



Line Virtanen

## Lintujen leukosyytit

Opas leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskentaan

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

14.4.2022

Tekijä	Line Virtanen
Otsikko	Lintujen leukosyytit – opas leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskentaan
Sivumäärä	51 sivua + 1 liite
Aika	14.4.2022
Tutkinto	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Eläinlääkäri Sanna Sainmaa Laboratoriohoitaja Merja Ranta Lehtori Merja Ojala
<p>Opinnäytetyön aiheena oli lintujen leukosyytit, niiden tunnistaminen sekä erittelylaskennan suorittaminen. Opinnäytetyössä perehdyttiin näiden aiheiden lisäksi lintujen käsittelyyn, verinäytteenottoon sekä veren sivelyvalmisteen valmistamiseen, sillä ne ovat oleellisia hoidettavan linnun turvallisuuden, hoidon ja tutkimuksen laadun sekä tutkimustulosten luotettavuuden kannalta. Lintujen leukosyyttien tunnistamisesta ja erittelylaskennan suorittamisesta laadittiin opas.</p> <p>Opinnäytetyö ja opas luotiin Korkeasaaren eläintarhalle. Opinnäytetyön aihe saatiin Korkeasaaren eläintarhan eläinlääkäriltä, joka halusi ottaa leukosyyttien erittelylaskennan käyttöön, mutta koki tarvitsevänsä enemmän tietoa aiheesta. Opinnäytetyön ja oppaan tarkoituksena oli toimia hyvänä pohjana leukosyyttien erittelylaskennan käyttöönottamiseen.</p> <p>Opinnäytetyö toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä. Opinnäytetyötä varten hankitun tiedon pohjalta luotiin tuotos eli opas lintujen leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskentaan. Oppaan sisältö laadittiin opinnäytetyön tietoperustan pohjalta. Oppaasta tehtiin eläinlääkäreiden sekä laboratoriohoitajan avustuksella Korkeasaaren käyttöön sopiva kokonaisuus. Opas sisältää työohjeita, kuten veren sivelyvalmisteen valmistaminen ja veren sivelyvalmisteen värjääminen. Opas sisältää valokuvia veren sivelyvalmisteen valmistamisesta sekä Suomen luonnossa esiintyvien lintulajien leukosyyteistä.</p> <p>Korkeasaaren eläintarhassa voidaan opinnäytetyön ja oppaan avulla ottaa leukosyyttien erittelylaskenta käyttöön. Opinnäytetyötä ja opasta voidaan hyödyntää myös perehdytyksissä. Korkeasaaren lisäksi opinnäytetyötä ja opasta voi hyödyntää eri alojen opiskelijat, kuten esimerkiksi eläinlääketieteeseen, eläintenhoitaja tai bioanalyttikko-opiskelijat sekä eläindiagnostiikan parissa työskentelevät ja muut aiheesta kiinnostuneet henkilöt.</p>	
Avainsanat	Lintujen leukosyytit, valkosolut, erittelylaskenta; opas

Author	Line Virtanen
Title	Avian leukocytes – a guide to leukocyte identification and differential count
Number of Pages	51 pages + 1 appendice
Date	14.4.2022
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Sanna Sainmaa, Veterinarian Merja Ranta, Biomedical laboratory scientist Merja Ojala, Lecturer
<p>The subject of the thesis was avian leukocytes, identification of avian leukocytes and differential count. In addition, the thesis contains information about bird handling techniques, avian venipuncture and blood smear techniques, which are relevant to the bird's safety, the quality of the treatment and analysis and the reliability of the test results.</p> <p>The purpose of the thesis was to create a guide to avian leukocyte identification and differential count. The thesis and the guide were created for Korkeasaari Zoo. The veterinarian at Korkeasaari Zoo suggested the subject for the thesis and the guide. The veterinarian wanted more information about avian leukocytes and the differential count so that they could start performing avian leukocyte differential counts.</p> <p>The objective was to create a thesis and a guide that would work as a good basis in the process of learning a new laboratory method and identification of avian leukocytes. This thesis was created as a practice-based thesis. The guide to leukocyte identification and differential count was created based on the knowledge base of the thesis. The guide was constructed with assistance from veterinarians and a biomedical laboratory scientist to make it and its content suitable for Korkeasaari Zoo. The guide consists of work instructions, like blood smear preparation, blood smear staining procedure and leukocyte differential count, and pictures of the making of blood smears and pictures of leukocytes found in Finnish bird species.</p> <p>As a result, a guide to leukocyte identification and differential count was created for Korkeasaari Zoo. Based on the thesis and the guide Korkeasaari Zoo will be able to make avian leukocyte differential count a part of their laboratory analysis. Others that could benefit of this thesis and the guide are students, for example veterinary students, veterinary technician students and biomedical laboratory science students, and people working in veterinary diagnostics or others who are interested in the subject.</p>	
Keywords	Avian leukocytes, white blood cells, differential count; guide

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja kehittämistehtävät	2
3	Hyvä opas	3
3.1	Rakenne ja sisältö	3
3.2	Kuvat, muotoilu ja kieli	4
3.3	Oppaan tarkistaminen ja käyttöönotto	4
4	Lintu potilaana	5
4.1	Lintujen käsittely	5
4.2	Verinäytteenotto linnuilta	6
4.2.1	Verinäytteenotto kaulalaskimosta	7
4.2.2	Verinäytteenotto kyynärlaskimosta	8
4.2.3	Verinäytteenotto jalkapöydän laskimosta	11
5	Lintujen verisolut	13
5.1	Punasolut	13
5.2	Trombosyytit	14
5.3	Leukosyytit	15
5.3.1	Heterofiilit	15
5.3.2	Eosinofiilit	16
5.3.3	Basofiilit	17
5.3.4	Lymfosyytit	18
5.3.5	Monosyytit	19
6	Lintujen verisolujen tutkimukset	20
6.1	Veren sivelyvalmisteen tutkimukset	21
6.1.1	Näytelaatu	22
6.1.2	Veren sivelyvalmisteen valmistus	22
6.1.3	Veren sivelyvalmisteen värjäys	24
6.2	Leukosyyttien erittelylaskenta	25
6.2.1	Leukosyyttien tunnistaminen	26
6.2.2	Viitearvoja	32
7	Opinnäytetyön toteuttaminen	37
7.1	Menetelmälliset lähtökohdat	38

7.2	Toimintaympäristö, kohderyhmä, hyödynsaajat	38
7.3	Lähtötilanteen kartoitus	38
7.4	Toiminnan etenemisen ja työskentelyn kuvaus	39
8	Opinnäytetyön tuotos	41
9	Pohdinta	42
9.1	Luotettavuus	42
9.1.1	Lähteiden luotettavuus	42
9.1.2	Opinnäytetyön ja tuotoksen luotettavuus	43
9.2	Eettisyys	43
9.2.1	Opinnäytetyön eettisyys	43
9.2.2	Toiminnan eettisyys	44
9.3	Tuotoksen tarkastelu	45
9.4	Tuotoksen hyödyntäminen	46
9.5	Kehittämisehdotukset	46
9.6	Ammatillinen kasvu	47
	Lähteet	48

## Liitteet

Liite 1. Opas leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskennan suorittamiseen

## 1 Johdanto

Hematologiset tutkimukset ovat keskeisessä asemassa ihmisten ja muiden nisäkkäiden terveydentilan tutkimuksissa, tautien diagnostiikassa sekä hoidossa. Lintujen hematologiaa on alettu tutkimaan huomattavasti myöhemmin ja lintujen hematologisia tutkimuksia suoritetaan edelleen harvemmin kuin nisäkkäiden. (Campbell 1988: 3; Hawkey & Dennett 1989: 7; Carisch & Stirn & Hatt & Federer & Hofmann-Lehmann & Riond 2019.) Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että linnut ovat edelleen suhteellisen harvinaisia potilaita eläinlääkärin vastaanotolla ja lintujen hematologisten tutkimusten suorittaminen vaatii erikoisosaamista. Hematologisten tutkimusten käyttöönotto lintujen terveydentilan tutkimuksissa, tautien diagnostiikassa ja hoidon seurannassa voisi nopeuttaa oikean diagnoosin saamista ja parantaa hoidon laatua. Hematologisilla tutkimuksilla saataisiin paljon arvokasta tietoa linnun todellisesta terveydentilasta, jolloin linnulle voidaan antaa juuri oikeanlaista hoitoa. Hematologisten tutkimusten laatu ja tutkimustulosten luotettavuus perustuu näytteenottajan ja tutkimuksen suorittavan henkilön osaamiseen. (Campbell 1988: 3; Hawkey & Dennett 1989: 7; Carisch ym. 2019.)

Verisolujen tutkimukset ja laskenta suoritetaan humaanipuolen laboratorioissa yleensä automaattisilla verenkuvaa-analysaattoreilla ja eläinpuolen laboratorioissa käytetään yleensä nisäkkäiden verelle tarkoitettuja verenkuvaa-analysaattoreita. Nämä analysaattorit eivät sovellu lintujen verisolujen tutkimuksiin, sillä lintujen verisolut ovat erilaisia kuin nisäkkäiden, ja analysaattoreiden toimintaperiaatteet on suunniteltu nisäkkäiden verisolujen tutkimuksiin. Tämän vuoksi lintujen verisolujen tutkimuksia joudutaan edelleen suorittamaan käsin veren sivelyvalmisteen mikroskooppitutkimuksena. Tästä syystä olisi erityisen tärkeää, että lintujen verisolujen tutkimuksia suorittavilla henkilöillä olisi tarvittava osaaminen tutkimusten suorittamiseen (Campbell & Dein 1984: 235; Savolainen & Tienhaara 2015a.)

Yhtenä terveydentilan tutkimusten tärkeimpänä ja eniten kertovana hematologisena tutkimuksena voidaan pitää leukosyyttien erittelylaskentaa. Leukosyytit toimivat osana immuunijärjestelmää ja ne reagoivat nopeasti esimerkiksi taudinaiheuttajiin ja tulehduksiin. Leukosyyttien määrän sekä jakaantumisen perusteella voidaan saada paljon tärkeää tietoa potilaan sen hetkisestä terveydentilasta.

Tämän opinnäytetyön aiheeksi valikoitui lintujen leukosyytit, niiden tunnistaminen sekä erittelylaskennan suorittaminen. Aihe saatiin Korkeasaaren eläintarhan eläinlääkäriltä, joka haluaisi ottaa lintujen leukosyyttien erittelylaskennan käyttöön. Hän toivoi aiheesta kattavan, käytännöllisen ja kompaktin oppaan, jonka pohjalta he voisivat ottaa kyseisen tutkimuksen käyttöön.

Korkeasaaren eläintarhassa on useita eksoottisia lintulajeja ja myös Suomen luonnossa esiintyviä lintulajeja. Opinnäytetyössä päätettiin keskittyä ensisijaisesti Suomen luonnossa esiintyvien lintulajien leukosyytteihin, sillä leukosyyttien erittelylaskenta olisi erityisen hyödyllinen tutkimus Korkeasaaren Villieläinsairaalassa hoidossa olevien luonnonvaraisten lintujen terveydentilan arvioinnin kannalta. Korkeasaaren Villieläinsairaala (Korkeasaari Zoo) on Suomen suurin luonnonvaraisten eläinten hoitola. Villieläinsairaalassa hoidetaan loukkaantuneita ja orpoja luonnonvaraisia eläimiä, jotta ne voidaan palauttaa luontoon. Opinnäytetyössä keskityttiin Suomen luonnossa esiintyviin lintulajeihin myös siitä syystä, että niiden leukosyyttejä on tutkittu huomattavasti vähemmän kuin eksoottisten lintujen ja lemmikkilintujen leukosyyttejä.

Opinnäytetyössä tutustutaan myös lintujen muihin verisoluihin, lintujen käsittelyyn ja lintujen verinäytteenottoon, sillä ne antavat hyvän perustan opinnäytetyön aiheelle ja ovat oleellisia hoidettavan linnun turvallisuuden, hoidon ja tutkimuksen laadun sekä tutkimustulosten luotettavuuden kannalta. Opinnäytetyön tuotos eli opas lintujen leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskentaan koostettiin opinnäytetyön tietoperustan pohjalta.

## **2 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja kehittämistehtävät**

Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda käytännöllinen opas lintujen leukosyyttien tunnistamiseen sekä erittelylaskennan suorittamiseen. Oppaaseen oli tarkoitus koota valokuvia eri lintulajien leukosyyteistä tunnistamisen tueksi. Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa helposti saatavilla olevaa, laadukasta sekä käytännöllistä tietoa lintujen leukosyyteistä ja niiden erittelylaskennasta. Tavoitteena oli luoda käytännöllinen tuotos, jota voitaisiin hyödyntää lintujen leukosyyttien tunnistamisessa. Opinnäytetyön kehittämistehtävänä oli luoda tuotos, jonka pohjalta Korkeasaaren eläintarha saisi tarvittavat perustiedot lintujen leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskennan suorittamiseen.

### 3 Hyvä opas

Opas on kooste valitusta aiheesta. Hyvä opas on koostettu luotettavasta tiedosta. Hyvä opas johdattelee aiheeseen, on käytännöllinen ja selkeässä sekä helposti ymmärrettävässä muodossa. Oppaan tulisi olla helposti saatavilla oleva ja helppokäyttöinen. Oppaat ovat erityisen hyödyllisiä esimerkiksi uusille työntekijöille ja sijaisille sekä tilanteissa, joissa otetaan uusi työmenetelmä käyttöön. Opasta voidaan hyödyntää esimerkiksi perehdytystilanteissa ja sen sisältämiä ohjeita voidaan käyttää työn tukena. (Makkonen & Lavikainen 2020.)

Ohje on teksti, joka kertoo, miten ja missä järjestyksessä jokin asia tulee tehdä. Ohjeiden tarkoituksena on auttaa sen käyttäjää suorittamaan työtehtävä parhaimmalla ja laadukkaimmalla tavalla. Työohjeilla varmistetaan, että työtehtävä suoritetaan aina samalla tavalla ja samassa järjestyksessä tekijästä riippumatta. Yhtenäinen suoritustapa varmistaa, että suorituksen laatu pysyy samana ja, että lopputulokset ovat verrattavissa toisiinsa. (Makkonen & Lavikainen 2020.)

#### 3.1 Rakenne ja sisältö

Oppaan ja työohjeiden rakenne sekä sisältö tulee suunnitella toimivaksi ja järkeväksi kokonaisuudeksi. Rakennetta selkeyttää havainnollistavat väliotsikot ja sisällysluettelo, jonka avulla käyttäjä löytää etsimänsä kohdan helposti ja nopeasti. Oppaan ensimmäisessä osiossa olisi hyvä kertoa oppaan sisällöstä ja aiheesta, sen käyttötarkoituksesta sekä kenen käyttöön opas on luotu. Mikäli opas sisältää työohjeita, niin työohjeita edeltävässä osiossa olisi hyvä käydä läpi mitä kyseisen työtehtävän suorittamiseen tarvitaan. (Kotimaisten kielten keskus; Makkonen & Lavikainen 2020; Työterveyslaitos 2021.)

Tekstin jäsentely on tärkeää, jotta oppaan sisältö ja työohjeet etenevät johdonmukaisesti ja kronologisessa järjestyksessä. Työvaiheiden kronologinen järjestys on tärkeää, jotta työohjeita on helpompi seurata ja työvaiheet suoritetaan oikeassa järjestyksessä. Työvaiheet voidaan laatia esimerkiksi luetteloksi, jotta eri vaiheet erottuvat toisistaan selkeästi. (Kotimaisten kielten keskus; Makkonen & Lavikainen 2020; Työterveyslaitos 2021.)

Hyvän oppaan sisältö on tarpeeksi kattava ja suunniteltu kohderyhmälle sopivaksi. Liian pitkästä ja yksityiskohtaisesta oppaasta tulee herkästi epäkäytännöllinen, sillä se voi olla liian raskas luettavaksi ja sieltä voi olla vaikea löytää tarvitsemaansa tietoa.



Oppaasta kannattaa mieluummin tehdä lyhyt ja ytimekäs, josta löytyy kaikki tärkeimmät asiat eikä mitään ylimääräistä. Lyhyeen ja ytimekkääseen oppaaseen ei ymmärrettävästi mahdu paljoa tekstiä ja sisältö tulisi laatia oppaan käyttäjien ammattitaito huomioon ottaen. Tarkoittaen, että käyttäjien ammattitaitoihin kuuluvia asioita ei välttämättä tarvitse mainita oppaassa. Kaikki työmenetelmän kannalta oleelliset työvaiheet tulee löytyä hyvästä oppaasta, vaikka joitakin vaihteita voidaan pitää itsestään selvinä. (Kotimaisten kielten keskus; Makkonen & Lavikainen 2020; Työterveyslaitos 2021.)

Oppaan sisältö ja laajuus on hyvin riippuvainen siitä, kenelle opas on suunniteltu. Joillekin riittää hyvin yksinkertaistettu versio, kun toiset tarvitsevat laajemman version. Mikäli opas tulee useamman eri ammattiryhmän käyttöön, niin opas voisi sisältää pikaohjeen sekä pidemmän yksityiskohtaisemman ohjeen. Lisäksi on hyvä selventää, miksi mitään tehdään ja mitä työvaiheissa tapahtuu. Työvaiheiden lisäksi ohjeissa on hyvä olla vinkkejä, neuvoja sekä varoituksia. (Kotimaisten kielten keskus; Makkonen & Lavikainen 2020; Työterveyslaitos 2021.)

### 3.2 Kuvat, muotoilu ja kieli

Hyvässä oppaassa ja ohjeessa on käytetty kuvia ja erilaisia muotoiluja asioiden hahmottamisen ja ymmärtämisen tukena. Pelkän tekstin perusteella voi olla vaikea ymmärtää tai hahmottaa tiettyjä asioita ja silloin voi sattua väärinymmärryksiä. Kuvia käyttäessä tekstiä ei tarvitse käyttää yhtä paljon, jolloin lopputulos on selkeämpi ja yksinkertaisempi. Hahmottamisessa ja selkeyttämisessä auttaa myös esimerkiksi erilaiset luettelot, kappalejaot ja numerot. (Kotimaisten kielten keskus; Makkonen & Lavikainen 2020; Työterveyslaitos 2021.)

Hyvässä oppaassa ja ohjeissa käytetään helposti ymmärrettävää yleiskieltä. Ohjeet kannattaa kirjoittaa nykyajassa eli preesensmuodossa ja verbit kannattaa kirjoittaa käskymuodossa. Täytesanojen käyttöä tulisi välttää ja asiat tulisi selittää yksinkertaisesti, tarkasti sekä ilman tulkinnanvaraa. Käytettävät termit, erikoissanastot sekä lyhenteet tulee valita tarkasti käyttäjille sopiviksi ja niiden tarkoitus tulee avata. (Kotimaisten kielten keskus; Skolverket; Työterveyslaitos 2021.)

### 3.3 Oppaan tarkistaminen ja käyttöönotto

Erityisesti ohjeen, kuten työohjeen, toimivuus ja käytännöllisyys kannatta tarkistuttaa tarkistuskierroksella ennen sen käyttöönottamista. Koehenkilönä kannattaa käyttää

sellaista henkilöä, joka ei ole lukenut ohjetta aikaisemmin tai auttanut sen laatimisessa. Ohjeen tarkistus suoritetaan siten, että koehenkilölle annetaan ohje, jonka mukaan hänen tulisi toimia. Tarkistuskierroksen avulla nähdään, miten ohje todellisuudessa toimii, onko se käytännöllinen ja ohjeesta voidaan saada rehellistä ja rakentavaa palautetta koehenkilöltä. (Työterveyslaitos 2021; Skolverket.)

Tarkistuskierroksessa saatujen tulosten, huomioiden sekä palautteiden avulla voidaan selvittää, mitkä asiat oppaassa ja ohjeissa toimivat ja mitkä eivät. Puuttuuko ohjeesta esimerkiksi jotain oleellista vai onko ohje selkeä ja käytännöllinen. Näiden tietojen avulla ohjeita voidaan muokata entistä sopivammaksi ja toimivaksi kokonaisuudeksi. Mahdollisten muokkausten jälkeen tarkistuskierros voidaan uusida, jotta nähdään, miten muokkaukset vaikuttivat ohjeiden toimivuuteen. Ohje kannattaa ottaa käyttöön vasta, kun tarkistuksesta saadaan hyviä tuloksia ja palautetta. (Työterveyslaitos 2021; Skolverket.)

## 4 Lintu potilaana

Eläinlääketieteessä linnut lasketaan eksoottisiksi eläimiksi ja niiden hoitamiseen vaaditaan erikoisosaamista. Lintuja hoitavalla eläinlääkärillä ja eläintenhoitajalla tulisi olla hyvät perustiedot hoidettavasta lintulajista ja sen ominaisuuksista. Linnut peittävät kivun ja sairauden kunnes ne ovat niin sairaita tai kipeitä etteivät enää kykene peittämään sitä. Linnun todellista terveydentilaa on hankala määrittää pelkästään linnun ulkoisen olemuksen tai tutkimuksen perusteella. Tämän takia laboratoriotutkimukset ovat tärkeitä lintujen terveydentilan ja hoidon arvioinnin kannalta. (Campbell 2007; Sabater & Forbes 2014; Suomen eksoottisten eläinten harrastajayhdistysten liitto ry.)

### 4.1 Lintujen käsittely

Lintujen parissa työskennellessä tulisi huomioida niiden turvallinen ja oikeaoppinen käsittely. Turvallinen käsittely varmistaa, ettei lintu pääse vahingoittamaan itseään tai käsittelijää ja että käsittelystä aiheutuisi mahdollisimman vähän stressiä linnulle. Turvallisen käsittelyn perusteena on linnun pään, jalkojen sekä siipien hallitseminen niiden ollessa linnulle luonnollisessa asennossa. Ote linnusta tulisi olla tarpeeksi varma, ettei lintu pääse otteesta irti, mutta riittävän hellävarainen, jotta lintu kykenee hengittämään normaalisti. Hengittämistä varten linnun rintalastan tulee pystyä liikkumaan vapaasti. Lintujen käsittelyssä voidaan käyttää apuna pyyhettä, joka

kääritään linnun kehon ympärille niin, että siivet jäävät pyyhkeen sisälle luonnolliseen asentoon. Pyyhettä voidaan hyödyntää myös linnun silmien peittämiseen, sillä jotkin linnut rauhoittuvat ja ovat helpommin käsiteltävissä, kun niiden silmät peitetään. Lintu tulisi pitää pystyasennossa, jotta se pystyy hengittämään normaalisti. (Campbell 2007; Whitworth & Newman & Mundkur & Harris 2007: 51–52, 59.)

Linnut stressaantuvat herkästi, joten käsittelyaika tulisi pitää mahdollisimman lyhyenä. Erityisesti luonnonvaraisten, sairaiden tai käsittelyyn tottumattomien lintujen käsittelyaika tulisi pitää lyhyenä. Käsittelyn aiheuttama stressi voi vaikuttaa negatiivisesti linnun terveyteen ja voi aiheuttaa muutoksia hematologisten tutkimusten tuloksiin. Eri lintulajeja käsitellessä tulisi huomioida kunkin lajin erikoispiirteet. Petolintuja käsitellessä tulisi esimerkiksi kiinnittää erityistä huomiota jalkojen kiinnipitoon, sillä ne voivat kynsillään vahingoittaa käsittelijää. Pitkä- ja terävänokkaisten lintujen käsittelyssä tulisi kiinnittää erityistä huomiota pään ja nokan kiinnipitoon, jottei lintu pääse vahingoittamaan käsittelijää nokallaan. (Campbell 2007; Whitworth ym. 2007: 51–52, 59.)

## 4.2 Verinäytteenotto linnuilta

Näytteenotto ja näytteen laatu vaikuttavat suoraan tutkimustuloksiin ja niiden luotettavuuteen. Tutkimustulosten luotettavuus on tärkeää diagnoosin, hoidon ja hoidon seurannan kannalta. (Simundic & Lippi 2012: 145; World Health Organization 2010: 3.)

Verinäytteenotto tulisi suorittaa turvallisesti, laadukkaasti ja nopeasti. Verinäytteenotto tulisi suunnitella hyvin etukäteen, jotta kaikki sitä varten tarvittavat tarvikkeet voidaan ottaa valmiiksi esille ja asettaa niin, että ne ovat helposti saatavilla. Näytteenottajan tulisi huolehtia hyvästä käsihygieniasta eli kädet tulisi pestä ja desinfioida jokaisen potilaan välissä ja ennen näytteenottoa. Avonäytteitä ottaessa tulisi käyttää kertakäyttökäsineitä. Näytteenottoa tulisi desinfioida ennen näytteenottoa ja desinfioinnin jälkeen pistokohtaan ei saa enää koskea. Jos pistokohtaan kosketaan desinfioinnin jälkeen, tulisi desinfiointi suorittaa uudestaan. Näytteenottoon tulisi käyttää 21–25 G neulaa, verisuonen koon mukaan. Verisuonen staasaus tulisi pitää mahdollisimman lyhyenä hemolyysin välttämiseksi. Näytteenotossa tulisi huomioida oikea näytteenottojärjestys mahdollisen lisäainekontaminaation ehkäisemiseksi. Näytteenoton jälkeen pistokohtaa tulee painaa hetken mustelman ehkäisemiseksi ja verinäyteputkia tulisi sekoittaa huolellisesti, mutta hellävaraisesti verinäyteputkia käännettäessä. (Campbell & Dein 1984: 224–225; Laakkonen 2016: 120–121, 123, 202; World Health Organization 2010: 12, 14–15.)

Lintujen kokonaisverimäärä on suunnilleen 10 % niiden elinpainosta. Forbesin (1998) ja Walbergin (2001: 72) mukaan verinäytteeksi voidaan turvallisesti ottaa enintään 10 % verta linnun kokonaisverimäärästä. 10 % kokonaisverimäärästä on sama kuin 1 % linnun kokonaispainosta. Laakkosen (2016: 121) mukaan pienikokoisilta linnuilta voitaisiin turvallisesti ottaa enintään muutama prosentti verta linnun kokonaispainoon nähden. Suurempi verinäytemäärä voisi johtaa huomattavaan nestehukkaan, joka voi pahimmassa tapauksessa aiheuttaa pysyviä kudosisvaurioita.

#### 4.2.1 Verinäytteenotto kaulalaskimosta

Linnuilta verinäyte voidaan ottaa oikeanpuoleisesta kaulalaskimosta (*Vena jugularis dextra*). Verinäyte kannattaa ottaa oikeanpuoleisesta kaulalaskimosta, sillä se on yleensä vasemmanpuoleista kaulalaskimoa isompi ja joiltain lintulajeilta puuttuu kokonaan vasemmanpuoleinen kaulalaskimo. Monella lintulajilla on kaulan alueella höyhenetön alue, joka helpottaa näytteenottoa (kuva 1). (Campbell & Dein 1984: 224–225; Forbes 1998; Laakkonen 2016: 120–121, 123, 202.)



Kuva 1. Vasemmalla kyljellään makaavan nukutetun viirupöllön kaulan höyhenetön alue, jossa kaulalaskimo sijaitsee.

Forbesin (1998) mukaan kaulalaskimo on suositeltava näytteenottokohta erityisesti pienikokoisille linnuille. Hänen mukaansa mustelmien muodostuminen näytteenottokohtaan on satunnainen ongelma, sillä kyseiselle alueelle on hankala asettaa painetta mustelmien ennaltaehkäisemiseksi. Campbellin (2007) mukaan kaulalaskimon verinäytteenottoon kannattaa käyttää ruiskumenetelmää. Hän suosittelee siihen lyhyttä 22–25 G neulaa ja 3–6 ml ruiskua.

Kun linnusta on saatu hyvä ote niin sen päätä kannattaa venyttää hieman toista olkapäätä kohti, jotta kaulalaskimo asettuisi paikoilleen ja näytteenotto onnistuisi helpommin. Kaulan sulattoman kohdan löytämiseksi ja hyvän näkyvyyden mahdollistamiseksi voidaan kostuttaa näytteenottokohtaa ympäröiviä sulkia desinfioinnin yhteydessä. Laskimo voidaan staasata ja stabiloida asettamalla painetta pistokohdan alapuolelle linnun olkapään yläpuolelle, josta laskimo kulkee (kuva 2). Kaulalaskimo on hyvin liikkuvainen, joten sen stabiloiminen ennen pistämistä on tärkeää näytteenoton onnistumisen kannalta. Kun neula on suonessa, ruiskun mäntää vedetään hitaasti antaen veren virrata ruiskuun. Jos mäntää vedetään liian nopeasti, niin se aiheuttaa kovan alipaineen, joka voi lyyhittää verisuonen niin, ettei verinäytettä saada. Liian kova alipaine aiheuttaa myös mustelmia ja verinäytteen hemolyyysiä. Vakuumitekniikkaa ei suositella liiallisen alipaineen vuoksi. (Campbell 2007.)



Kuva 2. Viirupöllön kaulalaskimo näkyy sinertävänä viivana, jota nuoli osoittaa. Lintua paikoillaan pitävä henkilö pitää kiinni pöllön siivestä ja olkapää erottuu kuvassa osittain höyhenettömänä, kaulan höyhenettömän alueen vasemmalla puolella.

#### 4.2.2 Verinäytteenotto kyynärlaskimosta

Toinen mahdollinen näytteenottokohta on kyynärlaskimo (*Vena cutanea ulnaris superficialis*). Kyynärlaskimo on pinnallinen laskimo, joka sijaitsee siiven sisäpuolella



kyynärpään vieressä (kuva 3). Kyynärlaskimo on helppo löytää ja siihen on helppo päästä käsiksi. (Campbell & Dein 1984: 224–225; Laakkonen 2016: 120–121, 123, 202.) Forbesin (1998) mukaan tämä on sopiva näytteenotto kohta yli 150 g painoisille linnuille.



Kuva 3. Nukutettu viirupöllö, joka on asetettu makaamaan selällään. Viirupöllön oikea siipi on asetettu niin, että kyynärlaskimon kohta näkyy. Höyheniä on kostutettu ja aseteltu niin, että laskimo erottuisi paremmin.

Kyseisestä kohdasta verinäytettä ottaessa linnun käsittely ja kiinnipito on erityisen tärkeää, jottei lintu pääse rimpuilemaan tai liikkumaan näytteenoton aikana. Linnun rauhoittaminen tai nukuttaminen näytteenottoa varten voi tämän takia olla hyvä vaihtoehto monelle linnulle. Vaadittu näytteenottoasento on sellainen, joka saa monet linnut yrittämään pois otteesta räpiköimällä. Näytteenoton kannalta paras asento olisi sellainen, jossa lintu olisi selällään. Lintu tulisi saada sellaiseen asentoon, jossa siipi venytetään auki, pois päin linnun vartalosta, niin että linnun kyynärpää on lähes kokonaan ojennettuna (kuva 4). (Campbell 2007.)



Kuva 4. Lähikuva viirupöllön kyynärlaskimosta. Nuoli osoittaa kyynärlaskimoa, joka näkyy punertavana ja kulkee radiusen ja ulnan yli kyynärpään oikealla puolella.

Kyynärlaskimo näkyy yleensä hyvin, kun näytteenottoalue kostutetaan desinfiointiaineella. Näytteenotto kannattaa suorittaa ruiskumenetelmällä (kuva 5), mutta avomenetelmää voidaan myös käyttää. Ruiskumenetelmä on yleensä nopeampi ja sen takia suositeltavampi näytteenottomenetelmä erityisesti, jos näytteenotto suoritetaan linnun ollessa hereillä. Ruiskumenetelmässä neulaa voidaan tukea vapaan käden etusormen avulla. Näytteenottaja voi asettaa etusormen linnun kyynärluun mukaisesti sen viereen, jolloin neulaa voi lepuuttaa sormen päällä pistäessä ja näytettä ottaessa. (Campbell 2007.)





Kuva 5. Ruiskutekniikalla suoritettu verinäytteenotto kyynärlaskimosta nukutetulta hiiripöllöltä, joka on asetettu makaamaan selälleen, vasen siipi avattuna sivulle.

#### 4.2.3 Verinäytteenotto jalkapöydän laskimosta

Kolmas suositeltu näytteenottokohta on jalkapöydän (tarsometatarsuksen) laskimo (*Vena metatarsalis plantaris superficialis*), joka sijaitsee jalkapöydän sisäpuolella (kuva 6). Jalkapöydän laskimo on usein kooltaan pienempi kuin kyynärlaskimo. Tämä näytteenottokohta ei ole yhtä herkkä mustelmien muodostumiselle kuin kaulalaskimo tai kyynärlaskimo, mikä johtunee siitä, että jalka on helpompi stabiloida ja jalkapöydän laskimo on ympäröivien lihasten suojassa. (Forbes 1998; Pollock 2015; Samour 2016: 73, 75.) Forbesin (1998) mukaan tämä on hyvä näytteenottokohta erityisesti isokokoisille linnuille, kuten joutsenille (kuva 6).





Kuva 6. Laulujoutsenen vasen jalka. Räpylän ja nilkan välissä sijaitsee jalkapöytä, jossa kulkee jalkapöydän laskimo. Nuoli osoittaa laskimoa ja se erottuu pienenä kohoumana ihossa.

Lintu tulisi pitää sellaisessa asennossa, joka mahdollistaa näytteenoton jalasta. Jalka tulisi ojentaa ja stabiloida niin, ettei lintu pääse potkimaan tai muuten liikuttamaan jalkaa. Neula kannattaa pistää suoneen pienessä kulmassa, suonen mukaisesti (kuva 7). Näyte voidaan ottaa avo- tai ruiskunäytteenä. (Campbell 2007.)



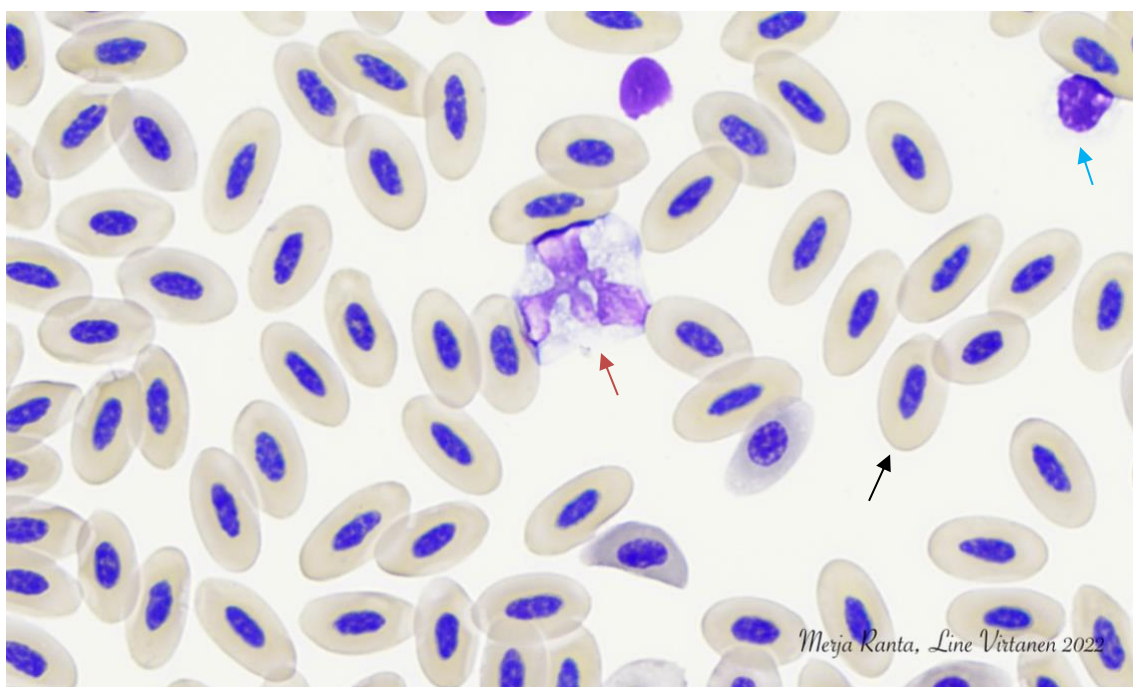
Kuva 7. Verinäytteenotto laulujoutsenen jalkapöydän laskimosta. Verinäyte otetaan avonäytteenä mikroputkeen.

## 5 Lintujen verisolut

Lintujen verisolut eroavat nisäkkäiden verisoluista siten, että kaikki lintujen verisolut ovat tumallisia. Lintujen leukosyytit ovat myös erilaisia kuin nisäkkäiden leukosyytit. Näiden eroavaisuuksien lisäksi lintulajien ja jopa yksilöiden välillä voi olla huomattavia eroja esimerkiksi leukosyyttien ulkonäössä, määrässä sekä jakaantumisessa. (Campbell & Dein 1984: 227–228; Campbell 1988: 3, 8–9; Hawkey & Dennet 1989: 7; Carisch ym.2019.)

### 5.1 Punasolut

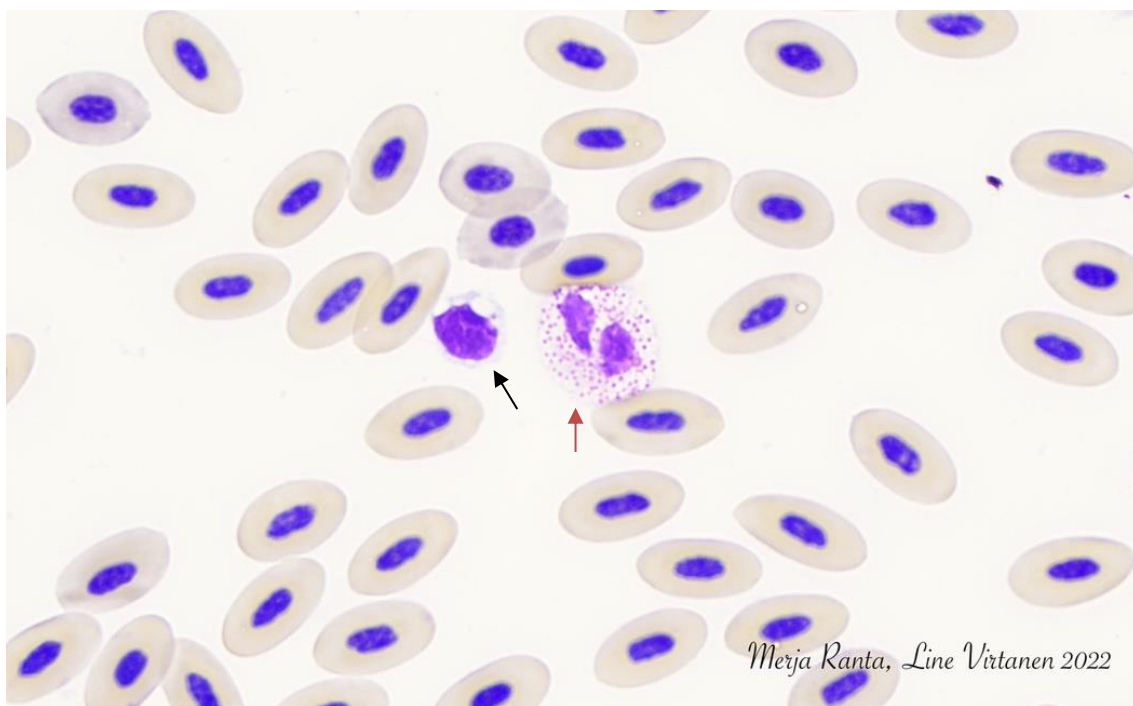
Lintujen punasolut ovat tumallisia ja ne ovat kooltaan suurempia kuin nisäkkäiden punasolut. Punasolujen koko vaihtelee lintulajista riippuen, mutta usein punasolut ovat 10,7–15,8  $\mu\text{m}$  pitkiä ja 6,1–10,2  $\mu\text{m}$  leveitä. Kypsät punasolut ja niiden tumat ovat muodoltaan soikeita ja tuma sijaitsee sentraalisesti eli keskellä solua (kuva 8). Tuman kromatiini on tasaista ja tiheytyy solun vanhetessa. Lintujen punasolut kypsyvät nopeammin kuin nisäkkäiden punasolut. Lintujen punasolujen elinaika on lyhyempi kuin nisäkkäiden punasoluilla. Kanojen punasolut voivat elää noin 35 päivää. Punasolujen tärkein tehtävä on hapen kuljettaminen. (Campbell 2007; Sabater & Forbes 2014: 512.)



Kuva 8. Musta nuoli osoittaa laulujoutsenen punasolua, punainen nuoli monosyyttiä ja sininen nuoli trombosyyttiä.

## 5.2 Trombosyytit

Lintujen trombosyytit ovat tumallisia. Trombosyyttejä on veressä määrällisesti enemmän kuin leukosyyttejä, mutta vähemmän kuin punasoluja. Trombosyytit ovat kooltaan yleensä pienempiä kuin punasolut. Ne ovat muodoltaan pyöreitä tai ovaaleja, ja niiden tumat ovat myös pyöreitä tai ovaalin muotoisia (kuva 9). Tuman kromatiini on tiheää. Kypsien trombosyyttien sytoplasma on väritöntä tai haalean harmaata ja se on usein hieman verkkomaisen näköistä. Aktivoituneiden tai fagosyyttisten trombosyyttien sytoplasmassa saattaa esiintyä vakuoleja. Trombosyyttien sytoplasmassa voi usein nähdä yhden tai useamman selkeän eosinofiilisen granulan. Sytoplaskan ulkonäkö on tärkeä trombosyyttien ja pienten kypsien lymfosyyttien erottamiseen toisistaan. (Campbell 2007; Sabater & Forbes 2014: 517.)



Kuva 9. Musta nuoli osoittaa laulujoutsenen trombosyyttiä, punainen nuoli heterofiilia ja niiden ympärillä on punasoluja.

Lintujen trombosyytit osallistuvat hemostaasiin eli veren hyytymisjärjestelmään. Kuten nisäkkäidenkin trombosyytit, ne erittävät tromboplastiinia, jolla on tärkeä rooli veren hyytymisjärjestelmässä. Aktivoituneet trombosyytit saattavat kasaantua yhteen ja solujen reunat saattavat olla epäselkeitä. Aktivoituneilla trombosyyteillä saattaa esiintyä granuloiden sekä solun surkastumista ja kromatiinin tiivistymistä. Jotkin tutkimukset osoittavat Campbellin (2007) mukaan, että trombosyytit kykenevät fagocytoimaan. Campbellin (2007) mukaan trombosyytit voisivat teoreettisesti toimia epäspesifisinä

fagosyytteinä, jotka puhdistavat erilaisia tuntemattomia kappaleita verestä, kuten bakteereita. Trombosyytit saattavat siis toimia osana lintujen luontaista vastustuskykyä. (Campbell 2007; Sabater & Forbes 2014: 517.)

### 5.3 Leukosyytit

Leukosyytit toimivat osana lintujen immuunijärjestelmää. Lintujen leukosyytit jaetaan heterofiileihin, eosinofiileihin, basofiileihin, lymfosyytteihin sekä monosyytteihin. Eri leukosyyteillä on eri toimintoja ja tehtäviä. Leukosyyttien ulkonäkö voi vaihdella lintulajin ja jopa yksilön mukaan. (Campbell 2007.)

Leukosytoosi eli leukosyyttien suurentunut määrä voi viitata tulehdukseen, traumaan, myrkytystilaan, sisäiseen verenvuotoon tai leukemiaan. Krooniseen tulehdukseen viittaavassa leukosytoosissa monosyyttien, heterofiilien sekä basofiilien määrä on suurentunut. Akuuttiin tulehdukseen viittaavassa leukosytoosissa heterofiilien ja mahdollisesti monosyyttien määrä on suurentunut. Mykoplasma saattaa esimerkiksi aiheuttaa lymfosyyttien vähäisyyttä ja heterofiilien, monosyyttien sekä eosinofiilien määrän suurentumista. (Campbell 2007; Sengul ym. 2015: 154.)

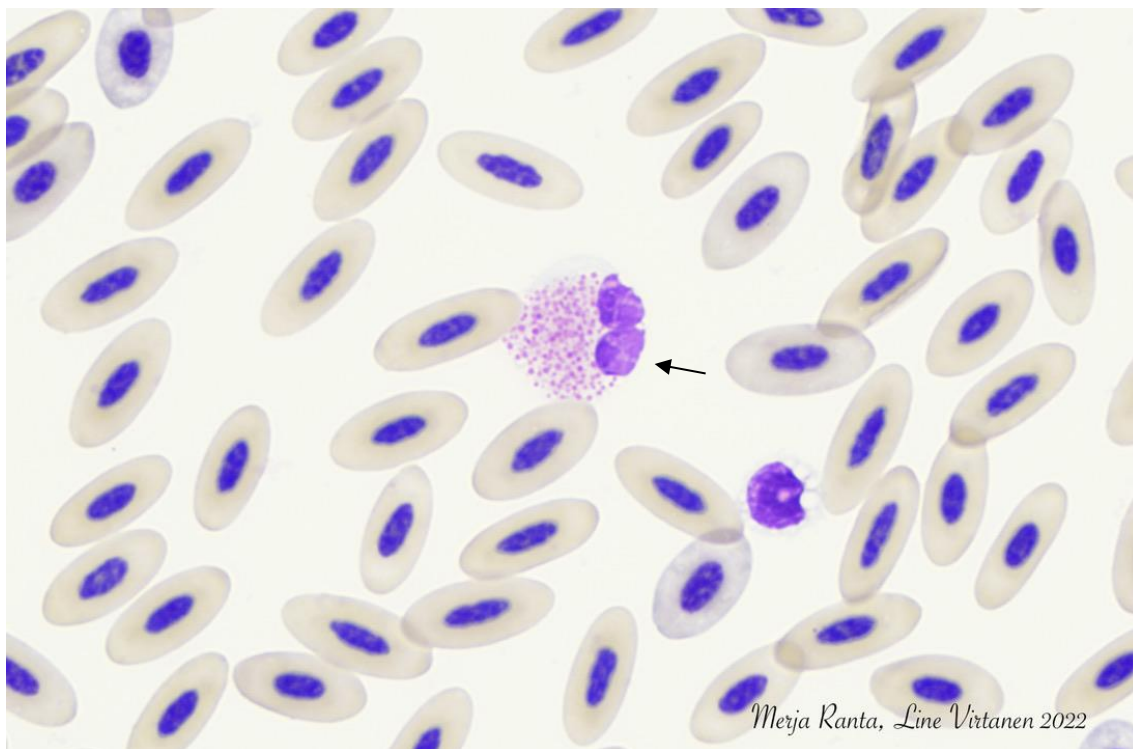
#### 5.3.1 Heterofiilit

Heterofiilit ovat monen lintulajin yleisin leukosyytti. Heterofiileistä ajatellaan usein, että ne ovat ikään kuin vastine nisäkkäiden neutrofiileille, mutta niissä on funktionaalisia eroja. Heterofiilit osallistuvat tulehdusreaktioihin ja toimivat fagosyytteinä, kuten nisäkkäidenkin neutrofiilit. Heterofiilien granulat sisältävät lysotsyymiä ja proteiineja, joita tarvitaan bakterisidiseen eli bakteereita tuhoavaan toimintaan. Pendl (2016: 97) mukaan trombosyytit ja heterofiilit ovat yhdessä NK-solujen eli natural killer-solujen kanssa tärkeimmät solukomponentit luontaisessa vastustuskyvyssä. Heteropenia, eli heterofiilien vähäisyys, voi esimerkiksi viitata akuuttiin tulehdukseen tai virusinfektioon. (Campbell 2007; Campbell 1988: 10.)

Heterofiilit (kuva 10) ovat normaalisti pyöreänmuotoisia soluja, joiden sytoplasma on miltei väritön. Niiden sytoplasmassa on eosinofiilisiä granuloita, jotka ovat tavallisesti sauvamuotoisia, mutta joillakin lajeilla ne voivat olla enemmän pyöreänmuotoisia. Kypsien heterofiilien tumat ovat usein jakautuneet kahteen tai kolmeen lohkokoon. Tumien sisältämä kromatiini on karkeaa ja kokkareista ja se värjäytyy violetiksi. Tuma saattaa usein jäädä osittain granuloiden alle piiloon. Epäkypsillä heterofiileillä on enemmän basofiilista sytoplasmaa kuin kypsillä heterofiileillä, niiden tuma ei ole



segmentoitunut ja niiden granula on epäkypsää. Heterofiilien toksiset muutokset voivat kertoa systeemisestä sairaudesta. Toksisissa heterofiileissa voi olla basofiilinen sytoplasma, vakuoleja, epänormaaleja granuloita ja surkastunut tuma. (Campbell 2007; Campbell 1988: 10–11.)

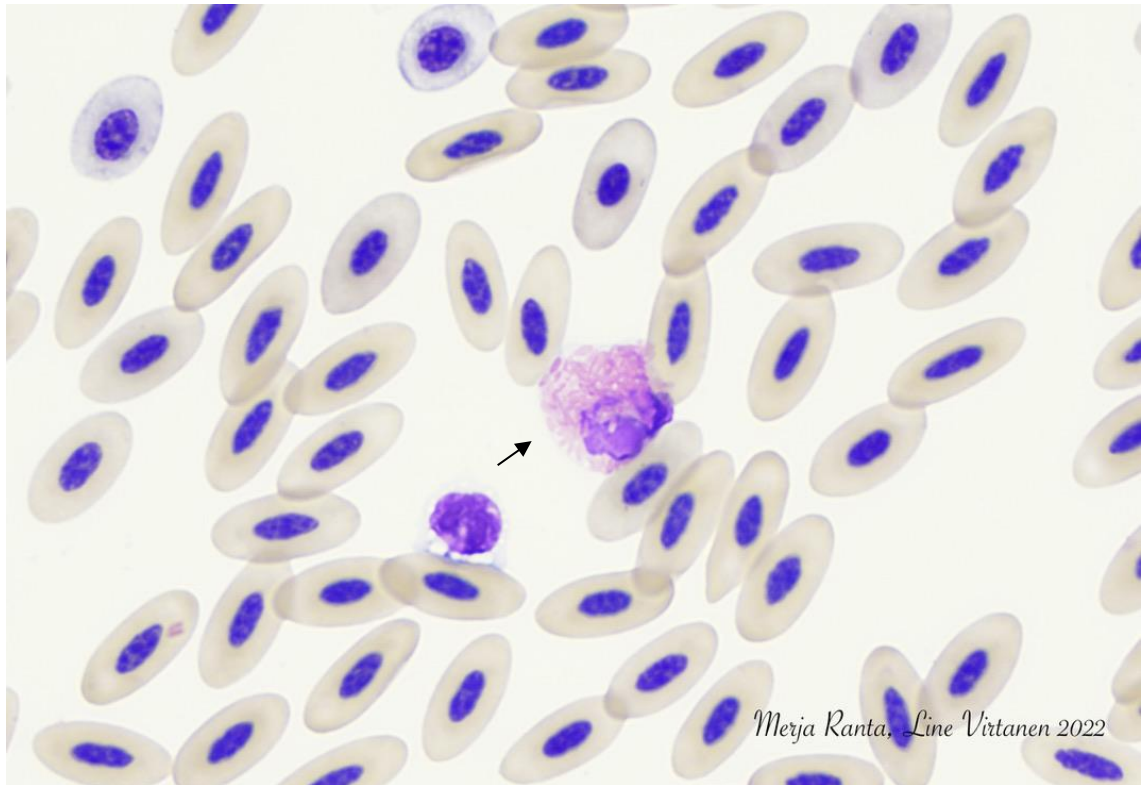


Kuva 10. Nuoli osoittaa laulujoutsenen heterofiiliä. Heterofiilin granulat ovat pyöreitä ja eosinofiilisiä ja sytoplasma on hyvin haalea väriltään. Tuma on kaksilohkoinen.

### 5.3.2 Eosinofiilit

Vaikka kyseisiä leukosyyttejä kutsutaan eosinofiileiksi, niin ne saattavat käyttäytyä ja toimia eri tavalla kuin nisäkkäiden eosinofiilit. Eosinofiilien tarkkaa funktiota ei vielä tiedetä, mutta tutkimusten mukaan ne osallistuvat viivästyneeseen allergiseen reaktioon, johon nisäkkäiden eosinofiilit eivät osallistu. Eosinofiilien reaktio tulehduksissa on ollut vaihtelevaa, minkä vuoksi niitä ei ole voitu luotettavasti yhdistää tiettyyn immuunireaktion tehtävään. Eosinofiilien toiminta on voitu yhdistää myös sisä- ja ulkoloistartuntoihin, mutta loistartunnat eivät välttämättä suoraan aiheuta eosinofiliaa. Eosinofilian eli eosinofiilien suurentuneen määrään aiheuttajaa ei tarkallaan tiedetä. Eosinopeniaa eli eosinofiilien vähäistä määrää on vaikea havaita linnuissa. Mikäli eosinopenia onnistutaan havaitsemaan, niin se voidaan yleensä yhdistää stressireaktioon. (Campbell 2007.)

Eosinofiilit (kuva 11) ovat yleensä pyöreänmuotoisia, mutta niiden muoto voi vaihdella. Sytoplasma on kirkasta, haalean sinertävää ja siinä on pyöreitä vahvasti eosinofiilisiä granuloita. Joillakin lintulajeilla eosinofiilien granulat voivat olla enemmän ovaalin- tai sauvanmuotoisia. Eosinofiilien tumat ovat jakautuneet lohkoihin ja niiden kromatiini on karkeaa ja kokkareista. Tumat värjäytyvät violetiksi ja yleensä hieman sinisemmäksi ja selvemmin havaittaviksi kuin heterofiilien tumat. (Campbell 1988: 11.)

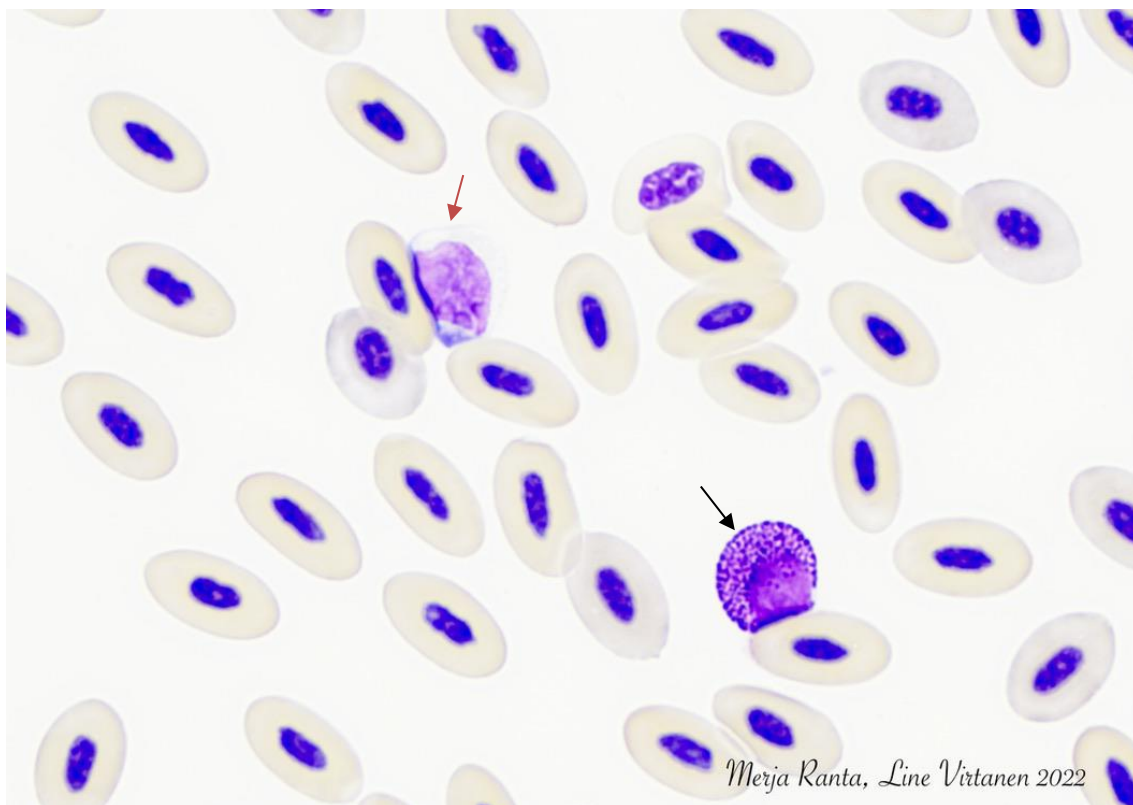


Kuva 11. Nuoli osoittaa laulujoutsenen eosinofiiliä. Eosinofiilin granulat ovat sauvamukotoisia ja vahvasti eosinofiilisiä, sytoplasma on väriltään haalea ja tuma jää osittain granuloiden alle piiloon. Tuman kromatiini on värjäytynyt hieman tummemmaksi kuin laulujoutsenen heterofiilin kromatiini.

### 5.3.3 Basofiilit

Lintujen basofiilit tuottavat, säilyttävät sekä vapauttavat histamiinia eli niillä saattaa olla samankaltaiset funktiot kuin nisäkkäiden basofiileillä. Basofiilit saattavat siis osallistua välittömiin allergisiin reaktioihin, trombosyyttien aktivaatioon, turvotuksen käynnistämiseen ja veren hyytymiseen. Vaikka basofiilit näyttävät osallistuvan akuutin tulehduksen ensimmäiseen vaiheeseen, niin se ei usein esiinny basofiliana. Basofilia eli basofiilien suurentunut määrä voi silti olla varhaisen tulehduksen tai välittömän allergisen reaktion indikaattori. Basofilia on tosin hyvin harvinainen löydös. (Campbell 2007.)

Basofiilit (kuva 12) ovat tavallisesti pyöreänmuotoisia soluja, joiden tuma on pyöreä ja sijaitsee solun keskellä. Basofiilien tumat värjäytyvät vaalean siniseksi, mutta jäävät usein granuloiden alle piiloon. Granulat värjäytyvät basofiilisesti. (Campbell 1988: 11.)



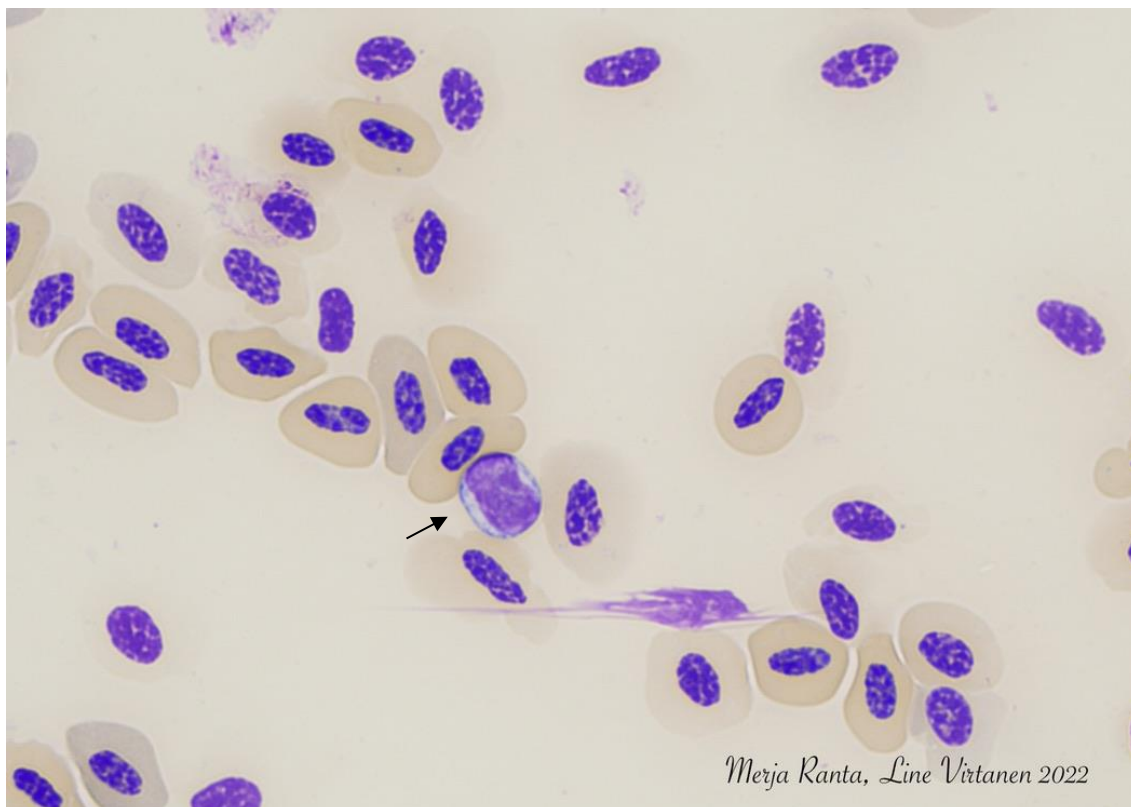
Kuva 12. Musta nuoli osoittaa laulujoutsenen basofiilia ja punainen nuoli lymfosyyttiä. Basofiilin granula on pyöreänmuotoista ja granulat värjäytyvät basofiilisesti. Granulat täyttävät solun ja tuma jää osittain granuloiden alle piiloon.

#### 5.3.4 Lymfosyytit

Lymfosyytit ovat joidenkin lintulajien yleisimpiä leukosyyttejä. Lintujen lymfosyytit toimivat osana hankittua vastustuskykyä, joka perustuu antigeenispesifisiin mekanismeihin. Lymfocytoosin eli lymfosyyttien suurentuneen määrän aiheuttajana voi olla antigeeninen ärsyke. Lymfopenian eli lymfosyyttien vähäisen määrän aiheuttajana voi olla glukokortikoidien liiallinen määrä ja eri myrkytystilat, kuten sinkkimyrkytys. (Campbell 2007; Pendl 2016: 97.)

Lymfosyytit (kuva 13) ovat useimmiten muodoltaan pyöreitä, mutta niiden muoto voi vaihdella. Lymfosyyttien tumat ovat useimmiten pyöreitä ja ne sijaitsevat solun keskellä. Tuman kromatiini on tiheää tai verkkomaista. Verkkomaisen kromatiinin omaavien lymfosyyttien tumalima eli protoplasma on yleensä väritöntä ja tiheän kromatiinin omaavilla lymfosyyteillä tumalima on yleensä tummaa. Lymfosyytit jaetaan

kokonsa puolesta kolmeen eri kategoriaan: pieniin, keskikokoisiin ja suuriin lymfosyytteihin. Yleisimpiä ovat pienet ja keskikokoiset lymfosyytit. Pienillä lymfosyyteillä on yleensä vähän sytoplasmaa, mutta keskikokoisilla ja isoilla lymfosyyteillä on runsaammin sytoplasmaa. Lymfosyyttien sytoplasma värjätty heikon basofiilisesti ja homogeenisesti eli tasaisesti. (Campbell 1988: 11–12.)



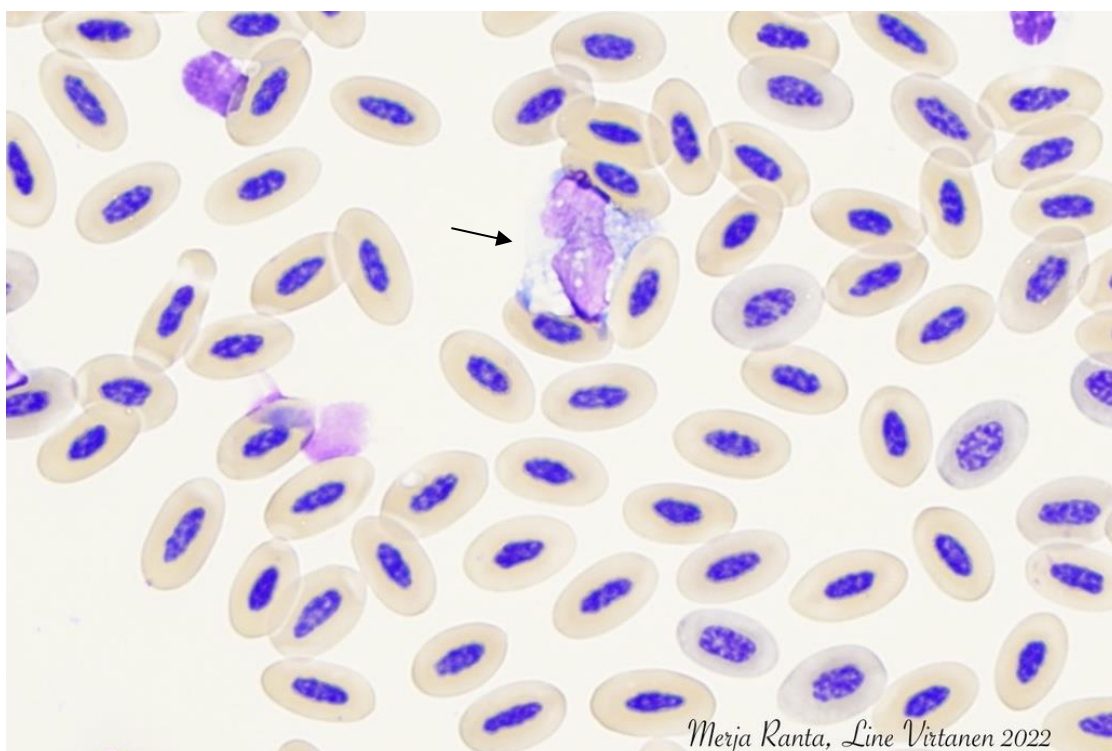
Kuva 13. Nuoli osoittaa hiiripöllön lymfosyyttiä. Lymfosyytti on pienikokoinen ja pyöreä. Tuman kromatiini on verkkomaista ja sytoplasma värjätynyt heikon basofiilisesti ja homogeenisesti.

### 5.3.5 Monosyytit

Lintujen monosyytit ovat fagosyyttejä ja ne voivat siirtyä kudokseen, jossa niistä voi kehittyä makrofageja. Ne sisältävät biologisesti aktiivisia aineita, jotka osallistuvat tulehdusreaktioon ja tuntemattomien mikro-organismien tuhoamiseen. Monosyyteillä on tärkeä rooli immuunijärjestelmässä antigeenien prosessoimisessa. Monosytoosia eli monosyyttien suurentunutta määrää voi esiintyä akuutissa ja kroonisessa tulehduksessa. Monosytoosi yhdistetään tarttuviin ja tulehduksellisiin tauteihin. Myös eri ravintoaineiden, kuten sinkin puutos, voi aiheuttaa linnuilla monosytoosia. (Campbell 2007.)



Monosyytit (kuva 14) ovat yleensä suuria ja niiden muoto vaihtelee. Monosyyttien tumat ovat usein pyöreähköjä tai kaksilohkoisia. Tuman kromatiini voi olla hentoa, pitsimäistä ja verkkomaista. Sytoplasma värjäytyy siniharmaaksi ja heterogeenisesti eli osa sytoplasmasta voi olla hennosti värjätynyttä ja osa voimakkaammin värjätynyttä. Ajoittain monosyyteissä voi havaita hienoa ja hentoa eosinofiilistä pölymäistä granulaa. Monosyyteissä voi myös esiintyä vakuoleja. (Campbell 1988: 12.)



Kuva 14. Nuoli osoittaa hiiripöllön monosyyttiä. Monosyytti on kooltaan suuri ja sen muoto on epätasainen. Monosyytissä näkyy vakuoleja. Sytoplasma on siniharmaata ja heterogeenisesti värjätynyttä.

## 6 Lintujen verisolujen tutkimukset

Lintujen hematologisista tutkimuksista puuttuu standardointi sekä automatisointi. Tämän vuoksi hematologisissa tutkimuksissa turvaututaan edelleen käsin suoritettaviin tutkimusmenetelmiin. (Ammersbach & Beaufrère & Gionet Rollick & Tully 2015: 95.)

Lintujen verisolujen tutkimusten suorittaminen nisäkkäiden verelle tarkoitetulla verenkuva-analysaattorilla on epäluotettavaa. Tämä johtuu siitä, että kyseiset analysaattorit on luotu nisäkkäiden verisolujen tutkimuksille sopivaksi, jolloin ne eivät sovellu lintujen verisolujen tutkimuksiin. Leukosyyttien laskentaa ja erittelylaskentaa häiritsevät lintujen tumalliset punasolut ja trombositit. Suurin osa nisäkkäiden

verenkuva-analysaattoreista suorittavat leukosyyttien laskennan impedanssimittauksen avulla. Impedanssimittauksen ensimmäiseen vaiheeseen kuuluu punasolujen hajottaminen. Punasolujen hajottamiseen käytetyt menetelmät ovat luotu nimenomaan nisäkkäiden punasolujen hajottamiseen, minkä vuoksi lintujen punasolut eivät välttämättä hajoa tai hajotessaan niiden tumat vapautuvat. Vapautuneet tumat vaikuttavat leukosyyttien laskentaan, sillä analysaattori laskee punasolujen vapautuneet tumat virheellisesti leukosyyteiksi. Tämä vaikuttaa suoraan tutkimuksen tulokseen ja tekee tuloksesta täysin epäluotettavan. Tästä syystä nisäkkäiden verinäytteille kehitettyjä verenkuva-analysaattoreita ei tulisi käyttää lintujen leukosyyttien tai muiden verisolujen tutkimuksiin. (Campbell & Dein 1984: 235; Carisch ym.2019.)

## 6.1 Veren sivelyvalmisteen tutkimukset

Veren sivelyvalmisteen voidaan tutkia veren soluja, niiden morfologiaa sekä määrää. Veren sivelyvalmisteen valmistamiseen ja tutkimusten suorittamiseen tarvitaan vain pieni määrä verta. Tämä mahdollistaa tutkimusten suorittamisen hyvin niukoistakin verinäytteistä. (Hawkey & Dennet 1989: 7; Carisch ym.2019; Savolainen & Tienhaara 2015b.)

Vaikka lintujen verisolujen tutkimuksiin löytyisi sopiva analysaattori niin analysaattori vaatii usein huomattavasti suuremman verinäytemäärän tutkimusten suorittamiseen. Pienikokoisesta tai sairaasta linnusta ei välttämättä voida ottaa analysaattorin vaatimaa verinäytemäärää, jolloin veren sivelyvalmisteen käsin suoritettavat tutkimukset voivat olla ainoita, johon verinäytemäärä riittää. Vaikka näihin tutkimuksiin löytyisi luotettava analysaattori, niin olisi tärkeää, että veren sivelyvalmisteen tutkimuksia osattaisiin tarvittaessa suorittaa myös käsin. Tämä on tärkeää, sillä analysaattoreiden antamiin tuloksiin ei voida aina luottaa. Silloin olisi tärkeää, että laboratoriohenkilökunta osaa tutkia näytteitä käsin ja varmistua siitä, onko analysaattorin antama tulos luotettava vai ei. (Hawkey & Dennet 1989: 7; Carisch ym.2019.)

Veren sivelyvalmisteen käsin suoritettavien tutkimusten laatu sekä tutkimustulosten luotettavuus perustuvat verinäytteen ja veren sivelyvalmisteen laatuun sekä tekijän kykyyn tunnistaa tutkittavan lajin normaalit verisolut. Tämä on erityisen haastavaa, sillä eri lintulajeilla on omanlaiset normaalit verisolut ja niiden viitearvot vaihtelevat lintulajin mukaan. Tutkimusten mukaan verisolujen viitearvot voivat vaihdella huomattavasti tutkittavan lintulajin lisäksi myös yksilön sukupuolen ja iän mukaan. (Hawkey & Dennet 1989: 7; Hemm & Carlton 1966.)

Lintujen verisolut hajoavat herkästi eli laadukkaiden veren sivelyvalmisteiden valmistaminen on haastavaa ja vaatii harjoitusta. Samasta syystä lintujen verestä tehdyissä sivelyvalmisteissa on usein enemmän hajonneita soluja kuin nisäkkäiden verestä tehdyissä sivelyvalmisteissa. (Campbell & Dein 1984: 228.)

### 6.1.1 Näytelaatu

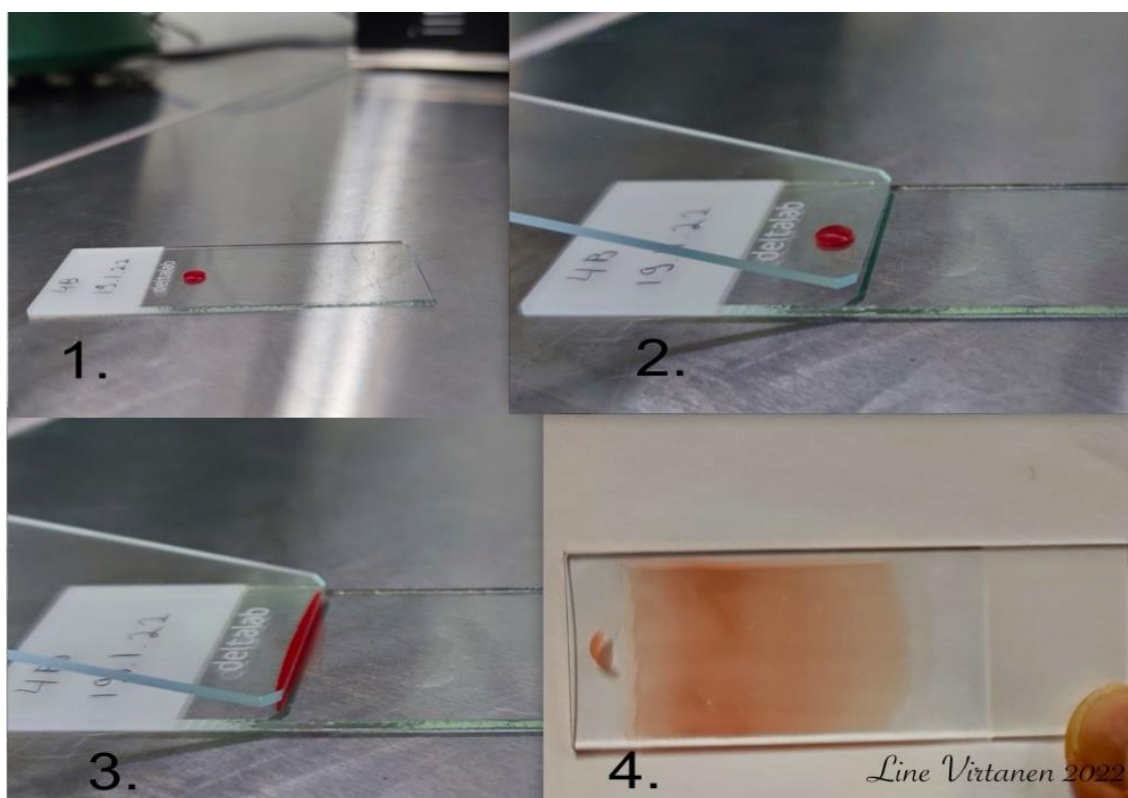
Useimmat lähteet suosittelevat veren sivelyvalmisteen valmistamista näytteenoton yhteydessä lisääineettomasta verestä tai EDTA-verestä (Campbell & Dein 1984: 227, 238; Carisch ym. 2019; Sabater ja Forbes 2014: 511). Sabater ja Forbes (2014: 511) kertovat, että EDTA-verinäyteputket soveltuvat useimpien lintulajien verinäytteille. He tuovat kuitenkin esille, että Lumeij kirjoittaa kirjassa *Clinical Biochemistry of Domestic Animal* kappaleessa *Avian Clinical Biochemistry*, että esimerkiksi strutsien, varislintujen sekä kurkien punasolut hajoavat herkästi EDTA-verinäyteputkessa. Tämän vuoksi kyseisten lintulajien verinäytteet suositellaan otettavaksi hepariiniverinäyteputkiin EDTA-verinäyteputkien sijaan. Heidän mukaansa EDTA-verinäyteputkien lisäaineet saattavat vaikuttaa erityisesti punasolujen osmoottiseen paineeseen, mikä ilmenee punasolujen koon muutoksena. Punasolujen koon muutokset eivät kuitenkaan suoraan vaikuta leukosyyttien erittelylaskentaan, mutta tämä tulisi huomioida, mikäli veren sivelyvalmisteesta halutaan tutkia punasoluja. Campbell ja Dein (1984: 227, 238) eivät suosittele veren sivelyvalmisteen tekemistä heparinisoidusta verestä, sillä heidän mukaansa hepariini voi vaikuttaa lintujen verisolujen värjäytymiseen. Tämä kannattaa pitää mielessä, sillä esimerkiksi Reagenan May-Grünwald-Giemsa-väri on tarkoitettu nimenomaan EDTA-verestä tehtyjen veren sivelyvalmisteiden värjäämiseen (Reagena 2018).

### 6.1.2 Veren sivelyvalmisteen valmistus

Oikein ja laadukkaasti valmistetuissa veren sivelyvalmisteissa tulisi olla alueita, joissa verisolut ovat yhdessä kerroksessa, erillään toisistaan ja levittäytyneenä tasaisesti objektilasille. Vääränlainen tekniikka veren sivelyvalmisteiden valmistuksessa voi johtaa verisolujen hajoamiseen. EDTA-verestä valmistetut veren sivelyvalmisteet tulisi parhaimman lopputuloksen saavuttamiseksi valmistaa viimeistään 2–3 tunnin sisällä näytteenotosta. Objektilasit tulisi aina merkitä oikeaoppisesti, jotta oikea näyte voidaan yhdistää oikeaan eläimeen. (Campbell 2007; Pendl & Samour 2016: 93–94.)

Veren sivelyvalmiste voidaan useamman lähteen mukaan valmistaa kahdella eri menetelmällä. Ensimmäinen on niin sanottu standardimenetelmä. Tämä menetelmä

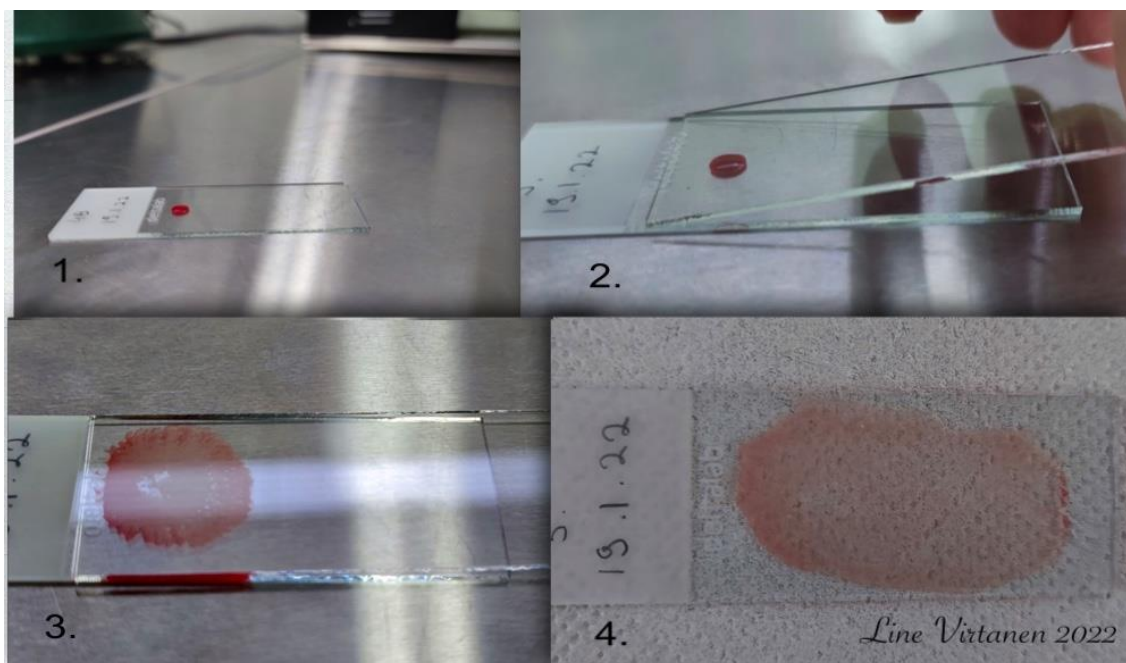
mahdollistaa verisolujen tasaisen jakaantumisen objektilasilla ja yhden solukerroksen alueita verisolujen arvioimiseen. Verisolut saattavat kuitenkin vahingoittua, mikäli vetolasiin kohdistetaan liikaa painetta. Standardimenetelmässä veren sivelyvalmiste valmistetaan niin, että puhtaan objektilasin reunaan tiputetaan pieni tippa (noin 2 µl) verta esimerkiksi kapillaarin tai pipetin avulla. Tämän jälkeen otetaan puhdas ja kuiva vetolasi, joka asetetaan 30–45 asteen kulmassa veritipan eteen. Sitten vetolasi vedetään hellävaraisesti taaksepäin, kunnes se koskee veritippaa. Annetaan veren ensin levitä vetolasin sivua pitkin ja sitten vetolasi liu'utetaan objektilasia pitkin hellävaraisesti, mutta vakaalla ja varmalla liikkeellä objektilasin toista sivua kohti (kuva 15). Lopuksi veren sivelynäyte kuivataan joko ilmakeuhauksella eli heiluttelemalla objektilasia ilmassa tai nopeasti hiustenkuivaajalla. (Campbell 2007; Campbell & Dein 1984: 227, 237; Pendl & Samour 2016: 93–94.)



Kuva 15. Veren sivelyvalmisteen standardimenetelmän vaiheet. 1. vaiheessa objektilasille tiputetaan veripisara toiseen reunaan. 2. vaiheessa tipan eteen tuodaan vetolasi. 3. vaiheessa vetolasi vedetään taakse veripisaran kohdalle ja annetaan sen levitä vetolasin reunaa pitkin. 4. vaiheessa vetolasi liu'utetaan objektilasia pitkin sen toista reunaa kohti.

Toinen menetelmä eroaa standardimenetelmästä siten, että siinä objektilasille tiputettu veripisara levitetään objektilasille peitinlasin (40–50 mm) avulla. Tämän menetelmän etuna on, että sen avulla leukosyytit levittäytyvät tasaisemmin objektilasille, jolloin verisolut pysyvät paremmin ehjänä. Verisolut saattavat rikkoutua ja levitä epätasaisesti

objektilasille, mikäli menetelmä toteutetaan huonosti. Ensin objektilasin yhteen sivuun tiputetaan veripisara samalla tavoin kuin standardimenetelmässä. Tämän jälkeen peitinlasi asetetaan hellävaraisesti veripisaran päälle, jonka jälkeen peitinlasi vedetään rauhallisesti ja vakaasti, mutta varmalla liikkeellä objektilasin toisen sivun suuntaisesti pois (kuva 16). Peitinlasia ei tulisi painaa tai nostaa, vaan ainoastaan vetää. Lopuksi veren sivelyvalmiste kuivataan ilmakeivauksella tai hiustenkuivaajalla. (Campbell 2007; Campbell & Dein 1984: 227, 237; Pendl & Samour 2016: 93–94.)



Kuva 16. Peitinlasimenetelmän vaiheet. 1. vaiheessa tiputetaan veripisara objektilasin toiseen reunaan. 2. vaiheessa veripisaran päälle asetetaan peitinlasi. 3. vaiheessa veren annetaan hetken levitä lasien välissä. 4. vaiheessa peitinlasi vedetään objektilasin suuntaisesti pois.

### 6.1.3 Veren sivelyvalmisteen värjäys

Veren sivelyvalmisteiden värjäämiseen voidaan käyttää May-Grünwald-Giemsa- eli MGG-värjäysmenetelmää. Väri on tarkoitettu EDTA-verestä tehtyjen sivelyvalmisteiden värjäämiseen. Värjäyksen avulla veren sivelyvalmisteesta voidaan arvioida verisolujen morfologiaa ja suorittaa leukosyyttien erittelylaskenta. Verisolut ja niiden rakenteet värjäytyvät niiden sytokemiallisten ominaisuuksien mukaan. Väriliuoksen vaikuttavina väreinä ovat hapan eosiini, joka värjää solujen emäksiset osat punaiseksi, ja emäksinen metyleenisininen, joka värjää solujen happamat osat siniseksi. Giemsa-liuoksen sisältämä atsuuriväri syventää tuman sinisyyttä ja tehostaa solurakenteiden kontrastia, jotta ne erottuisivat toisistaan selkeämmin. (Reagena 2018.)

Parhaat värjäystulokset saadaan, kun näyte värjätään mahdollisimman nopeasti veren sivelyvalmisteen tekemisen jälkeen. Veren sivelyvalmisteet tulisi fiksoida mahdollisimman nopeasti metanolissa niiden tekemisen jälkeen hemolyyysin välttämiseksi. Sopimaton tai vääränlainen fiksaatio, kuten etanolin käyttö metanolin sijaan voi aiheuttaa granuloiden surkastumista ja vääränlaista värjäytymistä. (Samour 2016: 92.)

## 6.2 Leukosyyttien erittelylaskenta

Leukosyyttien erittelylaskenta on yksi veren sivelyvalmisteen tutkimuksista. Leukosyyttien erittelylaskenta on olennainen osa sairaiden lintujen terveydentilan tutkimuksia, ja seurantanäytteet sekä seurantatutkimukset tutkimukset kertovat hoidon tehosta. Lintujen leukosyyttien erittelylaskennalla voidaan määrittää heterofiilien, eosinofiilien, basofiilien, lymfosyyttien sekä monosyyttien suhteellinen osuus. Erittelylaskennasta saatujen tulosten luotettavuuteen vaikuttaa verinäytteen laatu, veren sivelyvalmisteen ja sen värjäyksen laatu, leukosyyttien jakaantuminen objektilasilla sekä leukosyyttien tunnistaminen. (Campbell & Dein 1984: 237.)

Leukosyyttien erittelylaskenta suoritetaan käsin, veren sivelyvalmistetta mikroskopoimalla. Näytteen esitarkastus kannattaa tehdä ennen varsinaisen erittelylaskennan aloittamista. Esitarkastuksessa tarkastellaan näytteen laatua, etsitään erittelylaskentaan soveltuva alue ja leukosyyttien määrää sekä jakaumaa tarkistellaan silmämääräisesti. Esitarkastus voidaan tehdä 10–25x objektiivilla. (Savolainen & Tienhaara 2015b.) Arvio leukosyyttien kokonaismäärästä voidaan laskea samalla. Arvio leukosyyttien kokonaismäärästä saadaan laskemalla leukosyyttien määrä kymmenestä näkökentästä 40 x objektiivia käyttäen. Leukosyyttien kokonaismäärä lasketaan seuraavalla kaavalla:  $\frac{\text{leukosyyttien kokonaismäärä}}{\text{lasketut näkökentät}} \times 2000$ . Tulos on arvio leukosyyttien kokonaismäärästä 1 ml verta. (Sabater & Forbes 2014: 514.)

Leukosyyttien erittelylaskenta kannattaa suorittaa 100x öljyobjektiivia ja immersioöljyä käyttäen. Erittelylaskennalle sopiva alue on sellainen, jossa verisolut ovat jakautuneet tasaisesti. Sopivalla alueella verisolut ovat yhdessä kerroksessa ja levittäytyneet niin, että ne ovat hieman erillään toisistaan. Erittelylaskennassa lasketaan ja eritellään 100–200 leukosyyttiä. Leukosyytit eritellään heterofiileihin, eosinofiileihin, basofiileihin, lymfosyytteihin sekä monosyytteihin. Erittelylaskennan tuloksilla voidaan laskea leukosyyttien suhteellinen osuus. Suhteellinen osuus lasketaan seuraavalla kaavalla:

$\frac{\text{yhden leukosyyttityypin määrä}}{\text{eriteltyjen leukosyyttien kokonaismäärä}} \times 100$ . Jos erittelylaskennassa olisi eritelty 200

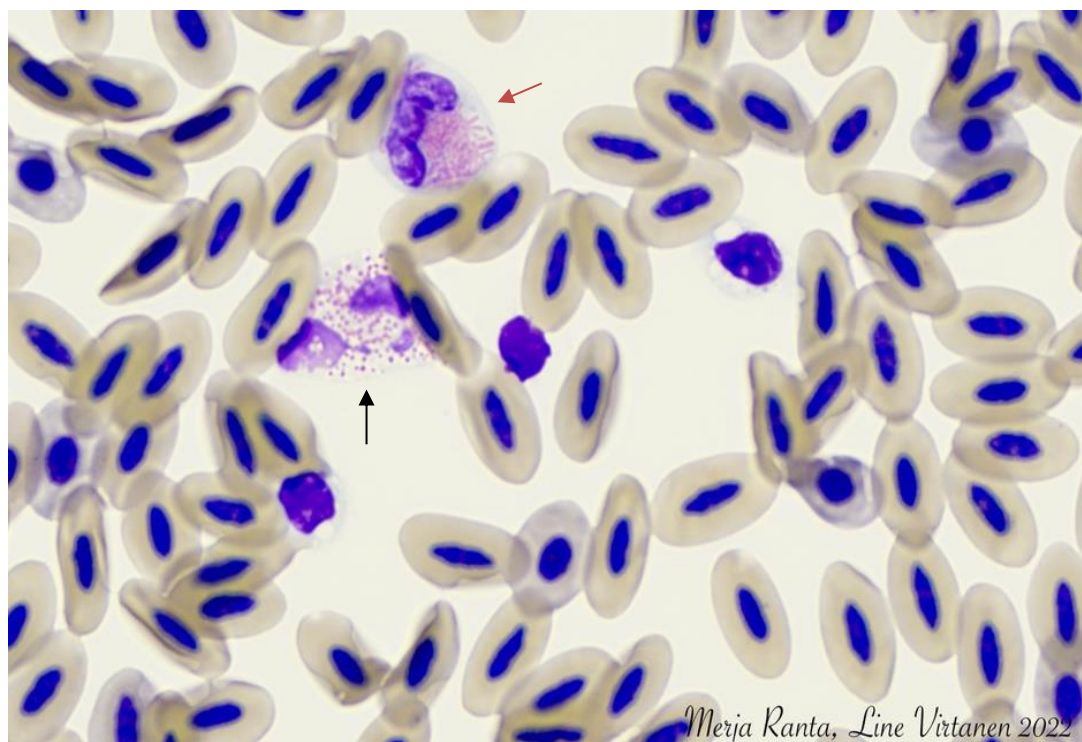


leukosyyttiä, joista 106 oli heterofiilejä, niin heterofiilien suhteellinen määrä laskettaisiin  $\frac{106}{200} \times 100$ . Suhteellinen osuus ilmoitetaan prosenttilukuna. (Savolainen & Tienhaara 2015b.)

### 6.2.1 Leukosyyttien tunnistaminen

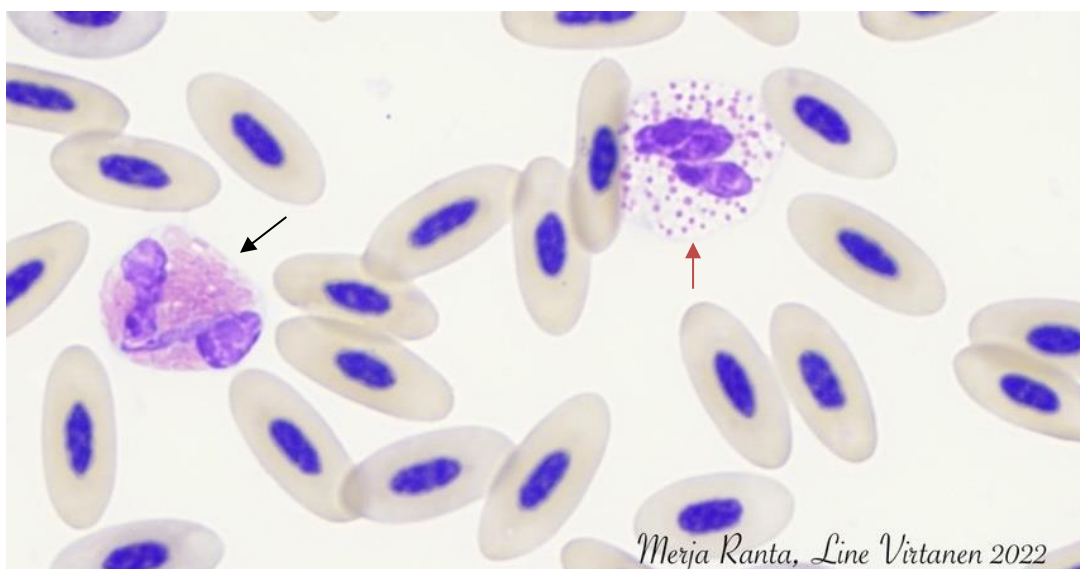
Leukosyyttien tunnistamisessa kannattaa kiinnittää huomiota solujen värjäytymiseen, solun kokoon, sytoplasman ja tuman suhteeseen, tuman muotoon ja sijaintiin solussa sekä kromatiinin ulkonäköön, sytoplasman väriin ja koostumukseen sekä mahdollisiin granuloihin eli sytoplasmassa sijaitseviin rakeisiin. Epänormaaleja löydöksiä voivat olla toksiset heterofiilit, epänormaaliit lymfosyytit sekä leukosyyttien suurentuneet vakuolit eli solurakkulat ja suurentuneet granulat. (Campbell 1988: 10–14; Campbell & Dein 1984 238.) MGG-värjäyksellä leukosyyttien tumat värjäytyvät happamuutensa ansiosta siniseksi tai violetiksi ja sytoplasma värjäytyy haalean siniseksi. Basofiilisten solujen granulat ovat happamia, joten ne värjäytyvät tumman sinisiksi. Eosinofiilisten solujen granulat ovat emäksisiä ja värjäytyvät sen johdosta punaisiksi. (Reagena 2018.)

Useimmilla lintulajeilla heterofiilien ja eosinofiilien granulat ovat keskenään erimuotoisia ja värjäytyvät hieman eri tavalla. Eosinofiilien granulat värjääntyvät yleensä intensiivisemmän värisiksi kuin heterofiilien granulat. (Campbell 1988: 10–11.)



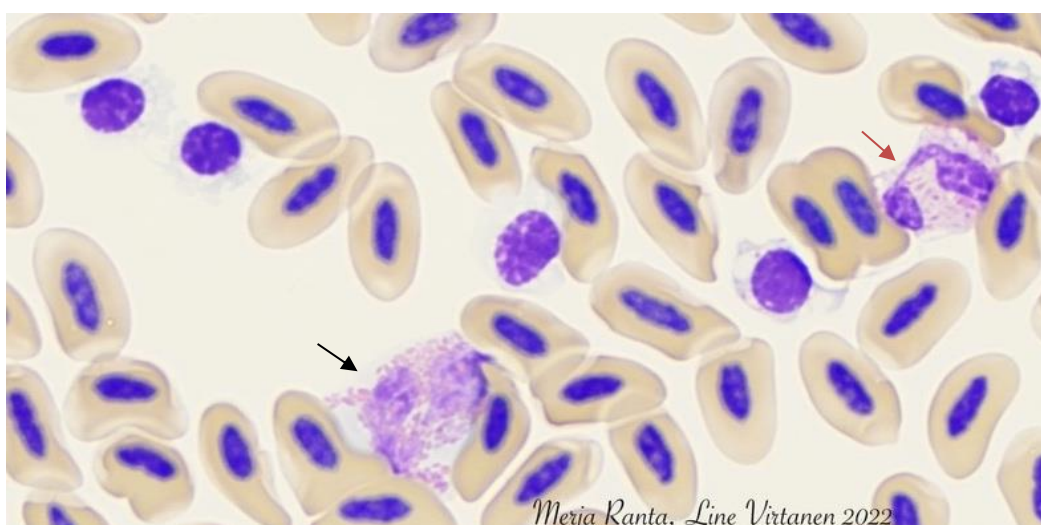
Kuva 17. Musta nuoli osoittaa kyhmyjoutsenen heterofiilia ja punainen nuoli eosinofiilia.

Kyhmyjoutsenten ja laulujoutsenten heterofiilien granulat ovat pyöreänmuotoisia ja eosinofiilin granulat sauvamuotoisia (kuva 17). Eosinofiilien sytoplasma on sinertävää ja heterofiilien sytoplasma on väritöntä. Heterofiileilla on vähemmän granulaa kuin eosinofiilillä (kuva 18). (Campbell 1988: 10–11.)



Kuva 18. Musta nuoli osoittaa laulujoutsenen eosinofiilia ja punainen heterofiilia.

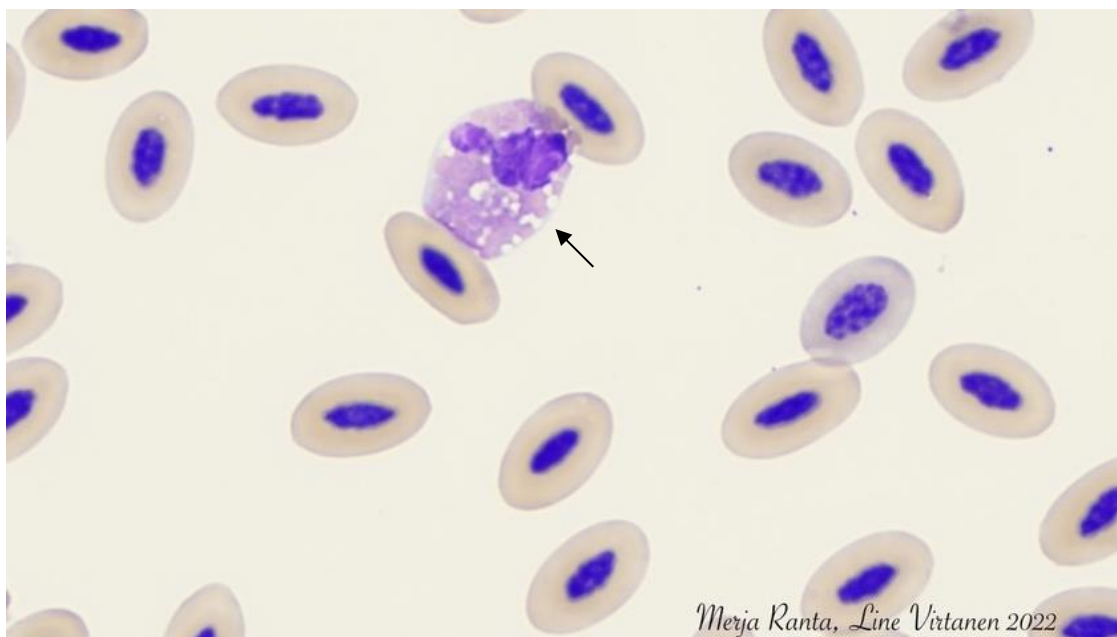
Hiiripöllöjen eosinofiilien granulat ovat sauvamuotoisia ja heterofiilien granulat enemmän pyöreänmuotoisia, mutta osittain hieman ovaalinmuotoisia (kuva 19). Eosinofiilin sytoplasma on huomattavasti sinertävämpää kuin heterofiilien sytoplasma. (Campbell 1988: 10–11.)



Kuva 19. Musta nuoli osoittaa hiiripöllön eosinofiilia ja punainen nuoli heterofiilia.

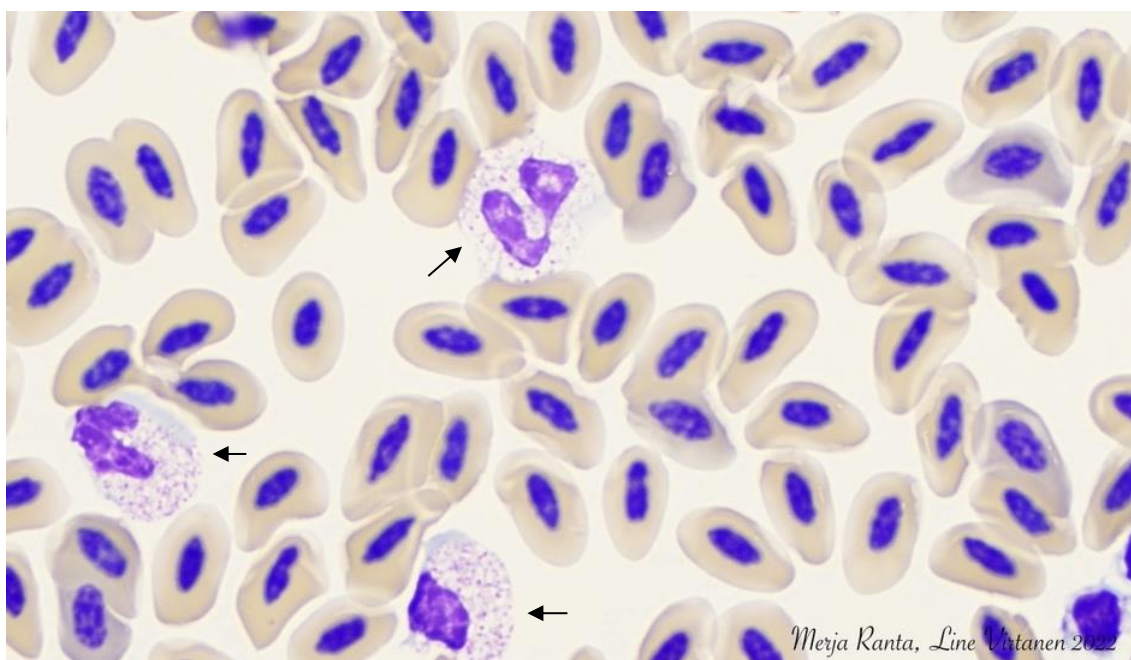


Viirupöllön eosinofiilien granulat ovat suuria ja pyöreänmuotoisia (kuva 20). Eosinofiilin sytoplasma on paikoittain hieman sinertävää. (Campbell 1988: 11.)



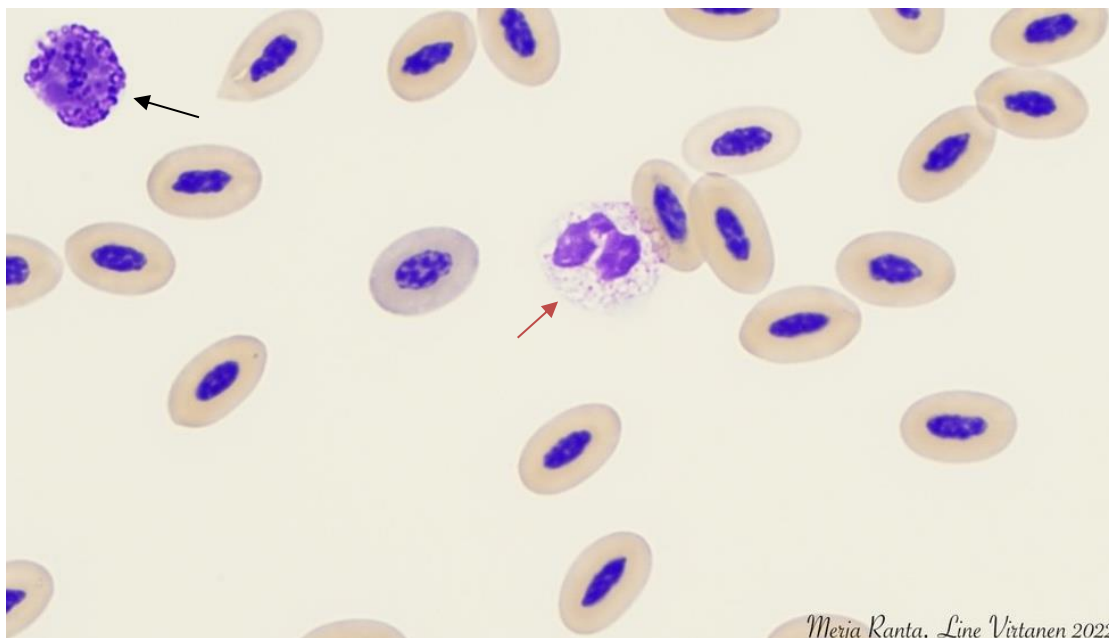
Kuva 20. Nuoli osoittaa viirupöllön eosinofiiliä.

Viirupöllön heterofiilien granulat ovat pieniä, pyöreänmuotoisia ja haaleasti värjäytyneitä (kuva 21). Heterofiilien sytoplasma on väritön ja niiden tumat ovat usein lohkoutuneita. (Campbell 1988: 10–11.)



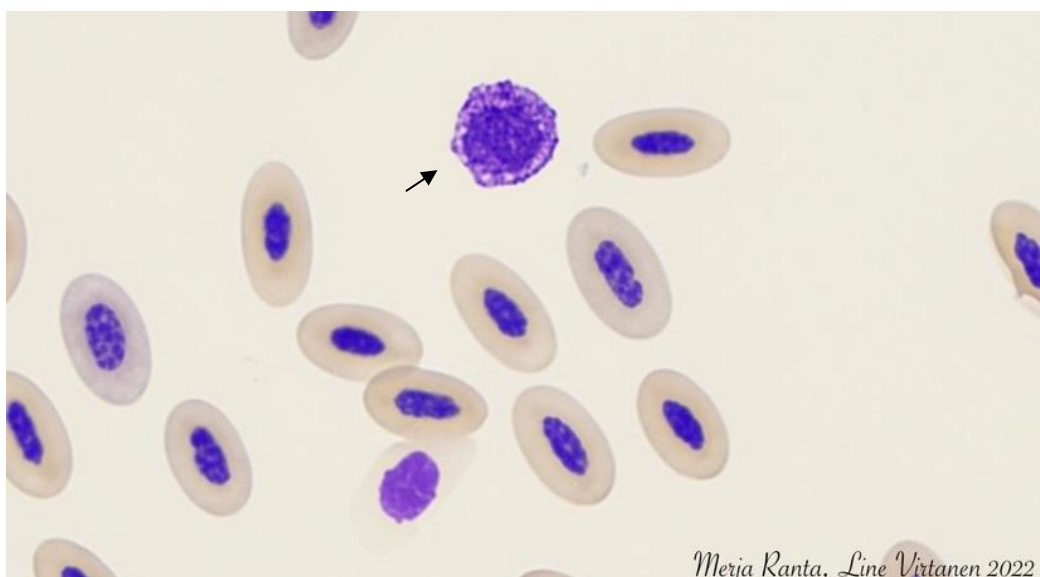
Kuva 21. Nuolet osoittavat viirupöllön heterofiilejä.

Basofiilit ovat kooltaan hieman pienempiä kuin heterofiilit ja eosinofiilit. Basofiileilla on myös huomattavasti enemmän granulaa kuin heterofiileilla ja eosinofiileilla (kuva 22). Basofiili on kauttaaltaan täynnä syvästi värjäytyneitä pyöreitä granuloita. (Campbell 1988: 11.)



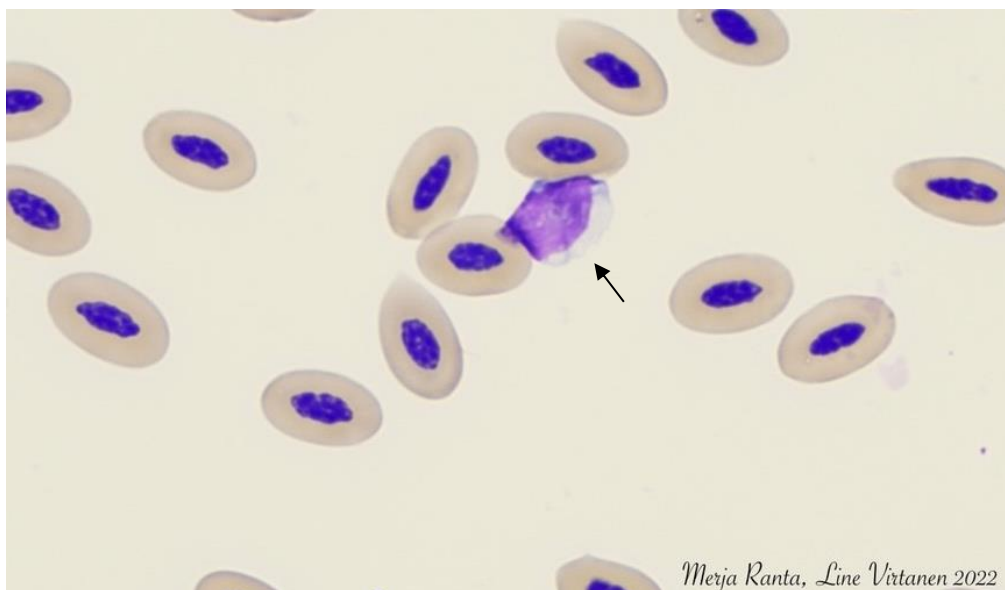
Kuva 22. Musta nuoli osoittaa viirupöllön basofiiliä ja punainen nuoli heterofiiliä.

Eri lintulajien basofiilit ovat ulkonäöltään hyvin samanlaisia. Viirupöllön (kuva 22) ja hiiripöllön (kuva 23) basofiilit värjäntyvät esimerkiksi saman värisiksi ja ovat muutenkin hyvin samankaltaisia. (Campbell 1988: 11.)



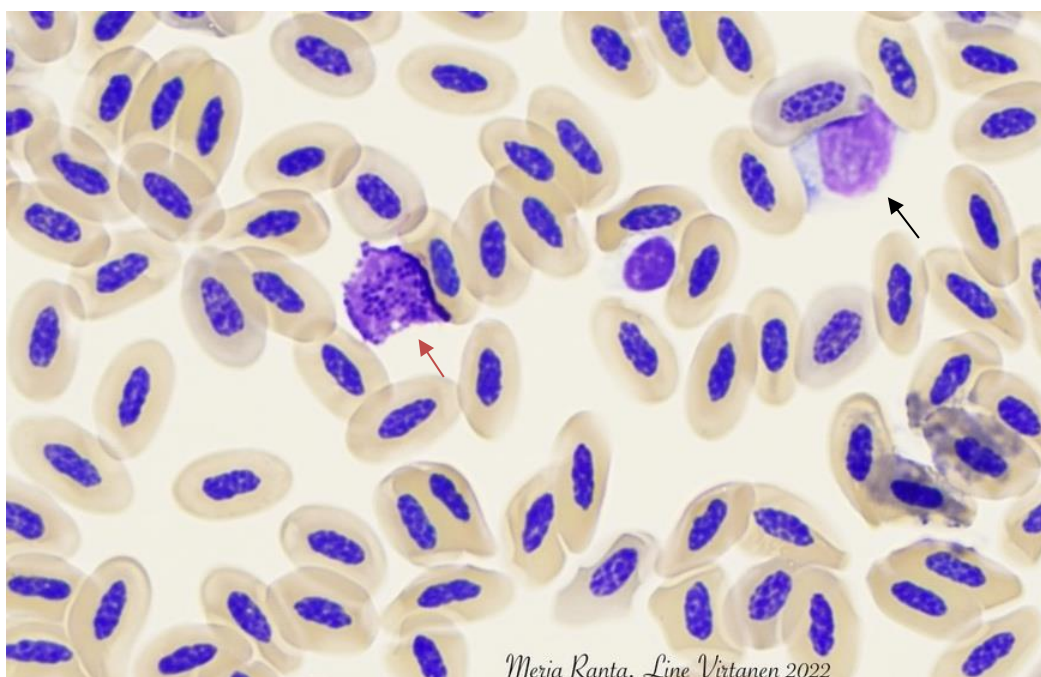
Kuva 23. Nuoli osoittaa hiiripöllön basofiiliä.

Monosyytit ja lymfosyytit voidaan helposti sekoittaa toisiinsa. Monosyytit ovat yleensä suurempia ja niiden muoto on vaihtelevampaa kuin lymfosyyttien. (Campbell 1988: 12.)



Kuva 24. Nuoli osoittaa viirupöllön lymfosyyttiä.

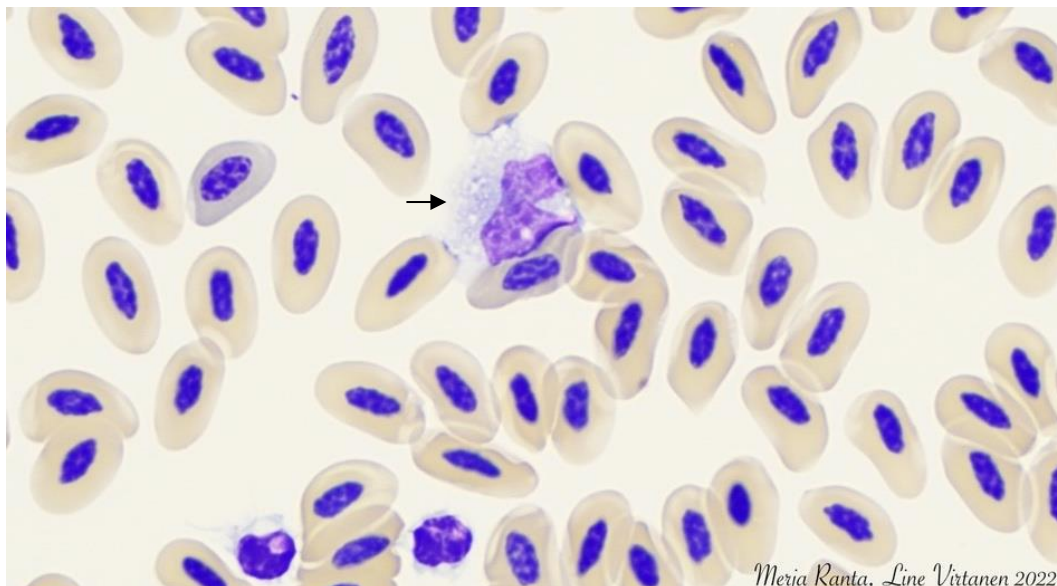
Lymfosyyttien sytoplasma on tasaisen sinertävä ja tuma on yhtenäinen ja tasainen. Lymfosyytit ovat yleensä hyvin saman näköisiä lintulajista riippumatta. (Campbell 1988: 11–12.) Viirupöllön (kuva 24) ja hiiripöllön (kuva 25) lymfosyytit ovat esimerkiksi hyvin samankaltaisia.



Kuva 25. Musta nuoli osoittaa hiiripöllön lymfosyyttiä ja punainen nuoli basofiilia.

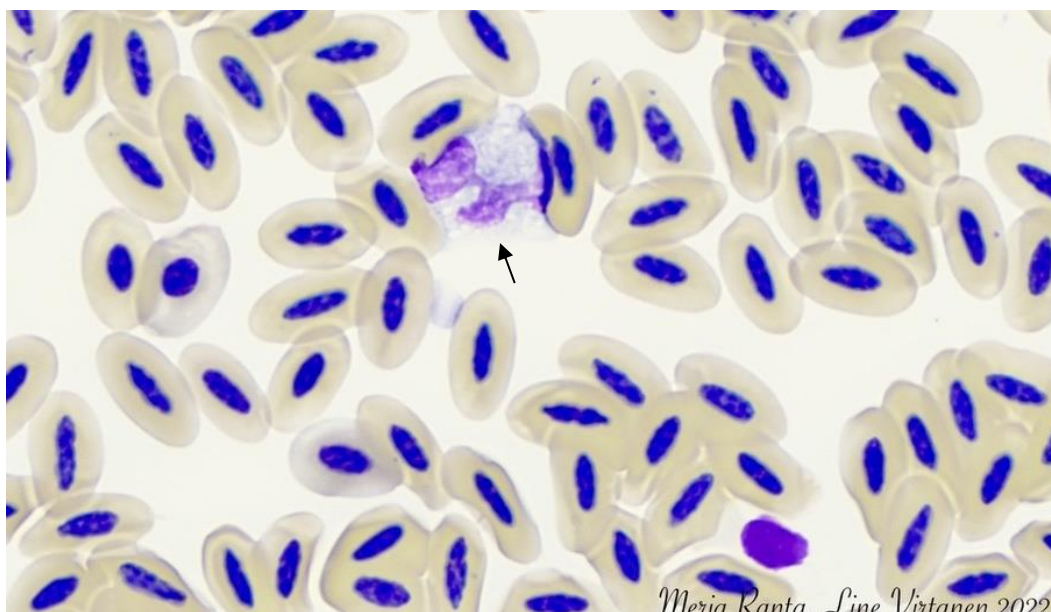


Monosyytit ovat suurikokoisia ja muodoltaan vaihtelevia. Monosyyttien sytoplasma värjäytyy epätasaisesti siniharmaaksi ja siinä voi esiintyä vakuoleja (kuva 26). Tuma on yleensä lohkoutunut. (Campbell 1988: 12.)



Kuva 26. Nuoli osoittaa viirupöllön monosyyttiä.

Monosyytit ovat yleensä hyvin saman näköisiä lintulajista riippumatta (Campbell 1988: 12). Viirupöllön (kuva 26) ja kyhmyjoutsenen (kuva 27) monosyytit ovat esimerkiksi hyvin samankaltaisia.



Kuva 27. Nuoli osoittaa kyhmyjoutsenen monosyyttiä.

### 6.2.2 Viitearvoja

Viitearvot ovat oleellisia, sillä ilman niitä tutkimustulosten perusteella ei voida tehdä minkäänlaisia päätelmiä. Mutta kuten Gaspar, Bargallo, Grifols, Correia ja De Lurdes Pinto (2021) toteavat, niin tarkkojen ja luotettavien hematologisten viitearvojen määrittäminen eri lintulajeille on haasteellista. Gaspar ym. (2021) mainitsevat, että lintujen hematologiset viitearvot vaihtelevat lintulajista ja lähteestä riippuen. He mainitsevat myös, että verinäytteenotto, näytteiden käsittely, veren sivelyvalmisteen valmistustapa ja tutkimusmenetelmät voivat vaikuttaa tutkimustulosten ja viitearvojen eroavaisuuksiin. Campbellin (2007) mukaan käytettyjen menetelmien lisäksi viitearvoihin vaikuttavat myös erilaiset sisäiset ja ulkoiset tekijät, kuten lintujen elinympäristö, ruokavalio, sukupuoli, ikä sekä vuodenaika. Tämän vuoksi Campbell (2007) on sitä mieltä, että julkaistuja viitearvoja tulisi ainoastaan käyttää suuntaa antavina eikä absoluuttisina viitearvoina.

Kun lintujen hematologiaa on alettu tutkimaan, niin tutkimuksiin on pääasiassa käytetty kanalintujen verinäytteitä. Nykyään tutkimuksia suoritetaan enimmäkseen papukaijalintujen ja petolintujen verinäytteistä. Tietyille lemmikilintulajeille on tehty useampia hematologisten parametrien tutkimuksia ja joillekin lajeille löytyykin hyviä viitearvoja. (Campbell 2007.) Suomen luonnonvaraisille lintulajeille on haastava löytää minkäänlaisia viitearvoja, mutta tähän kappaleeseen on koostettu ne, mitä löydettiin.

Dolka ym. (2014) määrittivät tutkimuksessaan 95 luonnonvaraisen kyhmyjoutsenen (*Cygnus Olor*) hematologisia ja biokemiallisia parametreja. Hematologisiin tutkimuksiin he käyttivät EDTA-verta. Leukosyyttien erittelylaskenta suoritettiin mikroskopoimalla MGG-värjättyä veren sivelyvalmistetta. Heidän tutkimuksensa mukaan hematologisten tutkimusten arvoihin vaikutti joutsenten ikä, muttei sukupuoli.

Dolka ym. (2014) tutkimuksessa aikuisten kyhmyjoutsenten leukosyyttien suhteelliset osuudet jakaantuivat seuraavasti: 37–69 % lymfosyyttejä, 27–53 % heterofiilejä, 0–4 % eosinofiilejä, 0–9 % basofiilejä ja 0–8 % monosyyttejä. Nuorten eli yli vuoden ikäisten kyhmyjoutsenten leukosyyttien suhteelliset osuudet jakaantuivat seuraavasti: 29–68 % lymfosyyttejä, 23–69 % heterofiilejä, 0–5 % eosinofiilejä, 0–6 % basofiilejä, 0–6 % monosyyttejä. Poikasten eli alle vuoden ikäisten kyhmyjoutsenten leukosyyttien suhteelliset osuudet jakaantuivat seuraavasti: 38–62 % lymfosyyttejä, 22–55 % heterofiilejä, 0–3 % eosinofiilejä, 0–4 % basofiilejä ja 0–7 % monosyyttejä (taulukko 1).

Taulukko 1. Eri-ikäisten kyhmyjoutsenten (*Cygnus olor*) verinäytteistä määritettyjen leukosyyttien erittelylaskentojen tutkimustulokset (Dolka ym. 2014).

<b>Kyhmyjoutsen (<i>Cygnus olor</i>)</b>	Aikuiset (yli 2–3 vuoden ikäiset)	Nuoret (yli vuoden ikäiset)	Poikaset (alle vuoden ikäiset)
Lymfosyytit	37–69 %	29–68 %	38–62 %
Heterofiilit	27–53 %	23–69 %	33–55 %
Eosinofiilit	0–4 %	0–5 %	0–3 %
Basofiilit	0–9 %	0–6 %	0–4 %
Monosyytit	0–8 %	0–6 %	0–7 %

Bhattacharjee, Acharya, Rana, Mallik ja Mohanty (2018) tutkivat sinisorsien (*Anas platyrhynchos*) hematologiaa ja verisolujen morfologiaa. Tutkimuksessa tutkittiin 60 eri-ikäisen ja eri sukupuolta olevan sinisorsan EDTA-verinäytteitä. Leukosyyttien erittelylaskennan he suorittivat Giemsa-värillä värjättyjä veren sivelyvalmisteita mikroskoipoimalla. Heidän saamien tutkimustulosten (taulukko 2) mukaan sinisorsien sukupuoli ja ikä vaikuttivat leukosyyttien erittelylaskennan tuloksiin.

Aikuisilla sinisorsilla leukosyyttien suhteelliset osuudet jakaantuivat seuraavasti: koirilla 12,15–20,25 % ja naarailla 10,97–17,43 % heterofiilejä, koirilla 32,17–40,03 % ja naarailla 35,24–45,36 % lymfosyyttejä, koirilla 6,7–9,5 % ja naarailla 6,34–10,06 % monosyyttejä, koirilla 30,24–43,56 % ja naarailla 27,88–41,72 % eosinofiilejä, koirilla 2,11–3,29 % ja naarailla 1,87–3,13 % basofiilejä. (Bhattacharjee ym. 2018.)

Nuorilla sinisorsilla leukosyyttien suhteelliset osuudet jakaantuivat seuraavasti: koirilla 12,52–20,08 % ja naarailla 11,06–17,94 % heterofiilejä, koirilla 31,29–42,31 % ja naarailla 34,67–44,93 % lymfosyyttejä, koirilla 1,68–5,52 % ja naarailla 5,54–9,46 % monosyyttejä, koirilla 29,52–44,28 % ja naarailla 28,48–43,52 % eosinofiilejä, koirilla 1,94–3,26 % ja naarailla 1,69–2,71 % basofiilejä. (Bhattacharjee ym. 2018.)

Sinisorsien poikasilla leukosyyttien suhteelliset osuudet jakaantuivat seuraavasti: koirilla 12,17–18,43 % ja naarailla 11,73–18,47 % heterofiilejä, koirilla 45,14–54,46 % ja N 37,63–44,77 % lymfosyyttejä, koirilla 3,91–8,69 % ja naarailla 2,63–4,97 % monosyyttejä, koirilla 22,67–31,13 % ja naarailla 32,35–43,45 % eosinofiilejä, koirilla 1,61–2,79 % ja naarailla 1,67–2,33 % basofiilejä. (Bhattacharjee ym. 2018.)

Taulukko 2. Eri-ikäisten ja eri sukupuolta olevien sinisorsien (*Anas platyrhynchos*) leukosyyttien erittelylaskentojen tutkimustulokset. K kuvastaa koiraiden tuloksia ja N naaraiden tuloksia. (Bhattacharjee ym. 2018.)

<b>Sinisorsa (<i>Anas platyrhynchos</i>)</b>	Aikuinen	Poikanen	Nuori
Heterofiilit	K: 12,15–20,25 % N: 10,97–17,43 %	K: 12,17–18,43 % N: 11,73–18,47 %	K: 12,52–20,08 % N: 11,06–17,94 %
Lymfosyytit	K: 32,17–40,03 % N 35,24–45,36 %	K: 45,14–54,46 % N: 37,63–44,77 %	K: 31,29–42,31 % N: 34,67–44,93 %
Monosyytit	K: 6,7–9,5 % N: 6,34–10,06 %	K: 3,91–8,69 % N: 2,63–4,97 %	K: 1,68–5,52 % N: 5,54–9,46 %
Eosinofiilit	K: 30,24–43,56 % N: 27,88–41,72 %	K: 22,67–31,13 % N: 32,35–43,45 %	K: 29,52–44,28 % N: 28,48–43,52 %
Basofiilit	K: 2,11–3,29 % N: 1,87–3,13 %	K: 1,61–2,79 % N: 1,67–2,33 %	K: 1,94–3,26 % N: 1,69–2,71 %

Ammersbach ym. (2015) tutkimuksessa suoritettiin eri pöllölajien hematologisia tutkimuksia. Tutkimuksessa oli mukana myös Suomen luonnossa esiintyviä pöllölajeja, kuten viirupöllöjä (*Strix uralensis*), hiiripöllöjä (*Surnia ulula*), suopöllöjä (*Asio flammeus*), sarvipöllöjä (*Asio otus*), lapinpöllöjä (*Strix nebulosa*) huuhkajia (*Bubo bubo*) sekä tunturipöllöjä (*Strix scandiacus*). Tutkimuksessa mukana olleet pöllöt elivät tarhaoloissa. Veren sivelyvalmisteet valmistettiin EDTA-verestä kuuden tunnin sisällä näytteenotosta. Leukosyyttien erittelylaskennan he suorittivat mikroskoipimalla veren sivelyvalmisteita, jotka olivat värjätty muunnetulla Wright-värillä. Leukosyyttien

erittelylaskennan tulosten perusteella määritettiin suopöllöille, lapinpöllöille, huuhkajille sekä tunturipöllöille viitearvot (taulukko 3), mutta muiden lajien kohdalla ilmoitettiin vain yksilöiden tulokset eikä viitearvoja määritetty.

Suopöllöjen leukosyyttien erittelylaskennan viitearvoiksi annettiin 14–70 % lymfosyyttejä, 8–66 % heterofiilejä, 5–33 % eosinofiilejä, 0–5 % basofiilejä ja 4–20 % monosyyttejä. Lapinpöllöjen leukosyyttien erittelylaskennan viitearvoiksi annettiin 5–89 % lymfosyyttejä, 9–58 % heterofiilejä, 0–42 % eosinofiilejä, 8–7 % basofiilejä ja 5–23 % monosyyttejä. Huuhkajien leukosyyttien erittelylaskennan viitearvoiksi annettiin 5–50 % lymfosyyttejä, 24–76 % heterofiilejä, 4–46 % eosinofiilejä, 0–17 % monosyyttejä ja basofiileistä ei saatu tarkkaa tulosta. Tunturipöllöjen leukosyyttien erittelylaskennan viitearvoiksi annettiin 6–61 % lymfosyyttejä, 16–84 % heterofiilejä, 2–24 % eosinofiilejä, 0–5 % basofiilejä ja 5–23 % monosyyttejä. (Ammersbach ym. 2015.)

Taulukko 3. Ammersbach ym. (2015) tutkimuksessa mukana olleiden Suomen luontoon kuuluvien pöllölajien leukosyyttien erittelylaskennan viitearvoja.

<b>Pöllöjen viitearvoja</b>	Suopöllö ( <i>Asio flammeus</i> )	Lapinpöllö ( <i>Strix nebulosa</i> )	Huuhkaja ( <i>Bubo bubo</i> )	Tunturipöllö ( <i>Strix scandiacus</i> )
Lymfosyytit	14–70 %	5–69 %	5–50 %	6–61 %
Heterofiilit	8–66 %	9–58 %	24–76 %	16–84 %
Eosinofiilit	5–33 %	0–42 %	4–46 %	2–24 %
Basofiilit	0–5 %	8–7 %	-	0–5 %
Monosyytit	4–20 %	5–23 %	0–17 %	5–23 %

Ammersbach ym. (2015) tutkimuksessa viirupöllöjen, hiiripöllöjen ja sarvipöllöjen kohdalla julkaistiin ainoastaan tutkimuksessa mukana olleiden yksilöiden tutkimustulokset (taulukko 4). Tutkimuksessa mukana olleiden neljän viirupöllön yksilöllisiksi leukosyyttien erittelylaskennan tuloksiksi annettiin: 36 %, 39 %, 49 % ja 49 % lymfosyyttejä, 21 %, 32 %, 36 % ja 36 % heterofiilejä, 5 %, 7 %, 9 % ja 22 %



eosinofiilejä, 0 %, 2 %, 3 % ja 5 % basofiilejä sekä 5 %, 7 %, 11 % ja 16 % monosyyttejä. Tutkimuksessa mukana olleiden viiden hiiripöllön yksilöllisiksi leukosyyttien erittelylaskennan tuloksiksi annettiin: 7 %, 12 %, 20 %, 23 % ja 34 % lymfosyyttejä, 34 %, 46 %, 64 %, 66 % ja 80 % heterofiilejä, 5 %, 6 %, 8 %, 10 % ja 17 % eosinofiilejä, 0 %, 0 %, 1 %, 3 % ja 8 % basofiilejä sekä 4 %, 7 %, 8 %, 16 % ja 23 % monosyyttejä. Tutkimuksessa mukana olleiden seitsemän sarvipöllön yksilöllisiksi leukosyyttien erittelylaskennan tuloksiksi annettiin: 8 %, 26 %, 31 %, 33 %, 41 %, 48 % ja 64 % lymfosyyttejä, 7 %, 13 %, 15 %, 16 %, 17 %, 17 % ja 79 % heterofiilejä, 4 %, 15 %, 17 %, 18 %, 18 %, 37 % ja 42 % eosinofiilejä, 0 %, 0 %, 2 %, 2 %, 6 % ja 6,6 % basofiilejä sekä 8 %, 9 %, 9 %, 13 %, 16 %, 21 % ja 35 % monosyyttejä.

Taulukko 4. Viirupöllöjen, hiiripöllöjen ja sarvipöllöjen yksilölliset leukosyyttien erittelylaskentojen tutkimustulokset (Ammersbach ym. 2015).

Pöllöjen yksilöllisiä tutkimustuloksia	Viirupöllö ( <i>Strix uralensis</i> )	Hiiripöllö ( <i>Surnia ulula</i> )	Sarvipöllö ( <i>Asio otus</i> )
Lymfosyytit	36, 39, 49, 49 %	7, 12, 20, 23, 34 %	8, 26, 31, 33, 41, 48, 64 %
Heterofiilit	21, 32, 36, 36	34, 46, 64, 66, 80 %	7, 13, 15, 16, 17, 17, 79 %
Eosinofiilit	5, 7, 9, 22 %	5, 6, 8, 10, 17 %	4, 15, 17, 18, 18, 37, 42 %
Basofiilit	0, 2, 3, 5 %	0, 0, 1, 3, 8 %	0, 0, 2, 2, 6, 6, 6 %
Monosyytit	5, 7, 11, 16 %	4, 7, 8, 16, 23 %	8, 9, 9, 13, 16, 21, 35 %

Sengul, Gelen, Sismek, Karadeniz ja Balkaya (2015) tutkimuksessa tutkittiin yhdeksän varpushaukan (*Accipiter nisus*) histokemiallisia, histologisia sekä hematologisia näytteitä. Kaikki tutkimuksessa mukana olleet varpushaukat olivat niin pahasti loukkaantuneita, että ne lopetettiin heti näytteiden ottamisen jälkeen. Leukosyyttien erittelylaskenta suoritettiin MGG-värjätyistä veren sivelyvalmisteista, jotka oli valmistettu heparinisoidusta verestä. Varpushaukkojen leukosyyttien erittelylaskentojen keskiarvoiksi he saivat 46,69–51,89 % heterofiilejä, 38,83–41,83% lymfosyyttejä, 2,98–

4,58 % monosyyttejä, 4,72–5,72 % eosinofiilejä sekä 0,72–1,72 % basofiilejä (taulukko 5).

Taulukko 5. Varpushaukan leukosyyttien erittelylaskennan tulokset (Sengul ym. 2015).

<b>Varpushaukka (<i>Accipiter nisus</i>)</b>	<b>Aikuinen</b>
Heterofiilit	46,69–51,89 %
Lymfosyytit	38,83–41,83 %
Monosyytit	2,98–4,58 %
Eosinofiilit	4,72–5,72 %
Basofiilit	0,72–1,72 %

## 7 Opinnäytetyön toteuttaminen

Opinnäytetyöprosessi alkoi huhtikuussa 2021 aiheen etsimisellä. Korkeasaaren eläintarhan eläinlääkärin ehdotus lintujen leukosyyttien tunnistamisesta ja erittelylaskennasta valikoitui opinnäytetyön aiheeksi. Syksyllä 2021 alkoi opinnäytetyön suunnitteluvaihe. Valmis opinnäytetyösuunnitelma esitettiin seminaarissa lokakuussa 2021.

Alkuvuodesta 2022 alkoi varsinaisen opinnäytetyön työstäminen. Opinnäytetyö tehtiin suunnitelman pohjalta ja sen mukaisesti. Opinnäytetyön ensimmäinen versio palautettiin opponentille kommentoitavaksi maaliskuun lopussa. Opinnäytetyö esitettiin seminaarissa huhtikuun alussa. Seminaarissa saatujen kommenttien ja palautteen perusteella opinnäytetyöhön tehtiin vielä parannuksia. Lopullinen opinnäytetyö palautettiin arvioitavaksi huhtikuussa 2022.

Opinnäytetyö toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä. Opinnäytetyötä varten hankitun tiedon pohjalta luotiin tuotos eli opas lintujen leukosyyttien tunnistamisesta ja erittelylaskennasta. Oppaan sisältö laadittiin opinnäytetyön tietoperustan pohjalta ja työelämäohjaajien avustuksella käytännön työhön sopivaksi kokonaisuudeksi.

## 7.1 Menetelmälliset lähtökohdat

Tiedonhakuun käytettiin Metropolian Ammattikorkeakoulun suosittamia tietokantoja, kuten PubMed, Medline (Ovid), ProQuest Central ja ScienceDirect sekä toista kautta löydettyä laadukasta tietokantaa ResearchGate. Tiedonhakuun käytettiin myös muutamaa kirjaa, jotka oli saatu lainaan Korkeasaaren eläintarhan eläinlääkäriltä.

Tiedonhakuun käytettiin suurimmaksi osaksi englanninkielisiä tietokantoja ja hakusanoja, sillä aiheesta oli vaikea löytää sopivia, luotettavia ja laadukkaita tutkimuksia tai artikkeleita suomen- tai ruotsikielellä. Hakusanoina käytettiin esimerkiksi Avian hematology/haematology, avian leukocytes, avian white blood cells, avian leukogram, avian white blood cell count, avian leukocyte differentiation yms.

Artikkeleiden ja tutkimusten luotettavuutta ja laatua tarkastettiin, ennen niiden käyttämistä opinnäytetyössä. Luotettavuuden ja laadun tarkistamiseen käytettiin muun muassa Julkaisuforumia. Julkaisuforumin (2021) luokitusjärjestelmän avulla voidaan tarkastella eri tieteellisten julkaisukanavien laatua. Julkaisukanavat, jotka täyttävät 1–3 tason kriteerit voidaan laskea laadukkaiksi. Opinnäytetyöhön ei käytetty julkaisuja, joiden julkaisukanavien laatu ei täyttänyt Julkaisuforumin 1–3 tason kriteereitä.

## 7.2 Toimintaympäristö, kohderyhmä, hyödynsaajat

Opinnäytetyön ja sen tuotoksen ensisijaisina hyödynsaajina sekä kohderyhmänä olivat Korkeasaaren eläintarhan eläinlääkärit ja heidän avustajansa. Tuotos laadittiin sopivaksi kokonaisuudeksi heidän käyttöönsä ja heidän toimintaansa sopivaksi. Hyödynsaajiksi voidaan laskea muut lintujen käsittelystä, verinäytteenotosta, leukosyyteistä ja erittelylaskennasta kiinnostuneet henkilöt, kuten esimerkiksi muut eläinlääkärit tai eläinlääketieteen opiskelijat, eläintenhoitajat ja klinikkaeläinhoitajat, eläinten näytteitä analysoivat laboratoriot ja niiden henkilökunta sekä muut aiheesta kiinnostuneet henkilöt. Hyödynsaajiksi voidaan myös laskea Metropolian Ammattikorkeakoulun bioanalytiikan lehtorit sekä opiskelijat. Lehtorit voivat hyödyntää esimerkiksi opinnäytetyössä esiintyviä valokuvia opetuksessaan, ja opiskelijat voivat hyötyä niistä opinnoissaan.

## 7.3 Lähtötilanteen kartoitus

Korkeasaaren eläintarhassa suoritettaviin hematologisiin laboratoriotutkimuksiin ei lähtötilanteessa kuulunut lintujen leukosyyttien erittelylaskenta. Tämä johtunee siitä,

että kyseiseen tutkimukseen ei ole luotettavaa analysaattoria eikä heillä ollut käytössään työohjetta käsin suoritettavaan leukosyyttien erittelylaskentaan tai riittävästi osaamista tutkimuksen käyttöönottoon. Lähtötilanteessa henkilökunnan osaaminen lintujen leukosyyteistä, niiden tunnistamisesta sekä erittelylaskennasta oli vähäistä.

Opinnäytetyön aihe oli myös uutta opinnäytetyön tekijälle. Bioanalytiikan opinnot keskittyvät nimenomaan ihmisen anatomiaan, fysiologiaan ja laboratoriotutkimuksiin, eikä opinnäytetyön tekijän aikaisemmissa eläinalan opinnoissa ole perehdytty lintujen hematologiaan tai laboratoriotutkimuksiin. Eläintenhoitajan työtehtävissä toimineena lintujen parissa työskentely ja lintujen käsittely oli ennestään tuttua opinnäytetyön tekijälle.

## 7.4 Toiminnan etenemisen ja työskentelyn kuvaus

Suunnitteluvaiheen alussa pidettiin tapaaminen yhdessä työelämäohjaajien kanssa. Tapaaminen pidettiin etäyhteydellä ja tapaamisessa käytiin yhdessä läpi työn lähtökohtia, tarpeita, sisältöä, työskentelyn etenemistä sekä sovittiin alustavasti työn toteutuksesta ja aikataulusta.

Suunnitteluvaiheen tapaamisessa sovittiin, että opinnäytetyö laaditaan Yliopistollisen eläinsairaalan laboratorion käyttämien menetelmien mukaisesti. Sovittiin myös, että käytettävät näytteet tulevat pääsääntöisesti olemaan Korkeasaaren Villieläinsairaalassa hoidettavien vesilintupotilaiden ylijääneitä verinäytteitä. Villieläinsairaalan potilaskunta ja potilasmäärä elävät jatkuvasti eli etukäteen oli mahdoton tietää, mitä lintulajeja siellä olisi hoidossa silloin, kun näytteitä kerättiin. Koska opinnäytetyön materiaalina käytettiin ainoastaan ylijääneitä verinäytteitä, valikoituivat Villieläinsairaalan potilaat tutkimuskohteiksi. Villieläinsairaalassa potilasmäärät ovat suurempia ja niiden verinäytteitä tutkitaan useammin kuin eläintarhassa asuvien lintujen verinäytteitä. Rajausta vesilintuihin tehtiin sen perusteella, että Villieläinsairaalassa verinäytteitä otetaan enimmäkseen vesilintupotilaista. Vuodenajan perusteella vesilinnut olivat myös todennäköisimpiä lintupotilaita. Villieläinsairaalassa verinäytteitä otetaan hematokriitin ja plasman proteiinipitoisuuden määrittämiseksi.

Kolmikantaneuvottelu pidettiin yhdessä työelämäohjaajien ja opinnäytetyötä ohjaavan opettajan kanssa, kun opinnäytetyösuunnitelma oli hyväksytty. Neuvottelussa käytiin tarkemmin läpi opinnäytetyön toteutusta, sisältöä sekä aikataulua. Kolmikantaneuvottelun jälkeen allekirjoitettiin opinnäytetyösopimus.

Opinnäytetyöhön käytettiin suunnitelmien mukaan ainoastaan diagnostiikasta ylijääneitä verinäytteitä. Ylijääneillä verinäytteillä tarkoitetaan näytteitä, joista oli suoritettu kaikki eläinlääkärin määräämät tutkimukset ja joita ei enää tarvittu diagnostisiin tutkimuksiin. Verinäytteet kerättiin, värjättiin ja valokuvattiin vuoden 2022 tammikuussa. Verinäytteitä saatiin neljästä Villieläinsairaalassa hoidossa olevasta laulujoutsenesta, kahdesta kyhmyjoutsenesta sekä Korkeasaaren eläintarhassa asuvasta viirupöllöstä ja kahdesta hiiripöllöstä. Pöllöjen terveystarkastus sattui osumaan sille ajalle, kun näytteitä kerättiin, joten niiden ylijääneitä verinäytteitä pystyttiin hyödyntämään opinnäytetyössä. Pöllöjen verinäytteet otettiin ruiskumenetelmällä niiden ollessa nukutettuna ja joutsenista verinäytteet otettiin avomenetelmällä niiden ollessa hereillä. Viirupöllön verinäyte otettiin kaulalaskimosta, hiiripöllöjen kyynärlaskimosta ja joutsenilta jalkapöydän laskimosta.

Opinnäytetyössä käytetyt näytteet merkittiin niin, että näyte pystyttiin yhdistämään tiettyyn lintulajiin, muttei yksilöön. Poikkeuksena oli viirupöllö, joka oli lajinsa ainoa edustaja, jonka vuoksi sen näyte pystyttiin yhdistämään juuri siihen yksilöön.

Opinnäytetyötä varten valmistetuista veren sivelyvalmisteista ei suoritettu minkäänlaisia diagnostisia tutkimuksia. Verinäytteenotosta sekä sivelyvalmisteen valmistamisesta otettiin valokuvia opasta varten. Nämä valokuvat otettiin Xiaomi-merkkisellä puhelimen kameralla niin, ettei valokuvaaminen häirinnyt työntekoa tai pitkittänyt hoitotoimenpidettä. Valokuvat on otettu kuvissa esiintyvien henkilöiden luvalla ja niin, ettei heitä voi kuvista tunnistaa.

Veren sivelyvalmisteet valmistettiin EDTA-verestä kuuden tunnin sisällä näytteenotosta. Veren sivelyvalmisteita valmistettiin Korkeasaaren tiloissa sekä Yliopiston eläinsairaalan laboratorion tiloissa. Jokaisesta verinäytteestä valmistettiin muutama veren sivelyvalmiste. Veren sivelyvalmisteiden valmistamisessa käytettiin sekä standardimenetelmää että peitinlasimenetelmää. Eri menetelmien kokeilulla pyrittiin selvittämään kumpi menetelmä voisi olla sopivampi ja käytännöllisempi Korkeasaaren käyttöön ja onko niillä selkeitä laadullisia eroja. Veren sivelyvalmisteet värjättiin Yliopiston eläinsairaalan laboratoriossa Mirastainer II-värjäysautomaatilla Reagenan MGG-väreillä ja ohjeiden mukaisesti. Värjäys suoritettiin viimeistään parin tunnin sisällä sivelyvalmisteiden valmistamisesta. Värjättyjä veren sivelyvalmisteita tarkasteltiin mikroskoopilla 25x, 40x ja 100x suurennoksella. 100x suurennukseen käytettiin öljyobjektiveja ja immersioöljyä. Veren sivelyvalmisteiden mikroskopointi ja valokuvaaminen suoritettiin Yliopistollisen eläinsairaalan laboratorion Nikon Eclipse C1-mikroskooppia käyttäen. Nikon DS-Fi3-mikroskooppikameralla otettiin yli 100 valokuvaa lintujen leukosyyteistä. Valokuvia otettiin ehjistä, hyvin värjäytyneistä,



tyypillisistä ja normaaleista leukosyyteistä. Valokuvissa näkyi myös punasoluja ja trombosyyttejä. Leukosyyttien tunnistaminen tehtiin laboratoriohoitajan avustuksella ja opinnäytetyössä käytettyä kirjallisuutta hyödyntäen.

Oppaasta luotiin ensin raakaversio, joka lähetettiin Korkeasaaren eläinlääkärille kommentoitavaksi. Raakaversio oli luotu Word-pohjalle ja se sisälsi työohjeita sekä valokuvia työvaiheista ja mikroskooppikuvia eri lintulajien leukosyyteistä. Saatujen kommenttien perusteella opasta muokattiin. Oppaan ohjeiden toimivuutta olisi arvioitu tarkastuskierroksen avulla, mutta esimerkiksi värjäysohjeen toimivuutta ei voitu arvioida, sillä Korkeasaarella ei ollut vielä käytössään siihen tarvittavia väriliuoksia. Leukosyyttien tunnistamista ja erittelylaskennan suorittamista harjoiteltiin Korkeasaarella ohjeiden avulla opinnäytetyötä varten valmistetuilla ja värjätyillä veren sivelyvalmisteita hyödyntäen.

## **8 Opinnäytetyön tuotos**

Opinnäytetyön tuotoksena oli 17 sivuinen Word-pohjalle luotu opas lintujen leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskennan suorittamisesta (liite 1). Oppaan sisältö laadittiin useiden luotettavien lähteiden pohjalta sekä laboratoriohoitajan avustuksella. Opas sisältää itseotettuja valokuvia veren sivelyvalmisteiden valmistamisesta sekä mikroskooppikuvia eri lintulajien leukosyyteistä. Oppaassa on kansikuva, sisällysluettelo, työohjeita, valokuvia, mikroskooppikuvia sekä lähdeluettelo.

Oppaan sisältö on jaettu neljään osioon, jotka ovat veren sivelyvalmisteen valmistaminen, veren sivelyvalmisteen värjääminen, erittelylaskennan suorittaminen ja leukosyyttien tunnistaminen. Ensimmäinen osio sisältää perustietoa veren sivelyvalmisteen valmistamisesta, tarvikelistan sekä ohjeet veren sivelyvalmisteen valmistamiseen standardimetodilla ja peitinlasimetodilla. Toinen osio sisältää perustietoa veren sivelyvalmisteen värjäämisestä ja värjäysohjeen. Kolmas osio sisältää perustietoa erittelylaskennan suorittamisesta, laskukaavan sekä mikroskooppikuvia erittelylaskentaan soveltuvasta alueesta. Neljäs osio sisältää perustietoa leukosyyttien tunnistamisesta, taulukon leukosyyttien tunnuspiirteistä sekä mikroskooppikuvia leukosyyteistä.

## 9 Pohdinta

### 9.1 Luotettavuus

Tämä opinnäytetyö on laadittu Tutkimuseettisen neuvottelukunnan hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan (2012: 6) mukaan tieteellinen tutkimus voi olla luotettava ja eettisesti hyväksyttävä ainoastaan, mikäli tutkimus on suoritettu hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan mukaan hyvä tieteellinen käytäntö perustuu rehellisyyteen, huolellisuuteen, avoimuuteen sekä muiden tutkijoiden ja heidän tekemänsä työn kunnioittamiseen.

Hyvä tieteellinen käytäntö toimii samalla osana tutkimusorganisaatioiden laatujärjestelmää, sillä sitä noudattamalla opinnäytetyön laatu paranee. Suomessa ammattikorkeakoulut ovat sitoutuneet toimimaan ja noudattamaan Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohjeita ja suosituksia. Kyseisiä ohjeita ja suosituksia voidaan soveltaa myös kehittämistyöhön perustuvissa opinnäytetöissä, vaikka ne ovat ensisijaisesti laadittu tutkimukseen perustuville opinnäytetöille. (Arene 2020.)

#### 9.1.1 Lähteiden luotettavuus

Luotettavien ja laadukkaiden lähteiden käyttäminen lisää toiminnallisen opinnäytetyön luotettavuutta sekä opinnäytetyön sisällön laatua. Tämän opinnäytetyön ja sen sisällön luotettavuutta ja laatua tarkasteltiin jatkuvasti, jotta lopputuloksena olisi mahdollisimman luotettava ja laadukas kokonaisuus. Lähteitä tarkastettiin kriittisesti ja käytettäviksi lähteiksi valikoitiin mahdollisimman laadukkaita ja luotettavia lähteitä. Lähteinä pyrittiin käyttämään mahdollisimman tuoreita primaarilähteitä. Tietoa pyrittiin hankkimaan mahdollisimman laajasti, useita lähteitä käyttämällä.

Sopivien ja luotettavien lähteiden löytäminen oli haastavaa, sillä monet opinnäytetyöhön sopivat lähteet ovat vanhoja julkaisuja. Uudempien ja tuoreempien julkaisuiden kanssa ongelmana oli saatavuus ja sisällön sopivuus opinnäytetyön sisältöön. Uusimpiin verkkodokumentteihin ei Metropolian Ammattikorkeakoulun opiskelijana ollut pääsyä. Lainaksi saaduista kirjoista löytyi myös tuoreempia painoksia, mutta niidenkin saatavuuden kanssa oli haasteita. Vanhempien julkaisujen sisältöä tarkastettiin erityisen kriittisesti ja tarkasti tiedostaen, että niiden sisältämä tieto voisi olla vanhentunutta. Laadukkaiden vanhempien lähteiden käyttäminen kyseisessä

opinnäytetyössä oli perusteltua, sillä ne olivat edelleen ajan tasalla, ne sisälsivät hyvää perustietoa aiheesta ja niiden kirjoittajat olivat edelleen relevantteja ja tunnettuja alan ammattilaisia. Lintujen leukosyyttejä tai muita verisoluja kuvailevat vanhemmat julkaisut olivat edelleen käyttökelpoisia, sillä verisolujen ulkonäkö ei ollut muuttunut.

Mikroskooppitutkimukset suoritetaan edelleen samalla tavalla ja samoja värjäysmenetelmiä käyttäen, minkä vuoksi vanhemmat julkaisut aiheesta olivat edelleen laadukkaita ja luotettavia.

### 9.1.2 Opinnäytetyön ja tuotoksen luotettavuus

Opinnäytetyön toteutus pyrittiin kuvaamaan niin avoimesti ja yksityiskohtaisesti, että kuka tahansa pystyisi kuvausta seuraamalla toistamaan toteutuksen. Opas ja sen sisältämät ohjeet laadittiin sellaisiksi, että kuka vain vaadittavan osaamisen ja tarvikkeiden omaava pystyisi hyödyntämään opasta ja toimimaan työohjeiden mukaisesti. Opas ja ohjeet ovat luotu eläinlääkäreiden ja eläintenhoitajien käyttöön, joten joitakin heidän ammattiosaamiseensa kuuluvia yksityiskohtia ei olla oppaassa mainittu. Oppaan tai ohjeiden sisällössä ei löydetty virheitä. Opas ja sen sisältämät ohjeet luotiin helppokäyttöisiksi ja helposti ymmärrettäväksi, jottei niiden sisältö olisi tulkinnanvaraista. Opinnäytetyössä ja oppaassa käytetyissä valokuvissa esiintyvien leukosyyttien oikea tunnistus varmistettiin laboratoriohoitajalta.

Kohdassa 6.2.2 Viitearvoja mainittujen tutkimusten tutkimustulokset ovat laadukkaita, mutta kyseisiä tuloksia ei voida siitä huolimatta käyttää luotettavina viitearvoina. Näiden viitearvojen tarkoituksena oli toimia esimerkkeinä ja vertailukohteena. Vastaavia tutkimuksia tulisi suorittaa enemmän ja suuremmalla otannalla, jotta voitaisiin saada luotettavampia ja kattavampia tutkimustuloksia, joiden pohjalta voitaisiin määrittää luotettavia viitearvoja eri lintulajeille.

## 9.2 Eettisyys

### 9.2.1 Opinnäytetyön eettisyys

Opinnäytetyö laadittiin eettisesti kestäväällä tavalla ja hyvää tieteellistä käytäntöä noudattaen. Tutkimuseettisistä näkökulmista on tärkeä laatia opinnäytetyö rehellisesti, huolellisesti ja tarkasti. Tiedonhakuun käytettiin kriteerien mukaisia sekä eettisesti kestäviä tiedonhankintamenetelmiä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012: 6–7.) Muiden tutkijoiden töitä ja saavutuksia kunnioitettiin ilmoittamalla opinnäytetyön laatimiseen käytetyt lähteet ja tutkimukset avoimesti, vastuullisesti sekä oikeaoppista

viittaustekniikkaa käyttämällä. Eettistä ennakkoarviointia tai tutkimuslupaa ei tarvittu opinnäytetyön toteuttamiseksi. Opinnäytetyö laadittiin ilman rahoitusta tai muita merkityksellisiä sidonnaisuuksia. Opinnäytetyöstä tehtiin ja allekirjoitettiin yhteisymmärryksessä laadittu sopimus opinnäytetyön tekijän, tilaajan ja oppilaitoksen kanssa.

Opinnäytetyö julkaistiin Theseus-palvelussa, jossa se on vapaasti luettavissa. Opinnäytetyön saavutettavuudesta huolehdittiin käyttämällä oppilaitoksen valmista opinnäytetyöpohjaa, jossa on selkeä rakenne. Taulukoita ja kuvia hyödynnettiin tiedon esittämiseen ja havainnollistamiseen. Valokuvaan lisättiin vesileimat, joissa näkyy valokuvien ottajien nimet ja vuosi, jolloin valokuvat ovat otettu. Opinnäytetyössä esiintyvien kuvien ja taulukoiden saavutettavuudesta huolehdittiin luomalla kuville ja taulukoille vaihtoehtoiset tekstit sekä avaamalla taulukoiden sisältö myös opinnäytetyön tekstissä. Taulukoissa käytettiin hentoa taustaväriä havainnollistamisen tukena. Taustavärien ja taulukkoketkin värin kontrastisuhde tarkistettiin Contrast Checkerin (WebAIM.org) avulla, jotta ne olivat Theseuksen (2020) saavutettavuuden kriteerien mukaisia. Opinnäytetyön tuotoksen eli oppaan saavutettavuudesta huolehdittiin siten, että se vapaasti luettavissa opinnäytetyön liitteenä (liite 1). Opinnäytetyön saavutettavuus tarkistettiin ja varmistettiin Wordin automaattisella tarkistustoiminnolla.

### 9.2.2 Toiminnan eettisyys

Kyseisen opinnäytetyön toiminta ei ollut lain mukaan koe-eläintoimintaa, jonka vuoksi koe-eläinlupaa ei tarvittu. Lain mukaan koe-eläintoiminnaksi lasketaan toiminta, jossa eläimiä pidetään eläinkokeita varten ja eläinten käyttämistä eläinkokeisiin (Laki koe-eläintoiminnasta 62/2006 § 2). Lain mukaan eläinkokeilla ei tarkoiteta kliinistä eläinlääkintää tai diagnostisiin tarkoituksiin käytettävää näytteenottoa (Laki koe-eläintoiminnasta 62/2006 § 4).

Eläinten parissa työskennellessä toimittiin eettisesti ja eläinsuojelulakia noudattaen. Eläinsuojelulain tarkoituksena on suojella eläimiä parhaalla mahdollisella tavalla kärsimykseltä, kivulta ja tuskalta sekä edistää eläinten hyvinvointia ja hyvää kohtelua (Eläinsuojelulaki 247/1996 1 §). Eläinlääketieteen ja eläinten hoidon ammattilaiset hoitivat eläimen käsittelyn sekä verinäytteenoton niin, että siitä aiheutui eläimelle mahdollisimman vähän stressiä ja kärsimystä. Kaikki tarvittavat verinäytteet otettiin yhdellä ja samalla kerralla, ettei eläintä tarvinnut käsitellä tarpeettomasti. Käsitleminen ja verinäytteenotto voi aiheuttaa eläimille stressiä sekä kärsimystä,

joten verinäytteenotto oli aina hyvin perusteltua ja verinäytteitä otettiin ainoastaan eläinlääkärin määräyksestä. Verinäytteenotosta ja näytteenottokohdista otetut valokuvat otettiin nopeasti ja niin, ettei se häirinnyt toimenpidettä tai pidentänyt toimenpiteen kestoa.

Opinnäytetyöprosessin aikana toimittiin bioanalyytikon eettisten ohjeiden mukaisesti. Suomen bioanalytikkoliitto ry:n eettisten ohjeiden mukaan bioanalyytikon velvollisuutena on perehtyä säädöksiin, määräyksiin, standardeihin sekä suosituksiin, jotka koskevat hänen ammattitoimintaansa ja noudattaa niitä. Bioanalyytikon tulee käyttää hyväksytyjä toimintatapoja ja hän vastaa laboratoriotutkimusten laadusta sekä luotettavuudesta jokaisessa laboratoriotutkimusprosessin vaiheissa. Bioanalyytikon tulee kantaa vastuu omasta toiminnastaan, tiedostaa oman osaamisensa rajat. Bioanalyytikon tulee luoda ja ylläpitää hyvät yhteistyösuhteet myös muiden ammattiryhmien kanssa ja kunnioittaa heidän sekä kollegoidensa asiantuntemusta. Bioanalyytikon tulee antaa asiantuntija-apua ohjaamalla ja neuvomalla muita ammattiryhmiä laboratoriotutkimuksiin liittyvissä kysymyksissä. (Suomen bioanalytikkoliitto ry 2017.)

Opinnäytetyössä käytetyt valokuvat ovat otettu niin, ettei niistä voi tunnistaa kuvissa esiintyviä henkilöitä. Valokuvissa esiintyviltä henkilöiltä kysyttiin suullisesti lupa valokuvien ottamiseen ja käyttämiseen opinnäytetyössä. Korkeasaaren eläintarhan tai Yliopistollisen eläinsairaalan tiloissa otetut valokuvat ovat otettu siten, ettei niissä näky muuta kuin opinnäytetyötä varten tarkoitettuja asioita.

### 9.3 Tuotoksen tarkastelu

Tuotos laadittiin Makkosen ja Lavikaisen (2020) mukaisesti luotettavaa tietoa käyttäen ja se laadittiin selkeäksi ja käytännölliseksi kokonaisuudeksi. Otsikoita, väliotsikoita, kappalejakoja, numeroita, luetteloita sekä sisällysluetteloa käytettiin rakenteen selkeyttämiseksi. Makkosen ja Lavikaisen (2020) mukaisesti teksti jäsenneltiin siten, että sisältö ja työhjeet etenivät johdonmukaisesti ja kronologisessa järjestyksessä. Työhjeet esitettiin Makkosen ja Lavikaisen (2020) sekä Kotimaisten kielten keskuksen (Kotimaisten kielten keskus) mukaisesti luettelomuodossa ja valokuvia hyödyntäen. Oppaasta laadittiin Työterveyslaitoksen (2021) mukaisesti lyhyt ja ytimekäs kokonaisuus, josta löytyy kaikki työmenetelmän kannalta oleelliset työvaiheet. Oppaassa käytettiin Skolverketin (Skolverket) mukaisesti helposti ymmärrettävää yleiskieltä. Ohjeet kirjoitettiin preesensmuotoa käyttäen ja verbit käskymuodossa.



Tuotoksen sisältö laadittiin opinnäytetyön tietoperustan pohjalta ja sisältö suunniteltiin Korkeasaaren käyttöön sopivaksi. Sisältö laadittiin sellaiseksi, että se sisältää kaikki oleelliset tiedot, joita Korkeasaari tarvitsi lintujen leukosyyttien tunnistamiseen ja erittelylaskennan suorittamiseen, mutta ei mitään ylimääräistä. Veren sivelyvalmisteiden valmistamisesta laadittiin kaksi ohjetta, yhdet tarkemmat kirjalliset ohjeet sekä toiset lyhyemmät kuvalliset ohjeet. Ohjeita laadittiin kaksi siitä syystä, että käyttäjä voisi valita niistä itselleen sopivimman ohjeen. Värjäysmenetelmän taulukko laadittiin sellaiseksi, että värjäysmaljat voitaisiin asettaa vetokaappiin samassa järjestyksessä. Tällä tavoin värjääjän olisi helpompi seurata ohjetta ja seuraava värjäysmalja olisi aina edellisen vieressä, ettei objektilaseja siirrettäisi muiden värjäysmaljojen yli vaan suoraan vieressä olevaan värjäysmaljaan.

## 9.4 Tuotoksen hyödyntäminen

Tuotosta tullaan ensisijaisesti hyödyntämään Korkeasaaren eläintarhassa. Tämän opinnäytetyön ja tuotoksen pohjalta Korkeasaaren eläintarhassa voidaan ottaa käyttöön lintujen leukosyyttien erittelylaskenta osaksi siellä suoritettavia laboratoriotutkimuksia. Opas toimii laadukkaan erittelylaskennan suorittamisen ja leukosyyttien tunnistamisen tukena. Opasta voidaan hyödyntää myös muiden kuin opinnäytetyössä mainittujen lintulajien leukosyyttien erittelylaskennoissa. Veren sivelyvalmisteen valmistus ja erittelylaskennan suorittaminen tehdään samalla tavalla lintulajista riippumatta. Leukosyyttien tunnistamisessa tulisi huomioida, että eri lintulajien leukosyytit saattavat näyttää erilaiselta kuin opinnäytetyössä esiintyvien lintulajien leukosyytit. Leukosyyttien tunnistusopas toimii hyvänä pohjana myös muiden lintulajien leukosyyttien tunnistamisessa, eikä rajoitu ainoastaan opinnäytetyössä esiintyvien lintulajien leukosyyttien tunnistamiseen.

Tuotosta voi hyödyntää myös muut lintujen leukosyyttien tunnistamista harjoittelevat henkilöt, kuten esimerkiksi eläinlääkärit, eläinlääketieteenopiskelijat, eläintenhoitajat ja eläindiagnostiikan parissa työskentelevät. Myös bioanalytiikan lehtorit ja opiskelijat tai muut aiheesta kiinnostuneet voivat hyödyntää tuotosta.

## 9.5 Kehittämisehdotukset

Opinnäytetyötä ja tuotosta voitaisiin kehittää jatkossakin, sillä kyseessä on hyvin laaja ja edelleen suhteellisen tuntematon aihe. Koska aihetta tutkitaan edelleen niin opasta voitaisiin kehittää ja laajentaa jatkuvasti uuden tutkimustiedon mukaan. Julkaisujen ja kirjojen saatavuuden kanssa oli haasteita eli opinnäytetyön sisältöä voisi varmasti

laajentaa, mikäli päästäisiin hyödyntämään uusimpia julkaisuja ja kirjoja. Uutta tietoa on myös tulossa, kun Terry Campbellin ja Krystan Grantin kirjoittama *Exotic animal hematology and cytology* viides painos julkaistaan huhtikuussa 2022.

Opinnäytetyössä ja oppaassa esitettyjen valokuvien laatuun ja valaistukseen olisi voinut kiinnittää enemmän huomiota, jotta ne olisivat entistä selkeämpiä ja parempilaatuisia. Opinnäytetyöhön ja oppaaseen voisi lisätä valokuvia muidenkin lintulajien leukosyyteistä. Eri lintulajien leukosyyttien erittelylaskennan tuloksia voitaisiin myös kerätä ja niiden perusteella voitaisiin mahdollisesti määrittää luotettavammat viitearvot. Hematologisten parametrien, kuten leukosyyttien erittelylaskennan viitearvojen osoittaminen olisi iso edistysaskel lintujen hematologisten tutkimusten kannalta. Samantyyllisiä oppaita voitaisiin tehdä esimerkiksi punasoluista, poikkeavien punasolujen tunnistamisesta tai poikkeavien leukosyyttien tunnistamisesta.

## 9.6 Ammatillinen kasvu

Tämän opinnäytetyöprosessin aikana sain paljon uutta tietoa minulle entuudestaan tuntemattomasta aiheesta. Pääsin tekemään käytännön työtä sekä yhdistämään aikaisemman ammattiosaamiseni tulevaan ammattiini ja sain enemmän varmuutta omaan tekemiseeni ja osaamiseeni. Pystyin hyödyntämään opinnäytetyöprosessissa eläintenhoitajan ammattiani ja osaamistani ja siitä oli paljon hyötyä opinnäytetyön tekemisessä. Opinnäytetyöprosessi antoi minulle hyvät valmiudet urani jatkamiselle valitsemallani polulla.

Pääsin kehittämään, haastamaan sekä hyödyntämään bioanalyytikon osaamistani opinnäytetyöprosessin aikana. Pystyin hyödyntämään osaamistani verinäytteenotossa, veren sivelyvalmisteiden valmistamisessa ja mikroskoppoinnissa. Haastoin osaamistani veren sivelyvalmisteiden mikroskoppoinnissa ja leukosyyttien tunnistamisessa. Kirjallisuuden avulla olin oppinut eri tapoja tunnistaa leukosyytit ja mikroskoopoidessa pääsin hyödyntämään oppimaani ja katsomaan osasinko tunnistaa leukosyytit oikein. Kehityin bioanalytikkona siten, että opin paljon uutta lintujen verisoluista, opin tunnistamaan lintujen leukosyytit, opin ottamaan verinäytteitä linnuilta ja opin valmistamaan veren sivelyvalmisteita eri menetelmillä. Käytännön työt antoivat minulle varmuutta omaan tekemiseeni ja osaamiseeni bioanalytikkona. Kyseisiä taitoja voin jatkossa hyödyntää myös ihmisten verestä tehtävissä veren sivelyvalmisteen tutkimuksissa, kuten leukosyyttien erittelylaskennassa.

## Lähteet

Amersbach, Melanie & Beaufrère, Hugues & Gionet Rollick, Annick & Tully, Thomas 2015. Laboratory blood analysis in Strigiformes—Part I: hematologic reference intervals and agreement between manual blood cell counting techniques. *Veterinary Clinical Pathology* 44 (1). 94–108.

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/vcp.12229>>. Viitattu 7.3.2022.

Arene 2020. Vastuullinen opinnäytetyö. Ammattikorkeakoulujen opinnäytetöiden eettiset suositukset. Näreaho, Susanna & Kettunen, Jyrki & Kärki, Anne & Päälysaho, Seliina (Toim.). <<https://www.arene.fi/wp-content/uploads/Raportit/2020/Arenen%20ONT%20eettiset%20ohjeet%20esitysmateriaali%202020.pdf?t=1578486373>>. Viitattu 21.9.2021.

Bhattacharjee, A. & Acharya, C.P. & Rana N. & Mallik, B.K. & Mohanty, P.K. 2018. Haematological and morphometrical analysis of blood cells of Khaki Campbell duck (*Anas platyrhynchos*) in different age groups with respect to sexual dimorphism. *Comparative Clinical Pathology* 27 (1). 1465–1472.

Campbell, Terry & Dein Joshua 1984. Avian hematology. The basics. Symposium on caged bird medicine. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice* 14 (2). 223–248.

Campbell, Terry 1988. Avian hematology and cytology. 1. painos. Iowa: Iowa state university press.

Campbell, Terry 2007. Hematology of birds. Teoksessa Campbell, Terry & Ellis, Christine. Avian and exotic animal hematology and cytology. 3. Painos. Oxford: Wiley-Blackwell. Luku 1.

Candy, Linda 2006. Practice Based Research: A Guide. Sydney. University of technology. <[https://www.researchgate.net/publication/257944497\\_Practice\\_Based\\_Research\\_A\\_Guide](https://www.researchgate.net/publication/257944497_Practice_Based_Research_A_Guide)>. Viitattu 27.1.2022.

Carisch, Lea & Stirn, Martina & Hatt, Jean Michel & Federer, Karin & Hofmann-Lehmann, Regina & Riond Barbara 2019. White blood cell count in birds: evaluation of a commercially available method. *BMC veterinary research* 15 (1). 1–7. <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-019-1834-8>>. Viitattu 17.9.2021.

Eläinsuojelulaki. 247/1996. Annettu Helsingissä 4.4.1996. <<https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1996/19960247#L1P1>>. Viitattu 21.9.2021.

Forbes, N.A 1998. Introduction to avian practice. *The Veterinary Quarterly* 20 (1). 61–62. <<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/01652176.1998.10807415?needAccess=true>>. Viitattu 17.9.2021.

Gaspar, Helena & Bargallo, Ferran & Grifols, Jordi & Correia, Elisete & De Lurdes Pinto, Maria 2021. Haematological reference intervals in captive African Grey parrots (*Psittacus erithacus*). *Veterinarni Medicina* 66 (01). 24–31.  
<[https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/15\\_2020-VETMED.pdf](https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/15_2020-VETMED.pdf)>. Viitattu 7.3.2022.

Hawkey, C.M. & Dennett, T.B. 1989. A colour atlas of comparative veterinary haematology. Lontoo: Wolfe medical publications.

Hemm, Roger & Carlton, W.W. 1966. Duck hematology. *Agricultural experiment station* 1966 (2935). 956–962.  
<<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0032579119383385?token=170E6A8D6F57960F17990C821B5FA2BC4648593A0B8A602F54DC4ED5B76D730D26D4BB132E3A30A527AFEF22E1978EE0&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220315102700>>. Viitattu 21.9.2021.

Julkaisufoorumi 2021. Julkaisufloorumi. <<https://julkaisufoorumi.fi/fi/julkaisufoorumi-0>>. Viitattu 11.3.2022.

Korkeasaari Zoo. Villieläinsairaala.  
<<https://www.korkeasaari.fi/villielainsairaala/#6502b58a>>. Viitattu 16.9.2021

Kotimaisten kielten keskus. Ohjeita ohjeiden tekijöille.  
<[https://www.kotus.fi/ohjeet/hyvan\\_virkakielen\\_ohjeita/ohjeita\\_ohjeiden\\_tekijoille](https://www.kotus.fi/ohjeet/hyvan_virkakielen_ohjeita/ohjeita_ohjeiden_tekijoille)>. Viitattu 20.9.2021.

Laakkonen, Juha 2016. Lintujen anatomia. BoD-books on demand. E-kirja. Helsinki.

Laki koe-eläintoiminnasta 62/2006. Annettu Helsingissä 20.1.2006.  
<<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2006/20060062>>. Viitattu 12.3.2022.

Makkonen, Samu. & Lavikainen, Pekka 2020. Työohjeet apuna asiantuntijatyössä. LAB Pro. <<https://www.labopen.fi/lab-pro/tyoohjeet-apuna-asiantuntijatyossa/>>. Viitattu 27.1.2022.

Pendl, Helene & Samour Jaime 2016. Hematology analyses. Teoksessa Samour, Jaime (Toim.). *Avian medicine*. 3. Painos. Missouri: Elsevier. 77–94.

Pendl, Helene 2016. Interpretation of the hematology findings. Teoksessa Samour, Jaime (Toim.). *Avian medicine*. 3. Painos. Missouri: Elsevier. 94–97.

Pollock Christal 2015. Venipuncture in birds. *LafeberVet*.  
<<https://lafeber.com/vet/venipuncture/>>. Viitattu 7.3.2022.

Reagena 2018. MAY-GRÜNWARD-GIEMSA-värijäysliuokset. Käyttöohje.  
<<https://tuoteluettelo.mediq.fi/liitteet/d389462/>>. Viitattu 17.9.2021

Sabater, Mikel & Forbes, Neil 2014. Avian haematology and biochemistry. 1. Haematology. In Practice 36 (10). 510–518.

Samour, Jaime 2016. Blood sampling. Teoksessa Samour Jaime (Toim.). Avian medicine. 3. Painos. Missouri: Elsevier. 73–77.

Savolainen, Eeva-Riitta & Tienhaara, Anri 2015a. Hematologiset laboratoriotutkimukset. Teoksessa Porkka, Kimmo & Lassila, Riitta & Remes, Kari & Savolainen, Eeva-Riitta (Toim.). Veritaudit. E-kirja. Kustannus Oy Duodecim. Luku 5.

Savolainen, Riitta-Eeva & Tienhaara, Anri 2015b. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Porkka, Kimmo & Lassila, Riitta & Remes, Kari & Savolainen, Eeva-Riitta (Toim.). Veritaudit. E-kirja. Kustannus Oy Duodecim. Luku 5.

Suomen eksoottisten eläinten harrastajayhdistysten liitto ry. Eläinlääkärit. <<https://seel.fi/wordpress/elainlaakarit/>>. Viitattu 11.3.2022.

Sengul, E. & Gelen, V. & Kara, A. & Sismek, N. & Karadeniz, A. & Balkaya H. 2015. Enzyme histochemical, histometric and hematological features of peripheral blood cells in Sparrowhawk *Accipiter nisus* (Falconiformes: Accipitridae). Italian Journal of Zoology, 82 (2). 151–156.  
<<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11250003.2014.1001451?needAccess=true>>. Viitattu 9.3.2022.

Simundic, Ana-Maria & Lippi, Giuseppe 2012. Preanalytical phase – a continuous challenge for laboratory professionals. Biochemia Medica 22 (2). 145–149.  
<<https://www.biochemia-medica.com/en/journal/22/2/10.11613/BM.2012.017/fullArticle>>. Viitattu 9.3.2022.

Skolverket. Instruktion bruksanvisning.  
<<https://www.skolverket.se/download/18.1d7693d81684bec928273c/1548151749715/bbruksanvisning-naturvetenskap-teknik-grundskola.pdf>>. Viitattu 27.1.2022

Suomen bioanalytikkoliitto ry 2017. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. <[https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2017.pdf](https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf)>. Viitattu 13.3.2022.

Theseus 2020. Saavutettava Word- ja PDF-asiakirja. Ohjeita saavutettavuuden varmistamiseksi. <[https://submissions.theseus.fi/theseus\\_files/Saavutettava%20Word-%20ja%20PDF-asiakirja.pdf](https://submissions.theseus.fi/theseus_files/Saavutettava%20Word-%20ja%20PDF-asiakirja.pdf)>. Viitattu 28.3.2022.

Tunturi, Satu 2021. Leukosyytit (B-Leuk). Laboratoriotutkimusten tulkinta. Terveyskirjasto Duodecim. <<https://www.terveyskirjasto.fi/snk03034>>. Viitattu 21.9.2021.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohje 2012. Helsinki. <[https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK\\_ohje\\_2012.pdf](https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf)>. Viitattu 20.9.2021.



Työterveyslaitos 2021. Millainen on hyvä ohje? Kahdeksan vinkkiä ohjeiden tekemiseen työpaikalla. <<https://www.ttl.fi/tyopiste/millainen-on-hyva-ohje-kahdeksan-vinkkia-ohjeiden-tekemiseen-tyopaikalla/>>. Viitattu 25.9.2021.

Walberg, James 2001. White blood cell counting techniques in birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 10 (2). 72–76.

WebAIM.org. Contrast checker. <<https://webaim.org/resources/contrastchecker/>>. Viitattu 28.3.2022.

Whitworth, Darrel & Newman, Scott & Mundkur, Taej & Harris, Phil 2007. Bird handling and ringing techniques. Teoksessa Whitworth, Darrel & Newman, Scott & Mundkur, Taej & Harris, Phil (Toim.) *Wild Birds and Avian Influenza: an introduction to applied field research and disease sampling techniques*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Luku 4.

World Health Organization 2010. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. <[https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0005/268790/WHO-guidelines-on-drawing-blood-best-practices-in-phlebotomy-Eng.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/268790/WHO-guidelines-on-drawing-blood-best-practices-in-phlebotomy-Eng.pdf)>. Viitattu 9.3.2022.



# Lintujen leukosyytit

Leukosyyttien tunnistaminen ja erittelylaskennan suorittaminen

## Sisällysluettelo

<b>Veren sivelynäytteen valmistaminen</b>	<b>2</b>
<i>Standardimenetelmä</i>	3
<i>Peitinlasimenetelmä</i>	5
<b>Veren sivelyvalmisteen värjääminen</b>	<b>7</b>
<i>Värjäyksen vaiheet</i>	7
<b>Erittelylaskennan suorittaminen</b>	<b>8</b>
<b>Leukosyyttien tunnistaminen</b>	<b>9</b>
<i>Taulukko leukosyyttien tunnuspiirteistä</i>	12
<i>Laulujoutsenen leukosyytit</i>	13
<i>Kyhmyjoutsenen leukosyytit</i>	14
<i>Hiiripöllön leukosyytit</i>	15
<i>Viirupöllön leukosyytit</i>	16
<b>Lähdeluettelo</b>	<b>17</b>

Tämä opas on luotu Korkeasaaren eläintarhalle osana Metropolia Ammattikorkeakoululle tehtyä opinnäytetyötä. Oppaan aiheena on lintujen leukosyyttien tunnistaminen ja erittelylaskennan suorittaminen. Opas on laadittu Korkeasaaren eläintarhan käyttöön sopivaksi.

Opas sisältää ohjeita veren sivelyvalmisteen valmistamiseen, sen värjäämiseen ja erittelylaskennan suorittamiseen sekä valokuvia ja taulukoita leukosyyttien tunnistamisen tueksi. Opas on koostettu opinnäytetyön tietoperustan pohjalta ja leukosyyttien tunnistaminen on tehty laboratoriohoitaja Merja Rannan avustuksella sekä kirjallisuutta hyödyntäen.

## Veren sivelynäytteen valmistaminen

Valmista veren sivelyvalmiste mahdollisimman tuoreesta **EDTA**-verinäytteestä, mielellään 2–3 h sisällä näytteenotosta.

Ota kaikki tarvikkeet valmiiksi esille ja puhdista käytettävät objektilasit nukkaamattomalla taitoksella tai pyyhkeellä. Merkitse objektilasit **lyijykynällä** niin, että ne voidaan yhdistää oikeaan lintu yksilöön.

Vetolasien tulee olla puhtaita ja ehjiä. Pienetkin epätasaisuudet vetolasin käytettävässä reunassa vaikuttaa veren sivelyvalmisteen laatuun. Jokainen veto on tehtävä puhtaalla vetolasin sivulla, samaa sivua ei saa käyttää kuin **kerran** yhteen vetoon! Vetolasi on pestävä vetojen välissä.

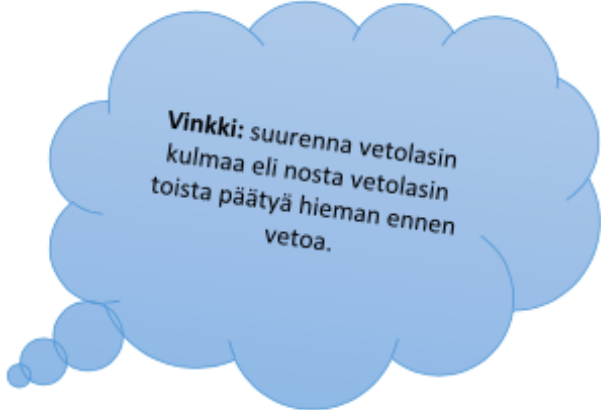
Veren sivelyvalmiste voidaan tehdä **standardimetodilla** tai **peitinlasimenetelmällä**. Standardimetodin avulla voidaan saada verisolut jakaantumaan ohuemmaksi kerrokseksi, jolloin solujen tarkastelu voi olla hieman helpompaa. Mikäli verinäytettä on vain pieni määrä, tai standardimenetelmä tuntuu haastavalta, niin peitinlasimenetelmä voi olla parempi valinta. Jos erittelylaskennan tuloksia halutaan tulevaisuudessa vertailla keskenään, niin olisi tärkeä valmistaa veren sivelyvalmisteet samaa menetelmää käyttäen, jotta tulokset ovat verrattavissa. Eri menetelmien käyttö voi mahdollisesti vaikuttaa tutkimuksen tulokseen.

Tarvitset:			
• EDTA-verinäyte	• Nukkaamattomia taitoksia tai pyyhke	• Kapillaariputki	• Vedellä täytetty pieni dekanterilasi (vetolasin pesemiseen)
• Mattapäisiä objektilaseja	• Lyijykynä	• Vetolasi tai peitinlasi	



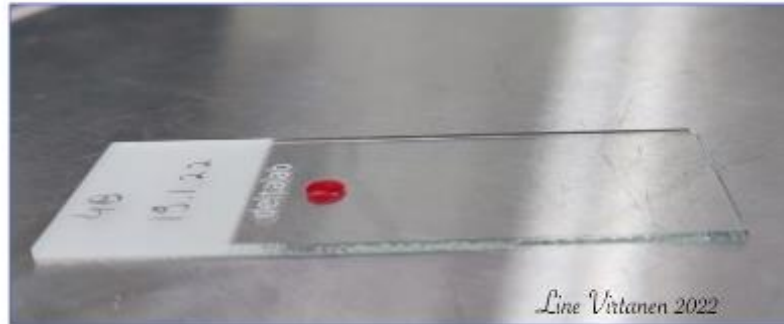
## Standardimenetelmä

1. Puhdista ja kuivaa objektilasi ja vetolasi nukkaamattomilla taitoksilla tai pyyhkeellä.
2. Kirjoita näytteen tunniste lyijykynällä objektilasin mattapintaan.
3. Sekoita verinäyte hyvin verinäyteputkea käännellen.
4. Ota verta kapillaariin ja tiputa veritippa objektilasin toiseen reunaan.
5. Aseta puhdas ja kuiva vetolasi 30–40 asteen kulmassa veritipan eteen.
6. Vedä vetolasi taaksepäin, veritippaan kiinni ja anna tipan levitä vetolasin reunaa pitkin.
7. Liu'uta vetolasia objektilasia pitkin hellävaraisesti mutta vakaalla ja varmalla liikkeellä objektilasin toista reuna kohti. **Älä paina vetolasia!**
8. Kuivaa objektilasi heti heiluttelemalla sitä ilmassa tai kuivaamalla hiustenkuivaajan kylmällä puhalluksella.



**Vinkki:** suurennna vetolasin kulmaa eli nosta vetolasin toista päätä hieman ennen vetoa.

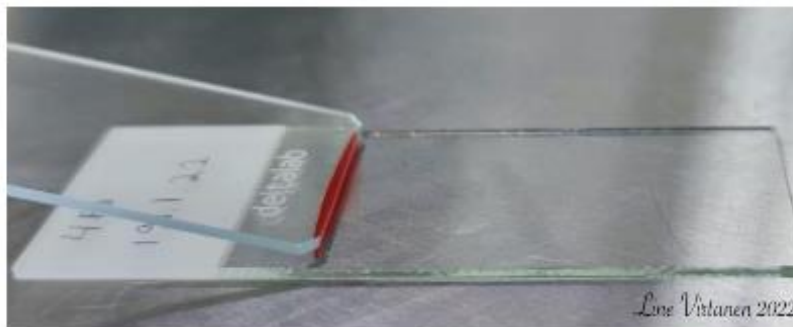
## Standardimenetelmä



1. Tiputa veripisara objektilasin toiseen reunaan.



2. Aseta vetolasi 30–40 asteen kulmassa veritipan eteen.



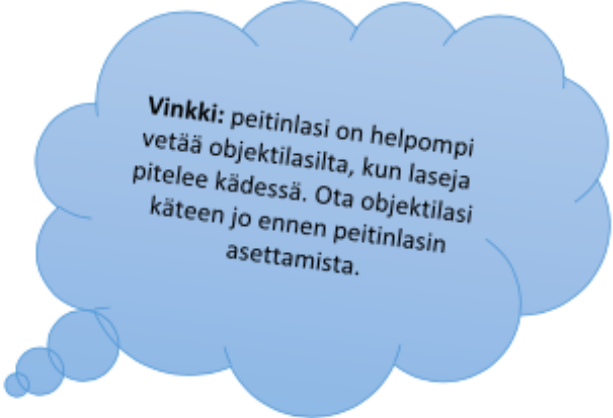
3. Vedä vetolasi kiinni veripisaraan ja anna veritipan levitä vetolasin reunaa pitkin.



4. Liu'uta vetolasi objektilasia pitkin sen toista reunaa kohti.

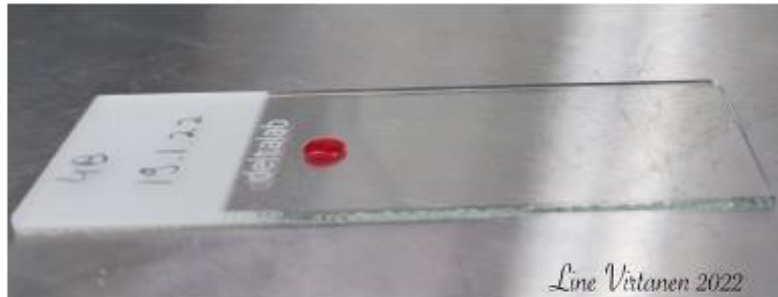
## Peitinlasimenetelmä

1. Puhdista ja kuivaa objektilasi ja vetolasi nukkaamattomilla taitoksilla tai pyyhkeellä
2. Kirjoita näytteen tunniste lyijykynällä objektilasin mattapintaan
3. Sekoita verinäyte hyvin verinäyteputkea käännellen
4. Ota verta kapillaariin ja tiputa veritippa objektilasin toiseen reunaan
5. Aseta peitinlasi hellävaraisesti veritipan päälle ja anna tipan levitä lasien välissä hetken ajan
6. Vedä peitinlasi rauhallisesti, mutta vakaalla ja varmalla liikkeellä objektilasin suuntaisesti pois. **Älä paina tai nosta peitinlasia!**
7. Kuivaa objektilasi heti heiluttelemalla sitä ilmassa tai kuivaamalla hiustenkuivaajan kylmällä puhalluksella.



**Vinkki:** peitinlasi on helpompi vetää objektilasilta, kun lasia pitelee kädessä. Ota objektilasi käteen jo ennen peitinlasin asettamista.

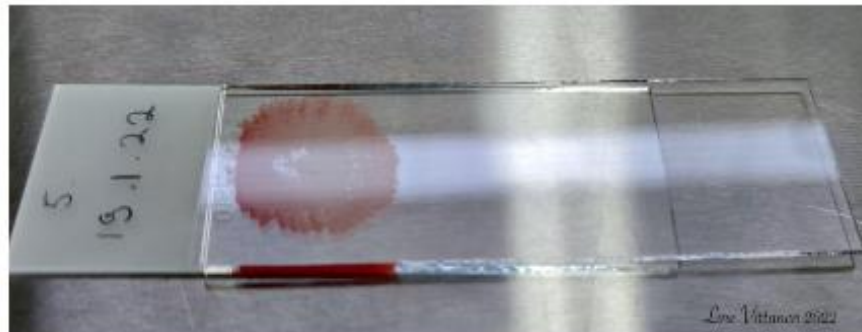
### Peitinlasimenetelmä



1. Tiputa veripisara objektilasin toiseen reunaan.



2. Aseta peitinlasi veripisaran päälle.



3. Anna hetken veren levitä lasien välissä.



4. Vedä peitinlasi objektilasin suuntaisesti pois. Älä paina tai nosta peitinlasia!

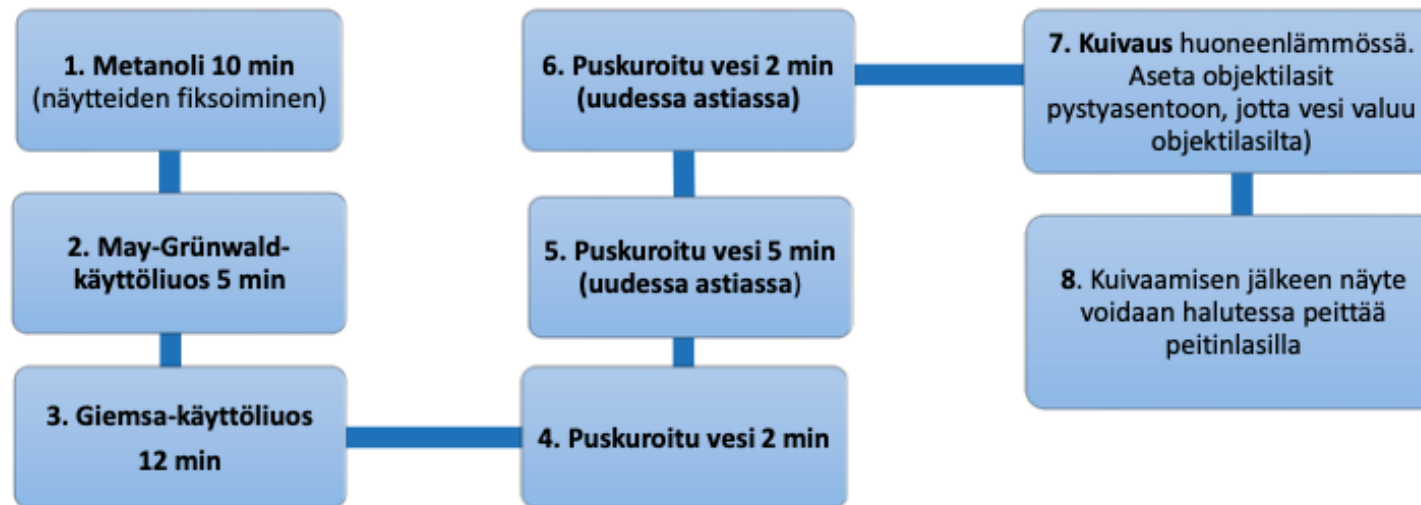
## Veren sivelyvalmisteen värjääminen

EDTA-verestä valmistetut veren sivelyvalmisteet värjätään Reagenan MGG-väreillä ohjeiden mukaisesti. Värjäys on suoritettava mahdollisimman nopeasti veren sivelyvalmisteen valmistamisen jälkeen. Värjäys voidaan suorittaa värjäysautomaatilla tai käsin siirtämällä objektilaseja värjäysastiasta toiseen yksitellen atuloiden avulla tai useampi kerrallaan värjäyskelkalla. Vaikutusaikojen seuraamiseen on käytettävä ajastinta.

Valmista reagenssit (fosfaattipuskuri, Giemsa-käyttöliuos ja May-Grünwald-käyttöliuos) ennen värjäyksen aloittamista Reagenan ohjeiden mukaisesti. Linkki ohjeeseen: <https://tuoteluettelo.mediq.fi/liitteet/d389462/>

Älä muuta tai poikkea valmistajan ohjeista, sillä se voi vaikuttaa värjäystulokseen. Huuhteluun on ehdottomasti käytettävä puskuroitua vettä, sillä värjäystulos on voimakkaasti pH:sta riippuvainen. Pienikin emäksisyys lisää sivelyvalmisteen sinisyyttä ja happamuus punaisuutta. Valmisteet eivät saa kuivua värjäyksen aikana ja ne tulee siirtää suoraan astiasta toiseen ohjeen mukaisesti.

### Värjäyksen vaiheet

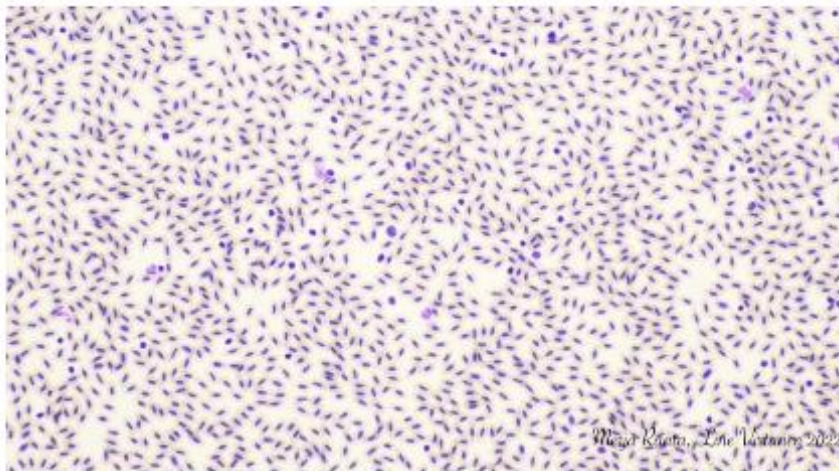




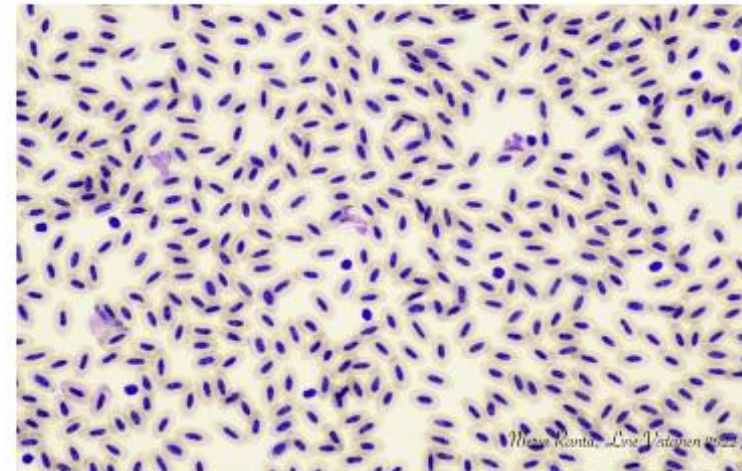
## Erittelylaskennan suorittaminen

Erittelylaskennassa eritellään 100–200 leukosyyttiä ja määritetään leukosyyttien suhteellinen osuus. Leukosyytit eritellään heterofiileihin, eosinofiileihin, basofiileihin, lymfosyytteihin sekä monosyytteihin. Suhteellisen osuuden laskukaava:  $\frac{\text{yhden leukosyyttityypin määrä}}{\text{eriteltyjen leukosyyttien kokonaismäärä}} \times 100$ . Suhteellinen osuus ilmoitetaan prosenttilukuna. Leukosyyttien kokonaismäärä voidaan määrittää laskemalla leukosyyttien määrä kymmenessä näkökentässä 40x objektiivilla käyttäen. Leukosyyttien kokonaismäärän laskukaava:  $\frac{\text{leukosyyttien kokonaismäärä}}{\text{lasketut näkökentät}} \times 2000$ . Tulos on arvio leukosyyttien kokonaismäärästä 1 ml:ssa verta.

Ennen erittelylaskentaa tulee suorittaa esitarkastus. Esitarkastus tehdään 10-25x suurentavalla objektiivilla ja siinä tarkastellaan näytteen laatua, etsitään erittelylaskentaan soveltuva alue ja silmämääräisesti tarkistellaan leukosyyttien määrää ja jakaumaa. Erittelylaskennalle sopiva alue on sellainen, jossa verisolut ovat levittäytyneet tasaisesti ja niin, että ne ovat hieman erillään toisistaan. Erittelylaskenta suoritetaan 100x suurentavalla öljyobjektiivilla ja immersioöljyä käyttäen.



Mikroskooppikuva 25x suurentavalla objektiivilla. Näkökentän kaltainen alue soveltuu erittelylaskennan suorittamiseen.



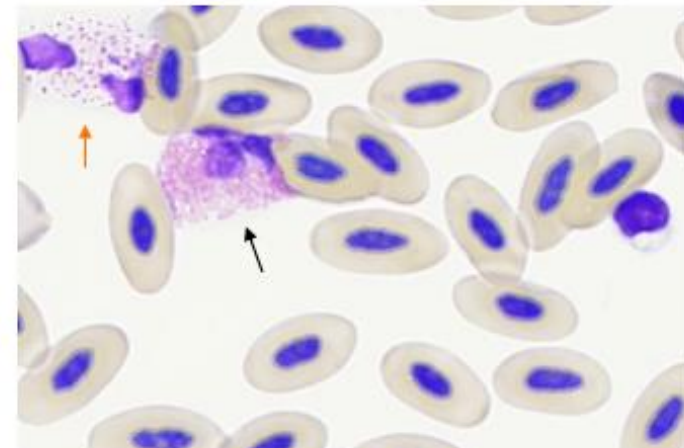
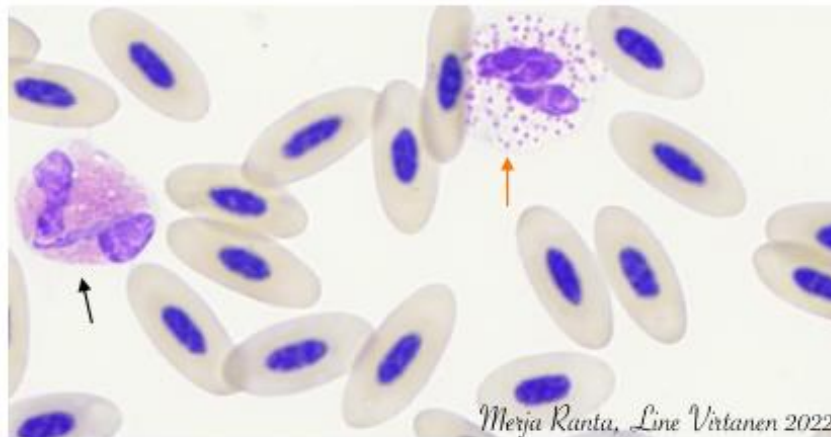
Mikroskooppikuva 40x suurentavalla objektiivilla. Näkökentän kaltainen alue soveltuu leukosyyttien kokonaismäärän määrittämiseen.



## Leukosyyttien tunnistaminen

Leukosyyttien tunnistamisessa kiinnitetään huomiota solujen värjäytymiseen, solun kokoon, sytoplasman ja tumen suhteeseen, tumen muotoon ja sijaintiin solussa sekä kromatiinin ulkonäköön, sytoplasman väriin ja koostumukseen sekä mahdollisiin granuloihin. Leukosyyttien tumat värjäytyvät happamuutensa ansiosta siniseksi tai violetiksi, sytoplasma värjäytyy puolestaan haalean siniseksi. Basofiilisten solujen granulat ovat happamia, joten ne värjäytyvät tumman siniseksi. Eosinofiilisten solujen granulat ovat emäksisiä ja värjäytyvät sen johdosta punaisiksi.

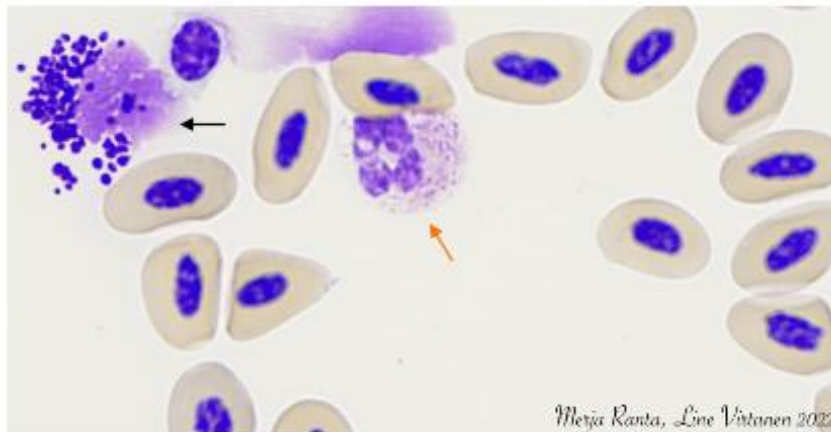
Useimmilla lintulajeilla **heterofiilien** ja **eosinofiilien** granulat ovat keskenään erimuotoisia ja ne värjäytyvät hieman eri tavalla. Eosinofiilien granulat värjäntyvät yleensä intensiivisemmän väriksi kuin heterofiilien granulat. Ennen varsinaisen erittelylaskennan aloittamista kannattaa tarkastella ja vertailla kyseisen linnun heterofiilejä ja eosinofiilejä keskenään, jotta ne voidaan helpommin erottaa toisistaan.



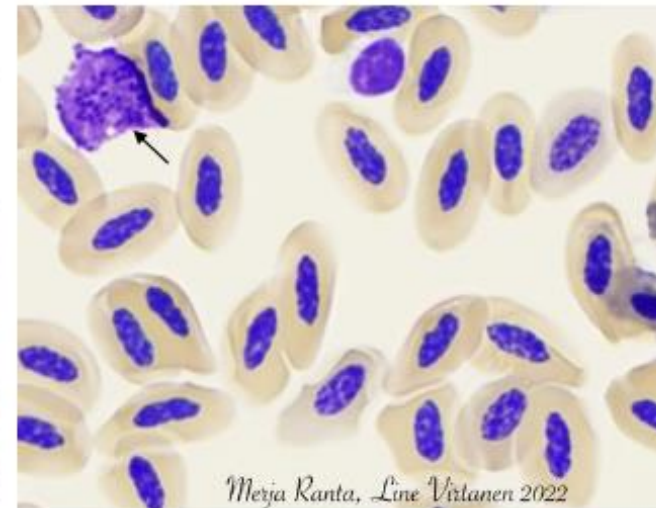
Mustat nuolet osoittavat eosinofiilejä ja punaiset heterofiilejä. Heterofiileillä on vähemmän granulaa kuin eosinofiileillä. Molempien granulat ovat värjäytyneet eosinofiilisesti, mutta eosinofiilien granulat intensiivisemmin kuin heterofiilien granulat. Heterofiileillä on pyöreämuotoista granulaa ja eosinofiileillä sauvamuotoista granulaa. Heterofiilien sytoplasma on väritöntä ja eosinofiilin sytoplasma on hyvin haalean harmahtavan sinertävää.

Merja Ranta, Line Virtanen 2022

**Basofiilit** ovat kooltaan hieman pienempiä kuin heterofiilit ja eosinofiilit. Basofiilien granulat värjäytyvät basofiilisesti. Basofiileillä on myös huomattavasti enemmän granulaa kuin heterofiileillä ja eosinofiileillä.

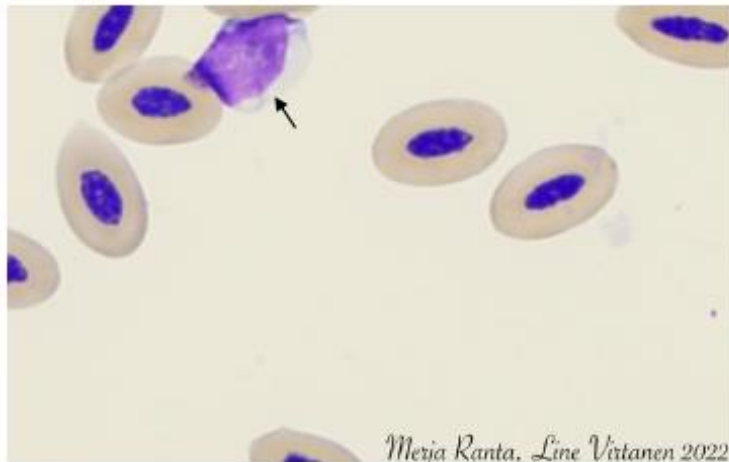


Musta nuoli osoittaa hajonnutta basofiilia ja punainen nuoli heterofiilia.

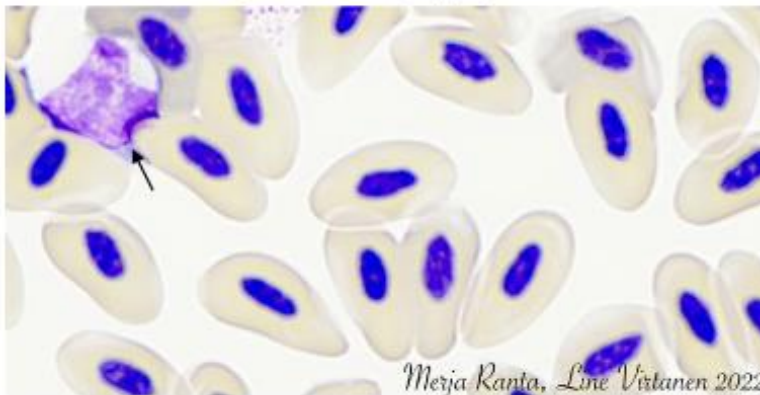


Nuoli osoittaa basofiilia. Basofiili on kauttaaltaan täynnä syvästi värjäytyneitä pyöreitä granuloita.

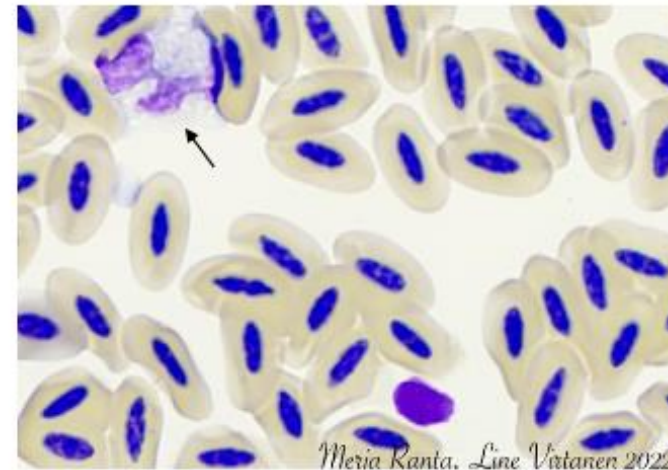
**Monosyytit ja lymfosyytit** voidaan helposti sekoittaa toisiinsa. Monosyytit ovat yleensä suurempia ja niiden muoto on vaihtelevampaa kuin lymfosyyttien.



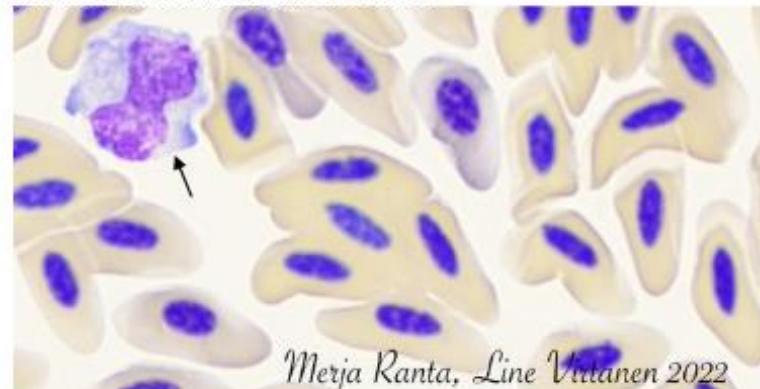
Nuoli osoittaa lymfosyyttiä. Lymfosyytti ja sen tuma ovat muodoltaan pyöreähköjä, sytoplasma on tasaisesti värjäätynyt sinertäväksi ja kromatiini on tiheää ja tasaisesti värjäytynyttä.



Nuoli osoittaa lymfosyyttiä. Lymfosyytti on muodoltaan pyöreähkö, sytoplasma on tasaisesti värjäätynyt sinertäväksi ja kromatiini on verkkomaista.



Nuoli osoittaa monosyyttiä. Monosyytti on kooltaan suuri, sen tuma on lohkoutunut, sytoplasma on epätasaisesti värjäätynyt siniharmaaksi ja kromatiini on hentoa.



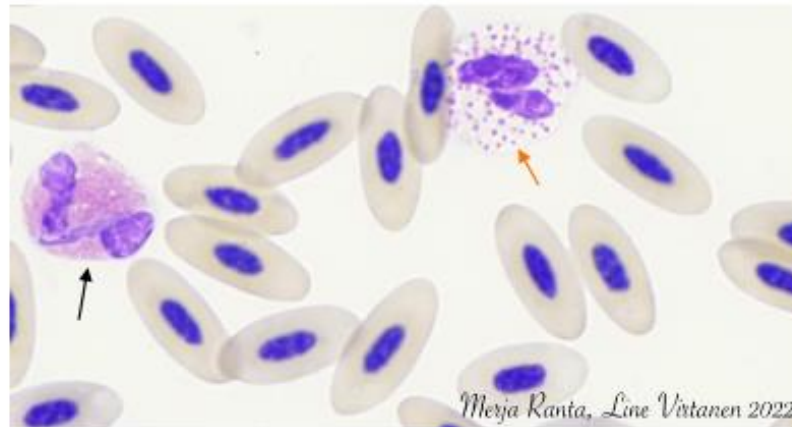
Nuoli osoittaa monosyyttiä. Monosyytti on kooltaan suuri, sen tuma on lohkoutunut, sytoplasma on epätasaisesti värjäätynyt siniharmaaksi ja kromatiini on verkkomaista.

Taulukko leukosyyttien tunnuspiirteistä

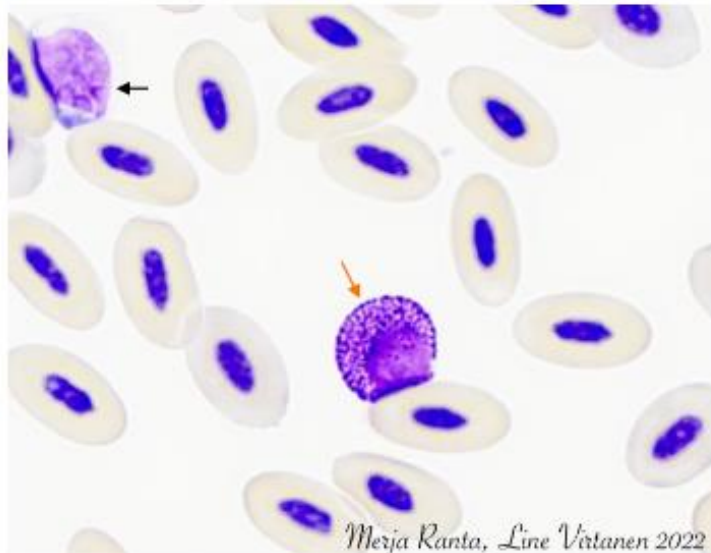
Leukosyytti	Muoto	Granula	Sytoplasma	Tuma ja kromatiini
<b>Heterofiili</b>	Pyöreä	Punertavaa, sauva- tai pyöreänmuotoisia	Väritön	Tumat lohkoutuneita. Kromatiini karkeaa
<b>Eosinofiili</b>	Pyöreä (muoto voi vaihdella)	Punertavaa, sauva- tai pyöreänmuotoisia	Kirkas, haalean sinertävä	Tumat lohkoutuneita. Kromatiini karkeaa
<b>Basofiili</b>	Pyöreä	Sinistä/violettiä, pyöreää, täyttää usein koko solun	Harvoin nähtävissä, täynnä granulaa	Tuma pyöreä, solun keskellä.
<b>Lymfosyytti</b>	Pyöreä tai vaihteleva muoto ja koko	Ei granulaa (joskus pari granulaa)	Tasainen, sinertävä	Tuma pyöreä, solun keskellä. Kromatiini tiheää, verkkomaista.
<b>Monosyytti</b>	Muoto vaihtelee, suurikokoinen	Ei granulaa (joskus hentoa pölymäistä granulamaista rakennetta)	Epätasainen, siniharmaa, vakuoleja saattaa näkyä	Tumat pyöreäköjä tai kaksilohkoisia. Kromatiini hentoa, pitsimäistä, verkkomaista.



Laulujoutsenen leukosyytit

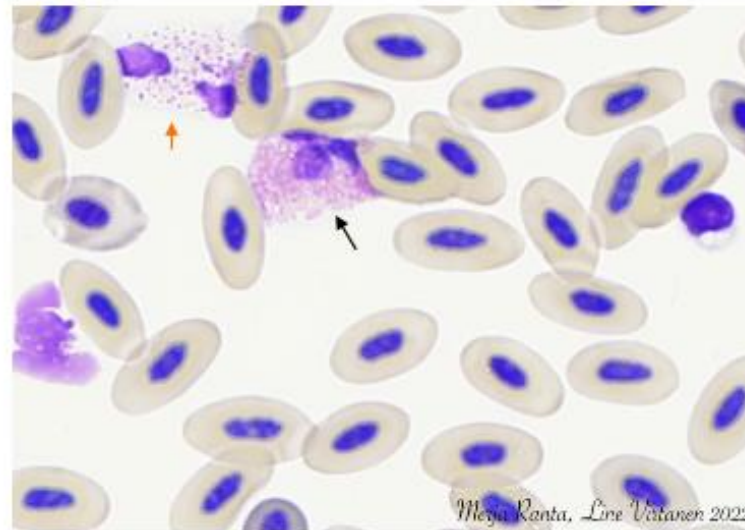


Punainen nuoli osoittaa heterofiilia ja musta eosinofiilia.

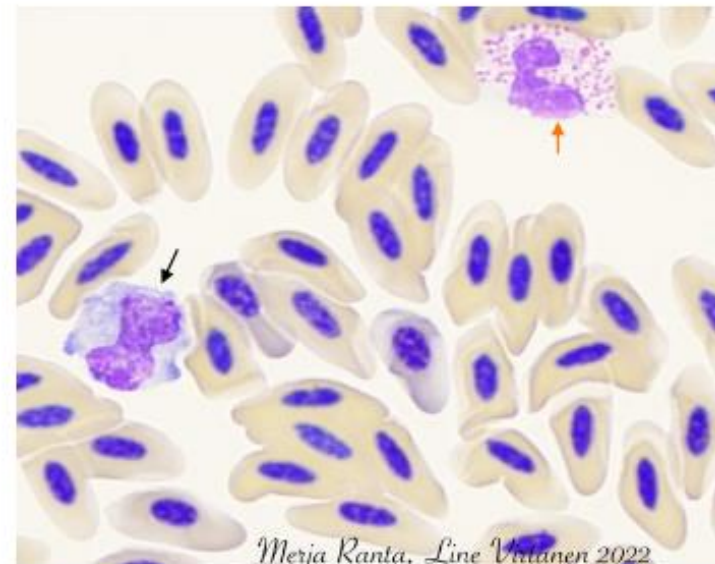


Musta nuoli osoittaa lymfosyyttiä ja punainen basofiilia.

13

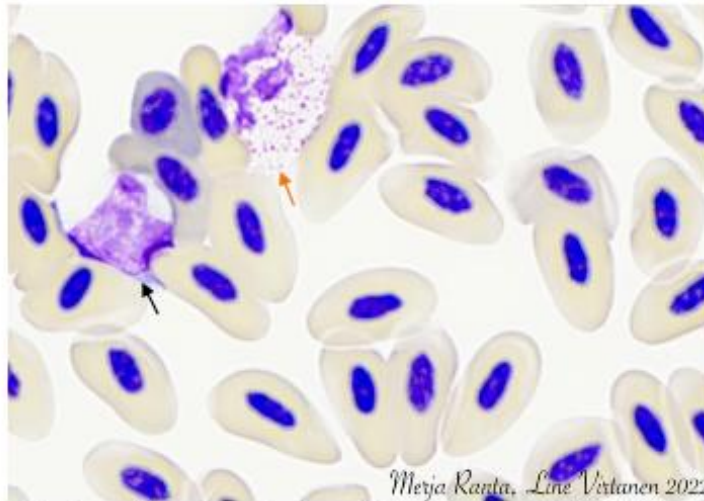


Musta nuoli osoittaa eosinofiilia ja punainen heterofiilia.

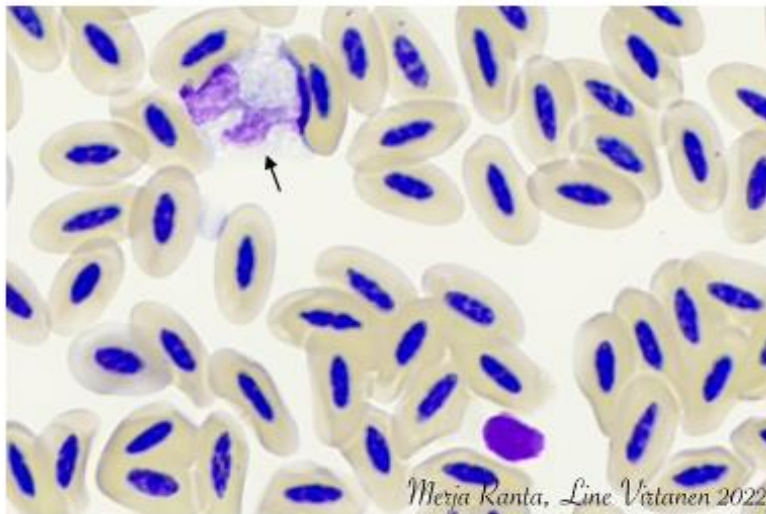


Musta nuoli osoittaa monosyyttiä ja punainen heterofiilia.

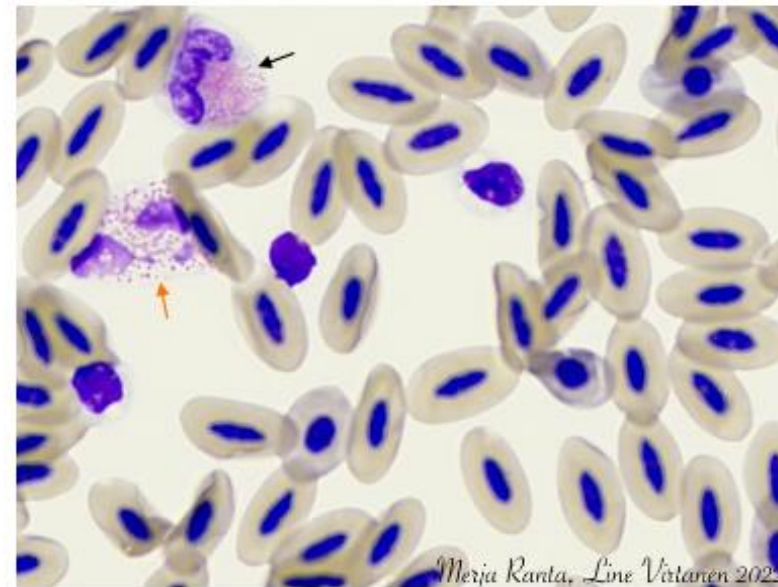
Kyhmyjoutsenen leukosyytit



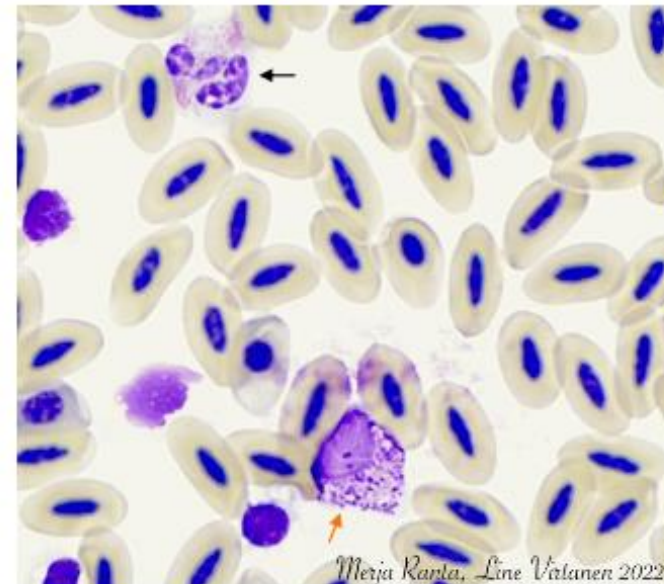
Musta nuoli osoittaa lymfosyyttiä ja punainen heterofiiliä.



Nuoli osoittaa monosyyttiä.



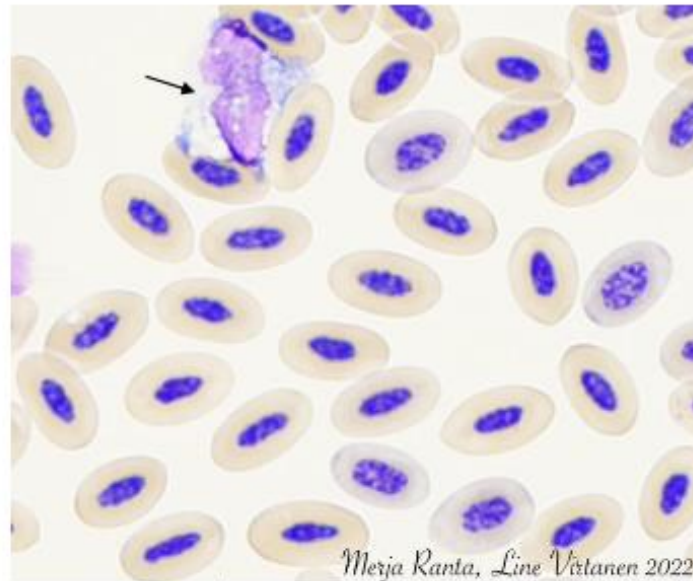
Musta nuoli osoittaa eosinofiiliä ja punainen heterofiiliä.



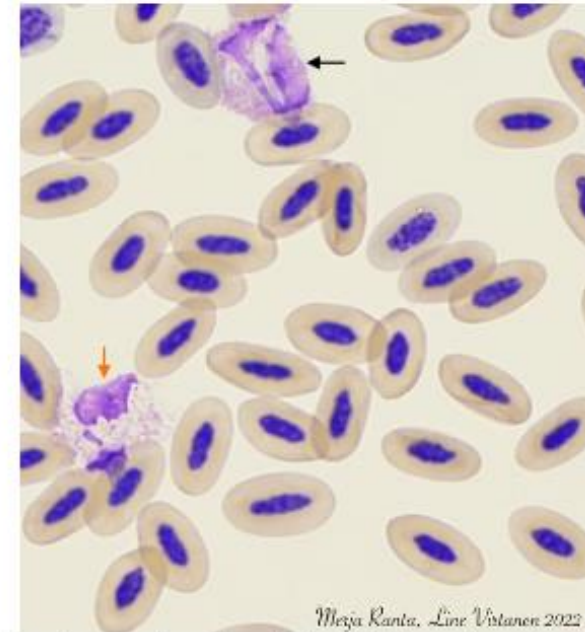
Musta nuoli osoittaa eosinofiiliä ja punainen basofiiliä.



Hiiripöllön  
leukosyytit

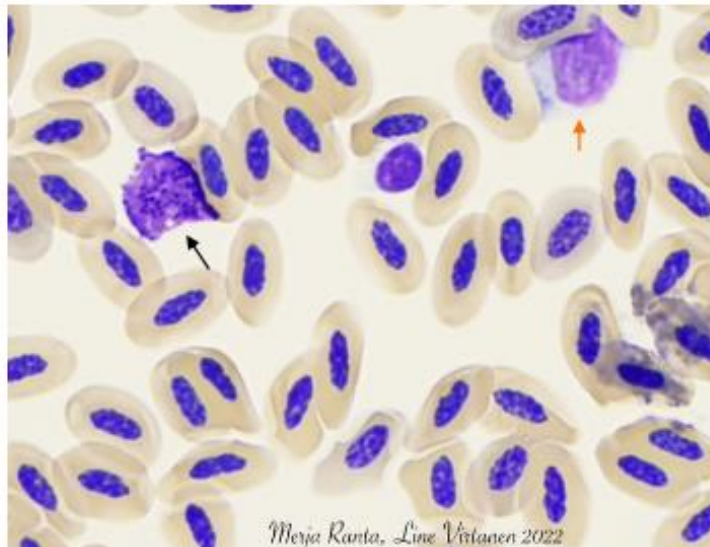


Nuoli osoittaa monosyyttiä.

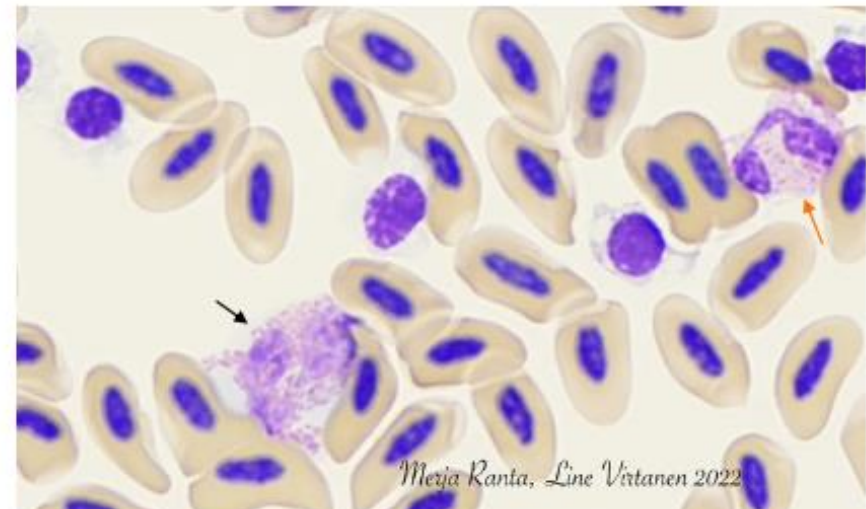


15

Punainen nuoli osoittaa heterofiiliä ja musta eosinofiiliä.

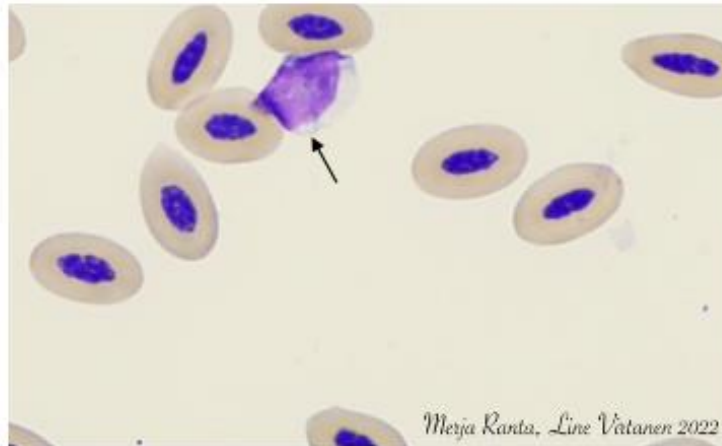


Musta nuoli osoittaa basofiiliä ja punainen lymfosyyttiä.

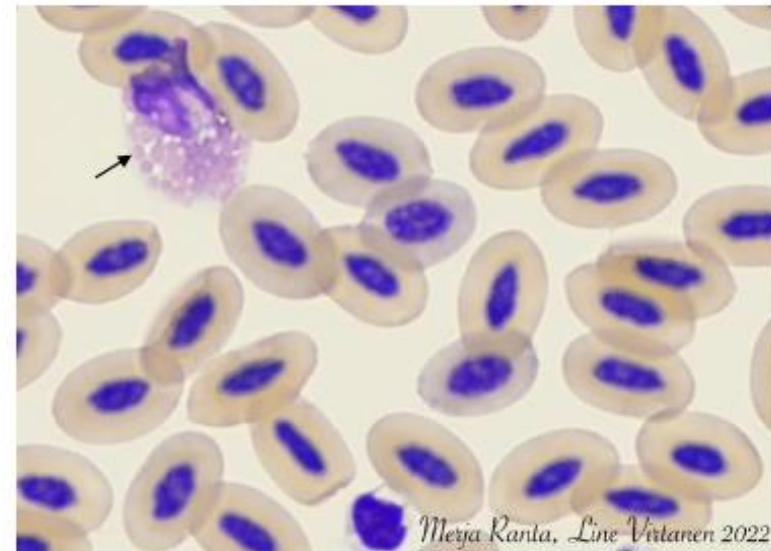


Musta nuoli osoittaa eosinofiiliä ja punainen heterofiiliä.

Viirupöllön leukosyytit

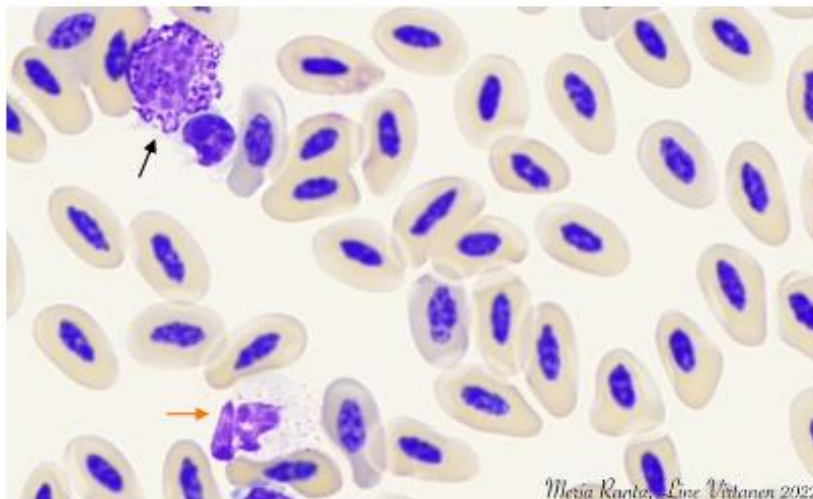


Nuoli osoittaa lymfosyyttiä.

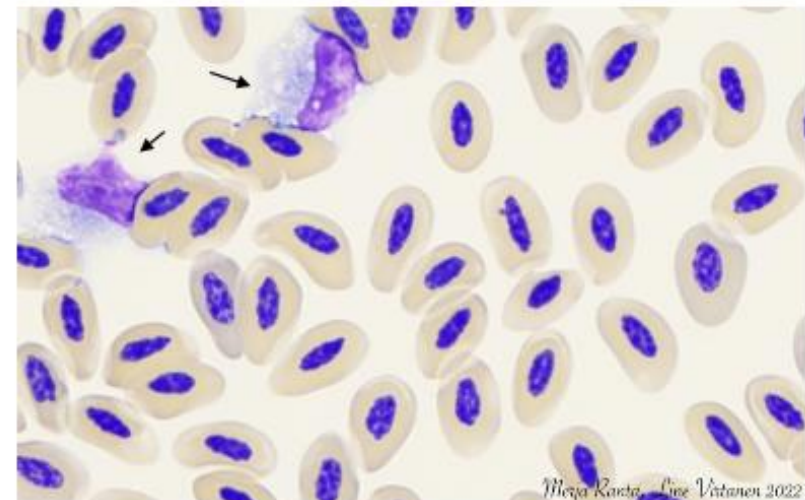


16

Nuoli osoittaa eosinofiiliä.



Musta nuoli osoittaa basofiiliä ja punainen heterofiiliä.



Nuolet osoittavat monosyyttejä.

## Lähdeluettelo

- Campbell, Terry 2007. Hematology of birds. Teoksessa Campbell, Terry & Ellis, Christine. Avian and exotic animal hematology and cytology. 3. Painos. Oxford: Wiley-Blackwell. Luku 1.
- Campbell, Terry 1988. Avian hematology and cytology. 1. painos. Iowa: Iowa state university press.
- Campbell, Terry & Dein Joshua 1984. Avian hematology. The basics. Symposium on caged bird medicine. Veterinary clinics of North America: Small animal practice 14 (2). 223–248.
- Hawkey, C.M. & Dennett, T.B. 1989. A colour atlas of comparative veterinary haematology. Lontoo: Wolfe medical publications.
- Pendl, Helene & Samour Jaime 2016. Hematology analyses. Teoksessa Samour, Jaime (Toim.). Avian medicine. 3. Painos. Missouri: Elsevier. 77–94.
- Reagena 2018. MAY-GRÜNWALD-GIEMSA-värijäysliuokset. Käyttöohje. <<https://tuoteluettelo.mediq.fi/liitteet/d389462/>>. Viitattu 17.9.2021
- Samour, Jaime 2016. Blood sampling. Teoksessa Samou Jaime (Toim.). Avian medicine. 3. Painos. Missouri: Elsevier. 73–77.
- Savolainen, Riitta-Eeva & Tienhaara, Anri 2015. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Porkka, Kimmo & Lassila, Riitta & Remes, Kari & Savolainen, Eeva-Riitta (Toim.). Veri-taudit. E-kirja. Kustannus Oy Duodecim. Luku 5.
- Sabater, Mikel & Forbes, Neil 2014. Avian haematology and biochemistry. 1. Haematology. In Practice 36 (10). 510–518.