

Kvalitetssystem for Havbruksstasjonen i Tromsø AS			Internkontroll akvakultur		
Helseovervåking av egenprodusert laks			Prosedyre	Ik-akva.LA.3.42	
Skrevet av: BH	Godkjent av: Kjersti Fredheim	Gjelder fra: 30.07.2024	Sist revidert: 30.07.2024	Versjon: 1.01	Sidenr: 1 av 5

Formål

Formålet med prosedyren er å sikre at det gjennomføres regelmessig helseovervåking av laksen vi produserer til forsøk slik at fiskens helsestatus blir kjent.

Omfang

Prosedyren gjelder der det produseres laks ved Havbruksstasjonen i Tromsø. Det skal tas ut prøver 4 ganger årlig. Dette skal gjennomføres med 3 måneders mellomrom og prøvene skal tas i mars, juni, september og desember hvert år.

Målgruppe

Prosedyren gjelder for de som utfører prøvetakingen på Havbruksstasjonen.

Beskrivelse

Det testes for følgende patogener:

- Piscine myokardittvirus (PMCV og CMS)
- Piscine orthorevirus (PRV)
- Infeksiøs Pakreas Nekrose Virus (IPNV)
- Pancreas Disease Virus (SAV)
- Infeksiøs Lakseanemi Virus (ILAV)
- Salmon Gill Poxvirus (SGPV)
- Avirulens Infeksiøs lakseanemi
- Branchiomonas Cysticola
- Candidatus Clavochlamydia salmonis (Epitheliocystis, ferskvann)

Det skal tas prøver til Realtime RT-PCR og Histopatologi.

Realtime RT-PCR, RNAlater: Hjerte, gjelle og hodenyre.

Histopatologi, Formalin: Hjerte, gjelle, muskel, lever, milt, blindsekker og midtnyre

Antall fisk

Det bør tas 3-5 fisk per kar. Fiskegruppene som skal prøvetas må gjenspeile de gruppene som er i produksjon, eller tiltenkt forsøk. Fisk under 5 gram kan alternativt sendes hel på prøverør (RNAlater) og prøveglass (formalin).

RNAlater

Plommeseckyngel: Legges hel i prøverøret.

Større yngel: Hode kappes bak gjellelokk og deles eventuelt i to før det legges i prøverøret.

Viktig å få med gjeller, hjerte og nyre.

Formalin

Små yngel fikseres hele og kan legges flere på et prøveglass. Hvis fisken er mer enn 4 mm tykk må det legges et snitt i buken slik at formalin trenger inn til de indre organene.

Helseovervåking av egenprodusert laks				Ik-akva.LA.3.42	
Skrevet av: BH	Godkjent av: Kjersti Fredheim	Gjelder fra: 30.07.2024	Sist revidert: 30.07.2024	Versjon: 1.01	Sidenr: 2 av 5

Utstyr:

- Hansker
- Pinsett
- Skalpell
- Saks
- Rent underlag og benkepapir
- Destillert vann for skylling av utstyr
- 96 % sprit for desinfeksjon
- Stearinlys og lighter til desinfeksjon
- Tørkepapir
- Risikoavfallsboks
- Eventuelt lupe
- Organuttaksliste
- Barkoderør med RNAlater til Realtime RT-PCR
- Prøveglass med formalin BiopSafe® Biopsy Container 60 ml til histopatologi
- Bestillingsskjema for histopatologi
- Bestillingsskjema for Realtime RT-PCR
- Vannfast penn eller sprittusj for merking av prøveglass (formalin)
- Trykkpose eller zip-lock-pose til prøveglass med formalin
- Absorberende materiale til frakt
- Isoporeske og kjøleelement

Organuttaksliste

ORGAN	RNAlater	FORMALIN
HJERTE	JA	JA
GJELLE (2. GJELLEBUE)	JA	JA
MUSKEL		JA
LEVER		JA
MILT		JA
BLINDSEKKER		JA
NYRE	HODENYRE	MIDTNYRE

PHARMAQ Analytiqs generelle anbefalinger:

Det anbefales å alltid bruke sterilteknikk for å unngå kontaminering ved prøvetaking. Bruk gjerne den sterile innsiden av skalpellbladpapiret for å trimme vevsbiter. Prøver av hodenyre og hjerte bør være i minst mulig kontakt med bukhulen.

Tykkelse av vevsbiter

Størrelsen på vevsbiten til RNAlater anbefales å være som et fyrstikkhode, ca 2x2x2mm. Tykkelse på vevsbit til formalin kan være litt større, 2-5 mm tykke. Det er også viktig at vevsbitene blir dekket av konserveringsløsningen.

Helseovervåking av egenprodusert laks				Ik-akva.LA.3.42	
Skrevet av: BH	Godkjent av: Kjersti Fredheim	Gjelder fra: 30.07.2024	Sist revidert: 30.07.2024	Versjon: 1.01	Sidenr: 3 av 5

Prøvetaking forberedelser

1. Avliving av fisk anbefales å gjøres med overdose av bedøvelsesmiddel (Benzoak vet). Unngå slag mot hode, da dette kan gi blødninger spesielt i hode/hjerne og gjelle som gjør sikker histologisk vurdering vanskelig.
2. Alle prøveglass med formalin skal merkes tydelig med vannfast penn eller sprittusj med fløynavn og dato, samt individ- og karnummer. For sporbarhet på individnivå, må vev fra hvert individ legges på eget prøveglass.
3. Skjema for innsending av Realtime RT-PCR anbefales og fylles ut i forkant av prøvetakingen. Det vil være lettere å holde oversikt over hvilke prøverør som tilhører kar, fisk og organ under selve prøvetakingen.

Prøvetaking fremgangsmåte

[1 Hjerte \(youtube.com\)](#)

Bruk skalpell og skjær inn i hjertehulen (bak brystfinnen). Bruk pinsett til å ta tak i bulbus (hvit forlengelse av hjerte) og skjær løs hjertet. Legg på rent underlag (innsiden av skalpellbladpapiret). Skjær av hjertespiess, og del i to. Overføres til prøverør (RNAlater). Snu på prøverøret for optimal fiksering. For å åpne BiopSafe® Biopsy Container må man vri lokket som inneholder formalin mot klokken. Plasser den andre vevsbiten i det tomme prøveglasset.

[2 Gjelle \(youtube.com\)](#)

Fortsett deretter med uttak av gjelle (2. gjellebue). Skjær ut vevsprøven med skalpell eller bruk saks for å klippe ut gjellen. Legg gjelleprøven på rent underlag og del i to. Overfør til prøverør (RNAlater) og i prøveglasset (formalin). Snu på prøverøret for optimal fiksering.

[3 Muskel \(youtube.com\)](#)

Det er viktig å få med rød muskulatur som ligger under sidelinjen. Prøven tas ut på tvers av sidelinjen, like under ryggfinnen. Prøven overføres kun på prøveglass. Åpne bukhulen slik at alle indre organer er eksponert.

[4 Åpne fisk - YouTube](#)

Kast skalpell i risikoavfallsboksen, og finn frem nytt skalpellblad. Tørk av vevsrester fra pinsett og saks med papir, og skyll deretter utstyret i vann. Dypp utstyret i 96 % sprit og tørk av overflødig sprit før det brennes rent med stearinlyset. Skyll så utstyret i destillert vann før det tas i bruk.

[5 Lever \(youtube.com\)](#)

Skjær ut en skiveformet vevsprøve fra leveren og overfør vevet videre i prøveglasset.

[7 Milt \(youtube.com\)](#)

Skjær ut en skiveformet vevsprøve fra leveren og overfør vevet videre i prøveglasset.

Helseovervåking av egenprodusert laks				Ik-akva.LA.3.42	
Skrevet av: BH	Godkjent av: Kjersti Fredheim	Gjelder fra: 30.07.2024	Sist revidert: 30.07.2024	Versjon: 1.01	Sidenr: 4 av 5

[6 Blindsekker med pankreas \(youtube.com\)](#)

Pankreasvevet ligger spredt i fettvevet mellom blindsekkene. Legg snittet slik at blindsekkene tverrkuttes og formalin trenger inn i tarmlumen. og overfør videre i prøveglasset.

[8 Nyre \(youtube.com\)](#)

Start med å fjerne svømmeblæren forsiktig uten å kontaminere nyrevevet. Skjær ut en skiveformet vevsprøve fra midtnyren (på nivå med ryggfinnen) og overfør videre i prøveglasset.

[9 Hodenyre \(youtube.com\)](#)

Start med å fjerne svømmeblæren forsiktig uten å kontaminere nyrevevet. Skjær ut en skiveformet vevsprøve fra hodenyren og overfør videre på prøverør med RNAlater. Snu på prøverøret for optimal fiksering.

Når full organpakke er gjennomført kan lokket på prøveglasset skrues på plass igjen ved å vri lokket med klokken til det er fullstendig lukket. **MERK: Det skal ikke være noe mellomrom mellom lokket og beholderen!**

Frigjør formalin ved å trykke godt på øverste del av lokket. Vipp BiopSafe® Biopsy Container i en vinkel på omtrent 45 grader, og rist 3-5 ganger til alt formalinet er frigjort fra lokket. Sørg for at vevet er fullstendig nedsenket i formalinet.

Oppbevaring og lagring av prøver

Prøver til Realtime RT-PCR kan oppbevares i kjøleskap i inntil noen dager etter uttak, men anbefales fryst dersom de skal lagres lenger. Prøver til histopatologi med formalin skal unngå høye temperaturer og frysing. Når vevet er fiksert, tåler det romtemperatur i lang tid. Frem til det er fiksert er det en fordel om vevsprøvene holdes kjølig.

Forsendelse

Fyll ut bestillingskjemaene for både Realtime RT-PCR og histopatologi. Ønsket leveringstid på begge forsendelsene er standard leveringstid (5 virkedager etter mottaksdag).

Formalin forsendelse

Sjekk at alle beholdere er tilstrekkelig lukket slik at personer som skal håndtere forsendelsen videre ikke eksponeres for formalinlekkasje. Alle prøver skal pakkes i tre lag emballasje: prøveglass, tett sekundærbeholder (for eksempel en zip-lock pose med absorberende materiale) og ytre emballasje (polstret pose, stiv papp, isopor eller lignende).

Unngå søl på rekvisisjonen om mulig. Den kan gjerne ligge i egen emballasje. Pakken merkes "BIOLOGISK STOFF KATEGORI B".

RNAlater forsendelse

Alle prøver skal pakkes i tre lag emballasje: prøveglass, tett sekundærbeholder (for eksempel en zip-lock pose med absorberende materiale) og ytre emballasje (polstret pose, stiv papp, isopor eller lignende). Pakken skal inneholde kjøleelement.

Helseovervåking av egenprodusert laks				Ik-akva.LA.3.42	
Skrevet av: BH	Godkjent av: Kjersti Fredheim	Gjelder fra: 30.07.2024	Sist revidert: 30.07.2024	Versjon: 1.01	Sidenr: 5 av 5

Prøver til Histopatologi sendes med ekspress over natt til:

PHARMAQ Analytiq AS
Harbitzalleen 2A, 2.etg
0275 Oslo

Prøver til Realtime RT-PCR sendes med ekspress over natt til:

PHARMAQ Analytiq AS
Thormøhlens gate 53D
5006 Bergen

Kryssreferanser

Ik-akva.LA.2.2	Beredskapsplan: Fiskevelferd
Ik-akva.LA.2.7	Beredskapsplan: Varslingsplan landanlegget
Ik-akva.LA.3.16	Obduksjonsfisk
Ik-akva.LA.3.21	Desinfisering av utstyr
Ik-akva.LA.3.28	Tillaging og bruk av stamløsning benzocain 5%
Ik-akva.LA.3.31	Behandling av fisk med formalin
Ik-akva.FHL.3.4	Bedøvelse av fisk ved bruk av Benzoak (benzocain)
Ik-akva.FHL.3.9	Prøver på RNAlater
Ik-akva.Felles.1.1	Biosikkerhetsplan
Ik-akva.Felles.3.4	Bedøvelse av laksefisk
Ik-akva.Felles.3.11	Avlivning av fisk

Eksterne referanser

[Smittefarlig avfall fra helsetjeneste og dyrehelsetjeneste](#)
[Akvakulturdriftsforskriften](#)
[Dyrevelferdsloven](#)
[Forskrift om bruk av dyr i forsøk](#)
[Fiskehelsetjenesten](#)
[Mattilsynet](#)
[Laboratoriet](#)
[Chemical manager](#)
[EcoOnline](#)
[Elektronisk kvalitetsportal \(EK\)](#)
[Hjerte](#)
[Gjelle](#)
[Muskel](#)
[Åpne fisk](#)
[Lever](#)
[Blindsekker med pankreas](#)
[Milt](#)
[Nyre](#)
[Hodenyre](#)