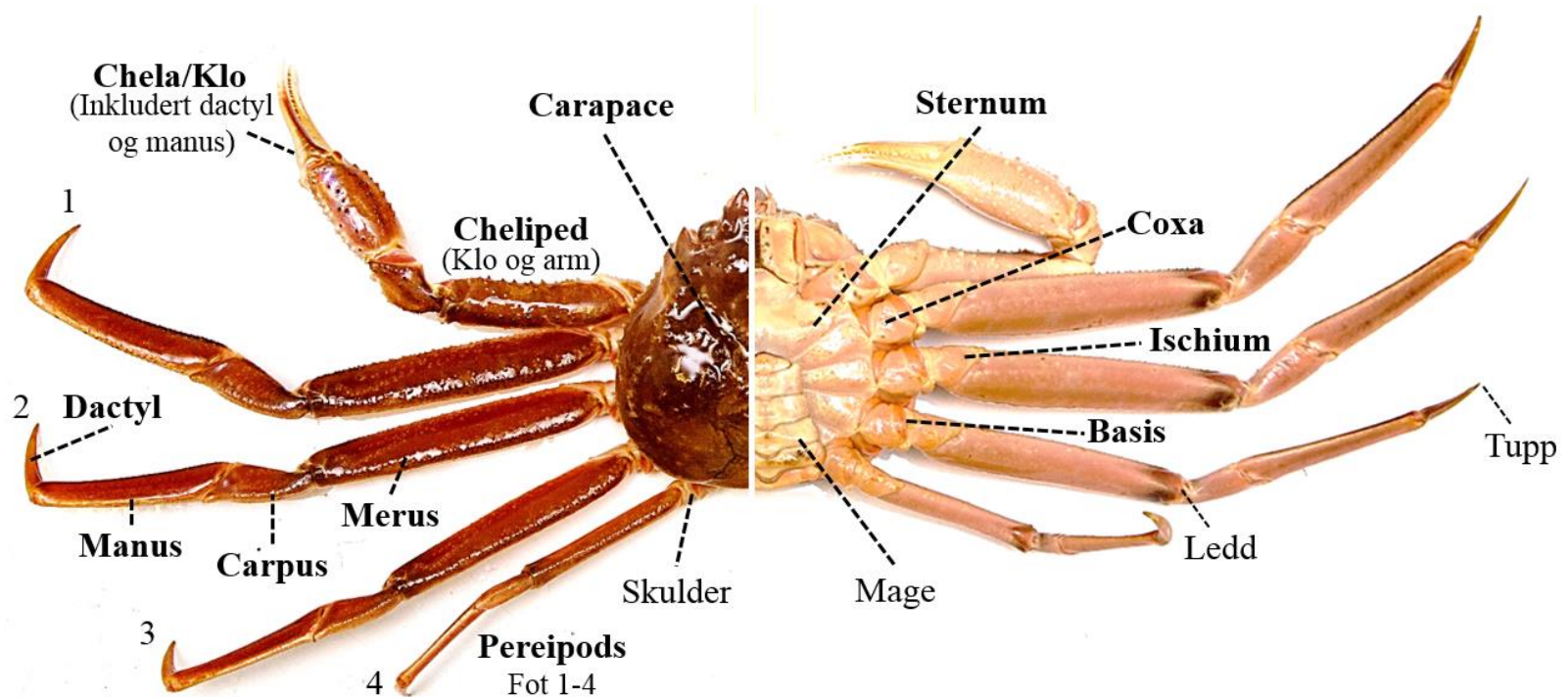


Protokoll for uttak og farging av hemolymfe fra snøkrabbe



Denne protokollen er en enkel veiledning for påvisning av parasitten Hematodinium i hemolymfe fra snøkrabber.

Parasitten forårsaker sykdommen «Bitter crab disease» i en rekke krabbearter inkludert snøkrabber.

Prosjektet er finansiert av:



HEMOLYMFEPRØVE

Utstyr: Sprøyte (5ml), kanyle (0.4 x 19 mm)



1

Legg krabben på rygg.



2

Bøy de to bakerste føttene bakover for å strekke ut skulderleddet.

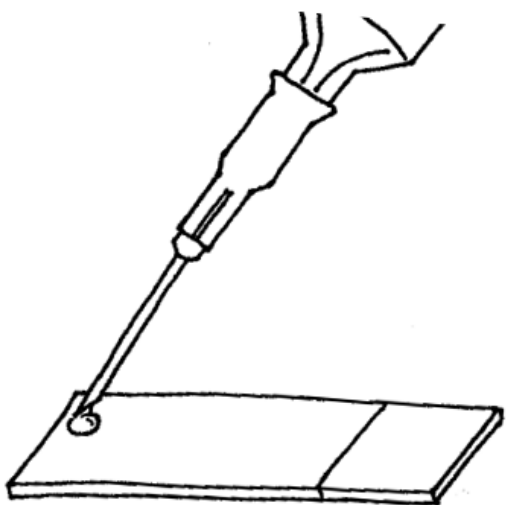


3

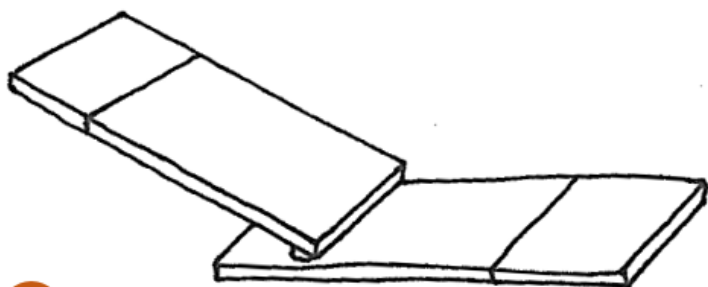
Hold sprøyten parallelt med foten og stikk kanylen halvveis inn i skulderleddet, like under huden. Hold sprøyten i ro og ta prøven (maks 1 ml).

HEMOLYMFUTSTRYK

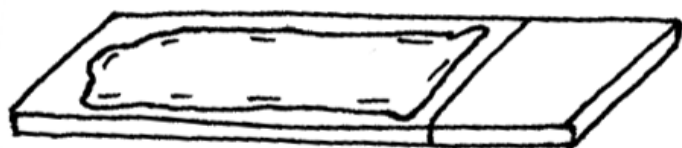
Utstyr: Rene objektglass, metanol, prøverør (50 ml) og objektglassboks.



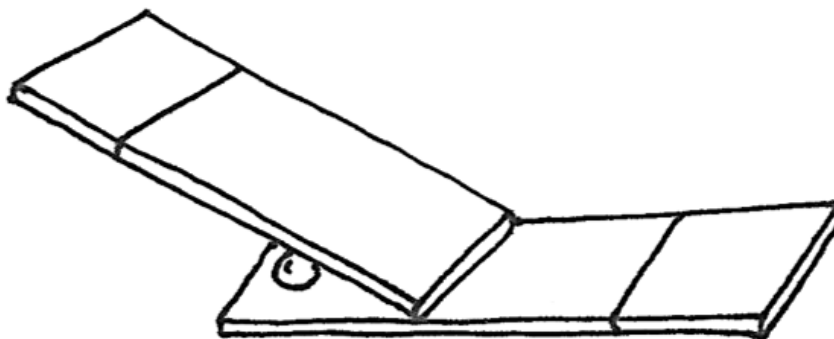
- 1 Plasser en dråpe (på størrelse med et knappenålshode) på enden av objektglass 1.



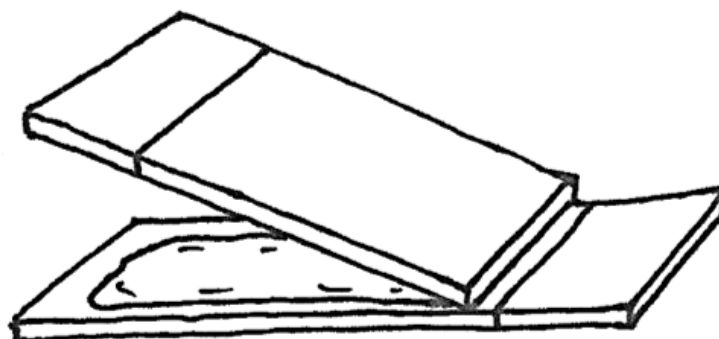
- 3 Dra det bakover inn til hemolymfedråpen.



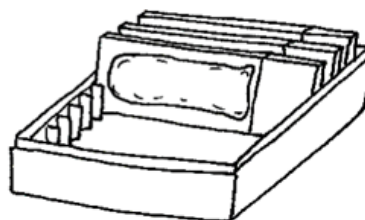
- 5 La utstryket tørke i ca 10 minutter. Rist objektglasset for å redusere tørketiden.



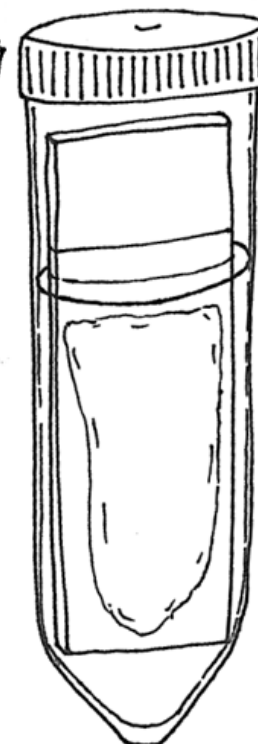
- 2 Sett det andre objektglasset på skrå (30-40° vinkel) fremfor dråpen.



- 4 Med bestemt hand, skyv det fremover langs glasset. Avslutt utstryket ½ cm fra skrivefeltet. Unngå at hemolymfen renner utenfor kantene. Det ekstra objektglasset kastes.

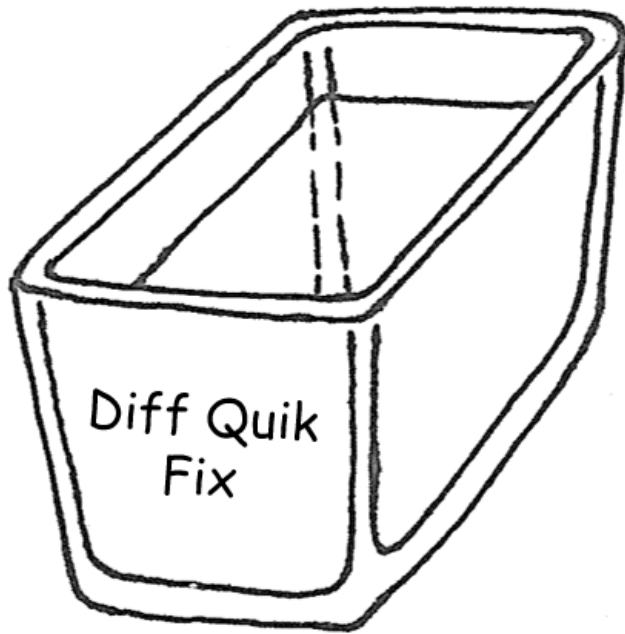


- 6 Fikser utstryket i metanol i 5 minutter. Dette fester utstryket til objektglasset. La utstryket lufttørke etter fiksering. Utstryket lagres i objektglassboks.



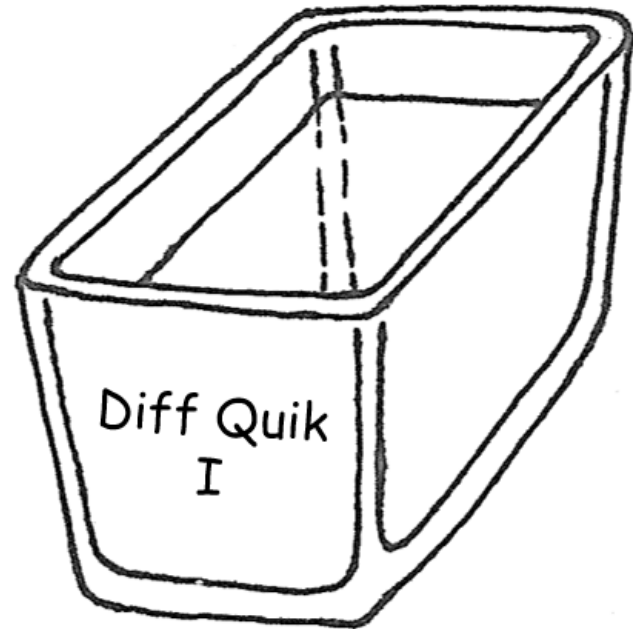
FARGING AV HEMOLYMFEUTSTRYK

Utstyr: Diff Quik fargeløsninger (Medion Grifols Diagnostics AG), destillert vann, fargekar og objektglasstativ.



1

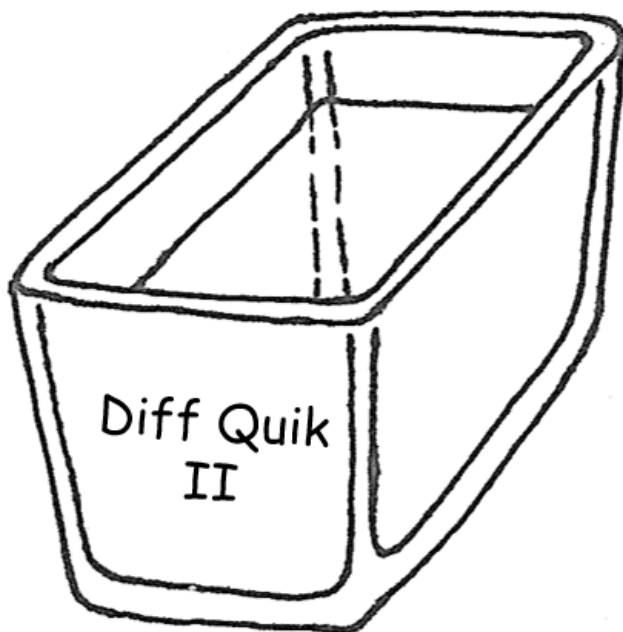
Dypp utstryket 5 x 1 minutt i Diff Quik Fix.



2

Dypp utstryket 5 x 1 minutt i Diff Quik I.

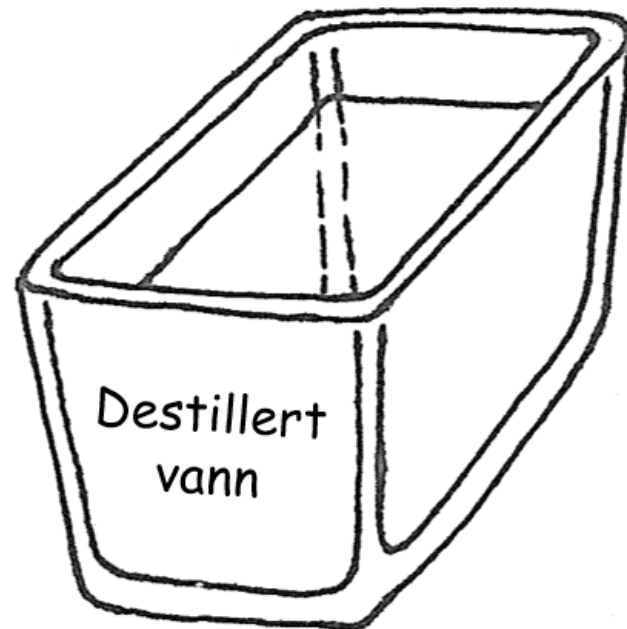
La overskytende væske renne av mellom hvert dypp.



3

Dypp utstryket 5 x 1 minutt i Diff Quik II.

La overskytende væske renne av mellom hvert dypp.

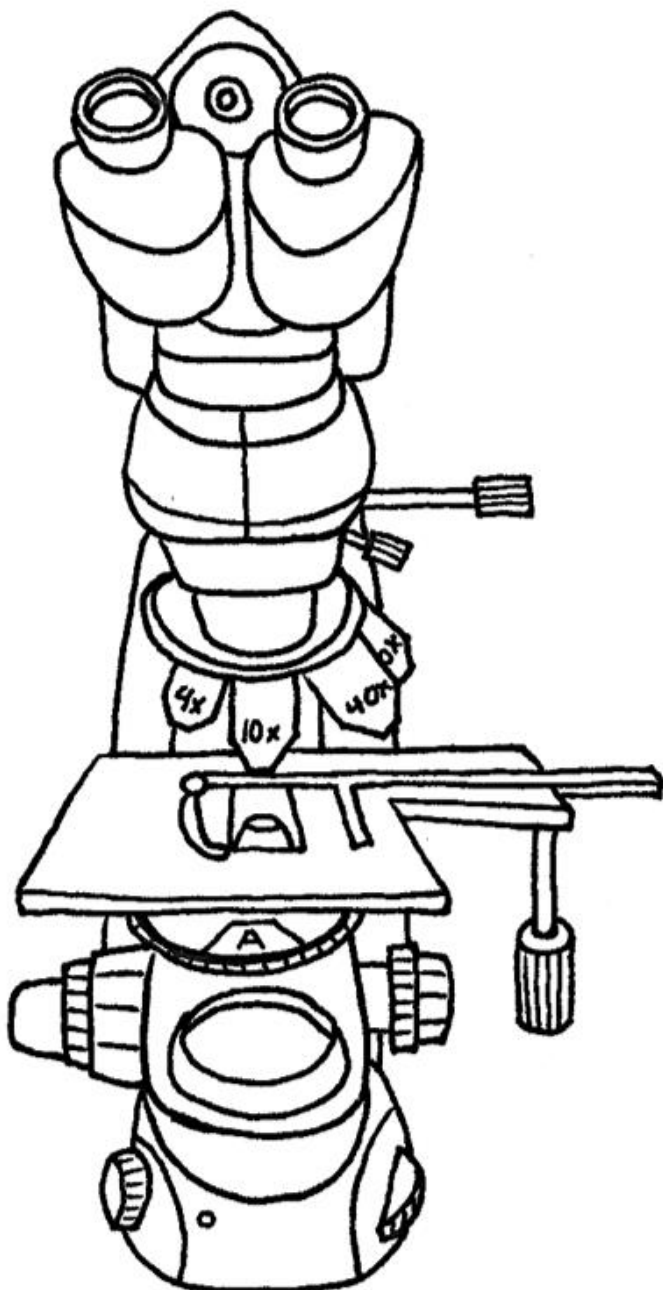


4

Vask utstryket i destillert vann og la deretter utstryket lufttørke før mikroskopering.

MIKROSKOPERING

Utstyr: Mikroskop og ferdigpreparerte hemolymfeutstryk.



1

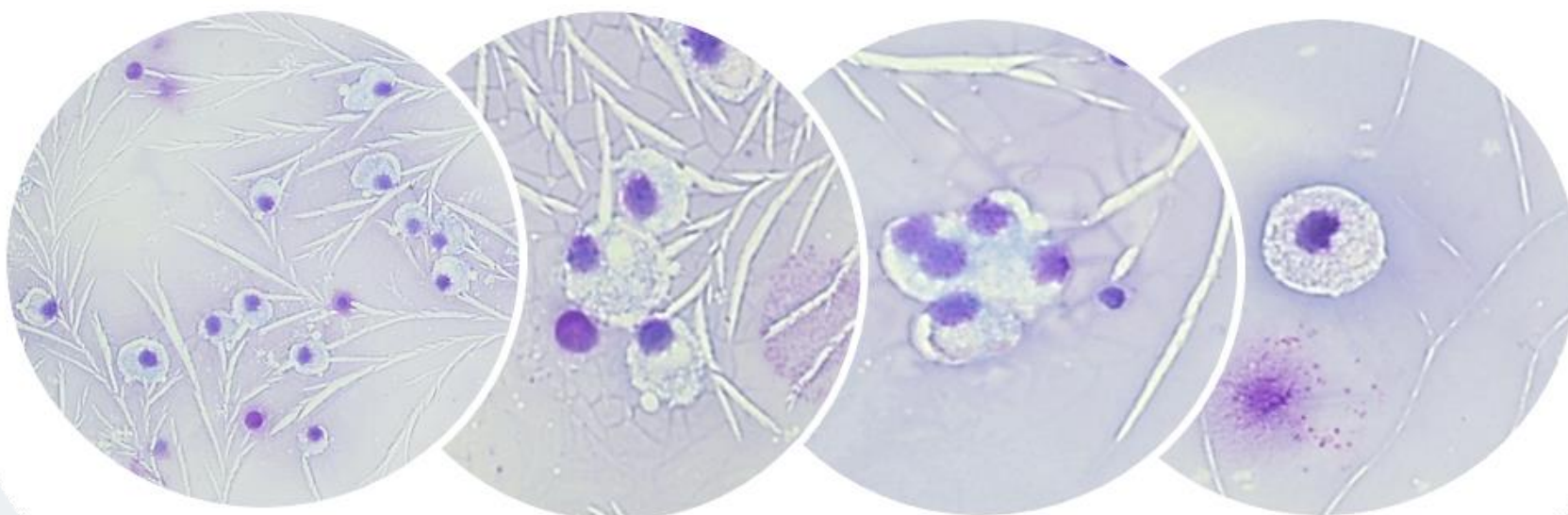
Juster mikroskopet i henhold til leverandørens anbefaling.

2

Mikroskoper utstyrket. Start med laveste forstørrelse og bruk deretter høyere (40x) for identifisering av mulige parasitter.

3

Hematodinium sp. har en rekke livsstadier. Vi forventer å finne trofonter av parasitten ved hjelp av denne metoden. Den skiller seg fra krabbens egne celler med sin skumlignende cytoplasma og tett klumpete kjerne.



Gunhild Seljehaug Johansson, MSc

Forskningsassistent, Produksjonsbiologi, Aqua Divisjonen, Nofima AS,
Muninbakken 9-13, N-9291 Tromsø, Norway

Hanne Johnsen, PhD (Corresponding author)

Forsker, Produksjonsbiologi, Aqua Divisjonen, Nofima AS,
Muninbakken 9-13, N-9291 Tromsø, Norway. (hanne.johnsen@nofima.no)

Sten Ivar Siikavuopio, Dr. philos

Seniorforsker, Produksjonsbiologi, Aqua Divisjonen, Nofima AS,
Muninbakken 9-13, N-9291 Tromsø, Norway

Theodore R Meyers, PhD

Division of Fisheries Rehabilitation, Enhancement and Development
(FRED), Alaska Department of Fish and Game, PO Box 3-2000, Juneau, Alaska
99802-2000, USA



Besøksadresse: Muninbakken 9-13, Breivika, Tromsø

www.nofima.no