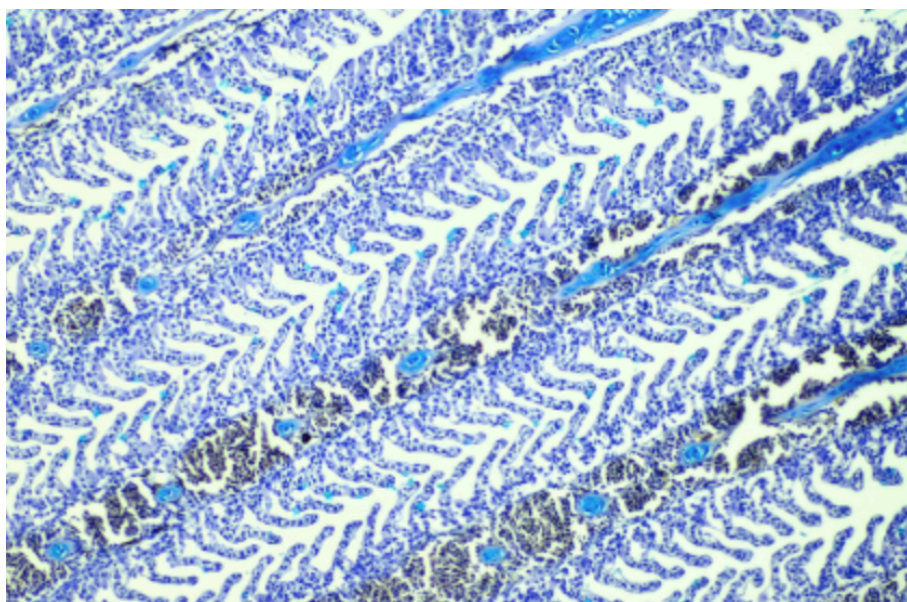


Kandidatnummer: 10022, 10029, 10005

Hvilken type material som er best egnet å bruke til optimalisering av fargemetoden AB-PAS - ferskt eller nedfrosset gjellevev?

Antall ord: 9526 ord

Bacheloroppgave i Bioingeniør
Veileder: Varhaugvik, Anne Elin
Mai 2022



Kandidatnummer: 10022, 10029, 10005

***Hvilken type material som er best egnet
a° bruke til optimalisering av
fargemetoden AB-PAS - ferskt eller
nedfrosset gjelleveg?***

Antall ord: 9526 ord

Bacheloroppgave i Bioingeniør
Veileder: Varhaugvik, Anne Elin
Mai 2022

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for bioingeniørfag



Kunnskap for en bedre verden

Forord

Dette prosjektet er skrevet som en avsluttende del av 3-årig bachelorstudiet i bioingeniør ved NTNU i Ålesund. Oppgavens tema er basert på fagfeltet patologi, og tar for seg optimalisering av en fargeprotokoll (AB-PAS) til farging av mucin. Etter distorsjoner innad i gruppen kom vi fram til at vi hadde et ønske om å skrive en bacheloroppgave som krevde en del praktisk arbeid.

Vi så på denne oppgaven som en spennende utfordring, hvor vi kunne fordype oss innenfor et felt som ikke har vært omtalt i vårt pensum med tanke på optimalisering av fargeprotokoll for gjellelev. Det har vært en fin og spenningsfylt læringsprosess, som har bydd på både utfordringer og åpenbaringer. I løpet av denne prosessen har vi bygget opp ny kunnskap rundt patologifeltet samt anatomien til laksen. Noe som kan være nyttig i framtiden, dersom en ønsker å jobbe innenfor fisk produksjon.

Vi vil gjerne rette en stor takk til Anne Elin Varhaugvik for veiledning og gode råd gjennom hele prosessen, samt inspirerende forelesninger i patologifaget. Vi takker også Ann-Kristin Tveten for den store hjelpen med det biologiske materialet, samt nyttige informasjoner underveis i prosessen.

Sammendrag

Hensikten med dette prosjektet var å bestemme “hvilken type material som er best egnet å bruke til optimalisering av fargemetoden AB-PAS - ferskt eller nedfrosset gjellevev?” Materialet ble prosessert i avdeling for patologi ved Ålesund sykehus. Videre ble de snittet og farget ved patologi laboratoriet ved NTNU i Ålesund. Preparatene ble farget med HES fargeprotokoll for rutinesnitt fra avdeling for Patologi Ålesund. Ut fra resultatene ble det klart at det ferske materialet er beste egnet for optimaliseringen av ønsket fargeprotokoll. Det ble tatt i bruk den eksisterende fargeprotokollen fra Ålesund sykehus som utgangspunkt. Fargeprotokollen ble modifisert slik at den kan brukes til både farging og differensiering mellom sure og nøytrale muciner i gjellevev. Det ble utført 16 forsøk til sammen. Ut fra resultatene i forsøk 16 kan en anta at begge typer muciner ble diffrensiert. Det er nødvendig å jobbe videre med nye forsøk for å verifisere funnene fra dette forsøket.

Abstract

The purpose of this project was to determine which type of material is best suited to use to optimize the staining technique AB-PAS - fresh or frozen gilltissue? The material was processed in the department of pathology at Ålesund Hospital. Furthermore, they were cut and stained at the pathology laboratory at NTNU in Ålesund. The preparations were stained with HES staining protocol. Based on the results, it was decided that the fresh materials are best suited for use in the optimization. The existing staining protocol from Ålesund Hospital was used as a starting point. The staining protocol was modified so that it can be used for both staining and differentiation between acidic and neutral mucins in gilltissue. A total of 16 experiments were performed. Based on the results of experiment nr.16, it can be assumed that both types of mucins were differentiated. It is necessary to continue working on new experiments to verify the findings from this experiment.

Forord	1
Sammendrag	2
Abstract	3
1.0 Innledning.....	6
1.1 Bakgrunn for valg av oppgaven:.....	6
1.2 Formålet med oppgaven:	6
1.3 Problemstilling:	6
1.4 Definisjoner av begreper:.....	6
1.5 Hvordan ble oppgaven utført:	7
1.6 Oppgavens oppbygging:	7
2.0 Teori	8
2.1 Biologiske materiale	8
2.1.1 Laks (salmo salar).....	8
2.1.2 Gjeller	8
2.1.3 Slimlaget.....	9
2.2 Processing av vevsmaterialet	9
2.2.1 Fiksering	9
2.2.2 Framføring.....	9
2.2.2.1 Dehydrering	10
2.2.2.2 Klaring.....	10
2.2.2.3 Parafinimpregnering	10
2.3 Innstøping	11
2.4 Farging.....	11
2.4.1 Deparafinering:.....	11
2.4.2 HES:	11
2.4.3 AB:	13
2.4.4 PAS:.....	14
2.4.5 AB-PAS:.....	15
3.0 Materialer og metode.....	17
3.1 Biologiske materialer:.....	17
3.2 Reagens:	17
3.3 Andre utstyr	17
3.4 Inndeling av prøvematerialer:.....	18
3.4.1 Frosset materialet:.....	18
3.4.2 Ferskt materialet:	19

3.5 Fiksering	20
3.6 Framføring	20
3.7 Innstøping:	21
3.8 Snitting:	21
3.9 Farging.....	22
3.9.1 Deparafinisering	22
3.9.2 HES farging:	23
3.9.3 AB-PAS	24
4.0 Resultat	25
4.1 HES.....	25
4.2 AB-PAS standard	27
4.3 AB-PAS forsøk 6.....	28
4.4 forsøk 16.....	30
5.0 Diskusjon.....	31
5.1 Innhenting og oppbevaring av materialet.....	31
5.2 Snitting	32
5.3 HES.....	33
5.4 Optimalisering av AB-PAS	34
5.4.1 AB-PAS standard.....	34
5.4.2 Forsøk 1 til 5	34
5.4.3 Forsøk 6	35
5.4.4 Forsøk 7 til 9.....	36
5.4.5 Forsøker etter endring av SCHIFF` s reagens.....	37
5.4.5.1 Forsøk 10, og 11	37
5.4.6 forsøk med helt ferske reagenser:	37
5.4.6.1 Forøk 12 til 15	37
5.4.6.2 Forsøk 16	38
6.0 Konklusjon:	39
6.1 Forslag	40
7.0 Kilder.....	41
Vedlegg.....	43

1.0 Innledning

1.1 Bakgrunn for valg av oppgaven:

Temaet var interessant for bioingeniører studenter, fordi den går ut på å optimalisere en fargeprotokoll rettet mot humant vev, slik at den er optimalisert for gjellevev. Dette er svært relevant og erfaringsmessig, noe som kan være nyttig seinere i yrkeslivet.

1.2 Formålet med oppgaven:

Måle med oppgaven var å bestemme hvilken type material som er best egnet å bruke til optimalisering av fargemetoden AB-PAS - ferskt eller nedfrosset gjellevev? Dette gjelder både vevets morfologi og vevets evne til å ta opp fargen. Den andre delen av oppgaven og som er lagt mest vekt på, er optimalisering av AB-PAS fargeprotokoll til farging av gjellevev. Dette legges mest vekt på i prosjektet. Det ble tatt i bruk AB-PAS fargeprotokoll fra avdeling for patologi ved Ålesund sykehus. Fargemetoden er standardisert mot human veve, og dermed ble den modifisert slik at den blir optimal for gjellevev.

1.3 Problemstilling:

Dette prosjektet tar for seg temaet “*Optimalisering av fargeprotokoll (evt. 2 stk, HES og AB-PAS) for gjeller – både nedfrosset materiale og ferskt materiale*”. Problemstillingen som ble bestemt ut ifra dette temaet er “Hvilken type material som er best egnet å bruke til optimalisering av fargemetoden AB-PAS – fersk eller nedfrosset gjellevev?” Der HES fargemetode skal brukes til sammenligning av vevsmaterielt, og AB-PAS skal optimaliseres for gjellevev.

1.4 Definisjoner av begreper:

- Morfologi: er læren om form og struktur til dyr, hvor en ser på de ulike komponentene i vevet. I dette tilfelle, gjellenes form og struktur under mikroskop (23)
- Mucin: skilles ut av gobletceller. Muciner er glykoproteiner med høy molekylvekt, som er sammensatt av karbohydrater konjugert med proteiner (22).
- Optimalisering: å optimalisere en fargeprotokoll vil si å gjøre den så god som mulig, slik at vevet får en optimal farge. Altså at komponentene i vevet får den fargen som forventes (24).

1.5 Hvordan ble oppgaven utført:

Dette prosjektet ble utført i samarbeid med avdeling for patologi ved Ålesund sykehus, hvor materialet ble skjært, framført og innstøpt. Resten av det praktiske arbeidet som tilhørte oppgaven, ble utført på patologi laboratoriet ved NTNU i Ålesund. Det praktiske arbeidet tok plass over 5 uker, der materialet ble anskaffet i uke 13 og siste fargeforsøket ble utført i uke 18. NTNU dekket alle de økonomiske utgifter som var involvert til dette prosjektet. Standardisering av en fargeprotokoll medføre en stor mengde læring og forståelse innenfor patologi, i tillegg til interessen som er tilstede gjennom hele prosjektet.

1.6 Oppgavens oppbygging:

Denne oppgaven er oppbygd etter IMROD-modellen, hvor det belyses en del teori som er relevant til problemstillingen som ble bestemt i kapittel 2. Kapittel 3 tar for seg materialer og metoder, der det er en gjennomgang av inndeling av materialene som ble benyttet, samt utførelsen av det praktiske arbeidet. Kapittel 4 presenterer resultatene som ble oppnådd og kapittel 5 diskuterer resultatene og hva kan en tolke ut av disse. I kapittel 6 avsluttes oppgaven med en konklusjon, forbedringspotensialer og forslag til videre arbeid.

2.0 Teori

2.1 Biologiske materiale

2.1.1 Laks (salmo salar)

Laksen tilhører Teleostei (beinfisker) og består av 11 ulike slekter. Slekten salmo, også kjent som Salmo salar, er en av de 11 slektene. Laksen lever i de tempererte og arktiske områdene på den nordlige halvkule, blant annet i elvene til land som grenser mot Nord-Atlanterhavet eller Østersjøen, slik som Norge. Salmo salar er en anadrom art, som betyr at livsstrategien til laksen er at den vandrer fra havet til elver for å gyte og returnere tilbake for å tilbringe mesteparten av sin vekst i havet. I Nord-Amerika er det mer vanlig enn i europeiske elver at hele livssyklusen blir utført i ferskvann hos noen populasjoner av atlantisk laks. Arten Salmo salar oppholder seg i havet i ett til fem år avhengig av modning og alder. Før laksen vender tilbake til elvene der den ble født for å gyte. Noen av individene dør etter gyting, men en stor andel av disse individene kan overleve og vandre til havet igjen for å gyte for andre gang. Laksens anatomi er veldig omfattende, her legges det mer vekt på anatomien og funksjonen til gjeller (1, 4, 5, 8).

2.1.2 Gjeller

Laksen sine gjeller består av fire buer, og hver bue inneholder to rader med orienterte filamenter. Disse filamentene støttes av bindevev og muskelvev langs deres proksimale tredjedel av lengden. Filamentene har lameller som er dekket av respiratorisk epitel som har ulike funksjoner (6).

Gjellene har ulike viktige funksjoner deriblant regulering av pH i kroppsvæske, utskillelse av ammonium og ammoniakk fra nedbrytning av proteiner (3). Gjellene er også viktige for gassutveksling, og transport av vann og ioner. Transport av (Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , H^+) over gjellene utføres av kloridceller som er rike på mitokondrier og er lokalisert på gjellefilamentene og gjellelameller (6, 9). I tillegg til dette, beskytter gjellene laksen mot patogener og andre smitte midler som finnes i vannet. Slimhinnen i gjellene danner en barriere mellom det ytre miljøet og organismen, noe som hindrer at patogener rammer organene til fisken (6).

Respirasjonsmekanismen hos laks skjer ved at vann strømmer over gjelleoverflaten ved hjelp av respirasjonspumpe. Først kommer vannet gjennom munnen, Videre akselereres det over

gjellen, munnhulen trekker seg sammen, vannet fraktes ut og syklusen repeteres så på nytt igjen (5).

2.1.3 Slimlaget

Epiteloverflaten i gjellene er dekket av slimhinner som er et funksjonelt viktig vev med ulike oppgaver. Slim laget består av mucine, som er glykoproteiner med høy molekylvekt og som skilles ut av gobletceller. Muciner har en viktig rolle i medfødt immunitet og er hovedkomponenten i slimet (1, 2). Andre komponenter som finnes i slim er blant annet, enzymer, proteiner, ioner og beskyttende peptider (1, 2). Sammensetningen av slimlaget sørger for dannelse av et medium som letter kolonisering av både fastboende og forbigående bakterier. Disse bakteriene spiller en viktig rolle i fiskehelse, blant produksjon av antimikrobielle stoffer, hemming og konkurrering av uønskede patogener. Dersom det er forstyrrelser i slimlaget, kan dette risikere at patogener infiltrerer det beskyttende laget og forårsake sykdom (2).

2.2 Processing av vevsmaterialet

2.2.1 Fiksering

Når en vevsprøve blir fjernet fra kroppen, vil ytre og indre krefter påvirke vevet. Enzymene som er tilstede i vevet vil bli frigjort og vevet vil gå i oppløsning, og bakterier får tilgang til vevet. Formen, volumet og utseende vil bli endret dersom vevet ligger i romtemperatur til tørking (10, 12). For å unngå endring i vevet blir vevsprøvene fiksert, enten ved bruk av fysisk fiksering eller kjemisk fiksering. Kjemisk fiksering er den vanligste metoden å bruke for fiksering, hvor de virker ved å danne bindinger mellom proteiner, de funksjonelle gruppene innen i proteinene og nukleinsyrene (12). Formalin er det mest brukte kjemiske fikseringsmidlet, dette skyldes dens egenskap som et lite molekyl til å gjennomtrengte i vevet slik at vevets form, farge og struktur blir konserverte (10).

2.2.2 Framføring

Formålet med framføring er å gjøre vevsbitene klare til innstøpning. Framføringsprosessen omfatter dehydrering, klaring og parafinimpregnering og kan utføres enten manuelt eller maskinelt. Det finnes ulike typer framføringsmaskiner med samme framføringsprinsipp, basert på diffusjon av væsker. Det er flere reagensbeholdere i framføringsmaskinen der reagensene

suges opp fra beholderne ved hjelp av et vakuum i maskinen og overføres inn i prøvekammeret i en bestemt rekkefølge (10, 12).

2.2.2.1 Dehydrering

Første del av framføringsprosessen er dehydrering. Dehydrering er en prosess der vann og fikseringsløsninger blir fjernet av vevet, og erstattes med et organisk middel som alkohol. Alkoholer er blandbart med fikseringsmidler som formalin og formaldehyd. Dette fører til at alkohol trenger seg raskt i vevet, og erstatter vannet og fikseringsløsninger, slik at vevet kan overføres i et hydrofobt innstøpningsmiddel (10). Det er veldig viktig at konsentrasjonsgradient mellom væsken på innsiden og utsiden av vevet er minimalt, ellers så vil diffusjon gjennom cellemembranen under væskeutveskling øke risikoen for celledød, dersom konsentrasjonsgradienten er stor. Derfor behandles vevet i et dehydreringsmiddel med økt konsentrasjon. Forlenget dehydrering kan føre til at vevet blir hardt, sprøtt og innskrumpet, derfor er det veldig viktig å utføre prosessen på en riktig måte for å unngå dette (10, 12, 14).

2.2.2.2 Klaring

Klaringstrinnet utføres fordi det trenges et bindeledd mellom dehydreringsmiddelet (etanolen) og parafinvoksen. Xylen er løselig både i dehydreringsmiddelet og i parafinen. Xylen erstatter etanol i vevet og da får en et klart og gjennomsiktig utseende på vevet. Det er fordi Xylen og vevsproteinene har samme brytningsindeks. Dehydreringsmiddelet (etanol) er fjernet fra vevet når vevet får det klare og gjennomsiktige utseende (10, 12).

2.2.2.3 Parafinimpregnering

I siste trinnet i framføringsprosessen blir klaringsvæsken erstattet med flytende parafinvoks, og først da er vevet klart til innstøping. Det vanligste innstøpningsmiddelet for histologiske prøver er parafinvoks. Parafinvoksen har et optimalt smeltepunkt på ca. 60 grader, og den består av en rekke hydrokarboner med varierende egenskaper og ulike antall C-atomer i molekylene. Egenskapene til klaringsvæsken blant kokepunkt og viskositet er avgjørende for hvor lang tid vil den smeltende parafinvoksen bruke for å erstatte klaringsvæsken (12). Det vil si, klaringsvæsker med lavere kokepunkt, vil erstattes raskere enn klaringsvæsker med høyere kokepunkt.

2.3 Innstøping

Hensikten med støpning er at en skal kunne snitte vevet uten at strukturene til vevet blir ødelagt: Vevet skal støpes i et medium som er fast, og det er noen punkter som må tas hensyn til under støpningen som preparatets snittflate er den delen som vender ned mot bunnen av formen. Derfor er det viktig å sjekke orienteringen av vevsbiten i støpeformen. Mediet som brukes til innstøpingen må kunne infiltrere de ulike strukturkomponentene som er i vevet, samt gir vevet elastisitet, og i tillegg til at vevet er fast nok slik at den kan snittes. Innstøpningsmaskiner består av tre moduler: varmeskuffe, kuldeplate, og en parafindispenser (12).

2.4 Farging

2.4.1 Deparafinering:

Vevssnittet deparafiniseres, og rehydreres før selve fargingen, dette er en prosess hvor parafinet fjernes av i motsetning til innstøping. Grunnen er at de fleste fargeløsningene som brukes er vannbaserte, og snittene som skal farges er omsluttet av parafin. Parafin er ikke løselig i verken vann eller alkohol, noe som gjør at fargen kan ikke trenge seg inn i vevet. Parafinet må derfor fjernes, til dette benyttes det Xylen som er løselig i parafin. For å gjøre snittet vannløselig benyttes absolutt alkohol til fjerning av Xylen-rester, og videre med en synkende konsentrasjon vil snittene være rehydrert (10).

2.4.2 HES:

HES er en trikromfargemetode som blir benyttet som rutinefarge av histologiske vevspreparater. HES (eller bare HE ved de fleste sykehus) blir brukt som standard fargemetode til de fleste preparatene og er dermed den mest brukte fargemetoden. Grunnen til at fargemetoden blir brukt som standardfarge ved histologiske snitt skyldes dens evne til å farge ulike vevsstrukturer (10, 12). HES fargemetode består av fargene Hematoxylin, Erytrosin og Safran. Ved å bruke denne fargemetoden vil cellekjernene farges blå, muskler, erytrocytter og cytoplasma vil få en rødfarge, mens bindevev blir farget gult (10).

HES er en av flere fargemetoder som benytter selektiv demonstrering av muskler, fibrin, kollagen fibre og erytrocytter, der fargemetoden drar nytte av strukturen og tettheten til proteinnettverket i vevet ved farging. Eksempler på andre trikromfargemetoder er Masson Trikrom og MSB Lendrum (Martus Scarlet Blue). Det blir dannet bindinger under fiksering mellom

proteinkjedene i vevet og fiksativet, noe som vil føre til at det blir dannet nettverk med egne særtrekk hos de ulike proteinene i vevet. Vevet vil da ha ulik permeabilitet, noe som medføre at fargene med ulikt molekyl størrelse vil trenge seg gjennom vevet i ulike grader. Man starter med det minste fargemolekylet, slik at den farger alle vevstypene og da spesielt cellekjernene. Videre vil muskelcellene farges med det mellomstore fargemolekylet som vi farge alt bortsette fra proteinelementene med de minste porene. Til slutt benyttes fargen med størst molekylmasse, den vil da farge kollagenfibrene i vevet, og slik har man da farget vevet i tre deler og farget forskjellige deler (10).

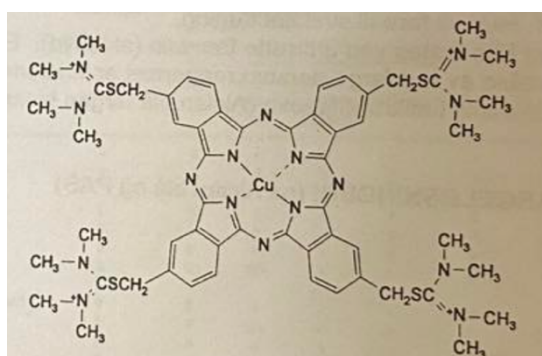
Hematoxylin vil i dette tilfellet være det minste fargemolekylet, som blir tilsatt vevet først. Fargemolekylet står for farging av cellekjerner og der man ser kromatinstrukturen med fargen blå/svart. Hematein er selve fargestoffet, som fås ved å oksidere Hematoxylin med kjemiske oksidasjonsmidler. Hematein er et anion, altså negativt ladd og vil dermed ha dårlig bindeevne til vevet, dermed benyttes aluminiumsalter som et bindingsmiddel. Aluminium-Hematoxylin-komplekset er da positivt ladd og vil kunne binde seg til fosfatgruppen på kromosomet, slik at fargen fastsetter seg til vevet (10, 12).

Erytrosin blir tatt i bruk etter Hematoxyelin som det mellomstore fargemolekylet. Syrefargen Erytrosin står for den rødfargen man ser på muskler, erytrocytter og cytoplasma ved HES. Det oppstår en ionebinding mellom fargestoffet og ammoniakk (NH_3^+) gruppen på proteinene i cellen. Siden proteinene i cytoplasma er positivt ladet (ved den pH verdien som tilsvarer Erytrosin pH) og Erytrosin er en svak syre (altså negativt ladd), så trenger man ikke å tilføre bindingsmiddel (10, 12).

Safran er det største fargemolekylet som benyttes ved denne fargemetoden. Safran står for den gulfargen man ser på bindevevene i preparatet. Erytrosin er et mindre fargemolekyl enn Safran og vil dermed blir ut konkurrert av Safran, slik at det blir dannet Van der Waalske bindinger mellom Crocein som er fargestoffet i Safran og kollagen fibrene i vevet. Da får man den gulfargen som tyder på bindevev i mikroskopet (10).

2.4.3 AB:

For å påvise sure muciner i gjellene til laksen, brukes det Alcian Blå som er et fargemolekyl. Figur 1 viser et symmetrisk molekyl med et kobberatom i sentrum. Alcian Blå er positivt ladet, og den positive ladningen kommer fra de fire grunnleggende isothiuroniumgrupper som har en positiv ladning, det vil si total ladningstall på +4, mens i en vandig oppløsning blir ladningstall +8 (14). Den positive ladningen som er gitt av disse gruppene resulterer i tiltrekning av fargestoffmolekylene til de anioniske muciner i vevet via en ion-binding. Fargemetoden er veldig sensitiv på grunn av molekylets høye ladningstall, noe som fører til at det oppstår en sterk binding mellom vevet i gjellene og fargestoffet.



Figur 1 viser den kjemiske strukturen til Alcian Blå (14)

PH-verdien til Alcian Blå løsningen er avgjørende for å farge vevet, både karboksylgruppene og sulfatgruppene blir ionisert ved en pH på 2,5. Dersom de ikke blir ionisert, vil det ikke produseres COO⁻, SO₃⁻ anioniske grupper som kan binde seg til fargestoffet. Resultatet på dette vil være at mucinene i vevet vil vise nøytrale egenskaper (falskt resultat). En Alcian Blå løsning med PH-verdi på 1, vil farge kun de sulfaterte mucinene. Årsaken til dette er at karboksylgruppene ioniseres ikke ved en slik lav PH.

Å endre PH-verdien til Alcian Blå løsningen er derfor et nyttig verktøy for ytterligere karakterisering av de ulike undertypene av de sure muciner i vevet. (10 – 12).

2.4.4 PAS:

Periodic Acid-Schiff (PAS) fargemetoden er brukt for å påvise molekyler som er karbohydratholdige som glykoproteiner, glykogen, og muciner. PAS fargemetoden kan farge de nøytrale muciner i motsetningen til Alcian Blå, som farger kun sure muciner. PAS fargemetoden er basert på den reaktiviteten som skjer mellom de frie aldehydgruppene som er i monosakkaridenhetene med SCHIFF's reagenset. Der det dannes en magentarød forbindelse som sluttprodukt der SCHIFF's reagenset har reagert. Fargeintensiteten av sluttproduktet er direkte proporsjonal med konsentrasjon av 1,2 glykol gruppene i glykogen- enhetene (11, 12).

Dette er grunnen til at første trinne ved fargemetoden er å danne de frie aldehydgruppene (glykoler), og for dette brukes det perjodsyre. Perjodsyren oksiderer hydroksylgruppene som er koblet til de nærliggende CO₂ atomene, dermed dannes de frie aldehydgruppene i vevet (10 – 12).

Aldehyder kan videre oksideres til karboksylsyrer, og for å hindre dette må det brukes et oksidasjonsmiddel som ikke overoksiderer aldehyder til karbonylforbindelser. Eksempel på slik oksidant er perjodsyren. Ved tilsettelse av SCHIFF's reagens kan dette fører til svekking av farging dersom det skjer en overoksidering av aldehyder til karboksylsyrer (10, 12). For hver glukoseenhet vil det dannes to aldehyd grupper i vevet, som også kalles SCHIFF's-reaktive aldehydgrupper (10).

Basic fuchsin er et rødt fargestoff som brukes for å lage SCHIFF's reagens. Fargestoffet består av ulike triarylmetan- fargestoff, og er ikke en spesifikk farge. Svoveldioksid vil bryte ned den Kromofore delen av fargestoffet slik at det dannes en løsning som er fargeløs (SCHIFF's reagens) (10, 12).

2.4.5 AB-PAS:

Kombinasjon av Alcian Blå (AB) fargemetode med periodisk Acid-Schiff (PAS) ble brukt i mange år innenfor karbohydrathistokjemi. Fordelen med å kombinere disse to fargemetodene ble først rapportert av Runge i 1956. Verdien av denne kombinasjonen ble understreket i perioden mellom 1956 – 1963 av Mowry, spesielt innenfor rutinepatologi. Fargemetoden i dag er både optimalisert, og standardisert for humant vev (19, 20).

AB kan farger de sure muciner, mens PAS kan farger de nøytrale muciner. Ved å kombinere begge fargemetodene kan en differensierer mellom de sure og nøytrale muciner i vevet (13). Som standard farges snittene først med AB etterfulgt av PAS. AB vil farge de sure mucinene skarpe blå, mens PAS vil farge de nøytrale muciner magentarødt. Celler eller vev som inneholder både de sure og nøytrale muciner vil få fargen lilla/mørk blå, eksempel på dette er gobletceller i laks gjeller som inneholder både sure, og nøytrale muciner (10).

Fargemetoden AB-PAS er en metode som er nyttig å bruke for å skille mellom sure og nøytrale muciner i samme vevssnitt. Ved å bruke fargemetoden AB-PAS vil Alcian Blå farge surt slim blått, og PAS farge nøytralt slim rødt.

Her finnes det en tabell som kan vis oversikt over de ulike karbohydrater, og hva slags fargemetode det brukes for å påvise dem.

Tabell 1 viser ulike karbohydrater, og den fargereaksjon som brukes for å farge dem

Karbohydrat:	Homoglykan glykogen	Proteoglykaner			
		Nøytrale	poly-	sure poly-	poly-
forekomst	Lever, muskulatur, Epitel i kv. Geniteia.	Dyreriket.	Bindevev, leddkapsler, navlesnor, og hornhinne.	Bl.a grunnsubstans i bruks, endotel, lever og arterier.	Grunnstans i brusk og ben hornhinne.
Fargereaksjon					
PAS	magenta	magenta	-	-	-
PAS/Amylase	-	magenta			
Alcian Blå PH 2,5- 3	-	-	blått	blått	blått

Alcian Blå PH 1	-	-	-	blått	blått
Alcian- Blå/PAS PH 2,5 - 3	magenta	magenta	blått	blått	blått

Tabell 2 viser fortsettelsen av tabell 1

Karbohydrat:	glykoproteiner		

	Nøytrale	sure	

	Sialomuciner sulfomuciner		
forekomst	Alle finnes i slim produserende celler i lunge, mage, tarmkanalen, cervix, kollagen og retikulin. Visse hypofyse- og thyreoideahormoner og immunoglobuliner.		
Fargereaksjon			
PAS	magenta	magenta	magenta
PAS/Amylase	magenta	magenta	magenta
Alcian Blå PH 2,5- 3	-	blått	blått
Alcian- Blå PH 1	-	-	blått
Alcian- Blå/PAS PH 2,5 - 3	magenta	blått	blått

3.0 Materialer og metode

3.1 Biologiske materialer:

- Ferskt gjellevev
- Frosset gjellevev

3.2 Reagens:

- **Absolutt alkohol:** *brukes ved deparafinisering, rehydrering og dehydrering.*
- **Alcian Blå:** *brukes under AB-PAS fargemetode*
- **Erytrosin:** *brukes under HES fargemetode*
- **Harris' Hematoxylin:** *brukes under både HES og AB-PAS fargemetode*
- **Hematoxylin Mayer:** *brukes under AB-PAS fargemetode*
- **1% Perjodsyre:** *brukes under AB-PAS fargemetode*
- **Perneys dekaliseringsyre:** *brukes for å myk gjør vevet under snitting*
- **SCHIFF's reagens:** *brukes under AB-PAS fargemetode*
- **Safran:** *brukes under HES fargemetode*
- **Xylen:** *brukes under både deparafinisering og dehydrering*

3.3 Andre utstyr

- **Avtrekkskap:** *brukes under farging.*
- **Dekkglass:** *brukes ved montering.*
- **Digitalt mikroskopkamera:** *Olympus EP50, brukes for å ta bilder av preparater*
- **Kuldeplate:** *Histoblock, brukes til kjøling av blokkene under snitting*
- **Lim:** *Mountexfra Histolap.*
- **Lysmikroskop:** *type OLYMPUS BX50, ferdig køhler innstilt (se vedlegg 3).*
- **Mikrobølgeovn:** *fra Kenwood brukes under AB-PAS fargemetode.*
- **Mikrotom:** *Thermo Scientific HM 355S brukes til snitting av vevsmateriale.*
- **Objektglass:** *superfrosttmplus*
- **Varmeskap:** *type termarks, brukes til tørking av preparatet*

3.4 Inndeling av prøvematerialer:

I denne oppgaven ble prøvene delt opp i to hovedgrupper, frosset og ferskt materiale (laksgjeller).

3.4.1 Frosset materialet:

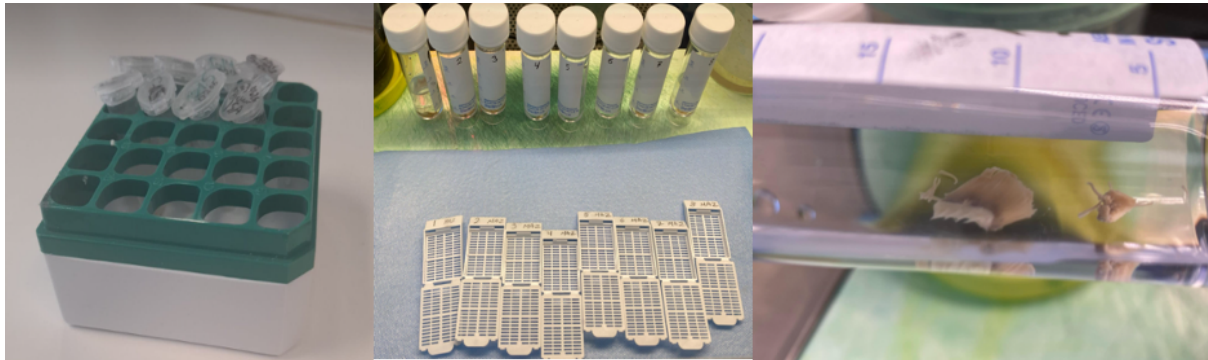
Det frosne materialet ble hentet av 8 forskjellige individer, som ble delt opp igjen til fire undergrupper etter klassifisering.

Denne klassifiseringer var:

- *Før fiskene ble transportert til sjø (6.05.2021)*
- *Under – mens fiskene ble fraktet på båt til merd i sjøen (13.05.2021)*
- *3 uker etter at fisken ble satt ut i sjøen (3.06.2021)*
- *6 uker etter at fisken ble satt ut i sjøen (23.06.2021)*

Etter klassifiseringen, ble disse oppbevart i RNAlater, og satt ned i fryseskapet på lager. Videre ble disse fordelt i 8 beger nummerert fra 1-8 og fiksert i 4% formaldehydløsning.

Alle frosne vev ble videre innstøpt i 8 parafinblokker (hvit farge), parafinblokkene ble nummerert fra 1 til 8, det vil si at vevsprøven i beger nummer 1 ble innstøpt i parafinblokk nummer 1.. osv.



Figur 2 viser det frosne materialet under lagring og fiksering.

Tabell 3 viser inndeling av det frosne materialet

Frosset vevsprøve	Parafinblokker nummer
Individ 1, før.	1
Individ 2, før.	2
Individ 3, mens.	3
Individ 4, mens.	4
Individ 5, 3 uker.	5
Individ 6, 3 uker.	6
Individ 7, 6 uker.	7
Individ 8, 6 uker.	8

3.4.2 Ferskt materialet:

Alt ferskt materiale kommer fra samme individ, og den ble også fordelt i 8 beger fra A til H, deretter ble de fiksert i 4% formaldehydløsning. Ferske vevsprøver ble videre innstøpt i 8 parafinblokker (gul farge), som ble merket med A til H respektivt.



Figur 3 viser det det ferske materialet under skjæring og fiksering.

Tabell 4 viser inndeling av det fersket materialet.

<i>Fersk vevs prøve:</i>	Parafinblokker bokstav.
Alle ferske vevsprøver kommer fra samme individ, disse ble videre delt til 8 blokker	A
	B
	C
	D
	E
	F
	G
	H

3.5 Fiksering

Til denne oppgaven ble det brukt formaldehyd som fikseringsmiddel. 34% formaldehyd ble fortynnet med destillert vann til 4 % formaldehyd, ved bruk av formelen $C1*V1=C2*V2$ (se vedlegg 2). Det ferske materialet ble satt direkte i formaldehyd på feltet i forhold 1:10. Mens det frosne materialet ble satt i 4% formaldehyd etter fortining.

3.6 Framføring

Framføringsprosessen ble utført maskinelt ved Avdeling for Patologi, Ålesund sykehus. I fremføringsmaskinen ble det benyttet et program som heter «fett - framføring» - som er benyttet på vevsmateriale som trenger utvidet fremføring grunnet vevssammensetningen. I vårt tilfelle er det på grunn av at fikegjellene består av en del brusk.

Bildet under viser en oversikt over de ulike trinnene i fremføringsprosessen som inngår i fettprogrammet. Der ser vi hvor lang tid vevsmaterialet ligger i de ulike reagensene, temperatur og den totale tiden hele fremføringsprosessen tar.



Figur 4 viser oversikt over fettprogram som ble benyttet ved framføringen ved Ålesund sykehus.

3.7 Innstøping:

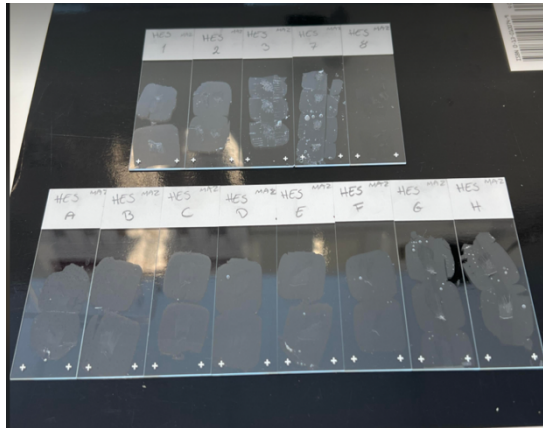
Kassetten ble sortert før innstøping, de hvite kassetten ble brukt for frosset materiale, mens de gule ble brukt for ferskt materiale. For å få en homogen blokk er det viktig at vevet skal ha den samme temperaturen som parafinen det støpes i. En passende form som passer for størrelsen av vevsbiten fylles med flytende parafin, og vevsbiten legges med samme side ned som i kassetten. Formen vil deretter føres fra det varme området til det kalde, og vevsbiten trykkes godt ned i formen med pinsett i den størknende parafinen, hensikten er å få vevet i samme plan.

Kassetten som er riktig merket legges på, formen etterfylles deretter med parafin, parafinblokken settes til kjøling på kjøleplaten. Når prøvekassetten er avkjølt, kan den lett løsnes fra formen, og overflødig parafin som er rundt blokken kan skrapes vekk, nå er kassetten klar til snitting og videre til farging.

3.8 Snitting:

Thermo Scientific HM 355S Automatisk rotasjons mikrotom er en elektronisk, motorisert rotasjons mikrotom med vannsklie. Mikrotomet brukes til å skjære vevsblokkene i tynne lag. Her ble det brukt ei "vannmikrotom", for å minske sannsynligheten til å ødelegge snittet ved overføring til vannbad. Vinkelen kniven bør skjære i er 10, dette er for å få best mulige snitt av preparatet. Før skjæringen begynner må preparatet trimmes ned til hele vevet er framme. Dette

gjøres ved å sette mikrotomet på “trim”, dermed vil det bli snittet 20 um omgangen. Når det er blitt snittet ned til vevet, byttes funksjonen i mikrotomet til “feed” som i dette tilfellet vil ligge på 2 um (7,12).



Figur 5 viser plussglass med snitter på rett etter snitting.

3.9 Farging

3.9.1 Deparafinisering

Alle preparatene som skal farges med HES og AB-PAS, skal deparafiniseres og rehydreres før de farges slik at fargen kunne feste seg på snittet. Preparatene føres etter hverandre i en glassholder, og settes i varmeskap på 60°C i C 25 minutter før deparafinering. Ved deparafinering dyppes preparatene i Xylen I også i Xylen II i 2 minutter hver. Videre føres preparatene gjennom en synkende konsentrasjon av rekke alkoholer som følgende, 1 minutt i absolutt alkohol, 1 minutt i 96% alkohol, og sist 70% alkohol. Til slutt senkes preparatene i destillert vann i ett minutt, og da er disse klar for selve fargingen (15).

Tabell 5 viser framgangsmåte for deparafinisering og rehydrering (14).

REAGENS	VARIGHET
Xylen	2 min
Xylen	2 min
Absolutt alkohol	1 min
96% alkohol	1 min
70% alkohol	1 min
Destillert vann	1 min

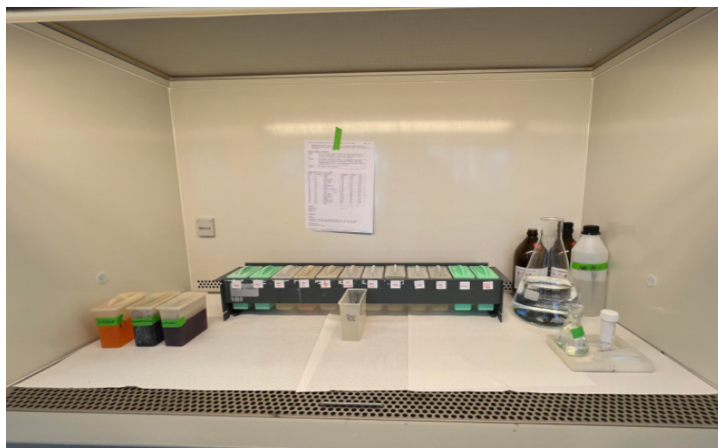
3.9.2 HES farging:

Fargeprosessen ble utført manuelt ved å dyppe preparatene i ulike fargebad. Alle preparatene deparafiniseres og rehydreres før de farges. Under HES farging, dyppes preparatene først i Hematoxylinbad i fire minutter, så blånes disse i rennende lunket vann i 5 minutter. Deretter dyppes preparatene i Erytrosinbad i et minutt, så skylles disse i vann i 30 sekunder. Videre skal preparatene dehydreres gjennom en økende konsentrasjon av alkoholserie som følgende, 30 sekunder i 70% alkohol, 96% alkohol, og absolutt alkohol respektivt. Deretter dyppes preparatene i Safranbad i et minutt, og dehydreres i 2 skift absolutt alkohol (15).

Videre tas Preparatene ut av absolutt alkohol, og legges horisontalt på et papirhåndkle. En dråpe lim tilføres til hver av preparatene, og dekkglassene legges forsiktig på. Dekkglassene synkes fint på preparatene og limet brer seg ut under (10). Preparatene settes under avtrekksskap slik at monteringsmidlet størkner, og da er preparatene klar til mikroskopering.

Tabell 6 viser framgangsmåte for HES fargemetoden (14).

REAGENS	VARIGHET
Hematoxylin	4 min
Vann	5 min
Erytrosin	1 min
Vann	15 sek
Vann	15 sek
70% alkohol	1 min
96% alkohol	30 sek
Absolutt alkohol	30 sek
Safran	1 min
Absolutt alkohol	30 sek
Absolutt alkohol	30 sek



Figur 6 viser oppsette ved farging.

3.9.3 AB-PAS

Det ble tatt i bruk standard AB-PAS fargeprotokoll fra avdeling for patologi ved Ålesund sykehus som utgangspunkt for oppgaven, hvor fargeprotokollen ble videre standardisert for gjellevev.

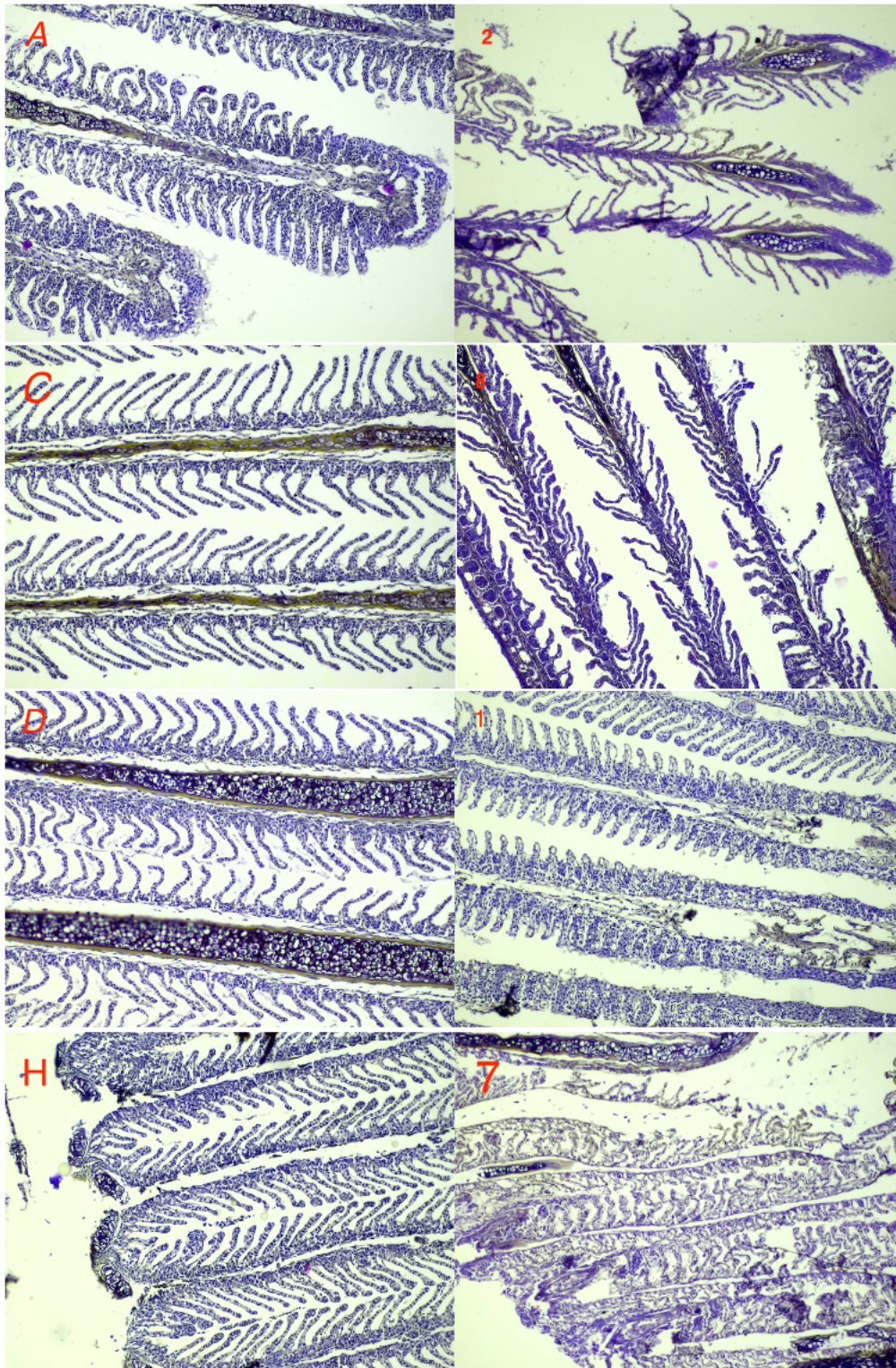
Alle preparatene deparafiniseres og rehydreres før de farges. Først dyppes preparatene 10 min i AlcianBlåløsning, så skylles de i vann. Deretter dyppes preparatene 7 min i 1% perjodsyre, så skylles de i destillert vann. Preparatene settes 10 min i SCHIFF's reagens hvor de videre skylles i lunkent vann i 10-15 minutt. Videre, farges preparatene med Harris Hematoxylin i ett minutt, og blånes i varmt vann. Preparatene dehydreres og monteres slik det står under HES fargemetode.

Tabell 7 viser AB-PAS fargeprotokoll, standard fra Ålesund sykehus (14).

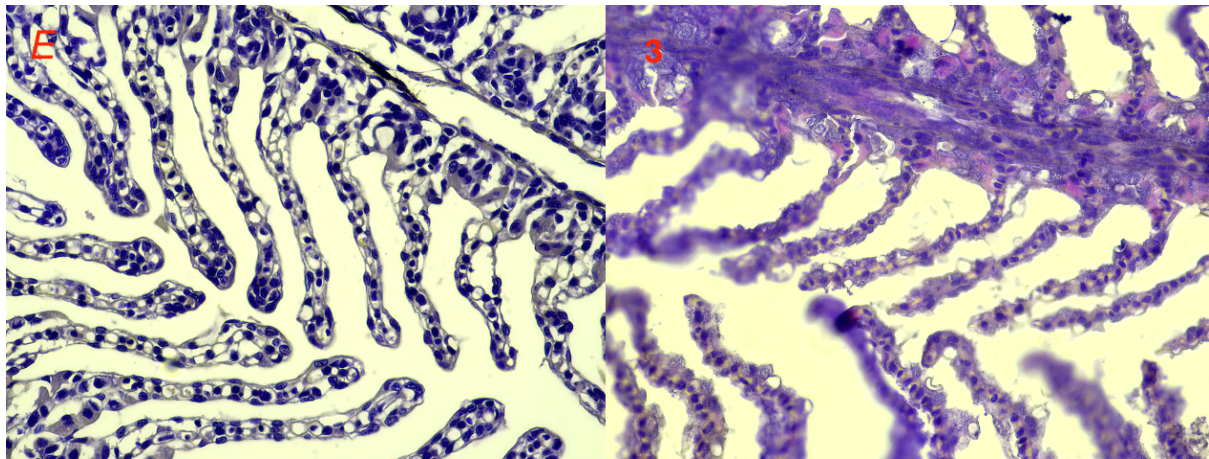
REAGENS	VARIGHET
Alcian Blå	10 min
Skylles i vann	
1% Perjodsyre	7 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes	30 sek
Dehydreres (70% - abs.alk) – Xylen - monteres	

4.0 Resultat

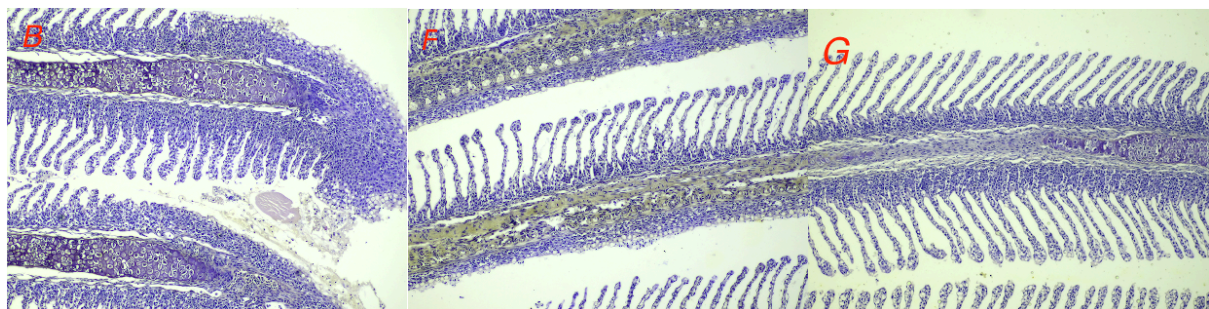
4.1 HES



Figur 7 viser ulike preparater farget med HES. Preparatene til venstre er fra det ferske materialet, og de til høyre er fra det frosne. Bildene er tatt med 10X forstørrelse.

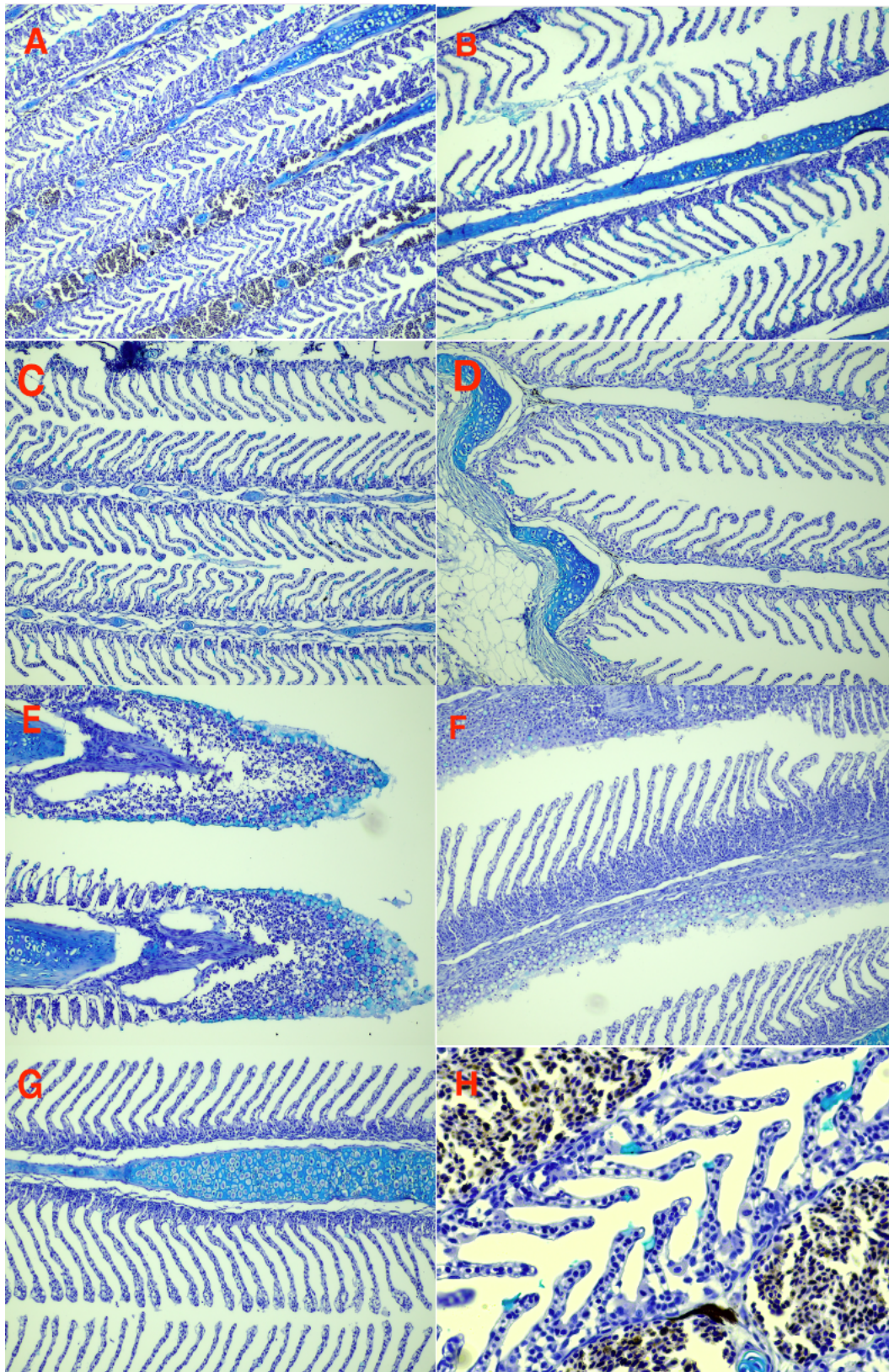


Figur 8 viser to preparater farget med HES. Preparatet til venstre kommer fra det ferske materialet og preparatene til høyre fra det frosne. Bildene er tatt med 60X forstørrelse.

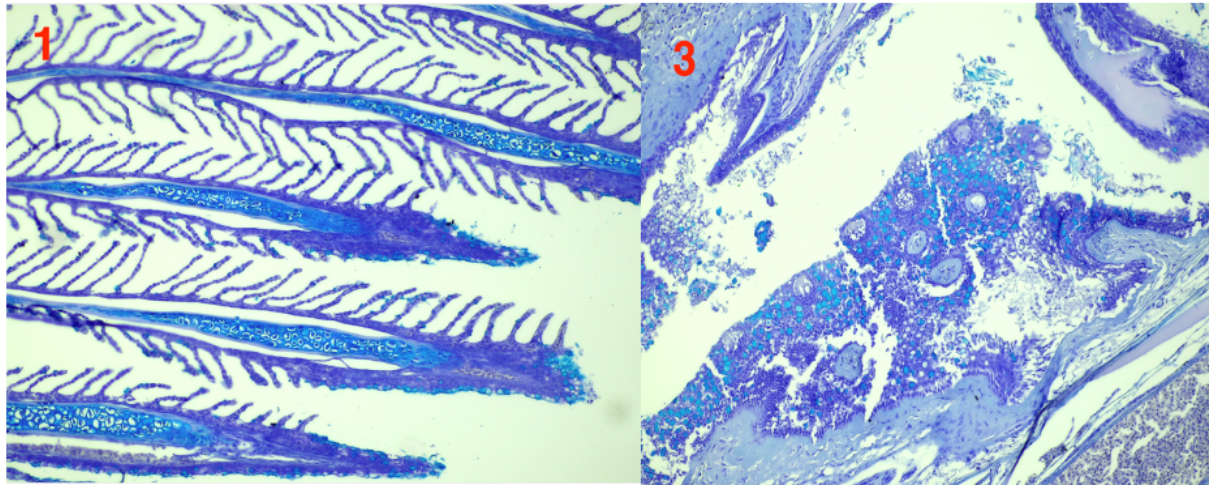


Figur 9 viser tre preparater farget med HES. Alle bildene er fra det ferske materialet. Bildene er tatt med 10X forstørrelse.

4.2 AB-PAS standard

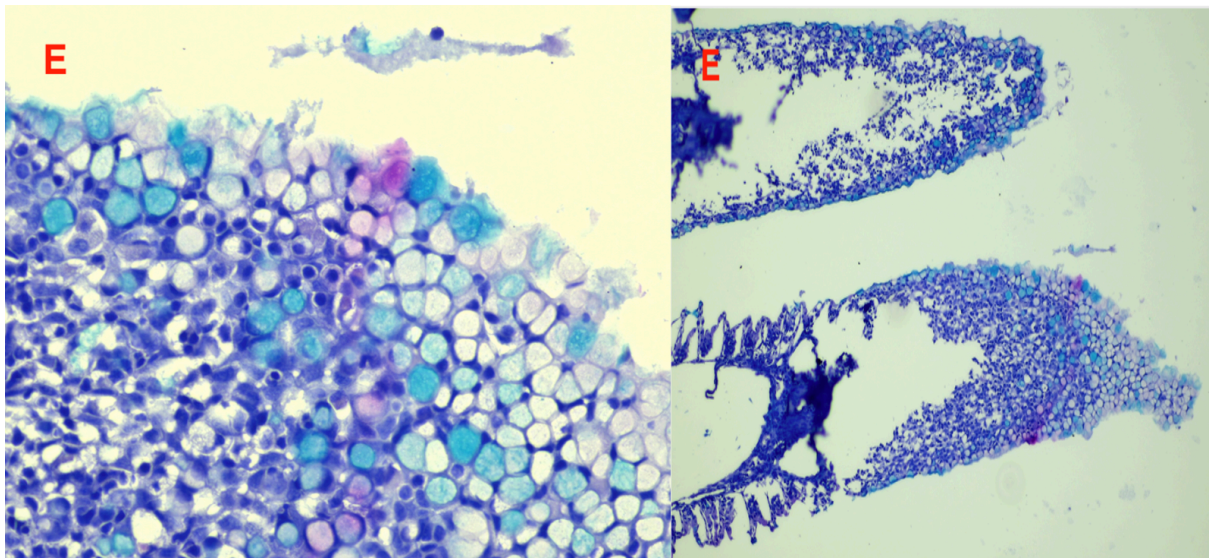


Figur 10 viser resultatet ved farging med den standard fargeprotokollen AB-PAS, preparatene A – H tilhører det ferske materialet. Bildene er tatt med 10X forstørrelse.

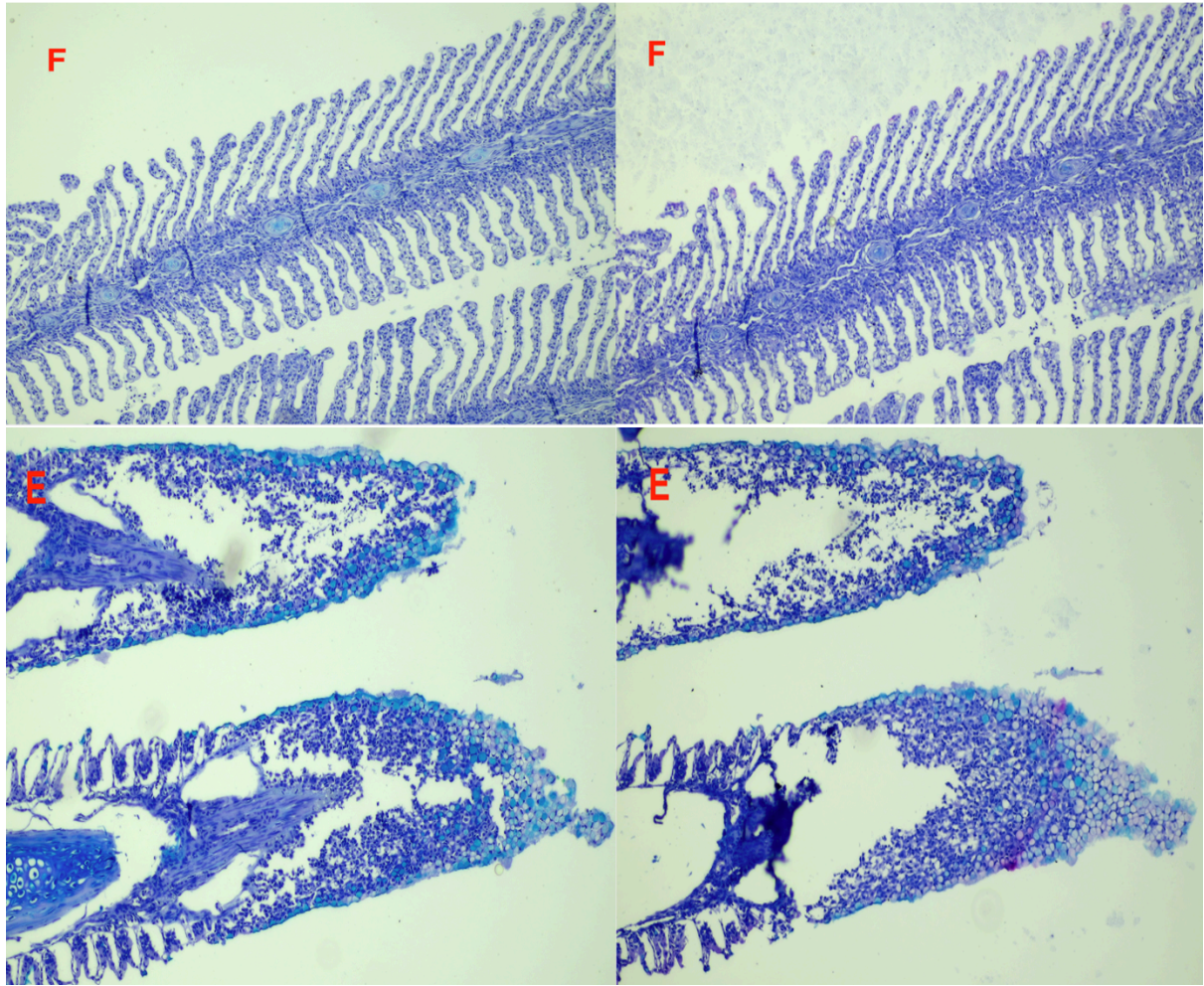


Figur 11 viser to preparater fra det frosne materialet som ble farget med standard fargeprotokollen AB-PAS. Bildene er tatt med 10X forstørrelse.

4.3 AB-PAS forsøk 6

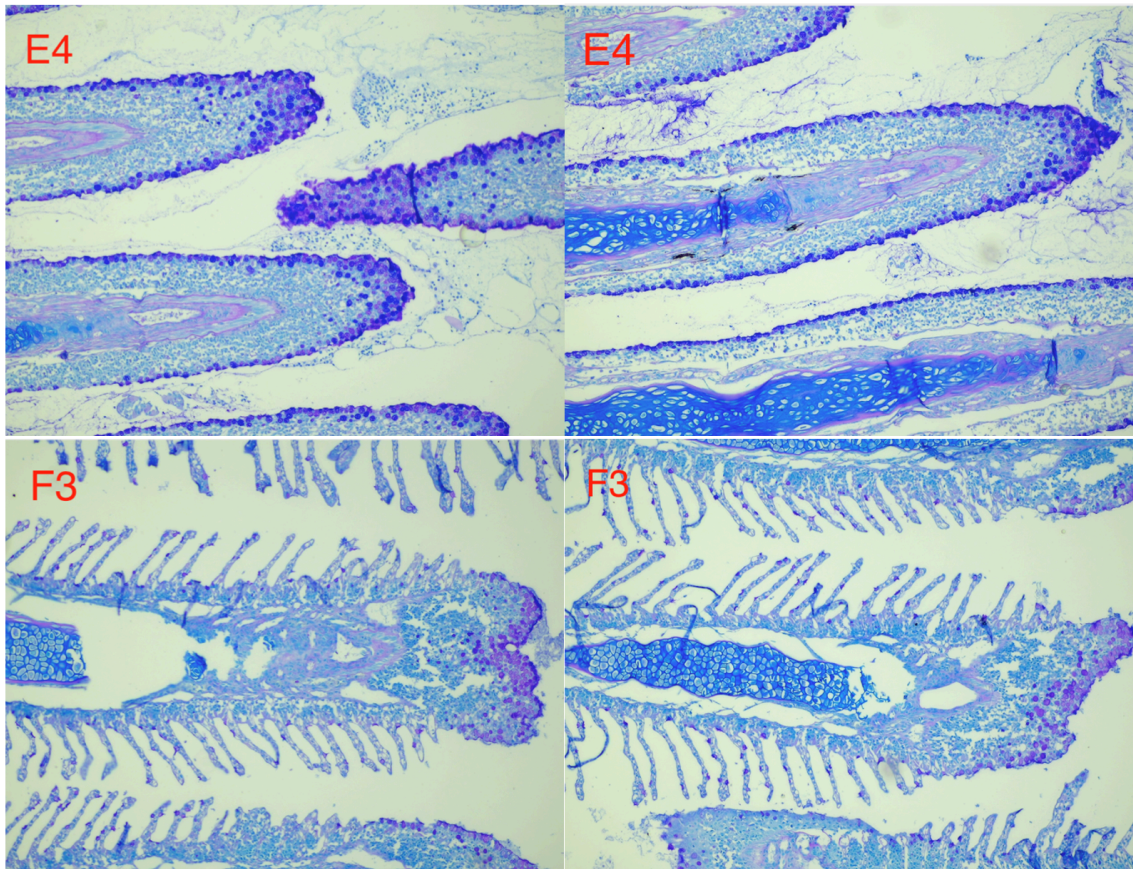


Figur 12 viser et preparat fra det ferske materialet, farget med AB-PAS modifisert fargeprotokoll. Bildene ble tatt med 60X og 10X forstørrelse

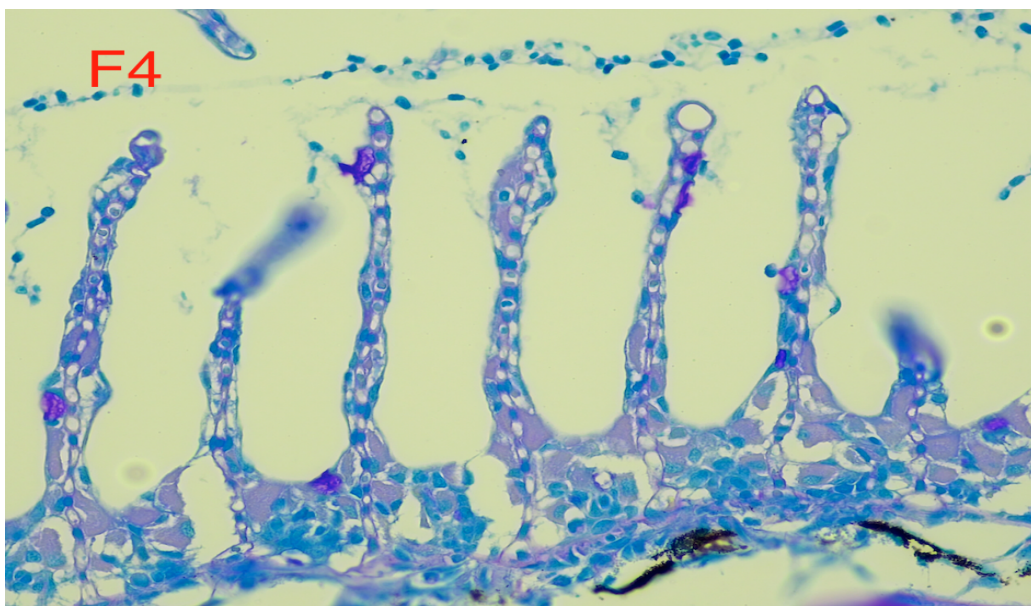


Figur 13 viser to preparater fra samme blokker som kommer fra det ferske materialet. Preparatene til høyre ble farget med AB-PAS modifisert fargeprotokoll (forsøk 6). Preparatene til venstre er farget med samme fargeprotokoll, men med 3 dagers mellomrom. Bildene er tatt med 10X forstørrelse.

4.4 forsøk 16



Figur 14 viser ulike preparater fra det ferske materialet farget med AB-PAS modifisert fargeprotokoll. (droppet stegene med Hematoxylin og blåning). Bildene er tatt med 10X forstørrelse.



Figur 15 viser et preparat som ble farget med AB-PAS modifisert fargeprotokoll (forsøk 16). Bildet er tatt med 60X størrelse.

5.0 Diskusjon

5.1 Innhenting og oppbevaring av materialet

Innhenting og oppbevaring av det biologiske materialet kan ha en stor betydning for vevets kvalitet og for de videre prosessene vevet skal gjennom. Det biologiske materialet som ble brukt i denne oppgaven var i form av ferskt og nedfrosset gjellevev som ble oppbevart på to ulike måter. Vevsprøvene som tilhører det ferske materialet, ble hentet fra et friskt individ der materialet ble lagt på 4% formaldehyd for fiksering. Det frosne gjellevev kom fra 8 ulike individer. Materialet ble lagret på RNAlater og frosset inn på -80 grader i omtrent ett år. I uke 12 vår 2022 ble materialet tatt ut, og overført fra RNAlater til 4% formaldehyd, uten skylning. Materialene ble fraktet til avdeling for patologi ved Ålesund sykehus for videre prosessering blant annet makrobeskjæring, framføring og innstøping. Grunnet kapasiteten og mangelen på utstyr ved laboratoriet ved NTNU, kunne ikke vevsmaterialet prosesseres der, og ble derfor fraktet til avdeling for patologi for videre prosessering.

Ved å sammenligne det ferske og det frosne gjellevevet makroskopisk før innstøping (se figur 2 og 3), så ser man tydelig at kvaliteten på det ferske materialet er mye bedre enn kvaliteten på det materialet som har vært frosset. En del av det frosne materialet var helt ødelagt. En årsak til dette kan være at prøven ble lagret på RNAlater. RNAlater er et vevsstabiliserende middel, men først og fremst med tanke på at det skal oppbevare nukleinsyre for PCR analyser. Den er ikke best egnet til oppbevaring av histologiske vevsmaterialer, noe som var synlig på vevet. Hvor god RNAlater er for lagring av vevsmateriale over lang tid kan diskuteres, men man kan ikke utelukke at det kan være andre faktorer som kunne ha hatt betydning for vevets kvalitet i dette tilfelle.

Andre faktorer som kunne ha påvirket kvaliteten på vevet kan være blant hvor lenge vevet har blitt frosset, i dette tilfelle har vevet blitt frosset i cirka ett år. Også det med hvor lang tid det har tatt fra vevsprøvene ble tatt, til de ble lagret på RNAlater og satt i fryseren kan påvirke kvaliteten. I dette tilfelle så har det gått litt tid fra fisken ble drept til prøven ble tatt og lagt på RNAlater, så har det også gått litt tid før de ble frosset inn på -80 grader. Alle disse faktorene som ble nevnt kan ha en stor betydning for vevets kvalitet.

5.2 Snitting

For å øke kvaliteten ved snittingen, ble brusken til det ferske materialet trimmet bort ved makro beskjæring, og gjellevevene orientert med bruskdelen nede og filamentene oppe. Ved å trimme bort store deler av den harde brusken blir vevet mer homogent og snittkvaliteten blir bedre ved snitting. Ved å orientere gjellene med brusksiden ned vil det være først som skjæres og filamentene følger etter, noe som fører til lettere snitting med finere og jevnere snitt. I tillegg kan vevsstrukturene blir ødelagt under snitting dersom filamentene blir orientert i motsatt retning, altså ned mot kniven. I slike tilfeller kan man ved snitting risikere å ødelegge alle eller enkelte av filamentene. Ved snittingen var det synlig at det ferske materialet var mye lettere å snitte enn det frosne, hvor brusken var tilstede. For å gjøre brusken litt lettere å snitte ble det tatt noen dråper perneys dekalineringsyre (svak syre) på de blokkene som var harde, dette ble gjort for å gjør vevet mykere.

Før snitting ble blokkene nedkjølt på kjøleplaten, for å gjøre snittingen enklere og med bedre resultat. Alle blokkene ble trimmet ned samtidig og ved samme innstilling på mikrotomet. På denne måten unngår en å måtte stille inn mikrotomet for hver blokk. Trimmingen var på 20 µm til man har skjært ned til vevet, det er da viktig å ikke trimme alt for mye slik at en står igjen med lite eller ingen vevsmaterial igjen i blokken. Blokkene ble trimmet ned til vevet og jevn overflata. Etter trimming settes mikrotomet på «Feed» som er på 2 µm for selve snittingen.

I utgangspunktet var det 16 blokker til sammen, 8 blokker av det ferske gjellevevet markert A til H og 8 blokker av det frosne markert 1 til 8. Tre av de frosne blokkene 4, 5 og 6 var det for lite materialer i, og dermed ble de ikke tatt med videre. Dette kan skyldes håndtering og lagring før nedfrysning. Blokkene 2, 7 og 8 som var ekstra vanskelig å snitte slik at det måtte flere forsøk til å få fine snitt til HES-farging, og dermed var det lite vevsmaterialet å ta av. For denne oppgaven ble det benyttet pluss glass istedenfor vanlig objektglass. Det ble brukt plussglass med tanke på vevssammensetningen i gjellene som er bestående av mye brus. Dette er for å sikre at vevet skal feste seg godt til objektglasset etter snitting og ikke falle av under farging. Etter snitting ble alle vevssnittene satt i varmeskap for at de feste seg til objektglassene.

5.3 HES

Det ble tatt i bruk standard HES fargemetode fra avdeling for patologi ved Ålesund sykehus. Alle reagenser som inngår under HES-fargingen, ble inspisert for holdbarheten. Det ble snittet to snitt av hver blokk. Alle snittene fra det fersket, og det frosne gjellevev ble farget samtidig. Dette ble gjort for å unngå mest mulig variabler under fargingen, samt sikre at alle snittene ble behandlet likt. Ved å standardisere fremgangsmetoden mest mulig er det lettere å sammenligne snittene i etterkant. HES differensierer mellom de ulike strukturene i vev, dermed ble den valgt til sammenligning av morfologien mellom det ferske og frosne gjellevevet.

Fargingen gikk problemfritt og alle preparatene fra det ferske gjellevevet ble vellykket. Cellekjerner fikk blå farge, muskler var røde, og bindevev ble farget gult. Fargeintensiteten ved det frosne gjellevevet ble ikke optimal. Gjennom vevssnittet varierte fargen fra å være svakere enn forventet til å være i overkant intens i andre deler (se figur 7, preparat 7). Cellene i det frosne gjellevevet ser ut til å være blass i fargen sammenlignet med den skarpe klare fargen som cellene fikk i det ferske gjellevevet (se figur 8).

Morfologien i det ferske gjellevevet var fint sammenlignet med det frosne, hvor det var lett å se de ulike celler i lamellene som gobletceller (se figur 8). Filamentene var normalt arrangerte, med en serie lameller som var plassert vinkelrett på filamentene (se figur 7, preparatene A – H). I det frosne gjellevevet var lamellene smeltet sammen, hvor det ikke var lett å differensiere mellom de ulike celler i lamellen som gobletceller, og chloride celler. Det ble også observert en signifikant økelse i tykkelsen av lamellene (se figur 7, preparat 1). Endringen i morfologien kan skyldes at fisken var stresset ved overføring fra et lukket miljø med ekstremt god vannkvalitet til saltvann med mye forurensing. Fiskene ble pumpet ombord i en båt i en mekanisk prosess, og deretter ble de pumpet ut i saltvann, noe som kunne ha hatt betydning for endringen i morfologien.

Ved optimalisering av en fargeprotokoll hadde det vært best å bruke en syk eller stresset fisk, hvor gjellevevet ble tatt og fiksert direkte uten nedfrysning, altså ferskt materiale. En stresset/syk fisk vil ha økt antall gobletceller som igjen fører til større produksjon av mucin. Ved optimalisering av en fargeprotokoll som påvise mucin, så skulle det være en fordel å tilstrekkelig mengde mucin. I tillegg til dette så vil morfologien være bedre, og dermed lettere å se på de ulike momentene i vevet under mikroskop. I dette tilfellet ble den stressende fisken nedfrosset og morfologien av ferske materialet var bedre enn det nedfrosne. Ut fra resultatene ble det bestemt å bruke det ferske gjellevevet for optimalisering av AB-PAS.

5.4 Optimalisering av AB-PAS

5.4.1 AB-PAS standard

Når det gjelder optimalisering av fargeprotokoll til gjellevev, så ble fargemetoden AB-PAS utvalgt på grunn av dens egenskap til å differensiere mellom ulike typer mucin i vevet. Det ble tatt i bruk den standard AB-PAS fargeprotokoll fra avdeling for patologi ved Ålesund sykehus som utgangspunkt. Alle vevsnittene ble deparafinisert og rehydrert før fargeprosessen. Prosedyren ble fulgt opp uten endringer, og det oppstod ingen problemer. Etter farging ble preparatene dehydrert, montert og lagt ut til tørking før mikroskopering.

Resultat ved mikroskopering viste tilstedeværelse av sure muciner, som kommer tydelig fram av den skarpt blåe fargen. Alcian Blå reagens står for den skarpe blåe fargen, og er det første steget ved AB-PAS fargemetode. SCHIFF's reagens er ansvarlig for farging av nøytrale muciner magentarød, dette ble ikke observert/sett under mikroskop (se figur 10).

Teoretisk sett, skulle både nøytrale og sure muciner påvises med AB-PAS fargemetoden. Nøytrale muciner ble ikke påvist i dette tilfellet, dette kan skyldes en rekke årsaker. Først ble det tenkt at nøytrale muciner ikke finnes i gjellen, men etter undersøkelser og flere diskusjoner ble dette utelukket. I og med at begge typer muciner finnes i vevet, kan en mulig årsak være at fargeprotokollen er standardisert for humant vev, noe som kunne ha ført til at resultatene ikke stemte med det som forventes. Ut fra dette, ble det bestemt å endre på fargeprotokollen frem til fargen ble optimal for gjellevevet.

5.4.2 Forsøk 1 til 5

I og med at perjodsyre er et oksidasjonsmiddel som får vevet til å ta opp farge og SCHIFF's reagensen står for den magentarøde fargen, var det naturlig å ende på tiden preparatene sto i disse to reagensene. I forsøk 1 ble tiden i SCHIFF's reagenset økt fra 10 min til 20 min, videre ble tiden i perjodsyre økt fra 7 til 10 min og tiden i SCHIFF's reagenset gikk fra 10 til 15 min i forsøk 2. Forsøk 3 gikk ut på å ta noe drastiske steg, hvor snittene med SCHIFF's reagenset ble satt direkte i mikrobølgeovnen i 30 sek og inkubert i 3 min på benk. I forsøk 4 ble tiden endret i SCHIFF's reagenset fra 10 til 20 min, og tiden på perjodsyre fra 7 til 5 min. Det var mistanke om at tiden i Alcian Blå kunne ha hatt påvirkning på fargerultatet, ut ifra dette ble tiden i Alcian Blå endret fra 10 til 5 minutter samtidig ble endringen fra forsøk 4 tatt med her

i forsøk 5. Alle endringene i forsøkene 1 – 5 førte ikke til noe synlige endringer i resultatet, se vedlegg 1 for mer oversikt med bilder og tabeller.

5.4.3 Forsøk 6

Etter 5 mislykket forsøk, ble det bestemt at neste forsøk skal være en kombinasjon av flere endringer fra de forrige forsøkene. Endringene var som følgende: tiden i perjodsyre ble endret fra 7 til 5 min, preparatene ble inkubert i SCHIFF`s reagens 5 min før de blir satt i mikrobølgeovn og videre ble de inkubert på benk i 3 min. Dette ble gjort for å se om resultatet kom til å endre seg. I forsøk 6 ble det benyttet kun to preparater fra blokkene E og F. Ved å farge kun to preparater unngår en å forbruke alle snittene som ble skjært.

Tabell 8 viser oppsettet til forsøk 6

REAGENS	VARIGHET
Alcian Blå	10 min
Skyllles i vann	
1% Perjodsyre	5 min
Skyllles i destillert vann	
SCHIFF`s reagens	5 min
Settes i mikrobølgeovn	20 sek
Inkuberes på benk	3 min
Skyllles i lunkent vann	10 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – Xylen - monteres	

Resultatene i dette forsøke var som forventes, både den skarpe blåe og den magentarøde fargen var tilstede. Ved mikroskopering ble det observert at det er mange gobletceller som ble farget skarpe blå, disse antas som sure muciner, var synlig rundt hele vevet. I tillegg ble det observert at noe få av gobletcellene i enden av vevet ble farget magentarød som tyder på at de er PAS positive altså nøytral muciner (se figur 12). Videre ble det bestemt å gjenta forsøket med

preparater fra alle blokker, for å undersøke om mengden av nøytrale muciner som ble farget skyldes de blokkene som ble benyttet. Forøket ble gjentatt etter flere dager.

Resultatet til det gjentatte forsøket samsvarte ikke med resultatet som ble observert tidligere. Den skarpt blåe fargen var synlig rundt hele vevet i alle preparatene som ble brukt, men det var ingen omslag på den magentarøde fargen. Samme område i preparatet E fra forsøk 6 opprinnelig og fra forsøk 6 gjentatt ble sammenlignet under mikroskop, den magentarøde fargen ble ikke observert allikevel, dette kan skyldes at SCHIFF's reagens har blitt svekket (se figur 13).

SCHIFF er et lyssensitivt reagens, og dermed kan ikke utsettes for lys over lengere perioder. Reagenset ble helt i et mørkt kar, pakket med aluminiumsfolie og oppbevart inni skapet. Dette ble gjort for å ivareta reagenset, slik at den er holdbart til fargingen. Før fargingen hadde SCHIFF en veldig svak rosa farge, men den fungerte fint likevel. Etter et par forsøk ble reagenset kontrollert ved å dryppe en dråpe av SCHIFF's reagens sammen med en dråpe perjodsyre, hvor det ble observert farge endring. Ut fra dette ble det antatt at SCHIFFen fortsatt var holdbar og dermed gikk videre med å farge forsøk 6.

5.4.4 Forsøk 7 til 9

Forsøk 7, 8 og 9 ble utført parallelt med forsøk 6 gjentatt samme dag. Endringene i forsøk 7 var at tiden i perjodsyre ble endret fra 7 til 3 minutter. Forsøk 8 gikk ut på å endre tiden i perjodsyre fra 7 til 5 min, og stegene fra SCHIFF's og nedover ble det fulgt PAS farge prosedyre fra Ålesund sykehus. Endringene som ble utført i forsøk 9 var at tiden i perjodsyre ble endret fra 7 til 5 minutter, og preparatene ble inkubert i SCHIFF's reagens 10 minutter før de ble satt i mikrobølgeovn og videre ble de inkubert på benk i 5 min.

Forsøkene 7 til 9 hadde ingen omslag på den magentarøde fargen, noe som førte til mistanken og at SCHIFF's reagenset ble svekket. Reagenset ble sjekket for holdbarhet, og det ble observert at SCHIFFen har endret farge fra lys rosa til mørk rosa. Reagenset ble oppbevart i en mørk kar som er dekket med aluminiumsfolie inni skapet for ekstra beskyttelse, men likevel har reagenset endre farge etter at den har stått ute i flere dager. Ut ifra dette, ble det bestemt å ta i bruk en helt ny flaske med SCHIFF's reagens for videre farging.

5.4.5 Forsøker etter endring av SCHIFF`s reagens

5.4.5.1 Forsøk 10, og 11

Forsøkene 10 og 11 ble utført samme dag med ny SCHIFF`s reagens. Forsøk 10 var en gjentakelse av forsøk 6, som ble utført for å verifisere resultatene. Resultatene var det motsatte til de opprinnelige resultater fra forsøk 6. Den magentarøde fargen var tilstede i vevet, men ikke den skarpe blå fargen. Forsøk 11 gikk ut på å kjøre tre paralleller med samme metode, men inkuberingstiden etter mikrobølgeovnen varierer. Endringene gikk ut på å sette de tre snittene 5 minutter i perjodsyre, videre føres preparatene til SCHIFF`s reagens, 70 sekunder i mikrobølgeovnen og inkuberes på benk i 3, 5 og 10 min. Inkuberingstiden hadde en merkelig virkning på resultatet, jo lenger preparatene ble inkubert jo mørkere ble fargen. Den skarpe blå fargen var ikke tilstede, på samme måte som den var i forsøk 10.

Fravær av den skarpe blå fargen, førte til mistanke på at reagenset kan være svekket. Dermed ble det bestemt alle reagensene som inngår AB-PAS fargemetoden skulle skiftes ut med ferskere reagenser. Hensikten var å eliminere fargereagenser som en mulig årsak til mislykket resultat.

5.4.6 forsøk med helt ferske reagenser:

5.4.6.1 Forsøk 12 til 15

Det første forsøket etter at reagensene ble byttet (forsøk 12 i vedlegg 1), var å gjenta den standard fargeprosedyren fra Ålesund sykehus. Dette ble gjort for å se om SCHIFF-reagenset hadde noe påvirkning på det opprinnelige resultatet som ble oppnådd med den standard fargeprosedyren. Resultatet var det motsatte i forhold til første gangen, hvor den skarpe blå fargen endret seg til lilla. Dette blir diskutert mer i forsøk 16.

Det andre forsøket (forsøk 13 i vedlegg) gikk ut på å gjenta forsøk 11, av samme grunn. I tillegg til dette, ble inkuberingstiden endret til 5, 7 og 10 minutter. Fargen var sterkere sammenlignet med resultatet i forsøk 11 opprinnelig, noe som støtter hypotesen som ble satt i forsøk 11: jo mer inkuberingstiden er, jo mer intens blir fargen.

De neste to forsøkene (forsøk 14, og 15 i vedlegg) gikk ut på å droppe Hematoxylin. Dette ble gjort for å få bedre kontrast, og muligens få fram den skarpe blå fargen. Endringer som ble gjort i forsøk 14 utenom å droppe Hematoxylin, var 5 minutter i perjodsyre. Den eneste endringen ved forsøk 15 i forhold til den standard prosedyren, var å droppe det siste steget med

Hematoxylin. Resultatet av de to forsøkene var ganske like. Det ble observert at mucinene hadde to forskjellige farger, magentarød og mørk lilla. Noe som viser at begge typer muciner er tilstede. Det antas at nøytrale muciner har tatt den mørk lilla fargen. En mulig årsak til dette kan være at SCHIFFen har maskert over den skarpe blåe fargen. Andre komponenter i vevet fikk en rosa farge.

5.4.6.2 Forsøk 16

Det siste forsøket som ble utført ved dette prosjektet, var å bytte om stegene med SCHIFF's reagens og Alcian Blå for å se om det er mulig å eliminere maskering, dermed oppnå den skarpe blå fargen. Først ble preparatene satt 5 minutter i perjodsyre, skylles i destillert vann, 10 minutter i SCHIFF's reagens før de bli skylt 10 til 15 minutter i lunkent vann. Deretter føres preparatene til Alcian Blå før de ble skylt i vann. Steget med Hematoxylin ble droppet. Resultatet fra dette forsøket var motsatt av resultatene i forsøk 14 og 15, hvor resten av vevet fikk en skarp blå farge. Her ble det observert at det var to type muciner i vevet, som hadde to forskjellige farger, magenterød og mørk blå. Det antas at de mucinene som tok den mørk blåe fargen til å være sure muciner. Dette kan skilles at SCHIFFen kunne ha maskert over likevel. Men det som skiller dette forsøket fra de andre forsøkene som ble utført, var at kontrasten her er mye bedre. Noe som gjorde det lettere å delfinansiere mellom de to type muciner (se figur 14 og 15).

Tabell 9 oppsettet til forsøk 16

REAGENS	VARIGHET
1% Perjodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Alcian Blå	10 min
Skylles i vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – Xylen - monteres	

6.0 Konklusjon:

Målet med denne oppgaven var å se “Hvilket material er best egnet ved optimalisering av AB-PAS fargemetode – ferskt eller nedfrosset gjellevev?”. Ved å benytte HES fargemetoden, var det mulig å se nærmere på morfologien, noe som gjorde det lettere å bestemme hvilket material som hadde best morfologisk kvalitet. I det ferske gjellevevet var morfologien bedre enn i den nedfrosne. Noe som understreker at det ferske materiale er best egne til å bruke videre ved optimalisering av AB-PAS til farging av mucin.

Ved optimalisering av AB-PAS ble det utført 16 forsøk, hvor kun to av forsøkene ga gode resultater – forsøk 6 og 16. Hvor i forsøk 6 var det tilstedeværelse av fargene magentarød og skarp blå, altså forventet resultat. Likevel var mengden nøytrale muciner som tok fargen begrenset, noe som gir rom for videre bearbeiding for å oppnå et optimalt resultat. Ved å gjenta forsøket med helt ferske reagenser for å verifisere resultatet. Resultatet i forsøk 16 viste at det var flere nøytrale muciner som tok den magentarøde fargen. Muciner som ble farget mørk lilla antas til å være sure muciner, muligens den skarpe blåe fargen ble erstattet med en mørk lilla farge. Ut fra resultatene i forsøk 16 kan en anta at SCHIFF's reagenset har maskert over den skarpe blå fargen. Det er nødvendig å jobbe videre med nye forsøk for å verifisere funnene fra dette forsøket. Muligens farge et preparat fra samme blokk med AB-fargemetoden, og sammenligne det med preparatet fra forsøk 16. På denne måten kan en verifisere om SCHIFF's reagenset har virkelig maskert over den skarpe blåe fargen eller ikke, og tar det som utgangspunkt for videre arbeid.

Det anbefales å starte med helt nye reagenser for å eliminere usikkerhet rundt holdbarhet, spesielt SCHIFF's reagenset. Dersom det ble brukt helt ferskt SCHIFF's reagens i dette prosjektet tidlig, så kunne en har hatt et annet perspektiv. Hvor endringen utføres med tanke på å få fram den skarpe blå fargen, altså justere tiden i Alcian Blå og eventuelt erstatte reagenset med varierende pH. For videre prosjekter anbefales det også å bruke en syk eller stresset fisk, hvor gjellevevet ble tatt og fiksert direkte uten nedfrysning, altså ferskt materiale.

6.1 Forslag

Siden optimaliseringen av AB-PAS ikke gikk som forventet foreslår vi å teste nye forsøk der man bruker Alcian Blå og PAS fargemetodene vær for seg. Ved å bruke vevsmateriale fra en og sammen vevsblokk, der ett snitt farges med PAS og ett med Alcian Blå. På denne måten kan man sammenligne resultatene parallelt under mikroskopet. Og kanskje da greie å differensiere mellom de ulike mucinene.

7.0 Kilder

1. Marcos-López M, Calduch-Giner JA, Mirimin L, MacCarthy E, Rodger HD, O'Connor I, et al. Gene expression analysis of Atlantic salmon gills reveals mucin 5 and interleukin 4/13 as key molecules during amoebic gill disease. *Scientific reports*. 2018;8(1):13689–15.
2. Adams MB, Nowak BF. Distribution and structure of lesions in the gills of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., affected with amoebic gill disease. *Journal of fish diseases*. 2001;24(9):535–42.
3. Ip YK, Chew SF. Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: A review. *Frontiers in physiology*. 2010; 1:134–134.
4. Adams MB, Nowak BF. Experimental amoebic gill disease of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: further evidence for the primary pathogenic role of *Neoparamoeba* sp. (Page, 1987). *Journal of fish diseases*. Received: 4 September 2003 Revision received: 8 December 2003 Accepted: 9 December 2003. 2004;27(2):105–13.
5. Yourarticlelibrary. Structure of Gills in Fishes (With Diagram) [Internet]. [cited 2022 19.03]. Available from: <https://www.yourarticlelibrary.com/fish/anatomy-and-physiology/structure-of-gills-in-fishes-with-diagram/88222>
6. Haugarvoll E, Bjerkås I, Nowak BF, Hordvik I, Koppang EO. Identification and characterization of a novel intraepithelial lymphoid tissue in the gills of Atlantic salmon. *Journal of anatomy*. 2008;213(2):202–9.
7. Wang D, De Becker D, Roy A. Ultrasonically Assisted Cutting of Histological Sections for Reducing the Environmental and Financial Impact of Microtomy. *Chinese journal of mechanical engineering. English ed.* 2022;35(1):1–7.
8. Rességuier J, Dalum AS, Pasquier, Du, Louis, Zhang Y, Koppang EO, Boudinot P, et al. Lymphoid tissue in teleost gills: Variations on a theme. *Biology (Basel, Switzerland)*. 2020;9(6):1–14.
9. Perry SF. The chloride cell: Structure and function in the gills of freshwater fishes. *Annual review of physiology*. 1997;59(1):325–47.
10. Avdeling for biologiske fag ved NTNU Ålesund. Kompendium i histokjemiske farge tekniker. [Internet] [cited 2022 1.05]. Available from: <https://learn-eu-central-1-prod-fleet01-xythos.content.blackboardcdn.com/5def77a38a2f7/1506623?X-Blackboard-Expiration=1652994000000&X-BlackboardSignature>

11. Myers R. *Special Stain Techniques for the Evaluation of Mucins* [Internett]. [cited 2022 27.03]. Available from: <https://www.yourarticlelibrary.com/fish/anatomy-and-physiology/structure-of-gills-in-fishes-with-diagram/88222>
12. Bancroft JD, Gamble M, red. *Theory and Practice of Histological Techniques*. London: Churchill Livingstone; 2008. 725 s.
13. Fernandez C, Mascolo D, Monaghan SJ, Baily JL, Chalmers L, Paladini G, et al. *Methacarn preserves mucus integrity and improves visualization of amoebae in gills of Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. *Journal of fish diseases*. 2019;42(6):883–94.
14. Wiik J, Alm B. *Histokjemi og histopatologiske teknikker*. Kompendium NTNU i Ålesund.5. utgave. Ålesund; 2000.
15. Hilde Guttormsen. *HES fargemetode med Leica ST5020 Multistainer, ID 13635- EQS [Prosedyre]*. Avdeling for patalogi biokjemi. EQS Helse Møre og Romsdal: Ålesund sykehus; 2020.
16. Hilde Guttormsen. *AB-PAS, ID 10543- EQS [Prosedyre]*. Avdeling for patalogi biokjemi. EQS Helse Møre og Romsdal: Ålesund sykehus; 2020
Hilde Guttormsen. *Alcian Blå, ID 10550- EQS [Prosedyre]*. Avdeling for patalogi biokjemi. EQS Helse Møre og Romsdal: Ålesund sykehus; 2020.
17. Hilde Guttormsen. *PAS, ID 2426- EQS [Prosedyre]*. Avdeling for patalogi biokjemi. EQS Helse Møre og Romsdal: Ålesund sykehus; 2020.
18. Fernandez C, Mascolo D, Monaghan SJ, Baily JL, Chalmers L, Paladini G, et al. *Methacarn preserves mucus integrity and improves visualization of amoebae in gills of Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. *Journal of fish diseases*. 2019;42(6):883–94.
19. Johannes M-L, Klessen C. *Alcianblue/PAS or PAS/alcianblue?: remarks on a classical technic used in carbohydrate histochemistry*. *Histochemistry (Berlin)*. 1984;80(2):129–32.
20. Yamabayashi S. *Periodic acid - Schiff - Alcian blue: A method for the differential staining of glycoproteins*. *The Histochemical journal*. 1987;19(10-11):565–71.
21. MOGHEN R, HALGUNSET J. *RNA-kvalitet i vevsprøve [Internett]*. Institutt for laboratoriemedisin, barne- og kvinnesykdommer, Det medisinske fakultet NTNU: bioingeniøren; 2015 [updated 14.april .2017; c cited 2022 17. April]. Available from: <https://www.bioingenioren.no/fag/fag-originalartikkel/rna-kvalitet-i-vevsprover/>

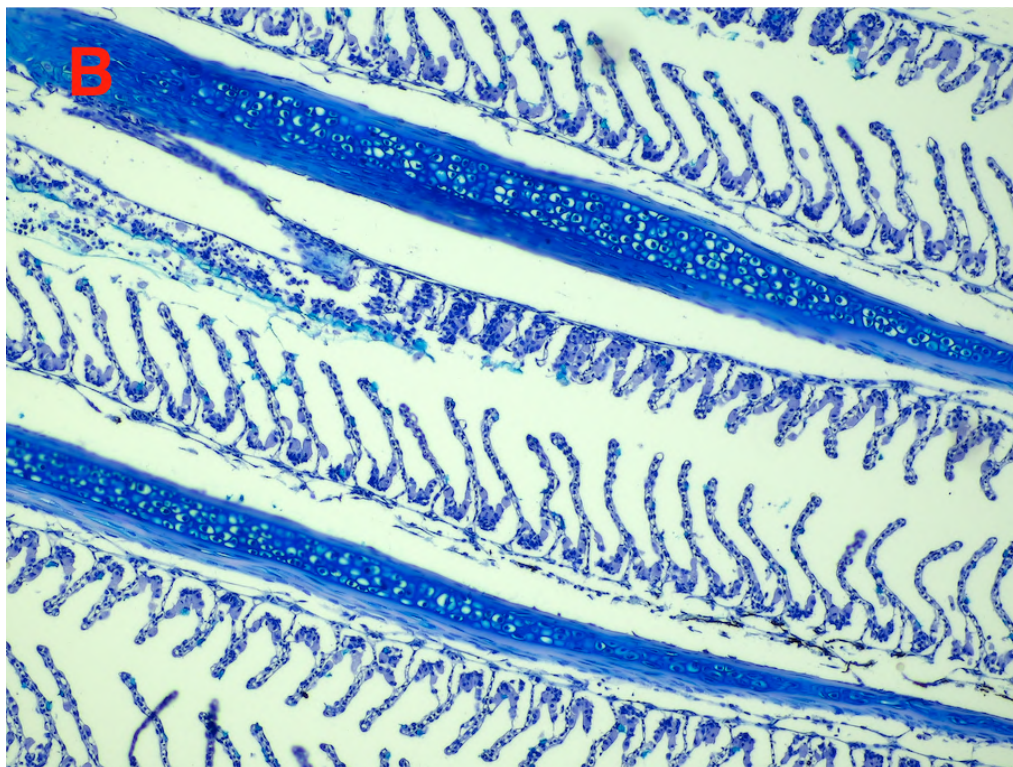
22. *Store norske leksikon. muciner [Internett]. Store norske leksikon; 2019 [updated 14. mai .2019; cited 2022 16.2.]. Available from: <https://snl.no/muciner>*
23. *Store norske leksikon. muciner [Internett]. Store norske leksikon; 2017 [updated 24. August .2017; cited 2022 27.4.]. Available from: [https://snl.no/morfologi - biologi](https://snl.no/morfologi_-_biologi)*
24. *Hervik S. optimalisere [Internett]. Universitetet i Stavanger: Store norske leksikon; 2018 [updated 20.february .2018; cited 2022 1.05.]. Available from: <https://snl.no/optimalisere>*

Vedlegg 1: Tabeller og figurer til alle gjennomførte forsøk.

FORSØK 1

Tabell 1 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 1

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	7 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	20 min
Skylles i lunkent vann	15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	

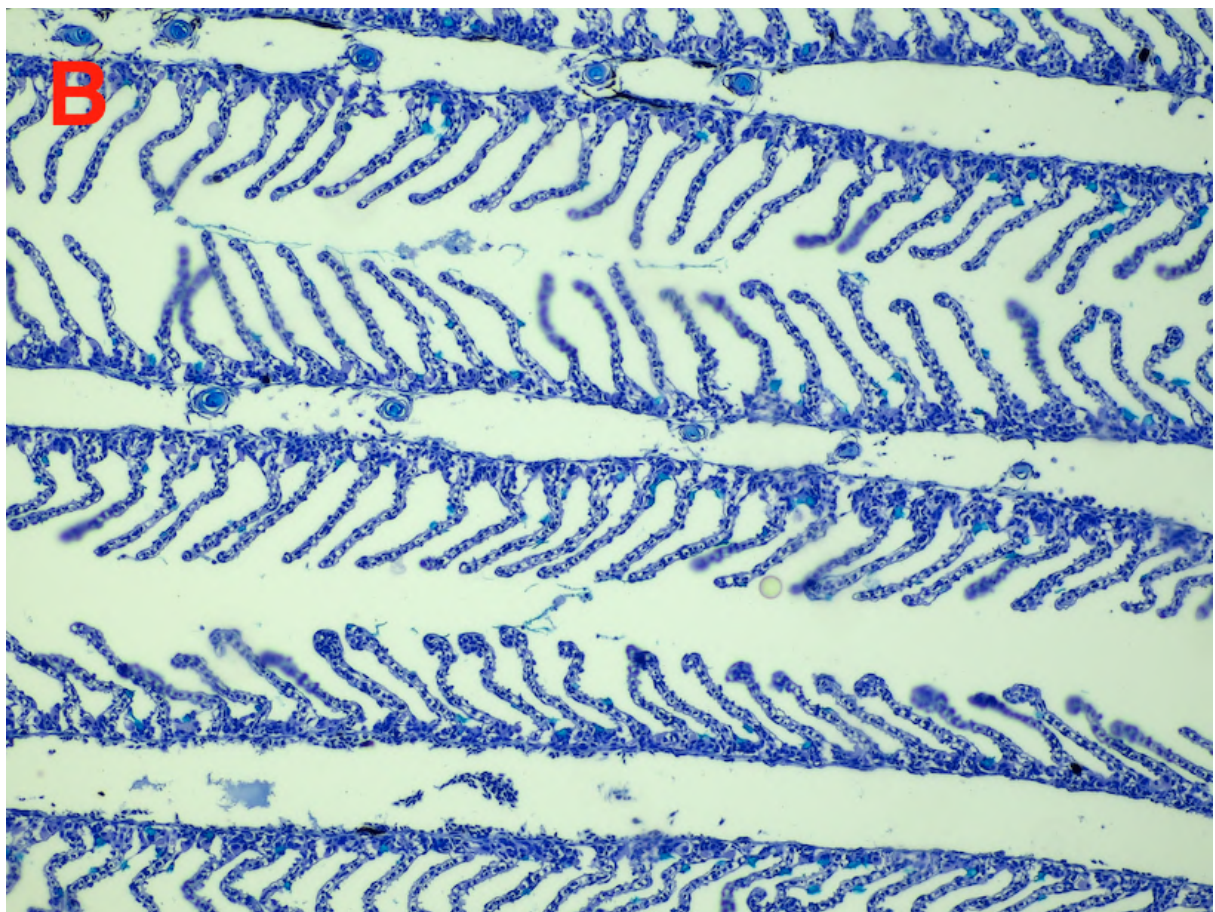


Figur 1 viser et preparat fra blokk B farget med forsøk 1

FORSØK 2

Tabell 2 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 2

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	10 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	15 min
Skylles i lunkent vann	15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	

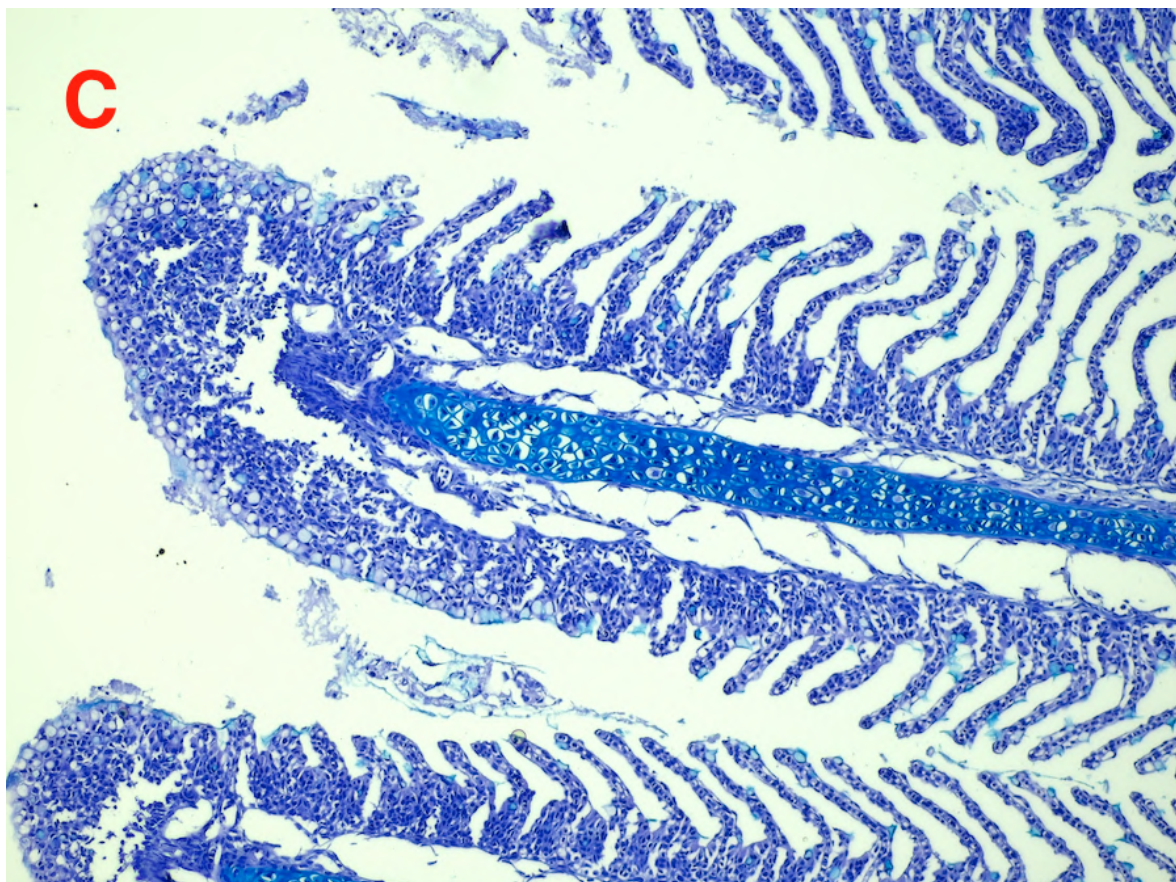


Figur 2 viser et preparat fra blokk B farget med forsøk 2

FORSØK 3

Tabell 3 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 3

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	5 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	7 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	I mikro. i 30 sek.
Inkuberes på benk	3 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen – monteres	

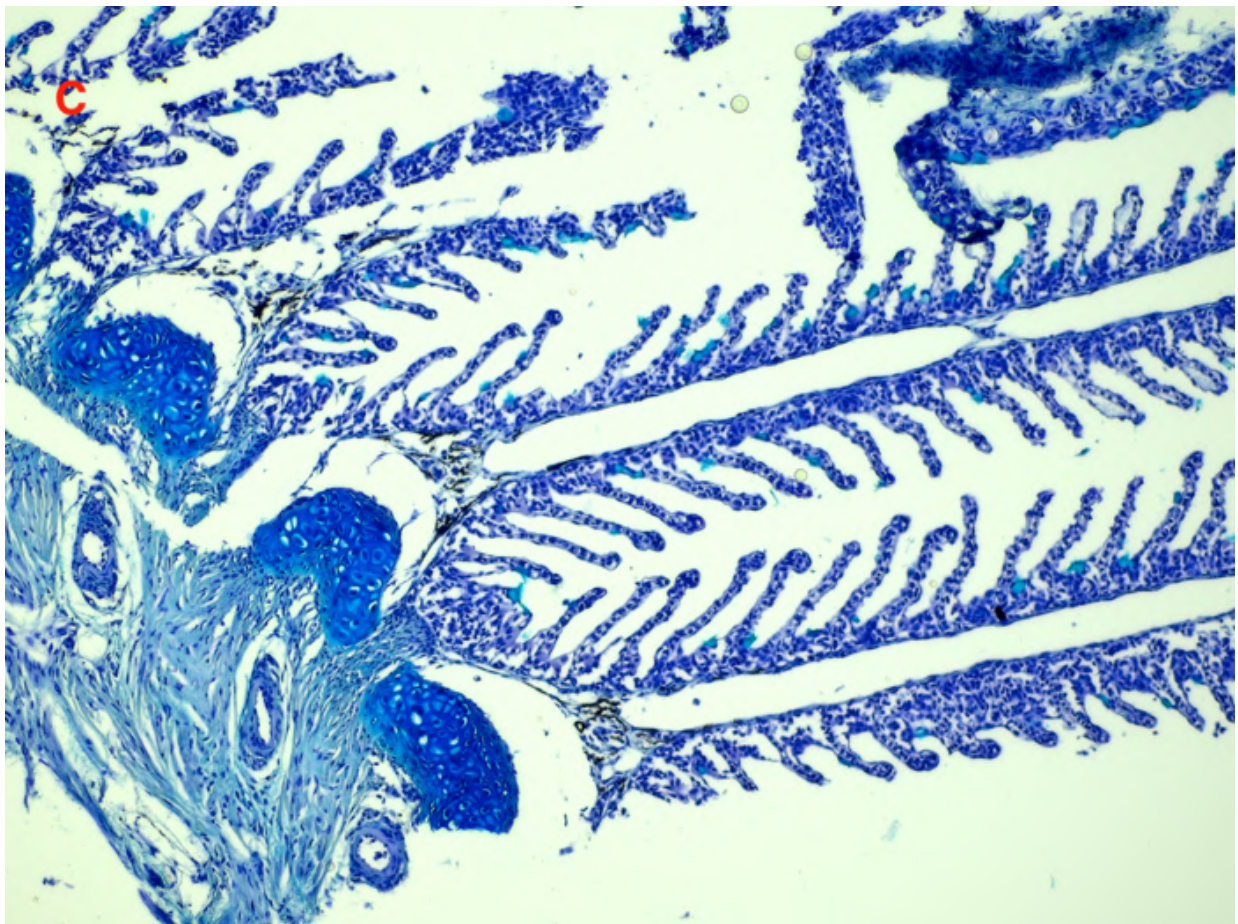


Figur 3 viser et preparat fra blokk C farget med forsøk 3

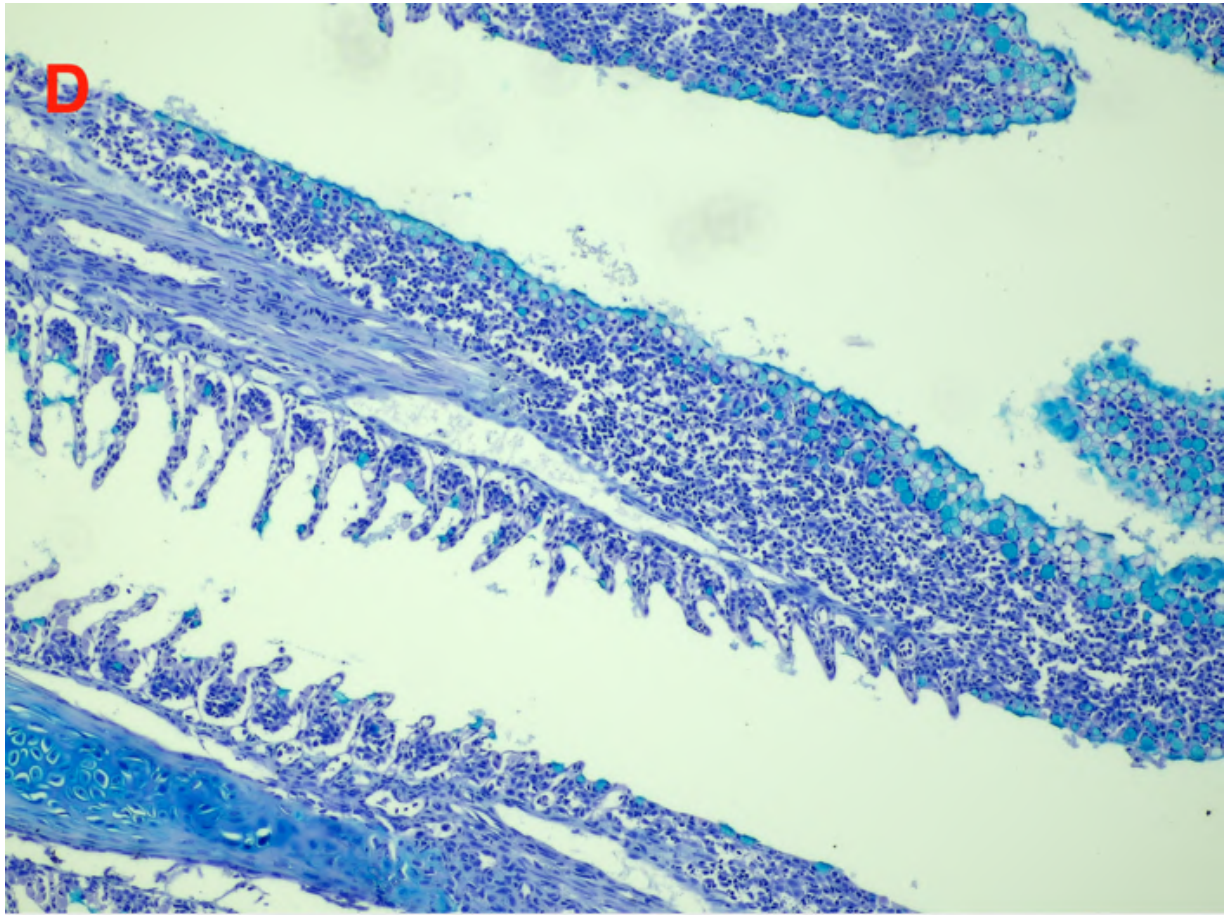
FORSØK 4

Tabell 4 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 4

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	20 min
Skylles i lunkent vann	10 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen – monteres	



Figur 4 viser et preparat fra blokk C farget med forsøk 4

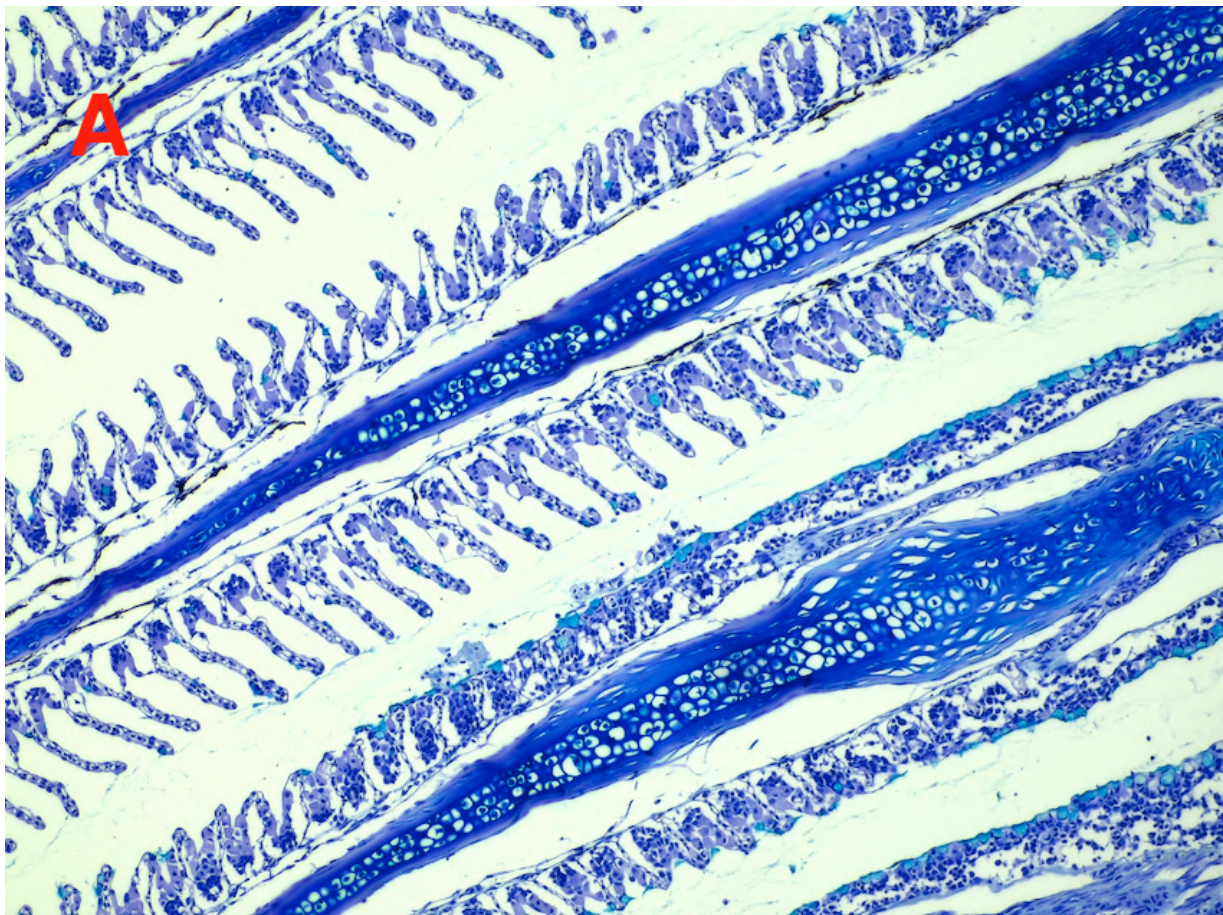


Figur 5 viser et preparat fra blokk D farget med forsøk 4

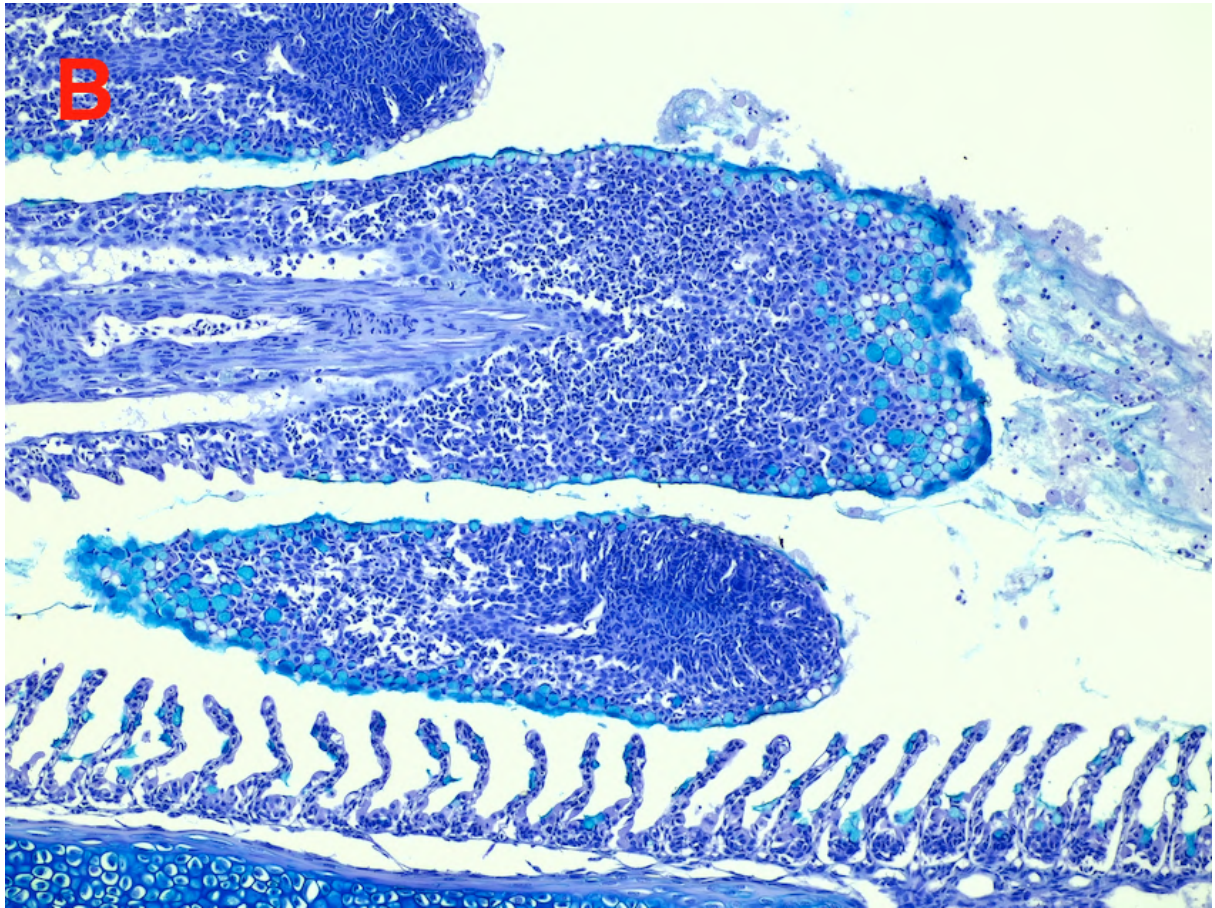
FORSØK 5

Tabell 5 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 5

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	5 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	20 min
Skylles i lunkent vann	10 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen – monteres	



Figur 6 viser et preparat fra blokk A farget med forsøk 5

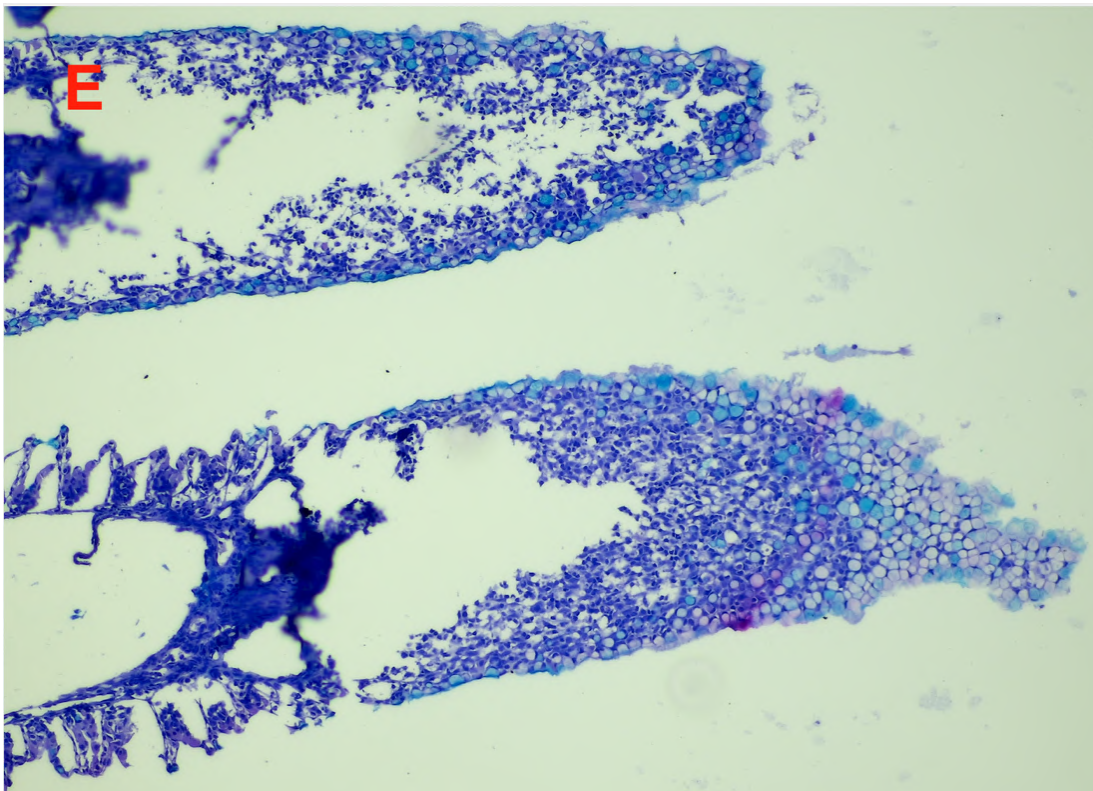


Figur 7 viser et preparat fra blokk B farget med forsøk 5

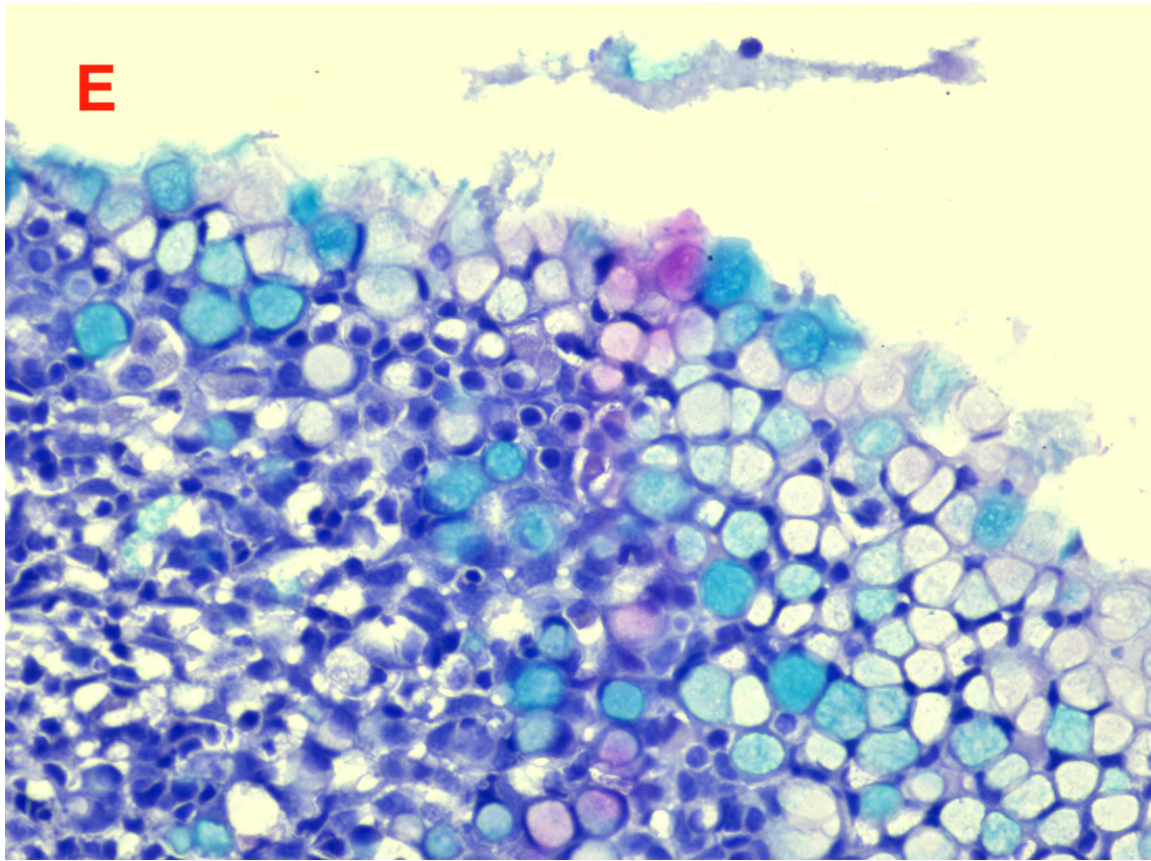
FORSØK 6

Tabell 6 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 6

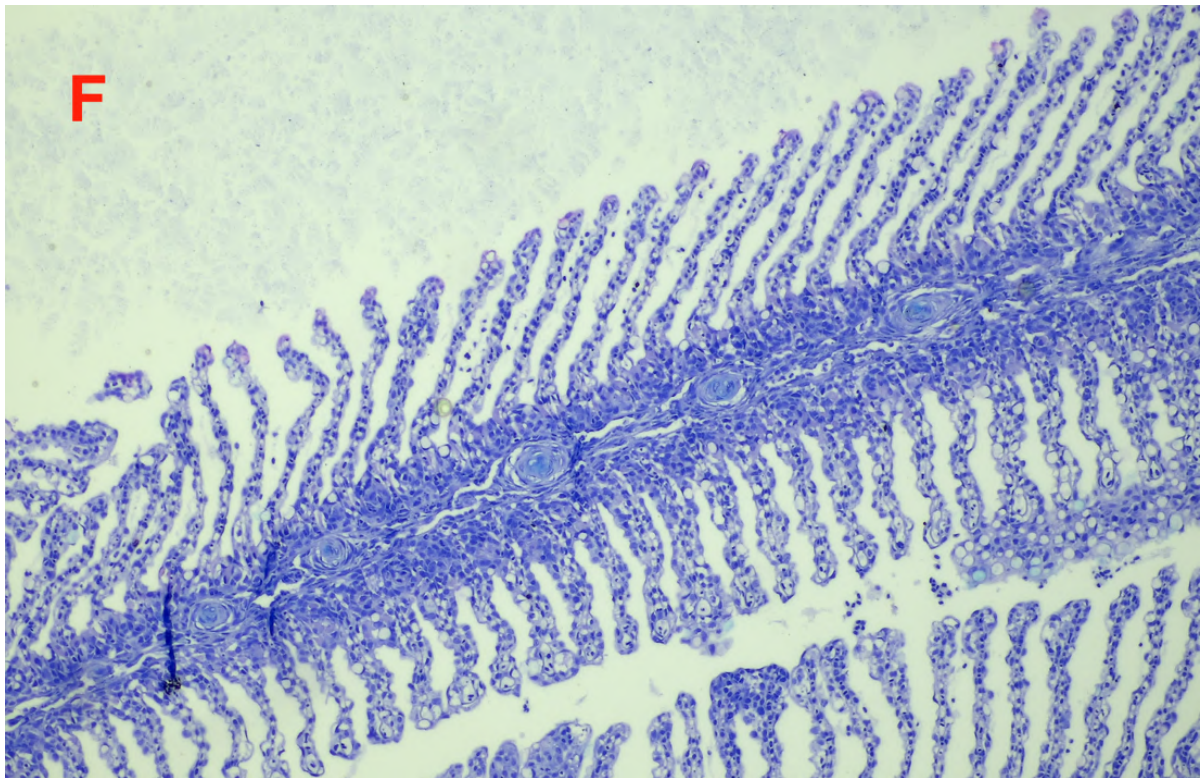
REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	5 min
Settes i mikrobølgeovn	20 sek
Inkuberes på benk	3 min
Skylles i lunkent vann	10 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen – monteres	



Figur 8 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 6

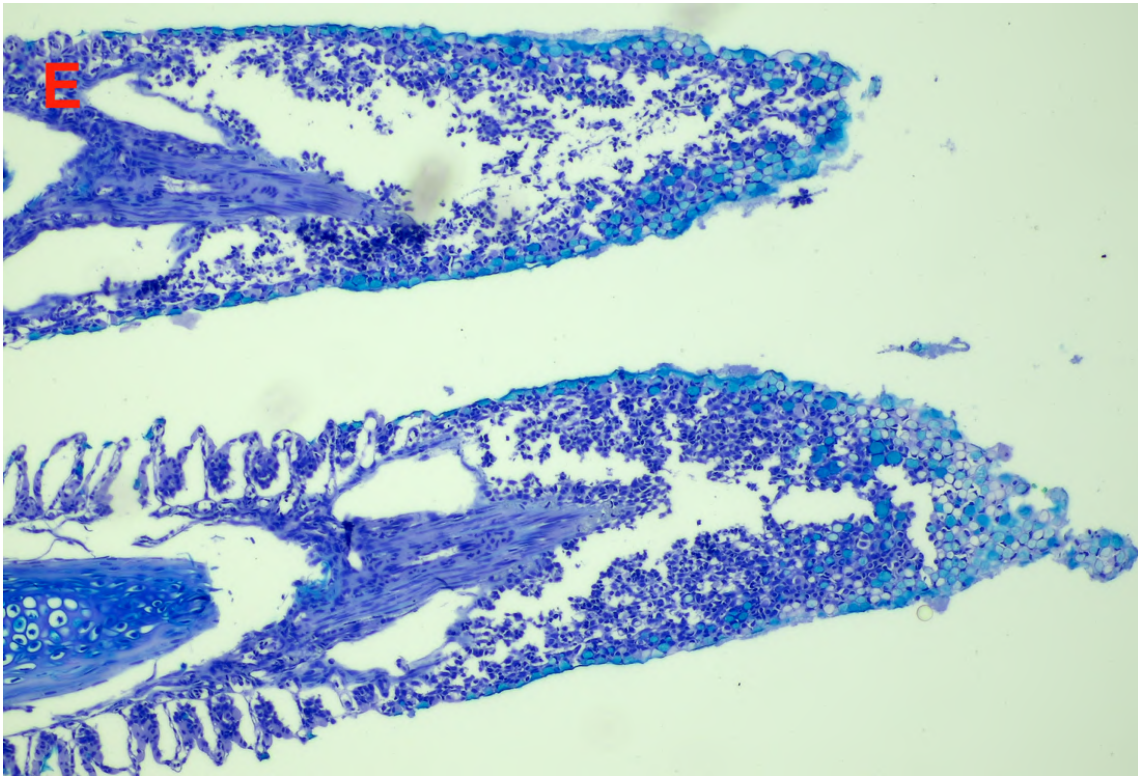


Figur 9 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 6

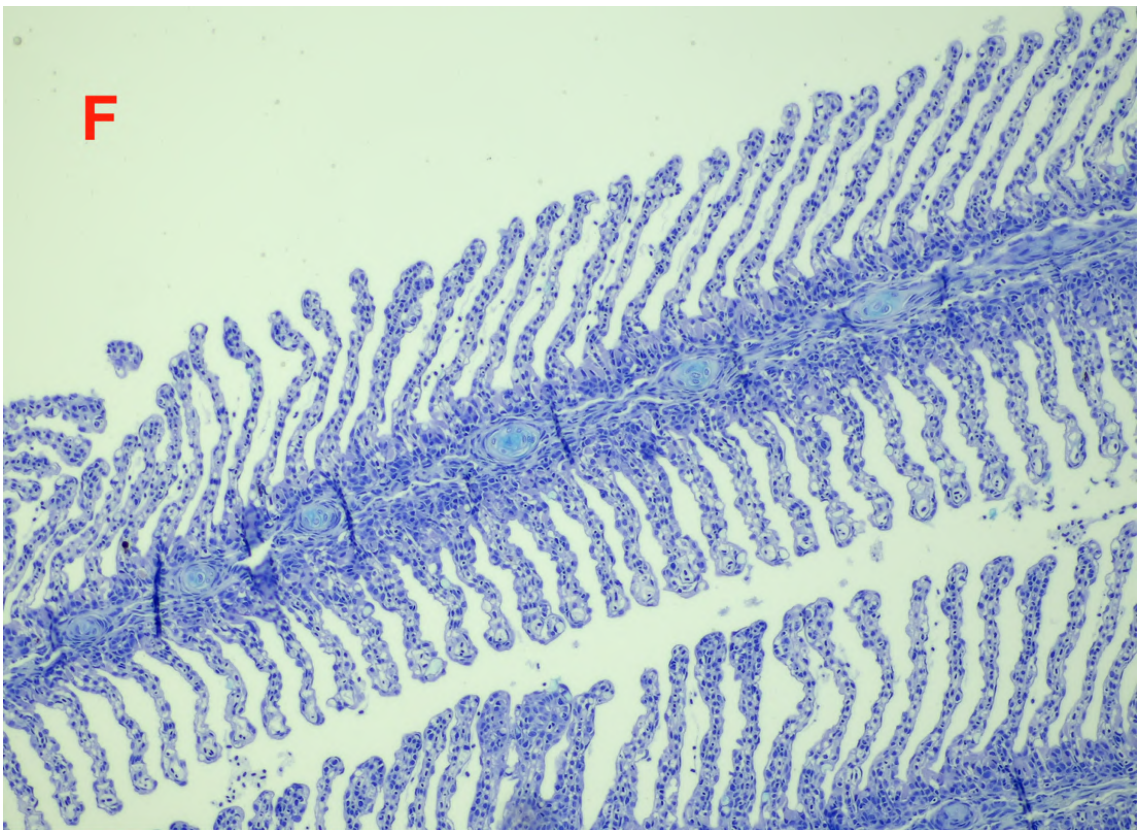


Figur 10 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 6

Forsøk 6 gjentatt (SCHIFF's reagensen er ikke holdbar)



Figur 11 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 6 gjentatt

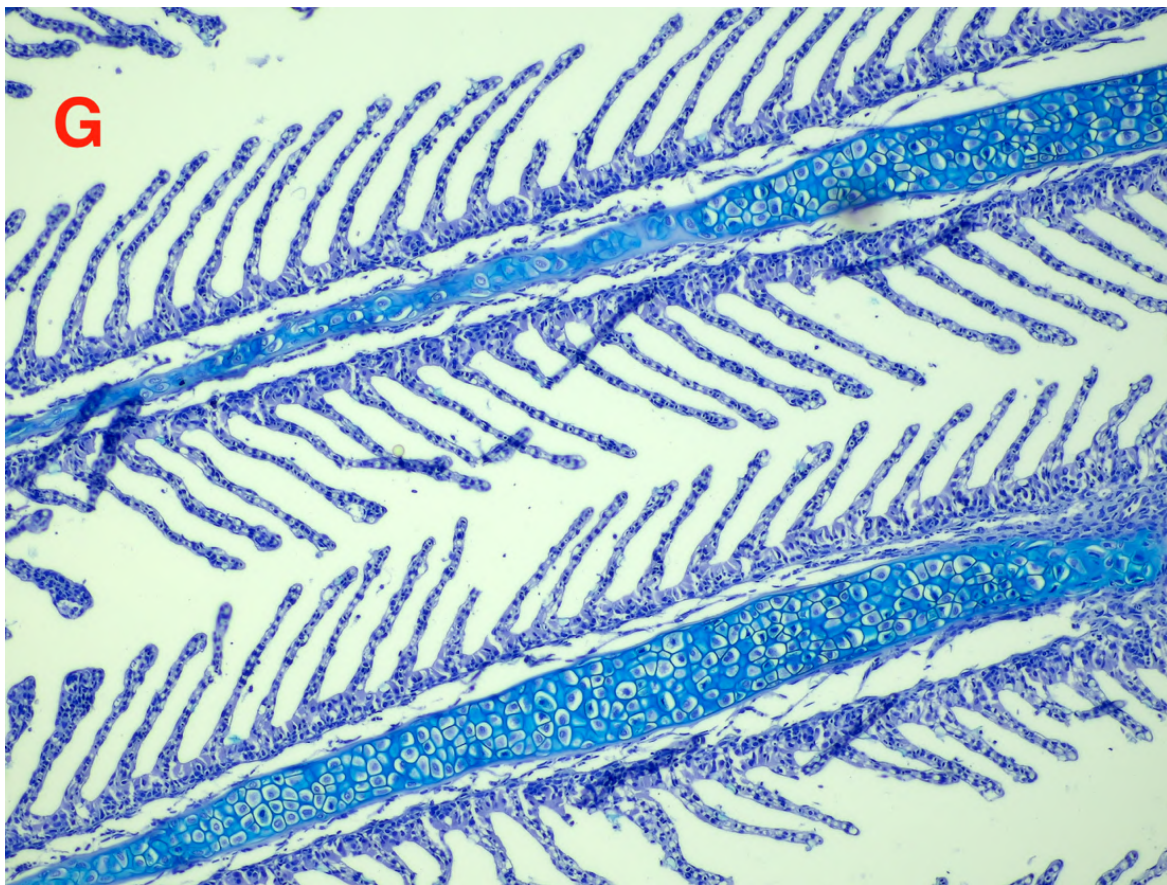


Figur 12 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 6 gjentatt

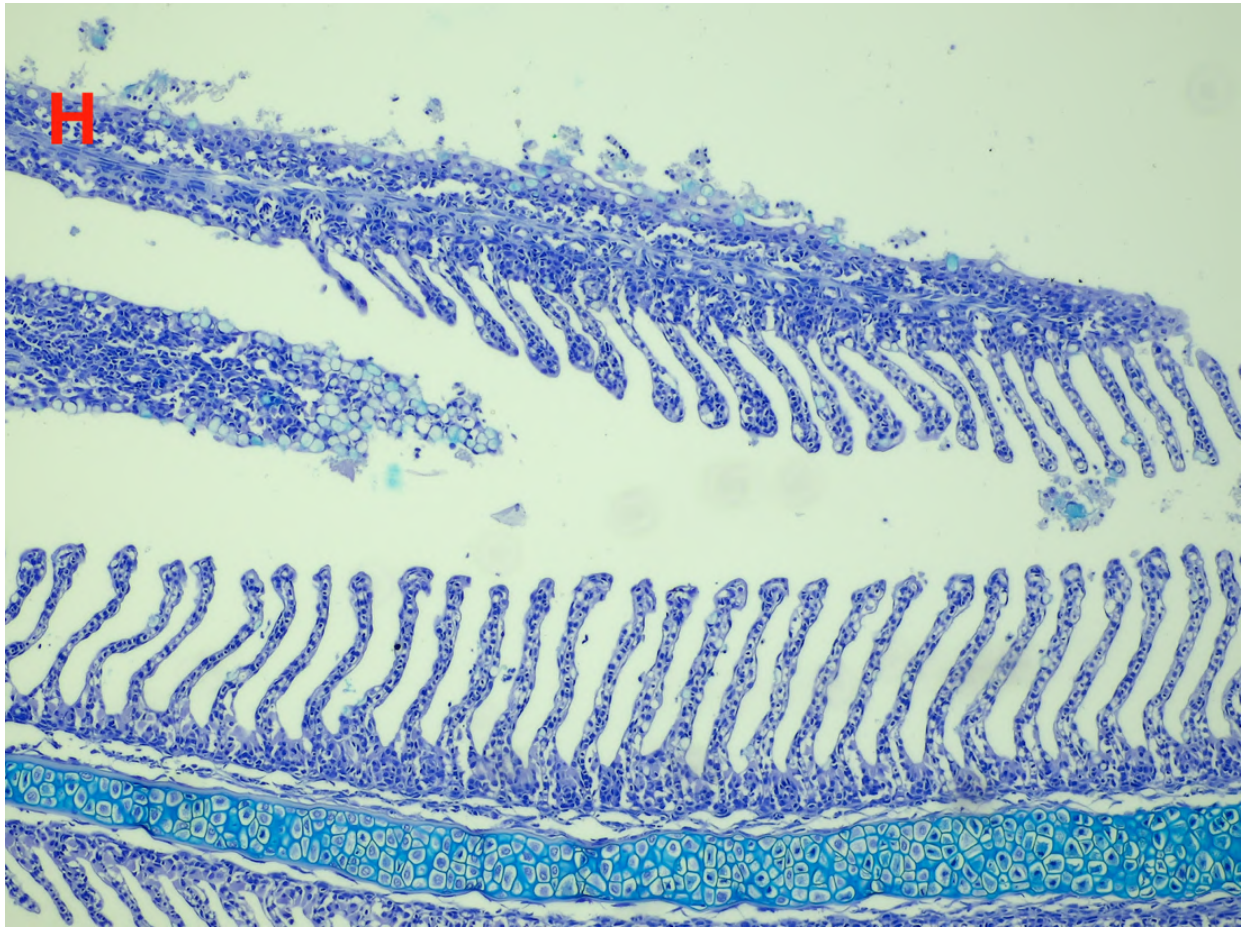
FORSØK 7

Tabell 7 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 7

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	3 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	30 sek
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen – monteres	



Figur 13 viser et preparat fra blokk G farget med forsøk 7

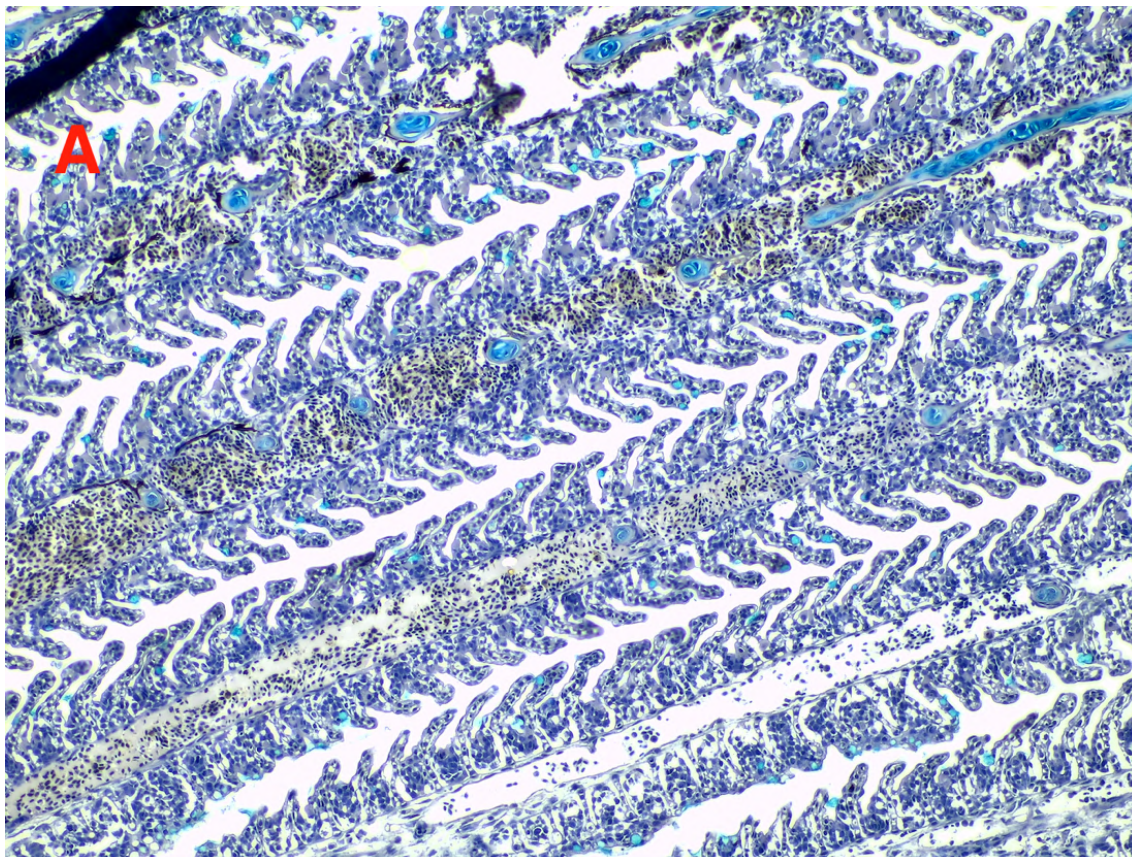


Figur 14 viser et preparat fra blokk H farget med forsøk 7

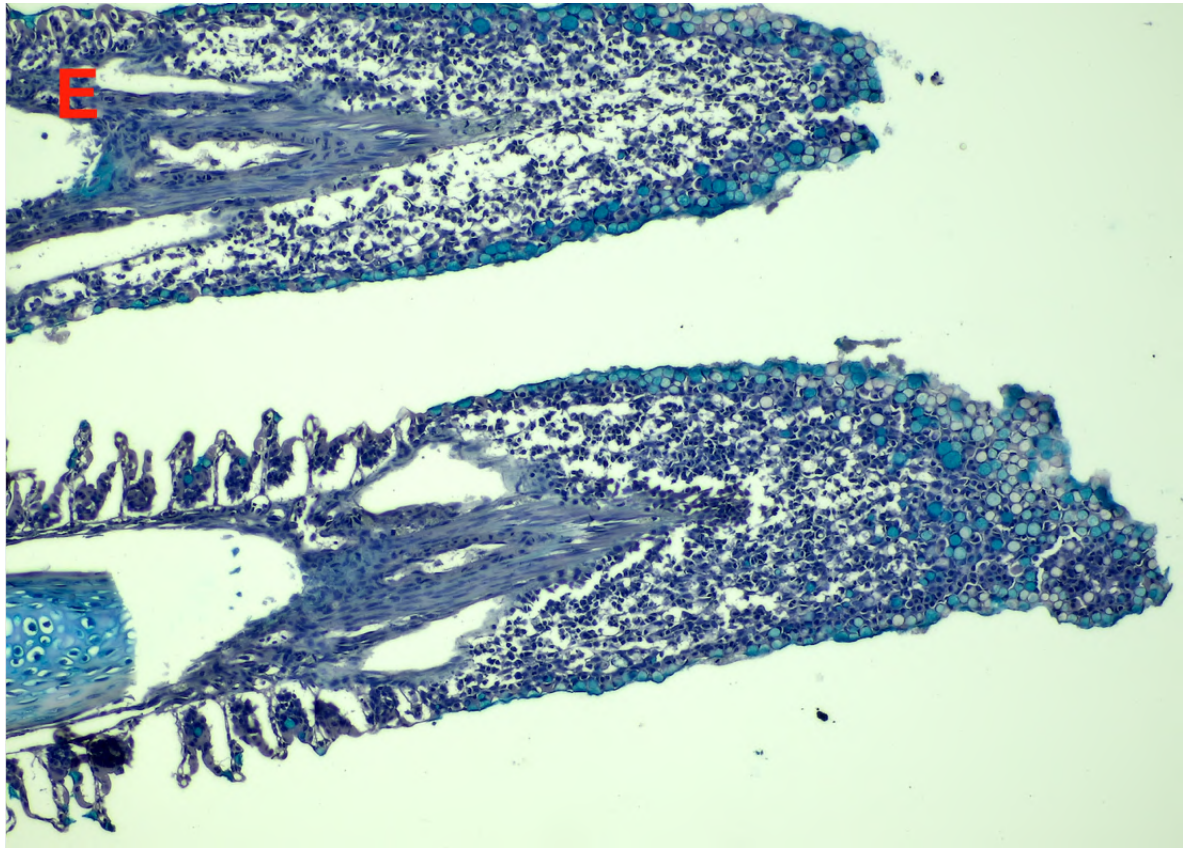
FORSØK 8

Tabell 8 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 8

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	Settes i mikro. 30 sek.
Inkuberes på benk	3 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Hematoxylin Mayers	4-5 min
Blånes i varmt vann	5 min
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen – monteres	



Figur 15 viser et preparat fra blokk A farget med forsøk 8

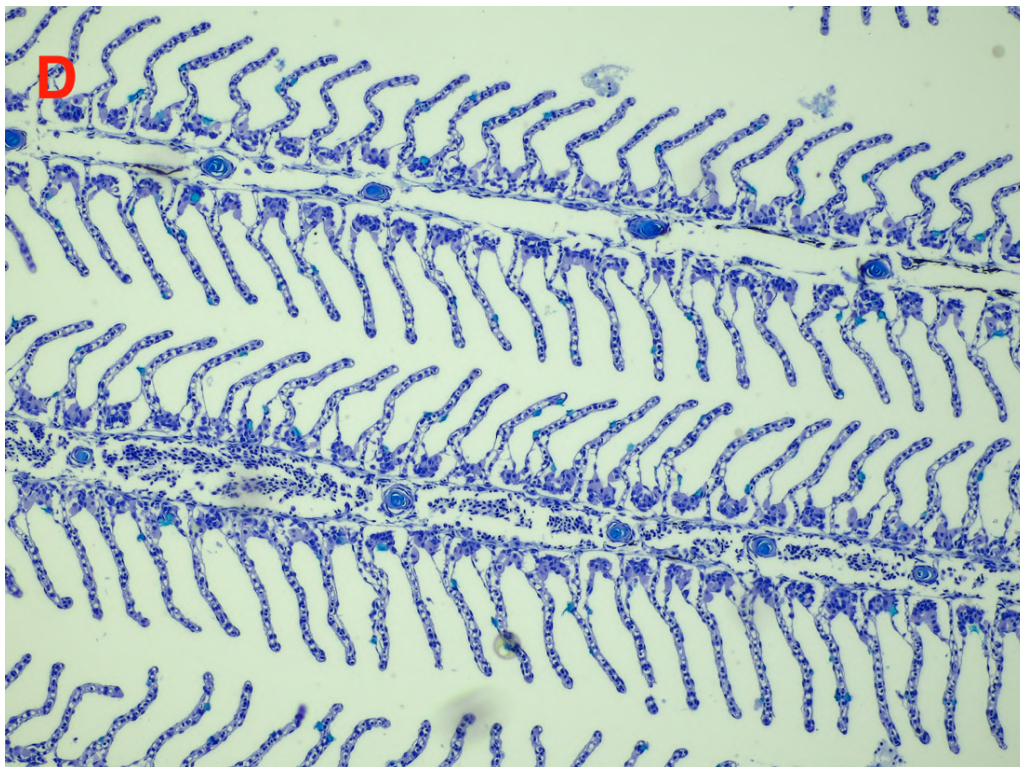


Figur 16 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 8

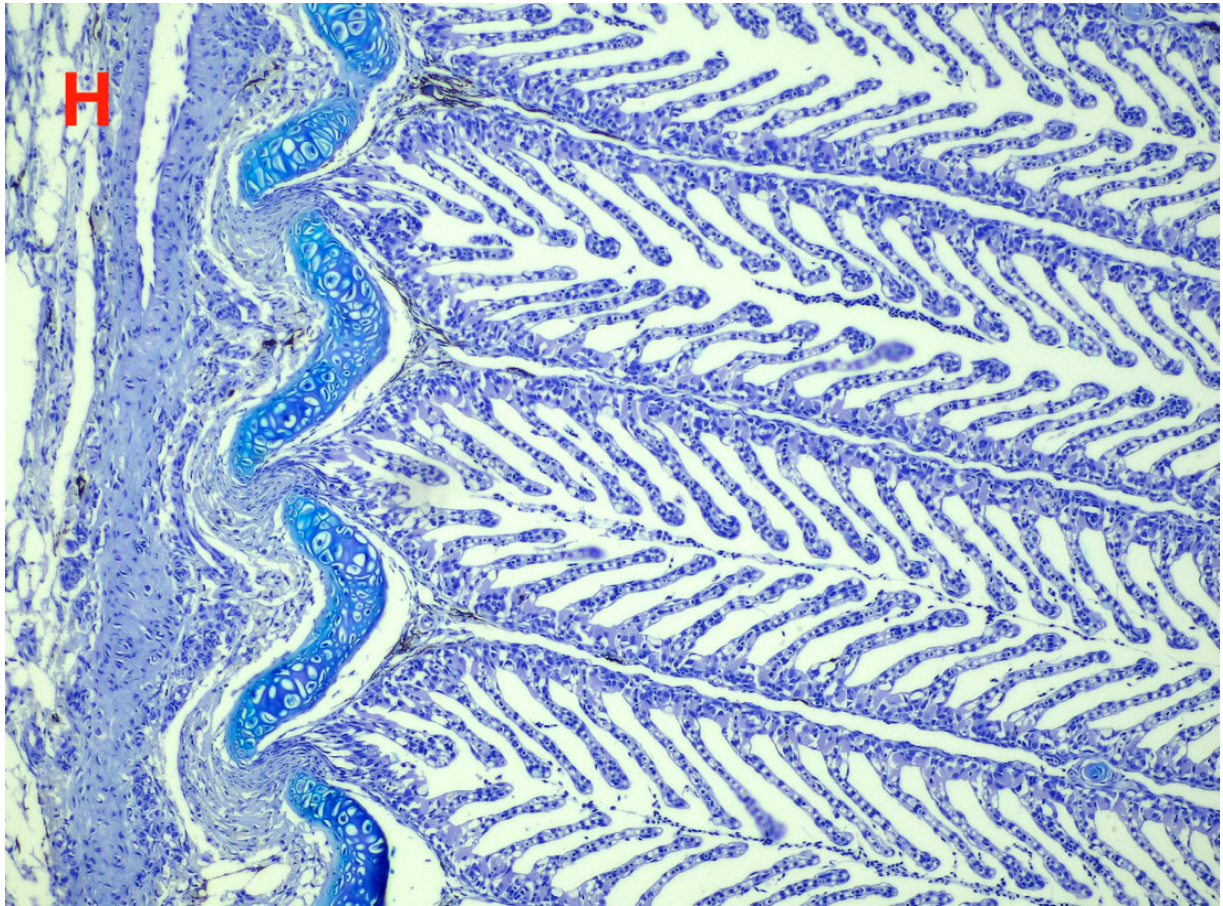
FORSØK 9

Tabell 9 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 9

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skyllles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skyllles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Settes i mikrobølgeovn	20 sek
Inkuberes i benk	5 min
Skyllles i lunkent vann	10 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i lunket vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



Figur 17 viser et preparat fra blokk D farget med forsøk 9

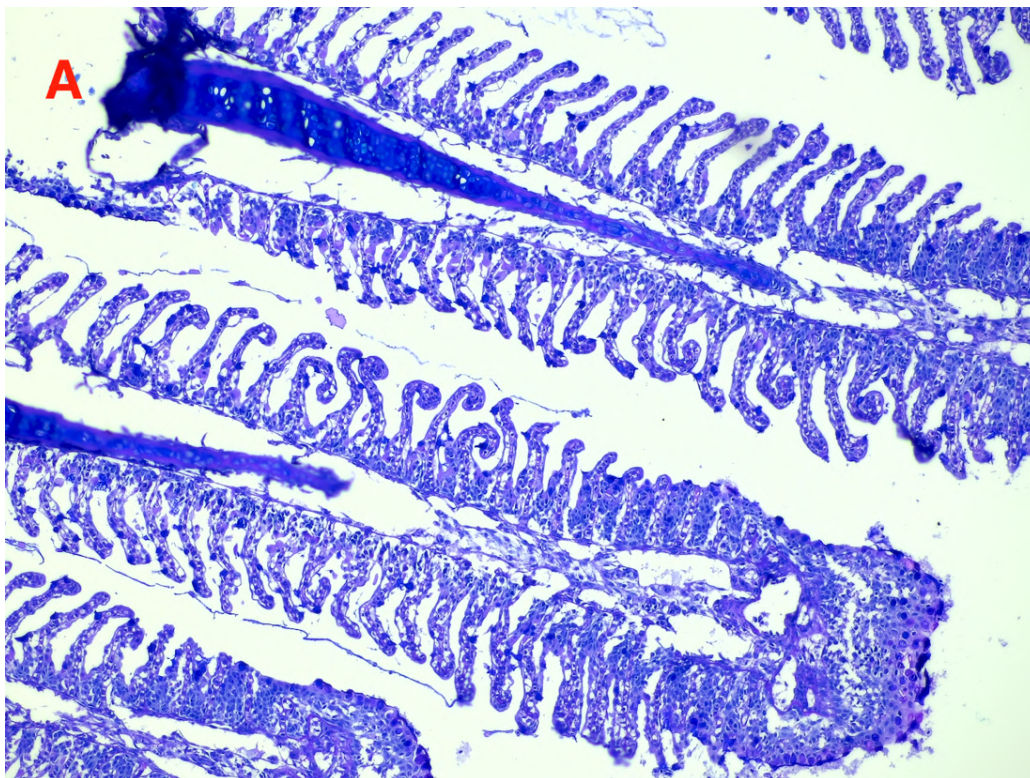


Figur 18 viser et preparat fra blokk H farget med forsøk 9

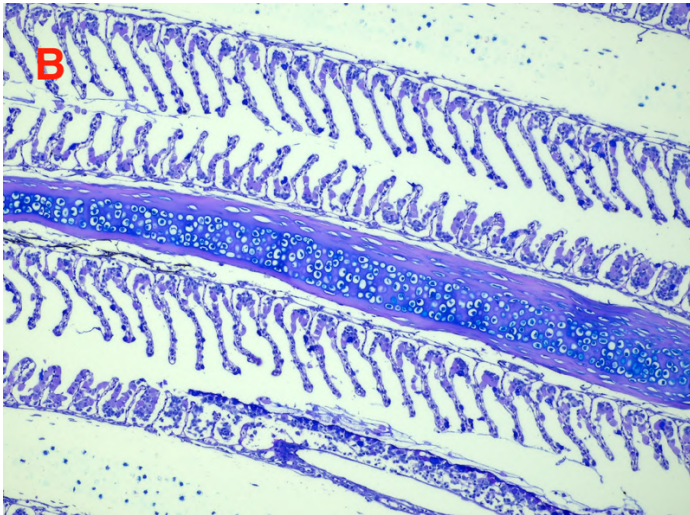
FORSØK 10

Tabell 10 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 10 (forsøk 6 med ny SCHIFF's reagens)

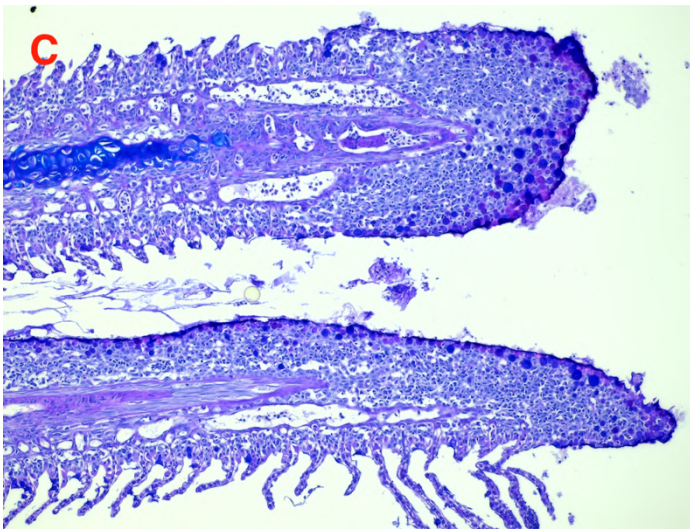
REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	5 min
Settes i mikro bølgeovn	20 sek
Inkuberes på benk	3 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i lunkent vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



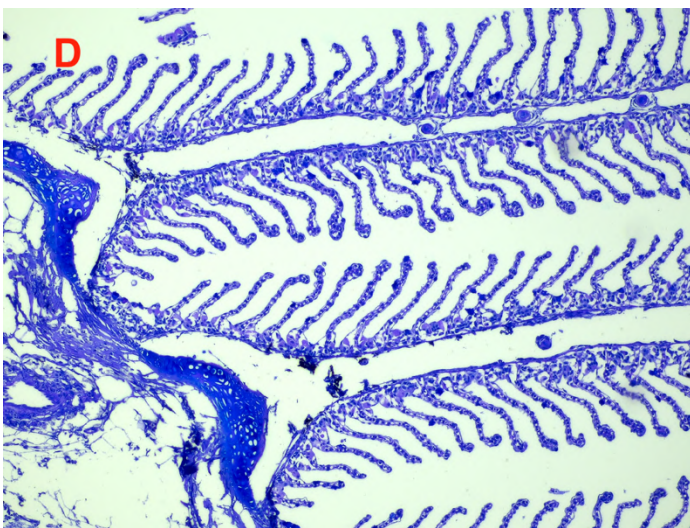
Figur 19 viser et preparat fra blokk A farget med forsøk 10



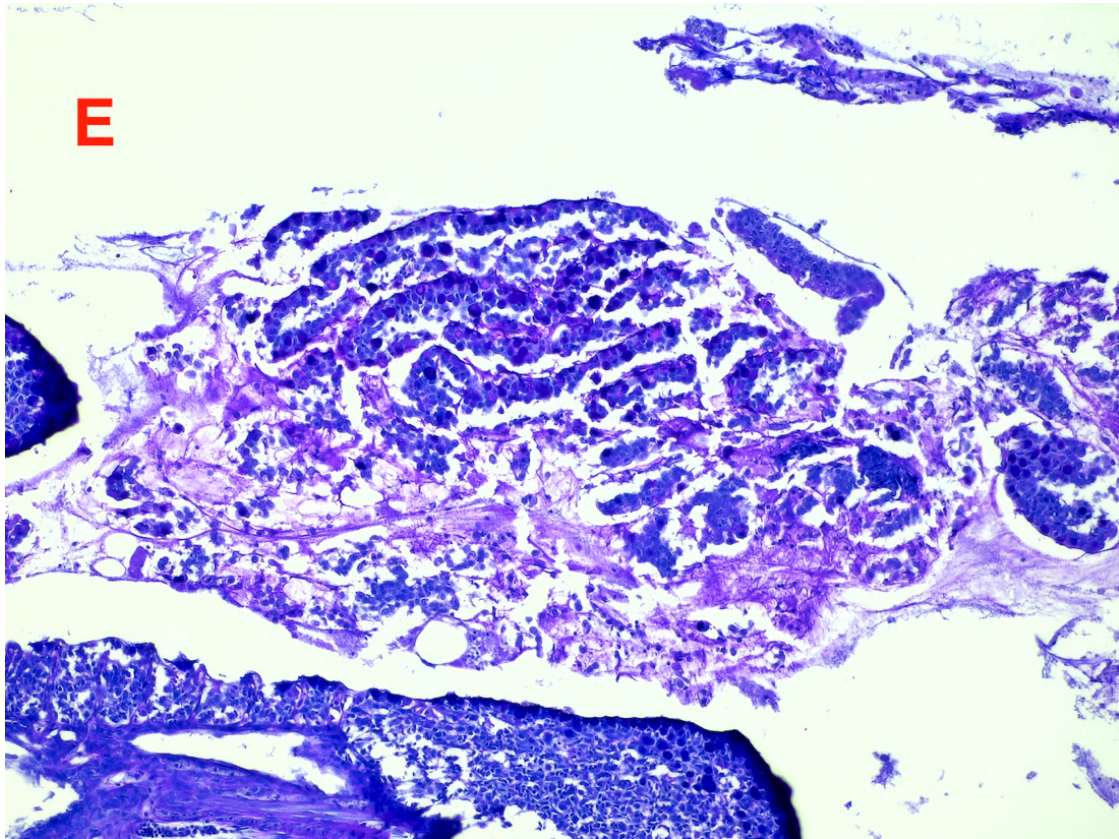
Figur 20 viser et preparat fra blokk B farget med forsøk 10



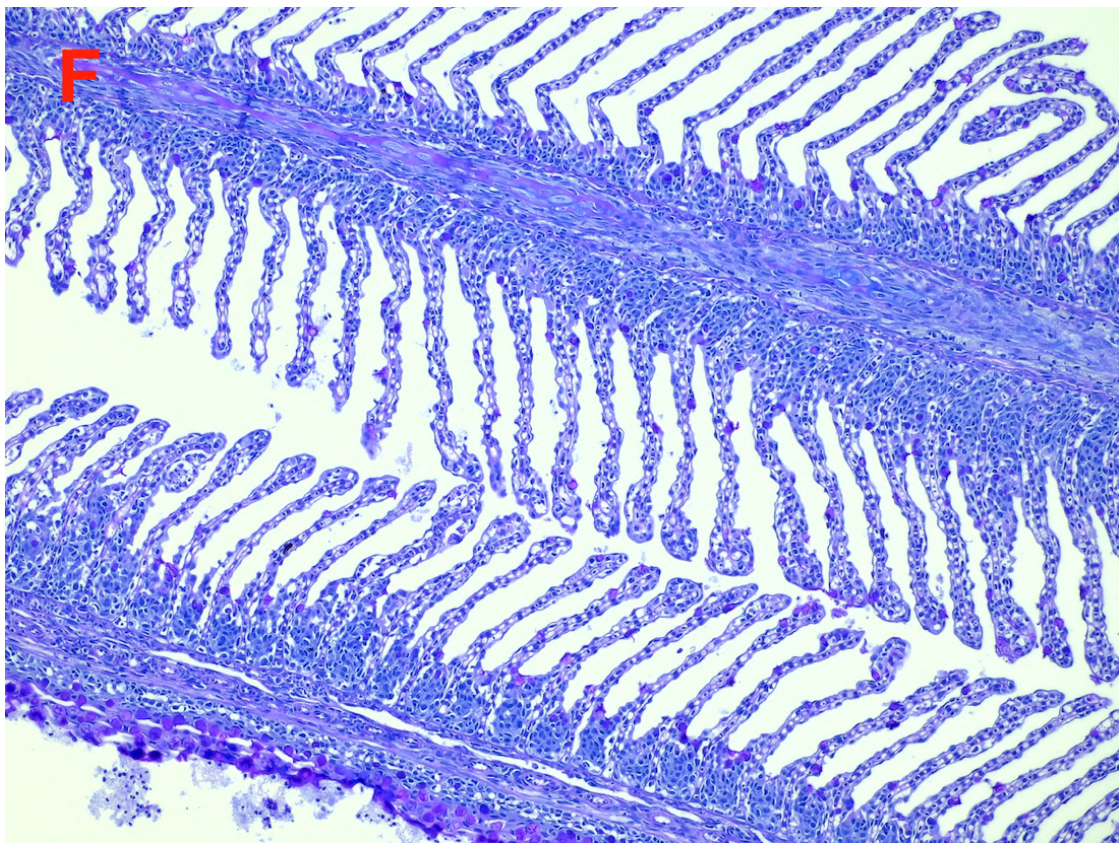
Figur 21 viser et preparat fra blokk C farget med forsøk 10



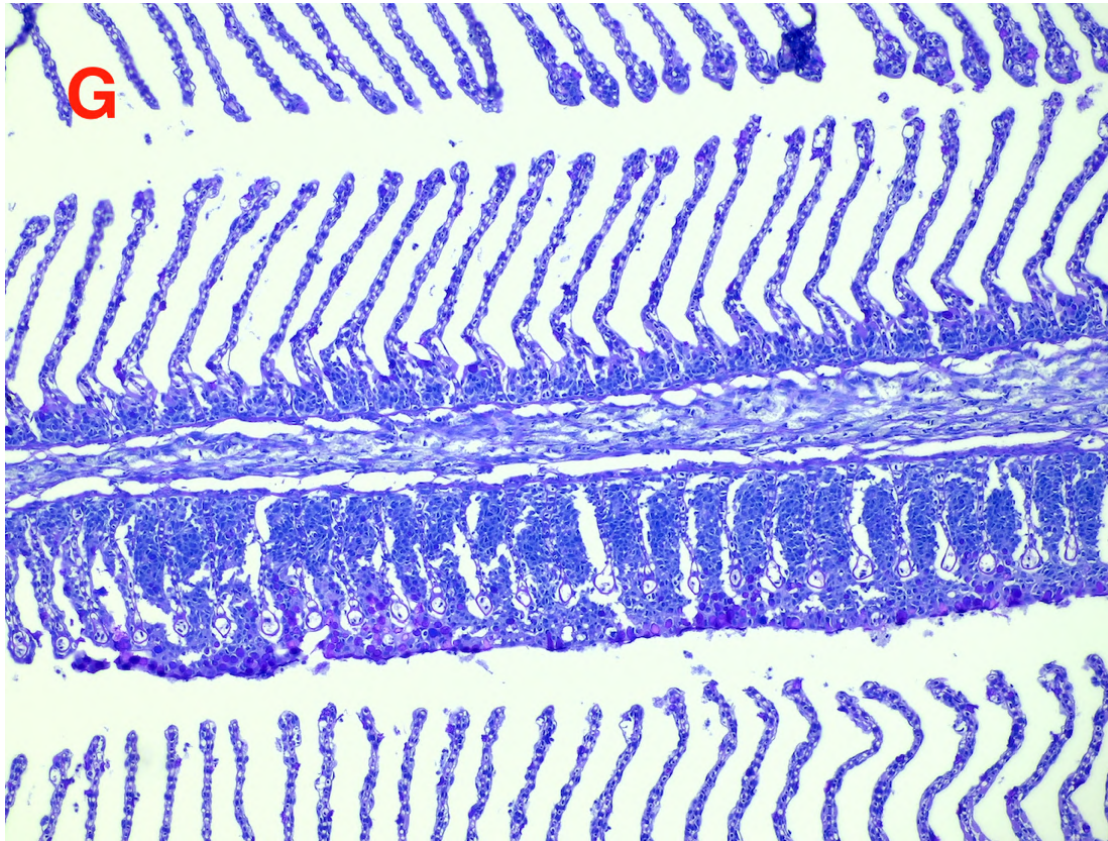
Figur 22 viser et preparat fra blokk D farget med forsøk 10



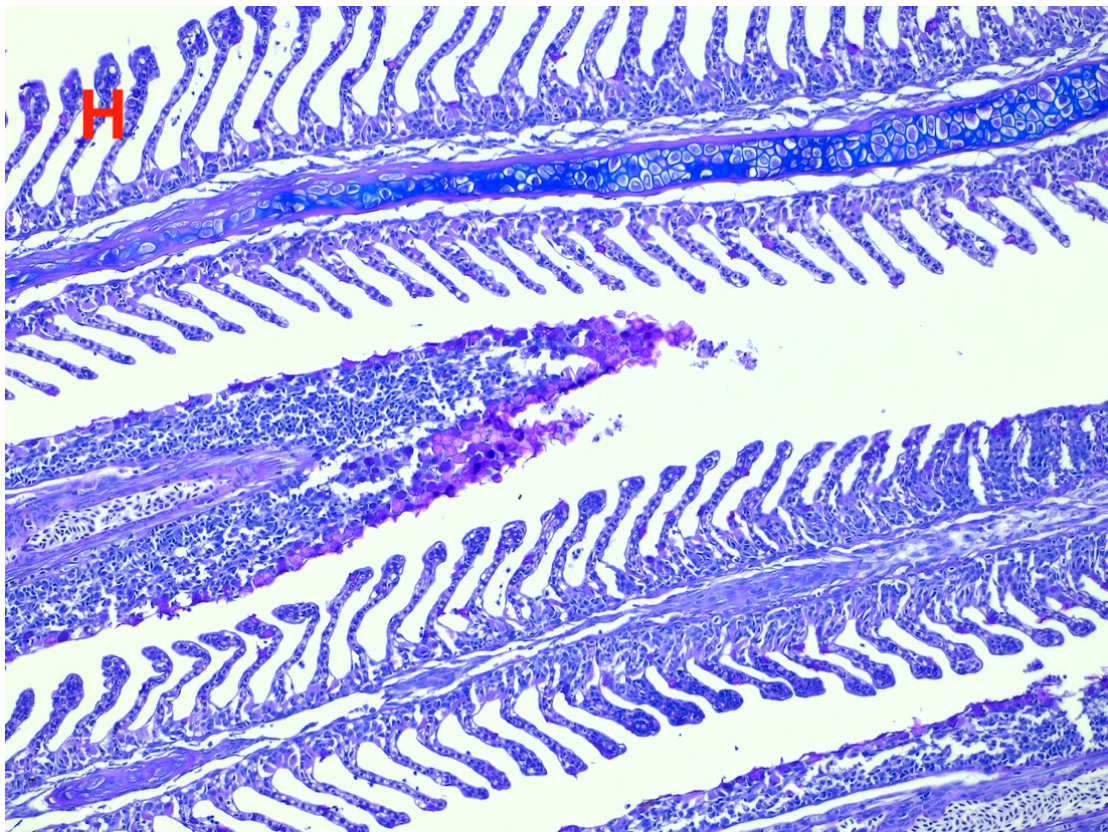
Figur 23 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 10



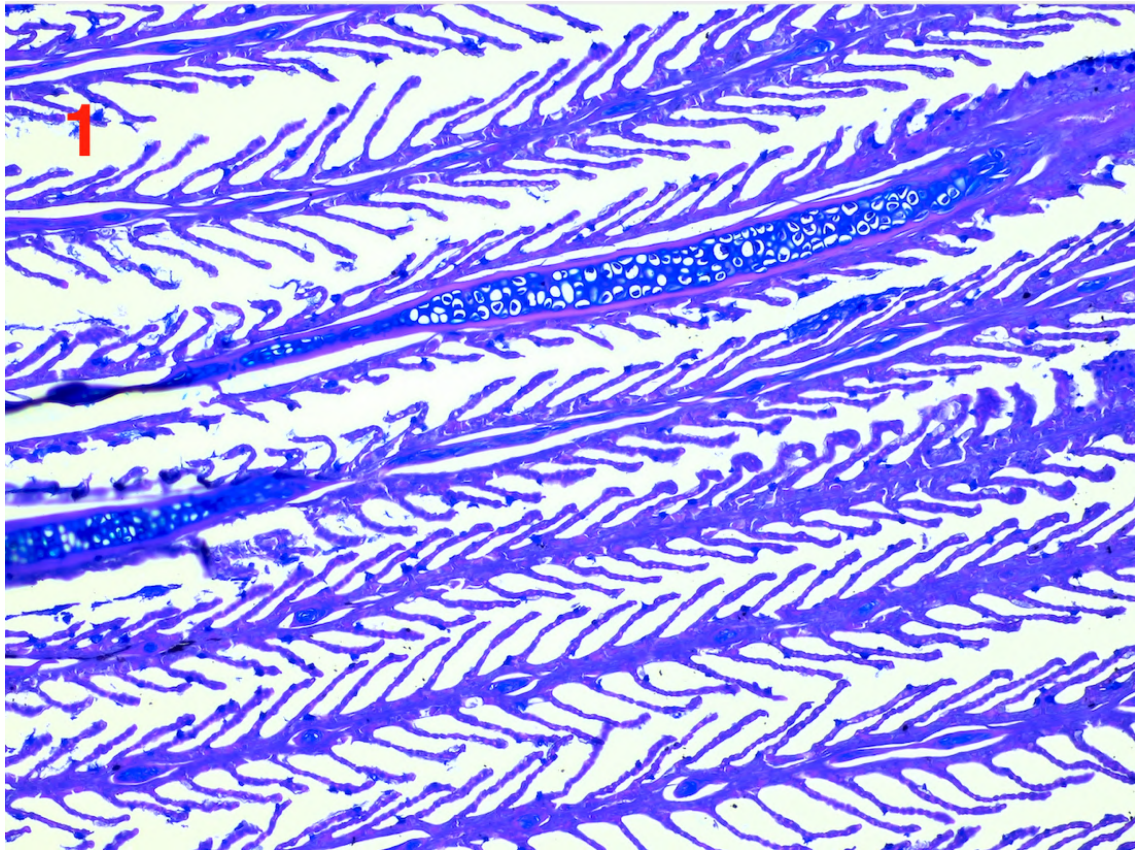
Figur 24 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 10



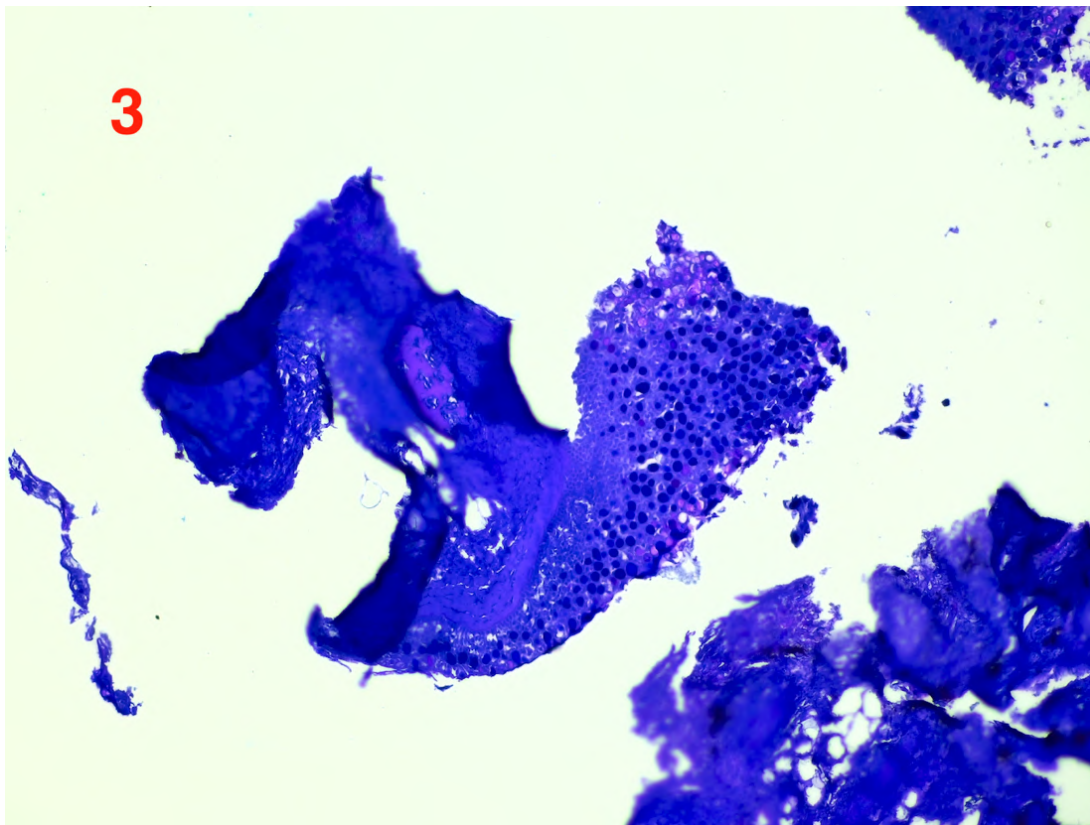
Figur 25 viser et preparat fra blokk G farget med forsøk 10



Figur 26 viser et preparat fra blokk H farget med forsøk 10



Figur 27 viser et preparat fra blokk 1 farget med forsøk 10

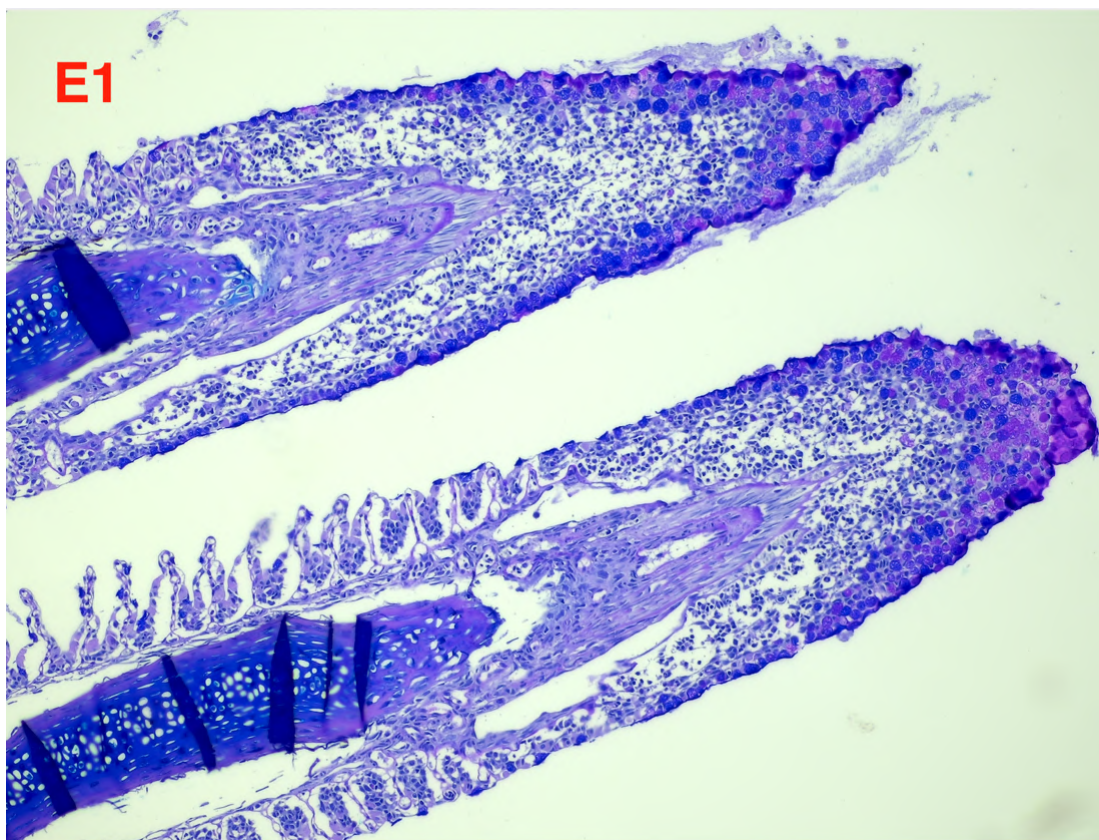


Figur 28 viser et preparat fra blokk 3 farget med forsøk 10

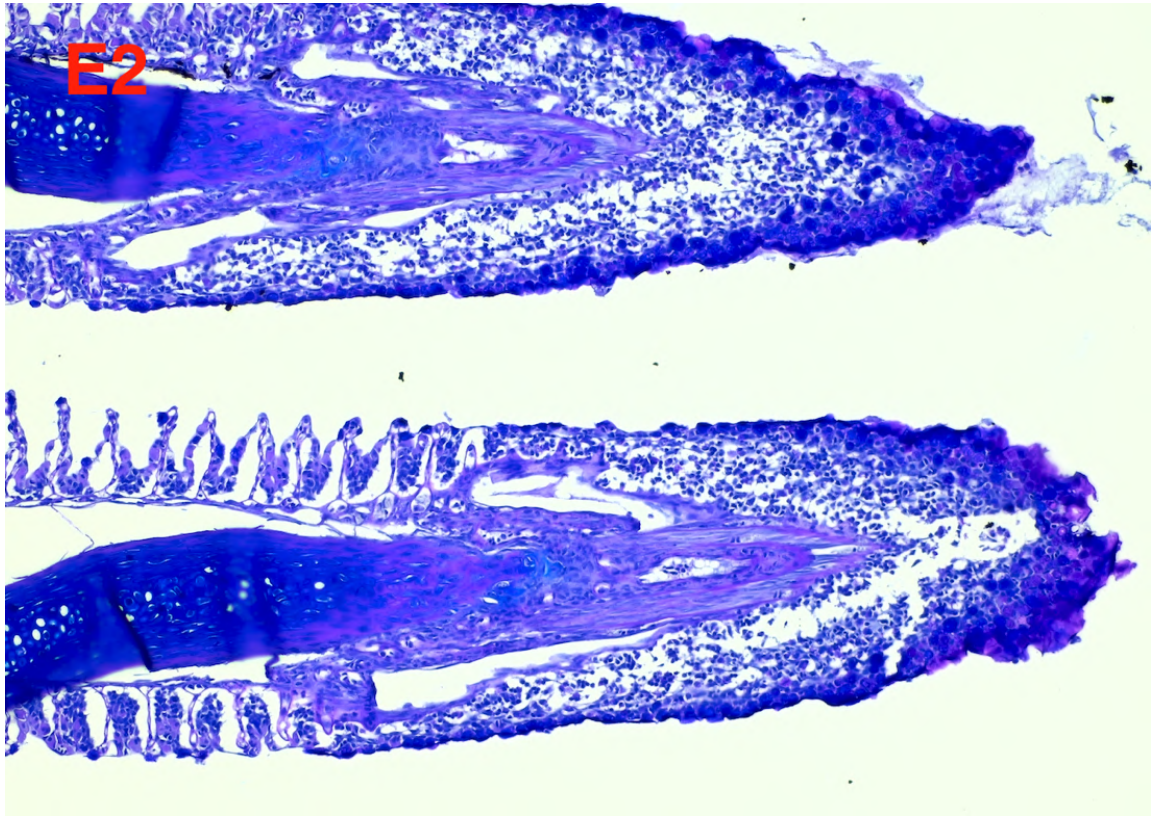
FORSØK 11

Tabell 11 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 11

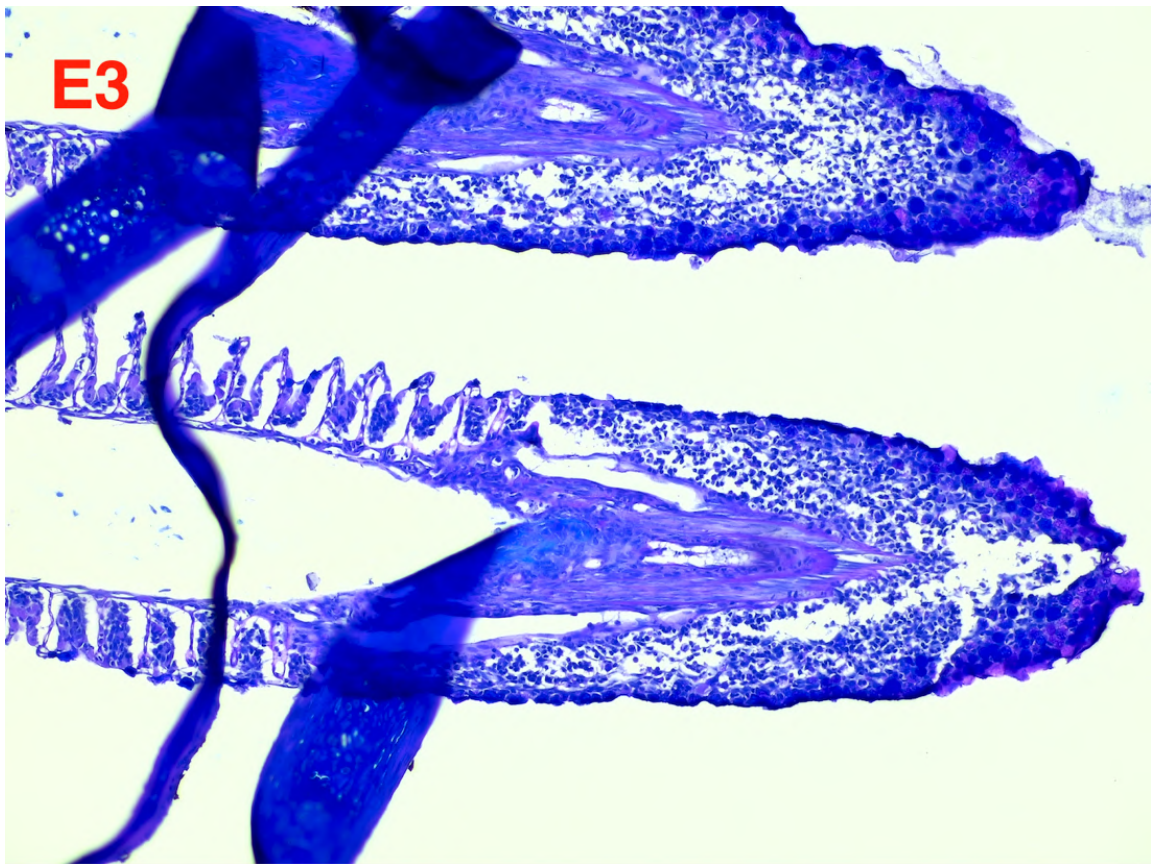
REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	70 sek i mikro
Inkuberes på benk	3, 5 og 10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i lunkent vann	5 min
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



Figur 29 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 11, hvor inkuberingstiden på benk var 3 min.



Figur 30 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 11, hvor inkuberingstiden på benk var 5 min.

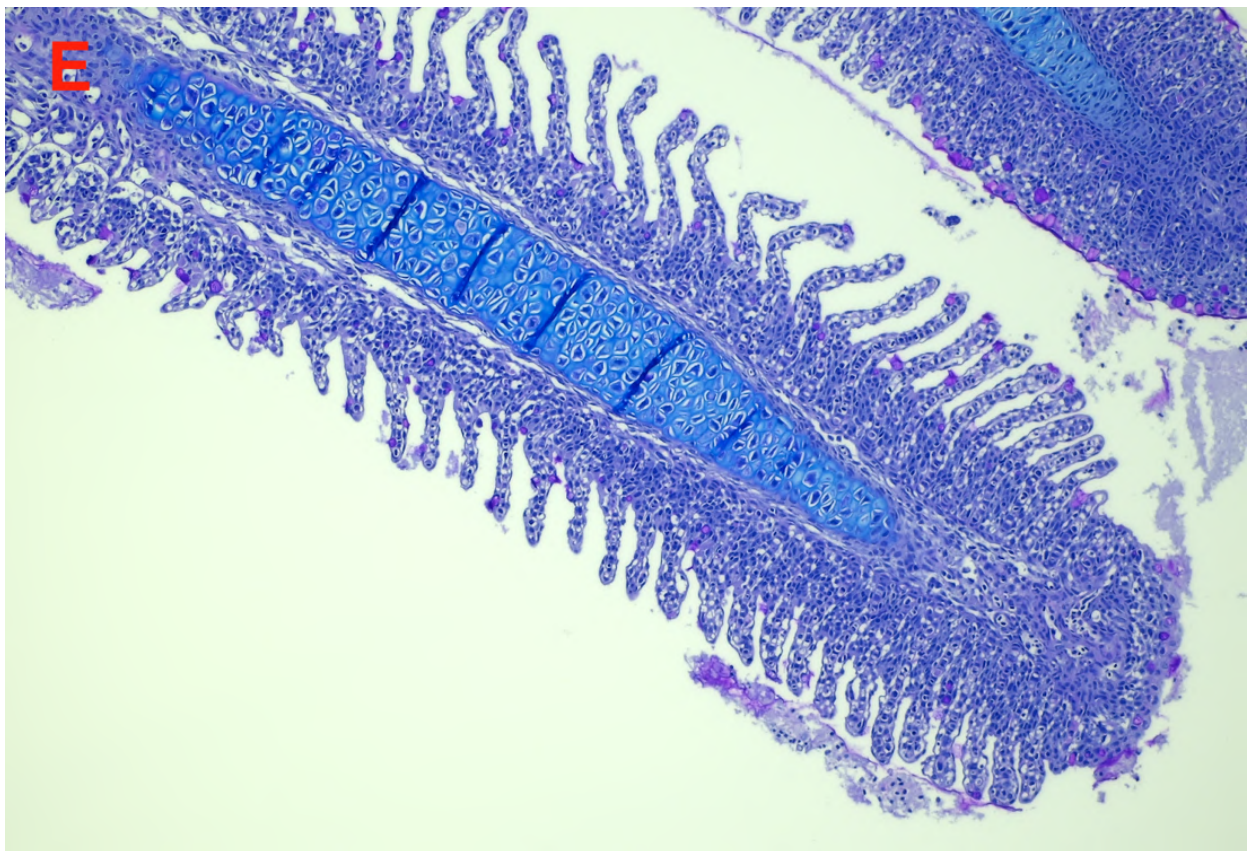


Figur 31 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 11, hvor inkuberingstiden på benk var 10 min.

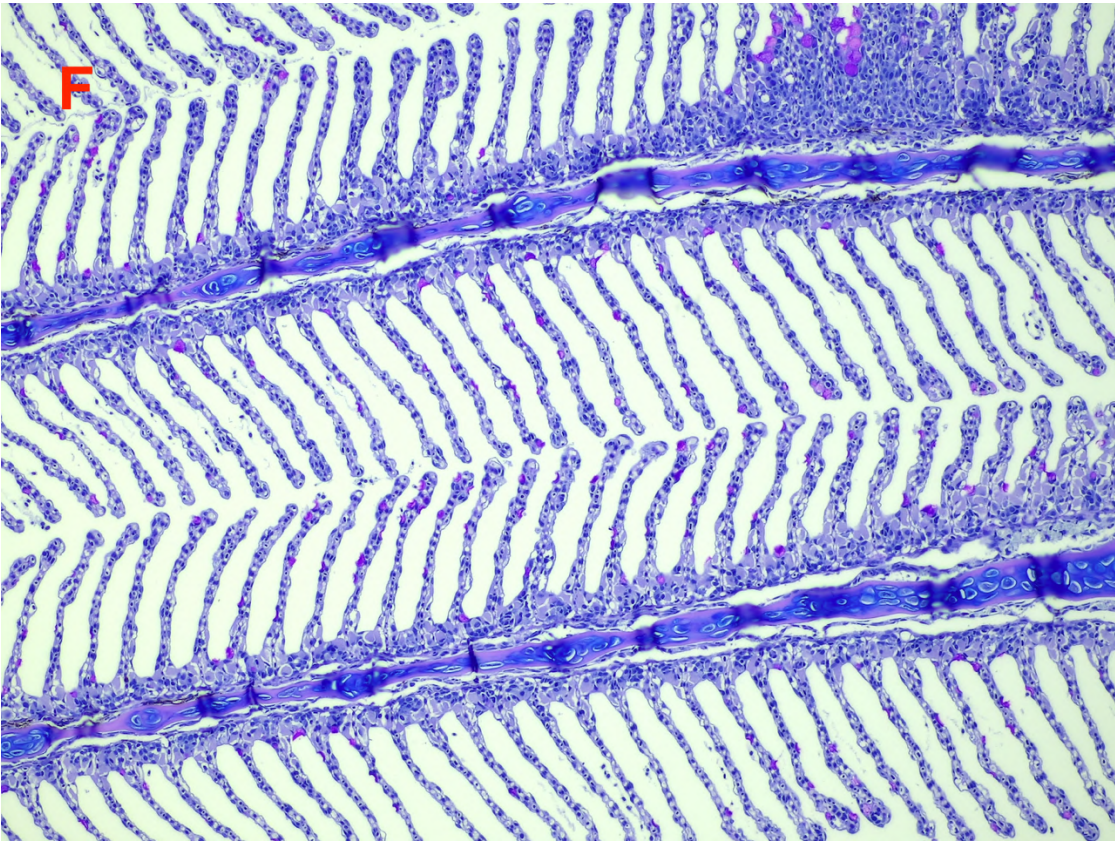
FORSØK 12

Tabell 12 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 12 (standard med nye reagenser)

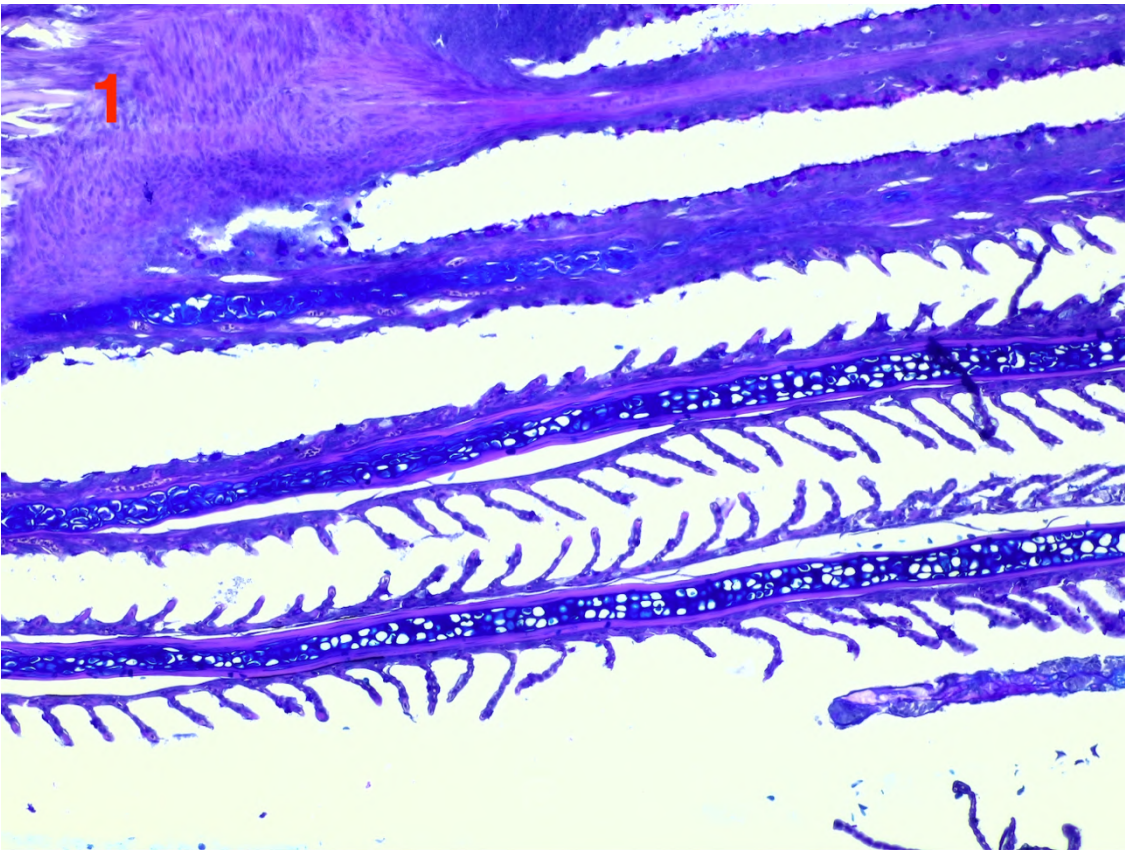
REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	7 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Harris Hematoxylin	1 min
Blånes i varmt vann	30 sek
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



Figur 32 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 12



Figur 33 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 12

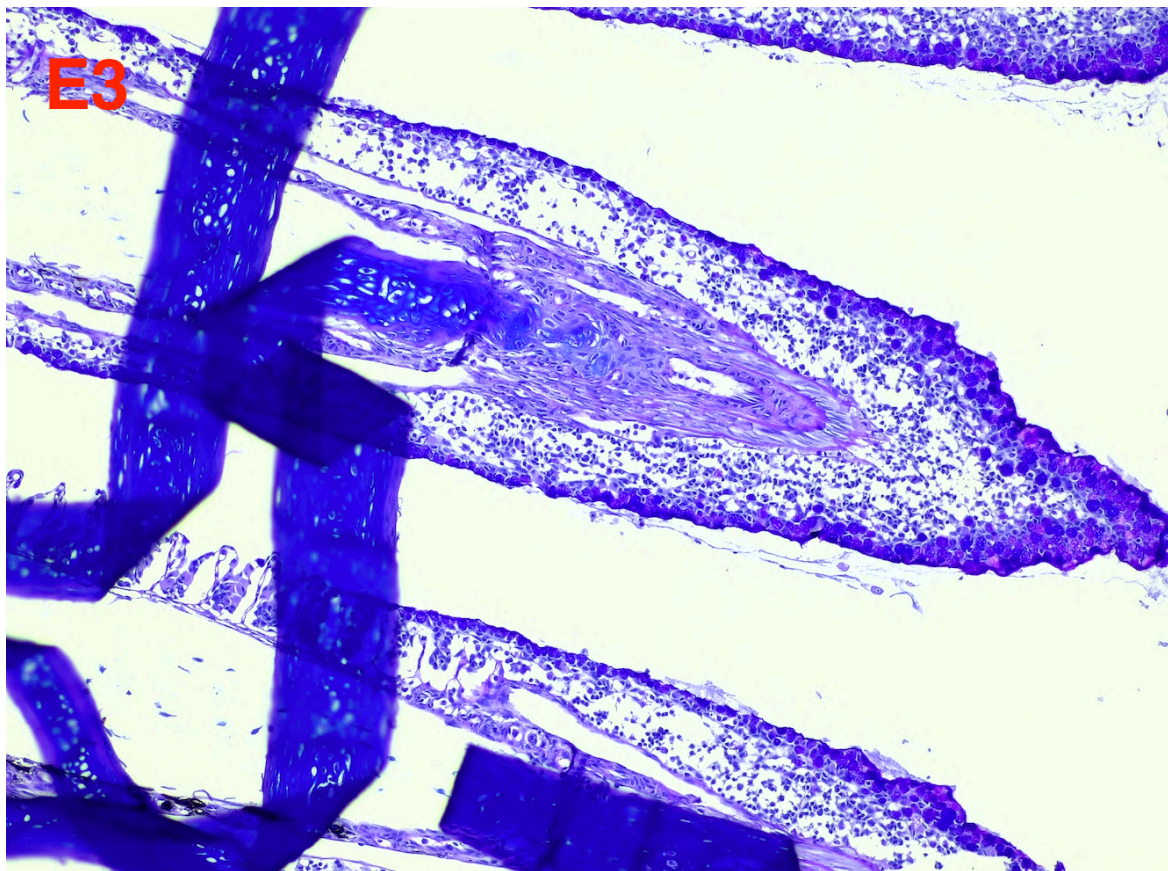


Figur 34 viser et preparat fra blokk I farget med forsøk 12

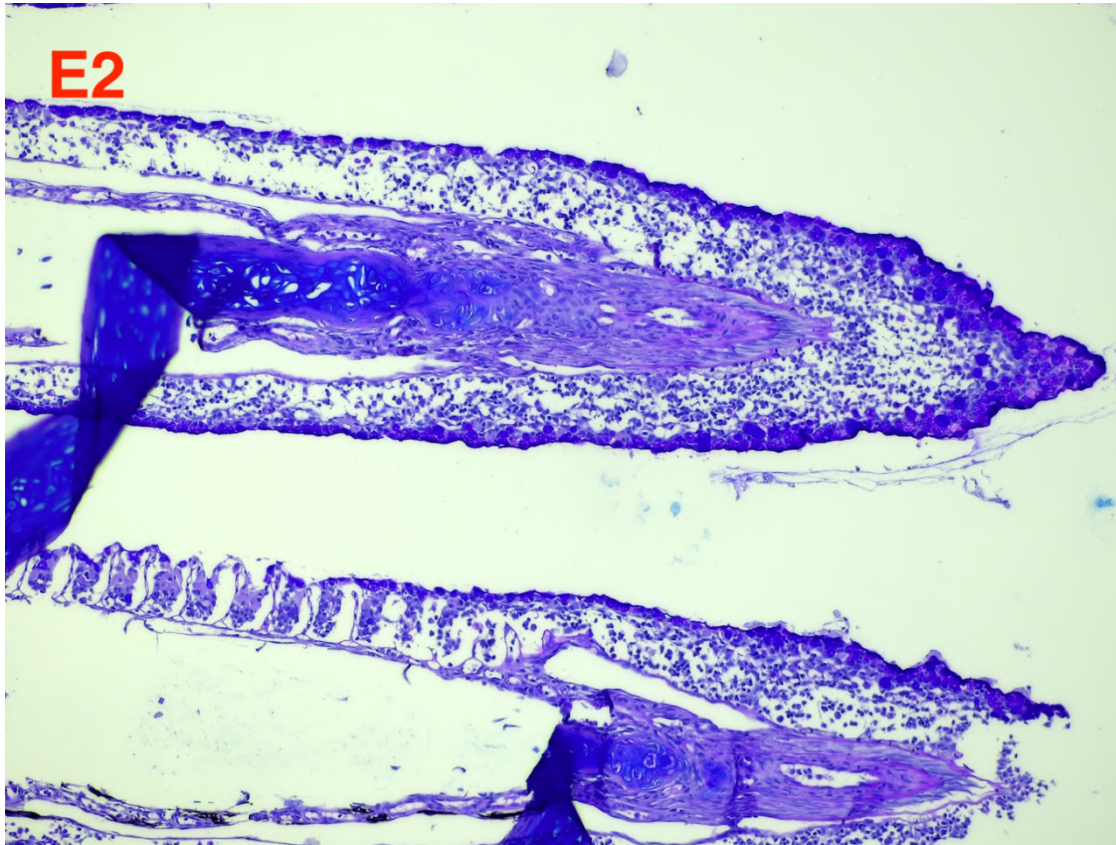
FORSØK 13

Tabell 13 viser framgangsmåten som ble brukt ved forøk 13 (forsøk 11 med nye reagenser)

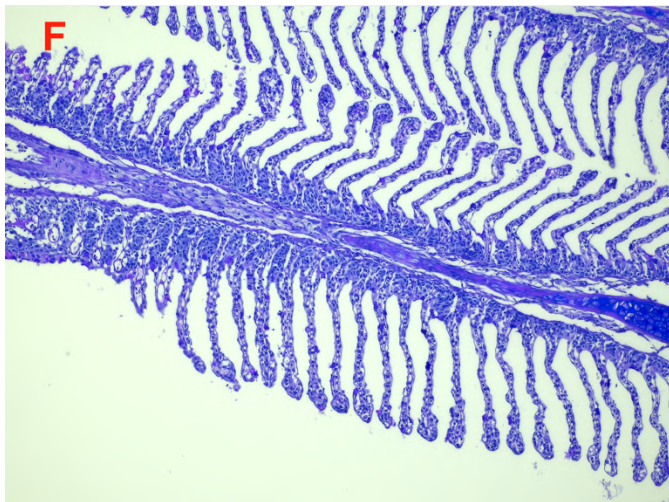
REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	70 sek i mikro
Inkuberes på benk	5, 7 og 10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Harris	1 min
Blånes i lunkent vann	5 min
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



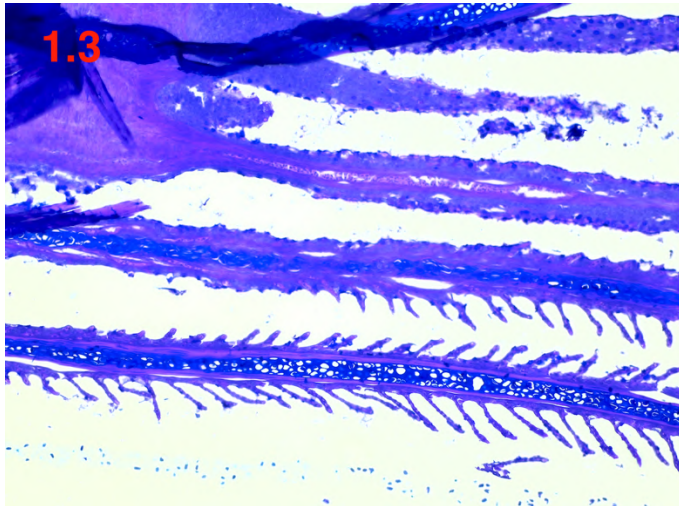
Figur 35 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 13, hvor inkuberingstiden på benk var 5 min



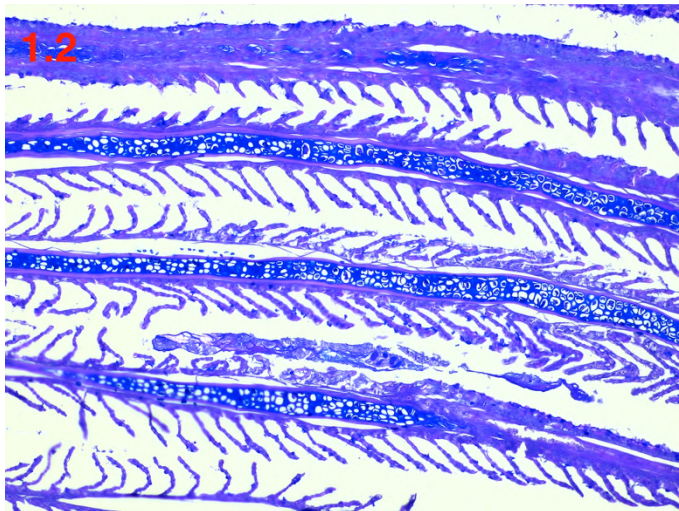
Figur 36 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 13, hvor inkuberingstiden på benk var 7 min



Figur 37 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 13, hvor inkuberingstiden på benk var 5 min



Figur 38 viser et preparat fra blokk 1 farget med forsøk 13, hvor inkuberingstiden på benk var 7 min

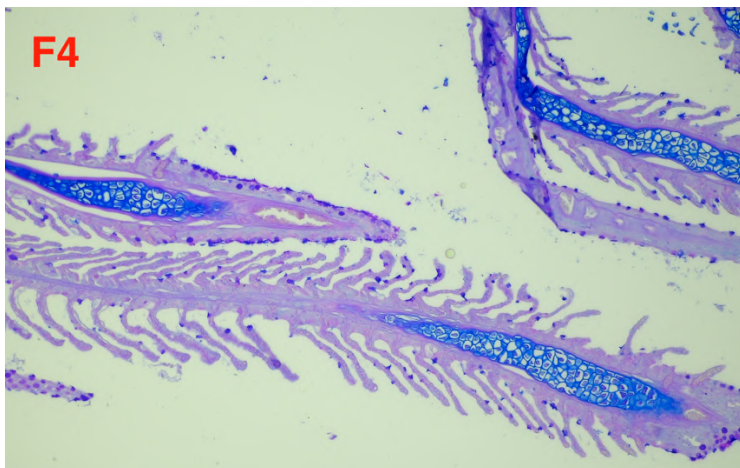


Figur 39 viser et preparat fra blokk 1 farget med forsøk 13, hvor inkuberingstiden på benk var 10 min

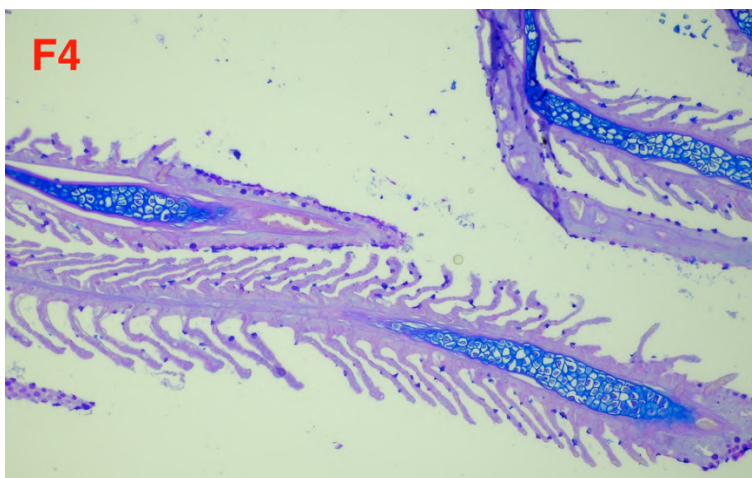
FORSØK 14

Tabell 14 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 14

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



Figur 40 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 14

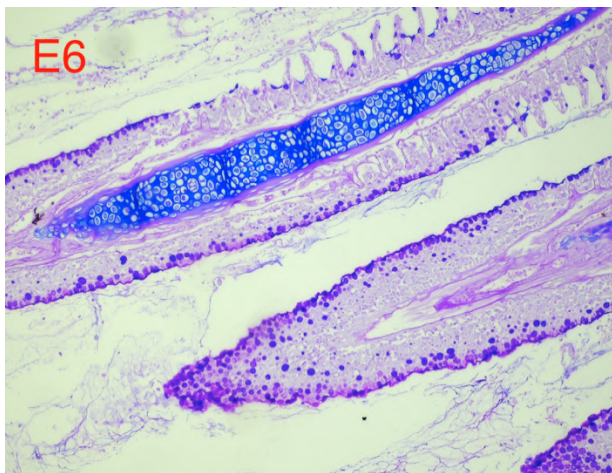


Figur 41 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 14

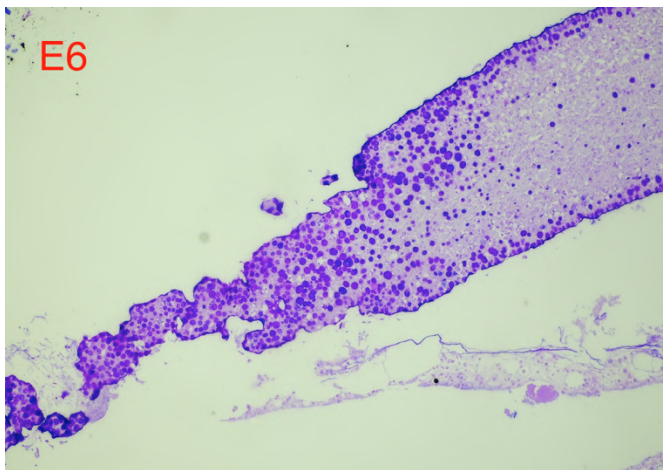
FORSØK 15

Tabell 15 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 15

REAGENS	VARIGHET
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
1% periodsyre	7 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10-15 min
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



Figur 42 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk 15

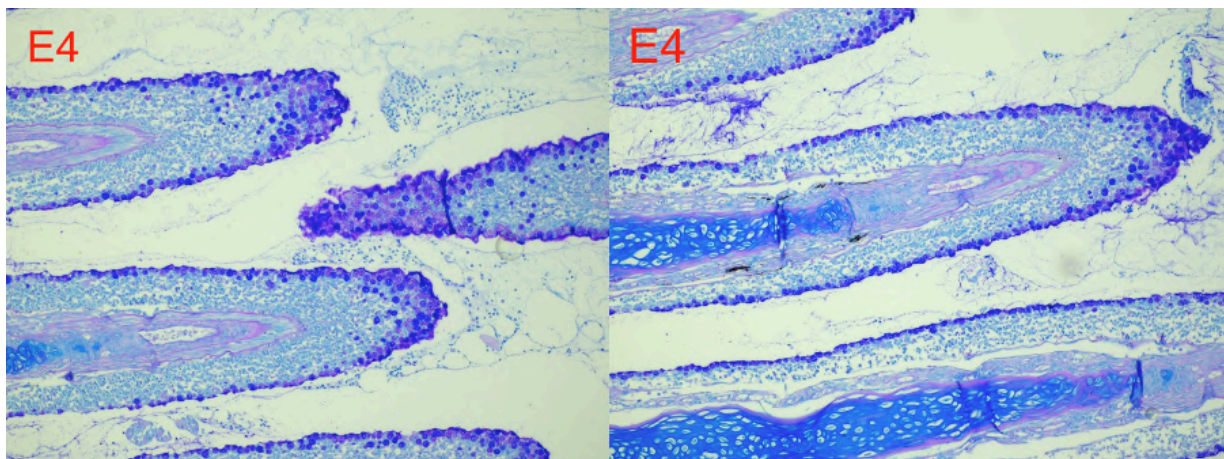


Figur 43 viser et preparat fra blokk E farget med forsøk15

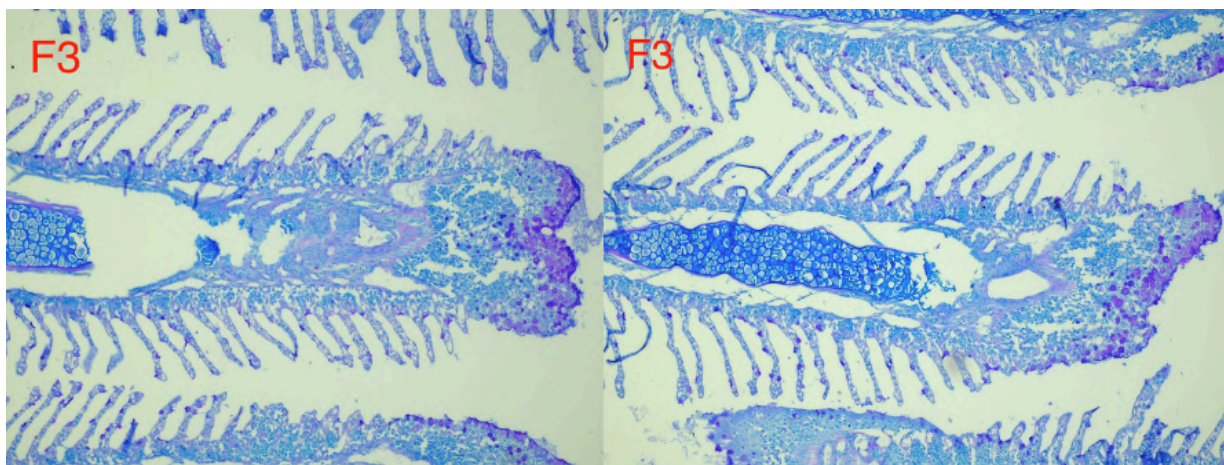
FORSØK 16

Tabell 16 viser framgangsmåten som ble brukt ved forsøk 16

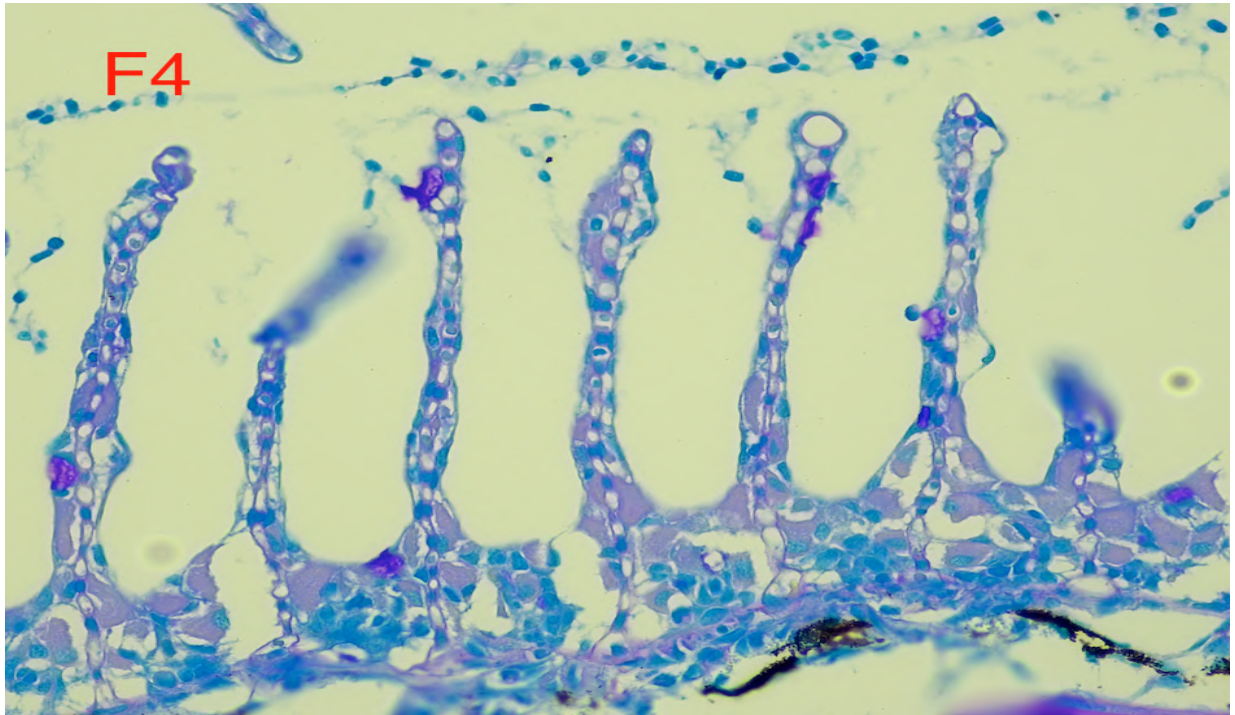
REAGENS	VARIGHET
1% periodsyre	5 min
Skylles i destillert vann	
SCHIFF's reagens	10 min
Skylles i lunkent vann	10 - 15 min
Alican Blå	10 min
Skylles i vann	
Dehydreres (70% - abs.alk) – xylen - monteres	



Figur 44 viser preparat fra blokk E farget med forsøk 16



Figur 45 viser preparat fra blokk F farget med forsøk 16



Figur 46 viser et preparat fra blokk F farget med forsøk 16 i 60X forstørrelse.

Vedlegg 2: formel for utregning av fortynningen til 4% formaldehyd

Fortynningsformel:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Tabell 1: viser hva de ulike variablene står for.

	<i>Hva står de for</i>	Mengden
C ₁	Konsentrasjonen til formaldehyd før fortynning → 37%	0,37
V ₁	Volum, mengden som må til av 37% formaldehyd for å fortynne til ønsket konsentrasjon og volum	X
C ₂	Ønsket konsentrasjon til formaldehyd → 4%	0,04
V ₂	Ønsket volum av 4% formaldehyd fortynnet → 100 ml	100

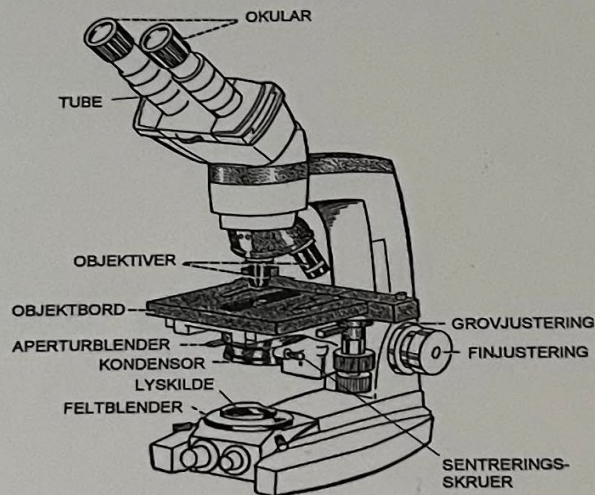
Snu om formelen, løser for V₁:

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{0,04 * 100}{0,37} = \underline{10,81}$$

à Det trengs 10,81 ml av 37% formaldehyd for å lage 100 ml 4% formaldehyd

Vedlegg 3: K hler innstilling av mikroskopet



K hler innstilling av mikroskopet:

For å utnytte mikroskopet fullt ut, må det innstilles etter K hler's prinsipp. Dette innebærer at man får kondensorens og mikroskopets optiske akser til å falle   sammen. På den måten oppnås størst billedkontrast og oppløsningsevne;

- Fokus r preparatet med objektiv 10x.
- Feltblenderen og aperturblenderen i kondensoren lukkes maksimalt (se figur).
- Skru kondensoren helt opp vha. reguleringskruen.
- Senk kondensoren forsiktig inntil feltblenderen ses skarpt
- Sentrer kondensoren vha. de to sentreringskruene (se figur).
- Åpne feltblenderen og sjekk (evt. juster) sentreringen. Fortsett å åpne feltblenderen inntil kanten så vidt forsvinner utenfor synsfeltet.
- Juster aperturblenderen ved å fjerne et okular og se ned gjennom tuben mot objektivets bakre linse ( yetet må holdes 10-12 cm fra tuben for å se linsens ytterkant skarpt. Innstill aperturblenderen slik at diameteren av det lyse området er ca. $\frac{3}{4}$ av linsens diameter.
- Sett okularet på plass og innstill preparatet skarpt vha. finjusteringskruen.

Figuren viser hvordan man K hler innstiller mikroskopet.

Vedlegg 4: SIKKERHETS DATABLAD

SIKKERHETS DATABLAD

Harris Hematoxylin

1. Identifikasjon av stoffet / produktet og av selskapet / foretaket

Utgitt dato	21.07.2010
Kjemikaliets navn	HARRIS HEMATOXYLIN SHANDON
Kjemisk navn	Harris hematoxylin non-acified
Kjemikaliets bruksområde	Fargestoff for mikroskopi.
Firmanavn	Chemi-Teknik as
Besøksadresse	Tvetenveien 30
Postnr.	0666
Poststed	Oslo
Land	Norge
Telefon	22654100
E-post	post@chemi-teknik.no
Hjemmeside	www.chemi-teknik.no
Org. nr.	811 025 542

2. Fareidentifikasjon

Farebeskrivelse	<p>HELSE: Ikke klassifisert som helsefarlig.</p> <p>BRANN OG EKSPLOSJON: Ikke klassifisert som brann- eller eksplosjonsfarlig.</p> <p>MILJØ: Ikke klassifisert som miljøfarlig.</p>
-----------------	---

3. Sammensetning /opplysning om innholdsstoffer

Komponentnavn	Identifikasjon	Klassifisering	Innhold
Aluminiumammoniumsulfat 12-hydrat	CAS-nr.: 7784-26-1 EC-nr.: 232-055-3		3 - 7 %
Etanol	CAS-nr.: 64-17-5 EC-nr.: 200-578-6 Indeksnr.: 603-002-00-5	F; R11	1 - 5 %

4. Førstehjelpstiltak

Generelt	Flytt pasienten vekk fra eksponeringskilden snarest mulig. Sørg for ro, varme og frisk luft.
Innånding	Flytt straks til frisk luft. Kontakt lege ved vedvarende ubehag.
Hudkontakt	Fjern tilsølte klær og skyll huden grundig med mye vann. Kontakt lege ved vedvarende ubehag.
Øyekontakt	Skyll straks øyet grundig med mye vann mens øyelokket løftes. Fortsett å skylle i minst 15 minutter. Kontakt lege hvis ikke alt ubehag gir seg.

Svelging	Gi straks et par glass vann å drikke. Fremkall ikke brekninger. Kontakt lege ved vedvarende ubehag.
Annen informasjon	NØDTELEFON: Giftinformasjonssentralen - 22 59 13 00. Medisinsk nødhjelp - 113.

5. Tiltak ved brannslukking

Egnede slökkingsmidler	Pulver. Skum. Karbondioksid (CO ₂). Vannspray.
Brann- og eksplosjonsfarer	Ikke brannfarlig. Ved brann kan det utvikles farlige damper/gasser.
Personlig verneutstyr	Evakuer alt personell, benytt verneutstyr for brannslukning.
Annen informasjon	Fjern branntruede beholdere hvis det er mulig uten risiko. NØDTELEFON: Brann - 110. Politi - 112.

6. Tiltak ved utilsiktet utslipp

Sikkerhetstiltak for å beskytte personell	Sørg for effektiv ventilasjon. Unngå direktekontakt med produktet. Unngå innånding av gass/damp.
Sikkerhetstiltak for å beskytte ytre miljø	Forhindre spredning til omgivelsene.

7. Håndtering og lagring

Håndtering	Unngå søl, hud- og øyekontakt.
Oppbevaring	Lagres på et tørt, godt ventilert sted, i tett lukket beholder.

8. Eksponeringskontroll / personlig verneutstyr

Komponentnavn	Identifikasjon	Grenseverdier	Norm år
Aluminiumammoniumsulfat 12-hydrat	CAS-nr.: 7784-26-1 EC-nr.: 232-055-3		

Etanol	CAS-nr.: 64-17-5 EC-nr.: 200-578-6 Indeksnr.: 603-002-00-5	8 timers grenseverdi: 950 mg/m ³ 8 timers grenseverdi: 500 ppm	Norm år: 2007
--------	--	--	---------------

Eksponeringskontroll

Begrensning av eksponering på arbeidsplassen	Sørg for effektiv ventilasjon. Vask hender og ansikt grundig etter arbeid med stoffet. Skift straks forurensede klær.
Åndedrettsvern	Ved utilstrekkelig ventilasjon bør det brukes egnet åndedrettsvern.
Håndvern	Bruk egnede arbeidshansker ved fare for langvarig / gjentatt hudkontakt.
Øyevern	Bruk egnet øyevern ved fare for øyekontakt.

9. Fysiske og kjemiske egenskaper

Tilstandsform	Væske.
Lukt	Ingen eller ukarakteristisk lukt.
Farge	Fargeløs.
Løselighet i vann	Lett blandbar.
Status	I løsning
Verdi	2,45 - 2,75

10. Stabilitet og reaktivitet

Forhold som skal unngås	Sterk oppvarming.
Materialer som skal unngås	Sterke syrer. Sterke baser. Sterkt oksiderende stoffer.

Stabilitet	Stabil ved normal håndtering.
------------	-------------------------------

11. Toksikologisk informasjon

Toksikologisk informasjon

Andre toksikologiske data	Kvantitative data for toksikologisk effekt er ikke tilgjengelig.
---------------------------	--

Øvrige helsefareopplysninger

Generelt	Produktet er ikke ansett å være helseskadelig, men må behandles med varsomhet i likhet med en hver kjemikalie.
----------	--

12. Miljøopplysninger

Toksikologisk informasjon

Akvatisk, kommentarer	Kvantitative data for akvatisk toksisitet er ikke tilgjengelig.
-----------------------	---

Øvrige miljøopplysninger

Økotoksitet	Miljøskadelige effekter er ikke forventet, men produktet må behandles på en forsvarlig måte i likhet med et hvert kjemikalie.
-------------	---

Mobilitet	Produktet er lett oppløselig i vann.
-----------	--------------------------------------

13. Fjerning av kjemikalieavfall

Egnede metoder til fjerning av kjemikaliet	Ikke klassifisert som farlig avfall. Avfall avhendes i henhold til lokale forskrifter.
--	--

14. Transportinformasjon

Andre relevante opplysninger	Ikke transportklassifisert.
------------------------------	-----------------------------

15. Opplysninger om lover og forskrifter

Sammensetning på merkeetiketten	Aluminiumammoniumsulfat 12-hydrat 3 - 7 %, Etanol 1 - 5 %
R-setninger	Vurdert ikke-merkepliktig.

Referanser (Lover/Forskrifter)	<p>Forskrift om helsefare-, miljøfare-, brannfare- og eksplosjonsfaremerking.</p> <p>Forskrift om stoffliste.</p> <p>Administrative normer for forurensning i arbeidsatmosfære, 2007.</p> <p>Forskrift om avfall.</p> <p>Transport av farlig gods: ADR, RID, IMDG, IATA.</p>
-----------------------------------	--

16. Andre opplysninger

Utgått dato	17.12.2018
Liste over relevante R-setninger (i avsnitt 2 og 3).	R11 Meget brannfarlig.
Viktige litteraturreferanser og datakilder	<p>Datablad fra leverandør/produsent.</p> <p>Arbeidsmiljøsenderets hanskeguide.</p> <p>Arbeidstilsynets brosjyrer om verneutstyr.</p> <p>Hva du må vite når du bruker åndedrettsvern (Orientering, best.nr. 539, Arbeidstilsynet).</p>

SIKKERHETSATABLAD

Perjodsyre

Sikkerhetsdatabladet er i samsvar med Kommissjonsforordning (EU) 2015/830 av 28 mai 2015 om endring av europaparlaments- og rådsforordning (EF) nr. 1907/2006 om registrering, vurdering, godkjenning og begrensning av kjemikalier (REACH)

AVSNITT 1: IDENTIFIKASJON AV STOFFET / STOFFBLANDINGEN OG AV SELSKAPET / FORETAKET

Opplastet fullversjon av sikkerhetsdatablad	 PAS-fargesett for deteksjon av aldehyder og slimstoffer Perjodsyreløsning.pdf
Utgitt dato	27.08.2013
Revisjonsdato	28.09.2020

1.1. Produktidentifikator

Kjemikaliets navn	PAS-fargesett for deteksjon av aldehyder og slimstoffer Perjodsyreløsning
Artikkelnr.	101646

1.2. Relevante identifiserte bruksområder for stoffet eller stoffblandingen og bruk som frarådes

Kjemikaliets bruksområde	I vitrodiagnostisk reagens, Reagens for analyse Ytterligere informasjon om bruksområder finner du i portalen til Merck Chemicals (www.merckgroup.com).
--------------------------	---

1.3. Opplysninger om leverandøren av sikkerhetsdatabladet

Firmanavn	Merck KGaA
Postnr.	D-64271
Poststed	Darmstadt
Land	Tyskland
Telefon	+49 6151 72-0

1.4. Nødtelefonnummer

Nødtelefon	Telefon: +47 22 59 13 00
------------	--------------------------

AVSNITT 2: FAREIDENTIFIKASJON

2.1. Klassifisering av stoffet eller stoffblandingen

CLP Klassifisering, merknader	Ikke et farlig stoff eller en farlig blanding i henhold til bestemmelse (EF) nr. 1272/2008.
-------------------------------	---

2.2. Merkingselementer

2.3. Andre farer

Andre farer	Ikke kjent.
-------------	-------------

AVSNITT 3: SAMMENSETNING/OPPLYSNINGER OM BESTANDDELER

3.2. Stoffblandinger

AVSNITT 4: FØRSTEHJELPSTILTAK

4.1. Beskrivelse av førstehjelpstiltak

Innånding	frisk luft.
Hudkontakt	Alle tilsølte klær må fjernes straks. Skyll/ dusj huden med vann.
Øyekontakt	Skyll med mye vann. Fjern kontaktlinser.
Svelging	Gi vann å drikke (2 glass som mest). Kontakt lege hvis ubehag oppstår.

4.2. De viktigste symptomene og virkningene, både akutte og forsinkede

Generelle symptomer og virkninger	irriterende påvirkninger, Hoste, Pustebesvær
-----------------------------------	--

4.3. Angivelse av om umiddelbar legehjelp og spesialbehandling er nødvendig

AVSNITT 5: BRANNSLOKKINGSTILTAK

5.1. Sløkkingsmidler

Egnede sløkkingsmidler	Bruk brannsløkningsmiddel som er hensiktsmessig for de lokale forholdene og miljø omgivelsene.
------------------------	--

Uegnede slökkingsmidler	For dette stoffet/blandingen er det ikke oppgitt begrensninger på branns lokkemidler.
-------------------------	---

5.2. Særlige farer knyttet til stoffet eller stoffblandingen

Brann- og eksplosjonsfarer	Ikke brennbar. Brann i omgivelsene kan frigjøre farlige damper.
----------------------------	--

5.3. Råd til brannmannskaper

Spesielt beskyttelsesutstyr for brannmenn	I tilfelle av brann: bruk trykkluftmaske.
Annen informasjon	ingen

AVSNITT 6: TILTAK VED UTILSIKTEDE UTSLIPP

6.1. Personlige forsiktighetsregler, personlig verneutstyr og nødrutiner

Sikkerhetstiltak for å beskytte personell	Unngå innånding av damper, aerosoler. Evakuer fareområdet, følg nødsituasjonsprosedyrene, kontakt ekspert.
For innsatspersonell	Se avsnitt 8 for verneutstyr.

6.2. Forsiktighetsregler med hensyn til miljø

Sikkerhetstiltak for å beskytte ytre miljø	Ingen spesielle forholdsregler er nødvendige.
--	---

6.3. Metoder og materialer for oppsamling og rensing

Opprydding	Vær oppmerksom på mulige materialbegrensninger (se avsnitt 7 og 10). Tas opp med væskeadsorberende materiale (f.eks. Chemizorb®). Leveres til avhending. Rengjør det berørte området.
------------	---

6.4. Henvisning til andre avsnitt

Andre anvisninger	Se avsnitt 13 for angivelser om avfallsbehandling.
-------------------	--

AVSNITT 7: HÅNDTERING OG LAGRING

7.1. Forsiktighetsregler for sikker håndtering

7.2. Vilkår for sikker lagring, herunder eventuelle uforenligheter

7.3. Særlig(e) sluttanvendelse(r)

AVSNITT 8: EKSPONERINGSKONTROLL / PERSONLIG VERNEUTSTYR

8.1. Kontrollparametrer

8.2. Eksponeringskontroll

Forholdsregler for å hindre eksponering

Egnede tekniske tiltak	Tekniske tiltak og egnede arbeidsoperasjoner skal gis prioritet i forhold til bruk av personlig verneutstyr. Se avsnitt 7.1.
------------------------	---

Øye- / ansiktsvern

Egnet øyebeskyttelse	Vernebriller
----------------------	--------------

Håndvern

Egnede hansker	Vernehanskene som brukes må være i hht spesifikasjonene i EU direktiv 89/686/EEC og standarden EN374, f.eks. KCL 741 Dermatril® L (full kontakt), KCL 741 Dermatril® L (sprut). Denne rekommendasjon gjelder kun for produktet nevnt i HMS-databladet og leverert av oss for bruk som er spesifisert av oss. Ved oppløsning eller blanding med andre stoffer under betingelser som er forskjellige fra de i EN374 ,kontakt leverandøren av CE-godkjente hansker f.eks. KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Internet: www.kcl.de).
Egnede materialer	full kontakt: Hanskestoff: Nitrilgummi hansketykkelse: 0,11 mm Gjennomtrengningstid: 480 min sprut: Hanskestoff: Nitrilgummi hansketykkelse: 0,11 mm Gjennomtrengningstid: 480 min

Åndedrettsvern

Anbefalt utstyrstype	Forlanges ikke, unntatt i tilfelle av aerosoldanning.
----------------------	---

Passende miljømessig eksponeringskontroll

Begrensning av miljøeksponering	Ingen spesielle forholdsregler er nødvendige.
---------------------------------	---

AVSNITT 9: FYSISKE OG KJEMISKE EGENSKAPER

9.1. Opplysninger om grunnleggende fysiske og kjemiske egenskaper

Tilstandsform	væske
Farge	fargeløs
Lukt	stikkende
pH	Kommentarer: Ingen informasjon tilgjengelig.
Kokepunkt / kokepunktintervall	Kommentarer: Ingen informasjon tilgjengelig.
Flammepunkt	Kommentarer: Ikke anvendbar
Damptrykk	Kommentarer: Ingen informasjon tilgjengelig.

9.2. Andre opplysninger

AVSNITT 10: STABILITET OG REAKTIVITET

10.1. Reaktivitet

10.2. Kjemisk stabilitet

10.3. Risiko for farlige reaksjoner

10.4. Forhold som skal unngås

10.5. Uforenlige materialer

10.6. Farlige nedbrytningsprodukter

AVSNITT 11: TOKSIKOLOGISKE OPPLYSNINGER

11.1. Opplysninger om toksikologiske virkninger

AVSNITT 12: ØKOLOGISKE OPPLYSNINGER

12.1. Giftighet

12.2. Persistens og nedbrytbarhet

12.3. Bioakkumuleringsevne

12.4. Mobilitet i jord

12.5. Resultater av PBT- og vPvB-vurdering

12.7. Andre skadelige effekter

AVSNITT 13: SLUTTBEHANDLING

13.1. Avfallsbehandlingsmetoder

AVSNITT 14: TRANSPORTOPPLYSNINGER

14.1. FN-nummer

ADR/RID/ADN	1789
-------------	------

14.2. FN-forsendelsesnavn

14.3. Transportfareklasse(r)

14.4. Emballasjegruppe

14.5. Miljøfarer

14.6. Særlige forsiktighetsregler ved bruk

14.7. Maritim transport i bulk i henhold til IMO-instrumenter

AVSNITT 15: OPPLYSNINGER OM REGELVERK

15.1. Særlige bestemmelser/særskilt lovgivning om sikkerhet, helse og miljø for stoffet eller stoffblandingen

15.2. Vurdering av kjemikaliesikkerhet

Kjemikaliesikkerhetsvurdering	For dette produktet er det ikke utført en kjemisk sikkerhetsvurdering i henhold til EUs REACH-forordning nr. 1907/2006.
-------------------------------	---

AVSNITT 16: ANDRE OPPLYSNINGER

Versjon	3
---------	---

SIKKERHETS DATABLAD**XYLEN****1. Identifikasjon av stoffet / produktet og av selskapet / foretaket**

Utgitt dato	01.07.2007
Kjemikaliets navn	XYLEN
Kjemisk navn	Xylenum
Synonymer	dimetylbenzen
CAS-nr.	1330-20-7 (isomerer)
Artikkelnr.	320564
Formel	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂
Kjemikaliets bruksområde	Teknisk bruk. Organisk løsemiddel, aromatisk.

Produsent

Firmanavn	SANIVO PHARMA AS
Postadresse	Karihaugveien 22
Postnr.	1086
Poststed	OSLO
Land	Norge
Telefon	21 60 87 00
Telefaks	21 60 87 10
E-post	tln@sanivopharma.com

2. Fareidentifikasjon

Farebeskrivelse	Farlig ved innånding og hudkontakt
-----------------	------------------------------------

3. Sammensetning /opplysning om innholdsstoffer

Komponentnavn	Identifikasjon	Klassifisering	Innhold
---------------	----------------	----------------	---------

o-xylen	CAS-nr.: 100-41-4	Xn,F; R11, R20	
m_xylen	CAS-nr.: 108-38-3	Xn,O,F; R10, R20, R21,	
p_xylen	CAS-nr.: 106-42-3	R38	
etylbenzen	CAS-nr.: 95-47-6	Xn,O,F; R10, R20, R21, R38 Xn,O,F; R10, R20, R21, R38	
Komponentkommentarer		Varen er en blanding av o-, m- og p-xylen og etylbenzen, tilsammen 100% .	

4. Førstehjelpstiltak

Generelt	Den skadede bringes bort fra eksponeringskilden, og det gis vanlig førstehjelp. Ved mistanke om alvorlig skade og/eller forgiftning: Transport til legehjelp snarest. Ved nedsatt bevissthet: Løs stramme klær. Brekninger må ikke fremkalles.
Hudkontakt	Vask de tilsølte områder godt med såpe og vann (nøddusj). Tilsølte klær fjernes under skylling. Smør deretter inn tilsølt hud med hudkrem.
Øyekontakt	Skyll straks med store mengder vann og kontakt lege. Øynene skylles i minst 15 minutter, - også under evt. transport til lege / sykehus.
Svelging	Gi straks rikelig vann å drikke. Gi gjerne aktivt kull og noen skjæer flytende parafin eller annet avføringsmiddel. IKKE FREMKALL BREKNINGER, da det kan være farlig å få væske eller damper ned i lungene. Ikke gi melk, da melk vil øke absorpsjon av xylen. Kontakt lege.
Informasjon til helsepersonell	Pneumonier kan utvikles hvis xylen aspireres til lungene. Xylen utåndes relativt raskt etter absorpsjon. I kombinasjon med etanol øker xylens giftighet.

5. Tiltak ved brannslukking

Egnede slokkingsmidler	Brann slukkes med karbondioksyd, skum, pulver, eller vann i s p r e d t stråle.
------------------------	---

Uegnede slökkingsmidler	Vann er mindre egnet, fordi xylen ikke løser seg i vann.
Brann- og eksplosjonsfarer	Brannfarlig. Lettantennelig. Væsken flyter oppå vann. Dampene er tyngre enn luft og kan bre seg langs gulvet til tennkilder. Dampene kan danne eksplosiv blanding med luft.

6. Tiltak ved utilsiktet utslipp

Metoder for opprydding og rengjøring	Søl kan tas opp med adsorberende materiale (f. eks. brent kiselgur) eller tørkes opp. Destrueres ved brenning.
--------------------------------------	---

7. Håndtering og lagring

Oppbevaring	Oppbevares kjølig, i godt lukket beholder, i brannsikkert, godt ventilert rom, atskilt fra oksyderende materiale, beskyttet mot lys. Beholdere bør være av stål eller glass.
-------------	--

8. Eksponeringskontroll / personlig verneutstyr

Komponentnavn	Identifikasjon	Grenseverdier	Norm år
o-xylen	CAS-nr.: 100-41-	8 timers	Norm år: 2002
m_xylen	4	grenseverdi: 20mg/m ³ HK	
p-xylen	CAS-nr.: 108-38-	8 timers grenseverdi: 108,0	
etylbenzen	3	mg/m ³	
	CAS-nr.: 106-42-	8 timers grenseverdi: 108,0	
	3	mg/m ³	
	CAS-nr.: 95-47-6	8 timers grenseverdi: 108,0	
		mg/m ³	

Eksponeringskontroll

Begrensning av eksponering på arbeidsplassen	Sørg for god ventilasjon, vann lett tilgjengelig (nøddusj) og mulighet for øyespyling. Unngå åpen ild og varme gjenstander. Bruk gnistsikkert utstyr.
Åndedrettsvern	Arbeid i avtrekk. Ved høye dampkonsentrasjoner i arbeidsatmosfæren brukes åndedrettsvern med gassfilter A, brun. Filter skiftes etter max 30 minutter.
Håndvern	Bruk hansker. Egnet hanskemateriale: neopren, vinyl.

Øyevern	Ansiktbesyttelse benyttes ved fare for direkte kontakt eller sprut.
---------	---

9. Fysiske og kjemiske egenskaper

Tilstandsform	Væske, flyktig.
Lukt	Sterk, karakteristisk.
Farge	Klar, fargeløs.
Relativ tetthet	0,86-87 g/ml
Smeltepunkt / smeltepunktintervall	fra ca -50°C
Kokepunkt / kokepunktintervall	137-145°C
Flammepunkt	25-30°C (c.c.)
Egenskaper	Ca 1-8 vol% i luft -
Selvantennelsestemperatur	460-580 °C
Damptrykk	ca 800 Pa ved 20°C
Damptetthet	3,7

Andre fysiske og kjemiske egenskaper

Fysiske og kjemiske egenskaper	<p>Løslighet: Praktisk talt uløselig i vann. Blandbar i alle forhold med etanol, eter, kloroform og andre organiske væsker.</p> <p>Molvekt: 106,2</p> <p>Luktegrense: ca 1 mg/m³ (=0,2ppm)</p> <p>800 Pa tilsvarer: ca 8 mbar</p> <p>Flammepkt & eksplosjomr: avh av xylen-andeler</p> <p>25 ppm tilsvarer: 108 mg/m³</p>
--------------------------------	---

10. Stabilitet og reaktivitet

Materialer som skal unngås	Xylen kan reagere kraftig med oksydasjonsmidler, svovelsyre og salpetersyre. Kan løse opp gummi-materiale, kan skade lakkerte flater, malte flater og beskyttende fettlag.
----------------------------	--

11. Toksikologisk informasjon

Toksikologisk informasjon

Oral toksisitet	LD50 rotte, peroralt 4,3 g/kg
Innåndingstoksitet	TCLo // LCLo, menneske: 200 ppm // 10.000 ppm i 6 timer

Øvrige helsefareopplysninger

Innånding	Innånding av damper gir luftveisirritasjon og evt. svimmelhet. Xylen tas raskt opp i kroppen etter innånding. I alvorlige tilfeller: Hodepine, døsighet, uvelhet. Store doser kan gi pustevansker, kramper, hjerterytme-forstyrrelser og bevisstløshet. Xylen kan gi lever- og nyreskade.
Hudkontakt	Irritasjon, evt med sprekkdannelser og sår. Kan ved gjentatt eller langvarig hudkontakt absorberes gjennom hud i mengder nok til å kunne forårsake forgiftning. Gjentatt hudkontakt vil også tørke ut huden og øke faren for utvikling av eksem.
Øyekontakt	Sterk irritasjon.
Svelging	Svelging vil gi irritasjon i mage/tarm med kvalme, smerter, brekninger. Videre sees symptomer og skader som etter innånding. Dødelig dose, voksen: 30-90 milliliter.
Kroniske effekter	Langvarig eller gjentatt påvirkning kan gi alvorlig og varig løsemiddelskade på sentralnervesystemet. Hjerte, lever og nyrer kan også skades.

12. Miljøopplysninger

Øvrige miljøopplysninger

Økotoksitet	Xylen er et organisk løsemiddel og vil i større mengder kunne representere en miljøfare.
Persistens og nedbrytbarhet, kommentarer	Xylen brytes dårlig ned i naturen.


13. Fjerning av kjemikalieavfall

Egnede metoder til fjerning av kjemikaliet	I henhold til avfallsforskriften defineres stoffet som FARLIG avfall. Søl og rester skal leveres godkjent mottak for farlig avfall. Destrueres ved forbrenning. Søl og rester samles på beholder, som tydelig merkes. Må ikke helles i kloakken.
Annen informasjon	AVFALLSGRUPPER gruppe 4.1: organiske løsemidler uten halogen gruppe 4.2: organiske løsemidler uten halogen

14. Transportinformasjon

15. Opplysninger om lover og forskrifter

Faresymbol

	o-xylen , m_xylen , p-xylen , etylbenzen
R-setninger	R10 - Brannfarlig. R20/21 - Farlig ved innånding og hudkontakt. R38 - Irriterer huden.
S-setninger	S25 Unngå kontakt med øynene. S2 Oppbevares utilgjengelig for barn.
Referanser (Lover/Forskrifter)	Lov om vern mot brann m.m. av 14/6-2002 m/ tilhørende forskrifter.

16. Andre opplysninger

YL-gruppe	5
YL-tall	8000 m ³ /L
Utgått dato	01.06.2008
Liste over relevante R-setninger (i avsnitt 2 og 3).	R10 Brannfarlig. R11 Meget brannfarlig. R20 Farlig ved innånding. R21 Farlig ved hudkontakt. R38 Irriterer huden

SIKKERHETS DATABLAD

Alcian Blå 8GX

1. Identifikasjon av stoffet / produktet og av selskapet / foretaket

Utgitt dato	02.05.2011
Kjemikaliets navn	
Kjemisk navn	
Synonymer	
Artikkelnr.	
CAS-nr.	
EC-nr.	
Formel	
Kjemikaliets bruksområde	
Alcian Blå 8GX	
Alcian Blue 8GX	
Alcian Blue 8GS, C.l. 74240, Ingrain Blue 1	
AC-40046, CR-3082	
33864-99-2	
251-705-7	
<chem>C56H68Cl4CuN16S4</chem>	
Laboratoriekjemikalie	

Nedstrømsbruker

Firmanavn	Chiron AS
Besøksadresse	Stiklestadveien 1
Postadresse	Stiklestadveien 1
Postnr.	N-7041
Poststed	TRONDHEIM
Land	Norway
Telefon	73874490
Telefaks	73874499
E-post	
Hjemmeside	
Org. nr.	
Kontaktperson	
Utarbeidet av	
Nødtelefon	

inge.fenstad@chiron.no <http://www.chiron.no>

967607657

Inge Fenstad

Inge Fenstad

Med. nødhjelp:113

2. Fareidentifikasjon

Farebeskrivelse	Produktet	direktiver eller respektive nasjonale lover.
	behøver	
ikke merking i overensstemmelse med EU		

3. Sammensetning /opplysning om innholdsstoffer

Komponentnavn	Identifikasjon	Klassifisering	Innhold
Alcian Blå 8GX	CAS-nr.: 33864-99-2		

EC-nr.: 251-705-7

Kolonneforklaring	<p>CAS-nr. = Chemical Abstracts Service; EU (Einecs- eller Elincsnummer) = European inventory of Existing Commercial Chemical Substances;</p> <p>Ingrediensnavn = Navn iflg. stoffliste (stoffer som ikke står i stofflisten må oversettes hvis mulig). Innhold oppgitt i; %, %vkt/vkt, %vol/vkt, %vol/vol, mg/m³, ppb, ppm, vekt%, vol%</p>
FH/FB/FM	<p>T+ = Meget giftig, T = Giftig, C = Etsende, Xn = Helsekadelig, Xi = Irriterende, E = Eksplosiv, O = Oksiderende, F+ = Ekstremt brannfarlig, F = Meget brannfarlig, N = Miljøskadelig.</p>

4. Førstehjelpstiltak

<p>Generelt</p> <p>Innånding</p> <p>Hudkontakt</p> <p>Øyekontakt</p> <p>Svelging</p>	<p>Ingen farer som krever spesielle forholdsregler med førstehjelp.</p>
<p>Flytt straks den eksponerte til frisk luft.</p>	
<p>Skyll huden med vann.</p>	
<p>Umiddelbart skyll med mye vann i minst 15 minutter, mens øvre og nedre øyelokk løftes av og til. Kontakt lege hvis ikke alt ubehag gir seg. Skyll nese, munn og svelg med vann. Ved svelging av store mengder, oppsøk lege.</p>	

5. Tiltak ved brannslukning

Passende brannslukningsmidler	Bruk slukningsmiddel som er mest egnet for den omgivende brannen.
Personlig verneutstyr	
Se pkt. 8.	

6. Tiltak ved utilsiktet utslipp

Sikkerhetstiltak for å beskytte personell	Se vernetiltakene som er oppført i avsnitt 7 og 8.
Sikkerhetstiltak for å beskytte ytre miljø	
Metoder for opprydding og rengjøring	
Bør hindres i å komme ned i avløp.	
Kost eller samle opp mekanisk. Unngå støvdannelse og spredning av støv	

7. Håndtering og lagring

Håndtering	Ingen spesielle egenskaper eller farer er angitt Behandle likevel produktet med normal forsiktighet for å unngå kontakt.
Oppbevaring	
Oppbevares i en tett beholder.	

8. Eksponeringskontroll / personlig verneutstyr

Eksponeringskontroll	
Begrensning av eksponering på arbeidsplassen	
Åndedrettsvern	
Håndvern	

Øyevern	All håndtering skal foregå på godt ventilert sted. Vask hendene etter arbeid med produktet. Mulighet for øyeskylling bør finnes på arbeidsplassen.
	Normalt ikke nødvendig ved vanlig bruk.
	Bruk beskyttelseshansker av nitril. Gjennomtrengningstid er ikke kjent, skift hansker ofte.
	Bruk øyevern ved risiko for direkte kontakt eller sprut.

9. Fysiske og kjemiske egenskaper

Tilstandsform	Krystallinsk pulver Lilla.
Farge	
Smeltepunkt/smeltepunktintervall	
Verdi:	148 °C

10. Stabilitet og reaktivitet

Forhold som skal unngås	Støvdannelse.
Materialer som skal unngås	
Farlige spaltningsprodukter	
Stabilitet	
	Sterke oksidasjonsmidler.
	Hydrogenklorid (HCl). Karbonmonoksid (CO). Karbondioksid (CO ₂).
	Nitrogenoksider (NO _x). Svoveloksider (SO _x). Kobberoksider.
	Stabilt under anbefalte lagringsforhold.

11. Toksikologisk informasjon

Øvrige helsefareopplysninger	
Generelt	Produktet representerer ingen eller ubetydelig fare ved svelging, hud-, eller øyekontakt.
Innånding	
Hudkontakt	
Øyekontakt	

Svelging	Kan irritere luftveier/lunger.
	Kan irritere ved hudkontakt.
Kan irritere øynene.	
	Kan irritere fordøyelseskanalen.

12. Miljøopplysninger

Øvrige miljøopplysninger

Miljøopplysninger, konklusjon Ikke la dette kjemikallet forurense drikkevann, avløpsvann eller jordsmonn.

13. Fjerning av kjemikalieavfall

Egnede metoder til fjerning av kjemikallet Bør hindres i å komme ned i avløp. Hvilken EAL-kode som skal benyttes avhenger av de prosesser produktet har inngått i. EAL-koden finnes i Den Europeiske avfallslisten.

14. Transportinformasjon

15. Opplysninger om lover og forskrifter

EC-nr. 251-705-7
S-setninger
Referanser (Lover/Forskrifter)

S24/25 Unngå kontakt med huden og øynene.

Produsents datablad.

16. Andre opplysninger

Leverandørens anmerkninger Informasjon i dette databladet er basert på opplysninger fra produsent og gjeldende lover, det er kun ment som en beskrivelse av produktets helse- og sikkerhetsmessige egenskaper.

Ansvarlig for Sikkerhetsdatablad

Chiron AS

SIKKERHETSDATABLAD

Erythromycin

SIKKERHETSDATABLAD

Utgave 6.0

Revisjonsdato 23.04.2019

i henhold til Forordning (EF) nr. 1907/2006

Utskriftsdato 21.04.2020

AVSNITT 1: Identifikasjon av stoffet/stoffblandingen og av selskapet/foretaket 1.1

Produkt identifikatorer

Produktnavn	: Erythromycin
Produktnr.	: E5389
Merke	: Sigma
REACH nr.	: Registreringsnummeret er ikke tilgjengelig for dette stoffet eller dets bruk er fritatt for registrering, årlig tonnasje krever ikke registrering eller registreringen er forutsatt for en senere registreringsdato
CAS-nr.	: 114-07-8

1.2 Relevante identifiserte bruksområder for stoffet eller stoffblandingen og bruk som frarådes

Identifiserte : Laboratoriekjemikalier, Produksjon av stoffer bruksområder

1.3 Opplysninger om leverandøren av sikkerhetsdatabladet

Foretaket	: Merck Life Science AS Drammensveien 123, 5th floor, N-0277 OSLO
Telefon	: +47 23 1760-70
Faks	: +47 23 1760-10
E-post adresse	: TechnicalService@merckgroup.com

1.4 Nødtelefonnummer

Nødtelefon : +(47)-22591300 (Giftinformasjonen)
+(47)-21930678 (CHEMTREC)
Brann og større ulykker 110
Ambulanse medisinsk nødtelefon - 113

AVSNITT 2: Fareidentifikasjon 2.1 Klassifisering av stoffet eller stoffblandingen

Ikke et farlig stoff eller en farlig blanding i henhold til bestemmelse (EF) nr. 1272/2008.

2.2 Merkingselementer

Ikke et farlig stoff eller en farlig blanding i henhold til bestemmelse (EF) nr. 1272/2008.

2.3 Andre farer - ingen

AVSNITT 3: Sammensetning/opplysninger om bestanddeler 3.1 Stoffer

Formel : C37H67NO13
Molekylvekt : 733,93 g/mol
CAS-nr. : 114-07-8
EC-nr. : 204-040-1

Ingen komponenter må utleveres i henhold til gjeldende regelverk.

AVSNITT 4: Førstehjelpstiltak 4.1 Beskrivelse av førstehjelpstiltak Generell anbefaling

Kontakt lege. Vis dette sikkerhetsdatabladet til tilstedeværende lege.

Ved innånding

Ved innånding, fjern personen til frisk luft. Hvis den forulykkede ikke puster, gi kunstig åndedrett. Kontakt lege.

Ved hudkontakt

Vask med såpe og mye vann. Kontakt lege.

Ved øyekontakt

Skyll øynene med vann for sikkerhets skyld.

Ved svelging

Gi aldri noe gjennom munnen til en bevisstløs person. Skyll munnen med vann.

Kontakt lege.

4.2 De viktigste symptomene og virkningene, både akutte og forsinkede

De viktigste kjente symptomer og virkninger er beskrevet i merking (se avsnitt 2.2), og / eller i avsnitt 11

4.3 Angivelse av om umiddelbar legehjelp og spesialbehandling er nødvendig Ingen data tilgjengelig

AVSNITT 5:

Brannsløkkingstiltak 5.1

Slokkingsmidler Egnede slokkingsmidler

Bruk vannspray, alkoholresistent skum, tørrkemikalier eller karbondioksid.

5.2 Særlige farer knyttet til stoffet eller stoffblandingen

Karbonoksider, Nitrogenoksider (NO_x)

5.3 Råd til brannmannskaper

Bruk om nødvendig trykkluftmaske ved brannslukning.

5.4 Utfyllende opplysninger

Ingen data tilgjengelig

AVSNITT 6: Tiltak ved utilsiktede utslipp 6.1 Personlige forsiktighetsregler, personlig verneutstyr og nødrutiner

Bruk eget verneutstyr. Unngå støvutvikling. Unngå innånding av damp, tåke eller gass.

Unngå innånding av støv.

For personlig beskyttelse, se seksjon 8.

6.2 Forsiktighetsregler med hensyn til miljø

Forhindre utslipp til avløpsystemet.

6.3 Metoder og materialer for oppsamling og rensing

Samle opp og sørg for disponering uten å fremkalle støv. Fei opp og tøm. Oppbevares i egnede, lukkede beholdere for disponering.

6.4 Henvisning til andre avsnitt

For fjerning, se seksjon 13.

AVSNITT 7: Håndtering og lagring

7.1 Forsiktighetsregler for sikker håndtering

Unngå dannelse av støv og aerosoler.

Sørg for korrekt avtrekksventilasjon på de steder hvor det dannes støv.

For forholdsregler se avsnitt 2.2.

7.2 Vilkår for sikker lagring, herunder eventuelle uforenligheter

Lagre på en kjølig plass. Hold beholderen tett lukket på et tørt og godt ventilert sted.

7.3 Særlig(e) sluttanvendelse(r)

Bortsett fra bruksområdene nevnt i avsnitt 1.2 er det ikke andre spesifikke bruksområder foreskrevet

AVSNITT 8: Eksponeringskontroll / personlig verneutstyr 8.1 Kontrollparametrer

Bestanddelar med arbeidsplassrelaterte administrative normer

Inneholder ingen stoffer med arbeidsplassrelaterte administrative normer.

8.2 Eksponeringskontroll Hensiktsmessige tekniske kontroller

Må behandles i henhold til alle forskrifter vedrørende industriell hygiene og sikkerhetstiltak. Vask hendene før arbeidspauser og etter arbeidstidens slutt.

Personlig verneutstyr Øyen-/ansiktsvern

Bruk utstyr for øyebeskyttelse som er testet og godkjent i henhold til standarder som NIOSH (US) og EN 166 (EU).

Hudvern

Håndteres med vernehansker. Hansker må inspiseres før bruk. Bruk riktig teknikk ved fjerning av hansker (uten å berøre hanskens overflate) for å unngå hudkontakt med dette produktet. Kast forurensede hansker etter bruk i henhold til gjeldende lover og god laboratoriepraksis. Vask og tørk hendene.

De valgte vernehanskene må tilfredsstillere spesifikasjonene til EU Direktiv 2016/425 og standarden EN 374 derivert fra direktivet.

Full kontakt

Materiale: Nitrilgummi

minimum hansketykkelse: 0,11 mm

Gjennomtrengningstid: 480 min

Materiale testet: Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Størrelse M)

Sprut

Materiale: Nitrilgummi

minimum hansketykkelse: 0,11 mm

Gjennomtrengningstid: 480 min

Materiale testet: Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Størrelse M)

datakilde: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Telefon +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, testmetode: EN374

Dersom de brukes i oppløsningsmidler eller blandes med andre stoffer og under forhold som ikke dekkes av EN 374, ta kontakt med leverandøren til de EF godkjente hanskene. Denne anbefalingen er bare rådgivende, og bør vurderes av ansvarlig kjemiker, som kjenner den forventede bruk. Dette skal ikke oppfattes som en godkjenning av ethvert bruksscenario.

Kroppsvern

Velg kroppsvern i forhold til dens type, til konsentrasjonen og mengden av farlige stoffer og til det spesielle arbeidsstedet., Typen av verneutstyr må velges i henhold til konsentrasjonen og mengden av det farlige stoffet på arbeidsplassen.

Åndedrettsvern

Åndedrettsvern er ikke påkrevd. Når beskyttelse fra ubehagelige mengder st eller type P1 (EN 143). Bruk åndedrettsvern og komponenter som er testet og godkjent etter standarder som NIOSH (US) eller CEN (EU).

Kontroll av miljøutsettelse

Forhindre utslipp til avløpsystemet.

AVSNITT 9: Fysiske og kjemiske egenskaper 9.1 Opplysninger om grunnleggende fysiske og kjemiske egenskaper

- a) Utseende Form: pulver

- b) Lukt Ingen data tilgjengelig
- c) Luktterskel Ingen data tilgjengelig
- d) pH-verdi Ingen data tilgjengelig
- e) Smelte-/frysepunkt 133 °C
- f) Startkokepunkt Ingen data tilgjengelig
- g) Flammepunkt Ingen data tilgjengelig
- h) Fordampingshastighet Ingen data tilgjengelig
- i) Antennelighet (fast stoff, Ingen data tilgjengelig gass)
- j) Øvre/nedre brennbarhets- Ingen data tilgjengelig eller eksplosive grenser
- k) Damptrykk Ingen data tilgjengelig
- l) Damptetthet Ingen data tilgjengelig
- m) Relativ tetthet Ingen data tilgjengelig
- n) Vannløselighet Ingen data tilgjengelig
- o) Fordelingskoeffisient: n- Ingen data tilgjengelig oktanol/vann
- p) Selvantennelsestemperatur Ingen data tilgjengelig
- q) Dekomponeringstemperatur Ingen data tilgjengelig
- r) Viskositet Ingen data tilgjengelig
- s) Eksplosive egenskaper Ingen data tilgjengelig
- t) Oksidasjonsegenskaper Ingen data tilgjengelig

9.2 Annen sikkerhetsinformasjon

Ingen data tilgjengelig

AVSNITT 10: Stabilitet og reaktivitet 10.1 Reaktivitet

Ingen data tilgjengelig

10.2 Kjemisk stabilitet

Stabil under anbefalte lagringsforhold.

10.3 Risiko for farlige reaksjoner

Ingen data tilgjengelig **10.4**

Forhold som skal unngås

Ingen data tilgjengelig

10.5 Uforenlige materialer

Sterke

oksidasjonsmidler.

10.6 Farlige nedbrytingsprodukter

Farlige nedbrytningsprodukter dannet under branntilstander. - Karbonoksider, Nitrogenoksider (NO_x)

Andre farlige nedbrytningsprodukter - Ingen data tilgjengelig I tilfelle av brann: se avsnitt 5

AVSNITT 11: Toksikologiske opplysninger 11.1 Opplysninger om toksikologiske virkninger Akutt giftighet

LD50 Oral - Rotte - 4.600 mg/kg

Hudetsing /

Hudirritasjon Ingen data tilgjengelig **Alvorlig**

øyeskade/øyeirritasjon

Ingen data tilgjengelig

Sensibilisering ved innånding eller hudkontakt

Ingen data tilgjengelig **Arvestoffskadelig virkning på kjønnseller**

Ingen data tilgjengelig

Kreftframkallende

egenskap Ingen data
tilgjengelig

IARC: Ingen komponent av dette produktet har blitt identifisert som mulig eller bekreftet kreftframkallende hos mennesker av IARC ved innholds nivåer høyere enn eller tilsvarende 0,1%.

Reproduksjonstoksisitet

Ingen data tilgjengelig

Spesifikk målorgan systemisk giftighet - enkel utsettelse

Ingen data tilgjengelig **Spesifikk målorgan systemisk**

giftighet - gjentatt utsettelse Ingen data tilgjengelig

Aspirasjonsfare

Ingen data tilgjengelig

Øvrig informasjon

RTECS: KF437500

Gastrointestinal forstyrrelse, Overeksponering for høye konsentrasjoner kan medføre reversibel døvhets.

Etter vår beste kjennskap er ikke de kjemiske, fysiske og toksikologiske egenskapene fullstendig undersøkt.

AVSNITT 12: Økologiske opplysninger 12.1 Giftighet

Giftighet for fisk LC50 - *Morone saxatilis* - 349 mg/l - 96 t

12.2 Persistens og nedbrytbarhet

Ingen data tilgjengelig **12.3**

Bioakkumuleringsevne

Ingen data tilgjengelig

12.4 Mobilitet i

jord Ingen

data

tilgjengelig

12.5 Resultater av PBT- og vPvB-vurdering

PBT / vPvB-vurdering ikke tilgjengelig siden kjemisk sikkerhetsvurdering ikke er påkrevd / ikke utført

12.6 Andre skadevirkninger

Ingen data tilgjengelig

AVSNITT 13: Sluttbehandling 13.1 Avfallsbehandlingsmetoder Produkt

Tilby overskudds- og ikke gjenvinnbare oppløsninger til et etablert destruksjonsfirma. Løs opp eller bland materialet med et lettantennelig løsningsmiddel. Forbrenn i en kjemisk forbrenningsovn utstyrt med etterbrenningskammer og skrubber.

Forurenset emballasje

Avhend på samme måte som ubrukt produkt.

AVSNITT 14: Transportopplysninger 14.1 FN-nummer

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.2 FN-forsendelsesnavn

ADR/RID: Ikke farlig

gods

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

14.3 Transportfareklasse(r)

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.4 Emballasjegruppe

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.5 Miljøfarer

ADR/RID: nei

IMDG Havforurensende stoff: IATA: nei

nei

14.6 Særlige forsiktighetsregler ved bruk

Ingen data tilgjengelig

AVSNITT 15: Opplysninger om regelverk 15.1 Særlige bestemmelser/særskilt lovgivning om sikkerhet, helse og miljø for stoffet eller stoffblandingen

Dette sikkerhetsdatabladet retter seg etter kravene til Forordning (EF) nr. 1907/2006. Internasjonale kjemisk våpen konvensjon (CWC) : Ikke forbudt og/eller begrenset programmer av giftige kjemikalier og forstadier

15.2 Vurdering av kjemikaliesikkerhet

For dette produktet er ikke kjemisk sikkerhetsvurdering utført

AVSNITT 16: Andre opplysninger Utfyllende opplysninger

Copyright 2018 Sigma-Aldrich Co. LLC. Det er kun tillatt å lage ubegrenset papirkopier til internt bruk.

Vi anser ovennevnte informasjon for å være korrekt, men den inkluderer ikke nødvendigvis all informasjon om stoffet og skal derfor kun brukes som veiledning. Informasjonen i dette dokumentet er basert på nåværende kunnskap og benyttes for å angi hensiktsmessige vernetiltak for produktet. Det representerer ikke en garanti for egenskapene til produktet. Sigma-Aldrichkonsernet og dets tilknytninger, skal ikke bli holdt ansvarlig for skade som følge av håndtering eller kontakt med produktet over. Se www.sigma-aldrich.com og/eller baksiden på fakturaen eller pakkseddelen for ytterligere salgsbetingelser.

Merket på topp- og/eller bunntekst på dette dokumentet vil kanskje ikke visuelt stemme med produktet som er kjøpt, siden vi er i ferd med å endre vårt merke. Men all informasjon i dokumentet som gjelder produktet forblir uforandret og stemmer med det bestilte produktet. For mer informasjon, vennligst kontakt mlsbranding@sial.com.

SIKKERHETSDATBLAD

Absolutt Alkohol

1. Identifikasjon av stoffet / produktet og av selskapet / foretaket

Utgitt dato	07.03.2012
Kjemikaliets navn	Absolutt alkohol prima
Kjemisk navn	Etanol
Synonymer	Destillert sprit;
CAS-nr.	64-17-5
EC-nr.	200-578-6
Artikkelnr.	600068
Kjemikaliets bruksområde	Medisinsk, teknisk og vitenskapelig bruk.
Produsent	
Firmanavn	Kemetyl AB
Besøksadresse	Rörvägen 7
Postadresse	Rörvägen 7
Postnr.	136 50
Poststed	Jordbro
Land	Sverige
Telefon	+46 8 504 10 100
E-post	info@kemetyl.com
Hjemmeside	http://www.kemetyl.se
Kontaktperson	Ann Mari Dybdahl

2. Fareidentifikasjon

Farebeskrivelse	<p>Helsefare:</p> <p>Produktet regnes ikke som helsefarlig ved normal bruk. Gjentatt og langvarig innånding av løsemidler kan gi varig hjerneskade.</p> <p>Brann og eksplosjon:</p> <p>Produktet er meget brannfarlig.</p> <p>Miljøfare:</p> <p>Produktet regnes ikke som miljøskadelig.</p>
-----------------	--

3. Sammensetning /opplysning om innholdsstoffer

Komponentnavn	Identifikasjon	Klassifisering	Innhold
Etanol	CAS-nr.: 64-17-5 EC-nr.: 200-578-6 Indeksnr.: 603-002-00-5 REACH reg. nr.: 01-2119457610-43-XXXX	F; R11 Flam. Liq. 2;H225 Eye Irrit. 2; H319	50 - 100
Komponentkommentarer	Se pkt 16 for forklaring av risikosestninger.		

4. Førstehjelpstiltak

Generelt	I tvilstilfelle bør lege kontaktes.
Innånding	Søk lege ved betydelig påvirkning. Frisk luft, ro og varme. Ved bevisstløshet, løs stramtsittende klær. Ved åndedrettsstans eller hjertestans, gi kunstig åndedrett eller hjertekompresjon. Kontakt lege.
Hudkontakt	Tilsølt tøy fjernes. Vask straks med såpe og vann. Hvis hudirritasjon fortsetter, oppsøk lege.
Øyekontakt	Fjern evt. kontaktlinser. Skyll straks med store mengder vann. Hold øyelokket åpent under skyllingen. Transport til lege. Fortsett skyllingen under transporten.
Svelging	Ved svelging av konsentrert produkt gis omgående vann å drikke. Fremkall ikke brekninger. Kontakt lege øyeblikkelig. Ved inntak av utblandet produkt gis mye vann å drikke.

	Fremkall ikke brekninger. Ved svelging av store mengder, oppsøk lege. Gi aldri noe via munnen hvis pasienten har nedsatt bevissthet.
Informasjon til helsepersonell	Risiko for kjemisk lungebetennelse (pneumonitt) ved aspirasjon ved og etter svelging. Foreta ventrikkelskylling etter intubering. Symptomatisk behandling med henblikk på luftveier, respirasjon og hypoglykemi. Ved akutte mentale forstyrrelser kan klopromazin gis.

5. Tiltak ved brannslukking

Egnede slökkingsmidler	Pulver, karbondioksid (CO ₂), vanntåke, alkoholresistent skum.
Uegnede slökkingsmidler	Bruk ikke full vannstråle.
Brann- og eksplosjonsfarer	Produktet er meget brannfarlig. Ved bruk avgis det brennbare gasser som kan danne eksplosiv blanding med luft. Dampene er tyngre enn luft og kan således bre seg i betydelige avstander langs bakken til tennkilder.
Personlig verneutstyr	Forbrenningsproduktene kan være skadelige. Bruk friskluftsmaske når produktet er involvert i brann. Ved rømning brukes godkjent rømningsmaske. Se forøvrig pkt 8.
Annen informasjon	Beholdere i nærheten av brann flyttes straks eller kjøles med vann.

6. Tiltak ved utilsiktet utslipp

Sikkerhetstiltak for å beskytte personell	Benytt personlig verneutstyr som angitt i seksjon 8. Stopp lekkasje hvis mulig uten risiko. Fjern alle tennkilder og sørg for god ventilasjon. Vær oppmerksom på flamme tilbakeslag.
Sikkerhetstiltak for å beskytte ytre miljø	Forhindre utslipp til kloakk, vassdrag eller grunn.
Metoder for opprydding og rengjøring	Spill tas opp med absorberende materiale. Samles opp i egnede beholdere og leveres som farlig avfall (se pkt. 13). Etter rengjøring, spyl bort rester med vann.
Andre anvisninger	Fare for eksplosiv damp-/luftblanding over bakken.

7. Håndtering og lagring

Håndtering	Holdes vekk fra antennelseskilder - Røyking forbudt. Sørg for god ventilasjon.
Oppbevaring	Oppbevares i henhold til lov om brannfarlige varer. Lagres i tett lukket emballasje i kjølig, godt ventilerte rom, beskyttet mot direkte sollys. Oppbevares i originalemballasjen. Aluminiumsbeholdere må ikke benyttes.
Spesielle egenskaper og farer	Produktet må ikke benyttes i nærheten av åpen ild eller andre tennkilder. Dampene er tyngre enn luft og kan spre seg langs gulvet.

8. Eksponeringskontroll / personlig verneutstyr

Komponentnavn	Identifikasjon	Grenseverdier	Norm år
Etanol	CAS-nr.: 64-17-5 EC-nr.: 200-578-6 Indeksnr.: 603-002-00-5 REACH reg. nr.: 01-2119457610-43-XXXX	8 timers grenseverdi: 950 mg/m ³ 8 timers grenseverdi: 500 ppm Grense korttidsverdi Verdi: 1178,4 mg/m ³ Grense korttidsverdi Verdi: 625 ppm	

Eksponeringskontroll

Begrensning av eksponering på arbeidsplassen	Mulighet for øyeskylling skal finnes på arbeidsplassen. Sørg for egnet ventilasjon, spesielt i lukkede rom.
Åndedrettsvern	Ved utilstrekkelig ventilasjon brukes halv- eller helmaske med brunt filter (A) mot organiske løsningsmidler.
Håndvern	Benytt hansker av motstandsdyktig materiale, f.eks.: Butyl eller viton. Gjennomtrengningstid > 8 timer.
Øyevern	Benytt godkjent øyevern ved risiko for sprut.
Annet hudvern enn håndvern	Benytt hensiktsmessige verneklær for beskyttelse mot hudkontakt.

9. Fysiske og kjemiske egenskaper

Tilstandsform	Væske
Lukt	Svak.Karakteristisk.
Farge	Fargeløs
Løselighet i vann	lett løselig i vann
Løselighet i fett	Blandbar med de fleste organiske løsningsmidle
Verdi	0.789 kg/l
Verdi	-114 °C
Verdi	78.5 °C
Verdi	13 °C
Nedre eksplosjonsgrense m/enhet	3,3
Øvre eksplosjonsgrense m/enhet	19
Verdi	422 °C
Kommentarer	3,1 (BuAc=1)
Kommentarer	40 mmHg v/20°C
Verdi	1.59
Referanse-gass	(luft=1)
Verdi	1.19 cPs
Metningskonsentrasjon	5,6 vol% ved 20°C

Andre fysiske og kjemiske egenskaper

Fysiske og kjemiske egenskaper	LogPow: -0,30 Molvekt: 46.07
--------------------------------	-------------------------------------

10. Stabilitet og reaktivitet

Materialer som skal unngås	Sterke oksiderende midler som salpetersyre, vannstoffperoksid, permanganater, klorater mv., enkelte sølvsalter.
Farlige spaltningsprodukter	Ved brann eller høy temperatur dannes: Karbonmonoksid (CO). Karbondioksid (CO ₂).
Stabilitet	Produktet er stabilt ved de angitte lagrings- og bruksbetingelsene. Unngå sterk oppvarming og tennkilder.

11. Toksikologisk informasjon

Toksikologisk informasjon

Oral toksisitet	LD50 rotte >3500 mg/kg
Innåndingstoksitet	LC50 rotte 20 000 ppm/10 timer
Andre toksikologiske data	Laveste observerte dødelige dose ca. 100 g (voksen), etanol.

Øvrige helsefareopplysninger

Generelt	Sammensetningen er lite helseskadelig. Bare store mengder fører til helseskader. I industrien representerer innånding den største faren. Gravide personer skal ikke jobbe med løsemidler.
Innånding	Moderat irriterende. Symptomer på overeksponering kan være hodepine, svimmelhet, tretthet, kvalme og beruselse.
Hudkontakt	Moderat irriterende. Avfetter huden. Kan gi sprekke-dannelser og fare for eksem. Langvarig og gjentatt eksponering kan irritere huden og gi hudbetennelse (dermatitis).
Øyekontakt	Moderat irriterende. Sprut og damp kan gi irritasjon og svie i øynene.
Svelging	Kan gi liknende symptomer som ved innånding. Svelging av konsentrert produkt kan gi alvorlige skader i svelg/spiserør. Inntak av store doser kan føre til bevisstløshet og event. død. Laveste observerte dødelige dose ca. 100 g (voksen), etanol.
Kroniske effekter	Gjentatt eller langvarig eksponering mht svelging eller innånding kan gi alvorlige uhelbredelige skader.
Allergi	Allergifremkallende egenskaper er ikke kjent.

Kreftfremkallende egenskaper, annen informasjon	Etanol regnes ikke som kreftfremkallende, men tilfeller av kreft er kjent etter langvarig bruk.
Reproduksjonsskader	Etanol regnes ikke som reproduksjonsskadelig, men dyreforsøk viser at langvarig inntak kan innvirke på forplantningsevnen, føre til spontanaborter og gi skade på foster. Særlig i første del av graviditeten.
Arvestoffskader	Arvestoffskadende (mutagene) egenskaper er ikke kjent.

12. Miljøopplysninger

Øvrige miljøopplysninger

Økotoksisitet	Produktet regnes ikke som miljøskadelig. LC/IC/EC50 > 1000 mg/l.
Mobilitet	Gassen spres raskt i atmosfæren.
Persistens og nedbrytbarhet, kommentarer	Er lett biologisk nedbrytbar.
Bioakkumuleringspotensial	Forventes ikke å bioakkumulere.
Andre skadevirkninger / annen informasjon	Etanol kan behandles i kommunale vannrenseanlegg.

13. Fjerning av kjemikalieavfall

Avfallskode EAL	14 06 03 andre løsemidler og løsemiddelblandinger
NORSAS	7042 Organiske løsemidler uten halogen
Produktet er klassifisert som farlig avfall	Ja
Egnede metoder til fjerning av kjemikaliene	Leveres som farlig avfall til godkjent behandler eller innsamler. Koden for farlig avfall (EAL-kode) er veiledende. Bruker må selv angi riktig EAL-kode hvis bruksområdet avviker. I tillegg er avfallstoffnummer (Norsas) angitt.

14. Transportinformasjon

Proper shipping names	ETHANOL
-----------------------	---------

Varenavn (nasjonalt)	ETANOL
Andre relevante opplysninger	Meget brannfarlig væske (fl.pkt. under 23°C). EMS: F-E, S-D

15. Opplysninger om lover og forskrifter

Faresymbol



EC-nr.	200-578-6
R-setning	R11 Meget brannfarlig.
S-setninger	S2 Oppbevares utilgjengelig for barn. S7 Emballasjen skal holdes tett lukket. S16 Holdes vekk fra antennelseskilder - Røyking forbudt. S51 Må bare anvendes på godt ventilerte steder.
Referanser (Lover/Forskrifter)	<p>Forskrift om klassifisering, merking m.v. av farlige kjemikalier, fastsatt av Miljøverndepartementet og Arbeids- og administrasjonsdepartementet, 16.juli 2002, med senere endringer, gjeldende fra 1. juli 2005.</p> <p>Stoffene er klassifisert i henhold til 30. og 31. tilpasning av merkereglene (2009).</p> <p>Forskrift om registrering, vurdering, godkjenning og begrensning av kjemikalier (REACH) Vedlegg II: Sikkerhetsdatablad.</p> <p>Administrative normer for forurensning i arbeidsatmosfæren 2003, Direktoratet for Arbeidstilsynet (Best.nr. 361).</p> <p>Avfallsforskriften, FOR 2004-06-01 nr 930, fra Miljøverndepartementet.</p> <p>ADR/RID veg-/jernbanetransport av farlig gods 2011, Direktoratet for samfunnssikkerhet og beredskap.</p> <p>Sikkerhetsdatabladet er utarbeidet med basis i opplysninger gitt av produsenten.</p>
Deklarasjonsnr.	2193

16. Andre opplysninger

YL-gruppe	3
-----------	---

YL-tall	800-1600
Utgått dato	01.02.2013
Liste over relevante H-setninger (i avsnitt 2 og 3).	H225 Meget brannfarlig væske og damp. H319 Gir alvorlig øyeirritasjon.
Liste over relevante R-setninger (i avsnitt 2 og 3).	R11 Meget brannfarlig.
Viktige litteraturreferanser og datakilder	Sax: Dangerous Properties of Industrial Materials. Richardson: The dictionary of substances and their Effects. TOX-INFO handboken.
Opplysninger som er nye, slettet eller revidert	Punkt 1.1 er endret siden forrige versjon.
Leverandørens anmerkninger	Informasjonen i dette dokument skal gjøres tilgjengelig til alle som håndterer produktet.

SIKKERHETSDATBLAD

Safran

SAFRAN (C.I. 75100), CHROMA 5A-394

1. Identifikasjon av stoffet / produktet og av selskapet / foretaket

Utgitt dato	23.03.2004
Kjemikaliets navn	SAFRAN (C.I. 75100), CHROMA 5A-394
Kjemisk navn	Safran
Synonymer	C.I. 75100; Croci stigma; Crocin; Saffron du Gatinais; Stamen of crocus; bis(6-O- beta.-D-glucopyranosyl-.beta.-D-glucopyranosyl) 8,8'-diapo- .psi.,.psi.
CAS-nr.	-carotenedioate;
EC-nr.	42553-65-1
Formel	255-881-6
Produktgruppe	C44H64O24
Kjemikaliets bruksområde	Organisk fast stoff. Fargestoff.

Distributør

Firmanavn	Chemi-Teknik as
Besøksadresse	Tvetenveien 30
Postnr.	0666
Poststed	Oslo
Land	Norge
Telefon	22654100
E-post	post@chemi-teknik.no
Hjemmeside	www.chemi-teknik.no
Org. nr.	811 025 542

2. Stoffblandingers sammensetning og stoffenes klassifisering

Komponentkommentarer	Naturprodukt. Fra støvbærere av krokus.
----------------------	---

Inneholder ingen merkepliktige ingredienser.

3. Viktigste faremomenter

Farebeskrivelse	HELSE: Produktet er ikke ansett å være helsefarlig. BRANN OG EKSPLOSJON: Brennbar. MILJØ:
	Produktet er ikke ansett å være miljøfarlig.

4. Førstehjelpstiltak

Generelt	Flytt pasienten vekk fra eksponeringskilden snarest mulig. Sørg for ro, varme og frisk luft.
Innånding	Flytt straks til frisk luft. Kontakt lege ved vedvarende ubehag.
Hudkontakt	Fjern tilsølte klær og skyll huden grundig med mye vann.
Øyekontakt	Kontakt lege ved vedvarende ubehag.
Svelging	Skyll straks øyet grundig med mye vann mens øyelokket løftes. Fortsett å skylle i minst 15 minutter. Kontakt lege hvis ikke alt ubehag gir seg.
Annen informasjon	Skyll munnen grundig med vann. Fremkall ikke brekninger. Kontakt lege ved vedvarende ubehag.
	NØDTELEFON: Giftinformasjonssentralen - 22 59 13 00. Medisinsk nødhjelp - 113.

5. Tiltak ved brannslukking

Egnede slokkingsmidler	Karbondioksid (CO2). Skum. Pulver.
Brann- og eksplosjonsfarer	Brennbar. Ved brann kan det utvikles farlige damper/gasser.
	Evakuer alt personell, benytt verneutstyr for brannslukning.

Personlig verneutstyr	Fjern branntruede beholdere hvis det er mulig uten risiko.
Annen informasjon	Flammeutsatte beholdere kjøles med vann inntil brann er slukket. NØDTELEFON: Brann - 110. Politi - 112.

6. Tiltak ved utilsiktet utslipp

Sikkerhetstiltak for å beskytte personell	Sørg for effektiv ventilasjon. Unngå direktekontakt med produktet. Unngå innånding av støv. Unngå håndtering som fører til støvdannelse.
Sikkerhetstiltak for å beskytte ytre miljø	Forhindre spredning til omgivelsene.
Metoder for opprydding og rengjøring	Spill feies forsiktig sammen og samles opp. Oppsamlet materiale lagres på tette, merkede beholdere og behandles som angitt under pkt. 13 - "Fjerning av kjemikalieavfall". Rengjør forurenset område. Mindre mengder kan destrueres ved brenning.

7. Håndtering og lagring

Håndtering	Unngå søl, hud- og øyekontakt. Unngå sterk oppvarming.
Oppbevaring	Unngå lyseksposering.
Spesielle egenskaper og farer	Lagres på et tørt, godt ventilert sted, i tett lukket beholder.
	Anbefalt lagringstemperatur: +15 - +25 C.
	Lyssensitiv.

Eksponeringskontroll

Begrensning av eksponering på arbeidsplassen	Sørg for effektiv ventilasjon. Vask hender og ansikt grundig etter arbeid med stoffet. Skift straks forurensete klær. Øyedusj bør finnes på arbeidsplassen.
Åndedrettsvern	Bruk egnet åndedrettsvern ved fare for innånding av støv.
Håndvern	Bruk egnede arbeidshansker ved fare for langvarig / gjentatt hudkontakt.
Øyevern	Bruk egnet øyevern ved fare for øyekontakt.

9. Fysiske og kjemiske egenskaper

	Fast stoff.
--	-------------

Tilstandsform	Karakteristisk.
Lukt	Rødbrun.
Farge	Nesten uløselig i vann.
Løselighet i vann	Etanol.
Løselighet i fett	

Andre fysiske og kjemiske egenskaper

Fysiske og kjemiske egenskaper	Informasjon om fysiske og kjemiske egenskaper er mangelfull
--------------------------------	---

10. Stabilitet og reaktivitet

Forhold som skal unngås	Lyseksposering. Sterk oppvarming.
Stabilitet	Stabil ved normal håndtering.

11 Opplysninger om helsefare

Toksikologisk informasjon

Andre toksikologiske data	Kvantitative data for toksikologisk effekt er ikke tilgjengelig.
---------------------------	--

Øvrige helsefareopplysninger

Generelt	Produktet er ikke ansett å være helseskadelig, men må behandles med varsomhet i likhet med et hvert kjemikalie.
----------	---

Toksikologisk informasjon

Akvatisk, kommentarer	Kvantitative data for akvatisk toksisitet er ikke tilgjengelig.
-----------------------	---

Øvrige miljøopplysninger

Økotoksisitet	Miljøskadelige effekter er ikke forventet.
Mobilitet	Produktet er nesten uoppløselig i vann.
Persistens og nedbrytbarhet, kommentarer	Informasjon om biologisk nedbrytbarhet er ikke tilgjengelig.
Bioakkumuleringspotensial	Informasjon om bioakkumulasjonspotensiale er ikke tilgjengelig.
	Produktet bør behandles med varsomhet og utslipp til miljøet unngås.

Miljøopplysninger, konklusjon	
----------------------------------	--

13. Fjerning av kjemikalieavfall

Egnede metoder til fjerning av kjemikaliet	Ikke klassifisert som spesialavfall. Avfall avhendes i henhold til lokale forskrifter
---	--

14. Opplysninger om transport

Andre relevante opplysninger	Ikke transportklassifisert.
---------------------------------	-----------------------------

15. Opplysninger om lover og forskrifter

EC-nr.	255-881-6
R-setninger	Vurdert ikke-merkepliktig.
Referanser (Lover/Forskrifter)	Forskrift om helsefare-, miljøfare-, brannfare- og eksplosjonsfaremerking. Forskrift om stoffliste. Administrative normer for forurensning i arbeidsatmosfære, 2001. Forskrift om spesialavfall. Transport av farlig gods: ADR, RID, IMDG, IATA.

16. Andre opplysninger av betydning for helse, miljø og sikkerhet

Utgått dato	08.10.2018
Viktige litteraturreferanser og datakilder	Datablad fra leverandør/producent. Arbeidsmiljøsenderets hanskeguide. Arbeidstilsynets brosjyrer om verneutstyr. Hva du må vite når du bruker åndedrettsvern (Orientering, best.nr. 539, Arbeidstilsynet).
Opplysninger som er nye, slettet eller revidert	REVISJONSOVERSIKT: ----- 23.03.04 - Utgitt.

