

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. Se datostempling på kit for holdbarhet på prøverør med RNAlater™, og kit kan oppbevares i romtemperatur frem til bruk.

Anbefalte vev:

Yngel v-cut anses å inneholde nyre, hjerte og gjelle og kan brukes i alle tilfeller der ett av disse vevene er blant anbefalte vev.

Analyse	Anbefalt	Andre vev som kan kjøres
Aeromonas salmonicida type 1-23	Nyre	Milt, hjerte
Aeromonas salmonicida subsp. sal.	Nyre	Milt, hjerte
Aeromonas salmonicida type 5	Nyre	
Aeromonas salmonicida type 6	Nyre	
AGD - Paramoeba perurans	Gjelle	
Aliivibrio wodanis ²	Nyre	Hud, hjerte
Atlantic salmon paramyxovirus ²	Gjelle	Hud
Berggylt birnavirus ¹	Yngel, nyre	
BKD - Renibacterium salmoninarum*	Nyre	
Ca. Branchiomonas cysticola	Gjelle	Nyre
Ca. Piscichlamydia salmonis	Gjelle	Yngel
Carnobacterium maltaromaticum ²	Nyre, hjerte	
Costia - Ichtyobodo necator	Gjelle	Hud
Costia - Ichtyobodo salmonis	Gjelle	Hud
Flavobacterium psychrophilum*	Milt	Nyre, gjelle, hud
Francisella*	Nyre	Milt
Gyrodactylus salaris	Finne, hud	
IHNV	Nyre	
IPNV*	Nyre	
ILAV ^{*,6}	Hjerte	Nyre
ILAV-HPR0*	Gjelle	Hjerte, nyre
Laksepoxyvirus ⁴	Gjelle	
Lumpsucker virus ⁵	Nyre	Lever
Moritella viscosa	Nyre	Hud, gjelle
Mycobacterium ^{2,10}	Nyre, hjerte	Milt, gjelle
Nodavirus*	Hjerne	Milt
Lumpsucker virus ⁵	Nyre	Lever

Analyse	Anbefalt	Andre vev som kan kjøres
Nucleospora cyclopteri	Nyre	
Paranucleospora theridion	Gjelle	Nyre, hjerte
Parvicapsula pseudobranchicola ⁹	Pseudobranch, gjelle	Nyre, hjerte
Phocoenobacter skyensis O2	Nyre, hjerte	Gjelle
Phocoenobacter atlanticus	Nyre, hjerte	
Phocoenobacter atl. + sky. O1	Nyre, hjerte	
Piscirikettsia spp.*	Nyre	
Piscirikettsia salmonis	Nyre	
Piscirikettsia nova	Nyre	
PMCV	Hjerte	Nyre
PRV-1*	Hjerte	Nyre, blod
PRV-3	Hjerte	Nyre
Pseudomonas anguilliseptica	Nyre	
Rognkjeks koronavirus	Yngel, nyre	
Rognkjeks totivirus ²	Yngel, nyre	Milt
Salmoxcellia vastator ²	Hjerte	Lever, nyre
Saprolegnia spp.	Yngel	Hud, gjelle
SAV/PDV*	Hjerte	Nyre
SmoltTimer®	Gjellebue	
Tenacibaculum maritimum	Gjeller	Hud, nyre
Tenacibaculum spp. ⁷	Nyre	Hud
Torskepoxyvirus ²	Gjelle	
VHSV ^{*,3,8}	Hjerne	Nyre
Vibrio anguillarum + ordalii	Nyre	
Yersinia ruckeri	Nyre	

*Akkrediterte analyser

¹Patent NO347379

²Analyse under utvikling, validering gjennomført på begrenset mengde materiale

³Påviser genotype I-III

⁴Patent NO346439

⁵Patent NO344051

⁶For lovpålagt ILA-overvåking: hjerte, og i noen tilfeller også nyre. ILA-frie områder (nyetablering, re-etablering eller utvidelse av ILA-fritt område): analysing av både hjerte og nyre er et krav

⁷Analysen detekterer ikke *Tenacibaculum maritimum*

⁸Nyre i tidlig fase, hjerne i sen fase

⁹Nyre eller gjelle før sykdom, pseudobranch etter sykdom

¹⁰To analyser for å dekke flere arter. Påviser *Mycobacterium salmoniphilum* og nært beslektede arter og *Mycobacterium marinum* og nært beslektede arter



- Sterile pinsetter og skalpeller
- Engangshansker
- Klorin (3-10%-blanding), eventuelt gassbluss og sprit (70%), for fortløpende sterilisering av pinsett og skalpellskaft
- PatoGen prøveinnsamlingspakke
- Tørkepapir
- Skrivesaker
- Stabilt og rent underlag

Husk at fisken kan avlives med en bedøvelsesoverdose.

Unngå kontaminering av vevsprøven med vaksine fra bukhulen

Forskning utført hos PatoGen indikerer en risiko for at vaksinerester påvises med PCR i fisk vaksinert mot PDV, IPNV, Yersinia eller Flavobakter. Risikoen reduseres imidlertid over tid etter vaksinering, og ved å unngå kontakt med vaksinen i buken under prøveuttak. For PDV og 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. Ved prøveuttak for analyse av IPNV, Yersinia og Flavobakter unngås kontaminering av nyreprøven med vaksinen ved at prøvene tas via nakken. Ved prøveuttak for PDV-analyse, unngås kontaminering av hjerteprøven med vaksine ved at prøven tas ut med et snitt inn i hjertehulen uten at bukhulen blir åpnet.

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 3-10% 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

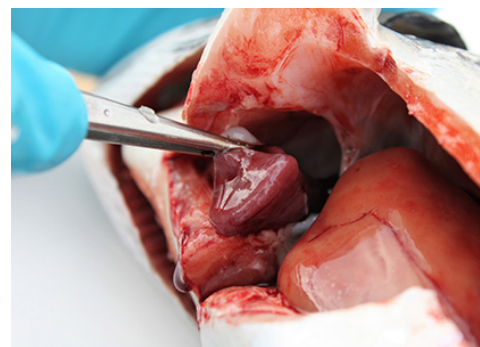
Åpne fisken med skalpellbladet slik at aktuelt organ blir tilgjengelig. Ta ut aktuell prøve, på liten fisk kan større deler av organene tas med. Om det skal tas ut gjellelev i tillegg til andre vev anbefaler vi at gjelle tas ut først (husk å bytte eller sikre at utstyret er skikkelig desinfisert før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



Gjelle



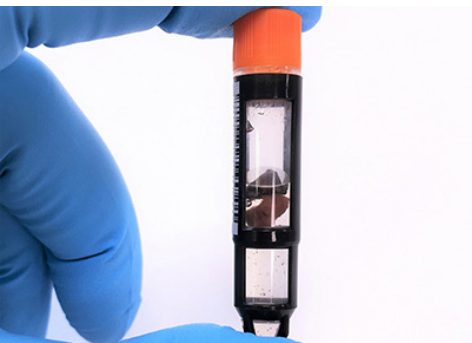
Nyre (ta prøve av hodenyre (fremre del))



Hjerte (ta prøve av hjertespiiss)



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. Henviser til patogen.no for generelle leveringsvilkår og ellers til våre standardbetingelser og informasjon på bestillingsskjema. For avtalekunder kan andre betingelser gjelde.

Oppbevaring frem til forsendelse

Når prøverørene er tatt i bruk skal de legges på is/kjøll fortløpende. Ved prøveuttak over flere dager kan brukte prøverør lagres i kjøleskap inntil en uke før forsendelse på kjøll. 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 ekspress over natt. Send sporsingsnummer til sample@patogen.no eller +47 957 07 910. <https://patogen.no/nb/sending-samples/>