

Veiledning for uttak og innsending av prøver til realtime RT-PCR

For prøveuttak til realtime RT-PCR anbefales det å ha følgende utstyr tilgjengelig:

- For rogn/rognvæske/melke: barkoderør **uten RNA-later** fra PHARMAQ Analytiq
- For yngel/vev: barkoderør **med RNA-later** fra PHARMAQ Analytiq
- Isoporeske
- Kjøleelement
- Pipette (min 1 ml)
- Pinsett og skalpell
- Rent underlag for å trimme vevsbiter
- Gassbrenner
- Tørkepapir

Medfulgt i pakken med PHARMAQ Analytiq barkoderør er skjema for bestilling av analyser og prøveuttak. Vi anbefaler at skjemaet for prøveuttaket utfylles fortløpende ettersom prøvene tas.

Oversikt over agens koblet til vev

Virus	Vev	Bakterier	Vev	Parasitter	Vev
Piscine Myokarditisvirus (PMCV) (CMS)	Hjerte Rognvæske Melke	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	Nyre Gjelle	Paramoeba perurans (AGD)	Gjelle
Piscine Reovirus (PRV) (HSMB)	Hjerte Rognvæske Melke	<i>Yersinia ruckeri</i> *	Nyre	Paramoeba sp.	Gjelle
Salmon Gill Poxvirus (SGPV)	Gjelle	<i>Renibacterium salmoninarum</i> *	Nyre Rognvæske Melke	Paranucleospora theridion*	Gjelle
Infeksiøs Pankreas Nekrose Virus (IPNV)	Nyre Rognvæske Melke	<i>Piscirickettsia salmonis</i> *	Nyre	Parvicapsula pseduobranchicola*	Gjelle
Pancreas Disease Virus (SAV)	Hjerte	<i>Branchiomonas cysticola</i>	Gjelle	Ichtyobodo sp. (Costia)	Gjelle
Infeksiøs Lakseanemi virus (ILAV)	Hjerte Rognvæske Melke	<i>Syngnamydia salmonis</i>	Gjelle	Gyrodactylus salaris	Gjelle
Viral Hemoragisk Septikemi virus (VHSV)	Nyre	<i>Piscichlamydia salmonis</i>	Gjelle	Nucleospora cyclopteri	Gjelle Nyre
Nodavirus (VNN)	Nyre CNS Rognvæske Melke	<i>Clavochlamydia salmonicola</i>	Gjelle		
Infeksiøs hematopoetisk nekrose virus (IHNV)	Nyre	<i>Moritella viscosa</i>	Sår Nyre		
Kveitereovirus	Lever Nyre	<i>Pasteurella sp.</i>	Nyre		
Salmonid calicivirus	Hjerte Rognvæske Melke	<i>Aeromonas salmonicidae</i>	Nyre		
Lumpfish Flavi Virus (LFV)	Nyre Rognvæske Melke	<i>Tenacibaculum sp.</i>	Sår Nyre		
		<i>Vibrio anguillarum O1</i>	Nyre		
		<i>Vibrio ordalii</i>	Nyre		
		<i>Francisella noatunensis ssp. noatunensis</i> *	Nyre		
		<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>	Nyre		

Veiledning for uttak av prøver for settefisk og matfisk:

Uttak av prøver til realtime RT-PCR-analyser skal utføres med sterilteknikk for å unngå kontaminering av prøvene.

- Bruk papir for å fjerne vevsrester fra skalpellbladet
- Bruk gassbrenner for å sterilisere skalpellbladet og pinsetten mellom forskjellige fisk og vev
- Bruk gjerne den sterile innsiden av skalpellpapiret for å trimme vevsbiter
- Hodenyre- og hjerteprøver bør være i minst mulig kontakt med bukhulen

Prøvene skal være på størrelse med et fyrstikkhode, 2x2x2mm. Det er viktig at vevsprøvene er dekket av væsken i rørene.

PLOMMESEKKYNGEL: Legges hel på prøverør MED RNA-later.

STØRRE YNGEL: Hode kappes bak gjellelokk og deles eventuelt i to før det legges på rør med RNA-later. Få med gjeller, hjerte og nyrer.

SETTEFISK / MATFISK:

01. Gjelle/hud-prøver tas først
02. Skjær ut vevet med steril skalpell
03. Legg vevsbiten på innsiden av skalpellpapiret og del vevet i 2 like store biter (A- og B-prøve)
04. Legg begge vevsbitene i samme rør med RNAlater
05. Tørk av vevsrester fra skalpellbladet og brenn av med gassbrenner før en skjærer inn i bukhulen
06. Brenn av pinsett og skalpell før en skjærer inn i hjertehulen
07. Bruk pinsetten til å ta tak i bulbus (hvit forlengelse av hjerte) og skjær løs hjertet
08. Legg hjertet på sterilt underlag (f.eks innsiden av skalpellpapiret) og skjær hjertespiessen i 2 deler
09. Legg begge vevsbitene i ett nytt rør med RNAlater
10. Nyreprøve tas ved å første fjerne svømmeblæren, uten å skjære inn i nyren
11. Brenn av skalpell og pinsett før en skjærer inn i hodenyren (skalpellen kan gjerne være varm når en skjærer inn i nyren)
12. Skjær ut en firkant av hodenyren og del vevsbiten på innsiden av skalpellpapiret
13. Legg begge vevsbitene i et tredje rør med RNAlater
14. Etter man er ferdig med prøvetakingen av en fisk, fyller man ut skjemaet for prøvepakken
15. Noter eventuelle kommentarer på riktig rør (f.eks frisk, svimer, død og eventuelle skader)
16. Prøverørene legges i bobleplastkonvolutt/isoporeske sammen med skjema for prøvepakken, Bestillingsskjema og kjøleelement og sendes ekspress over natt.

Regelmessig screening

Ved regelmessig screening, anbefales det uttak av risikofisk (svimere og/eller fersk dødfisk), frem til positiv PCR-prøve. Etter at en har påvist et agens på risikofisk, bør en starte med å screene tilfeldig friske individer for å avdekke sykdomsomfanget i populasjonen.

Veiledning for uttak av prøver for stamfisk:

Uttak av prøver til Realtime RT-PCR-analyser skal utføres med sterilteknikk for å unngå kontaminering av prøvene.

ROGNVÆSKE/MELKE:	Minimum 0,2 ml og opp til 1 ml rognvæske eller melke per rør. Ikke slå sammen melke eller rognvæskeprøver fra flere individer.
ROGNKORN:	Et rognkorn per rør.
PLOMMESEKKYNGEL:	Legges hel på prøverør MED RNA-later.
STØRRE YNGEL:	Hode kappes bak gjellelokk og deles eventuelt i to før det legges på rør med RNA-later. Få med gjeller, hjerte og nyrer.

Prøver av rognkorn, rognvæske og melke tas på prøverør uten RNA-later, oppbevares i kjøleskap og sendes umiddelbart med post over natt etter prøveuttak sammen med kjøleelement. Slike prøver må IKKE fryses før innsending. Prøver med yngel oppbevares i kjøleskap til innsending.

Skulle noe være uklart – Ta gjerne kontakt!

Prøvene skal sendes med ekspress over natt til:

**PHARMAQ Analytiq AS
Thormøhlens gate 55
5008 Bergen**