



NTNU

Kunnskap for en bedre verden

Bacheloroppgave

BI301305 - Bacheloroppgave

Laboratoriemanual bestående av ett kompendium og instruksjonsvideoer som læringsressurs ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund

601, 605 og 615

Totalt antall sider inkludert forsidene: 75

Innlevert Ålesund, 03.06.2016

Obligatorisk egenerklæring/gruppeerklæring

Den enkelte student er selv ansvarlig for å sette seg inn i hva som er lovlige hjelpemidler, retningslinjer for bruk av disse og regler om kildebruk. Erklæringen skal bevisstgjøre studentene på deres ansvar og hvilke konsekvenser fusk kan medføre. **Manglende erklæring fritar ikke studentene fra sitt ansvar.**

Du/dere fyller ut erklæringen ved å klikke i ruten til høyre for den enkelte del 1-6:		
1.	Jeg/vi erklærer herved at min/vår besvarelse er mitt/vårt eget arbeid, og at jeg/vi ikke har brukt andre kilder eller har mottatt annen hjelp enn det som er nevnt i besvarelsen.	<input checked="" type="checkbox"/>
2.	Jeg/vi erklærer videre at denne besvarelsen: <ul style="list-style-type: none">• ikke har vært brukt til annen eksamen ved annen avdeling/universitet/høgskole innenlands eller utenlands.• ikke refererer til andres arbeid uten at det er oppgitt.• ikke refererer til eget tidligere arbeid uten at det er oppgitt.• har alle referansene oppgitt i litteraturlisten.• ikke er en kopi, duplikat eller avskrift av andres arbeid eller besvarelse.	<input checked="" type="checkbox"/>
3.	Jeg/vi er kjent med at brudd på ovennevnte er å <u>betrakte som fusk</u> og kan medføre annullering av eksamen og utestengelse fra universiteter og høgskoler i Norge, jf. Universitets- og høgskoleloven §§4-7 og 4-8 og Forskrift om eksamen.	<input checked="" type="checkbox"/>
4.	Jeg/vi er kjent med at alle innleverte oppgaver kan bli plagiatkontrollert i Ephorus, se Retningslinjer for elektronisk innlevering og publisering av studiepoenggivende studentoppgaver	<input checked="" type="checkbox"/>
5.	Jeg/vi er kjent med at høgskolen vil behandle alle saker hvor det forligger mistanke om fusk etter NTNUs studieforskrift.	<input checked="" type="checkbox"/>
6.	Jeg/vi har satt oss inn i regler og retningslinjer i bruk av kilder og referanser på biblioteket sine nettsider	<input checked="" type="checkbox"/>

Publiseringsavtale

Studiepoeng: 15

Veileder: Sahar Olsen og Heidi Engstrøm

Fullmakt til elektronisk publisering av oppgaven

Forfatter(ne) har opphavsrett til oppgaven. Det betyr blant annet enerett til å gjøre verket tilgjengelig for allmennheten ([Åndsverkloven §2](#)).

Alle oppgaver som fyller kriteriene vil bli registrert og publisert i Brage med forfatter(ne)s godkjenning.

Oppgaver som er unntatt offentlighet eller båndlagt vil ikke bli publisert.

Jeg/vi gir herved NTNU i Ålesund en vederlagsfri rett til å gjøre oppgaven tilgjengelig for elektronisk publisering:

ja nei

Er oppgaven båndlagt (konfidensiell)?

ja nei

(Båndleggingsavtale må fylles ut)

- Hvis ja:

Kan oppgaven publiseres når båndleggingsperioden er over?

ja nei

Er oppgaven unntatt offentlighet?

ja nei

(inneholder taushetsbelagt informasjon. [Jfr. Offl. §13/Fvl. §13](#))

Dato: 03.06.2016

Antall ord: 3864

Forord

Denne bacheloroppgaven er skrevet i forbindelse med avsluttende bachelorgrad for studieretningen bioingeniør ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund. Arbeidet med oppgaven har vært en svært lærerik og nyttig prosess.

Vi vil først og fremst takke faglig veileder Sahar Olsen og prosessveileder Heidi Engstrøm, som har utarbeidet denne spennende oppgaven, og bistått med veiledning, tilrettelegging og oppmuntring når det har vært behov for det. De har vært tilgjengelige gjennom hele prosessen, noe vi setter stor pris på. Vi ønsker så å takke Willy Sæther og Bente Alm, ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund, som har hjulpet til med deres fagkunnskap innenfor laboratoriefaget. Det har vært to grupper som har utformet hver sin laboratoriemannual bestående av et kompendium og instruksjonsvideoer, men med ulikt innhold. Vi har brukt det samme filmutstyret, og vil derfor takke Frank Moe Gjerde, Paulina Sande og Torgeir Rauø Sandvik for et godt samarbeid vedrørende planlegging og deling av filmteknisk utstyr og redigeringsrom F410 ved NTNU i Ålesund. Avslutningsvis ønsker vi å takke hverandre for ett godt samarbeid innad i gruppen.

Sammendrag

Vi er en gruppe på tre bioingeniørstudenter som har laget en bacheloroppgave som består av både en skriftlig og en videobasert laboratiemanual. Den beskriver laboratorteknikker og utstyr brukt ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund. Hensikten med oppgaven er å hjelpe studenter, ved å utarbeide en laboratiemanual som en læringsressurs. Den inneholder grunnleggende laboratorkunnskap og informasjon om riktig bruk av laboratoriets utstyr. Manualen kan være et kvalitetssikringstiltak som kan øke læringsutbyttet og minske feilkilder under laboratorieforsøk. Den forklarer enkelt prinsippene både visuelt og verbalt, som nye studenter forhåpentligvis lett kan forstå.

Laboratorteknikkene vi har valgt å forklare og demonstrere i laboratiemanualen er vedlikehold, bruk, teknikker, kalibrering og kontroll av automatpipetter, balansering av sentrifuge, köhlerinnstilling og bruk av lysmikroskop, bruk av Bürker og Fuchs-Rosenthal tellekammer, og normale blodceller i blodutstryk.

Innholdsfortegnelse

1 Innledning.....	1
2 Teori	3
2.1 Tidligere forskning.....	3
2.2 Læringsstiler	4
2.3 E-læring	5
2.3.1 “Flipped-Classroom”.....	5
3 Materialer og metode	5
3.1 Materialer.....	5
3.1.1 Opptaksutstyr	5
3.1.2 Programvare.....	6
3.1.3 Lagring.....	6
3.2 Metode.....	7
4. Resultat	7
5. Diskusjon	8
5.1 utfordringer og læringsutbytte.....	10
6. Konklusjon.....	11
7. Referanser	12

1 Innledning

Denne bacheloroppgaven består av både en skriftlig og en videobasert laboratiemanual for laboratorteknikker og utstyr brukt ved NTNU i Ålesund. Dette er lagt ved som vedlegg 1, kompendium, og vedlegg 2, instruksjonsvideoer. Bacheloroppgaven ble foreslått, formulert og utarbeidet av Overingeniør Bioingeniørfag, Heidi Engstrøm og Universitetslektor Bioingeniørfag, Sahar Olsen, ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund.

Vi er en gruppe på tre bioingeniørstudenter som så behovet for en manual som enkelt forklarer prinsippet til ulike typer laboratortstyr og hvordan de brukes. En slik manual vil forhåpentligvis hjelpe fremtidige studenter ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund til en lettere studiehverdag. Dette er hovedgrunnen til at oppgaven ble valgt. Som tredje års bioingeniørstudenter kan vi se utfordringene ved bruk av ulike typer laboratortstyr fra studentenes perspektiv. Det er ikke skrevet og utarbeidet så mange lignende bacheloroppgaver blant bioingeniørstudenter, noe som virket som en utfordring. Den videobaserte delen av manualen så gruppen på som en spennende oppgave, men samtidig tidkrevende, siden man måtte lære seg å bruke filmutstyr og redigeringsprogram. Dette hadde vi svært lite kunnskap og erfaring med fra tidligere.

Siden dette er en bacheloroppgave som er laget for å prøve og dekke et behov blant studenter og lærere ved NTNU i Ålesund, og ikke en forskningsoppgave, har det vært vanskelig å forme en problemstilling. I samråd med faglig veileder, Sahar Olsen, ble vi derfor enig om å flette sammen problemstilling og hensikt, som passer denne oppgaven bedre.

Hensikten med denne oppgaven er å hjelpe studenter, ved å utarbeide en laboratiemanual som en læringsressurs. Den skal inneholde grunnleggende laboratorkunnskap og informasjon om riktig bruk av laboratoriets utstyr. Manualen er spesielt rettet mot nye studenter som har valgt et studium som omfatter laboratortarbeid ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund. Laboratiemanualen består av et kompendium med skriftlig forklaring og bilder, og

instruksjonsvideoer som demonstrerer teknikkene samtidig som de forklares muntlig. Laborarieteknikkene som blir forklart og demonstrert i laboratoriemmanualen er:

- Daglig vedlikehold av automatpipette
- Grundig vedlikehold av automatpipette
- Bruk av automatpipette
- Revers pipetteringsteknikk
- Forward pipetteringsteknikk
- Kalibrering av automatpipette
- Balansering av sentrifuge
- Köhlerinnstilling
- Bruk av lysmikroskop
- Normale blodceller i blodutstryk
- Bruk av Bürker tellekammer
- Bruk av Fuchs-Rosenthal tellekammer

Disse er valgt fordi vi selv har opplevd og sett behovet for en grundigere og visuell forklaring av de nevnte teknikkene. Noen av teknikkene brukes ofte, det er derfor viktig at de læres riktig fra starten av, slik at man kan unngå unødvendige feilkilder og ødeleggelse av utstyr. Bruk av ulike tellekammer er teknikker som brukes sjeldnere, og det er derfor lett å glemme hvordan de benyttes mellom hver gang.

Studenter tilegner seg kunnskap på forskjellig måte¹, og i denne oppgaven vil vi prøve å møte alle de ulike individene sitt behov gjennom å bruke forskjellige midler til læring. I teoridelen av oppgaven presenteres tidligere forskning innenfor bruk av videoer i undervisningen, Dunn og Dunns læringsstilsmodell og undervisningsstrategien “Flipped-Classroom”, som senere drøftes opp mot hensikten og resultatet i diskusjonsdelen.

2 Teori

2.1 Tidligere forskning

Etter en gjennomgang av tidligere forskning har vi funnet en relevant masteroppgave som går i dybden i temaet; video som en læringsressurs i undervisning innenfor høyere utdanning. Dette er en masteroppgave fra mai 2014, som er skrevet av Magnus Johansson og Magnus Nohr. Oppgaven er utarbeidet i forbindelse med masterstudiet IKT-støttet læring ved fakultetet for lærerutdanning og internasjonale studier ved Høgskolen i Oslo og Akershus² Deres problemstilling er:

«Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?». For å belyse dette har vi også stilt noen forskningsspørsmål

- Hvordan forandres studentens studiearbeid ved bruk av video?*
- I hvilken grad er det forskjeller i hvordan ulike studentgrupper opplever bruk av video?*
- Hvilke faktorer påvirker studentens opplevelse av video?*
- Hvordan opplever studenten læringsutbytte ved bruk av video?»⁽³⁾*

Lærerne til studentene som var med i studien måtte selv lage videoene som ble brukt. De måtte følge spesielle retningslinjer slik at alle studentene hadde omtrent samme utgangspunkt når de besvarte spørsmålene i undersøkelsen, selv om de hadde ulike lærere og forskjellige fag. Noen av resultatene de kom frem til er relevant for vår bacheloroppgave. Vi har derfor valgt ut noe av det de har kommet frem til og konkludert med:

“De viktigste funnene i denne undersøkelsen er at studentene er fornøyd med lærerens egenproduserte video som læringsressurs, men at studentene ikke forandrer det tradisjonelle studiemønsteret ved bruk av video som læringsressurs.”⁽⁴⁾

“Faktorer som påvirker studentens opplevelse av video, er kvalitet og lengden på videoen.”⁽⁵⁾

“På den andre siden kommer det frem at kvalitet på video, særlig lyd, er viktig, samt lærerens formidlingsevne.”⁽⁶⁾

“Vår undersøkelse gir ikke grunnlag for å si at bruk av video må være fremtidens undervisningsform, men at den i stor grad kan bidra til tilpasset opplæring ut fra studentenes individuelle læringsstil.”⁽⁷⁾

2.2 Læringsstiler

Mennesker lærer på ulike måter, og gruppen har derfor valgt å gå nærmere inn på ulike læringsstiler. Begrepet læringsstiler representerer en egenskap hos hvert individ, og forteller noe om personens egne preferanser med tanke på måten han/hun lærer på og miljøet rundt.⁸

En av de mest kjente teoriene om læringsstiler er Dunn og Dunns læringsstilmodell. Denne modellen har fem hoveddimensjoner: miljømessig stimuli, følelsmessig stimuli, sosiologiske faktorer, fysiologiske faktorer, og psykologiske læringsprosesser. Miljømessig stimuli omfatter miljøet rundt en, som lys, lyd, temperatur og hvordan et rom er innredet. Følelsmessig stimuli er knyttet til personlighetstrekk, som utholdenhet, struktur, motivasjon. Sosiologiske faktorer sier noe om en foretrekker å jobbe individuelt, eller i samarbeid med andre. Den fjerde dimensjonen, fysiologiske faktorer, handler om personens døgnrytme, behovet for mat og drikke, bevegelse og persepsjonpreferanser. Den femte og siste hoveddimensjonen er psykologiske læringsprosesser som omhandler hvordan personen går frem for å organisere informasjon.⁹

I denne bacheloroppgaven er persepsjonspreferanser, som er en av de fysiologiske faktorene i Dunn og Dunns læringsmodell, mest relevant. Persepsjonspreferansen til et individ forteller om han/hun foretrekker å lære ved hjelp av auditiv, visuell, kinestetisk eller taktil stimuli. Auditiv stimuli er læring ved å bruke ørene, lytte, spørre og diskutere med andre. Ved visuell læring foretrekker individet å bruke øynene. Da lærer han/hun ved å se på bilder, videoer eller å lese tekster. Noen individer foretrekker taktil eller kinestetisk stimuli som en læringsstil. Begge disse læringsstilene baserer seg på å berøre og føle på fysiske gjenstander. Forskjellen mellom disse læringsstilene er at de som foretrekker kinestetisk stimuli også ønsker å improvisere og prøve seg frem til hvordan ulikt utstyr anvendes.^{10, 11}

2.3 E-læring

Laboratoriemanualen som følger med denne bacheloroppgaven inneholder et skriftlig kompendium med tilhørende instruksjonsvideoer som kan brukes som undervisningsmateriale ved Avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund. Instruksjonsvideoene er en form for elektronisk læring, E-læring. E-læring er læring ved hjelp av ulike digitale hjelpemidler som for eksempel video eller nettbaserte kurs.¹² Et eksempel på E-læring som er relevant for vår oppgave er undervisningsstrategien “Flipped-Classroom”.

2.3.1 “Flipped-Classroom”

“Flipped-Classroom”, omvendt klasserom, er en undervisningsmetode som ble utviklet av kjemilærerene Jonathan Bergmann og Aaron Sams ved Woodland Park Highschool i Colorado, USA. Undervisningsstrategien deres går ut på at elevene tilegner seg ny kunnskap ved å se videoer hjemme før undervisning. Det gjør at de er forberedt til timen og kan spørre læreren om tema de eventuelt ønsker en nærmere forklaring på, eller for å få en bekreftelse på at de har forstått riktig. Lærerene ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund kan velge å benytte laboratoriemanualen på denne måten.¹³

3 Materialer og metode

3.1 Materialer

I denne oppgaven er det tatt i bruk forskjellig typer utstyr og ulike programvarer for å utarbeide en laboratoriemanual med et kompendium og instruksjonsvideoer, som er resultatet i denne bacheloroppgaven.

3.1.1 Opptaksutstyr

Innspillingen av videoene til laboratoriemanualen ble utført ved hjelp av et videokamera av typen Sony HDR-PJ410 HANDYCAM. Dette er et brukervennlig videokamera som gir klare bilder, og

er lett og kompakt. For å filme inn i mikroskopet ble en iPhone 5s 16GB mobiltelefon brukt, og til å ta bilder inne i mikroskopet ble det anvendt en Samsung galaxy S4. Til kompendiet ønsket gruppen å ta flest bilder selv av utstyret som ble anvendt i de ulike forsøkene. Bildene ble tatt med et speilreflekskamera, Canon EOS 600D.

Ved filminnspilling er det viktig at kamera står stabilt. Derfor ble det benyttet en adapter som ble festet til mobiltelefonen og okuleret. Adapteren er av typen Universal digiskoping adapter Ø 43mm~65mm. Det var ikke noe feste til mobiltelefon på adapteren, derfor måtte en mobiltelefonholder fra en selfiestang, Cellular Line, festes til adapteren. For å få videokameraet til å stå stabilt og stødig i den ønskede vinkelen, ble to ulike stativ anvendt, Velbon cx686, som er et stort fotostativ som står på gulvet, og et lite fotostativ fra Lotus.

3.1.2 Programvare

For å gjøre om videoklippene til fullstendige filmer fikk gruppen disponere et lydinnspilling/redigeringsrom, F410 ved NTNU i Ålesund. Her var det tilgang til en stasjonær datamaskin med lisens til redigeringsprogrammet Camtasia studio 8, versjon 8.6, tech smith corporation. Redigeringsprogrammet ble benyttet til å sette sammen videoklipp og bilder, spille inn og legge på lyd, og ulike effekter til komplette instruksjonsvideoer. For å kunne bruke de filmene som var filmet med iPhone, måtte filene konverteres i konverteringsprogrammet Any Video Converter Ultimate slik at de kunne bli brukt i et Windows program.

3.1.3 Lagring

Bildene og filmene ble lagret på et minnekort av typen SanDisk Ultra 32 GB Micro SD. For å overføre bildene til datamaskinen på rom F410 brukte man en adapter av typen Transcend TS-RDP8K. Dette er en multicard minnekortleser med USB utgang slik at adapteren kan plugges direkte inn i en USB port i datamaskinen. Når alle instruksjonsvideoene var ferdige ble de lagt over på en minnepinne, Kingston Technology 32GB DataTraveler.

3.2 Metode

Innspilling av videoklippene, og fotografering er gjennomført ved laboratoriene som tilhører Avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund. For at kvaliteten på instruksjonsvideoene skulle bli optimal ble det tatt hensyn til skiftende dagslys. Derfor ble videoklippene spilt inn på laboratoriebenker som ikke er utsatt for direkte sollys. Det ble brukt hvitt benkepapir på laboratoriebenken og som bakgrunn i kulissene.

Instruksjonsvideoene ønsket gruppen å filme fra den som utøver øvelsen i videoen sitt perspektiv. Derfor ble kameraet prøvd og vinklet slik at seeren av videoen skal se det samme som utøveren. Denne kameravinkelen brukes for å prøve og gjøre det lettere for seeren å imitere det utøveren gjør. Ved filmingen av mikroskopet ble det bestemt at det var bedre å bruke en kameravinkel der man ser mikroskopet fra høyre side. Den beslutningen ble tatt for at seeren skal kunne se alle detaljer og de ulike komponentene på mikroskopet som blir brukt i instruksjonsvideoene.

Gruppen valgte å legge inn voiceover i instruksjonsvideoene for å få en klar og tydelig stemme på filmene. Dette gav oss muligheten til å eliminere bakgrunnsstøy fra innspillingen av videoklippene. I tillegg til voiceover valgte vi å legge til en bakgrunnsmelodi, “That positive feeling” produsert av AlumoMusic. Se vedlegg 3 for kvittering og lisens.

4. Resultat

Viser til laboratiemanual, vedlegg 1, kompendium, og vedlegg 2, instruksjonsvideoer.

5. Diskusjon

I denne delen av oppgaven diskuteres tidligere forskning, Dunn og Dunns læringsstilsmodell og teori om e-læring opp mot vår hensikt og resultatdel i bacheloroppgaven.

Tidligere forskning viser at studentene likte godt lærerens egenproduserte video som læringsressurs, men at de ikke forandrer det tradisjonelle studiemønsteret. Funnet viser at våre egenproduserte instruksjonsvideoer kan bli brukt som en læringsressurs, og dermed bidra til læring blant studenter ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund ved å bruke videoene som et hjelpemiddel. Instruksjonsvideoene som følger med til laboratoriemanualen skal supplere teksten i kompendiet slik at innholdet blir mer forståelig. Ved å se på videoene får studenten illustrert hvordan de ulike verktøyene brukes og ser ut. Dette demonstreres på laboratoriebenken og i lysmikroskopet.¹⁴

Kvalitet er viktig for en god instruksjonsvideo, slik at studenter skal kunne ønske å bruke de. Tidligere forskning viser at studentene har krav til kvalitet. For å oppnå god kvalitet er det blitt tatt hensyn til ulike faktorer i våre instruksjonsvideoer. For at videoene ikke skulle bli langtekkelige, ble det lagt vekt på at de var korte og informative. Lyd er også en viktig faktor når det kommer til kvaliteten på videoene. Ved å legge på lyd i etterkant av innspillingen elimineres bakgrunnsstøy som kan virke forstyrrende for seeren. Det blir brukt hvitt benkepapir på laboratoriebenken og som bakgrunn i kulissene for å hindre støy og for å danne rene flater slik at det blir mer behagelig å se på instruksjonsvideoene. Alle disse kvalitetfaktorene kan være med på å hindre at fokuset viker bort fra det man ønsker å formidle gjennom instruksjonsvideoene, slik at en får mest mulig utbytte av videoene.¹⁵

Funnene fra tidligere forskning bygger opp under fysiologiske faktorer, den fjerde dimensjonen i Dunn og Dunns læringsmodell. Den sier at alle har en eller flere persepsjonspreferanser; visuell, auditiv, kinestetisk eller taktil. Instruksjonsvideoene, som er en del av laboratoriemanualen, er en læringsressurs som kan være særlig positiv for de studentene med visuell og/eller auditiv læringsstil. Studentene med bare taktil og/eller kinestetiske persepsjonspreferanser vil ikke bli

stimulert av videoene, men de vil fortsatt kunne lære ved å gjøre øvelsene på laboratoriet, slik de foretrekker.¹⁶

Instruksjonsvideoene er en form for e-læring, som også gjør at de kan være tilgjengelig utenom undervisning. Det er flere fordeler med e-læring, men det er også ulemper. En av fordelene er at studenten kan være fleksibel. Da kan en se og jobbe med videoene når og hvor man vil i sitt eget tempo, uten at man trenger å være knyttet til et bestemt sted eller en bestemt enhet. Dette gjør at studenten kan tilpasse opplæringen slik at den passer best for en selv. Studentene kan ved hjelp av e-læring også repetere undervisningen hvis ønskelig. Tilpasset opplæring kan gi økt læring, som igjen kan gi motivasjon til videre læring. For de studentene med lese og skrivevansker kan film som læringsressurs også være en god måte å tilpasse opplæringen på.¹⁷

Dersom instruksjonsvideoene skal være til hjelp og brukes som en læringsressurs, er det nødvendig at de er presise og informative. God kvalitet er også viktig slik at studentene ønsker å se videoene, hvis ikke har de lite hensikt. Det kan virke mot sin hensikt hvis e-læring blir tatt som en enkel utvei for lærere og studenter. Et eksempel på dette kan være at lærere kan bli fristet til å unnlate tradisjonell laboratorieundervisning og bare bruke instruksjonsvideoene. Dette kan da gå utover de som lærer best ved taktil og/eller kinestetisk stimulering. Et annet eksempel er at studentene kan la være å lese kompendiet eller å delta i tradisjonell undervisning. Instruksjonsvideoene gir mest informasjon om fremgangsmåte, og lite om teorien bak de ulike laboratorieverktøyene som brukes. For at studentene skal få mest ut av laboratoriemanualen bør de derfor lese kompendiet, som inneholder mer teoretisk informasjon, i tillegg til å se instruksjonsvideoene.

Teorien rundt “Flipped-Classroom” er at elevene/studentene skal tilegne seg ny kunnskap før undervisning. Ved å benytte både instruksjonsvideoene og det skriftlige kompendiet i laboratoriemanualen kan lærerene ta i bruk denne undervisningsstrategien. Dette kan gjøre at studentene er mer forberedt til laboratorieøvelsene de skal utføre ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund sine laboratorium. En slik undervisningsstrategi kan gi studentene mulighet til å stille spørsmål til læreren hvis det er noe de ikke forstår i instruksjonsvideoene eller i det skriftlige kompendiet.¹⁸

5.1 utfordringer og læringsutbytte

Underveis har det oppstått utfordringer og hindringer som har tvunget gruppen til å tenke på andre alternativer og muligheter. Den største utfordringen med bacheloroppgaven har vært tidspresset. Arbeidet med filming og redigering har vært den mest tidkrevende delen av oppgaven. Filmingen av vidoesnuttene måtte tilpasses andres undervisning på laboratoriene. Det gjaldt spesielt de videoene som måtte filmes i mikroskopet, siden mikroskopet som ble brukt ikke er mulig å flytte til et ledig rom. I tillegg måtte videokameraet som er brukt deles mellom to grupper, som gjorde at man ikke hadde tilgang på kameraet til en hver tid. Redigeringsprogrammet som ble brukt, Camtasia Studio 8, har skapt problemer ved at det skrudde seg av midt under redigeringprosessen. Det medførte at noe av arbeidet gikk tapt og måtte gjøres på nytt. Siden gruppen ikke hadde erfaring med filming, lydinnspilling og redigering har det også krevd mye tid å tilegne seg denne nye kunnskapen.

For at oppgaven skulle bli ferdig ble det gjort endringer underveis på hvilke laboratorieteknikker som var mest nødvendig å ha med i laboratoriemanualen. En instruksjonsvideo om hvordan en automatpipette kontrolleres ble nedprioritert på grunn av for liten tid til filming og redigering. Fremgangsmåten for utføring av kontroll står likevel forklart i kompendiet, siden godkjenning av kalibrering ikke kan gjøres uten en kontroll.

For å få et stødig og tydelig bilde på videoene som ble filmet ned i lysmikroskopet ble det brukt en adapter, Universal digiskoping adapter. Adapteren som var tilgjengelig på så kort varsel var laget for teleskop, og passet derfor ikke til det lysmikroskopet som ble benyttet. Gruppen brukte derfor lang tid på å lage til filmsettet rundt mikroskopet og på å få adapteren til å henge stødig. Det at adapteren er laget for teleskop er også grunnen til at man ikke kan se hele mikroskopets synsfelt i instruksjonsvideoene; Köhlerinnstilling, bruk av lysmikroskop, bruk av Bürker tellekammer, bruk av Fuchs-Rosenthal tellekammer og normale blodceller i blodutstryk.

Både instruksjonsvideoene og kompendiet har et forbedringspotensial, men særlig instruksjonsvideoene. De ville antagelig blitt mer profesjonelle dersom man hadde hatt mer kunnskap om film- og redigeringsprosessen og utstyret på forhånd. Instruksjonsvideoene ble

filmet før teorien ble skrevet. Gruppen valgte å gjøre det slik for å unngå å skrive teori om utstyr som det ikke hadde blitt tid til å lage en video om. Ved å filme først kunne man se hvor tidkrevende de ulike prosessene ville ta, slik at en kunne disponere tiden på best mulig måte. Ulempen med å gjøre det i denne rekkefølgen er at man kan gå glipp av viktig teoretisk informasjon som kanskje kunne vært nødvendig å ha med i instruksjonsvideoene, ikke bare i kompendiet.

6. Konklusjon

Målet med denne bacheloroppgaven var å hjelpe studenter med å tilegne seg grunnleggende laboratoriekunnskap. For å oppnå dette har vi utarbeidet en laboratoriemannual, som består av et skriftlig kompendium med tilhørende instruksjonsvideoer. Vi håper at både studenter og lærere ved avdeling for biologiske fag ved NTNU i Ålesund ønsker å bruke og kan dra nytte av manualen. Dersom laboratoriemannualen brukes riktig, og kvaliteten på instruksjonsvideoene innfrir seerens krav, kan spesielt studenter som lærer best ved visuell og auditiv stimulering dra nytte av denne læringsressursen. Lærerne har mulighet til å be studentene om å se instruksjonsvideoene og å lese kompendiet før laboratorieundervisning, hvis de ønsker å benytte seg av undervisningsstrategien “Flipped-Classroom”.

Dersom man skulle gått videre med denne bacheloroppgaven anbefaler vi å undersøke om læringen øker, og om antall feilkilder minsker når man bruker laboratoriemannualen som en læringsressurs.

7. Referanser

¹Imsen Gunn. Elevers verden: innføring i pedagogisk psykologi. 5. utg. Oslo: Universitetsforlaget; 2014. s. 262.

² Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014.

³Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.3.

⁴ Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.87.

⁵ Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.87.

⁶ Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.87.

⁷ Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.88.

⁸Imsen Gunn. Elevers verden: innføring i pedagogisk psykologi. 5. utg. Oslo: Universitetsforlaget; 2014. s. 262.

⁹ Imsen Gunn. Elevers verden: innføring i pedagogisk psykologi. 5. utg. Oslo: Universitetsforlaget; 2014. s. 263.

¹⁰ Imsen Gunn. Elevers verden: innføring i pedagogisk psykologi. 5. utg. Oslo: Universitetsforlaget; 2014. s. 263.

¹¹ Halland Geir O. Læring gjennom stimulerende samspill: veiledning, vurdering og ledelse. 1. utg. Bergen: Fagbokforlaget; 2004. s.48.

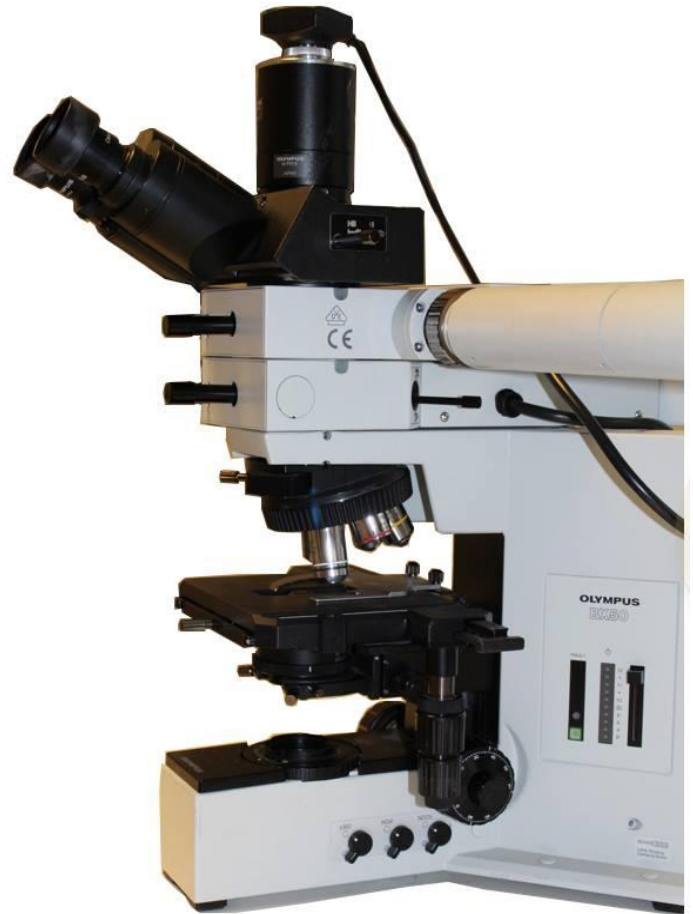
¹² Nettbasert opplæring. Oslo: Øyvind Henriksen; hentet 2016.05.23. Tilgjengelig fra: https://snl.no/nettbasert_oppl%25C3%25A6ring

-
- ¹³ Bergmann Jonathan, Sams Aaron. Flip your classroom: reach every student in every class every day. 1. ed. Eugene, Oregon: International Society for Technology in education; 2012. s.3-18.
- ¹⁴ Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.87.
- ¹⁵ Johansson Magnus, Nohr Magnus. Hvordan opplever studenter lærerens egenproduserte video som læringsressurs?. Høgskolen i Oslo og Akershus: Fakultet for lærerutdanning og internasjonale studier; 2014. s.87.
- ¹⁶ Imsen Gunn. Elevens verden: innføring i pedagogisk psykologi. 5. utg. Oslo: Universitetsforlaget; 2014. s. 263.
- ¹⁷ Befring Edvard, Tangen Reidun. Spesialpedagogikk. 5. utg. Cappelen Damm Akademisk; 2012. s. 358.
- ¹⁸ Bergmann Jonathan, Sams Aaron. Flip your classroom: reach every student in every class every day. 1. ed. Eugene, Oregon: International Society for Technology in education; 2012. s.3-18.

Vedlegg

1

Kompendium



Laboratorietekniker

ved Avdeling for Biologiske fag ved NTNU i Ålesund

Utarbeidet av

Heidi Kristin Heggenes Johannessen

Marie Hatlevik Tvedt

Solfrid Skeie

Innholdsfortegnelse

1 INNLEDNING	1
2 AUTOMATPIPETTE	2
2.1 OPPBYGNING OG UTSEENDE	2
2.1.1 Ejektor.....	2
2.1.2 Stempel.....	3
2.1.3 Støttekant.....	3
2.1.4 Pipetteskaft	3
2.1.5 Display	3
2.1.6 O-ring	3
2.1.7 Fjær.....	3
2.2 VEDLIKEHOLD AV AUTOMATPIPETTE	4
2.2.1 Daglig vedlikehold.....	4
2.2.1.1 Teori	4
2.2.1.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	4
2.2.2 Grundig vedlikehold	5
2.2.2.1 Teori	5
2.2.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	5
2.3 KONTROLL OG KALIBRERING	6
2.3.1 Teori.....	6
2.3.1.1 REGNEEKSEMPEL KONTROLL	9
2.3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte kontroll.....	10
2.3.3 Utstyrliste og fremgangsmåte kalibrering med tilhørende instruksjonsvideo	11
2.4 BRUK AV PIPETTE	11
2.4.1 Teori.....	11
2.4.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo.....	13
2.4.3 Pipetteringsteknikker.....	13
2.4.3.1 Forward pipetteringsteknikk	13
2.4.3.1.1 Teori	13
2.4.3.1.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	14
2.4.3.2 Revers pipetteringsteknikk	14
2.4.3.2.1 Teori	14
2.4.3.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	15
3 SENTRIFUGE	16
3.1 TEORI	16
3.2 UTSTYRSLISTE OG FREMGANGSMÅTE FOR BALANSERING AV SENTRIFUGEN MED TILHØRENDE INSTRUKSJONSVIDEO	19
4 LYSMIKROSKOP	20
4.1 TEORI	20
4.1.1 Oppbygning.....	21
4.1.1.1 Okular.....	21
4.1.1.2 Optisk tube	21
4.1.1.3 Objektivkarusell	21
4.1.1.4 Objektiv	21
4.1.1.5 Objektbord	22

4.1.1.6 Kondensor	22
4.1.1.7 Aperturblender	23
4.1.1.8 Feltblender	23
4.1.1.9 Lyskilde	23
4.1.2 Lysveien	24
4.2 KÖHLERINNSTILLING AV LYSMIKROSKOP	24
4.2.1 Teori	24
4.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	25
4.3 BRUK AV LYSMIKROSKOP	25
4.3.1 Teori	25
4.3.1.1 Vedlikehold av lysmikroskop	25
4.3.1.2 Total forstørrelse	26
4.3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	27
5 BLODCELLER	28
5.1 HEMATOPOIESEN	28
5.2 ULIKE BLODCELLER MED TILHØRENDE INSTRUKSJONSVIDEO	29
5.2.1 Erytrocytter	29
5.2.2 Trombocytter	30
5.2.3 Leukocytter	30
5.2.3.1 Granulocytter	31
5.2.3.1.1 Neutrofile granulocytter	31
5.2.3.1.2 Eosinofile granulocytter	32
5.2.3.1.3 Basofile granulocytter	32
5.2.3.2 Monocytter	33
5.2.3.3 Lymfocytter	33
5.3 TELLING AV BLODCELLER	34
5.3.1 Teori	34
5.3.2 Differensialtelling	34
5.3.3 Manuell telling ved hjelp av tellekammer	35
5.3.3.1 Teori	35
5.3.3.2 Bürker tellekammer	37
5.3.3.2.1 Teori	37
5.3.3.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	38
5.3.3.3 Fuchs-Rosenthal tellekammer	40
5.3.3.3.1 Teori	40
5.3.3.3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo	41
REFERANSER	42

1 Innledning

Kompendiet er laget for å gi grunnleggende kunnskap om laboratorieteknikker til nye studenter ved NTNU i Ålesund som har valgt et studium som omfatter laboratoriearbeid. Det kan også brukes til å oppfriske gammel kunnskap. Intensjonen med kompendiet med tilhørende instruksjonsvideoer er å gi kunnskap om riktig bruk av laboratorieutstyr som blir brukt ved NTNU i Ålesund, både visuelt og skriftlig. Opplæring i riktig bruk av laboratoriets utstyr kan være et kvalitetssikringstiltak som kan minske skade på utstyr og feilkilder under forsøk. Kompendiet inneholder informasjon om ulike laboratorieteknikker som blir brukt på et laboratorium. Hovedtemaene er mikroskopering, pipettering, sentrifugering og telling av blodceller.

Vi har prøvd å gjøre kompendiet lettlest slik at nye studenter enkelt kan tilegne seg kunnskap om temaene. Kompendiet er bygd opp med en skriftlig teoridel til hvert tema. Under hvert tema er det en skriftlig utstyrliste og fremgangsmåte som beskriver hvordan de ulike teknikkene skal utføres. For å kunne gi studentene enda bedre forståelse av teknikkene er det medfølgende videosnutter som viser fremgangsmåten visuelt. Vi ønsker at kompendiet og de medfølgende instruksjonsvideoene skal kunne brukes selv om man ikke har så mye kunnskap om temaene på forhånd.

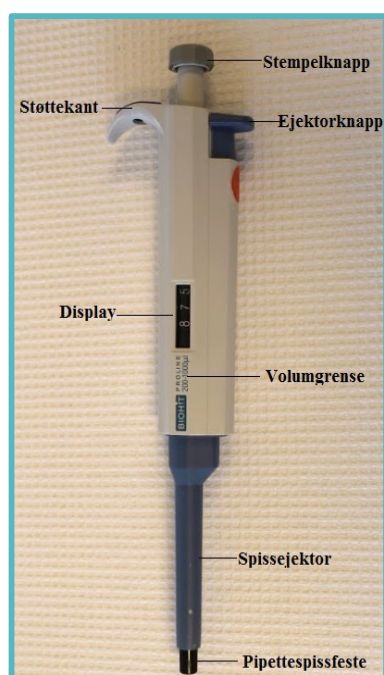
Instruksjonsvideoene illustrerer disse ulike teknikkene:

- Daglig vedlikehold av automatpipette
- Grundig vedlikehold av automatpipette
- Bruk av automatpipette
- Revers pipetteringsteknikk
- Forward pipetteringsteknikk
- Kalibrering av automatpipette
- Balansering av sentrifuge
- Köhlerinnstilling
- Bruk av lysmikroskop
- Normale blodceller i blodutstryk
- Bruk av Bürker tellekammer
- Bruk av Fuchs-Rosenthal tellekammer

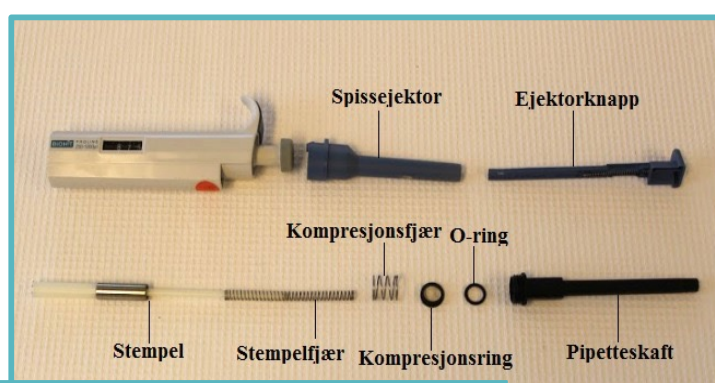
2 Automatpipette

Automatpipetter er et måleverktøy som er laget for generell bruk på laboratorium. De brukes til å måle opp og utlevere ett bestemt volum væske. Pipettene har ulike anbefalte volumgrenser. De fleste automatpipetter dekker til sammen et volum fra 0,5µL til 5mL. Automatpipetter fungerer etter prinsippet om forskyving av luft. Når stempelknappen presses ned tømmes pipetten for luft. Dersom spissen da senkes ned i en væske, og knappen slippes, vil væske suges inn i pipettespissen på grunn av vakuemet som ble dannet. I dette kompendiet og i instruksjonsvideoene har vi benyttet pipettene 200-1000 µl Biohit, 1-5 ml Biohit og 0,5-10 µl Jencons.¹

2.1 Oppbygning og utseende



Figur 2.1 Automatpipette, 200-1000 µl Biohit



Figur 2.2 Demontert automatpipette, 200-1000 µl Biohit

2.1.1 Ejektor

Ejektorknappen brukes til å fjerne pipettespissen fra pipetten. Ved å trykke på ejektorknappen skyves spissejektoren ned og pipettespissen skytes av. Dette er for å unngå og komme i kontakt med mulig skadelig materiale man har pipettert.²

2.1.2 Stempel

Øverst på stempelet er det en knapp. Når denne stempelknappen trykkes ned og slippes opp igjen dannes det et vakuum slik at væske kan suges opp i pipettespissen. Stempelknappen brukes også til å justere ønsket volum. Dette gjøres ved å skru på knappen til ønsket volum vises i displayet.^{3,}

4

2.1.3 Støttekant

Støttekanten gjør at pipetten hviler på pekefingeren slik at tommel er fri. Den brukes også til å henge opp pipetten på stativ i vertikal stilling.⁵

2.1.4 Pipetteskaft

Pipetteskaftet er den lange sorte enden på pipetten. Helt på tuppen av skaftet er pipettespissfestet der spissene festes. Tykkelsen til pipettespissfestet er tilpasset omkrinsen til spissene som kan romme volum innenfor pipettens volumgrense.⁶

2.1.5 Display

I displayet vises det ønskede volumet. Ved siden av displayet står volumgrensene til pipetten slik at man er påpasselig med å ikke stille ønsket volum utenfor disse grensene.⁷

2.1.6 O-ring

O-ringen er en pakning som gjør at pipetten blir tett. Uten o-ringen ville ikke det kunne bli et vakuum inne i pipetten, og pipetteringen ville ikke blitt korrekt. Dersom o-ringen mister evnen til å tette, vil ikke pipetten måle opp riktig volum væske. Man må da bytte ut o-ringen med nye.^{8, 9}

2.1.7 Fjær

I pipetten vi har brukt i illustrasjonsvideoene er det to fjær. Antallet fjær varierer etter produsent og størrelse på pipetten. Stempelfjæren er til for at stempelet skal sprette opp igjen når stempelknappen slippes. Den andre fjæren kalles kompresjonsfjær og er en del av kompresjonssettet som består av denne fjæren og en kompresjonsring. Dette settet er med på å skape vakuemet i pipetten.^{10, 11}

2.2 Vedlikehold av automatpipette



Figur 2.3 Pipetteverktøy til Biohit automatpipetter

2.2.1 Daglig vedlikehold

2.2.1.1 Teori

Daglig vedlikehold av pipettene utføres for å sikre at de holder seg rene og ikke er dekket med skitt og støv. Man kontrollerer de ytre flatene og da spesielt tuppen av pipetten der pipettespissen festes, her kan det ofte bli søl. Først vaskes pipettene med litt destillert vann og deretter med sprit. Det gjøres i denne rekkefølgen for å unngå at søl, som for eksempel blodrester, fikseres og setter varig merke på pipetten. Når pipetten vaskes er det viktig å bruke en tupfer som ikke loer. Dette forhindrer at rester fra tupferen henger igjen på pipettens deler.¹²

2.2.1.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Automatpipette
- Destillert vann
- 70% etanol
- Lofri tupfer

1. Rengjør tuppen av pipetten med destillert vann.
2. Vask tuppen med etanol.
3. Oppbevar pipetten i vertikal stilling.¹³

2.2.2 Grundig vedlikehold

2.2.2.1 Teori

Grundig vedlikehold anbefales å gjøre to ganger i året eller etter laboratoriets egne bestemmelser. Det foretas også en sjekk dersom noe er galt med pipetten. Ved grundig vedlikehold demonterer man pipetten ved hjelp av pipetteverktøyet, se figur 2.3, som fulgte med i esken. Stempelet, kompresjonsringen, o-ringen(e), kompresjonsfjæren og stempelfjæren vaskes med destillert vann og sprit for å fjerne eventuell skit og smussrester. Det vaskes med destillert vann først for å hindre fiksering. Stempelet smøres inn med litt silikon som også kom med i esken. Dette gjøres for at stempelet skal gli lett og jevnt når man trykker på stempelknappen. For å spre silikonene jevnt utover stempelet er det viktig å trykke noen ganger på stempelknappen etter pipetten er montert sammen igjen. Det er også viktig å se etter at alt er helt og fint, før man setter delene sammen.¹⁴

2.2.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Automatpipette
 - Pipetteverktøy
 - Etanol
 - Lofri tupfer
 - Silikon
1. Trykk ned ejektorknappen
 2. Trykk tannen på pipetteverktøyet mellom spissejektoren og ejektorknappen.
 3. Ta forsiktig spissejektoren og ejektorknappen fra pipetten.
 4. Sett andre enden av pipetteverktøyet rundt pipetteskafet og skru mot klokka til det løsner.
 5. Ta forsiktig alle delene fra hverandre.
 6. Bruk etanol på tupfer som ikke loer. Rengjør stempelet, kompresjonsringen, o-ringen(e), kompresjonsfjæren og stempelfjæren.
 7. Før delene settes sammen smøres stempelet med litt silikon.
 8. Sett forsiktig sammen delene igjen.
 9. Trykk på stempelknappen flere ganger når pipetten er satt sammen.¹⁵

2.3 Kontroll og kalibrering

2.3.1 Teori

Kontroll av automatpipetter blir utført regelmessig etter laboratoriets egne bestemmelser. Vannet som brukes under kontrollprosessen skal være destillert og mellom 20-25°C. Pipettespissene må være originalspisser fra leverandøren. Temperaturen må ikke endres mer enn 0,5°C. Ved 20°C vil tettheten til destillert vann være 0,9982. Derfor bør man unngå trekk i rommet der veiingen foregår. For å regne ut om kontrollene er innenfor tillat verdi brukes disse formlene: ¹⁶

1. Fra vekt til volum: $\frac{\text{vekt (mg)}}{\text{væskens densitet}} = \text{volum (ml)}$
2. Middelerdi: $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$
3. Impresisjon: $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$
4. Tillat impresisjon: $\frac{\text{Ønsket volum}}{100\%} \times \text{tillat prosent impresisjon}$
5. Unøyaktighet: $\text{Ønsketvolum} - \text{middelerdi av faktisk volum}$
6. Tillat unøyaktighet: $\frac{\text{Ønsket volum}}{100\%} \times \text{tillat prosent unøyaktighet}$
7. F-verdi: $|\text{unøyaktighet}(\mu\text{l})| + (2 \times \text{impresisjon}) = F$
8. F_{max} -verdi: $|\text{høyest tillat unøyaktighet}| + (2 \times \text{høyest mulig impresisjon})$

Referansene som er brukt til formlene. ^{17, 18}

Testvolum, tillatt prosentvis unøyaktighet og tillatt prosentvis impresisjon for denne typen automatpipetter er oppført i tabell 2.1 nedenfor, og står også oppført i instruksjonsmanualen som følger med pipetten. ¹⁹ Boka Statistikk for kjemikere forklarer presisjon og nøyaktighet slik:

Nøyaktighet er et mål på hvor nært en målt verdi ligger i forhold til den virkelige verdien.⁽²⁰⁾

Presisjon er et mål på hvor godt to eller flere målinger stemmer overens (hvor nært de ligger hverandre). ⁽²¹⁾

Tabell 2.1 Testvolum, tillatt prosentvis unøyaktighet og tillatt prosentvis impresisjon.

Volum område	Testvolum (µl)	Unøyaktighet (%)	Impresisjon (%)	Type spiss (original fra leverandør)
0,5-10µl	10	±3,0	≤ 2,0	10µl
	5	±6,0	≤ 3,0	
	1	±10,0	≤ 3,0	
2-20µl	20	±3,0	≤ 1,5	300µl
	10	±3,0	≤ 2,0	
	2	±10,0	≤ 3,0	350µl
5-50µl	50	±2,4	≤ 1,5	300µl
	25	±2,8	≤ 2,0	
	5	±6,0	≤ 3,0	350µl
10-100µl	100	±1,5	≤ 1,0	300µl
	50	±2,2	≤ 1,5	
	10	±3,0	≤ 2,0	350µl
20-200µl	200	±1,5	≤ 1,0	300µl
	100	±1,5	≤ 1,0	
	20	±3,0	≤ 1,5	350µl
50-200µl	200	±1,5	≤ 1,0	300µl
	100	±1,5	≤ 1,0	
	50	±2,2	≤ 1,5	350µl

100-1000μl	1000	±1,2	≤ 0,5	1000μl
	500	±1,5	≤ 0,5	
	100	±1,5	≤ 1,0	
200-1000μl	1000	±1,2	≤ 0,5	1000μl
	500	±1,5	≤ 0,5	
	200	±1,5	≤ 1,0	
1000-5000μl	5000	±1,0	≤ 0,5	5000μl
	2500	±1,0	≤ 0,5	
	1000	±1,2	≤ 0,5	

2.3.1.1 Regneeksempel kontroll

Kontrollen er utført seks ganger med en pipette som har volumgrense på 1000 μ l-5000 μ l. Pipetten er blitt testet med volum 2500 μ l. Som man ser fra tabellen kan man ha en unøyaktighet på $\pm 1,0\%$ og impresisjon på $\leq 0,5\%$. Det destillerte vannet er blitt veid ved 20°C, som gir en tetthet på 0,9982.¹ Regn ut F- og F_{max}-verdi.

Resultatene fra veiingen:

Prøve nr.	Ønsket volum (μ l)	Vekt (mg)	Faktisk volum (μ l)
1	2500	2,501	$\frac{2,501\text{mg}}{0,9982} = 2505\mu\text{l}$
2	2500	2,503	$\frac{2,503\text{mg}}{0,9982} = 2507\mu\text{l}$
3	2500	2,502	$\frac{2,502\text{mg}}{0,9982} = 2506\mu\text{l}$
4	2500	2,503	$\frac{2,503\text{mg}}{0,9982} = 2507\mu\text{l}$
5	2500	2,501	$\frac{2,501\text{mg}}{0,9982} = 2505\mu\text{l}$
6	2500	2,504	$\frac{2,504\text{mg}}{0,9982} = 2508\mu\text{l}$

Utregningene:

$$\text{Middelverdi: } \frac{(2505+2507+2506+2507+2505+2508)\mu\text{l}}{6} = 2506\mu\text{l}$$

$$\text{Tillat impresisjon: } \frac{2500\mu\text{l}}{100\%} \times 0,5\% = 12,5\mu\text{l}$$

$$\text{Impresisjon: } \sqrt{\frac{(2505-2506)^2+(2507-2506)^2+(2506-2506)^2+(2507-2506)^2+(2505-2506)^2+(2508-2506)^2}{6-1}} = 1,26\mu\text{l}$$

$$\text{Tillat unøyaktighet: } \frac{2500\mu\text{l}}{100\%} \times 1,0\% = \pm 25\mu\text{l}$$

$$\text{Unøyaktighet: } 2500\mu\text{l} - 2506\mu\text{l} = 6\mu\text{l}$$

$$\text{F-verdi: } |6\mu\text{l}| + (2 \times 1,26\mu\text{l}) = 8,52\mu\text{l}$$

$$\text{F}_{\text{max}}\text{-verdi: } |25\mu\text{l}| + (2 \times 12,5\mu\text{l}) = 50\mu\text{l}$$

F-verdien er lavere enn F_{max}. Kontrollen av pipetten er derfor godkjent.

Kildene til regneeksemplet.^{22, 23}

2.3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte kontroll

- Automatpipette
 - Pipettespiss
 - Destillert vann
 - Veieskip
 - Vekt
1. Still inn ønsket volum og fest på en pipettespiss på pipetten som skal kontrolleres.
 2. Fukt pipettespissen med destillert vann fem ganger på kontrollvolumet. Dette gjøres ved å aspirere destillert vann inn i pipettespissen, og slippe det ut igjen fem ganger.
 3. Pipetter ønsket volum over i ett veieskip som er tarert, les av i milligram (mg).
 4. Repeter punkt 1-3 minst fem ganger og skriv ned alle resultatene.
 5. Regn ut middelverdien til alle verdiene du har fått under veiingen.
 6. Regn om middelverdien fra vekt til volum.
 7. Regn ut F-verdien.
 8. Regn ut F_{max} .
 9. For å godkjenne kontrollen må F-verdien være lavere enn F_{max} . Hvis verdien er høyere, må pipetten kalibreres. ²⁴

Hvis kontrollen avviker fra referanse/standard, er det nødvendig å kalibrere pipetten. Dette er for å opprettholde målenøyaktigheten, slik at man unngår feilmålinger. Dersom kontrollen er for høy må man justere på pipetten slik at volumet reduseres, og motsatt dersom kontrollen er for lav. Etter en kalibrering utføres det igjen en kontroll for å sjekke at prøvevolumet nå er innenfor tillatte verdier. Det kan være nødvendig å gjenta kalibrering- og kontrollprosessen flere ganger. ²⁵

2.3.3 Utstyrliste og fremgangsmåte kalibrering med tilhørende instruksjonsvideo

- Automatpipette
 - Pipetteverktøy
1. Plasser pipetteverktøyet inn i hullene under stempelknappen.
 2. Skru vertøyet mot klokka for å redusere volumet, og med klokka for å øke volumet.
 3. Utfør kontroll for å sjekke at volumet er riktig.
 4. Repeter disse stegene til kontrollen er innenfor tillat verdi.²⁶

2.4 Bruk av pipette

2.4.1 Teori

Pipetten skal holdes slik at støttekanten hviler på pekefingeren. Tommelen vil da være fri og disponibel til å trykke på både stempelknappen og ejektorknappen. Stempelet har tre posisjoner: startposisjon, første stopp og andre stopp.²⁷

Pipettene har egne volumgrenser. Det ønskede volumet kan justeres ved hjelp av å skru på stempelknappen. Her er det viktig å holde seg innenfor den oppgitte volumgrensen til pipetten når man velger ønsket volum. Dette er for å unngå slitasje på fjærene slik at man opprettholder målenøyaktigheten.²⁸

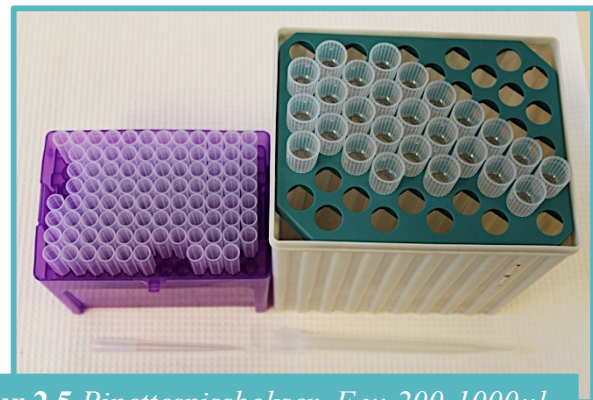
Andre variabler som kan påvirke målenøyaktigheten er temperatur, luftbobler, stempelets bevegelse, manglende fukting av pipettespiss, rett stilling på automatpipetten og om pipettespissen sitter ordentlig fast. Pipettespissen bør alltid være fuktet med væsken som skal aspireres. Dette er spesielt viktig dersom væsken har en annen temperatur enn omgivelsene. Væske med lavere temperatur vil gjøre at luften inne i pipetten krymper, og pipetten trekker inn mer væske enn det ønskede volumet. Ved høyere temperatur på væsken vil luften inne i pipetten bli større, slik at pipetten ikke kan aspirere hele det ideelle volumet væske. Det er viktig å unngå luftbobler i pipettespissen fordi luftboblene blir en del av volumet. Stempelet inne i automatpipetten må gli lett, og man må passe på å slippe stempelknappen i en jevn og rolig bevegelse. For å hindre at pipetten suger inn luft er det viktig å følge med på væskenivået i glasset det pipetteres fra.

Automatpipetten må holdes i vertikal stilling. Dersom den for eksempel blir lagt ned på en benk, vil væsken i spissen renne inn i pipetten. Dette kan ødelegge både pipetten og det ønskede volumnivået. Det er viktig at enden på automatpipetten presses godt fast i engangspipettespissen. Luft kan sive inn gjennom festet mellom pipetten og spissen. Det vil ødelegge vakuemet inne i pipetten, og det ønskede volumet kan ikke oppnås.²⁹

Pipettene har tilhørende utskiftbare pipettespisser. Det er viktig at disse pipettespissene brukes når man pipetterer, slik at pipetten ikke blir ødelagt ved at den fylles med væske. Spissene oppbevares stående i plastbokser med tuppen ned gjennom et brett. Pipettespissen festes til automatpipetten ved å presse pipetten ned i en spiss mens den står i plastboksen. Dette gjøres for å hindre at man forurenses pipettespissen med hendene. Bytt pipettespiss mellom hver pipettering for å hindre forurensing av væskene. Boksen beskytter spissene slik at de ikke blir forurenset, noe som kan gi feil resultat ved eventuell analyse. Lukk derfor alltid lokket på boksen med pipettespissene etter bruk.³⁰



Figur 2.4 Pipettespisser. Øverst: 200-1000µl.
Nederst: 1000-5000µl.



Figur 2.5 Pipettespissbokser. F.v: 200-1000µl.
F.h: 1000-5000µl.

2.4.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Automatpipette
 - Pipettespiss
 - Væsken som skal pipetteres
1. Hold pipetten slik at støttekanten hviler på pekefingeren.
 2. Skru på stempelskruen til det ønskede volumet vises i displayet.
 3. Ta på tilhørende pipettespiss.
 4. Fukt pipettespissen med væske ved å fylle og tømme spissen fem ganger.
 5. Bruk pipetteringsteknikken som passer best til væsken som skal pipetteres. Se “Pipetteringsteknikker”.
 6. Trykk på ejektorknappen for å ta av pipettespissen. Husk og kast pipettespissen i rett avfallsboks.
 7. Lukk lokket til pipettespissboksen når den ikke er i bruk.³¹

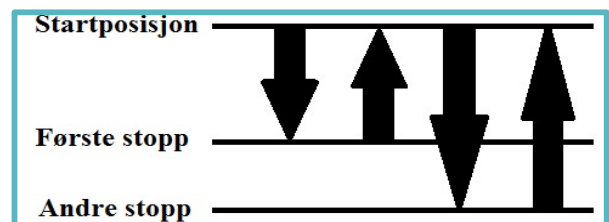
2.4.3 Pipetteringsteknikker

Det finnes ulike pipetteringsteknikker. I dette kompendiet har vi tatt for oss teknikkene forward pipetteringsteknikk og revers pipetteringsteknikk.

2.4.3.1 Forward pipetteringsteknikk

2.4.3.1.1 Teori

Forward pipetteringsteknikk er den mest brukte teknikken. Her aspireres det nøyaktige volumet inn i pipettespissen og leveres til mottakerglasset. Denne teknikken brukes til å pipettere væsker med lavere viskositet.³²



Figur 2.6 Forward Pipetteringsteknikk

2.4.3.1.2 Utstørliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Automatpipette
- Pipettespiss
- Væsken som skal pipetteres

1. Ta på tilhørende pipettespiss
2. Før pipettering trykkes stampelet ned til første stopp
3. Hold pipetten i vertikal stilling noen få millimeter ned i væsken, og fyll ønsket volum i spissen ved å slippe stempelknappen sakte ut.
4. Ta pipettespissen opp fra løsningen og dra den langs kanten på glasset for å fjerne eventuell væske som er utenpå spissen.
5. Plasser pipettespissen inntil veggen på mottakerglasset og trykk stampelet sakte ned til første stopp. Deretter trykker man ned stampelet til andre stopp slik at man er sikker på at pipettespissen er tømt.³³



Figur 2.7 Første stopp



Figur 2.8 Start posisjon



Figur 2.9 Andre stopp

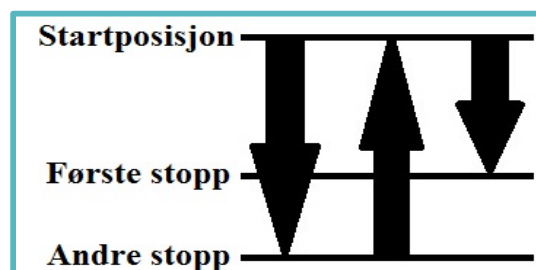


Figur 2.10 Start posisjon

2.4.3.2 Revers pipetteringsteknikk

2.4.3.2.1 Teori

Revers pipetteringsteknikk aspireres et større volum inn i pipettespissen. I pipettespissen vil det være det ønskede volumet, i tillegg til et restvolum. Denne teknikken egner seg til å bruke når man skal pipettere viskøse væsker eller væsker som har en tendens til å skumme. Det anbefales også å bruke denne teknikken ved pipettering av veldig små volum.



Figur 2.11 Revers pipetteringsteknikk

2.4.3.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Automatpipette
 - Pipettespiss
 - Væsken som skal pipetteres
1. Ta på tilhørende pipettespiss.
 2. Før pipettering trykkes stempelet helt ned til andre stopp.
 3. Hold pipetten i vertikal stilling noen få millimeter ned i væsken, og fyll ønsket volum i spissen ved å slippe stempelknappen sakte ut.
 4. Ta pipettespissen opp fra løsningen og dra den langs kanten på glasset for å fjerne eventuell væske som er utenpå spissen.
 5. Plasser pipettespissen inntil veggen på mottakerglasset.
 6. Trykk stempelet sakte ned til første stopp. Nå er det restvolum igjen i pipettespissen.
 7. Kast restvolumet sammen med pipettespissen.³⁵



Figur 2.12 Andre stopp



Figur 2.13 Start posisjon



Figur 2.14 Første stopp

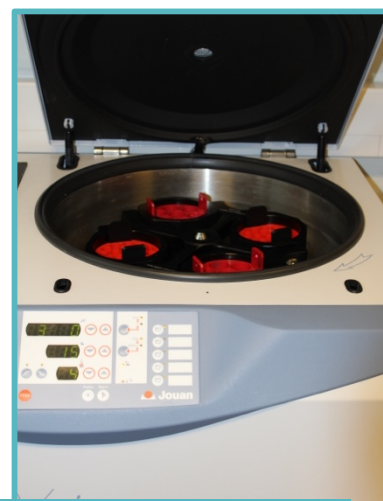


Figur 2.15 Start posisjon

3 Sentrifuge

3.1 Teori

En sentrifuge er en maskin som brukes for å skille lette komponenter fra tyngre komponenter i en løsning, mikstur eller en suspensjon. Når vi bruker en sentrifuge sedimenteres de ulike komponentene mye raskere, og de pakkes mye fastere ved hjelp av sentrifugalkraftene enn hvis man bare hadde brukt tyngdekraften. I et klinisk laboratorium brukes sentrifuger til blant annet å skille cellulære elementer fra blod. I dette kompendiet og i instruksjonsvideoene har vi benyttet sentrifugen Jouan CR4i.³⁶



Figur 3.1 Sentrifuge, Jouan CR4i

Sentrifugen består i hovedsak av flere beger, en loddrett omdreiningssaksel og en motor. Prøvematerialet som skal sentrifugeres plasseres i loddrette beger som henger fast i akselen. Begrene finnes i ulike former etter hvilket prøvemateriale de skal romme. Noen beger har små hull til plassering av reagensglass mens andre brukes til sentrifugering av blodposer. Akselen er koblet til en elektrisk motor som gjør at den kan snurre rundt i en bestemt fart. Når akselen dreies rundt vil begrene med prøvemateriale svinge ut slik at de ligger loddrett. Da vil bunnen av prøvene vende utover.^{37, 38}

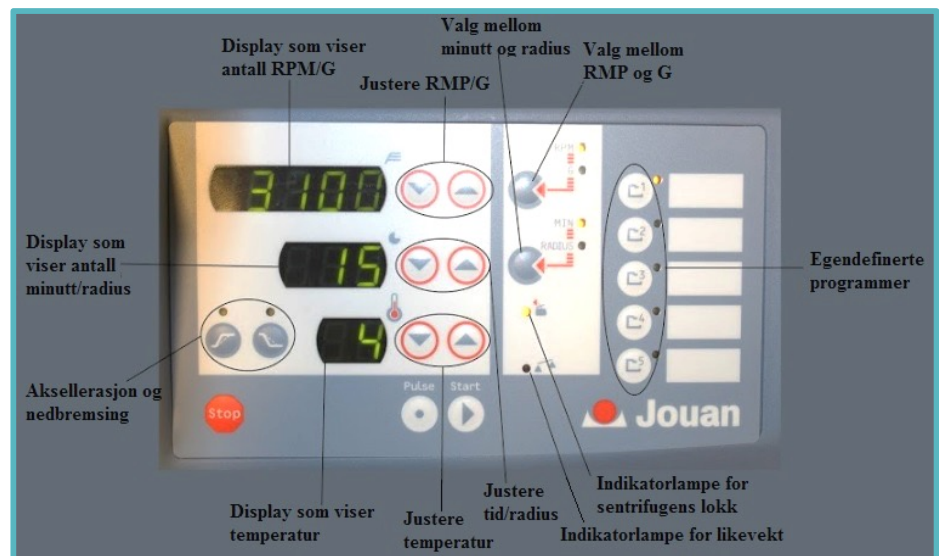


Figur 3.2 Inni sentrifuge, Juan CR4i

Sentrifugens omdreiningssaksel snurrer prøvene rundt slik at komponentene sedimenteres. Dette gjøres ved hjelp av en kraft, sentrifugalkraft, som oppstår inne i sentrifugen når omdreiningssakselen slynger prøvene rundt. Vi kan tenke på sentrifugalkraften som en kunstig tyngdekraft som trekker de ulike komponentene ned mot bunnen av reagensrøret. For at komponentene skal skilles fra hverandre må de ha ulik tetthet. Komponentene med størst tetthet vil ha minst motstand, og trekkes raskere ned mot bunnen av røret. Dersom det er stor forskjell mellom tettheten til komponentene vil de skilles fra hverandre fortere.^{39, 40}

Viskositeten til væsken vil også påvirke hastigheten på sedimenteringen. Høy viskositet gir mer motstand, og det vil da ta lengre tid før de ulike komponentene skilles. Viskositeten kan minskes ved å øke temperaturen på væsken. De fleste sentrifuger har en temperaturfunksjon som gjør at man kan bestemme temperaturen som prøvene skal sentrifugeres ved.⁴¹

Sentrifugene har ofte et display på utsiden, der man kan starte/stoppe, stille inn temperatur, hastighet og hvor sterk sentrifugalkraften skal være. Man kan velge to ulike parameter for hvor kraftig prøvene skal sentrifugeres, rpm



Figur 3.3 Sentrifugens display, Juan CR4i

og g-kraft. Rpm er en forkortelse for

runder per minutt. Denne parameteren bestemmer man altså hvor mange omdreininger akselen skal gjøre i minuttet. Antall G er det samme som sentrifugalkraften. G er en forkortelse for tyngdekraft, og med denne parameteren bestemmes det hvor mange ganger større sentrifugalkraften skal være i forhold til tyngdekraften.⁴²

Når man skal sentrifugere er det viktig å plassere prøverørene riktig. Det er store krefter i sving, så det er viktig at prøverørene plasseres i passende hull i koppene og at balanseringen utføres korrekt. Korrekt balansering gjøres ved å balansere to og to like glass med like stort volum mot hverandre i sentrifugen. Hvis antall glass ikke går opp, er det nødvendig å bruke balanseglass. Et balanseglass er et prøverør som er fylt med vann slik at det har samme vekt som det prøverøret man ønsker å sentrifugere. Noen sentrifuger er svært sensitive på feilbalansering. I slike tilfeller bør det brukes en vekt for å veie prøvene man skal balansere opp mot hverandre. Vektforskjellen av kopper, prøverør og prøverørets innhold på motsatte sider av rotoren bør ikke avvike med mer enn 1%, eller ved den grensen produsenten har oppgitt.⁴³

Hvis det er utført feil plassering av prøveglass vil sentrifugen begynne å vibrere eller riste avhengig av hvor stor feilen er. Dette kan føre til at sentrifugen blir ødelagt og prøvene ubrukelige. På nyere sentrifuger er det installert en detektor, som detekterer og stopper sentrifugen dersom den er i ubalanse. Noen sentrifuger er utstyr med en automatisk balanseringsfunksjon, der sentrifugen balanserer prøverørene selv.⁴⁴



Figur 3.4 Feil balansering av sentrifuge, Juan CR4i



Figur 3.5 Riktig balansering av sentrifuge, Juan CR4i

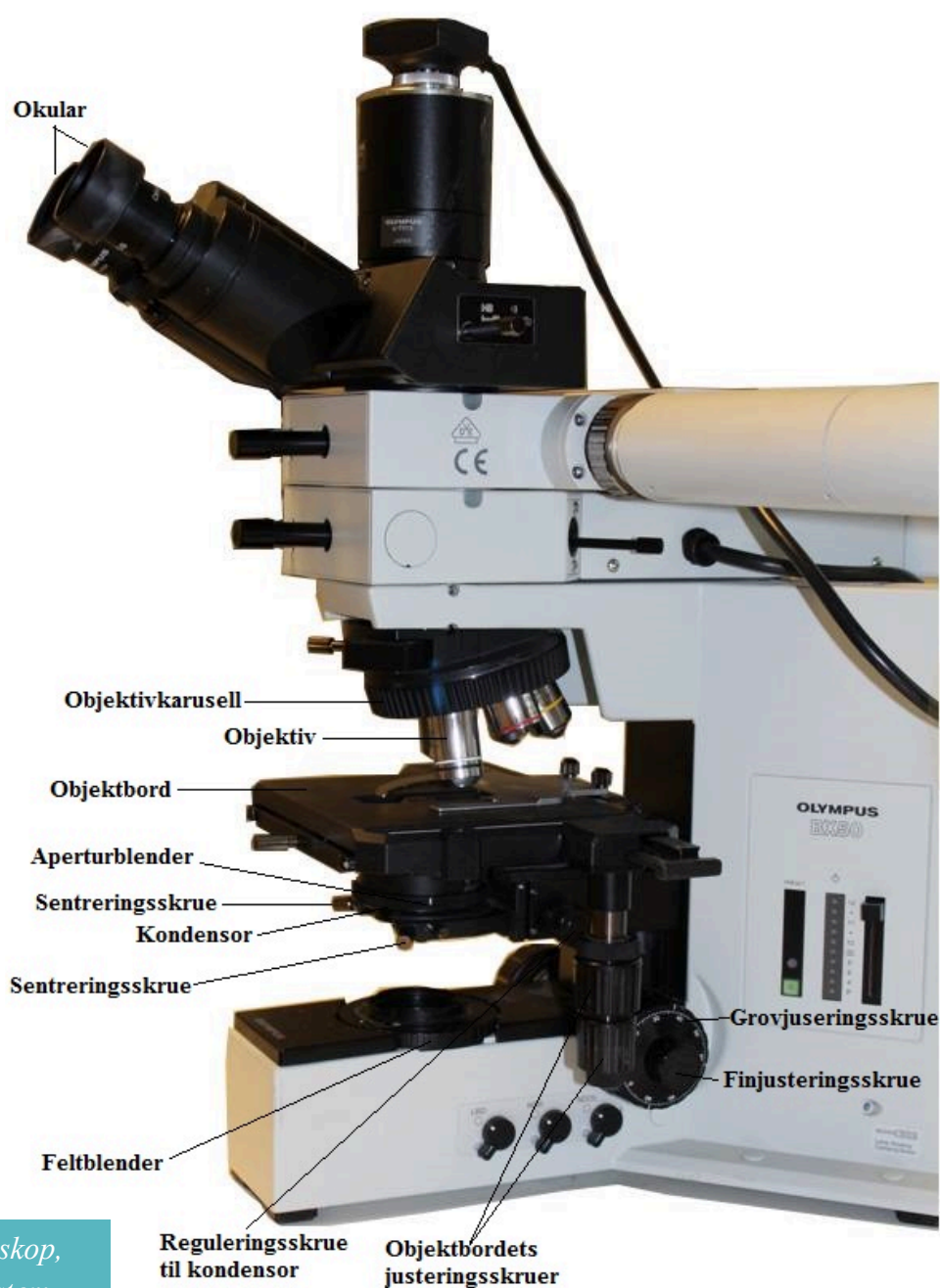
3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte for balansering av sentrifugen med tilhørende instruksjonsvideo

- Prøveglass
 - Sentrifuge
 - Vann til eventuelt balanseglass
-
1. Balanserer to og to glass med like stort volum mot hverandre.
 2. Dersom antall glass ikke går opp, må man bruke et balanseglass.
 3. Plasser glassene i beholdere med passe størrelse.
 4. Balanser med vekt om nødvendig. ⁴⁵

4 Lysmikroskop

4.1 Teori

Et mikroskop er et instrument som brukes til å se små objekter og deres detaljer, som ikke er mulig å se med det blotte øye. Det finnes ulike typer mikroskop, men i dette kompendiet tar vi for oss lysmikroskopet Olympus BX50 System Microscope.⁴⁶



Figur 4.1 Lysmikroskop,
Olympus BX50 System
mikroskope

4.1.1 Oppbygning

4.1.1.1 Okular

Okularene er bygget opp av to linser, feltlinse og øyelinse. Disse linsene har en bestemt avstand slik at fargespredningen oppheves. I den optiske tuben forstørrer linsene bildet fra objektivet ytterligere 10x. Det er to bevegbare okular som er optisk paret. Det er viktig å stille inn okularene riktig for å oppnå optimal fokus.⁴⁷

4.1.1.2 Optisk tube

Optiske tuben er bindeleddet mellom okularene og objektivets linse. Det vanligste lengden på tuben er 160mm. Inne i tuben er det flere prismer og linser som korrigerer lyset.⁴⁸

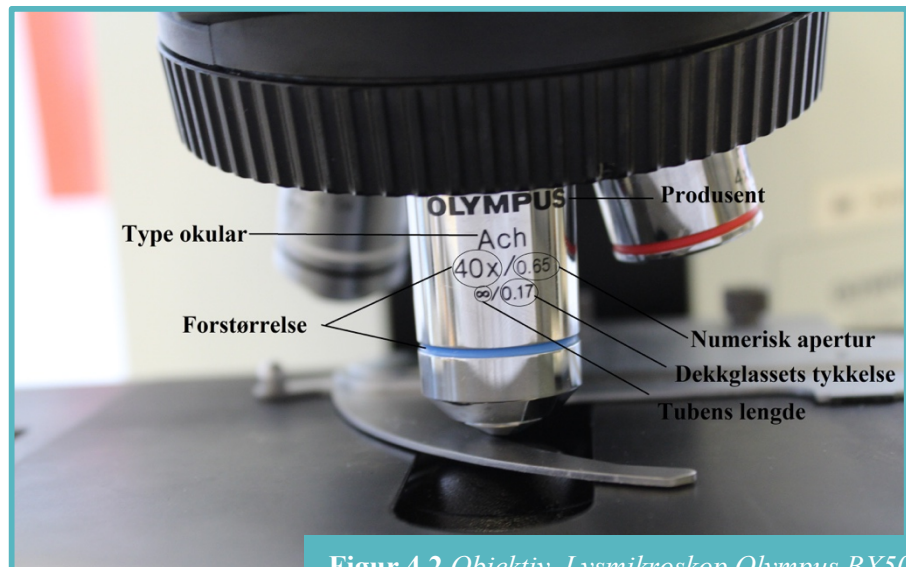
4.1.1.3 Objektivkarusell

Ulike objektiver er festet til objektivkarusellen i en rekkefølge slik at man enkelt kan bytte til neste objektiv.⁴⁹

4.1.1.4 Objektiv

På et mikroskop er det oftest fire objektiver med ulik forstørrelse. I tillegg til tall har objektivene en farget ring som angir forstørrelsen. Objektiv 4x har rød ring, objektiv 10x har gul ring, objektiv 20x har grønn ring, objektivenes 40x, 50x og 60x har blå ring, og objektiv 100x har en hvit ring. Det mikroskopet vi har brukt, Olympus BX50, er utstyrt med objektivtypen akromater og plan akromater. Objektiv 10x og objektiv 100x er akromatobjektiv, og objektiv 4x og objektiv 40x er plan akromatobjektiv. Akromatobjektiv er sammensatt av fem linser som hindrer spredning av lys. Disse objektivenes er korrigert for blått og rødt lys. Plan akromatobjektiv er et mye mer kompleks objektiv og består av elleve linser. Dette gjør at man kan se midten og kantene av bilde skarpt samtidig. På nyere mikroskop er det vanlig at linsene er parfokale. Parfokale objektiv er objektiver der man kan skifte objektiv til en større forstørrelse uten og måtte justere for mye på finjusteringsskruen.⁵⁰

Noen objektiver er oljeimmersjonsobjektiv, de er merket med en svart ring. Da brukes immersjonsolje slik at oppløsningen blir høyere og detaljer kan sees bedre. Oljen gjør at den numerisk apertur blir breiere, slik at linsen kan ta opp mer lys. Det er viktig å vaske bort oljen etter bruk for å hindre at den tørker fast i frontlinsen på objektivet. Ikke bruk immersjonsoljen på objektiver som ikke er ment for det. Da vil de bli ødelagt på grunn av at oljen kan trenge inn i objektivet innenfor frontlinsen. Dersom dette skulle skje må linsen vaskes med en gang.^{51,52}



Figur 4.2 Objektiv, Lysmikroskop Olympus BX50 System mikroskope

4.1.1.5 Objektbord

Preparatet plasseres på objektbordet og holdes fast ved hjelp av preparatklypen. For å stille inn preparatet i ønsket posisjon brukes objektbordets justeringsskruer for å bevege bordet langs x- og y-aksen. Objektbordet justeres opp og ned ved hjelp av grovjustering- og finjusteringsskruene for at preparatet skal sees skarpt.^{53,54}

4.1.1.6 Kondensor

Kondensoren til dette lysmikroskopet består av tre linser. I en vanlig kondensor, er topplinsen flat på utsiden og innersiden er sterkt krummet. Kondensorens oppgave er å samle og sende ut lysstrålene slik at brennpunktet blir på preparatet. Kondensoren kan justeres ved hjelp av reguleringsskrue og sentreringskruer.⁵⁵

4.1.1.7 Aperturblender

På undersiden av kondensoren er det festet en aperturblender. Aperturblenderen kontrollerer numerisk apertur og mengden lys som sendes gjennom preparatet. Den numeriske aperturen regulerer kontrasten og oppløsning. Man oppnår høyest oppløsning når aperturblenderen er helt åpen, men da blir ikke kontrasten like bra. Derfor har man aperturblenderen litt lukket.⁵⁶

4.1.1.8 Feltblender

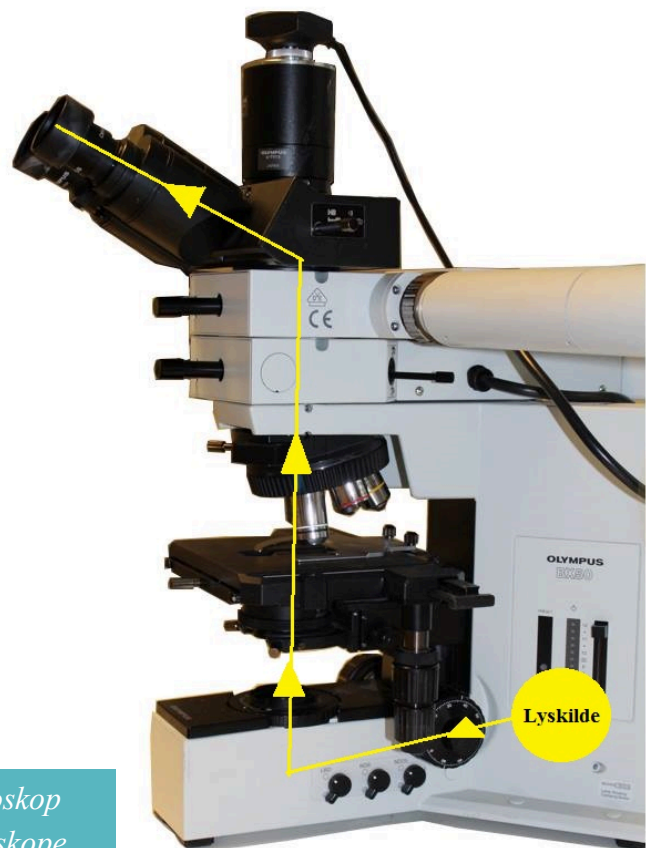
Under kondensoren og aperturblenderen er feltblenderen. Feltblenderen regulerer hvor mye lys som skal komme fra lyskilden.

4.1.1.9 Lyskilde

Lyskilden i dette mikroskopet er en halogenpære. Denne typen pære har lengre holdbarhet og større lysutbytte enn en vanlig glødepære. Halogengassen i pæren gjør at wolframtråden tåler høyere spenning før den brenner opp.^{57, 58}

4.1.2 Lysveien

Lyset fra halogenpæren passerer gjennom samlelinse og feltlinse, og ledes til feltblenderen ved hjelp av et speil. Videre fra feltblenderen går lyset gjennom aperturblender og kondensorlinsene. Nå treffer lyset preparatet fra undersiden og trenger gjennom prøven. Lyset når så objektivet med ønsket forstørrelse. Antall linser inni objektivet avhenger av type objektiv. Objektivet er festet til den ene enden av den optiske tuben. Her passerer lyset gjennom linser og prismer slik at lyset blir fordelt til de to okularene.⁵⁹



Figur 4.3 Lysveien, Lysmikroskop
Olympus BX50 System Mikroskope

4.2 Köhlerinnstilling av lysmikroskop

4.2.1 Teori

Det er viktig å Köhlerinnstille lysmikroskopet før man mikroskoperer. Ved å benytte denne innstillingen fokuseres lysstrålen i aperturblenderen på kondensoren slik at det blir et jevnt lys på hele preparatet. En usentrert kondensor vil gi ujevnt lys på preparatet. Dersom Köhlerinnstillingen er utført på riktig måte vil man utnytte mikroskopets fulle potensiale, jevnt lys og ingen gjenskinns på bildet som sees gjennom okularene.⁶⁰

4.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Lysmikroskop
 - Preparat
1. Fokuser et preparatet med objektiv 10x.
 2. Lukk feltblenderen og aperturblenderen helt.
 3. Skru kondensoren helt opp ved hjelp av reguleringskruen.
 4. Senk kondensoren forsiktig med samme skrue til feltblenderen sees skarpt.
 5. Bruk sentreringskruene til å sentrere kondensoren.
 6. Åpne feltblenderen for å se om kondensoren er sentrert. Viss ikke, reguler ved hjelp av sentreringskruene.
 7. Åpne feltblenderen videre til kanten akkurat forsvinner utenfor synsfeltet.
 8. Fjern et okular. Hold en avstand på 10-12 cm og se ned i tuben. Åpne aperturblenderen slik at diameteren av lysfeltet man ser er $\frac{3}{4}$ av synsfeltet.
 9. Sett okularet på plass.
 10. Still inn preparatet skarpt ved hjelp av finjusteringskruen.

4.3 Bruk av lysmikroskop

4.3.1 Teori

4.3.1.1 Vedlikehold av lysmikroskop

For at lysmikroskopets fulle potensial skal kunne utnyttes er det viktig å utføre vedlikehold før og etter bruk. Vedlikehold vil også gjøre at mikroskopet og dets deler varer lengre, og at man slipper dyre reparasjoner.

Støv legger seg lett på de ulike linsene på mikroskopet. Dette kan gjøre at bildet får dårlige kontraster, blir uklart eller at man ser støvkornene, som kan være forstyrrende og gi feilkilder. For å hindre at det legger seg støv på linsene er det viktig at mikroskopet er ordentlig tildekket med beskyttelse når det ikke er i bruk. Dersom det likevel er kommet støv på linsene kan man tørke det

bort med et linsepapir eller børste det bort ved hjelp av en veldig myk pensel av for eksempel kamelhår. Bruk aldri vanlig tørkepapir eller ansiktsservietter til å vaske linsene med. Dette kan skape riper på linsene.

Når man håndterer et mikroskop er det viktig å ikke ta på linsene med fingrene. Da vil det komme ett fettlag på utsiden av linsen som reduserer oppløsningen og kontrastene. Linsene på okularene er mest utsett siden man ofte justerer okularene og lett kan komme borti linsene. For å fjerne eventuelt fettlag brukes en liten dråpe 70% isopropyl alkohol på ett linsepapir.

Ved bruk av oljeimmersjonsobjektiver er det viktig å vaske av oljen etter bruk. Dersom det ikke gjøres vil oljen tørke inn til en hard klump. Frontlinsen kan bli ødelagt dersom belegget ikke fjernes. En stor klump kan nå borti preparatet slik at frontlinsen på objektivet blir trykket inn i objektivet og dermed ødelegge det.

I tillegg til dette daglige vedlikeholdet bør man jevnlig levere mikroskopet inn for grundig vedlikehold av profesjonelle.^{61, 62}

4.3.1.2 Total forstørrelse

Forstørrelsen (V) som er angitt på objektivene er ikke den totale forstørrelsen vi ser når du kikker inn i okularene. Okularene forstørrer også. Det finnes ulik forstørrelse på okularene, så det er derfor viktig å bruke paret okularer. Tuben har en egenfaktor (E), som vanligvis er 1,25x. Formelen for total forstørrelse blir da:⁶³

$$V_{mikroskop} = V_{objektiv} \times V_{okular} \times E_{tube}$$

4.3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- Lysmikroskop
- Linsepapir
- 70% etanol
- Preparat
- Immersjonsolje

1. Skru på mikroskopet.
2. Juster avstanden mellom okularene, slik at de passer til øynene.
3. Dersom det er mye smuss på linsene til okularene, vask med linsepapir og litt 70% etanol, og deretter tørk.
4. Legg på et preparat og fest det med preparatklypen.
5. Sentrer preparatet ved hjelp av objektbordet sine justeringsskruer.
6. De fleste mikroskop har fire objektiv; 4x, 10x, 40x og 100x. 4x kan brukes for å gi ett oversiktsbilde, men man starter oftest rett på 10x.
7. Skru opp objektbordet så høyt som mulig ved hjelp av grovjusteringsskruen. Skru objektbordet sakte nedover ved hjelp av den samme skruen, slik at preparatet blir synlig. Bruk finjusteringsskruen for å se preparatet skarpt.
8. Skru på okularet etter ditt behov dersom bilde fortsatt er litt uklart.
9. Juster lyset etter behov og ønske med lysjusteringsknappen.
10. Dersom objektiv 10x er rett stilt inn skal du nå kunne skifte til objektiv 40x og finne preparatet med en gang, juster med finjusteringsskruen.
11. Skru objektivkarusellen til det åpne området før objektiv 100x, som er et oljeimmersjonsobjektiv. Drypp en dråpe immersjonsolje der lyset treffer preparatet. Skru på plass 100x. **DET ER VIKTIG AT MAN IKKE FÅR OLJE PÅ DE OBJEKTIVENE SOM IKKE ER BEREGNET FOR DET!!**
12. Bruk finjusteringsskruen til å fokusere. Det kan være nødvendig å øke lysstyrken.
13. Når en er ferdig skrur man objektivkarusellen tilbake til det åpne området, tar bort preparatet, og skrur ned objektbordet.
14. Etter bruk er det viktig å tørke og vaske oljeimmersjonsobjektivet med litt 70% etanol og linsepapir for å få vekk oljerestene.
15. Skru av mikroskopet og ta på eventuell beskyttelse.

5 Blodceller

5.1 Hematopoiesen

Benmargen er det viktigste hematopoetiske (bloddannende) organet i kroppen vår. Hos en voksen person (70kg) er den samlede produksjonen av blodceller fra benmargen ca 5×10^{11} celler i døgnet. Alle blodcellene kommer opprinnelig fra en og samme celle i benmargen, en såkalt pluripotent stamcelle. Den gir opphav til multipotente stamceller som differensieres videre i myelopoiesen eller i lymfopoiesen. Deretter via bipotente/progenitor celler som så videre differensieres i henholdsvis

lymfocytopoiese

(T-celler og B-celler),

monocytopoiese,

granulocytopoiese

(neutrofile, eosinofile og

basofile), erytropoiese

eller trombocytopoiese. I

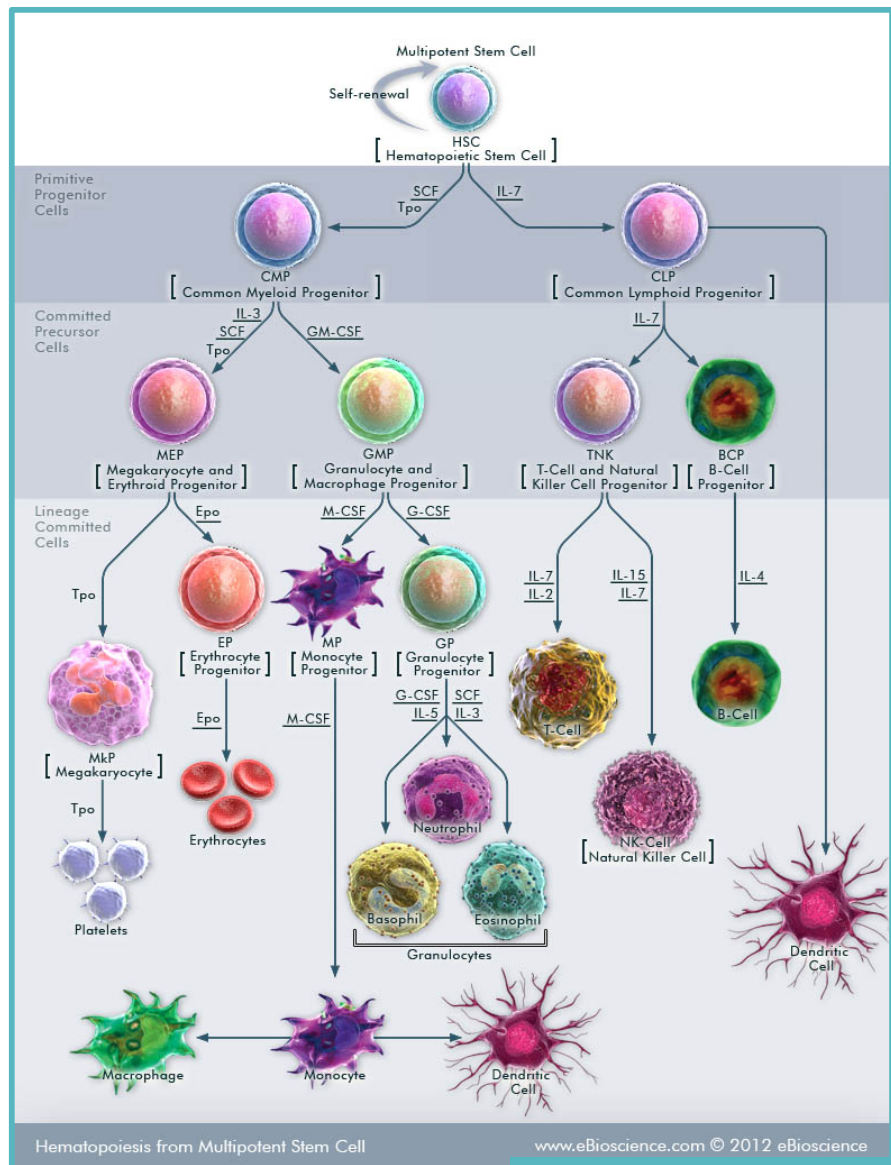
stamcellehierarkiet er det

bare de tidligste

stamcellene som har evne

til uendelig celledeling.⁶⁴

Bilde⁶⁵



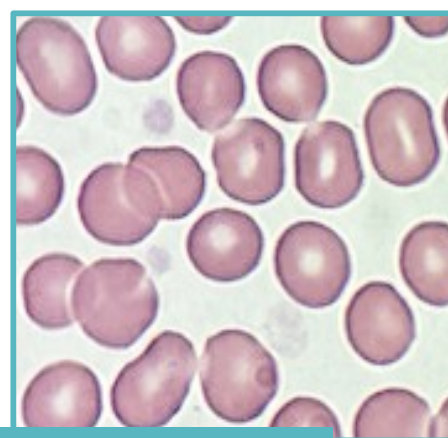
Figur 5.1 Hematopoiese fra Multipotent Stamcelle

5.2 Ulike blodceller med tilhørende instruksjonsvideo

5.2.1 Erytrocytter

Erytrocyttene er de røde blodcellene i kroppen vår. Røde blodceller har en rund og bikonkav form som gir en størst mulig overflate i forhold til volum. Den bikonkave formen opprettholdes av cytoskjelettet, som er et proteinnettverk på innsiden av cellemembranen. De har ingen kjerne eller andre organeller, men i mikroskopet ser man at midten av cellen er blekere farget på grunn av den bikonkave formen.^{66, 67}

En rød blodcelle inneholder det jernholdige proteinet hemoglobin. Oppgaven til erytrocyttene er å transportere O_2 fra lungene ut til vevet, og å hjelpe til med å transportere CO_2 tilbake fra vevet til lungene. O_2 binder seg til jern på hemoglobinmolekylene i erytrocyttene og blir fraktet rundt i kroppen via blodårene. Den store overflaten til cellene gjør at de kan transportere maksimalt med O_2 .^{68, 69}



Figur 5.2 Erytrocytter fra normalt blodutstryk

Erytrocyttene er svært viskoelastiske, som betyr at de lett kan endre form. Denne egenskapen gjør at de kan trenge gjennom også de tynneste kapillærene i sirkulasjonssystemet. De blir da lange og smale, og strømmer gjennom kapillærene på rekke.⁷⁰

Den normale levetiden til en moden rød blodcelle er 120 dager. Det dør og produseres nye erytrocytter hele tiden, rundt 2 millioner i sekundet. Røde blodceller har ingen kjerne som gjør at de ikke kan dele seg for å formere seg. Nye celler må derfor lages fra pluripotente stamceller i den røde beinmargen. For at stamcellene skal utvikle seg til nye erytrocytter må de bli stimulert av hormonet erythropoietin som produseres i nyrene. Når blodet passerer gjennom nyrene blir konsentrasjonen av O_2 målt. Dersom konsentrasjonen er for lav blir erythropoietin transportert via blodet til beinmargen for å stimulere produksjonen av nye erytrocytter.^{71, 72, 73}

Når en celle blir gammel mister den viskoelastiteten sin slik at den setter seg fast i de små kapillærene i leveren, milten eller beinmargen. Der blir de fanget opp av makrofager som bryter de ned. Jern og protein fra hemoglobinet blir brukt om igjen til å lage nye erythrocytter, og blir derfor fraktet til beinmargen. De andre nedbrytningsproduktene utskilles som gallefargestoffer.⁷⁴

5.2.2 Trombocytter

Trombocytter kalles også blodplater og er formet som en flat skive med mørk lilla farge. De er mye mindre enn de andre blodcellene og har alle de vanlige organellene utenom en kjerne.⁷⁵



Figur 5.3 Trombocytter fra normalt blodstryk, fire små lillafargede

Hovedoppgaven til trombocytterne er å stanse blødninger i kroppen, delta i hemostasen. På utsiden av membranen er det en kappe som gjør at cellen er negativt ladet. Den negative ladningen gjør at de lett kan feste seg til såroverflaten, og til andre trombocytter. Det vil da dannes en plugg av trombocytter som er med på å stoppe blødningen. Samtidig som trombocytterne fester seg sammen sender de ut mange ulike faktorer som gjør at blodkaret trekker seg sammen og koagulasjonen starter.⁷⁶

Den gjennomsnittlige levetiden til en normal trombocytt er 8-10 dager, derfor må det produseres 20% nye celler hver dag. De nye trombocytterne lages i beinmargen fra avsnøringer av cytoplasmaet til megakaryocytter. Etter 8-10 dager brytes blodplatene ned i leveren eller milten.^{77, 78}

5.2.3 Leukocytter

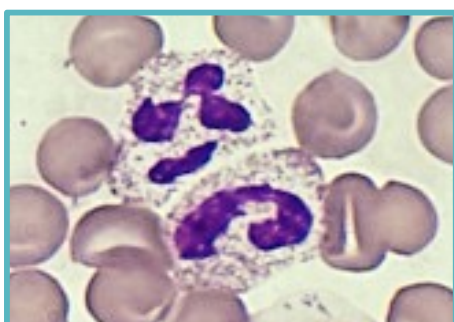
Leukocytter er hvite blodceller, som først og fremst har betydning for forsvar mot infeksjoner. Hvite blodceller (granulocytter, monocytter, lymfocytter) omfatter flere typer celler med ulik morfologi, vekst og funksjon. Normalt innhold av leukocytter per liter blod er $4-10 \times 10^9/l$.⁷⁹

5.2.3.1 Granulocytter

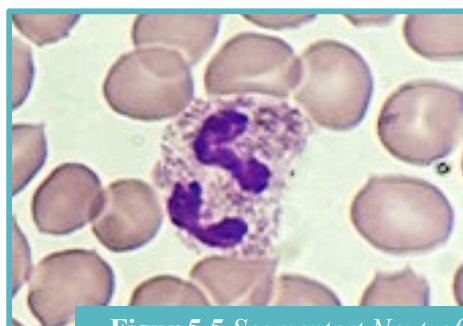
Granulocytter har fått navnet sitt på grunn av granula (vesikler som inneholder en rekke ulike forbindelser) i cytoplasma. De deles inn i tre grupper etter fargbarheten til granula: Neutrofile, Eosinofile og Basofile granulocytter. Granulocytterne er kortlevende celler, og i blodet lever de omtrent i 10 timer før de skiftes ut av nye granulocytter. Alle granulocytterne har samme opphav og utvikles i beinmargen fra samme progenitorcelle (GP), se figur 5.1.^{80, 81}

5.2.3.1.1 Neutrofile granulocytter

Neutrofile granulocytter deles inn etter modningsgrad. Man ser på kjernen om den er stavformet, eller segmentert. De er segmentert når de er helt modne. Stavformede neutrofile granulocytter har en avlang, pølse-lignende kjerne. De segmenterte har en kjerne som er delt opp i 2-5 deler som henger sammen med tynne kromatintråder. Omtrent 60% av leukocytterne er segmenterte neutrofile granulocytter, og omlag 5% er stavformede neutrofile granulocytter. Når blodcellene farges med giemsa farge, farges kromatinet i kjernen blå-lilla og cytoplasma farges lyserødt hos de neutrofile granulocytterne.



Figur 5.4 Øverst: Segmentert Neutrofil Granulocytt
Nederst: Stavformet Neutrofil Granulocytt fra normalt blodutstryk

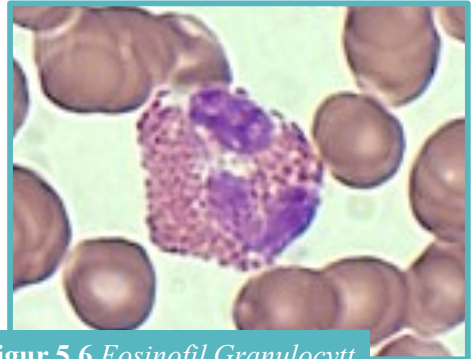


Figur 5.5 Segmentert Neutrofil Granulocytt fra normalt blodutstryk

Neutrofile granulocytter finnes først og fremst i blodbanen, men utøver også sine oppgaver i vev, hud-overflater og slimhinner. Neutrofile granulocytter har en viktig rolle i immunsystemet vårt. Dette er celler som kan bevege seg gjennom karvegger og ut i vevene. Der oppdager de, tar opp og bryter ned, fagocytterer, fremmedlegemer, som for eksempel bakterier. De neutrofile granulocytterne er ofte de som først ankommer steder hvor det har oppstått inflammatoriske reaksjoner, betennelsesreaksjoner. Økt antall neutrofile granulocytter i blodbanen vår indikerer derfor på at det har oppstått en infeksjon i kroppen vår. De hjelper også til med utvikling av feber ved at de frigjør endogent pyrogen.^{82, 83}

5.2.3.1.2 Eosinofile granulocytter

Eosinofile granulocytter utgjør omlag 1-3% av alle leukocytterne. De eosinofile granulocytterne har som oftest en todelt kjerne som farges blå-lilla. Det som best kjennetegner de eosinofile granulocytterne er at de har veldig store granula i cytoplasma som farges rød/orange. De eosinofile granulocytterne finnes først og fremst i blodbanen vår og er også fagocytterende celler slik som de neutrofile granulocytterne. Eosinofile celler ser ut til å ha betydning ved parasittsykdommer og allergisykdommer.^{84, 85}



Figur 5.6 Eosinofil Granulocytt fra normalt blodutstryk

5.2.3.1.3 Basofile granulocytter

Basofile granulocytter utgjør omlag 0,5-1% av alle leukocytter, og kan dermed være veldig vanskelig å finne i et vanlig blodutstryk. De har store granula som farges blåsort/lillasort og kan legge seg delvis over kjernen slik at den kan være vanskelig å avgrense. Basofile granulocytter finnes i blodet. De har en nær slektning i vev som kalles mastceller. Basofile celler er ikke fagocytterende celler, og virker først og fremst ved at de frigjør innholdet de har i sine vesikler. På overflaten av basofile celler finnes det reseptorer for en bestemt type antistoff, IgE. Ved antigenbinding vil innholdet i vesiklene tømmes.^{86, 87}

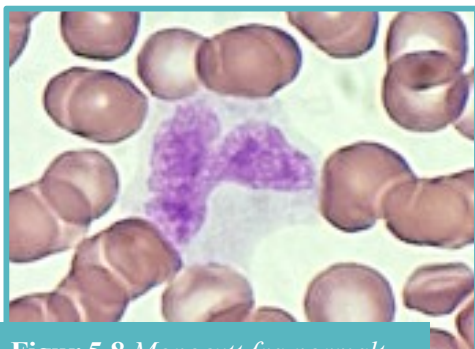


Figur 5.7 Basofil Granulocytt fra normalt blodutstryk

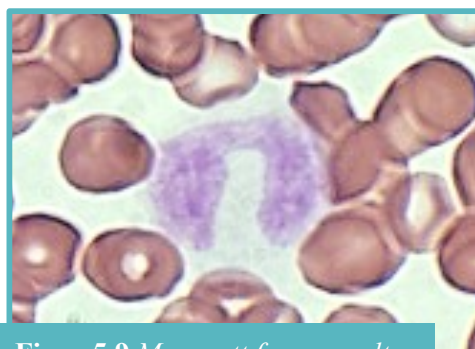
Bilde⁸⁸

5.2.3.2 Monocyttar

Monocyttar utgjør omtrent 5-10% av de hvite blodlegemene. De er store celler med nyreformet eller uregelmessig kjerne, og har rikelig med cytoplasma rundt. Kjernen farges blå-lilla og cytoplasma farges grå-blå med små lyslilla granula. Monocyttar er fagocytterende celler som «spiser» og bryter ned bakterier og fremmedlegemer som finnes i blodet.



Figur 5.8 *Monocyt fra normalt blodutsryk*

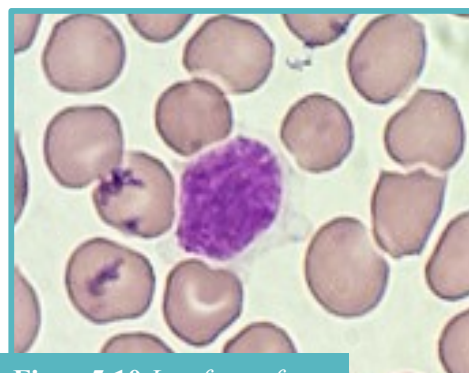


Figur 5.9 *Monocyt fra normalt blodutsryk*

Mengden monocyttar i blodet øker ved visse infeksjonar, da særlig virusinfeksjonar. Monocytene lever i blodet i 1-2 dagar før de går over i vevet. I vevet skifter de form og utseende, morfologi, og betegnes som makrofagar. Her kan de leve i flere måneder.^{89, 90, 91}

5.2.3.3 Lymfocytter

Lymfocytene utgjør rundt $\frac{1}{3}$ av de hvite blodcellene i kroppen. De er runde og små, mindre enn de andre hvite blodcellene. Kjernen er rund og veldig stor i forhold til størrelsen på cellen. I mikroskopet ser man bare en tynn kant av cytoplasma mellom kjernen og cellens membran. Cytoplasma sees som lys lilla/ grå, mens kjernen er mørk lilla.^{92, 93}



Figur 5.10 *Lymfocyt fra normalt blodutstryk*

Oppgaven til lymfocytene er å kjenne igjen og reagere med fremmed materiale som kan skade kroppen. På utsiden av cellemembranen har de antigenreseptormolekyler som er spesifikke for ett spesielt antigen. En lymfocyt kan bare reagere med en spesifikk type antigen, derfor vil det være få lymfocytter som kan reagere på samme antigen. Dersom kroppen blir angrepet, av for eksempel

bakterier, formerer lymfocytene seg ved hjelp av celledeling. Da er det bare de lymfocytene med reseptorer for bakteriens antigen som deler seg.⁹⁴

Lymfocytene deles inn i to typer: B-lymfocytter og T-lymfocytter. B-lymfocytene modnes i den røde benmargen og har antigenreseptorer på utsiden av cellemembranen. Når antigenreseptorene bindes til et spesifikt antigen vil B-lymfocytten stimuleres til å utvikle seg videre til en plasmacelle. Plasmacellen er en effektorcelle som direkte ødelegger fremmed antigen ved å produsere antistoffer mot antigenet. T-lymfocytene dannes fra stamceller i beinmargen, men modnes og spesialiseres i thymus der de må gjennom en streng kontroll før de slipper ut i kroppen. T-lymfocytene kan utvikle seg til tre forskjellige celler med ulike egenskaper; hjelpeceller som produserer faktorer som bidrar til å regulere og stimulere immunresponsen, regulatoriske T-celler som hemmer immunresponsen, eller dreperceller som dreper kreftceller og virusinfiserte celler. Alle typene T-lymfocytter er ansvarlig for cellemediert immunitet, som omfatter det intracellulære miljøet til en celle. B-lymfocytene virker derimot først og fremst mot ekstracellulære fremmede mikroorganismer og forbindelser.⁹⁵

5.3 Telling av blodceller

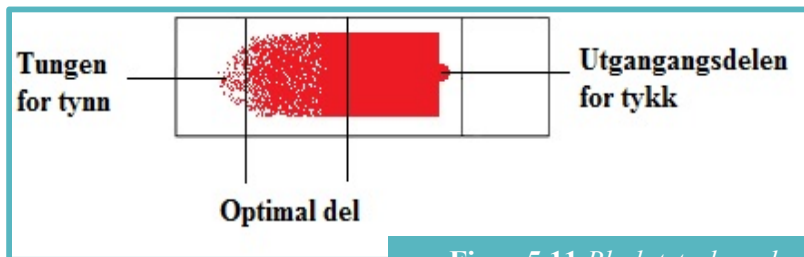
5.3.1 Teori

Celletelling anvendes fortrinnsvis på to måter: maskinell telling og visuell telling ved å bruke et mikroskop. Prinsippet er at man bestemmer antallet av en celletype i et kjent volum. I dette kompendiet skal vi ta for oss visuell telling ved bruk av to typer tellekammer; Bürker og Fuchs Rosenthal, og differensialtelling fra blodutstryk.

5.3.2 Differensialtelling

Som en del av en diagnostisering kan det være nødvendig å telle de ulike typene leukocytter, utføre en differensialtelling. Dette kan gjøres både maskinelt og manuelt. Ved manuell differensialtelling teller man de ulike typene leukocytter i blodutstryk under et lysmikroskop. Ulike laboratorier har ulike prosedyrer på hvor mange leukocytter som skal telles for at svaret skal være representabelt for hele prøven. Blant et bestemt antall leukocytter telles det hvor mange celler det er av de forskjellige typene hvite blodceller. Det er viktig at den manuelle differensialtellingen utføres

innenfor et spesielt område på blodutstryket, der det verken er for tynt eller for tykt med blod. Etter man er ferdig med å telle de ulike typene leukocytter regnes talletallene om til prosent.



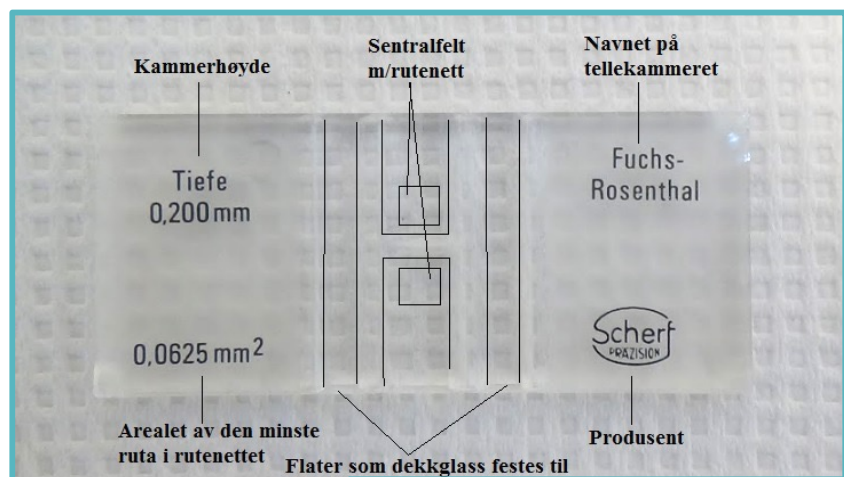
Figur 5.11 Blodutstryk med oppmerket telleområdet

5.3.3 Manuell telling ved hjelp av tellekammer

5.3.3.1 Teori

Et tellekammer er en tykk glassplate. I tellekammerets midterste del, er det slippet ned to par med riller på tvers av kammerets lengderetning. Mellom de innerste tverrillene er tellekammeret delt i to halvdelar av en rille hvor de to tverrillene er forbundet slik at de danner en H-formet grøft. I begge halvdelene er det risset inn et rutenett som er slipt ned til en bestemt høyde, sentralfeltet. Når et dekkglass er festet godt på flatene mellom hver tverrille på hver side, dannes det to kamre. Taket på kammeret er undersiden av dekkglasset, og bunnen utgjør det nedslippede sentralfeltet. Det nedslippede sentralfeltet er

kammerhøyden på kammeret. Kammerhøyden kan variere fra de ulike kamrene, og er risset inn på selve kammeret. For å få en helt korrekt kammerhøyde er det visse forutsetninger. Dekkglasset må presses fast



Figur 5.12 Tellekammer

på riktig måte. Dette kjennetegnes ved at man kan se et

regnbuelignende mønster, såkalte Newtoniske ringer. Dekkglasset må også være passe tjukt slik at taket på kammeret ikke buer, men er helt plant.⁹⁶

Fortynningen av prøvematerialet overføres til kammeret ved å sette et fylt kapillærrør inntil kanten på dekkglasset. Ved hjelp av kapillærkrefter vil prøvefortynningen suges ut fra kapillærrøret og inn i kammeret. I kammeret vil cellene i prøvematerialet synke ned og legge seg på rutenettet i bunnen av kammeret. Arealet av rutenettet i kammeret og kammerhøyden er kjent, og ut i fra dette vil man kunne beregne volumet av prøven man teller.^{97, 98}

Inndelingen av rutenettet og kammerhøyden, som utgjør rominnholdet i kammeret, varierer fra forskjellige typer tellekamre. På tellekamrene er det inngravert navnet til tellekammeret, kammerhøyden, og arealet av det minste kvadratet i rutenettet. Se figur 5.12. Hvilket kammer man benytter seg av, avhenger av hvor store celler man skal telle. Skal man telle store celler i en lav konsentrasjon velger man ofte et tellekammer med høyere kammerhøyde og større ruter i rutenettet. Skal man telle mindre celler, velger man ofte et tellekammer med en lavere kammerhøyde og små ruter i rutenettet.⁹⁹

Etter man har telt alle cellene i de spesifikke rutene brukes denne formelen for å regne ut antall celler per μl blod:

$$\frac{\text{Telletall} \times \text{Fortynningsfaktor}}{\text{Tellevolum}} = \text{celler}/\mu\text{l blod}$$

Telletallet er antall celler man har telt i det bestemte området.

Fortynningsfaktoren regnes ut etter formelen:

$$\frac{\text{Prøvevolum} + \text{Fortynningsvæskens volum}}{\text{Prøvevolum}}$$

Tellevolumet regnes ut etter formelen:

$$\text{Volum per rute} \times \text{Antall telte ruter}$$

Denne formelen brukes ved telling av celler i alle typer tellekammer.¹⁰⁰

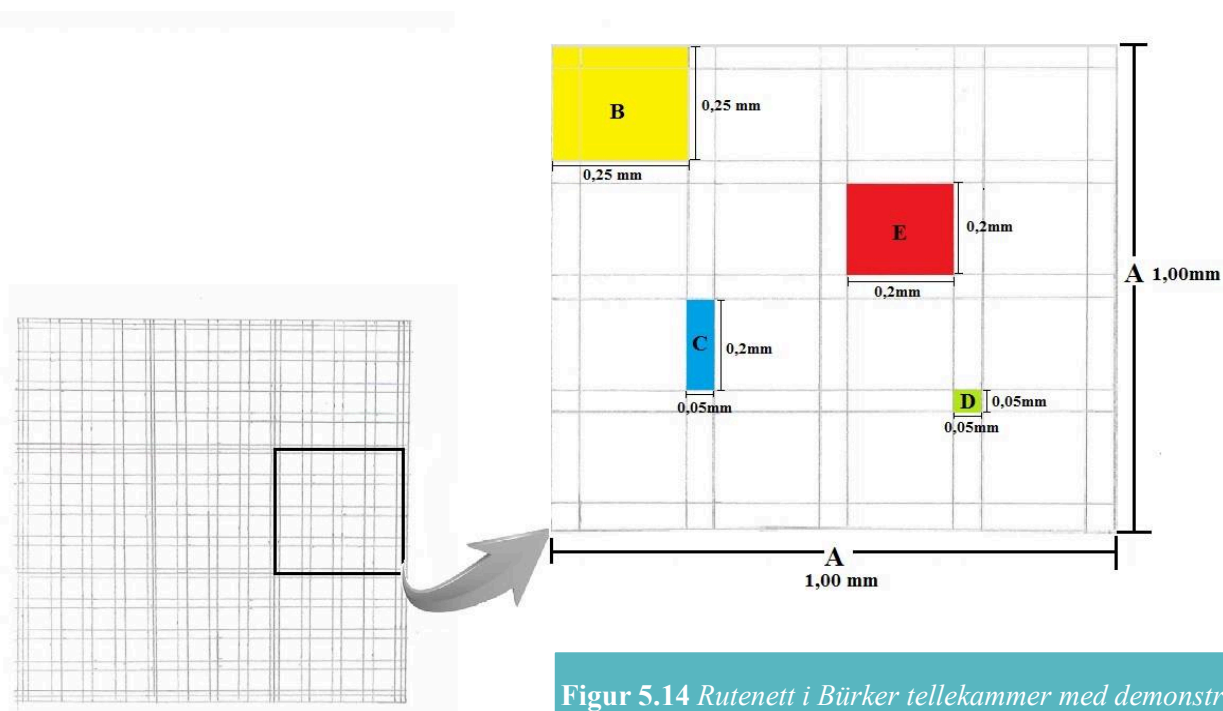
5.3.3.2 Bürker tellekammer



Figur 5.13 Bürker tellekammer

5.3.3.2.1 Teori

Bürker tellekammer har to kammer med samme rutenett, og har en kammerhøyde på 0,1mm. Hele rutenettet har et areal på 3mm x 3mm. Rutenettet består av ni A-ruter. A-rutene er igjen delt inn i B-ruter, C-ruter, D-ruter og E-ruter.



Figur 5.14 Rutenett i Bürker tellekammer med demonstrert inndeling av en A-rute

Tabell 5.1 Mål på Bürker tellekammer

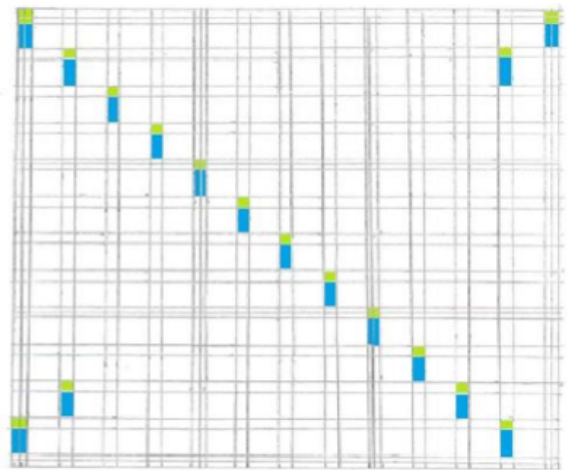
Rute	Lengde (mm)	Bredde (mm)	Areal (mm ²)	Kammerhøyde (mm)	Volum (μ l)
Hele	3	3	9	0,1	0,9
A	1	1	1	0,1	0,1
B	0,25	0,25	0,0625	0,1	0,00625
C	0,2	0,05	0,01	0,1	0,001
D	0,05	0,05	0,0025	0,1	0,00025
E	0,2	0,2	0,04	0,1	0,004

I dette kompendiet har vi tatt for oss telling av erythrocytter per μ l blod som et eksempel på hvordan man kan bruke et Bürker tellekammer.¹⁰¹

5.3.3.2.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

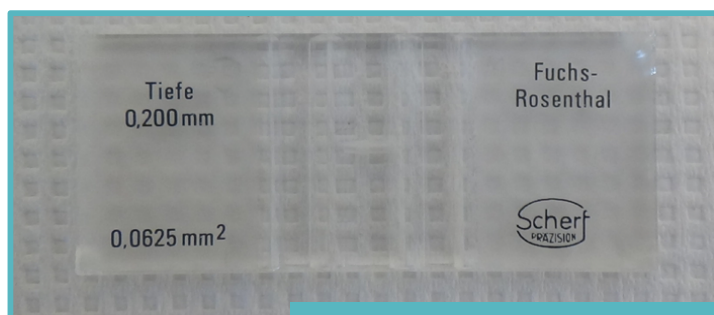
- Fullblod
- Saltvann
- Reagensrør
- Bürker tellekammer
- 70% etanol
- Lofri tupfer
- Dekkglass
- Kapillærrør
- Fuktkammer
- Lysmikroskop

1. Lag en blodfortynning ved å tilsette 10 μl godt blandet fullblod til 1990 μl saltvann og bland forsiktig.
2. Vask Bürkerkammeret med 70% etanol for å fjerne fett og smussrester.
3. Fest ett dekkglass på burkerkammeret. Dette gjøres ved å skyve dekkglasset oppover flatene på sidene av kamrene
4. Bland blodfortynningen godt og fyll fortynningen i et kapillærrør.
5. Sett det fylte kapillærrøret inntil kanten på dekkglasset. Blodfortynningen suges inn under glasset ved hjelp av kapillærkrefter.
6. Plasser det fylte Bürkerkammeret i ett fuktkammer. La kammeret stå i minst 10 minutter før mikroskopering.
7. Mikroskoper kammeret og tell antall erythrocytter i 16 C- og D-ruter etter mønster, se figur 5.3. De cellene som ligger mer enn 50% utenfor rutene telles ikke.
8. Bruk formelen og regn ut antall erythrocytter/ μl blod



Figur 5.15 Tellemønster for telling av erythrocytter i Bürker tellekammer

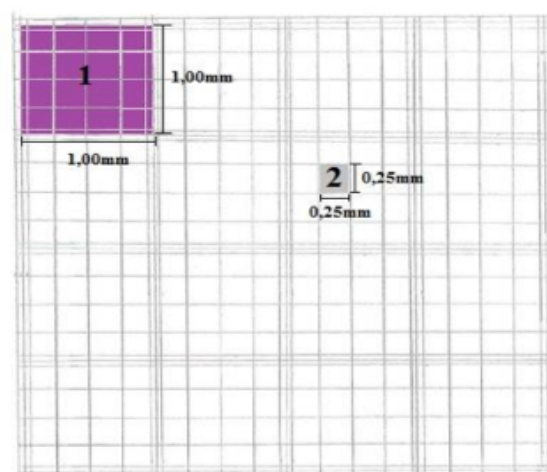
5.3.3.3 Fuchs-Rosenthal tellekammer



Figur 5.16 Fuchs-Rosenthal tellekammer

5.3.3.3.1 Teori

Fuchs-Rosenthal tellekammer brukes ofte til å telle store celler per μl prøvemateriale. Tellekammeret har en kammerhøyde på 0,2 mm, og hele rutenettes areal er 4mm x 4mm. Dette tellekammeret er delt inn 16 1-ruter, og disse 1-rutene er igjen delt 16 2-ruter.



Figur 5.17 Rutenett i Fuchs-Rosenthal tellekammer

Tabell 5.2 Mål på Fuchs-Rosenthal tellekammer

Rute	Lengde (mm)	Bredde (mm)	Areal (mm ²)	Kammerhøyde (mm)	Volum (μL)
Hele	4	4	16	0,2	3,2
1	1	1	1	0,2	0,2
2	0,25	0,25	0,0625	0,2	0,0125

Som et eksempel på hvordan man kan bruke et Fuchs-Rosenthal tellekammer, har vi valgt telling av eosinofile granulocytter per μl blod.¹⁰²

5.3.3.3.2 Utstyrliste og fremgangsmåte med tilhørende instruksjonsvideo

- 3% Natriumcitratløsning
 - 1% Eosinopløsning
 - Aceton
 - Destillert vann
 - Målekolbe
 - Vekt
 - Fullblod
 - Fuchs-Rosenthal tellekammer
 - Dekkglass
 - 70% sprit
 - Lofri tupfer
 - Kapillærrør
 - Lysmikroskop
1. Lag en fortynningsvæske bestående av:
 - 10 g 3% Natriumcitratløsning
 - 10 g 1% Eosinopløsning
 - 15 g Aceton
 - 100 ml Destillert vann ad.
 2. Lag en blodfortynning ved å tilsette 25µl blod til 475µl fortynningsvæske.
 3. Vask Fuchs-Rosenthal kammeret med 70% etanol for å fjerne fett og smussrester.
 4. Fest ett dekkglass på Fuchs-Rosenthal tellekammeret. Dette gjøres ved å skyve dekkglasset oppover flatene på sidene av kamrene.
 5. Bland fortynningen du har laget godt og fyll fortynningen i et kapillærrør.
 6. Sett det fylte kapillærrøret inntil kanten på dekkglasset. Fortynningen suges inn under glasset ved hjelp av kapillærkrefter.
 7. Plasser det fylte Fuchs-Rosenthal kammeret i ett fuktekammer.
 8. Tellekammeret må mikroskoperes før det har gått 15 minutter, på grunn av at aceton, som er i fortynningen, er svært flyktig.
 9. Mikroskoper kammeret og tell antall eosinofile granulocytter i alle de 16 rutene på rutenettet i det ene kammeret. Dersom tallet er lavere enn 5, telles begge kamrene.
 10. Bruk formelen og regn ut antall eosinofile granulocytter/µl blod.

Referanser

- ¹ The automatic pipet.University of Maryland ;2016.04.27. Tilgjengelig fra:
<http://slc.umd.umich.edu/slconline/MICRPIP/AutomaticMicropipettes.pdf>
- ² Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 4.
- ³ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 4.
- ⁴ The automatic pipet.University of Maryland ;2016.04.27. Tilgjengelig fra:
<http://slc.umd.umich.edu/slconline/MICRPIP/AutomaticMicropipettes.pdf>
- ⁵ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 6.
- ⁶ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 4.
- ⁷ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 4.
- ⁸ The automatic pipet.University of Maryland; 2016.04.27. Tilgjengelig fra:
<http://slc.umd.umich.edu/slconline/MICRPIP/AutomaticMicropipettes.pdf>
- ⁹ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 7.
- ¹⁰ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 7.
- ¹¹The automatic pipet.University of Maryland; 2016.04.27. Tilgjengelig fra:
<http://slc.umd.umich.edu/slconline/MICRPIP/AutomaticMicropipettes.pdf>
- ¹² Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 7.
- ¹³ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 7.
- ¹⁴ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 7.
- ¹⁵ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 7.
- ¹⁶ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 2-3.
- ¹⁷ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 6.
- ¹⁸ Helbæk Morten. Statistikk for kjemikere. Utg. 1. Trondheim: Tapir akademisk forlag; 2001.
- ¹⁹ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 2-3.
- ²⁰ Helbæk Morten. Statistikk for kjemikere. Utg. 1. Trondheim: Tapir akademisk forlag; 2001.
Side 9.
- ²¹ Helbæk Morten. Statistikk for kjemikere. Utg. 1. Trondheim: Tapir akademisk forlag; 2001.
Side 9.
- ²² Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 6.
- ²³ Helbæk Morten. Statistikk for kjemikere. Utg. 1. Trondheim: Tapir akademisk forlag; 2001.
- ²⁴ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 6.
- ²⁵ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 6.

-
- ²⁶ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 6.
- ²⁷ Pipetting - WikiLectures. 2016.04.25. Tilgjengelig fra:
<http://www.wikilectures.eu/index.php/Pipetting>
- ²⁸ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 4.
- ²⁹ The automatic pipet. University of Maryland ;2016.04.27. Tilgjengelig fra:
<http://slc.umd.umich.edu/slconline/MICRPIP/AutomaticMicropipettes.pdf>
- ³⁰ The automatic pipet. University of Maryland ;2016.04.27. Tilgjengelig fra:
<http://slc.umd.umich.edu/slconline/MICRPIP/AutomaticMicropipettes.pdf>
- ³¹ Pipette Instruction Manual. Biohit automatpipette. Side 4-5.
- ³² Pipetting - WikiLectures. 2016.04.25. Tilgjengelig fra:
<http://www.wikilectures.eu/index.php/Pipetting>
- ³³ Pipetting - WikiLectures. 2016.04.25. Tilgjengelig fra:
<http://www.wikilectures.eu/index.php/Pipetting>
- ³⁴ Pipetting - WikiLectures. 2016.04.25. Tilgjengelig fra:
<http://www.wikilectures.eu/index.php/Pipetting>
- ³⁵ Pipetting - WikiLectures. 2016.04.25. Tilgjengelig fra:
<http://www.wikilectures.eu/index.php/Pipetting>
- ³⁶ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter. Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 131-138.
- ³⁷ General Purpose Centrifuges, C4i-CR4i, Jouan. User's Manual.
- ³⁸ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter. Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 131-138.
- ³⁹ Fysikk forkurs. Cappelen Damm; 2016.05.01. Tilgjengelig fra:
<http://fysikkforkurs.cappelendamm.no/binfil/download.php?did=72441>
- ⁴⁰ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter. Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 131-138.
- ⁴¹ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter. Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 131-138.
- ⁴² General Purpose Centrifuges, C4i-CR4i, Jouan. User's Manual.
- ⁴³ Burtis Carl A., Brunns David E. Tietz Fundamentals of: clinical chemistry and molecular diagnostics. Ed. 7. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2015. Side 117.
- ⁴⁴ General Purpose Centrifuges, C4i-CR4i, Jouan. User's Manual.
- ⁴⁵ General Purpose Centrifuges, C4i-CR4i, Jouan. User's Manual.
- ⁴⁶ Olympus BX50 System Microscope. Instructions. (Brukermanual)

-
- ⁴⁷ Olympus Microscopy Resource Center | Anatomy of a Microscope - Eyepieces (Oculars). America: Abramowitz Mortimer, Davidson Michael W.; 2016.04.16. Tilgjengelig fra: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/oculars.html>
- ⁴⁸ Olympus Microscopy Resource Center | Anatomy of the Microscope - Mechanical Tube Length. America: Abramowitz Mortimer, Davidson Michael W.; 2016.04.16. Tilgjengelig fra: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/tubelength.html>
- ⁴⁹ Rodak Bernadette F., Fritsma George A., Keohane Elaine M. Hematology: clinical principles and applications. Ed. 4. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2012. Side 33.
- ⁵⁰ Olympus Microscopy Resource center - Microscope Objectives - Introduction. America: Spring Kenneth R., Keller Ernst H., Davidson Michael W.; 2016.04.27. Tilgjengelig fra: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/objectives.html>
- ⁵¹ Olympus Microscope Resource Center | Anatomy of the Microscope - Objectives: Specifications and Identification. America: Abramowitz Mortimer, Davidson Michael W.; 2016.04.16. Tilgjengelig fra: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/specifications.html>
- ⁵² Laane Morten Motzfeldt, Lie Thore. Håndbok i mikroskopi: og fremstilling av preparater. Utg. 2. Oslo: Gyldendal Norske Forlag AS; 2001. Side 34-38.
- ⁵³ Laane Morten Motzfeldt, Lie Thore. Håndbok i mikroskopi: og fremstilling av preparater. Utg. 2. Oslo: Gyldendal Norske Forlag AS; 2001. Side 18-19.
- ⁵⁴ Rodak Bernadette F., Fritsma George A., Keohane Elaine M. Hematology: clinical principles and applications. Ed. 4. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2012. Side 35.
- ⁵⁵ Rodak Bernadette F., Fritsma George A., Keohane Elaine M. Hematology: clinical principles and applications. Ed. 4. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2012. Side 35.
- ⁵⁶ Rodak Bernadette F., Fritsma George A., Keohane Elaine M. Hematology: clinical principles and applications. Ed. 4. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2012. Side 35.
- ⁵⁷ Olympus BX50 System Microscope. Instructions. (Brukermanual)
- ⁵⁸ Burtis Carl A., Brunts David E. Tietz Fundamentals of: clinical chemistry and molecular diagnostics. Ed. 7. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2015. Side 134.
- ⁵⁹ Olympus Microscope Resource Center | Anatomy of a Microscope - Microscope Illumination. America: Abramowitz Mortimer, Davidson Michael W.; 2016.04.17. Tilgjengelig fra: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/illumination.html>
- ⁶⁰ Olympus Microscopy Resource Center | Köhler Illumination. America: Olympus America Inc; 2016.04.16. Tilgjengelig fra: <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/kohler.html>

-
- ⁶¹ Laane Morten Motzfeldt, Lie Thore. Håndbok i mikroskopi: og fremstilling av preparater. Utg. 2. Oslo: Gyldendal Norske Forlag AS; 2001. Side 92-93.
- ⁶² Burtis Carl A., Bruns David E. Tietz Fundamentals of: clinical chemistry and molecular diagnostics. Ed. 7. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2015. Side 36-37.
- ⁶³ Laane Morten Motzfeldt, Lie Thore. Håndbok i mikroskopi: og fremstilling av preparater. Utg. 2. Oslo: Gyldendal Norske Forlag AS; 2001. Side 25-26.
- ⁶⁴ Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 24-27.
- ⁶⁵ Bildet er hentet fra: <http://www.ebioscience.com/resources/pathways/hematopoiesis-from-multipotent-stem-cells.htm>
- ⁶⁶ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 13.
- ⁶⁷ Blodet - NHI.no - Norsk Helseinformatikk. 2016.05.03. Tilgjengelig fra: <http://nhi.no/forside/kroppen-var/blodet-30604.html>
- ⁶⁸ blod - Store norske leksikon. Norge: Hauge Anton; 2016.05.03. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/blod#menuitem1>
- ⁶⁹ Blodet - NHI.no - Norsk Helseinformatikk. 2016.05.03. Tilgjengelig fra: <http://nhi.no/forside/kroppen-var/blodet-30604.html>
- ⁷⁰ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 13.
- ⁷¹ blod - Store norske leksikon. Norge: Hauge Anton; 2016.05.03. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/blod#menuitem1>
- ⁷² Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 21.
- ⁷³ Blodet - NHI.no - Norsk Helseinformatikk. 2016.05.03. Tilgjengelig fra: <http://nhi.no/forside/kroppen-var/blodet-30604.html>
- ⁷⁴ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 15.
- ⁷⁵ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 19.
- ⁷⁶ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 19-20.
- ⁷⁷ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 20.
- ⁷⁸ Rodak Bernadette F., Fritsma George A., Keohane Elaine M. Hematology: clinical principles and applications. Ed. 4. Missouri: Saunders, an imprint of Elsevier Inc.; 2012. Side 154.
- ⁷⁹ Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 18.

-
- ⁸⁰ Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 19.
- ⁸¹ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 33-34.
- ⁸² Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 19-21.
- ⁸³ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 34.
- ⁸⁴ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 34.
- ⁸⁵ Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 21-22.
- ⁸⁶ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 35.
- ⁸⁷ Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 22.
- ⁸⁸ Bildet er hentet fra:
https://s3.amazonaws.com/classconnection/479/flashcards/7191479/jpg/kml_1-14CEBA23F9279E16D7F.jpg
- ⁸⁹ monocytter - Store medisinske leksikon. Norge: Evensen Stein A.; 2016.05.03. Tilgjengelig fra:
<https://sml.snl.no/monocytter>
- ⁹⁰ Karle Hans, Birgens Henrik. Hæmatologi. Utg. 5. København: Munksgaard Danmark; 2002. Side 40-41.
- ⁹¹ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 32.
- ⁹² Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 58.
- ⁹³ Karle Hans. Hæmatologi. Utg. 4. København: Munksgaard Danmark; 1994. Side 41.
- ⁹⁴ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 58-66.
- ⁹⁵ Lea Tor. Immunologi og immunologiske teknikker. Utg. 2. Norge: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006. Side 58-66.

⁹⁶ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter.

Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 253-254.

⁹⁷ BIO101_Kurshefte_Mikrobiologi_v2013.pdf. Universitetet i Bergen: 2016.05.04. Appendiks

A3. Tilgjengelig fra:

http://biologi.uib.no/studier/files/BIO101_Kurshefte_Mikrobiologi_v2013.pdf

⁹⁸ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter.

Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 254-258.

⁹⁹ BIO101_Kurshefte_Mikrobiologi_v2013.pdf. Universitetet i Bergen: 2016.05.04. Appendiks

A3. Tilgjengelig fra:

http://biologi.uib.no/studier/files/BIO101_Kurshefte_Mikrobiologi_v2013.pdf

¹⁰⁰ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter.

Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 259.

¹⁰¹ Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter.

Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 255.

¹⁰² Heilskov N.S.C, Jordal Rob., Jørgensen Kjeld. Teknologi : for klinisk- kemiske laboranter.

Utg.1. Denmark: Jydisk Teknologisk Institut; 1971. Side 256.

Vedlegg

2

Se medfølgende konvolutt med minnepinne med instruksjonsvideoer.

Vedlegg

3

Gumroad, Inc.

Receipt

Office address

225 Valencia St

Suite A

San Francisco,

CA 94103

United States

Date

April 21st, 2016

To

Solfrid Skeie

123 Gum Road

San Francisco, CA 94107

United States

VAT ID

EU826410924

Item purchased

Email

support@gumroad.com

That Positive Feeling by

Alumo

Web

gumroad.com

Price

\$14.95

Card

VISA *7733

LICENSE CERTIFICATE : AlumoMusic

=====

This document certifies the purchase of:
ONE YOUTUBE LICENSE
as defined in the terms and conditions on alumomusic.com

Licensor: AlumoMusic (Matt Harris)

For the item:
THAT POSITIVE FEELING

Purchased via: <https://gumroad.com/l/that-positive-feeling>

For any queries related to this document or license please get in touch at:
<http://www.alumomusic.com/contact-alumo/>

www.alumomusic.com

==== THIS IS NOT A TAX RECEIPT OR INVOICE ====