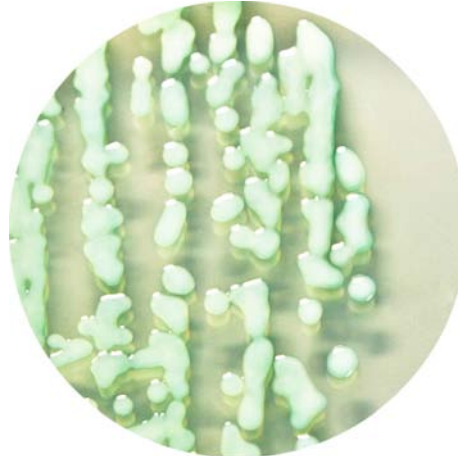
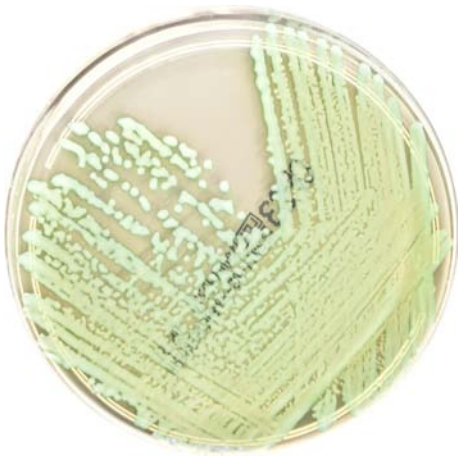
CLED-malja

Klebsiella pneumoniae bakteeripesäke on väriltään vaaleankeltainen. Bakteeri on laktoosiposiitivinen. Pesäke on kooltaan iso ja sen pinta on limainen.



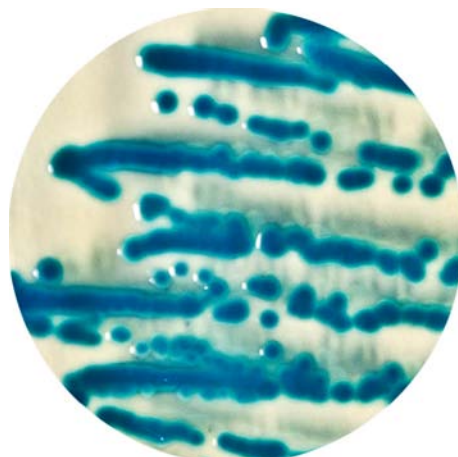
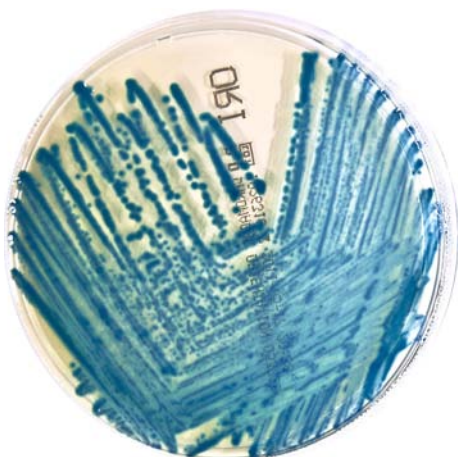
CPS ID3 -malja

Klebsiella pneumoniae bakteeripesäke on väriltään turkoosinvihreä. Pesäke on kooltaan iso ja sen muoto on pyöreä. Pesäke on pinnaltaan limainen. Valmistajan mukaan klebsiella tuottaa suuria pesäkkeitä, jotka ovat väriltään vihreästä tummanvihreään (Biomerieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

Klebsiella pneumoniae bakteeripesäke on väriltään sinivihreä (petrooli). Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäkkeen koko on iso. Pesäkkeen muoto on pyöreä ja sen pinta on limainen. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään metallinsininen ja agarissa voi olla vaaleapunainen halo (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.10 *Lactobacillus* sp.

Verimalja

*Lactobacillus*in bakteeripesäke on väriltään harmaanruskea. Pesäke on kooltaan "tihru" ja sen muoto on pyöreä. *Lactobacillus* on nonhemolyyttinen.



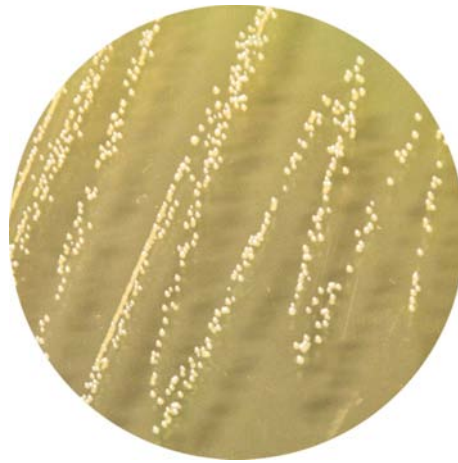
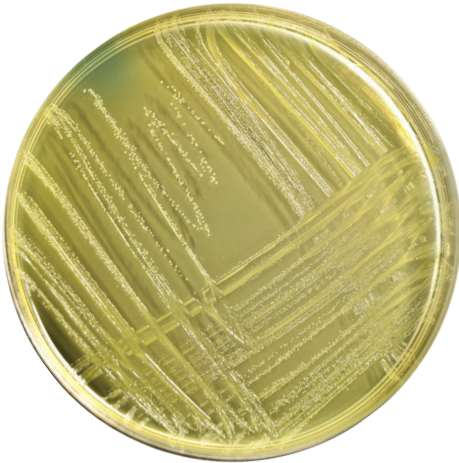
Suklaamalja

*Lactobacillus*in bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on kooltaan "tihru", muodoltaan pyöreä ja pinnaltaan kuiva.



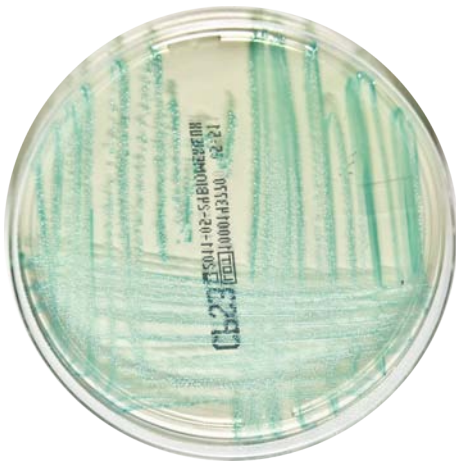
CLED-malja

Lactobacilluksen bakteeripesäke on väriltään keltainen. Pesäke on kooltaan "tihru" ja kuivan näköinen. Lactobacillus on laktoosiposiitivinen.



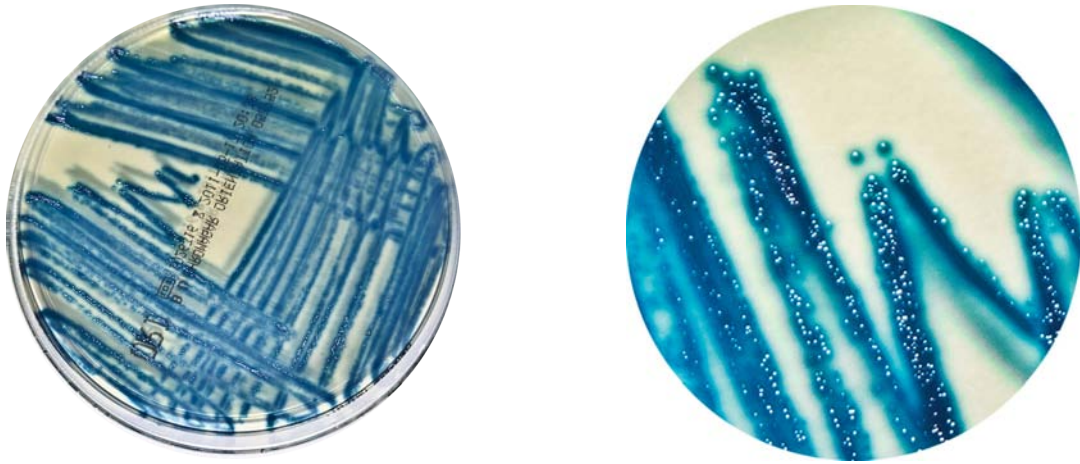
CPS ID3 -malja

Lactobacilluksen bakteeripesäke on väriltään turkoosi. Pesäke on kooltaan pieni ja muodoltaan pyöreä. Pesäke on pinnaltaan kostea. Lactobacilluksen pesäkkeiden tuoksu on makea. Valmistajan mukaan lactobacillus tuottaa "tihrupesäkkeitä", jotka ovat väriltään vihreitä (Pentikäinen & Erola 2009).



CHROMagar orientation -malja

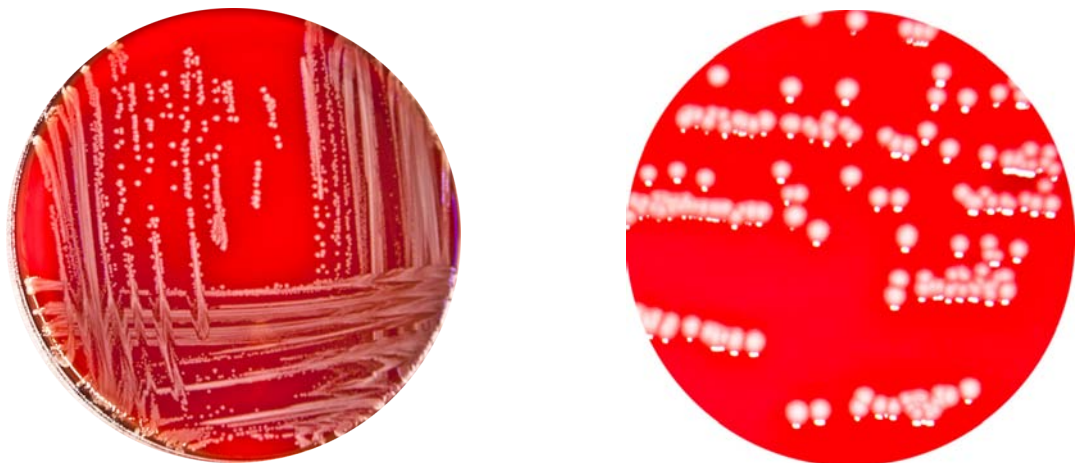
Lactobacillus bakteeripesäke on väriltään sinivihreä (petrooli). Erään tutkimuksen mukaan Lactobacilluksen pesäkkeet ovat sinisiä (D'Souza & Baron 2003). Agar on värjäytynyt pesäkkeen ympäriltä pesäkettä tummemmaksi. Pesäke on kooltaan "tihru", muoto pyöreä ja pinta on kuiva.



3.11 Morganella morganii

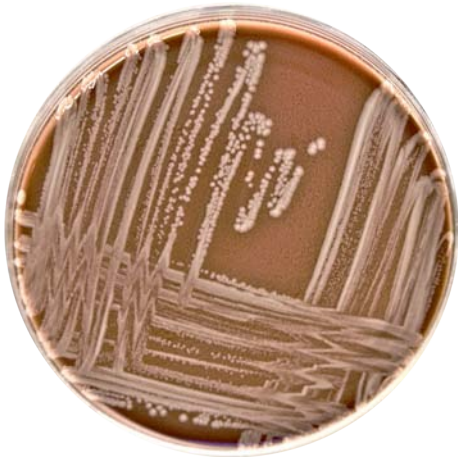
Verimalja

Morganella morganii bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen ja sen muoto on pyöreä. Morganella morganii on nonhemolyyttinen. Morganella morganii pesäkkeiden tuoksu on makea.



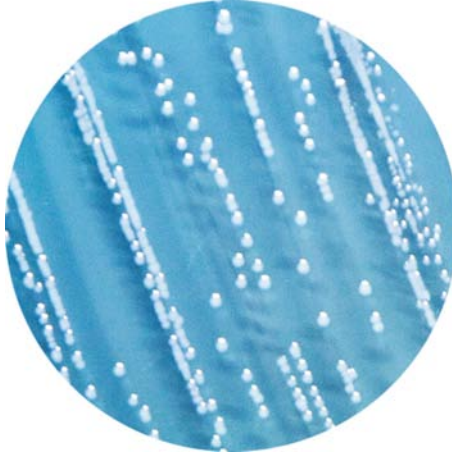
Suklaamalja

Morganella morganiin bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäkkeen pinta on limainen.



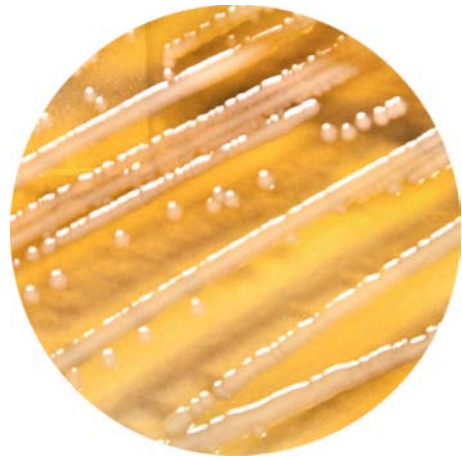
CLED-malja

Morganella morganiin bakteeripesäke on väritön. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta limainen. Morganella morganii on laktoosinegatiivinen.



CPS ID3 -malja

Morganella morganiin bakteeripesäke on väriltään harmaanruskea (beige). Agarissa on pesäkkeen ympärillä ruskea halo. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan limainen. Valmistajan mukaan pesäke on iso ja väriltään ruskea. Pesäkkeen ympärillä on ruskehtava halo. (Biomerieux 2006; Pentikäinen & Erola 2009.)



CHROMagar orientation -malja

Morganella morganiin bakteeripesäke on väriltään vaaleanruskea. Agarissa pesäkkeen ympärillä on keltaisenruskea halo. Pesäke on kooltaan iso. Pesäkkeen muoto on litteä ja se on reunoilta epäsäännöllinen. Pesäkkeen pinta on limainen. Valmistajan mukaan pesäke voi olla väritön tai beige ja agarissa on ruskea halo (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.12 *Proteus mirabilis*

Verimalja

*Proteus mirabilis*in bakteeripesäke on väritään vaaleanharmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan limainen. *Proteus mirabilis* on nonhemolyyttinen. Tuoksu muistuttaa kalan hajua.



Suklaamalja

Proteus mirabilis yleensä "hunnuttaa". *Proteus mirabilis*in bakteeripesäke on väritään vaaleanharmaa. Pesäke on kooltaan keskikokoinen ja pinnaltaan limainen. Pesäkkeen reunat ovat epätasaiset. Haju on tunkkainen ja väkevä.



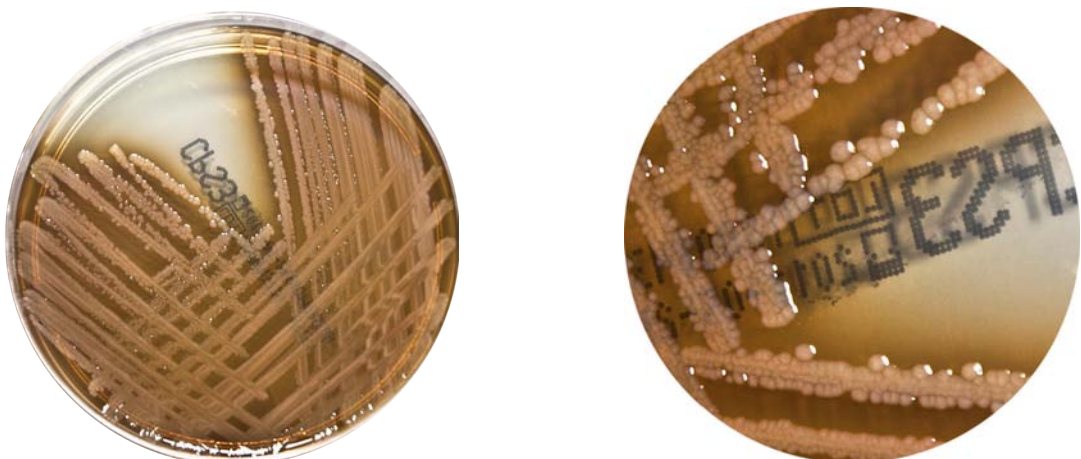
CLED-malja

*Proteus mirabilis*in bakteeripesäke on väritön. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta limainen. *Proteus mirabilis* on laktoosinegatiivinen.



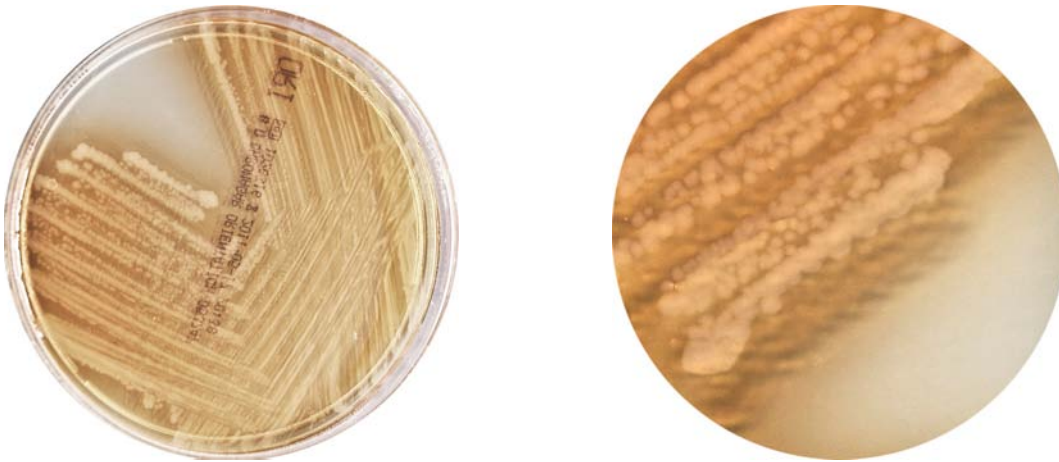
CPS ID3 -malja

*Proteus mirabilis*in bakteeripesäke on väriltään vaaleanruskea. Agarissa on pesäkkeen ympärillä ruskea halo. Pesäke on kooltaan iso. Muoto on pyöreä ja litteä. Pesäke on pinnaltaan limainen. *Proteus mirabilis*in pesäkkeet tuoksuvat tunkkaiselle ja tuoksu muistuttaa lannan hajua. Valmistajan mukaan proteus -lajit tuottaa suuria pesäkkeitä, jotka ovat väriltään vaaleanruskeasta tummanruskeaan ja pesäkkeiden ympärillä agar värjätty ruskeaksi (Biomérieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

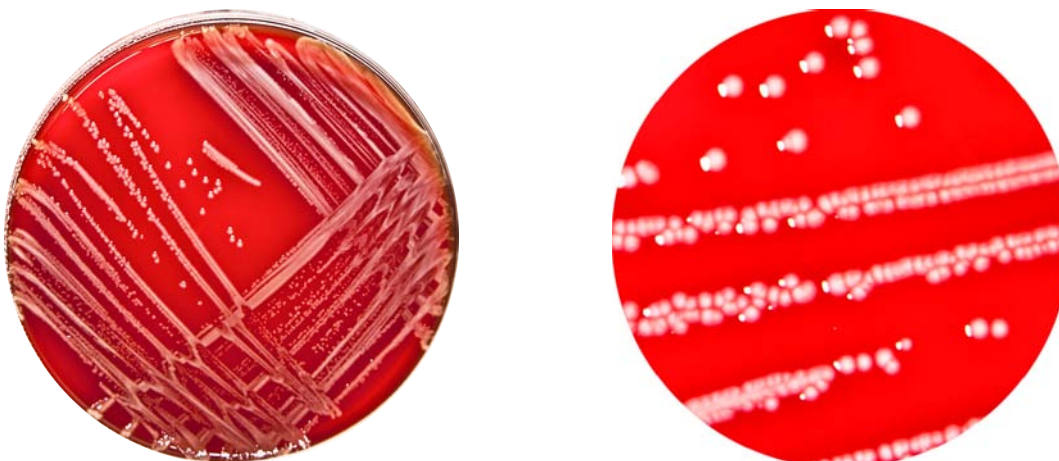
Proteus mirabilis pesäke on vaaleanruskea. Agarissa on pesäkkeen ympärillä keltaisenruskea halo. Pesäke on kooltaan iso. Pesäkkeen muoto on pyöreä ja matala. Pesäkkeen pinta on limainen. Valmistajan mukaan pesäke on väriltään ruskea ja sen ympärillä agarissa on rusehtava halo (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.13 *Providencia stuartii*

Verimalja

Providencia stuartii bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Muoto on pyöreä ja pinnaltaan kostea. *Providencia stuartii* on nonhemolyyttinen. *Providencia stuartii* pesäkkeiden tuoksu on makea.



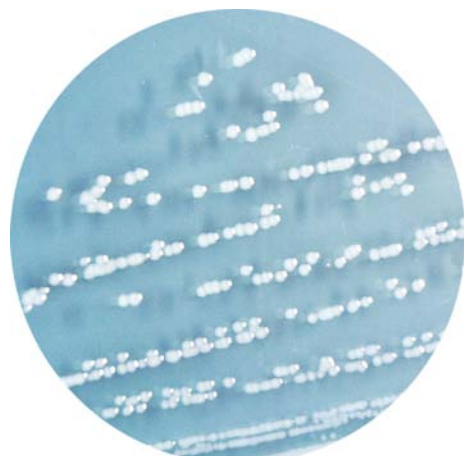
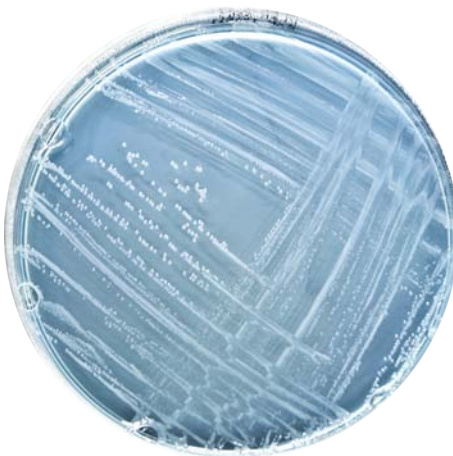
Suklaamalja

Providencia stuartii bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäke on muodoltaan pyöreä. *Providencia stuartii* pesäkkeiden tuoksu on makea.



CLED-malja

Providencia stuartii bakteeripesäke on vaalea. Pesäke on kooltaan pieni. Muodoltaan se on pyöreä ja pinnaltaan limainen. *Providencia stuartii* on laktoosinegatiivinen. *Providencia stuartii* pesäkkeiden tuoksu on makea.



CPS ID3 -malja

Providencia stuartiin bakteeripesäke on väriltään vaaleanruskea ja reunoilta väritön. Agar on pesäkkeen ympäriltä ruskea. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Muodoltaan pesäke on pyöreä. Pesäke on pinnaltaan kostea. Valmistajan mukaan pesäke on iso ja väriltään ruskehtava sekä sen ympärillä on ruskehtava halo (Biomerieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

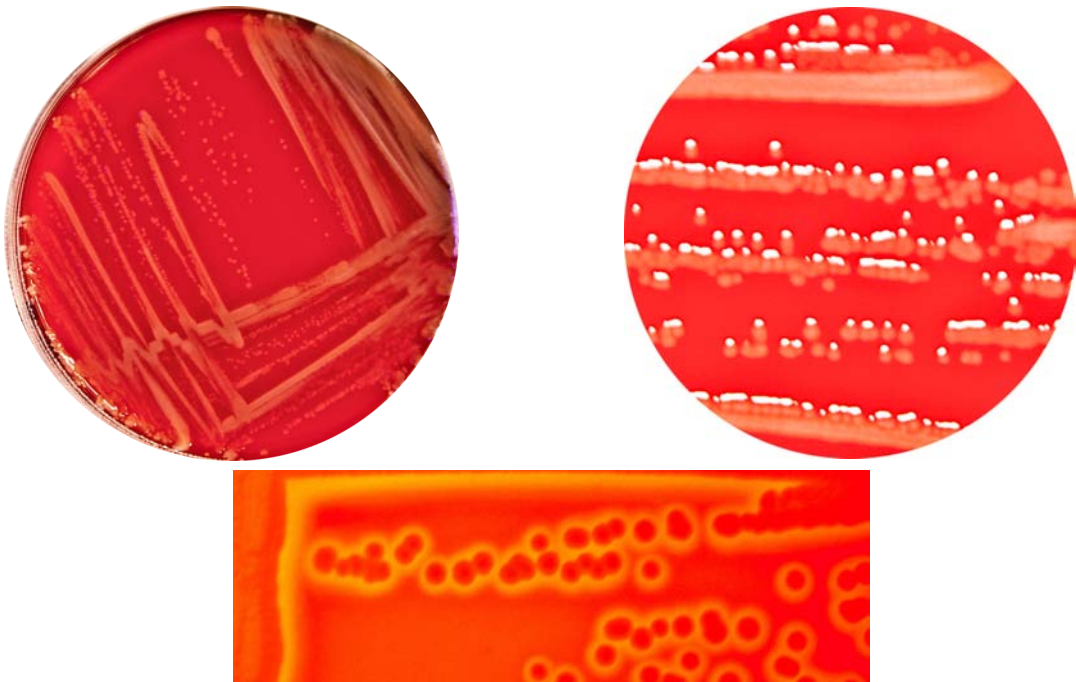
Providencia stuartiin bakteeripesäke on väriltään vaaleanruskea tai väritön. Agar on värjääntynyt keltaisenruskeaksi. Pesäke on kooltaan pieni. Pesäkkeen muoto on pyöreä ja pinta on kostea. Valmistajan mukaan pesäke on beige ja agarissa on ruskea halo (Becton, Dickinson and Company 2004).



3.14 *Pseudomonas aeruginosa*

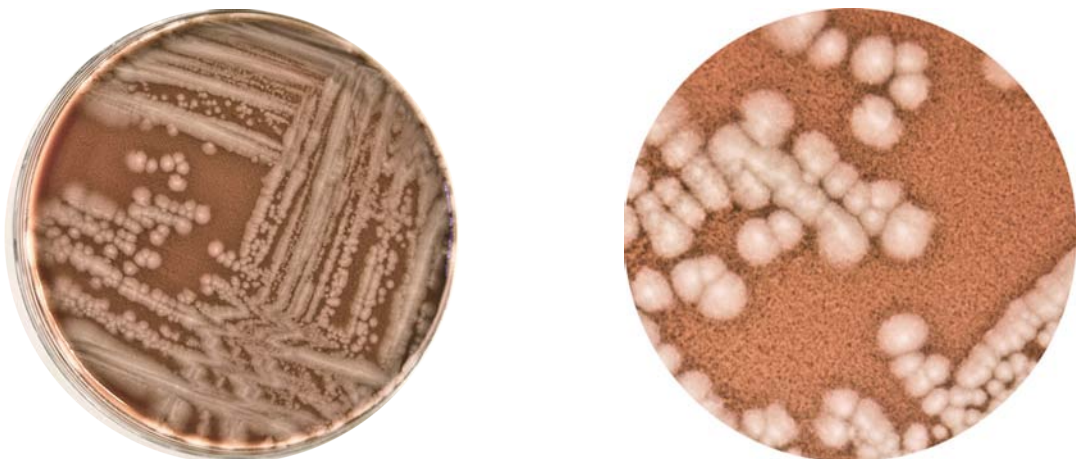
Verimalja

Pseudomonas aeruginosa bakteeripesäke on väriltään vaalea hopeanharmaa, jossa näkyy metallinhohtoa. Pesäke on kooltaan keskikokoinen, muoto on pyöreä ja pinta on kostea. *Pseudomonas aeruginosa* muodostaa verimaljalla β -hemolyysiä. Pesäkkeiden tuoksu muistuttaa tuomenkukan tuoksua.



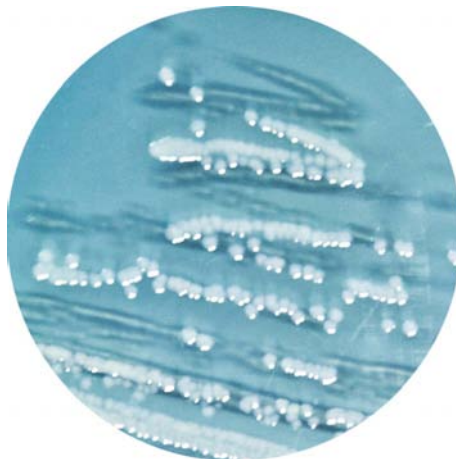
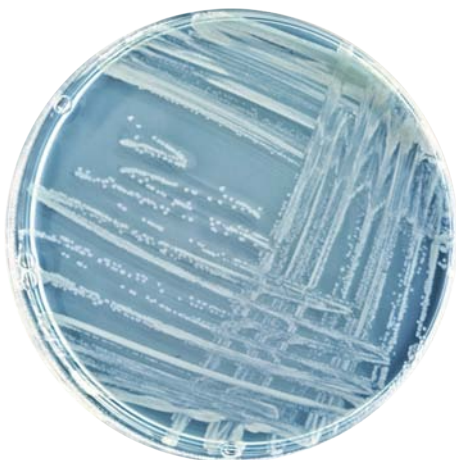
Suklaamalja

Pseudomonas aeruginosa bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa ja se voi joskus punertaa. Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan iso. Pesäkkeen pinta on limainen. Pesäke on litteä ja sen reunat ovat epäsäännölliset.



CLED-malja

Pseudomonas aeruginosa bakteeripesäke on valkoinen. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta limainen. *Pseudomonas aeruginosa* on laktoosinegatiivinen. Pesäkkeet tuoksuvat makealle ja tuoksu muistuttaa tuomenkukan tuoksua.



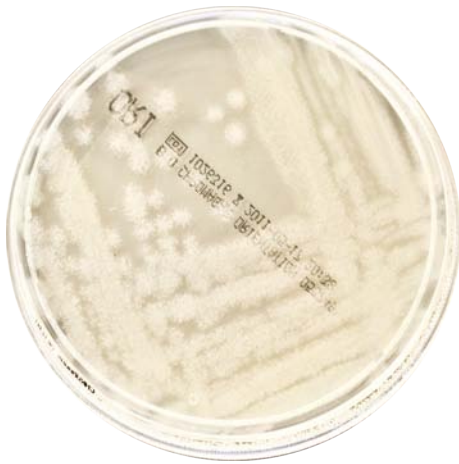
CPS ID3 -malja

Pseudomonas aeruginosa bakteeripesäke on väriltään vaaleanruskea, jossa on metallinkiilto. Pesäke on kooltaan iso. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan epätasainen. Pesäkkeen reuna on epäsäännöllinen. Valmistajan mukaan pesäke on vaaleanruskeasta ruskeaan sekä pesäkkeiden ympärillä oleva agar ei värjäydy (Biomérieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

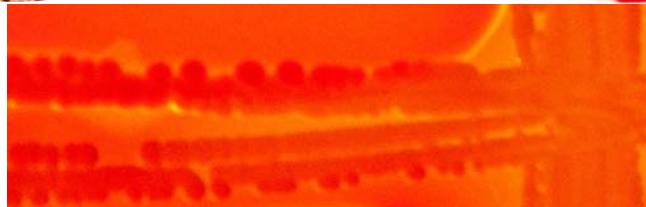
Pseudomonas aeruginosa bakteeripesäke on väriltään vaalea ja se voi joskus punertaa. Pesäke on kooltaan iso. Pesäkkeen muoto on litteä ja se on reunoilta epäsäännöllinen. Pesäkkeen pinta on kostea ja epätasainen. Valmistajan mukaan pesäke voi olla kermanvärinen ja läpikuultava, keltaisesta vihreään tai beige, jolloin agarissa voi olla vihreä halo. Pesäkkeen reunat ovat sahalaitaiset ja epätarkat (Becton, Dickinson and Company 2004.)



3.15 *Serratia marcescens*

Verimalja

Serratia marcescens bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan sileä ja kostea. *Serratia marcescens* muodostaa verimaljalla β -hemolyysiä. Haju on pistävä.



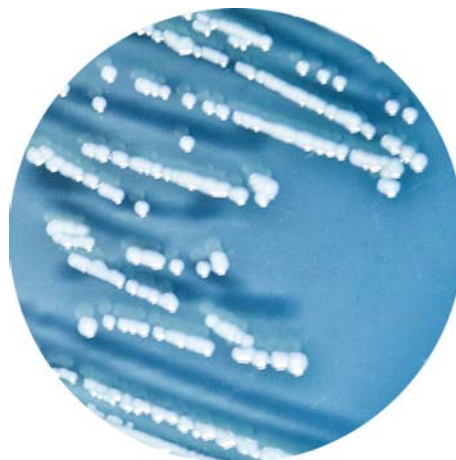
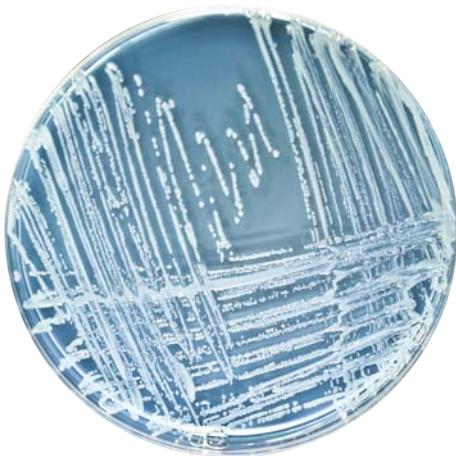
Suklaamalja

Serratia marcescens bakteeripesäke on väriltään harmaa. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä. Pesäkkeen pinta on tasainen ja kostea.



CLED-malja

Serratia marcescens bakteeripesäke on väriltään vaaleanharmaa ja läpikuulava. Pesäke on kooltaan pieni. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnalta kostea. *Serratia marcescens* on laktoosinegatiivinen. Tuoksu muistuttaa pajunkuoren tuoksua.



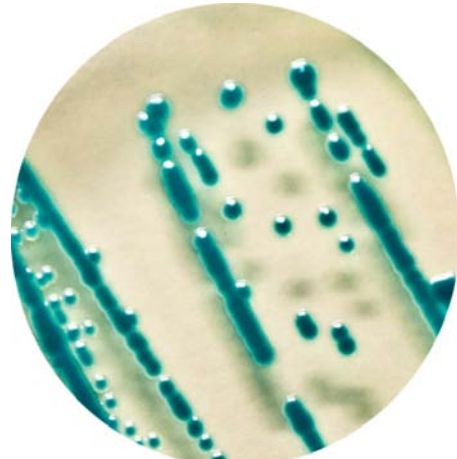
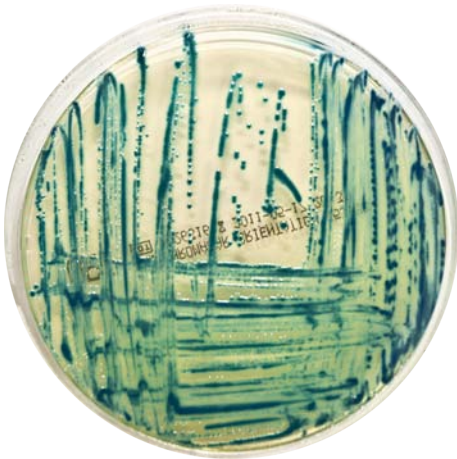
CPS ID3 -malja

Serratia marcescens bakteeripesäke on väriltään vaaleanvihreä ja sen reunat ovat vaaleammat kuin keskeltä. Pesäke on kooltaan iso. Muoto on pyöreä ja pesäke on pinnaltaan limainen. Valmistajan mukaan pesäke on kooltaan iso ja voi olla väriltään vihreästä vihreärusehtavaan (Biomérieux 2006).



CHROMagar orientation -malja

Serratia marcescens bakteeripesäke on väriltään sinivihreä (petrooli). Pesäke on tarkasteltaessa keskeltä tummempi ja reunoilta vaaleampi. Pesäke on kooltaan keskikokoinen. Pesäkkeen muoto on pyöreä. Pesäkkeen pinta on limainen. Valmistajan mukaan pesäke on sinivihreä (Becton, Dickinson and Company 2004).



LÄHTEET

Becton, Dickinson and Company. 2004. BBL™ CHROMagar™ Family of Products. Delivering Efficiency in Living Color. USA. [Viitattu 25.5.2011].

Becton, Dickinson and Company. 2005. BBL™ CHROMagar™ Orientation. [Viitattu 27.5.2011].

Becton, Dickinson and Company. 2006a. BBL Levine EMB Agar. Quality control procedures. [Viitattu 26.8.2011].

Becton, Dickinson and Company. 2006b. CLED agar. [Viitattu 9.2.2011].

Becton, Dickinson and Company. 2007. BBL Prepared plated media. USA. [Viitattu 25.5.2011].

Biomerieux. 2006. ChromID CPS:n tulkintaohjeet. Eristämis- ja tunnistusmalja virtsanäytteille. [Viitattu 25.5.2011].

Biomerieux. 2009. ChromID CPS Agar (CPS3). Chromogenic medium for the enumeration of organisms in urine samples and the direct identification of *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *KESC* and *Proteaeae*. [Viitattu 25.5.2011].

Carlson, P. & Koskela, M. 2003. Bakteriologinen diagnostiikka. Teoksessa Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A. & Valtonen, V. (toim.). *Mikrobiologia ja infektiosairaudet*. Kirja II. Helsinki: DUODECIM, 24.

Carlson, P. & Koskela, M. 2011. Bakteriologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.). *Infektiosairaudet - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Kirja III. Helsinki: DUODECIM, 37, 40, 41, 42.

Cullimore, D. 2000. *Practical atlas for bacterial identification*. Florida: CRC Press LLC.

D'Souza, H. & Baron, E. 2003. Practical bench comparison of BBL CHROMagar Orientation and standard 2-plate media for urine cultures. Washington DC: 103rd general meeting of the American society for microbiology. [Viitattu 26.8.2011]. Saatavilla: <http://www.bd.com/ds/technicalCenter/whitepapers/LR766.pdf>.

Esko, E. (toim.). 1995. *Aerobibakteerien tunnistaminen*. Moodin erillisjulkaisu 4. Helsinki: LabQuality Oy, 24, 31, 59.

Forbes, B., Sahm, D. & Wiessfeld, A. 2007. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. 12. painos. St. Louis, Missouri: Mosby Inc.

Haahtela, K. 1997. *Mikrobiologian perusteet*. Teoksessa Eklund, J., Haahtela, K., Huovinen, P., Kiviranta, J., Kuronen, T., Laakso, T., Lapinkoski, S., Nummela, L., Nurmi, H., Ojajärvi, J., Rauramaa, V., Sairio, E., Tornainen, K. & Vuorela, P.

(toim.). Farmaseuttinen mikrobiologia. Suomen Farmaseuttinen Yhdistys ry. Helsinki: Hakapaino Oy, 6.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2002. Laboratoriodiagnostiikka. Teoksessa Hellstén, S. (toim.). Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. Suomen Kuntaliitto. Helsinki: Gummerus, 93.

Heikkilä, R. & Meurman, O. 2005. Laboratoriodiagnostiikka. Teoksessa Hellstén, S. (toim.). Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. 2. painos. Suomen Kuntaliitto. Helsinki: Gummerus, 95.

Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. & Winn, W. 1997. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5. painos. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilins.

Kouri, T. Anttinen, J. Icen, A. Ikäheimo, R. Irjala, K. Kontiainen, S. Koskimes, O. Lipponen, P. Penttilä, I. Siitonen, A. & Suikola, A. (toim.). 1999. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. Moodin erillisjulkaisu 7. Helsinki: Labquality Oy, 46 – 47.

Kärpänoja, P. 2007a. Kromogeeniset maljat; periaate, tausta. Moodi. Helsinki: Labquality Oy, 39 – 40.

Kärpänoja, P. 2007b. Kromogeeniset maljat, periaate, tausta. Labquality, laadun-tarkkailupäivät. [Viitattu 9.2.2011]. Saatavilla: http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=B%29%202007%20Labquality-paivat%2fKarpanoja_Kromogeeniset_maljat.pdf&type=file&vuosi=2011.

Meurman, O. 2007. Kokemuksia kromogeenisten maljojen käytöstä virtsaviljelyssä. Moodi. Helsinki: Labquality Oy, 41 – 42.

Peltola, J. 2010. Kromogeeniset virtsa viljelymaljat testauksessa keskus- ja yliopistosairaalassa. [Viitattu 13.12.2011]. Saatavilla: <http://www.labquality.fi/@Bin/2028909/Peltola+J++KROMOGEENISET+VIRTSAVILJELYMALJAT+TESTAUKSESSA.pdf>.

Pentikäinen, J. & Erola, O. 2009. Virtsaviljely. Työohje 6 (11). Kasvun tunnistus CPS ID3-maljalta. Mikrobiologia. Puijo. Kuopio: ISLAB. [Viitattu 25.7.2011].

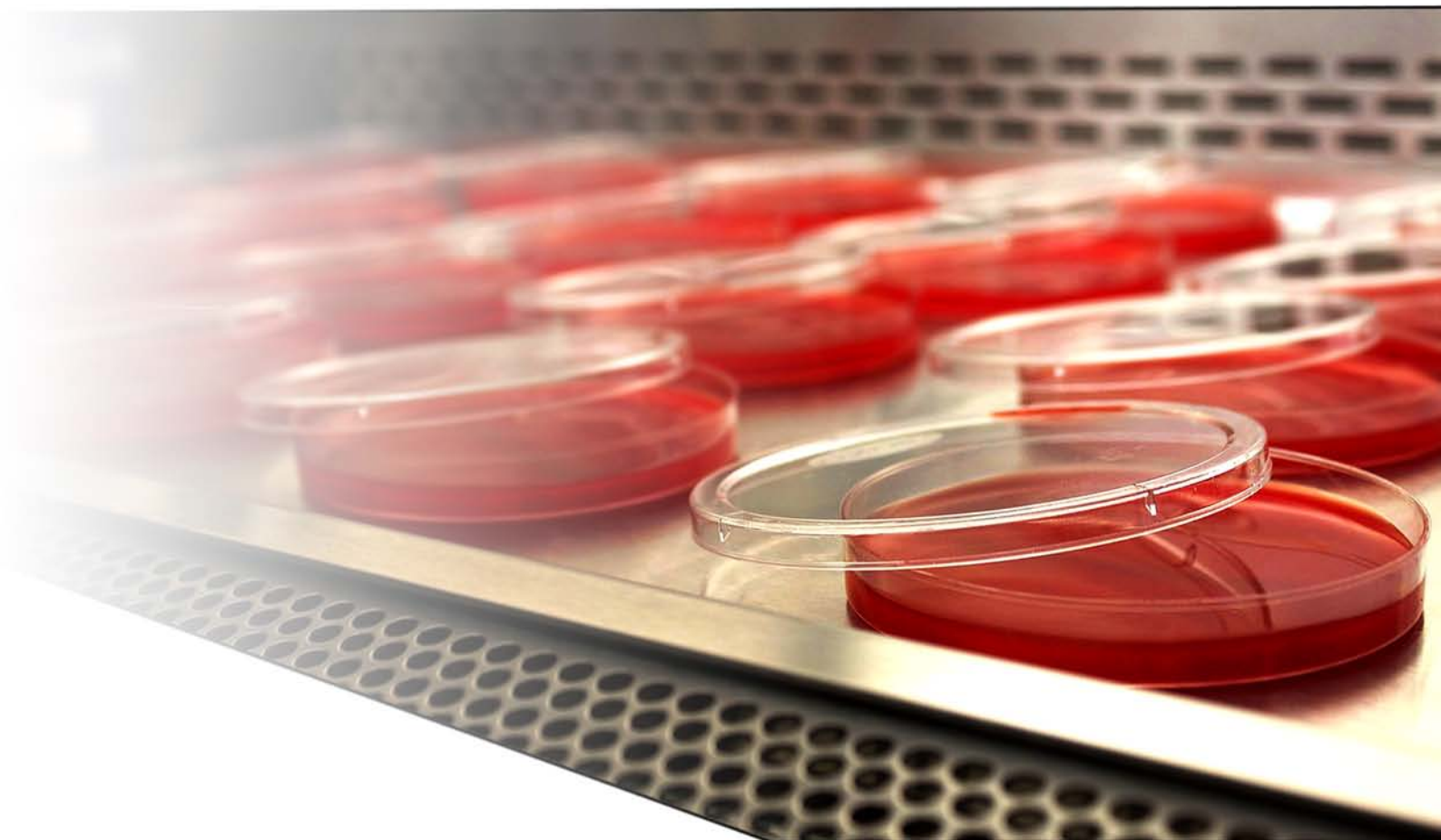
Ritter, V., Vaziri, N., Warns, P. & Dick, N. 2004. The Ability of BBL CHROMagar Orientationto Recover Corynebacterium urealyticum. 104th general meeting of the American society for microbiology. New Orleans, LA: BD Diagnostics. [Viitattu 27.8.2011]. Saatavilla: <http://www.bd.com/ds/technicalCenter/whitepapers/LR804.pdf>.

Vuento, R. & Lappalainen, M. 2010. Mikrobiologinen diagnostiikka. Therapia Fennica.fi. Kandidaattikustannus Oy. [Viitattu 9.10.2010]. Saatavilla: http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=Mikrobiologinen_diagnostiikka.

SAVONIA AMMATTIKORKEAKOULU KUOPIO
TAMPEREEN AMMATTIKORKEAKOULU TAMPERE

BAKTEERIPESÄKKEIDEN

makroskooppinen tarkastelu



www.savonia.fi | www.tamk.fi