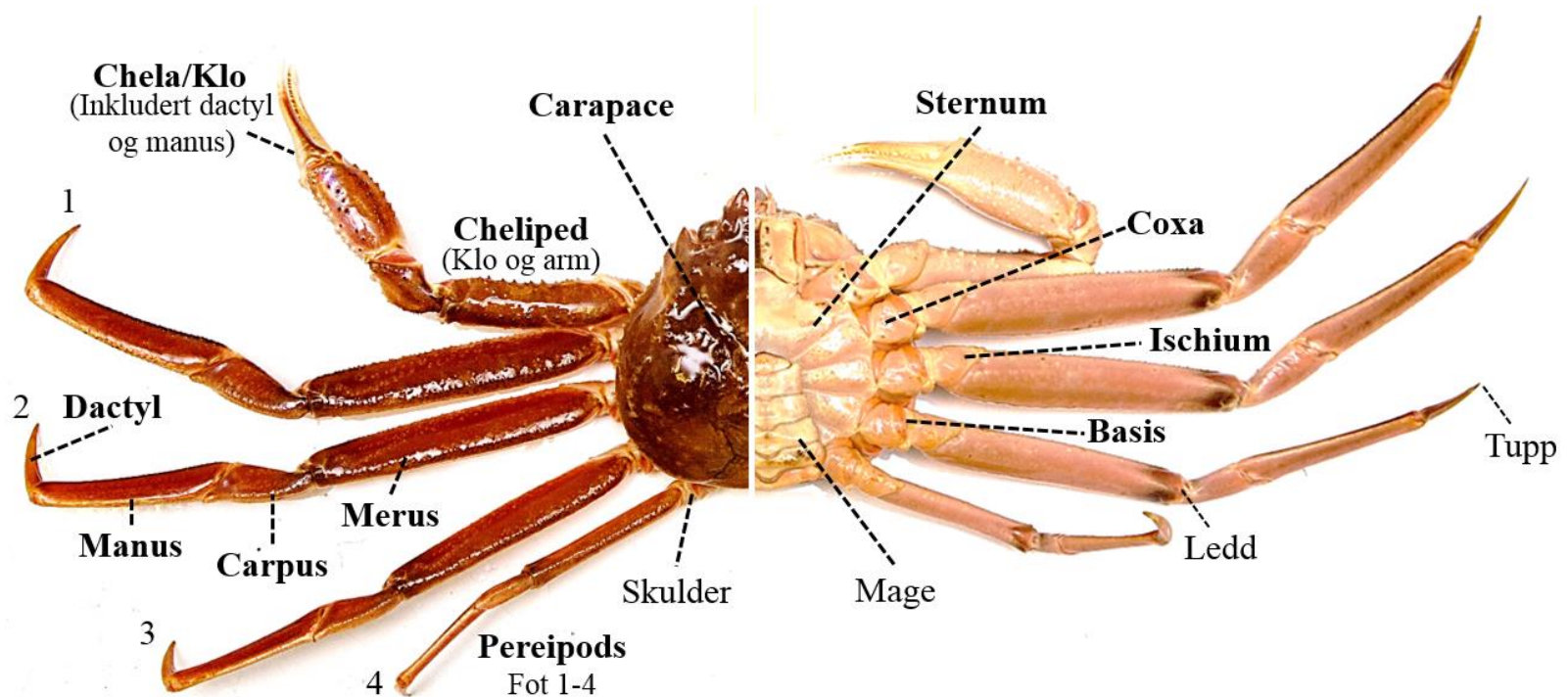


# Protokoll for uttak og farging av hemolymfe fra snøkrabbe



---

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)



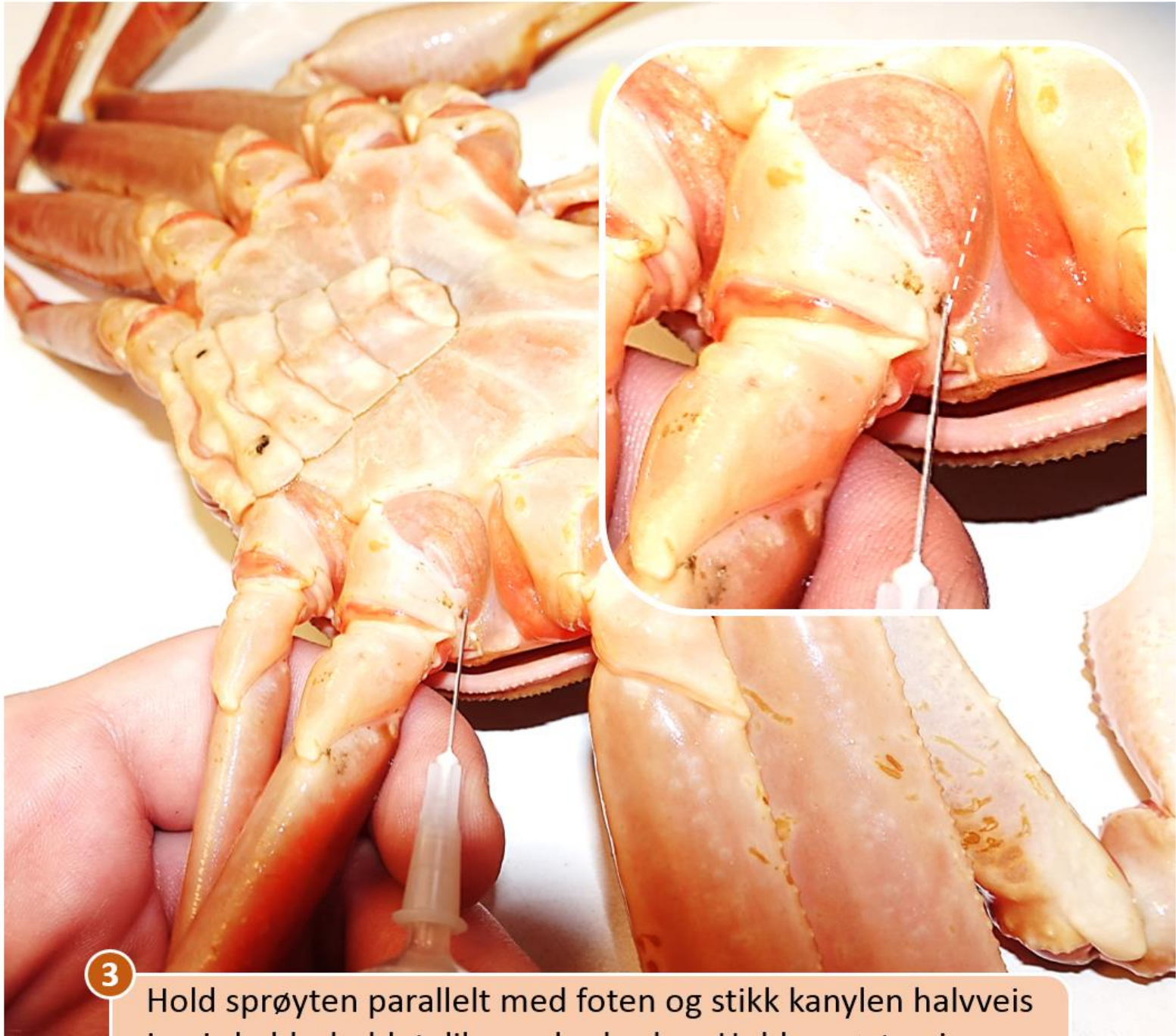
1

Legg krabben på rygg.



2

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



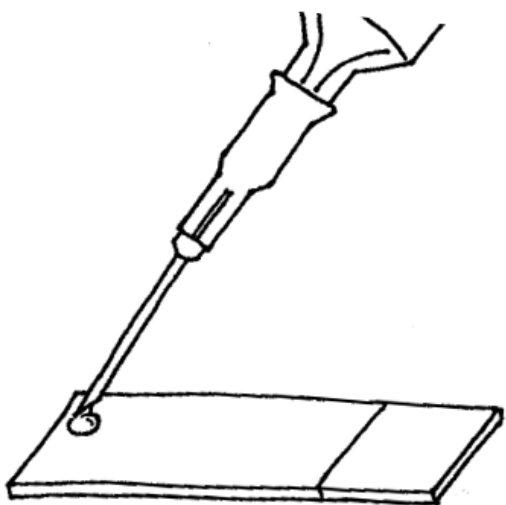
3

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).

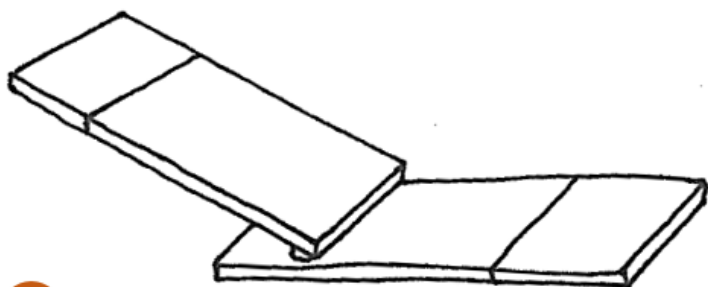


## HEMOLYMFUTSTRYK

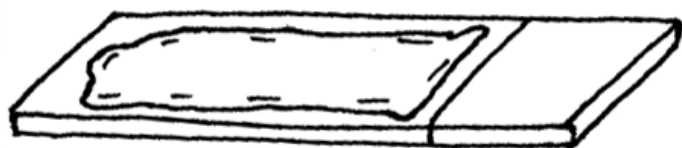
**Utstyr:** Rene objektglass, metanol, prøverør (50 ml) og objektglassboks.



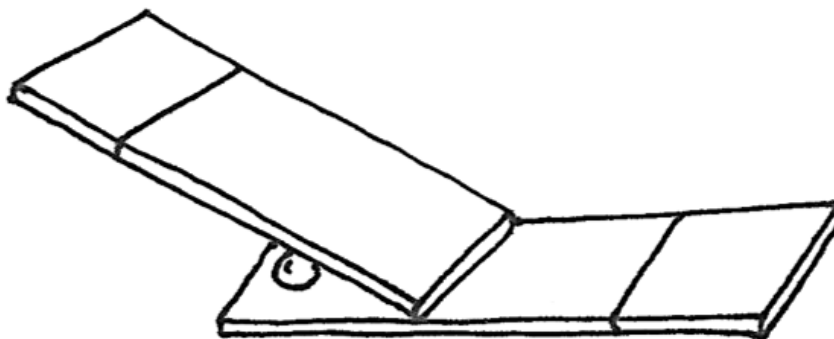
- 1** Plasser en dråpe (på størrelse med et knappenålshode) på enden av objektglass 1.



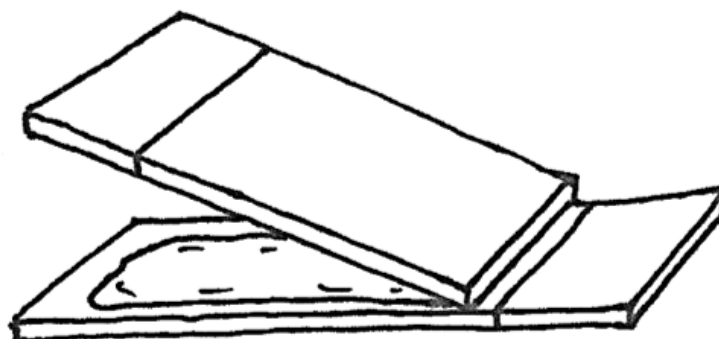
- 3** Dra det bakover inn til hemolymfedråpen.



- 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.



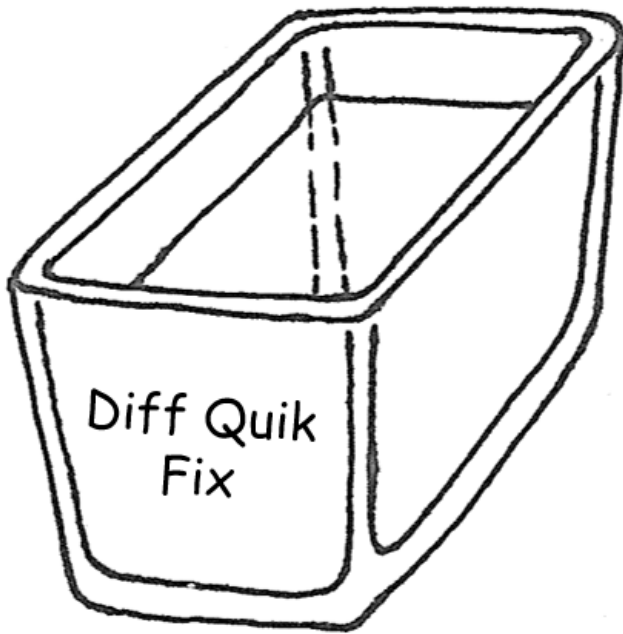
- 4** Med bestemt hand, skyv det fremover langs glasset. Avslutt utstryket ½ cm fra skrivefeltet. Unngå at hemolymfen renner utenfor kantene. Det ekstra objektglasset kastes.



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

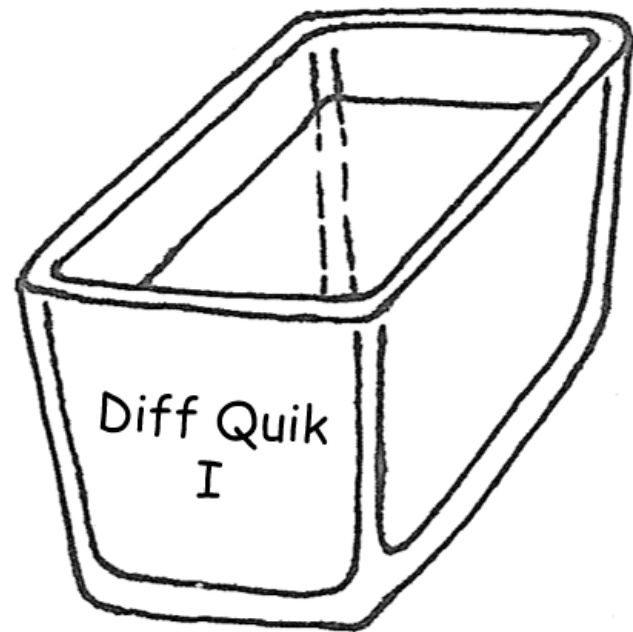
## FARGING AV HEMOLYMFEUTSTRYK

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



1

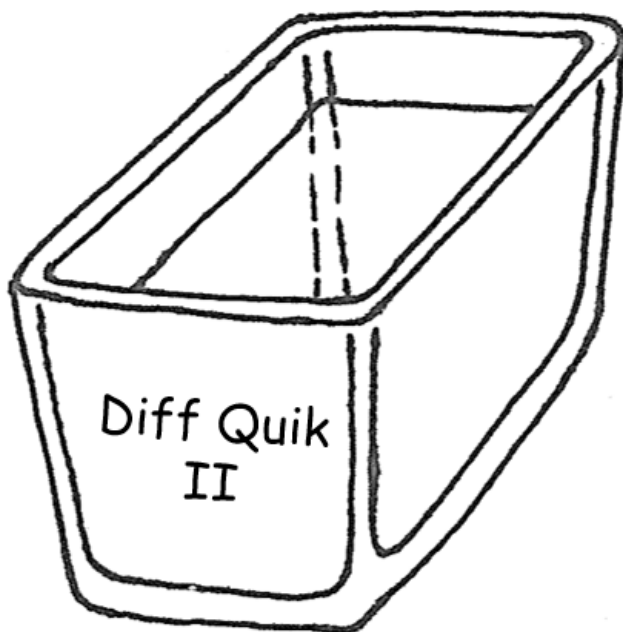
Dypp utstryket 5 x 1 minutt i Diff Quik Fix.



2

Dypp utstryket 5 x 1 minutt i Diff Quik I.

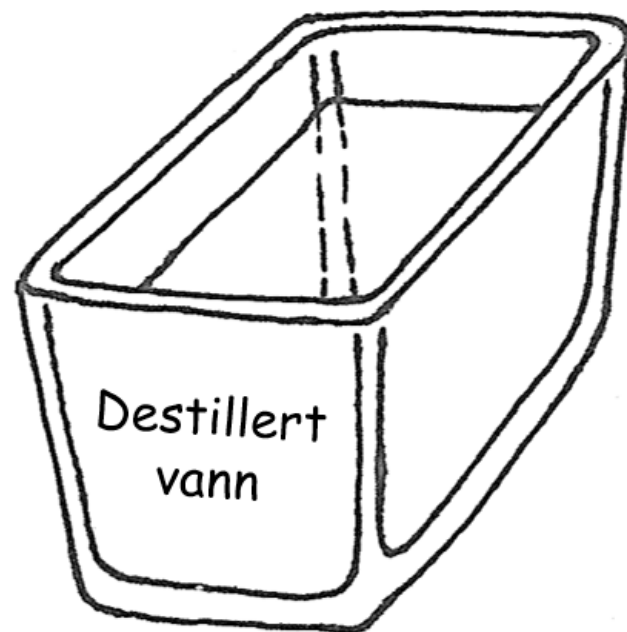
La overskytende væske renne av mellom hvert dypp.



3

Dypp utstryket 5 x 1 minutt i Diff Quik II.

La overskytende væske renne av mellom hvert dypp.



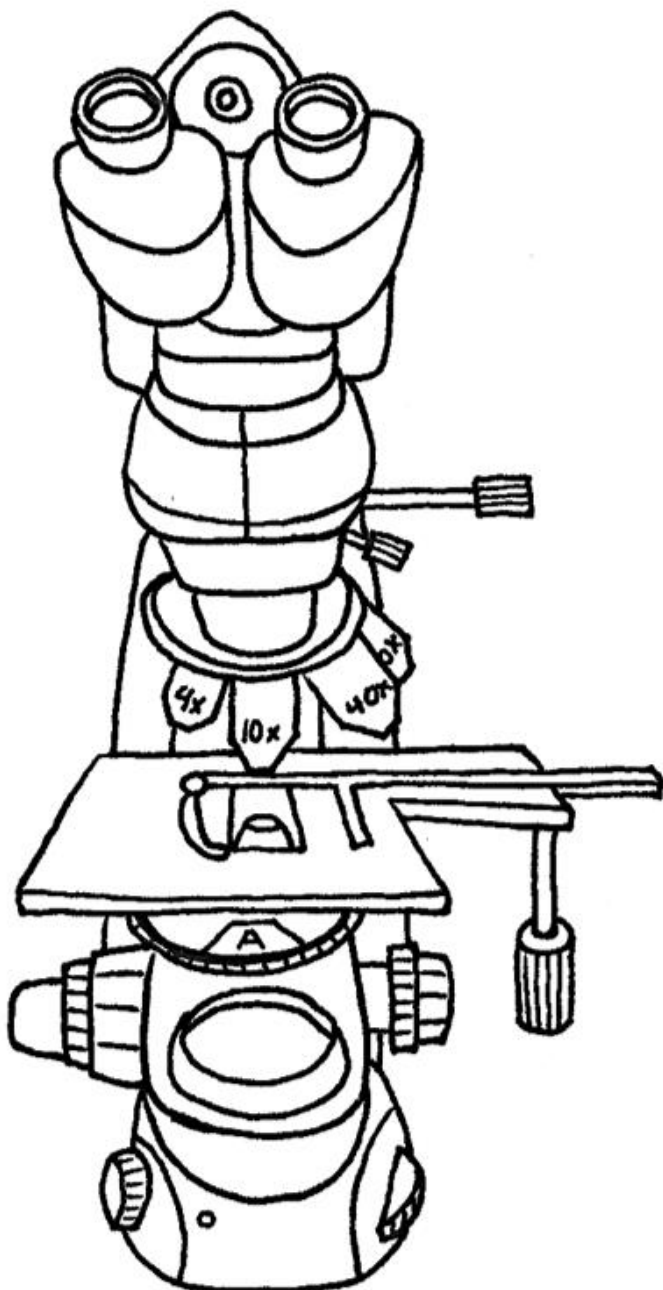
4

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



# MIKROSKOPERING

**Utstyr:** Mikroskop og ferdigpreparerte hemolymfeutstryk.



1

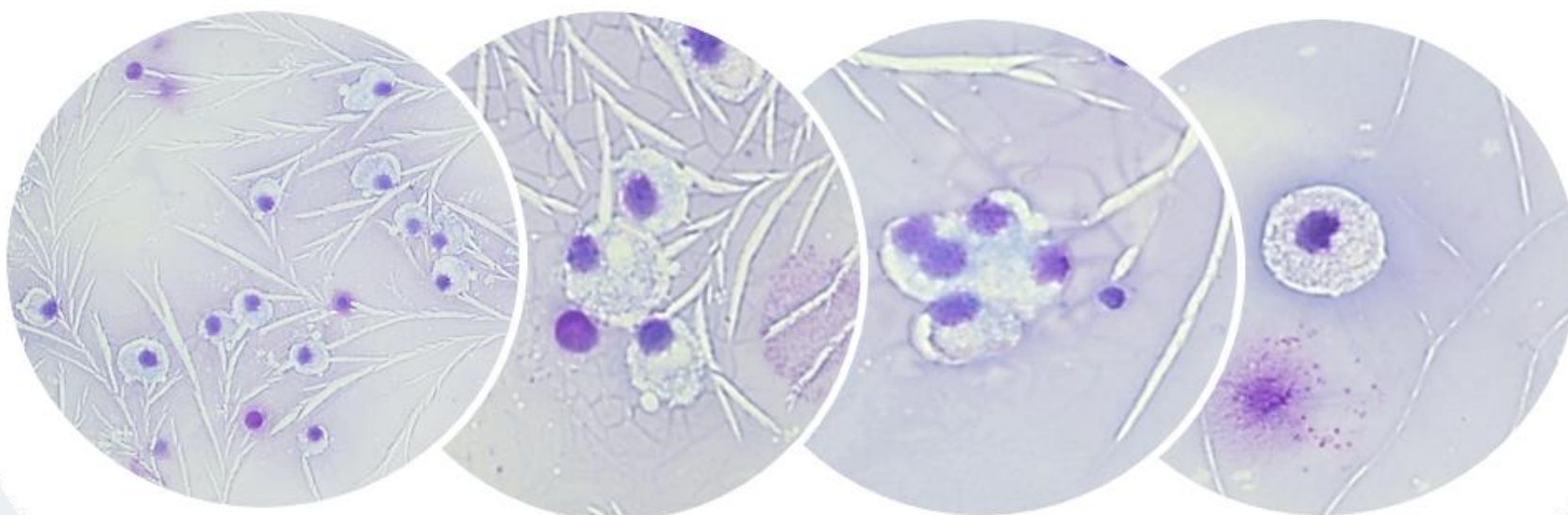
Juster mikroskopet i henhold til leverandørens anbefaling.

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](http://www.nofima.no)