

**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 Real-Time PCR-analyser.**

Generelt anbefales det at prøveuttak utføres av personale med god erfaring. Etter avtale kan PatoGen forestå prøveuttak eller opplæring av personale i rutiner for prøveuttak. For lovpålagte analyser skal prøveuttak foretas av autorisert veterinær, fiskehelsebiolog eller utpekt medhjelper. For bestemmelser ved bruk av medhjelper til deler av prøveuttaket henvises det til §6 i FOR 2017-08-29-1318: Forskrift om tiltak for å forebygge, begrense og bekjempe pankreassykdom (PD) hos akvakulturdyr.

### PatoGen Prøveinnsamlingspakke:

Pakken er utviklet som et ledd i kvalitetssikringen av PatoGen sine analyser, og består av ferdig merkede prøverør med RNAlater™, kjøleelement og emballasje for innsending. Systemet er utviklet for å hindre ombytting av prøver og sikre god kvalitet på vevsprøvene som kommer til PatoGen sitt laboratorium. Prøverør med RNAlater™ har holdbarhet på 6 måneder (se datostempling på prøverørspakke), og oppbevares i romtemperatur frem til bruk.

### Anbefalte vev:

Virus			
Salmonid alfavirus (SAV)/Pancreas disease virus (PDV)	Hjerte	Salmon gill poxvirus (SGPV)	Gjelle
Piscine orthoreovirus (PRV) (HSMB)	Nyre eller hjerte	Atlantic salmon paramyxovirus (ASPV)	Gjelle
Piscine orthoreovirus <i>Oncorhynchus mykiss</i> (PRVom)	Nyre eller hjerte	Viral hemoragisk septikemi virus (VHSV)	Nyre, hjerne**
Infeksiøs lakseanemi virus (ILAV)	Hjerte, nyre, gjelle*	Infeksiøs hematopoietisk nekrose virus (IHNV)	Nyre
Infeksiøs pankreas nekrose virus (IPNV)	Nyre	Nodavirus	Hjerne
Piscint myokarditt virus (PMCV) (CMS)	Hjerte		
Bakterier			
<i>Renibacterium salmoninarum</i> (BKD)	Nyre	<i>Candidatus</i> Piscichlamydia salmonis	Gjelle
<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> (Furunkulose)	Nyre	<i>Francisella</i> sp.	Nyre
<i>Yersinia ruckeri</i>	Nyre	<i>Moritella viscosa</i>	Nyre***
<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	Nyre	<i>Piscirickettsia salmonis</i>	Nyre
<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Gjelle, nyre, hud	<i>Candidatus</i> Branchiomonas cysticola	Gjelle
Parasitter			
<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i> (Myxosporidie)	Nyre, gjelle, pseudobranch****	<i>Ichthyobodo necator</i> (Costia)	Gjelle
<i>Paranucleospora theridion</i> (Microsporidie)	Nyre	<i>Ichthyobodo salmonis</i> (Costia)	Gjelle
<i>Paramoeba perurans</i> (AGD)	Gjelle		
Analyser spesifikke for rognkjeks			
<i>Aeromonas salmonicida</i> spp. - atypisk (Atypisk furunkulose)	Nyre	<i>Pasteurella</i> sp.	Nyre
<i>Nucleospora cyclopteri</i>	Nyre	Lumpsucker virus	Nyre
Andre tjenester			
SmoltTimer®	Gjellebue	Sykdomsoppløring	Hjerte, gjelle, nyre

\*For lovpålagt ILA-overvåking: Hjerte, og i noen tilfeller også nyre. ILA-frie områder (nyetablering, re-etablering eller utvidelse av ILA-fritt område): Analysering av både hjerte og nyre er et krav. Overvåking av ILAV-HPRO: Gjelle anbefales. \*\*Nyre i tidlig fase, hjerne i sen fase \*\*\*Kan også kjøre analyse på sår \*\*\*\*Nyre eller gjelle før sykdom, pseudobranch etter sykdom

### Forberedelse

Før prøveuttak og innsending bør man ha blant annet:

- Sterile pinsetter og skalpeller
- Klorin (10%-blanding), eventuelt gassbluss og sprit (70%), for fortløpende sterilisering av pinsett og skalpellskaft
- PatoGen prøveinnsamlingspakke
- Tørkepapir
- Skrivesaker
- Stabilt og rent underlag



## Vevsbitene bør i minst mulig grad komme i kontakt med fiskens bukhule!

Forskning utført hos PatoGen indikerer en viss risiko for at vaksinerester kan påvises i fisk vaksinert mot PDV, IPNV, Yersinia eller Flavobakter. Risikoen reduseres imidlertid over tid, og ved å unngå kontakt med vaksinen i buken. For IPNV skiller vaksinert fisk fra infisert fisk ut fra hvilken virusvariant som påvises, mens det for resten enda ikke finnes gode metoder for å skille tilsvarende. Nyreprøver bør prøvetas via nakken for disse analysene.

## Sterilteknikk

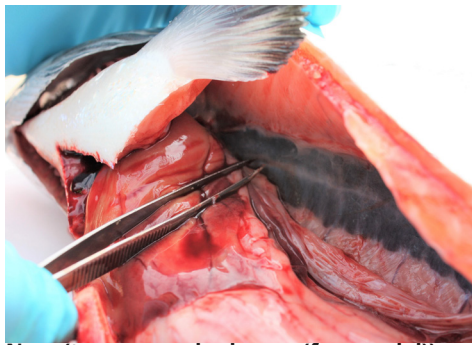
Bruk sterilteknikk ved uttak av prøver for å unngå forurensning mellom prøver fra ulike fisk. Vi anbefaler å bruke et nytt skalpellblad for hver fisk. Ved gjenbruk av utstyr anbefaler vi å rengjøre med papir for å fjerne vevsrester, før det bades i 10% klor, eventuelt så kan man bade utstyret i 70% sprit og brenne av. Tips: Bruk innsiden av skalpellblademballasjen til trimming av vevsbitene.

## Uttak av vevsbiter

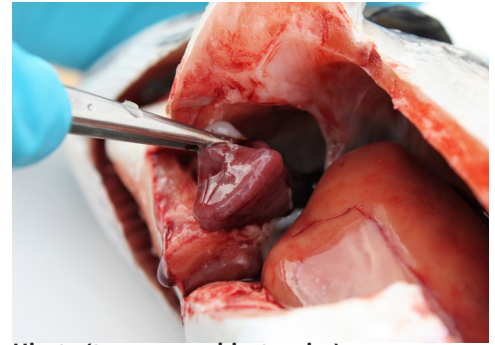
Åpne fisken med skalpellbladet slik at aktuelt organ blir tilgjengelig. Ta ut aktuell prøve, på liten fisk kan større deler av organene tas med. Om det skal tas ut gjellelev i tillegg til andre vev anbefaler vi at gjelle tas ut først (husk å bytte eller sikre at utstyret er skikkelig desinfisert før du åpner fisken etter prøveuttak av gjelle).



Gjelle



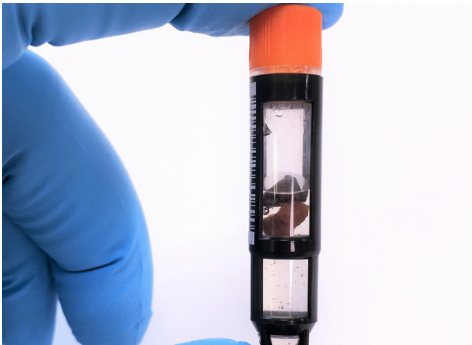
Nyre (ta prøve av hodenyre (fremre del))



Hjerte (ta prøve av hjertespiess)



Trimming av vev på skalpellemballasjen



Pass på at vevsbitene er dekket av RNAlater



Innsending av prøverørene i en lynlåsepose

## Trimming av vevsbiter

Legg vevsbiten på innsiden av skalpellblademballasjen og trim vevsbiten til to vevsbiter på ca 2x2x2mm (som et fyrstikkhode). Det er viktig at vevsprøvene ikke er for store da det vil kunne medføre dårlig konservering av prøvene. Viktig at det tas to vevsbiter for hvert organ som skal analyseres (en A- og B-prøve).

## Overføring av vevsbiter til prøverør

Prøvene fra en fisk legges på ett og samme rør, og det kan maksimalt legges fire vevsbiter på hvert rør. Dersom flere vev skal tas ut (3, 5 osv.) anbefales det at gjelle legges på eget rør. Legg gjelle på første rør, og for eksempel hjerte og nyre på andre rør. Dersom flere vev skal tas ut (2, 4 osv.) kan gjelle legges på samme rør som et annet vev. Se til at vevet ligger ned i væsken i røret, og ikke sitter igjen på kanten uten å være dekket av væske.

## Registrering av informasjon

Registrer prøveuttaket elektronisk i Patolink eller noter detaljer om prøvene i bestillingsskjema som fulgte prøveinnsamlingspakken. Kontakt oss om du har spørsmål om tilgang til eller bruk av Patolink. Alle prøveuttak som registreres i Patolink får kortere leveringstid - 4 virkedager svartid mot normalt 5 virkedager.

## Oppbevaring frem til forsendelse

Når prøverørene er tatt i bruk skal de legges på is/kjøøl fortløpende. Ved prøveuttak over flere dager kan brukte prøverør lagres i kjøleskap inntil en uke før forsendelse på kjøøl. For lengre oppbevaring anbefales det at prøverørene fryses ned etter først å ha vært oppbevart i kjøleskap i 24 timer.

## Forsendelse

Dersom ikke hele kittet brukes opp kan prøverørene legges i en plastpose og sendes inn, slik at resten av kittet kan brukes senere. Prøvene sendes til PatoGen med kjøleelement/ispose. Pakken sendes med ekspres over natt til adressen under. Send sporingsnummer til [sample@patogen.no](mailto:sample@patogen.no) eller +47 957 07 910