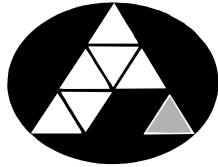


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Niina Bamberg

OHJEKANSIO KLINIKKAELÄINTENHOITAJAOPISKELIJOILLE
- Normaalit solut koiran laskimoveren sivelyvalmisteessa

Opinnäytetyö
Helmikuu 2011



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Helmikuu 2011
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6600

Tekijä(t)
Niina Bamberg

Nimeke

Ohjekansio klinikkaeläintenhoitajaopiskelijoille – Normaalit solut koiran laskimoveren sivelyvalmisteessa

Toimeksiantaja: Ulla Huttunen

Tiivistelmä

Ihmisten tiedot eläinten perustarpeista sekä halu niiden elämänlaadun parantamisesta ovat muuttuneet parempaan suuntaan ihmisten oman elintason noustessa. Suomessa on noin 600 000 koira, joten eläinhoidon ammattihenkilöstöä tarvitaan. Klinikkaeläintenhoitajat työskentelevät eläinlääkäreiden rinnalla ja heidän koulutuksensa pitää sisällään myös laboratoriotöitä.

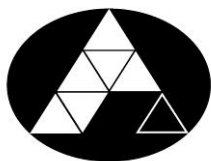
Potilaan tutkimisen apuna käytetään laboratoriotutkimuksia, joiden avulla hankitaan tietoa elimistön tapahtumista. Arvioitaessa veren soluja määrällisesti ja laadullisesti saadaan tietoa muutoksista verisolujen muodostavissa elimissä. Laadullinen verisolujen tutkiminen tapahtuu perinteisesti mikroskoopin avulla. Mikroskopiointia varten tarvitaan sivelyvalmiste, joka tehdään verinäytteestä objektilasille ja värjätään. Opinnäytetyön tuotoksena syntyneessä ohjekansiossa esitellään kaikki verinäytteenottoon ja sivelyvalmisteen tekemiseen ja tutkimiseen liittyvät työvaiheet.

Tämä toiminnallinen opinnäytetyö tehtiin toimeksiantona Ylä-Savon ammattiopiston aikuisopettajalle ja eläinlääkärille, ja sen on tarkoitus toimia klinikkaeläintenhoitajaopiskelijoiden oppimisen tukena laboratoriossa. Opinnäytetyön tuotoksena syntyi ohjekansio. Ohjekansio koottiin opinnäytetyön teoriaosaan kootun tekstin pohjalta sekä toimeksiantajan kanssa sovitun aiheen rajauksen mukaan.

Kieli
suomi

Sivuja 35
Liitteet 5
Liitesivumäärä 31

Asiasanat
koira, verisolut, ohjekansio, klinikkaeläintenhoitaja



NORTH KARELIA
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

THESIS
February 2011
Degree programme in Biomedical Sciences
Tikkariinne 9
FIN 80200 JOENSUU
FINLAND
Tel. 358-13-260 6600

Author
Niina Bamberg

Title
Instruction Folder for Students of Clinical Veterinary Nursing – Normal Canine Blood Cells in Blood Smear

Commissioned by Ulla Huttunen

Abstract

People's knowledge of animals' basic needs and the desire to improve their quality of life has changed for the better as people's living standards rise. In Finland there are about 600 000 dogs so animal care professionals are needed. Clinical veterinary nurses work alongside veterinarians and their training also includes laboratory work.

Laboratory analyses are used to support the examination of the patient and they provide information about the events in the body. Assessment of blood cells, both quantitatively and qualitatively, will provide information on changes in organs which produce blood cells. A qualitative study of blood cells is traditionally done with a microscope. A blood smear which is done from blood onto a glass slide and stained is required for examining the blood cells. The output of the thesis was an instruction folder which introduces steps related to blood sampling and blood smear preparation and examination.

This practice-based study was commissioned by Ylä-Savo Vocational College's adult educator and veterinarian and its purpose is to function as a support for learning in the laboratory for the students of clinical veterinary nursing. The output of this thesis was an instruction folder. The instruction folder was compiled based on the theoretical part of the thesis and the topic framing agreed with the commissioner.

Language
Finnish

Pages 35
Appendices 5
Pages of Appendices 31

Keywords

dog, blood cells, instruction folder, clinical veterinary nurse

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ ABSTRACT

1	JOHDANTO	5
2	KLINIKKAELÄINTENHOITAJAN AMMATTI SUOMESSA	5
3	LASKIMOVERINÄYTE KOIRALTA.....	7
	3.1 Laboratoriotutkimusprosessi	8
	3.2 Verinäytteen ottaminen	8
4	SIVELYVALMISTEEN MERKITYS, TEKEMINEN JA MIKROSKOPOINTI	10
	4.1 Laadukkaan sivelyvalmisteen tekeminen	11
	4.2 Sivelyvalmisteen värjääminen	13
	4.3 Sivelyvalmisteen mikroskopiointi.....	13
5	VEREN NORMAALIT SOLUT KOIRAN LASKIMOVEREN SIVELYVALMISTEESSA	15
	5.1 Punasolut	16
	5.2 Verihiutaleet	17
	5.3 Valkosolut.....	18
	5.3.1 Neutrofiilit.....	18
	5.3.2 Eosinofiilit	19
	5.3.3 Monosyytit	20
	5.3.4 Basofiilit	21
	5.3.5 Lymfosyytit.....	21
6	OHJEKANSIO OPPIMATERIAALINA	22
7	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS.....	23
8	OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄLLISET VALINNAT	23
9	OPINNÄYTETYÖPROSESSI	25
	9.1 Alkukartoitus.....	25
	9.2 Toimintaympäristö	26
	9.3 Ohjekansion kokoaminen	26
	9.4 Ohjekansion rakenne	28
10	POHDINTA	28
	10.1 Luotettavuus.....	29
	10.2 Eettisyys.....	31
	10.3 Jatkotutkimusaiheet	31
	LÄHTEET	32

LIITTEET

Liite 1	Toimeksiantosopimus
Liite 2	Tutkimuslupa
Liite 3	Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse
Liite 4	Koiran puna- ja valkosolujen viitearvot
Liite 5	Ohjekansio

1 JOHDANTO

Euroopassa ihmisten käsitykset eläinten arvosta ja oikeasta käsittelystä ovat muuttuneet paremmiksi. Tieto eläinten hyvinvoinnin edellytyksistä lisääntyy tutkimusten myötä ja myös eläinten perustarpeet tiedetään siten paremmin. Vaatimukset eläinten elämänlaadun parantamisesta kumpuavat elintason noususta ja ihmisten oman hyvinvoinnin parantumisesta. (Elintarviketurvallisuusvirasto 2010a.) Suomessa arvioidaan olevan noin 600 000 lemmikkinä elävää koira (Suomen Kennelliitto 2009), mistä voi päätellä sen, että eläintenhoitoalan palveluille ja ammattilaisille on kysyntää.

Tässä opinnäytetyössä oli tarkoituksena tehdä Ylä-Savon ammattiopiston eläintenhoitajaopiskelijoiden käyttöön tarkoitettu ohjekansio, jossa on esitelty verinäytteen otto koiralta, veren sivelyvalmisteen tekeminen sekä veren normaalit solut kuvina. Ylä-Savon ammattiopiston eläintenhoitajaopiskelijat opiskelevat klinikkaeläintenhoitajan ammatissa tarvittavia asioita, jolloin tässä työssä keskitytään nimenomaan klinikkaeläintenhoitajan osaamisalaan. Työn toimeksiantajana toimi Ylä-Savon ammattiopiston eläintenhoitajalinjasta vastaava eläinlääkäri ja aikuisopettaja.

Laboratorioalan ammattilaisena bioanalyytikolla on edellytyksiä työskennellä myös laboratoriossa, jossa tehdään tutkimuksia ja analyyskejä pieneläinten näytteistä. Tällöin bioanalyytikolla on myös edellytyksiä ohjeistaa ja neuvoa klinikkaeläintenhoitajia tavallisissa laboratoriotöissä.

2 KLINIKKAELÄINTENHOITAJAN AMMATTI SUOMESSA

Klinikkaeläintenhoitajan toimenkuvaan kuuluu potilaiden vastaanottamista, yleisestä siisteydestä ja järjestyksestä huolehtimista, tilausten tekemistä, eläinlääkärin suorittamien erilaisten polikliinisten tutkimusten avustamista, yleisimpien

laboratoriotehtävien suorittamista, leikkauksissa avustamista ja leikkausten jälkihoitoa sekä joidenkin toimenpiteiden suorittamista eläinlääkäriin valvonnassa. Näitä toimenpiteitä voivat olla haavahoidot, ompeleiden poistot, kanylointi, röntgenkuvien ottaminen, lääkkeiden antaminen ja verinäytteiden ottaminen. (Lundström 2009; Mustonen 2006, 309.)

Klinikkaeläintenhoitajien ensisijaisia työpaikkoja ovat eläinlääkäriasemat, eläinlinikat, eläinlääkäreiden vastaanotot ja eläinsairaalat. Klinikkaeläintenhoitajan työtä voi kuvata erityisosaamista vaativaksi hoito- ja asiakaspalvelutyöksi. (Lundström 2009.) Klinikkaeläintenhoitajan ammatti sekä koulutus ovat viime vuosina kehittyneet paljon, ja ammatin arvostus on kasvamassa (Mustonen 2006, 309).

Yleisesti pieneläinlinikan potilasmateriaalina ovat koirat, kissat, kanit, jyräjät sekä muut seura-, harrastus- ja lemmikkieläimet. Nimitys seura-, harrastus- ja lemmikkieläin tarkoittaa pienikokoista eläintä, jota pidetään harrastuksen, seuran, kasvattamisen tai myymisen vuoksi (Elintarviketurvallisuusvirasto 2010b).

Klinikkaeläintenhoitajan ammattitutkinnossa vaaditaan ammattitaitoa myös laboratoriotöissä. Opetushallituksen laatimassa ammatin kuvauksessa sanotaan seuraavaa:

Tutkinnon suorittaja osaa ottaa tavallisimpia laboratoriotutkimusnäytteitä ja tehdä niistä ohjeiden mukaan laboratoriomääryksiä, esimerkiksi testiliuskojen ja mikroskoopin avulla. Osaa selvittää yleisimmät näytteenottolanteessa ja laboratoriotyöskentelystä johtuvat virhelähteet, osaa välttää niitä ja tuoda tapahtuneet virheet esiin. Osaa valmistaa laboratorionäytteet lähetystä ja kuljetusta varten. (Opetushallitus 2009,16.)

Eläintenhoitajan ammattiin valmistutaan suorittamalla näyttötutkinto, joita järjestävät opetushallituksen asettamat tutkintotoimikunnat. Tutkintotoimikuntiin kuuluu työnantajia, työntekijöitä, opettajia ja itsenäisiä ammatinharjoittajia. Näyttötutkinnon suorittaminen tarkoittaa sitä, että opiskelija osoittaa tutkintotilaisuuksissa hyväksytysti tutkinnon perusteissa vaaditut osaamisalueet. Näyttötutkintoihin pystyy osallistumaan ilman valmistavaa koulutusta, vaikka suoraan työelämästä. Kuitenkin eläintenhoitajan näyttötutkinnot suoritetaan pääasiallisesti

valmistavan koulutuksen yhteydessä, jolloin opiskelijalle tulee koulutuksen osana järjestää mahdollisuus tutkintotilaisuuksiin osallistumiselle ja näyttötutkinnon suorittamiselle. (Opetushallitus 2009, 9 - 11.)

Eläintenhoitajan ammattitutkinnossa on seitsemän eri osaamisalaa, joissa kaikissa on osa-alueet, jotka täytyy suorittaa hyväksytysti. Osaamisalat ovat klinikkaeläintenhoitaja, koe-eläintenhoitaja, eläintarhaeläintenhoitaja, eläinhoitolanpitäjä, lemmikkieläinkauppias/lemmikkieläinkaupan myyjä, koirahieroja ja eläintenkouluttaja. (Opetushallitus 2009, 11 – 12.) Tässä työssä kyseessä oleva osaamisala on klinikkaeläintenhoitaja. Klinikkaeläintenhoitajan tutkinto muodostuu eläinten tuntemuksesta ja hoidosta, toimenpide- ja laboratoriotöistä sekä asiakaspalvelusta ja viestinnästä (Ylä-Savon Ammattiopisto 2010).

Ylä-Savon ammattiopisto järjestää eläintenhoitajan ammattitutkintoa aikuiskoulutuksena lisäsalissa. Osaamisalana on klinikkaeläintenhoitaja. Koulutuksessa on tavoitteena näyttötutkintokelpoisuus, jolloin koulutuksessa opiskellaan näyttötutkinnossa arvioitavia osaamisalueita, kuten laboratoriotöitä. Koulutus sisältää myös näyttötutkinnot. (Opetushallitus 2009, 9; Ylä-Savon ammattiopisto 2010.)

3 LASKIMOVERINÄYTE KOIRALTA

Erilaisia laboratoriomäärityksiä käytetään kliinisen tutkimuksen apukeinoina ja esimerkiksi verinäytteestä voidaan saada paljon luotettavaa tietoa elimistön useista fysikaalisista sekä biokemiallisista tapahtumista (Sirkkola 2009, 298 - 299). Verinäytteiden ottaminen ja tutkiminen tukevat potilaan hoitoprosessia. Suurin osa verinäytteistä on laskimoverinäytteitä. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 37.) Laskimot ovat ohutseinäisiä suonia, joita pitkin veri virtaa kohti sydäntä (Pearson 1999, 285). On olemassa syviä ja pinnallisia laskimoita, ja pinnalliset laskimot ovat turvallisia näytteenottokohtia, koska ne ovat lähellä ihon pintaa eikä niiden vieressä ole valtimoita (Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 63 – 64).

3.1 Laboratoriotutkimusprosessi

Laboratoriotutkimuksen tarpeellisuus syntyy potilaan tilan arvioimisesta. Laboratoriotutkimusprosessiin kuuluvat preanalyttinen, analyttinen ja postanalyttinen vaihe. Preanalyttinen vaihe tarkoittaa ensimmäistä vaihetta, jossa määritellään tarve laboratoriotutkimukselle, ohjataan potilas näytteenottoon ja tehdään tarvittavat valmistelut tutkimusympäristössä sekä laitteiden käytössä. Preanalyttiseen vaiheeseen kuuluvat myös itse näytteenotto, näytteen käsittely, näytteen säilyttäminen ja sen kuljettaminen. (Matikainen ym. 2010, 10 - 12.)

Analyttiseen eli analyysivaiheeseen kuuluu laboratoriotutkimusten suositusten sekä laatuvaatimusten mukainen analyysin suorittaminen (Matikainen ym. 2010, 12). Tutkimuksia, joissa tutkimustulos saadaan näytteitä analysoimalla, kutsutaan näytetutkimuksiksi. Näytetutkimuksia tehdessä arvioidaan potilaan tilaa tutkimuksen aikana sekä sovelletaan menetelmällistä ja fysiologista tietoa. Analysoiduista näytteistä saatujen tulosten luotettavuutta arvioidaan kontrollinäytteiden avulla. Postanalyttinen vaihe tarkoittaa laboratoriotutkimusten luotettavuuden arviointia, jatkotoimenpiteiden tarpeellisuudesta päättämistä sekä tulosten tiedottamista. (Matikainen ym. 2010, 12.)

3.2 Verinäytteen ottaminen

Koiralta otetaan verinäytteet yleensä paastonäytteinä eli koiran tulee paastota mielellään 12 tuntia, mutta vähintään 4 - 6 tuntia ennen näytteenottoa, jotta rasva ehtii poistua verenkierrosta (Ruotsalo 2009; Eläinlaboratorio Vetlab 2011, 6). Ennen verinäytteenottoa on tärkeää, että koira on juonut riittävästi vettä, koska lieväkin kuivuminen voi aiheuttaa muutoksia veriarvoissa. Stressin minimoiminen ja koiran pitäminen rauhallisena ovat tärkeitä asioita, koska stressaantuneen tai hermostuneen koiran veriarvoihin voi tulla muutoksia. (Ruotsalo 2009.)

Ihanteellisesti verinäyte tulee ottaa ensimmäisellä pistolla keskisuuresta tai suu-
resta laskimosta, kun potilas on rauhallinen (Walker 1999, 255). Koiralta näyte
voidaan ottaa etujalan, kaulan ja reiden laskimoista (Jain 1993, 1). Myös akilles-
jänteen ulkopinnalla kulkeva suoni käy laskimoverinäytteenottoon (Pihlman
2011). Laskimoverinäyte voidaan ottaa avonäytteenotto- tai vakuuminäytteenot-
totekniikalla. Avonäytteenotossa näyte otetaan avoimeen näyteputkeen eli ve-
ren annetaan valua omalla painollaan suonesta neulan kautta suoraan putkeen.
Vakuuminäytteenotossa putket ja menetelmä ovat suljettuja ja putkissa vallitsee
alipaine, jonka ansiosta veri imeytyy putkiin. Verta tulee putkeen juuri sopiva
määrä. (Tuokko ym. 2008, 45 - 46, 49.)

Näyte sivelyvalmistetta varten otetaan EDTA-putkeen eli etyleenidiaminotetra-
etikahappoa sisältävään putkeen (Walker 1999, 255). EDTA on antikoagulantti
eli hyytymisenestoaine. EDTA on paras antikoagulantti säilyttämään veren solu-
jen koon ja muodon. (Matikainen ym. 2010, 76.) EDTA:ssa veren solut säilyttä-
vät morfologiansa eli anatomiansa jopa neljän tunnin ajan, kun näyte säilytetään
jääkaapissa. Jos näytemäärä on pieni tai näyte joudutaan ottamaan ilman anti-
koagulantteja sisältäviä putkia, tippa verta voidaan tiputtaa neulasta suoraan
objektilasille sivelyvalmistetta varten. (Walker 1999, 255.) Jos EDTA-putken
lisäksi täytyy ottaa muita putkia, EDTA-putki otetaan hepariiniputkien jälkeen
(Matikainen ym. 2010, 76).

Liian pieni näytemäärä suhteessa antikoagulanttiin voi vaikuttaa muun muassa
punasolujen morfologiaan. Jos näytettä on liian paljon suhteessa antikoagulant-
tiin, näyte voi hyytyä. Vakuuminäytteenotossa EDTA-putken tulee antaa täyttyä
niin täyteen kuin se tulee (merkkiviivaan asti), jotta verta ja antikoagulanttia on
putkessa oikeassa suhteessa. Avonäytteenotossa putkeen valutetaan verta
merkkiviivaan asti. EDTA-putkea täytyy välittömästi näytteenoton jälkeen kään-
nellä muutaman kerran, jotta veri sekoittuisi hyvin antikoagulanttiin. (Eläinlabo-
ratorio Vetlab 2011, 6.)

Joskus verinäytteitä tai valmiita sivelyvalmisteita täytyy lähettää suurempiin la-
boratorioihin tai spesialisteille. Verinäytteitä pystytään postittamaan Itella Oyj:n
kautta kirjeinä, vastauslähetyksinä ja erilliskäsiteltävinä paketteina (liite 1). Kul-

jetettavaksi jätetyn aineen oikein luokittelu ja pakkaus ovat lähettäjän vastuulla. Myös pakkauksen merkintöjen täytyy olla kunnossa ja VAK-lain (laki vaarallisten aineiden kuljetuksesta 719/1994) ja sen nojalla annettujen asetusten sekä määräysten mukaisia. (Itella 2007; Liikenne- ja viestintäministeriö 2010.)

4 SIVELYVALMISTEEN MERKITYS, TEKEMINEN JA MIKROSKOPOINTI

Laadullinen ja määrällinen veren solujen arviointi on tärkeää, koska muutokset verisoluissa kertovat muun muassa muutoksista elimissä, joissa verisoluja muodostuu. Tämän takia häiriöt punasoluissa, verihiutaleissa tai valkosoluissa voivat antaa tietoa esimerkiksi luuytimen, imusolmukkeiden tai pernan toiminnasta. (Theml, Diem & Haferlach 2004, 2.)

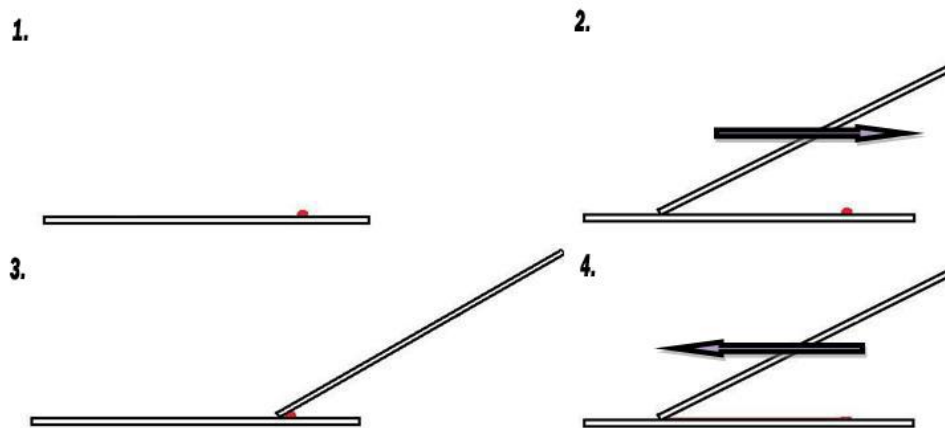
Veren sivelyvalmisteen tutkiminen on yksi potilaan terveydentilan arvioinnin perusteista. Solujen lukumäärän lisäksi saadaan tietoa mahdollisesti diagnostisesti tärkeistä asioista, kuten solumorfologiasta (solujen anatomiasta). Veren sivelyvalmiste on myös helppo ja edullinen tutkimus, ja se voidaan tehdä täydellisen verenkuvan osana tai ulkopuolisesta lähteestä saatujen hematologisten tulosten lisänä. (Knoll 2006, 11.)

Veren sivelyvalmisteesta tehdään veren valkosolujen differentiaali- eli erittelylaskenta. Erittelylaskennassa selvitetään erityyppisten solujen prosentuaalista lukumäärää veressä. (Sirkkola 2009, 301.) Veren sivelyvalmisteen erittelylaskennalla voidaan myös varmistaa verenkuva-analysaattoreilla saadut tulokset (Walker 200, 254) ja käyttää sivelyvalmistetta verenkuva-analysaattoreiden laadunvarmistuksen apuna. Verenkuva-analysaattorit eivät pysty tunnistamaan kaikkia solujen morfologian muutoksia, joten sivelyvalmisteen mikroskopointi on tarpeellinen tutkimus edelleen. (Knoll 2006, 11.)

4.1 Laadukkaan sivelyvalmisteen tekeminen

Veren sivelyvalmiste voidaan tehdä verestä, jossa ei ole antikoagulanttia, tai EDTA-antikoagulanttia sisältävästä verestä. Jääkaapissa säilytetyn näytteen tulee antaa lämmetä huoneenlämmössä ennen sivelyvalmisteen tekoa. Ilman antikoagulanttia olevasta, juuri otetusta näytteestä voidaan tehdä sivelyvalmiste vain, jos se tehdään välittömästi. Pinnallisista haavoista tai leikatuista kynsistä kerätystä verestä tai hepariiniantikoaguloidusta verestä ei saada hyviä sivelyvalmisteita. Hepariini on koirien veressä suhteellisen huono solumorfologian säilyttäjä ja haittaa valmisteiden värjäämistä. Jos antikoagulanttina on käytetty sitraattia, solumorfologiaa voidaan tarkastella, kun näyte laimennetaan 10 prosentilla. (Bain & Lewis 2006, 60; Walker 1999, 255.)

Verinäyte tulee sekoittaa kääntelemällä putkea rauhallisesti noin minuutin ajan. Liian voimakas sekoittaminen voi vahingoittaa soluja. Objektilasiin merkitään lyijykynällä potilastiedot, ettei objektilasi mene sekaisin muiden objektilasien kanssa. (Aspinal 2003, 286.) Sivelyvalmiste tehdään puhtaalle objektilasille yhdestä veripisarasta. Veripisara pudotetaan esimerkiksi kapillaarin avulla lasille noin 1-1,5 senttimetrin päähän lasin loppupäästä tai huurretusta päästä ja asetetaan vetolasi välittömästi pisaran eteen noin 30° kulmaan. Pisanan pitäisi levitä vetolasin reunaa pitkin leveyssuunnassa. Valmiste tehdään työntämällä tai vetämällä verta nopealla liikkeellä objektilasin pintaa pitkin vetolasin avulla, jotta saadaan aikaiseksi ohut ja tasainen valmiste (kuva 1). (Aspinal 2003, 286; Bain & Lewis 2006, 60; Bloxham 1999, 347; Walker 1999, 255.) Sivelyvalmiste ilma-kuivataan heiluttelemalla sitä ilmassa tai puhaltamalla siihen hiustenkuivaajalla viileää ilmaa (Harvey 2001, 9).



Kuva 1. Sivelyvalmisteen tekeminen

Samasta näytteestä voidaan tehdä useita sivelyvalmisteita. Näin varmistetaan, että on olemassa useampi näyte, joista voidaan valita laadullisesti paras. Eri laseille voidaan myös käyttää erilaisia värjäysmenetelmiä ja tarvittaessa lähettää yksi lasista specialistille. (Walker 1999, 255.)

Virhelähteinä sivelyvalmisteen tekemisessä voi olla liian vanha näyte, josta valmiste tehdään. Lisäksi väärä vetotekniikka, epätasainen veto, väärä vetokulma tai väärä vetonopeus voivat saada aikaan virheellisen sivelyvalmisteen. Väärä verimäärä voi tehdä valmisteesta liian paksun tai liian ohuen. Jos veripisara ehtii kuivua tai jos näyte on osittain hyytynyt, solut voivat kasaantua sivelyvalmisteen alku- tai loppupäähän. (Eläinlaboratorio Vetlab 2011, 26.)

Sivelyvalmisteen kiinnityksestä eli fiksoimisesta johtuvia virheitä voivat olla fiksoimatta jättäminen, muussa kuin metanolissa fiksoiminen, liian lyhyt ilmakuivaus tai yli vuorokauden käytössä ollut metanoli (Eläinlaboratorio Vetlab 2011, 26). Sivelyvalmisteen erittelylaskennan tuloksen luotettavuus riippuu itse sivelyvalmisteen laadusta, mikroskopijan taidoista, tutkittavan alueen koosta ja siitä, kuinka monta solua valmisteesta lasketaan (The Merck Veterinary Manual 2008).

4.2 Sivelyvalmisteen värjääminen

Jos sivelyvalmistetta katsotaan mikroskoopilla ennen värjäämistä, solut näkyvät värittöminä ja niiden tunnistaminen toisistaan on lähes mahdotonta. Sivelyvalmisteen värjääminen tekee soluista näkyviä, ja värjätessä eri osat solusta värjäytyvät eri tavoin, jolloin niitä on helppo erotella toisistaan. (Voigt 2000, 24 - 25.)

On olemassa erilaisia värjäystapoja. Suomessa käytössä on useimmiten May-Grünwald-Giemsatekniikka (MGG). Solujen kemiallisesta rakenteesta riippuen osa solusta värjäytyy sinisellä ja osa punaisella. MGG-värjäystekniikassa on käytössä kaksi väriastiaa, joissa toisessa on May-Grünwaldin reagenssia ja toisessa Giemsa-reagenssia. May-Grünwald-reagenssi sisältää eosiini Y:tä, joka värjää punasolut ja eosinofiilien granulat punertaviksi ja metyleeninsineä, joka värjää valkosolujen tumat ja basofiilin granulat sinisiksi. Giemsa-reagenssi sisältää eosiini Y:tä, metyleeninsineä ja atsuuri B:tä. Atsuuri-B värjää solujen tumat eosiinien ja metyleeninsinien kanssa punasinisiksi. (Siitonen & Jansson 2007, 109; Voigt 2000, 24 - 25.) On myös olemassa kaupallisia pikavärjäyssettejä ja värjäysautomaatteja, joilla päästään laadullisesti hyvään värjäystulokseen (Bain 2006, 13).

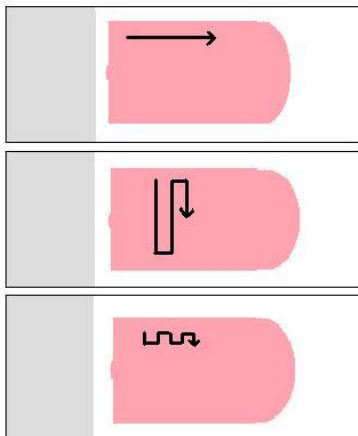
4.3 Sivelyvalmisteen mikroskopointi

Mikroskooppi on herkkä optinen laite, jonka avulla voidaan tarkastella paljaalle silmälle näkymättömiä kohteita (Caprette 1995). Mikroskoopin asianmukaisesta puhdistuksesta ja huollosta täytyy huolehtia valmistajan ohjeita noudattaen (Pattengale 2005, 241).

Sivelyvalmisteen tutkiminen aloitetaan yleissilmäyksellä. Valmiste tulisi silmäillä läpi 10-kertaisella suurennoksella. (Bain 2006, 17.) Sivelyvalmisteessa on ohut ja paksu pää, joista ohut pää tarkoittaa sivelyvalmisteen loppupäätä ja paksu pää alkupäätä. Mikroskopointi tulisi aloittaa valmisteen paksummasta päästä käyttäen 10- tai 20-kertaista suurennosta. Käyttämällä pientä suurennosta on helppo arvioida valmisteen värjäytyminen, tasaisuus ja solujen jakaantuminen

valmisteen eri puolille. (Walker 1999, 259.) Valmisteen osa, jossa solut eivät ole päällekkäin ja josta on paras laskea soluja, löytyy valmisteen loppupäästä, harsoamisen reunan vierestä jonkin matkaa reunasta sisäänpäin (Harvey 2001, 15). Tällä alueella olevien solujen morfologian tarkastelu on luotettavinta, ja punasolujenkin pitäisi olla erillään toisistaan. 10- tai 20-kertaisella suurennoksella sivelyvalmisteesta voi myös arvioida karkeasti punasolujen määrää: matala, normaali vai korkea. (Walker 1999, 259.)

Kun tehdään valkosolujen erittelylaskentaa, mikroskoopissa käytetään 40- tai 50-kertaista suurennosta ja lasketaan soluja 100 - 200 kappaletta eritellen samalla ne omiin tyypeihinsä. Solut lasketaan siten, että sivelyvalmistetta mikroskopoidaan tietyn kaavan mukaan (kuva 2) käyden läpi sekä valmisteen reuna että keskiosa. (Harvey 2001, 18.) Yksi tapa on lähteä laskemaan paksummasta päästä ja tehdä u-käännös, kun soluja alkaa olla liian harvassa. Toinen tapa on laskea soluja käyden valmistetta läpi edestakaisin pystysuunnassa. Kolmas tapa on mikroskopoida kuvassa 2 alimmaisena esitetyn kuvion mukaan melko keskeltä valmistetta. (Bloxham 1999, 348; Voigt 2000, 41.)



Kuva 2. Kolme eri tapaa käydä sivelyvalmistetta läpi

Tarkasteltaessa solujen morfologiaa käytetään 40 – 100 kertaista suurennosta. Verihiutaleiden määrän ja morfologian tarkasteluun käytetään korkeinta mahdollista suurennosta. (Walker 1999, 259.) 100-kertaisella suurennoksella on mahdollista nähdä myös solujen tuman kromatiinin rakenne ja nukleolit (Tyler, Co-

well, Baldwin & Morton 1999, 11). Useissa mikroskoopeissa on myös öljylinssi, jota käytetään vain imersioöljyn kanssa. Öljylinssi on sopiva juuri verisolujen tarkasteluun. (Sirkkola 2009, 299.)

5 VEREN NORMAALIT SOLUT KOIRAN LASKIMOVEREN SI-VELYVALMISTEESSA

Primitiivisimpiä eli alkeellisimpia vertamuodostavia soluja ovat nisäkkäillä hematopoeettiset kantasolut, joita on luuytimessä (Lebien 2006, 1039; Siitonen & Koistinen 2007, 18). Kantasoluista muodostuu kypsymisen ja erilaistumisen myötä verisoluja suurimmaksi osaksi luuytimessä (Siitonen & Koistinen 2007, 16). Normaaleja veren soluja koiralla ovat punasolut, verihiutaleet ja valkosolut. Valkosoluihin kuuluvat neutrofiilit, eosinofiilit, monosyytit, basofiilit sekä lymfositit. (Black's Veterinary Dictionary 2005, 70 - 71.)

Viitearvo on ennalta määritelty luku, johon näytteestä saatua tulosta verrataan. Viiterajat ovat keskiarvon ympärille sijoittuvat luvut, joiden väliin esimerkiksi normaali punasolumäärä sijoittuu. (Matikainen ym. 2010, 46 - 47.) Koirille on olemassa viitearvot verisolujen määrille (liite 2).

Joskus terveinkin koiran fysiologiset tekijät saavat sen tulokset menemään viitearvojen yli. Nuorilla koirilla voi normaalisti olla punasoluissa enemmän anisotsytoosia kuin aikuisilla koirilla. (Walker 1999, 255.) Anisotsytoosi tarkoittaa punasolujen koon vaihtelua (Ek 2009, 56 - 58). Myös polykromasiaa eli siniharmaiksi värjäytyneitä, epäkypsiä soluja voi olla nuorilla koirilla enemmän kuin aikuisilla, koska niiden pentuiän punasolut korvautuvat aikuisten punasoluilla ja verenkierrossa on vielä epäkypsiä soluja (Ek 2009, 56 - 58; Walker 1999, 255).

Suhteellisen korkeat lymfosyyttimäärät ovat tavallisia nuorilla koirilla, ja niiden kohdalla voidaan puhua lymfopeniasta lymfosyyttimäärän ollessa alle $20 \times 10^9/l$ (Walker 1999, 255). Koirien valkosolumäärät voivat kohota tai jopa tuplaantua niiden innostuessa, koska elimistöön vapautuva adrenaliini aiheuttaa verenvir-

tauksen nopeutumista, jolloin suonien seinämällä olevat valkosolut huuhtoutuvat takaisin verenkiertoon (Rebar 1998, 34). Englanninvinttikoiran hematologiset arvot ovat yleensä hiukan koirien normaaliarvojen ulkopuolella (Walker 1999, 255). Englanninvinttikoiralla on usein normaaleja viitearvoja enemmän punasoluja ja vähemmän valkosoluja. Lisäksi englanninvinttikoiralla ja cavalier kingcharlesinspanielilla on normaalia matalammat määrät verihiutaleita. (Couto 2010.)

5.1 Punasolut

Punasolujen eli erytrosyyttien tärkein tehtävä on kuljettaa happea kudoksiin. Tähän tehtävään punasoluissa on kuljettajaproteiini nimeltään hemoglobiini. Punasolut ovat normaalisti halkaisijaltaan 7 µm:n kokoisia, koveria soluja. Punasolut ovat kaikilla nisäkkäillä tumattomia. Koiran punasolun elinkaari kestää jopa 120 vuorokautta. Värjätessä punasolut värjäytyvät vaaleanpunertaviksi eosiinin vaikutuksesta, ja koveran muotonsa takia solun keskiosa näkyy vaaleampana. Koirilla esiintyy laskimoveren punasoluissa jonkin verran anisosytoosia ja satunnaisesti epäkypsiä polykromaattisia punasoluja. Punasolujen morfologian tarkastelu on luotettavampaa MGG-värjätystä sivelyvalmisteesta kuin pikavärjätystä. (Bloxham 1999, 349; Happonen, Järvinen, Ranta & Järvinen 2001, 14; Pearson 1999, 286; Prchal 2006, 393; Rebar 1998, 15; Walker 1999, 260.)

Punasolujen määrissä voi olla muutoksia molempiin suuntiin. Tilanne, jossa punasolujen määrä on suurentunut, on nimeltään polysytemia. Punasolujen määrän ollessa alhainen puhutaan anemiasta. Koirilla polysytemiaa tavataan useimmiten kuivumisen yhteydessä seurauksena hemokonsentraation muuttumisesta. Hemokonsentraatio tarkoittaa punasolujen määrän kasvamista suhteessa plasman määrään. Anemia on yleinen, moniin sairauksiin liittyvä tila koirilla ja voi olla regeneratiivista ja ei-regeneratiivista. Regeneratiivinen anemia on usein seurausta verenhukasta tai hemolyysistä eli punasolujen hajoamisesta. Regeneratiivisessa anemiassa luuytimeistä pääsee epäkypsiä punasoluja verenkiertoon. Ei-regeneratiivisessa anemiassa verenkierrossa ei ole epäkypsiä

soluja. (Rebar 1998, 16 - 17; Walker 1999, 263.) Ei-regeneratiivinen anemia voi johtua esimerkiksi puutteellisesta ruokavaliosta tai kroonisesta sairaudesta (The Merck Veterinary Manual 2008). Tarkastelemalla punasoluja sivelyvalmisteesta nämä kaksi erityyppistä anemiaa voidaan erottaa toisistaan ja antaa ennuste. (Rebar 1998, 16 - 17; Walker 1999, 263.) Muutokset punasolujen morfologiassa voivat viitata esimerkiksi ei-regeneratiiviseen anemiaan, immuunivälitteiseen hemolyyttiseen anemiaan (IMHA), krooniseen verenhukkaan tai myrkytykseen (Pihlman 2011; Walker 1999, 254).

5.2 Verihiutaleet

Verihiutaleiden eli trombosyyttien tehtävänä on suojata vaurioituneiden verisuonten seinämiä (Tuokko ym. 2008, 35) osallistuen hemostaasiin eli verenvuodon tyrehtyttämiseen. Hemostaasissa ne muodostavat vuotokohtaan primaaritulpan ja toimivat alustana paikalle kasaantuvalla fibrinillä. Verihiutaleitten elinkaari kestää koiralla viidestä seitsemään vuorokautta. Verestä tutkitaan verihiutaleita sekä määrällisesti että laadullisesti. (Rebar 1998, 27 - 28.)

Mikroskoopista katsottuina verihiutaleet ovat ovaalin, pyöreän tai sauvan muotoisia (Walker 1999, 262). Niiden sytoplasma on kirkas tai vaaleanharmaa ja sisältää yleensä pieniä, sävyltään vaaleanpunaisesta violettiin olevia granuloita (Rizzi, Meinkoth & Clinkenbeard 2010, 806). Kooltaan koiran verihiutaleet ovat 1/4 tai 2/3 punasolujen koosta. Osittain aktiiviset verihiutaleet voivat olla hämähäkkimäisiä ulkonäöltään johtuen siitä, että sytoplasmassa tapahtuvat prosessit laajentavat sytoplasmaa ulospäin pallomaisesta solusta. Verihiutaleita voidaan tavata myös kasoissa tai agglutinoituneita eli liimautuneina yhteen. Nämä verihiutalekasaantumukset löytyvät usein sivelyvalmisteen ohuesta päästä. (Mustajoki & Kaukua 2008; Walker 1999, 262 - 263.)

Koirilla trombosyyttien määrä voi olla alentunut jos verihiutaleita tuhoutuu normaalia enemmän, keho tarvitsee enemmän verihiutaleita tai jos luuytimen verihiutaletuotanto on vähentynyt. Tällöin puhutaan trombosytopeniasta. Trombosytoosi taas tarkoittaa verihiutaleiden suurentunutta määrää, ja se voi johtua kliini-

sesti merkityksettömistä asioista, kuten liikunnasta tai kiihtymisestä. Kliinisesti merkittävä trombosytoosi voi olla vammojen yhteydessä ja tietyissä luuytimen sairauksissa. (The Merck Veterinary Manual 2008; Rebar 1998, 27, 29). Myös pernan poisto aiheuttaa trombosytoosia (The Merck Veterinary Manual 2008). Koska suuri osa koirien verenvuotohäiriöistä johtuu trombosyyttien määrän tai toiminnan poikkeavuuksista, niiden kliinistä merkitystä ei pidä aliarvioida (Rebar 1998, 27, 29).

5.3 Valkosolut

Veren valkosolut eli leukosyytit voidaan jakaa kahteen, kehon puolustusjärjestelmään kuuluvaan ryhmään: fagosytoiviin soluihin eli syöjäsoluihin ja immunosyytteihin. Kumpikin näistä immuunipuolustuksen järjestelmistä on itsenäisiä. Fagosytoiva järjestelmä muodostuu granulocyteista ja monosyytti/makrofagi-jatkumosta. Immunosyyttien muodostama järjestelmä taas muodostuu kiertävistä T- ja B-lymfosyyteistä. Granulosyyttejä on kolmea eri tyyppiä: neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit. (Hoffbrand, Moss & Pettit 2006, 94; Rebar 1998, 4.) Neutrofiilit värjäytyvät happamuudeltaan neutraaleilla väreillä, eosinofiilit värjäytyvät happamilla väreillä ja basofiilit emäksisillä väreillä (Sirkkola 2009, 302). Muutokset valkosolujen morfologiassa ovat ensimmäiset tiettyihin perinnöllisiin sairauksiin ja leukemioihin viittaavat laboratoriolöydökset, ja niiden morfologiaa tarkastelemalla voidaan myös tehdä hoidonseuranta ja antaa ennuste sairauden etenemisestä (Walker 1999, 254).

5.3.1 Neutrofiilit

Veressä kiertävä ja luuytimessä muodostuva neutrofiili on täysin erilaistunut solu (Rebar 1998, 5). Neutrofiili on fagosytoiva solu eli se pystyy ottamaan sisään ja sulattamaan pieniä partikkeleita, kuten bakteereja tai solun osia (Pearson 1999, 287). Sillä on kahdenlaisia granuloita: spesifisiä granuloita ja lysosomeja. Spesifiset granulat sisältävät aineksia, kuten laktoferriniä ja kationisia (positiivisesti varautuneita) proteiineja. Näistä on apua bakteerien tu-

hoamisessa. Lysosomit sisältävät sulattavia entsyymejä, jotka hajottavat tapetut organismit. Neutrofiili on siis tehokas bakteerien tappaja. Neutrofiilit tunkeutuvat verisuonien seinämien läpi kudoksiin auttamaan tulehduksen pysäyttämässä. Neutrofiilien määrän muutokset molempiin suuntiin ovat kliinisesti merkittäviä. (Rebar 1998, 5; Voigt 2000, 11.) Normaalista suurempi neutrofiilimäärä eli neutrofilia voi viitata muun muassa tulehdukseen, bakteeri-infektioon ja äkilliseen stressiin. Normaalista pienempi neutrofiilimäärä eli neutropenia voi johtua muun muassa virusinfektiosta, myrkyistä ja tietyistä lääkkeistä. (The Merck Veterinary Manual 2008.)

Granulosyytteihin kuuluvat neutrofiilit ovat laskimoissa kiertävän veren lukumäärällään hallitsevia soluja, ja ne on helppo tunnistaa sivelyvalmisteesta morfologisten piirteidensä perusteella. Neutrofiilit ovat pyöreitä, läpimitaltaan 12-15 µm:n kokoisia soluja. Värjättyinä niiden sytoplasma on kalpean vaaleanpunainen, ja granulat ovat siinä näkyvissä. Kahdesta viiteen osaan lohkottunut tuma on värjäytynyt tummaksi, ja kromatiini on siinä tiiviisti. (Rebar 1998, 5; Voigt 2000, 11.)

Joskus, kun neutrofiilien kypsyntä elimistössä on suuri esimerkiksi infektion takia, verenkiertoon voi vapautua vielä hiukan epäkypsiä, sauvatumaisia neutrofiileja. Niiden tumassa ei ole lohkoja, vaan se on yksi kokonainen osa. Tätä kutsutaan neutrofiilien niin sanotuksi vasemmalle siirtymiseksi. (The Merck Veterinary Manual 2008; Schultze 2006, 368.)

5.3.2 Eosinofiilit

Eosinofiilin sytoplasman granulat sisältävät proteiineja, jotka osallistuvat parasiittien eli loisten tappamiseen. Veren eosinofiilimäärät voivat kohota allergian tai yliherkkyyden yhteydessä, loisinfektioissa, kudonvaurioissa, mastosolukasvainten yhteydessä tai narttukoiran hormonaalisten muutosten yhteydessä. Joillakin roduilla, kuten saksanpaimenkoirilla, belgianpaimenkoirilla ja rottweilereilla on normaalisti suhteellisen korkea eosinofiilimäärä. (The Merck Veterinary Manual 2008).

Normaalista verenkuvasta löytyy vain muutamia eosinofiilejä. Kooltaan eosinofiilit ovat vähän neutrofiilejä suurempia. Eosinofiilin tuma voi olla sauvamainen tai siinä voi olla kaksi selkeästi erottuvaa lohkoa ja tuman kromatiini ei ole niin tiheää kuin kypsässä neutrofiilissä. Eosinofiililla on selvästi erottuvia punaoransseja granuloita sytoplasmassa. Granulat ovat monen kokoisia ja pyöreitä ja sisältävät hydrolyyttisiä entsyymejä ja peroksidaasia sekä ytimessään perusproteiineja, joiden avulla eosini tarttuu niihin hyvin. Joskus koiran eosinofiilissä voi olla vain yksi suuri granula, joka voidaan tulkita virheellisesti joksikin muuksi solun sisäiseksi organismiksi. Värjättyinä granulat ovat vaaleanpunaisia, lohenpunaisia tai joskus jopa kirkkaanpunaisia. Granuloiden väri pitäisi kuitenkin olla samaa tai vähän vaaleampaa sävyä ympäröivien punasolujen värin kanssa. Englanninvinttikoiran eosinofiilit ovat erikoisia, koska niiden granulat voivat kadota värjäyksen aikana ja valmisteessa solussa näkyy vain vakuoleja. (Rebar 1998, 6; Voigt 2000, 11; Walker 1999, 261.)

5.3.3 Monosyytit

Koska monosyytin ensisijainen tehtävä elimistössä on fagosytoosi eli solusyönti, sen sisällä voi näkyä monenlaisia granuloita partikkeleja tai jopa kokonaisia soluja. (Voigt 2000,12.) Monosyyttien määrä voi olla kohonnut missä tahansa kroonisessa sairaudessa, erityisesti kroonisessa tulehduksessa. Endokardiitti, bakteremia, kortikosteroidit ja stressi aiheuttavat myös monosyyttien määrän lisääntymistä verenkierrrossa. (The Merck Veterinary Manual 2008).

Koiran monosyytit ovat kooltaan suurempia kuin neutrofiilit, mutta samaa kokoluokkaa eosinofiilien kanssa. Tuman morfologiassa on paljon vaihtelua; se voi olla U:n muotoinen tai epäsäännöllisesti lohkokkottunut tai jotakin siltä väliltä. (Rebar 1998, 8.) Usein tuma on kidneypavun, hevosenkengän tai perhosen muotoinen. Tuman kromatiini on hienoa, pitsimäistä ja tasaista, eikä siinä ole kokka-reisuutta. Tämä takia monosyytin tuma värjäytyy muiden leukosyyttien tumia vaaleammaksi. Siniharmaaksi värjäytyvää sytoplasmaa on runsaasti ja sen ul-

konäkö on usein vaahtomainen. Monosyytin sytoplasmassa on yleensä erikoisia vakuoleja, jotka näyttävät sytoplasmassa olevilta rei'iltä. (Voigt 2000,12.)

5.3.4 Basofiilit

Basofiilit ovat fagosytoivia soluja, ja niillä on tärkeä rooli tulehdusreaktioissa (Rebar 1998, 8). Basofiilien suuren määrän esiintyminen veressä voi viitata sydänmatoihin, kasvaimiin tai maksasairauteen (The Merck Veterinary Manual 2008; Pihlman 2011). Basofiilejä löytyy veren sivelyvalmisteesta vain satunnaisesti. Ne ovat hiukan neutrofiilejä suurempia, ja niiden sytoplasma on väriltään kalpean laventelinsininen. Tuma on segmentoitunut. Koiran basofiilit sisältävät usein vain muutaman basofiilille ominaisen syvänsinisen granulan. Tästä syystä ne voidaan sekoittaa monosyytteihin. Segmentoituneen tuman lisäksi monosyytistä erottava piirre on tuman päällä olevat pienet vakuolit, jotka ovat oikeasti basofiilisiä granuloita tuman päällä. (Rebar 1998, 8.) Basofiilin granulat sisältävät histamiinia, hepariinia ja mukopolysakkarideja (The Merck Veterinary Manual 2008).

5.3.5 Lymfosyytit

Veressä kiertävät lymfosyytit ovat joko B- tai T-lymfosyytteja. Suurimmalla osalla eläinlajeista noin 70 prosenttia kiertävistä lymfosyyteistä on T-soluja. Lymfosyytit ovat suurelta osin niin sanottuja pitkäikäisiä muistisoluja, jotka kulkevat edestakaisin veren, imusolmukkeiden ja imunesteen välillä valvoen niiden antigeenien läsnäoloa, joille ne ovat jo aiemmin herkistyneet. (Rebar 1998, 9.) Antigeenit ovat aineita, jotka saavat elimistön immuunivasteen käynnistymään (Terveyskirjasto 2010). Kun B-lymfosyytit stimuloituvat antigeenien vaikutuksesta, ne muuttavat kokoaan ja muotoaan muodostaen plasmasoluja (Voigt 2000, 11). Plasmasolut tuottavat vasta-aineita (The Merck Veterinary Manual 2008). Plasmasolut ovat normaalisti todella harvinaisia verenkierrossa (Rebar 1998, 10).

Vaikka lymfosyytteja on erilaisia, ne lasketaan erittelylaskennassa samaan ryhmään eli lymfosyytteihin. Kohonnut lymfosyyttimäärä eli lymfosytoosi voi johtua fysiologisista syistä. Merkittävät nousut lymfosyyttimäärässä voivat viitata tulehduksiin, immuunivälitteisiin sairauksiin ja leukemiaan. Normaalista pienempi lymfosyyttimäärä eli lymfopenia johtuu yleensä kortikosteroidien vaikutuksesta ja joskus virusinfektiosta, kuten parvoviruksesta. (The Merck Veterinary Manual 2008.)

Lymfosyytit ovat valkosoluista pienimpiä, läpimitaltaan noin 9-12 µm kokoisia pyöreitä soluja (The Merck Veterinary Manual 2008; Rebar 1998, 9). Lymfosyytit muodostuvat luuytimessä ja kypsyvät imusolmukkeissa, pernassa ja imukudoksessa (The Merck Veterinary Manual 2008). Niiden tuma on suuri, pyöreä ja sen kromatiini on kokkareista ja värjäytyy voimakkaasti. Kalpeansinistä sytoplasmaa on niukasti, ja se on yleensä näkyvissä vain tumman toiselta reunalta. (Rebar 1998, 9.)

6 OHJEKANSIO OPPIMATERIAALINA

Kun opinnäytetyön lopputuotteena syntyy ohjekansio, on tärkeää, että se on kaikin puolin selkeä ja ymmärrettävä. Ohjeen kohderyhmä ja tarkoitus pitää tulla esille ohjekansiota lukiessa. Tärkeitä asioita ulkoasun ja luettavuuden kannalta ovat sopiva kirjasinlaji, kirjasinlajin koko, mahdolliset alleviivaukset ja korostukset sekä ohjeistuksen sommittelu sivuille. Myös ymmärrettävät, tarkat ja mielenkiintoiset kuvat havainnollistavat asioita. Lukijan tulisi saada sivulla oleva asia selville yhdellä silmäyksellä, jolloin tekstikappaleiden ensimmäisenä asiana kerrotaan pääasia. Kielellisesti ohjeen tulisi sisältää tuttuja, yksiselitteisiä ja konkreettisia sanoja lyhyissä virkkeissä. Ohje ei saa olla liian pitkä, että asian sisältö tulisi esitettyä vain pääkohdittain. (Kyngäs, Kääriäinen, Poskiparta, Johansson, Hirvonen & Renfors 2007, 126 - 127.) Ohjekansion pääotsikon pitää herättää mielenkiinto ja kertoa ohjekansion aihe selkeästi. Informatiivisilla väliotsikoilla saadaan jaettava tekstin sopiviin pätkiin. Asioiden esittämisjärjestys voi olla esi-

merkiksi tehtävien asioiden tapahtumajärjestys, mikä sopii ohjattaessa laboratoriokokeisiin valmistautumista. (Torkkola, Heikkinen & Tiainen 2002, 39, 43.)

Ohjekansion hyvä ulkoasu ei tarkoita aina hienointa ja kuvitettuinta vaihtoehtoa, vaan luettavuutta. Tekstin ja kuvien asettelu sivuille on avainasemassa, kun puhutaan ohjeen ymmärrettävyydestä. Toki hyvin sommitellut sivut houkuttelevat myös lukemaan. Sivuille ei myöskään pidä laittaa liikaa tekstiä ja muuta sisältöä. Ohjetta laatiessa on otettava huomioon se, että yleensä valmiissa ohjeessa on näkyvillä kaksi sivua eli aukeama, jolloin näiden kahden sivun sisältö nähdään kokonaisuutena. (Torkkola ym. 2002, 53 - 55.)

7 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS

Opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa Ylä-Savon ammattiopiston opetuslaboratorioon klinikkaeläinhoitajaopiskelijoille ohjekansio koirien laskimoverinäytteenotosta, veren sivelyvalmisteen tekemisestä ja veren normaalien solujen tunnistamisesta. Ohjekansion tarkoituksena on toimia laboratoriossa oppimisen tukena esimerkiksi silloin, kun katsotaan mikroskoopilla verisoluja.

8 OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄLLISET VALINNAT

Opinnäytetöiden tarkoitus on osoittaa tekijän ammatillista osaamista ja ammatillisten tietojen ja taitojen yhdistämistä muitakin hyödyttävään muotoon. Toiminnallisessa opinnäytetyössä lopputuotteena syntyy aina jotakin konkreettista, kuten kirja, dvd, kotisivut tai tapahtuma. Tällöin opinnäytetyön tavoitteena on tehdä esimerkiksi ohjeistus jonkin asian tekemiseen tai suunnitella messuosasto johonkin tapahtumaan. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 9.) Toisin sanoen toiminnallisessa opinnäytetyössä yhdistyvät toiminnallisuus, teoreettisuus, tutkimuksellisuus ja raportointi (Vilkkä 2010).

Opinnäytetyö on toiminnallinen opinnäytetyö, koska se täyttää toiminnallisen opinnäytetyön kriteerit ja koska se on teoriaosuuteen pohjautuva ohjekansio. Tämän opinnäytetyön tuotoksen eli ohjekansion lisäksi siihen kuuluu raporttiosuus, jonka on oltava tutkimusviestinnän vaatimukset täyttävä teksti (Vilkkä & Airaksinen 2003, 65). Tutkimusviestinnän keinoja käyttävä teksti on työhön merkittyihin lähteisiin pohjautuvaa, argumentoivaa, perustelevaa, asiallista, johdonmukaista sekä sanavalinnoiltaan täsmällistä. Termit ja käsitteet ovat tarkasti rajattuja ja tietoon perustuvia. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 65 - 66.) Opinnäytetyön toiminnallisessa osuudessa eli tuotoksessa näytetään ammatillista tietoa ja taitoa, ja raportissa tuodaan tutkiva tekeminen sanalliseen muotoon (Vilkkä 2010).

Toiminnallisen opinnäytetyön tekemisen voi jakaa kolmeen vaiheeseen. Ensin on aiheanalyysi, jossa keksitään opinnäytetyölle idea ja kirjataan sen muistiin. Toisessa vaiheessa eli työsuunnitelmassa kehitellään ideaa ja kootaan muistiinpanoja, työpapereita ja työpäiväkirjaa. Kolmannessa ja viimeisessä vaiheessa syntyy opinnäytetyöraportti ja mahdollisen tuotoksen tekstit. Näitä tekstejä on kirjoitettu läpi koko opinnäytetyöprosessin. (Airaksinen 2010.) Toiminnallisessa opinnäytetyössä kirjallinen tuotos eli produkti eroaa usein kielellisesti raportista; sen ei tarvitse olla tutkimusviestinnän vaatimuksia täyttävää tekstiä (Vilkkä & Airaksinen 2003, 65).

Toiminnallisessa opinnäytetyössä tutkimusongelman ja tutkimuskysymysten esittely jää pois. Toiminnallisen opinnäytetyön vahva teoriaosuus toimii apuvälineenä silloin, kun tehdään itse toiminnallista osuutta. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 30, 43.) Tässä työssä teoriaosuus on koottu ennen toiminnallisen osuuden aloittamista. Teoriaosuus on pyritty tekemään niin huolellisesti, että kaikki toiminnalliseen osuuteen tuleva tieto löytyy sieltä. Toiminnallisessa opinnäytetyössä tutkimustieto tulisi kerätä arvioiden sitä, kuinka kohderyhmä tulee tietoa käyttämään (Vilkkä 2010).

Toiminnallinen opinnäytetyö mahdollistaa tiedon keräämisen käyttäen asiantuntijahaastatteluja, jolloin haastatteluista saatua tietoa pystytään käyttämään teo-

rian syventämiseen kuten muutakin lähdeaineistoa. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 57 - 58.) Tätä työtä tehdessä on haastateltu kahta eläinlääketieteen ammattilaista, joilta saatiin tiettyihin asioihin tarvittavaa käytännönläheisempää tietoa.

9 OPINNÄYTETYÖPROSESSI

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä ohjekansio, jossa on kirjallisten ohjeiden lisäksi kuvat koiran laskimoveren normaaleista soluista. Lisäksi kansioon suunniteltiin havainnollistavia kuvia muun muassa verinäytteenottotarvikkeista ja sivelyvalmisteen tekemisestä.

Valmiin opinnäytetyön tuotos on ohjekansio, jonka tarkoituksena on olla oppimisen tukena opiskelijoilla. Kansiossa on selkeät ohjeet laskimoverinäytteen ottamisesta koiralta avo- ja vakuumitekniikoilla, sivelyvalmisteen tekemisestä sekä kuvat veren normaaleista soluista mikroskopoinnin tueksi. Ohjeiden tueksi kansiossa on lisäksi havainnollistavia kuvia. Ohjeessa hyvät kuvat auttavat ymmärtämään asioita ja herättämään mielenkiintoa (Torkkola ym. 2002, 409).

9.1 Alkukartoitus

Halusin tehdä opinnäytetyöni liittyen eläimiin, koska toivoin pystyväni hyödyntämään aikaisempaa, eläintenhoitoalan ammattiani ja kiinnostustani opinnäytetyössä. Elokuussa 2009 kysyin toimeksiantajalta mahdollista aihetta opinnäytetyölle sekä ehdotin jo ensimmäisessä viestissäni opasta. Toimeksiantaja hyväksyi ehdotukseni oppaasta, lupasi toimia toimeksiantajana ja ehdotti asioita oppaan aiheeksi. Rajasin aiheeni toimeksiantajan antaman aihelistan sekä oman kiinnostukseni perusteella koirille tehtäviin hematologisiin tutkimuksiin. Lopuksi työ rajattiin vielä nykyiseen muotoonsa, koska kaikki koirille tehtävät hematologiset tutkimukset olisi ollut liian laaja kokonaisuus. Aiheen rajaukseksi otettiin prosessi verinäytteenotosta sivelyvalmisteen tutkimiseen. Toimeksiantaja lupasi toimia asiantuntija-apuna, jos syntyisi jotakin hänen eläinlääketieteelliseen

osaamisalueeseensa liittyvää kysyttävää. Teoriaosuutta työstäessä konsultoitin toimeksiantajaa kaksi kertaa sisällöllisten, hänen osaamisalueisiinsa kuuluvien asioihin liittyen.

9.2 Toimintaympäristö

Ylä-Savon ammattiopiston opetusklinikkana toimii Iisalmen eläinklinikka (Parkkari 2005, 629). Klinikalla toimii neljä eläinlääkärinä ja se tarjoaa seuraavia palveluita: luu-, nivel- ja pehmytosakirurgia, sisätaudit, ihotaudit, allergiatestaukset, silmäsairaudet, hammashoidot, keinosiemennykset, röntgentutkimukset, ultraäänitutkimukset, maha-, suoli-, nivel- ja keuhkotähystykset, ekg sekä laboratoriopalvelut (Ylä-Savon terveydenhuollon kuntayhtymä 2010). Klinikalla on useita tutkimus-, toimenpide- ja leikkaushuoneita, röntgen, laboratorio, heräämö ja tilat ruojen säilytykseen (Parkkari 2005, 631).

Iisalmen eläinklinikalla noin 60 prosenttia potilasmateriaalista on koiria ja loput kissoja tai muita pieneläimiä (Huttunen 2010). Tämän takia opinnäytetyön aiheen rajaaminen pelkästään koiriin on perusteltua.

9.3 Ohjekansion kokoaminen

Tuotoksen eli tässä tapauksessa ohjekansion tekemistä varten käytettiin Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Tikkarinteen toimipisteen hematologian- ja kemian laboratorioita sekä mikroskopointiluokkaa. Lisäksi Itä-Suomen yliopiston metsätieteellisen osaston bioteknologian laboratorion mikroskooppi kameroineen oli käytössä solujen kuvaamista varten. Verisolujen valokuvaamista varten toimeksiantaja lähetti valmiiksi värjättyjä tai ainakin kiinnitettyjä sivelyvalmisteita postitse. Osa sivelyvalmisteista värjättiin itse. Solujen kuvaamiseen käytettiin mikroskooppia, johon oli liitetty digikamera. Muut kuvat otettiin opinnäytetyön tekijän omalla kameralla ja piirustukset piirrettiin itse.

Ohjekansiota alettiin koota miettimällä sisältöä ja sisällysluettelo. Sisällysluetteloon valikoitui kolme suurempaa otsikkoa: laskimoverinäytteen ottaminen, sivelyvalmisteen tekeminen ja veren normaalit solut. Tältä pohjalta lähdettiin koamaan sisältöä ohjekansioon.

Ulkoasuksi ohjekansioon valittiin pystyt A4-kokoiset sivut, jotka olisivat rengaskansiossa väritulosteina ja muovitaskuissa. Värien käyttö oli kansiossa välttämätöntä, koska siinä oli kuvia verisoluihin. Kansion sivut laitettiin muovitaskuihin, jolloin ne pysyvät siisteinä ja kansiota on helppo päivittää.

Kirjasinkooksi valittiin 12 muualla paitsi otsikoissa ja verinäytteenotto-ohjeistuksissa. Avo- ja vakuuminäytteenotto-ohjeissa kirjasinkoko on 14, koska ohjetta voidaan käyttää näytteenottotilanteessa ja suurempi kirjasinkoko on helpommin luettavissa näytteenottotilanteessa. Tekstissä kirjasinlaji on Arial ja otsikoissa Cambria.

Kuvia ja tietoja koiran laskimoveren normaaleista soluista käytetään usein silloin, kun ollaan katsomassa sivelyvalmistetta mikroskoopilla. Tällöin on eduksi, että kuvaukset soluista ovat selkeät ja nopeasti katsottavissa. Soluista kertovissa tekstipätkissä on lihavoitu ydinsanoja, kuten solun koko, värjäytyvyys ja tumman rakenne. Näin ne tulevat tekstistä esiin, eikä niitä tarvitse sieltä etsiä.

Kansiossa on viisi värillisellä kehyksellä rajattua kokonaisuutta: näytteenottojärjestys, laskimoverinäytteen ottaminen, näytteenotto avotekniikalla, näytteenotto vakuumitekniikalla ja sivelyvalmisteen tekeminen. Näitä on korostettu siksi, että ne kaikki ovat sellaisia kokonaisuuksia, joita tarkistetaan kansioista tehdessä harjoituksia.

Ohjekansiossa käytetyt lähteet merkittiin lähdeluetteloksi kansion loppuun. Tekstissä niitä ei mainittu, koska teksti haluttiin pitää helppolukuisena ja selkeänä. Kaikissa kuvissa on kuvatekstit ja kuvat on sijoitettu niihin liittyvien tekstien yhteyteen. Kansioon on pyritty valikoimaan vain laadukkaita ja ohjeen kannalta oleellisia kuvia.

Kansiossa olevat ohjeet ja kuvat ovat väritulosteina muovitaskuissa ja muovitaskut kansiossa. Näin ohjeita on helppo ottaa kansioista vaikka sivu kerrallaan käyttöön. Kansion sivut on tallennettu cd-levylle, josta niitä on helppo tulostaa tarvittaessa lisää.

9.4 Ohjekansion rakenne

Ohjekansion rakenne pyrittiin tekemään loogiseksi ja siten, että asiat ovat kansiossa tekojärjestyksessä. Isoja otsikoita kansioon tuli kolme: laskimoverinäyte, sivelyvalmiste koiran laskimoverestä ja veren normaalit solut. Laskimoverinäyte-otsikon alaotsikoiksi tulivat näytteenottojärjestys, koiran kiinnipito näytteenottotilanteessa, tarvikkeet verinäytteen ottamista varten, yleisiä ohjeita näytteenottoon, näytteenotto avotekniikalla sekä näytteenotto vakuumitekniikalla. Sivelyvalmiste koiran laskimoverestä -otsikon alaotsikoiksi tulivat sivelyvalmisteen tekemiseen tarvittavat välineet, sivelyvalmisteen tekeminen sekä mikroskopointi. Veren normaalit solut -otsikon alaotsikoiksi tulivat punasolut, verihiutaleet, valkosolut sekä lisää solukuvia. Valkosolut -alaotsikon alle tuli vielä kuusi alemmaa otsikkoa eri valkosoluista: neutrofiilit, eosinofiilit, monosyytit, basofiilit ja lymfosyytit.

10 POHDINTA

Bioanalyytikon ammattiin kuuluu laboratoriotutkimuksiin liittyvissä asioissa opastaminen ja ohjekansion laatiminen antaa valmiuksia laatia vastaavia ohjeita tulevaisuudessakin. Myös moniammatillisuus liittyy bioanalyytikon työhön, jolloin kaikki omaa ammatillista osaamista hyödyntävä yhteistyö muiden ammattiryhmien kanssa on mielestäni toivottavaa.

Opinnäytetyötä tehdessä korostui opitun tiedon soveltaminen, koska tässä työssä tutkimuksen aiheena olivat ihmisten sijasta koirat. Opittua tietoa ja käytännön taitoja täytyi soveltaa vastaavaan eläinlääketieteelliseen tietoon ja käy-

täntöihin sekä olla tarkkana lähdekirjallisuuden kanssa. Itse aihe oli mielenkiintoinen ja työtä olisi helposti saanut oman kiinnostuksen mukaan laajennettua nykyisen rajauksen ulkopuolellekin.

Teoriaa kootessa ja lähteitä etsiessä minut yllätti tiedonhankinnan vaikeus. Kun on kysymys eläimistä, lähdekirjoja ei löydy kaikista kirjastoista ja kirjoja löytyy vähemmän, kuin ihmisten lääketieteen vastaavia teoksia. Opinnäytetyötä tehdessä täytyi koko ajan pitää mielessä se, että potilas on tällä kertaa koira eikä ihminen. Halusin löytää mahdollisimman moneen asiaan uudehkon eläinlääketieteellisen lähteen, joten tiedonhankintaan kului paljon aikaa. Koen kuitenkin saaneeni itselleni paljon tietoa käsittelemistäni aiheista ja tiedonhankintataidot ovat parantuneet huomattavasti. Itse tekstiä kirjoittaessa tauot ja ajatusten suuntaaminen muihin asioihin toi välillä kaivattua itsekritiikkiä. Varsinkin loppuvaiheessa työprosessia huomasi asioita, jotka olisi voinut toteuttaa toisella tavalla tai ehkä suunnitella opinnäytetyön vielä perusteellisemmin ennen itse kirjoitusprosessia. Näitä huomioita voi onneksi käyttää hyödyksi ja vahvuudeksi myöhemmin.

Mielestäni ohjekansio onnistui hyvin. Odotettavissa oli, ettei kaikkia harvalukuisimpia soluja saataisi kuvattua, joten niiden solujen osalta piti tyytyä laittamaan internetlinkit muiden ottamiin kuviin. Toimeksiantaja luki ohjekansion läpi ja hänen mukaansa se on toimiva ja käytännöllinen kokonaisuus. Toivon, että siitä on hyötyä myös käytännön oppimistilanteissa.

10.1 Luotettavuus

Tutkimusta tehdessä on itse tutkijan kiinnitettävä huomiota omiin tekemisiinsä ja siihen, mihin suuntaan hän tutkimusta vie (Saaranen-Kauppinen & Puusniekka 2006). Koska kaikissa tutkimuksissa on tavoitteena arvioida tehdyn tutkimuksen luotettavuutta, täytyy myös toiminnallisen opinnäytetyön kohdalla tehdä niin. Tehdyn tutkimuksen toteuttamisen riittävän yksityiskohtainen selostaminen sekä tarkkuus tutkimuksen kaikissa vaiheissa ovat omiaan lisäämään luottamusta tehtyä tutkimusta kohtaan. Myös totuudenmukaisuus ja selvyys kerrottaessa

aineiston tuottamisen olosuhteista kuuluvat tutkimuksen luotettavuuden arviointiin. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2008, 226 - 227.)

Tutkimuksen luotettavuutta voidaan tarkastella seuraavien neljän termin pohjalta. Uskottavuus luotettavuuden kriteerinä kertoo siitä, että tutkija joutuu tarkistamaan ovatko hänen käyttämänsä käsitteet ja tulkinnat verrattavissa tutkittavien vastaaviin. Siirrettävyys tarkoittaa sitä, että tutkimuksesta pystytään tekemään yleistyksiä. Kun otetaan huomioon tutkimukseen vaikuttavat ennakkoehdot, saadaan tutkimukseen varmuutta. Jos samasta aiheesta on tehty aikaisempia, samankaltaisia tuloksia saatuja tutkimuksia, voidaan puhua vahvistuvuudesta. (Eskola & Suoranta 1998, 212 – 213.)

Koska opinnäytetyön lopputuotteena syntyy ohjekansio, jota opiskelijoiden on tarkoitus käyttää oppimisensa tukena, työtä tehdessä lähdekritiikki on erityisen tärkeää. Lähdekritiikki myös lisää työn luotettavuutta, koska eri lähteistä saatuja tietoja vertaillaan ja yhdistellään. (Vilka & Airaksinen 2003, 53; Hirsjärvi ym. 2008, 184.) Opinnäytetyötä tehdessä on lähdemateriaalin kirjoittajan tunnettuutta ja arvostettavuutta sekä lähteen ikää ja siinä olevan tiedon alkuperää arvioitava. Lisäksi lähdemateriaalin julkaisijan arvovalta ja vastuu sekä itse lähteen uskottavuus, totuudellisuus ja puolueettomuus ovat asioita, joita tutkijan on pohdittava. (Hirsjärvi ym. 2008, 109 - 110.)

Teoriapohjan lähteinä on käytetty eniten englanninkielisiä hematologian perusteoksia, eläinlääketieteellisiä julkaisuja, eläinlääketieteen opiskelijoiden perusteosta ja jonkin verran internetlähteitä. Yksi eläinlääketieteellisistä julkaisuista on eläinten ruokia valmistavan Ralston Purina Companyn julkaisema, mutta arvioin sen luotettavaksi, koska kirjan kirjoittaja on eläinlääketieteen tohtori Alan H. Rebar. Olen pyrkinyt käyttämään lähdekritiikkiä valitessani lähde- teoksia. Esimerkiksi käytetyt internetlähteet ovat yliopistojen sivuja tai muita tunnettuja ja paljon käytettyjä sivustoja. Sama asia on usein löytynyt useasta lähteestä, jolloin luotettavuus asiaan kasvaa. Tieto on pyritty löytämään teoreettiseen viitekehykseen eläinlääketieteellisestä lähdekirjallisuudesta. Kaikki työssä käytettävät valokuvat ja piirrokset ovat tekijän itsensä kuvaamia tai piirtämiä. Tämä lisää työn luotettavuutta.

10.2 Eettisyys

Eettisesti hyväksyttävältä ja luotettavalta tutkimukselta edellytetään, että se on laadittu hyvää tieteellistä käytäntöä noudattamalla. Tällöin tutkijan täytyy toimia tiedeyhteisön tunnustamien toimintatapojen mukaisesti noudattamalla rehellisyyttä, huolellisuutta ja tarkkuutta. Tiedonhankinta-, arviointi- ja tutkimusmenetelmät on oltava tieteellisen tutkimuksen kriteerit täyttäviä sekä tulosten julkaisun on oltava avointa. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002, 3.)

Yksi tieteellisen vilpin muoto on plagiointi eli tieteellinen varkaus. Kirjallisessa tuotoksessa se tarkoittaa toisen kirjoittajan ideoiden, sanamuotojen tai tutkimustulosten esittämistä ominaan. Tämä vilppi ilmenee joko lähdetiedon puuttumisena tai viittaaminen lähteeseen on epämääräistä. (Hirsjärvi ym. 2008, 118.)

Opinnäytetyötä tehdessä ei ole plagioitu lähdeteoksia tai ilmoitettu tietoja ilman lähdeviitteitä. Työssä käytettiin koirista otettuja verinäytteitä, josta kuvattiin mikroskoopin kameralla veren soluja. Koirat, joilta näytteet otettiin, olivat jo muista syistä antamassa verinäytteitä. Tällöin koiria ei alistettu verinäytteen otolle vain tämän tutkimuksen takia.

10.3 Jatkotutkimusaiheet

Jatkotutkimusaiheena voisi käsitellä muita koiran kokoverestä tehtäviä hematologisia tutkimuksia tai syventyä yhdessä työssä pelkästään koiran laskimoveren solujen patologiisiin muutoksiin.

LÄHTEET

- Airaksinen, T. 2010. Toiminnallisen opinnäytetyön kirjoittaminen. <http://www.slideshare.net/TiinaMarjatta/toiminnallinen-ont-tekstina-2010>. 6.2.2011.
- Aspinal, V. 2003. *Clinical Procedures in Veterinary Nursing*. Philadelphia: Elsevier Limited, 286.
- Bain, B.J. 2006. *Blood cells: A Practical Guide*. Oxford: Blackwell Publishing, Inc, 13, 17.
- Bain, B.J. & Lewis, S.M. 2006. *Preparation and Staining Methods for Blood and Bone Marrow Films*. Teoksessa Lewis, S.M., Bain, B.J. & Bates, I. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. Philadelphia: Elsevier Ltd, 60.
- Black's Veterinary Dictionary. 2005. London: A & C Black Publishers Limited, 70 – 71.
- Bloxham, P.A. 1999. *Clinical Pathology and Laboratory Diagnostic Aids*. Teoksessa Lane, D.R. & Cooper, B. (toim.) *Veterinary Nursing*. Oxford: Butterworth-Heinemann, 347, 349.
- Caprette, D.R. 1995. *Light microscopy*. Rice university. <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/microscopy.html>. 19.12.2010.
- Couto, G. 2010. Why do greyhounds bleed? The Ohio State University College of Veterinary Medicine. <https://greyhound.osu.edu/resources/freeresources/greyhoundbleeders/index.cfm>. 5.10.2010.
- Ek, A.-K. 2009. Verisolujen tunnistusaapinen. Kankaanpää: Messon, 56 - 58.
- Elintarviketurvallisuusvirasto. 2010a. *Eläinsuojelu ja eläinten pito*. http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainsuojelu_ja_elainten_pito/. 7.2.2011.
- Elintarviketurvallisuusvirasto. 2010b. *Seura-, harrastus- ja lemmikkieläimet*. http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainsuojelu_ja_elainten_pito/elainsuojelu_pitopaikoissa/harrastus_ja_lemmikkielaimet/. 7.2.2011.
- Eläinlaboratorio Vetlab. 2011. *Laboratoriokäsikirja 2010*. Vetlab Oy. http://www.vetlab.fi/SIRA_Files/downloads/Laboratoriok%C3%A4sikirja_2011.pdf. 7.2.2011.
- Eskola, J. & Suoranta, J. 1998. *Johdatus laadulliseen tutkimukseen*. Tampere: Vastapaino.
- Happonen, I., Järvinen, A.-K., Ranta, M. & Järvinen, M. 2001. *Eläinlääketieteellisiä laboratoriomenetelmiä*. Helsinki: Helsingin yliopisto, 5 – 8, 14.
- Harvey, J.W. 2001. *Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of Domestic Animals*. Philadelphia: Saunders, 9, 15, 18.
- Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2008. *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi, 109 – 110, 118, 184, 226 – 227.
- Hoffbrand, A.V., Moss, P.A.H. & Pettit, J.E. 2006. *Essential Haematology*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 94.
- Huttunen, U. Aikuisopettaja, eläinlääkäri. Pohjois-Savon Ammattiopisto. Sähköpostihaastattelu. 11.8.2010.

- Itella Oyj. 2007. Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse. http://www.itella.fi/liitteet/palvelutjatuotteet/diagnostiset_naytteet_ohje.pdf. 21.1.2010.
- Jain, N.C. 1993. Essentials of Veterinary Hematology. Williams & Wilkins, 1.
- Knoll, J.S. 2006. Clinical Automated Hematology Systems. Teoksessa Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. & Schalm, O.W. Schalm's Veterinary Hematology. Iowa: Blackwell Publishing, 11.
- Kyngäs, H., Kääriäinen, M., Poskiparta, M., Johansson, K., Hirvonen, E. & Renfors, T. 2007. Ohjaaminen hoitotyössä. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit Oy, 126 - 127.
- Lebien, T.W. 2006. Lymphopoiesis. Teoksessa Lichtman, M.A., Beutler, E., Kipps, T.J., Seligsohn, U., Kaushansky, K. & Prchal, J.T. Williams hematology. United States of America: The McGraw-Hill Companies Inc, 1039.
- Lewis, S.M. & Bain, B.J. 2006. Preparation and Staining Methods for Blood and Bone Marrow Films. Teoksessa Lewis, S.M., Bain, B.J. & Bates, I. Practical Haematology. Philadelphia: Elsevier Ltd, 60.
- Liikenne- ja viestintäministeriö. 2010. VAK-Säädökset. <http://www.mintc.fi/web/fi/171#VAK-laki>. 14.8.2010.
- Lundström, C. 2009. Ammatinkuvaus. Klinikkaeläinhoitajat ry. <http://www.klinikkaelainhoitajat.fi/Ammatin%20kuvaus.htm>. 19.8.2010.
- Matikainen, A-M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Prima Oy, 10 – 12, 76.
- The Merck Veterinary Manual. 2008. Merck & Co., Inc. <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp>. 19.8.2010.
- Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008. Trombosyytit. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03035. 28.7.2010.
- Mustonen, S. 2006. Pieneläinhoitajien tehtävät lisääntyvät. Suomen eläinlääkärilehti 112 (6), 309 - 312.
- Opetushallitus. 2009. Näyttötutkinnon perusteet. Eläintenhoitajan ammattitutkinto. http://www.oph.fi/download/114750_ElaintenhoitajanAtNetti.pdf. 14.8.2010, 9 - 12, 16.
- Parkkari, A. 2005. Iisalmen eläinlääkintähuoltoon tutustumassa. Suomen eläinlääkärilehti 111(12), 628 - 631.
- Pattengale, P. 2005. Tasks for the Veterinary Assistant. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 241.
- Pearson, A.J. 1999. Anatomy and Physiology. Teoksessa Lane, D.R. & Cooper, B. (toim.) Veterinary Nursing. Oxford: Butterworth-Heinemann, 285 - 287.
- Pihlman, H. Eläinlääkäri. Sähköpostihaastattelu. 8.1.2011.
- Prchal, J.T. 2006. Production of Erythrocytes. Teoksessa Lichtman, M.A., Beutler, E., Kipps, T.J., Seligsohn, U., Kaushansky, K. & Prchal, J.T. Williams hematology. United States of America: The McGraw-Hill Companies Inc, 393.
- Rebar, A.H. 1998. Hemogram Interpretation for Dogs and Cats. Gloyd Group Inc, 4 – 6, 8 – 10, 15 – 17, 27 – 29, 34.

- Rizzi, T.E., Meinkoth, J.H. & Clinkenbeard, K.D. 2010. Normal Hematology of the Dog. Teoksessa Weiss, K. & Wardrop, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. Iowa: Blackwell Publishing Ltd, 806.
- Ruotsalo, K. 2009. Blood Collection – Patient preparation. Lifelearn Inc. <http://www.westwaydvm.com/index.php?view=pageView&pageid=3221>. 19.12.2010.
- Saaranen-Kauppinen, A. & Puusniekka, A. 2006. KvaliMOTV - Menetelmäopetuksen tietovaranto. Tampere: Yhteiskuntatieteellinen tietoarkisto. <http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/>. 15.2.2011.
- Schultze, A.E. 2006. Interpretation of Canine Leukocyte Responses. Teoksessa Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. & Schalm, O.W. Schalm's veterinary hematology. Iowa: Blackwell Publishing, 368.
- Siitonen, T. & Koistinen, P. 2007. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 16, 18.
- Siitonen, S. & Jansson, S.-E. 2007. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 109.
- Sirkkola, H. & Tauriainen, S. (toim.) 2009. Eläinten lääkitä ja hoito – käsikirja eläinlääkäreille. Opetushallitus, 298 – 299, 301 - 302.
- Suomen Kennelliitto. 2009. Koira. <http://www.kennelliitto.fi/FI/koira/Etusivu.htm>. 16.12.2010.
- Terveyskirjasto. 2010. Antigeeni. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=Ilt00236. 15.8.2010.
- Theml, H., Diem, H. & Haferlach, T. 2004. Color Atlas of Hematology. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2.
- Torkkola, S., Heikkinen, H. & Tiainen, S. 2002. Potilasohjeet ymmärrettäväksi. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi, 39, 43, 53 – 55, 409.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi, 35, 37, 45 – 46, 49.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2002. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitteleminen. <http://www.tenk.fi/HTK/htkfi.pdf>. 3.8.2010, 3.
- Tyler, R.D., Cowell, R.L., Baldwin, C.J. & Morton, R.J. 1999. Introduction. Teoksessa Cowell, R.L., Tyler, R.D. & Meinkoth, J.H. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. Missouri: Mosby Inc, 11.
- Vilkka, H. 2010. Toiminnallinen opinnäytetyö. http://vilkka.fi/hanna/Toiminnallinen_ont.pdf. 6.2.2011.
- Vilkka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi, 9, 30, 43, 53, 57 – 58, 65 - 66.
- Voigt, G.L. 2000. Hematology techniques and concepts for veterinary technicians. Iowa State University Press, 11 – 12, 24 – 25, 41.
- Walker, D. 1999. Peripheral blood smears. Teoksessa Cowell, R.L., Tyler, R.D. & Meinkoth, J.H. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. Missouri: Mosby Inc, 254 – 255, 259 - 263.
- Ylä-Savon ammattiopisto. 2010. Eläinlääkärin ammattitutkinto, osaamisala pieneläinten hoito. <http://www.ysao.fi/Suomeksi/Opiskelu/Aikuisopiskelu/Koulutustarjon>

ta/Maa-
_ja_hevostalous_seka_elaintenhoito/Elaintenhoitajan_ammattitutki
nto___pienelainhoito.iw3. 14.8.2010.

Ylä-Savon terveydenhuollon kuntayhtymä. 2010. Eläinlääkintä. <http://www.ysyty.fi/index.asp?tz=-2&link=2777>. 19.12.2010.

Toimeksiantosopimus



OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTO

SOPIJAOSAPUOLET:

TOIMEKSIANTAJA Ulla Huttunen Haukisaarent.4
Yhteystiedot: Ylä-Savon ammattiopisto, aikuisopetus, 74130 IISALMI
Sähköpostiosoite: ulla.huttunen@yso.fi
OPISKELIJA Niina Bamberg
Yhteystiedot: niinab@gmail.com

TOIMEKSIANTOSOPIMUS:

Ohjekansio eläintenhoitaja-opiskelijoille
-normaalit solut koiran lasbmateriaalin siivelyvalmistuksessa

Osapuolet ovat tänään sopineet toimeksiannosta seuraavaa: (esim. rahoitus, aikarajat, tekijänoikeudet)

Toimeksiantaja

Opiskelijat
Opiskelijan kustantamat opinnäytetyöstä koituvat kulut.

Opinnäytetyön ohjaajana PKAMK:ssa toimii Minna Rekkila ja Satu Martiskainen

Päiväys ja allekirjoitukset

20.12.2010

[Signature]
Toimeksiantajan edustaja

[Signature]
Opiskelija

Tutkimuslupahakemus



TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

lupa käyttää koiria tutkimukseen

Haen/haemme lupaa suorittaa opinnäytetyöhön liittyvä tutkimus

Opinnäytetyön aihe: *Ohjekansio eläintenhoitajapöytäkirjoille*
-normaalit soint koiran laskimoveren sivelyvalmistuksessa

Tutkimuksen toteutuspaikka/-yksikkö:

Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Seinäälä - ja terveysalan keskus

Tutkimuksen:

a) kohde/kohdejoukko: _____

b) aineiston keruumenetelmä: *Solujen valokuvaaminen mikroskooppikameralla*

c) aineiston keruun ajankohta: *loku-marraskuu 2010*

Opinnäytetyön ohjaaja/t:

Minna Rokela

Satu Martiskainen

Työelämäohjaaja:

Ulla Huttunen

6 / 10 2010

M. Berg

[Signature]

Susanna Rosell
Johtaja

LIITTEET: - tutkimussuunnitelma
- toimeksiantosopimus

12 27

Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse

Lähde: Itella Oy.

http://www.itella.fi/liitteet/palvelutjatuotteet/diagnostiset_naytteet_ohje.pdf. 19.8.2010.



Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse

Ohjeet koskevat Itella Oyj:n kotimaan maantiekuljetuksissa kulkevia näytelähetystiä. Lähetystiä voidaan kuljettaa mm. kirjeinä, vastauslähetystinä ja paketteina. Paketteina lähetettävien näytelähetysten tulee valita lisäpalvelu "erillisistä lähetystiä". Lähetykset voi jättää kuljetettavaksi joko viemällä ne Postin myymälään tai myyntipisteeseen tai Itella noutaa ne sopimuksesta tai erillisestä tilauksesta. Mitään näistä lähetystiä ei saa jättää kirjelaatikkoon.

Lähetäjä vastaa siitä, että kuljetettavaksi jätetty aine on oikein luokiteltu ja pakattu, pakkaus on oikein merkitty ja jätetty kuljetettavaksi VAK-lain (719/1994) ja sen nojalla annettujen asetusten ja määräysten mukaisesti ja että aineen nimi, luokitus ja muut vaaditut tiedot tulevat oikein mahdollisesti vaadittaviin asiakirjoihin. Jokaiseen lähetykseen merkitään lähetäjän yhteystiedot. Mikäli lähetysten pakkaa esim. potilas, annetaan hänelle selkeät ohjeet kollien pakkaamisesta ja merkinnästä. Kuivajäähän pakattujen aineiden lähettäminen edellyttää erillistä VAK-sopimusta ja lähetäjä ohjeistetaan erikseen. VAK-sopimuksen tekemiseksi tulee ottaa yhteyttä Itellan yhteyshenkilöön. Itellan VAK-turvallisuusneuvonantaja auttaa tarvittaessa ohjeen tulkinna ja lähettämiseen liittyvissä kysymyksissä. Lisätietoja vaaralliseksi luokiteltujen aineiden kuljetuksesta löytyy myös Liikenne- ja viestintäministeriön internetisivuilta osoitteesta www.mintc.fi/vak.

1. Tartuntavaaralliset aineet

Tartuntavaarallisia ovat aineet, joiden tiedetään tai kohtuullisella varmuudella oletetaan sisältävän taudinaiheuttajia. Taudinaiheuttajiksi määritellään mikro-organismit, jotka voivat aiheuttaa sairauksia ihmisille tai eläimille. Tartuntavaaralliset aineet on luokiteltava VAK luokkaan 6.2 ja soveltuvaan YK-numeroon 2814, 2900 tai 3373.

1.1. Tartuntavaaralliset aineet, jotka on luokiteltava YK-numeroon UN 2814 tai UN 2900

Aineet on luokiteltava YK-numeroon UN 2814 tai UN 2900, mikäli niitä kuljetetaan sellaisessa muodossa, että ne voivat altistumisen tapahtuessa aiheuttaa muuten terveille ihmisille tai eläimille sairauden, jonka seurauksena on pysyvä vamma, hengenvaara tai kuolema. Aineista on ohjeellisesti luettelo "kokoelmassa "vaarallisten aineiden kuljetus tiellä 2007", kohta 2.2.62.1.4.1. (Edita, 2007) jos on epäselvää, täyttäväkö aine tämän ryhmän kriteerit, se on luokiteltava YK-numeroon UN 2814 tai UN 2900. Itella ei pääsääntöisesti kuljeta näitä aineita, joten ennen tähän ryhmään kuuluvien aineiden lähettämistä tulee olla yhteydessä Itellan yhteyshenkilöön tai VAK-turvallisuusneuvonantajaan.

1.2. Tartuntavaaralliset aineet, jotka luokitellaan YK-numeroon UN 3373

YK-numeroon UN 3373 luokitellaan tartuntavaaralliset aineet, jotka eivät täytä YK-numeroin 2814 tai 2900 kulumisen kriteereitä. Näiden aineiden virallinen nimi on BIOLOGINEN AINE, KATEGORIA B.

1.3. Näytteet, jotka on vapautettu VAK-sääntösten mukaisesti

Näytelähetystiä koskevat vapautukset ovat lääkikoelman "vaarallisten aineiden kuljetus tiellä 2007", kohdassa 2.2.62.1.5. Esimerkiksi ihmis- ja eläinperäiset näytteet, joissa on hyvin pienellä todennäköisyydellä taudinaiheuttajia, eivät ole VAK-sääntösten alaisia, mikäli ne on pakattu ja merkitty ohessa (sivu 2) esitetyllä tavalla. Esimerkkejä näistä näytteistä on lääkikokoelman kohdassa 2.2.62.1.5.6. Arvion aineen tai näytteen vapautuksesta tekee asiantuntija.

VAK-laki = Laki vaarallisten aineiden kuljetuksesta

Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse

Lähde: Itella Oy.

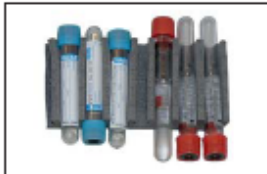
http://www.itella.fi/liitteet/palvelutjatuotteet/diagnostiset_naytteet_ohje.pdf. 19.8.2010.



Kuva 1.



Kuva 2. Sekundaaripakkauksia voi olla myös tiiviisti suljettuja muovipussit.



Kuva 3.



Kuva 4.



Kuva 5.

2. Pakkaaminen

2.1. YK-numeroon UN 3373 luokiteltavat aineet

YK-numero on UN 3373 luokiteltavien aineiden pakkaamisesta määrätään pakkauksien määrityksessä P 650:

- Lähettämisessä käytetään hyvälaatuisia pakkauksia, jotka kestävät tavanomaisen kuljetuksen iskut ja kuormitukset.
- Pakkauksissa ei saa vuotaa tavanomaisissa kuljetusolosuhteissa.
- Pakkauksen on koostuttava kolmesta osasta:
 - primaaripakkauksesta (kuva 1)
 - sekundaaripakkauksesta (kuva 2) ja
 - ulkopakkauksesta
- Primaaripakkauksien ja sekundaaripakkauksien on oltava tiiviitä.
- Primaaripakkauksien on oltava yksittäisiä tai erotettava siten, etteivät ne pääse kosketukseen keskenään (kuva 3).
- Nestettä sisältävien primaaripakkauksien ja sekundaaripakkauksien välillä on laitettava imeytysainetta. Imeytysainetta on pystyttävä imeämään primaaripakkauksien sisältö kokonaan.
- Sekundaaripakkauksien on pakattava ulkopakkaukseen käyttäen sopivaa suiloinetta.
- Pakkauksella on merkittävä kirjellään selsovalle neliöllä, jonka sisällä on teksti UN 3373. Viereen merkittään "BIOLOGINEN AINE, KATEGORIA B". Merkin on oltava helposti näkyvä ja selvä (kuva 4).
- Ei VAK-lainsäädännöstä johtuvaa asiakirjavaatimusta.
- Itella edellyttää, että ulkopakkauksena käytetään kelta-mustaraitaista laatikkoa.

2.2. VAK-säännösten mukaisesti vapautetut näytteet

Ihmis- ja eläinperäiset näytteet, joissa on hyvin pienellä todennäköisyydellä taudinaiheuttajia, on pakattava seuraavalla tavalla:

- Lähettämisessä käytetään hyvälaatuisia pakkauksia, jotka kestävät tavanomaisen kuljetuksen iskut ja kuormitukset.
- Pakkauksissa ei saa vuotaa tavanomaisissa kuljetusolosuhteissa.
- Pakkauksen tulee koostua nesteliivisistä primaaripakkauksesta ja sekundaaripakkauksesta sekä ulkopakkauksesta.
- Nestemäisten aineiden primaaripakkauksien ja sekundaaripakkauksien välillä laitetaan imeytysaine.
- Pakkaukset merkittään tekstiillä "Ihmisperäinen näyte - vapautettu" tai "Eläinperäinen näyte - vapautettu".
- Nämä näytteet voivat kulkea myös lentokuljetuksessa. Lentokuljetusta varten tulee tehdä merkintä "Exempt human specimen" tai "Exempt animal specimen".
- Ei VAK-lainsäädännöstä johtuvaa asiakirjavaatimusta.
- Itella edellyttää, että ulkopakkauksena käytetään kelta-mustaraitaista laatikkoa.

Lisätietoa vaarallisten aineiden lähettämisestä saa Itellan yhteyshenkilöltä tai VAK-turvallisuusneuvonantajalta Pauliina Auveri puh. 020 452 0092 tai pauliina.auveri@itella.com

Koiran puna- ja valkosolujen viitearvot

Lähde: Mukailten Eläinlaboratorio Vetlab 2011.

Koiran puna- ja valkosolujen viitearvot

	Viitearvot, %	Viitearvon totaolimäärät
Punasolut	5,5 – 8,5	$10^{12}/l$
Sauvatumaiset	0-3	0 - 0,3 $\times 10^9/l$
Liuskatumaiset	57 - 77	4,3 - 7,6 $\times 10^9/l$
Eosinofiilit	1 - 8	0,2 - 0,8 $\times 10^9/l$
Basofiilit	0 - 0,3	0 - 0,2 $\times 10^9/l$
Lymfosyytit	13 - 31	1,1 - 3,0 $\times 10^9/l$
Monosyytit	3 - 7	0,2 - 0,7 $\times 10^9/l$

Ohjekansio

Tekijänoikeuksien suojaamiseksi valmista kansiota ei julkaista, vaan se on saatavissa joko toimeksiantajalta tai työn tekijältä.