

PRØVEUTTAKSVEILEDNING: HISTOLOGI

Riktig prøveuttak og behandling av prøvematerialet er viktig for å sikre best mulig kvalitet på analysene. Denne veiledningen inneholder PatoGen sine retningslinjer for uttak og håndtering av vevsprøver for histologi.

Vi anbefaler på generelt grunnlag uttak av organprøver fra hjerte, nyre og gjelle på RNAlater fra fiskene som blir prøvetatt for histologisk undersøkelse.

ORGANPAKKE

- Vi anbefaler at det tas ut organprøver fra minst 5 fisk på formalin per uttak eller 5 fisk per merd for økt sensitivitet. Organprøvene bør tas fra svimere eller fersk dødfisk.
- Organer fra hvert individ legges i egen formalinbeholder.
- Merk beholder med individnummer/bokstav og opplys på rekvisisjonen hvilke organer som sendes fra hvert individ. I tilfeller hvor PCR- og histologiprøver tas ut fra samme individ, må individnummer/bokstav samsvare på rekvisisjonen.
- Fra hvert individ anbefaler vi at følgende preparater sendes inn: lever, blindsekker med pankreas, gjeller, hjerte, nyre, milt og hud inkl. muskel. Fra marin fisk bør øye og hjerne inkluderes. Pseudobranke inkluderes i de tilfellene hvor dette er aktuelt.

INNSENDELSE AV ENKELTORGANER

- Preparater fra flere individer kan sendes inn som samleprøver i samme formalinbeholder.

PRØVEUTTAK

Uttak av organer

Blindsekker med pankreas	Vevsbiter (maks 0,4 cm x 1 cm x 1 cm)
Gjeller	Gjellebue nummer to. Hos større fisk: 2-3 cm av gjellebuen nedenfor vinkelen. Gjellevev er svært utsatt for postmortelle forandringer (forråtnelse), og preparatene bør legges på formalin umiddelbart etter avlivning. For å sikre rask fiksering av hele preparatet er det best å vende formalinbeholderen (riste forsiktig) umiddelbart etter at prøven er lagt i for å unngå sammenklistring av vev.
Hjerne	Ved uttak av hjerne bør fisken avlives med overdose av bedøvelsesmiddel. Hos mindre fisk: hodet kløyves vertikalt litt til side for midten. Fiksér den største halvdelen med hjernen liggende i skallen. Hos større fisk: disseker ut hjernen og fiksér denne hel.
Hjerte	Hele organet (for-, hjertekammer og bulbus arteriosus). Hos større fisk: orienter hjertet med spissen mot deg og bulbus fra deg og legg et vertikalt snitt gjennom for- og hjertekammer.
Hud/muskel	Ta ut en loddrett skive på tvers av sidelinjen under ryggfinner for å inkludere både rød og hvit muskulatur.
Lever	Skiveformede vevsbiter (maks 0,4 cm x 1 cm x 1 cm).
Milt	Vevsbiter (maks 0,4 cm x 1 cm x 1 cm).
Nyre	Fikser hele organet eller en lengde på 1 cm fra midtnyren. Hos større fisk: skjær ut en bit på tvers av midtnyren slik at kapselen er med
Øye	Fikseres helt.
Yngel	<5 mm tykk: Fikseres hel. >5 mm tykk: Fjern gjellelokk på én side og snitt i bukens midtlinje så fiksativet trenger inn i vevene.

Avlivning

- Hvis mekanisk avliving gir skade på relevant vev eller fisken er liten (< 4 cm), bør avliving skje med overdose av bedøvelsesmiddel.
- Liten fisk/ungel avlives med overdose av bedøvelsesmiddel før fiksering.

Generelt

- Volumet av formalin skal være minst 10 ganger det totale vevsvolumet.
- Bruk tett formalinbeholder stor nok til at vevsbiten(e) kan flyte fritt. Beholdere kan bestilles fra PatoGen.
- Ta ut skiveformede vevsbiter (0,4 cm x 1 cm x 1 cm) med plane snittflater der det er mulig, og minimer klemming av vevsbitene med pinsett eller annet. Det er særlig viktig at hasteprøver ikke er for tykke, hud- og muskelpreparater er vanskelig å fikserer på kort tid.
- Ved makroskopiske lesjoner bør prøven tas ved overgang fra friskt vev til forandret vev. Prøver fra makroskopiske lesjoner bør tas ut i tillegg til standard prøve.

Oppbevaring

- Prøver oppbevares kjølig (ikke over romtemperatur) frem til forsendelse. Unngå frysing av prøvene da dette vanskeliggjør histopatologisk undersøkelse.

FORSENDELSE

- Forsendelse bør skje raskest mulig etter prøveuttak.
- Alle prøver skal pakkes i tre lag emballasje: formalin glass, tett sekundærbeholder (for eksempel legg absorberende materiale i en zip-lock pose) og ytre emballasje (polstret pose, stiv papp, isopor eller lignende).
- Hvis formalinrørene sendes sammen med PCR prøvene, må formalinrørene unngå direkte kontakt med isosene.
- Unngå søl på rekvisisjonen om mulig. Den kan gjerne ligge i egen emballasje.
- Pakken merkes "BIOLOGISK STOFF KATEGORI B".

Prøvene sendes til:

Anlegg fom Trøndelag og sørover

PatoGen AS
Rasmus Rønnebergsgate 21
6002 Ålesund

Anlegg fom Nordland og nordover

PatoGen Nord AS
Klinkerveien 8
8006 Bodø

OMFANG AV ANALYSEOPPDRAG OG LABORATORIETS SVARTIDER

Svartider

Normal svartid er 5 virkedager etter prøvemottak (i en oppstartsperiode må 6 virkedager påregnes). Hasteleveranser kan utføres, men må være avtalt på forhånd og vil medføre pristillegg. For hasteleveranser må prøvematerialet ankomme PatoGens laboratorie innen kl 07.45 og ordren må være avtalt med PatoGen innen kl 12 virkedagen før prøvemottak.

Prosjekt

Innsendelser av prøver fra mer enn 20 fisk regnes som prosjekt, og svartid må avtales med PatoGen. Vi vil i alle tilfeller gjøre vårt beste for at dere får et raskt svar. Analyseoppdrag hvor innsender ønsker systematisk evaluering av vev/organer utover vanlig sykdomsdiagnostikk regnes også som prosjekt og må forhåndsavtales med PatoGen AS.