

# 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.

I tillegg til histologi anbefales det alltid å sende inn vevsprøver fra hjerte, nyre og gjelle konserver i RNAlater. Dette gir en bredere diagnostisk tilnærming, mulighet for videre sykdomsoppløring og bekreftelse av eventuelle sykdomsmistanker ved hjelp av Real-Time PCR.

## INNSENDELSE AV 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. Pseudobranchie inkluderes i de tilfellene hvor dette er aktuelt

## INNSENDELSE AV ENKELTORGANER

- Enkeltorganer, det vil si biter av samme type organvev fra ulike individer. Kan sendes inn som samleprøver i en formalinbeholder

## PRØVEUTTAK

### Uttak av organer

<b>Blindsekker med pankreas</b>	Vevsbiter (maks 0,4 cm x 1 cm x 1 cm)
<b>Gjeller</b>	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.
<b>Hjerne</b>	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 halvdel med hjernen liggende i skallen. Hos større fisk: disseker ut hjernen og fiksér denne hel.
<b>Hjerte</b>	Hele organet (for-, hjertekammer og bulbus arteriosus). Hos middels stor fisk: orienter hjertet med spissen mot deg og bulbus fra deg og legg et vertikalt snitt gjennom for- og hjertekammer. For stor fisk er det nødvendig å ta prøve av de ulike delene av hjertet separat; atriet: 1x1cm vevsbit, ventrikkelen: en 0.4cm tykk skive av vegg fra lumen til epicardiet og bulbus: en vevsbit fra vegg.
<b>Hud/muskel</b>	Ta ut en loddrett skive på tvers av sidelinjen under ryggfinnen for å inkludere både rød og hvit muskulatur. Ta gjerne en bit som er tre skjell-lengder tykk. Da får en oftere med skjellene på snittet og slipper å lure på om det er skjelltap eller skjellødem.
<b>Lever</b>	Skiveformede vevsbiter (maks 0,4 cm x 1 cm x 1 cm).
<b>Milt</b>	Vevsbiter (maks 0,4 cm x 1 cm x 1 cm).
<b>Nyre</b>	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
<b>Øye</b>	Fikseres hel.
<b>Yngel</b>	<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, for å sikre god fiksering av prøvene
- Bruk tett formalinbeholder stor nok til at vevsbite(n) 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

- Formalin skal lagres i et temperert rom mellom 10-25°C og ikke oppbevares lengre enn 2 måneder. Dersom glasset utsettes for temperaturer utenfor anbefalt område kan det skilles ut formaldehyd

## FORSENDELSE

- Forsendelse bør skje raskest mulig etter prøveuttak
- Alle prøver skal pakkes i tre lag emballasje: formalinglass, tett sekundærbeholder (for eksempel zip-lock pose med absorberende materiale) og ytre emballasje (polstret pose, stiv papp, isopor eller lignende)
- Prøvene må ikke fryses eller vere i kontakt med isposer under sending. Dette kan påvirke resultatet av den histopatologiske undersøkelsen
- Pakken merkes "BIOLOGISK STOFF KATEGORI B"
- Her kan du bestille returseddel for innsending av prøver: <https://patogen.no/nb/sending-samples/>

### Rutineprøver i Norge:

**Fürst Medisinsk Laboratorium AS**  
Søren Bulls vei 25  
1051 OSLO

### Prosjektprøver i Norge:

**PatoGen AS**  
Rasmus Rønnebergs gate 21  
6002 Ålesund

### Prøver i UK:

**PatoGen Ltd. (UK)**  
Suite 9, Malin House  
European Marine Science Park  
Dunbeg, Oban PA37 1SZ

## OMFANG AV ANALYSEOPPDRAG OG LABORATORIETS SVARTIDER

### Svartider

Normal svartid er fem virkedager etter prøvemottak. Hasteleveranser kan omfatte inntil fem organpakker, femten enkeltvev (det vil si femten biter av samme vevstype) eller ti ungel per innsending. Dersom en innsending inneholder > 10, men <25 prøver, må utvidet svartid påregnes.

### Prosjekt og større innsendelser

Analyseoppdrag som inngår i et forhåndsavtalt kundeprosjekt, eller der det ønskes systematisk evaluering av vev/organer utover ordinær diagnostikk skal avtales med PatoGen før registrering.

- > 26 prøver: må avklares med PatoGen før innsending. Innsendinger av denne størrelsen kan omfattes av prosjekt
- Forhåndsavtalte prosjektprøver skal alltid sendes via Ålesund og ikke direkte til Fürst

Filmatisert versjon av uttaksveileder finnes her: <https://patogen.no/nb/how-to-carry-out-tissue-extraction-for-histology/>