

Verifisering av barrierer - Prøvetaking av fiskehud, gjeller og tarm. Revidert mars 2019

Merk: fisk har levende celler på overflaten.

Verktøy: Plast histokassetter, skalpell, ekstra skalpellblad, pinsett, saks, blyant, ca. 2 liter 10% fosfat-buffret formalin (Merck®, HT501320) og pre-merket 90 ml beholdere for å lagre formalin eller biopsi beholdere (Biopsafe® med formalin) og histokassetter til prøver, notatbok.

Prøvetaking:

Laksen skal være dypt bedøvet (for lang ventetid etter fiskens død gjør at vevet nedbrytes, som kan sees raskt på gjellene). **Ikke rør en del av fiskekroppen som skal tas fordi slim celler kan skades.** Ta den bedøvede fisken forsiktig og plasser den på et bord.

Oversikt over prøvetaking:

1. Fyll **Prosjektskjemaet** (side 4).
2. **Merk histokassetene (nummer til fisken og vev)** med en blyant (se Appendiks).
3. **Merk kontainere/beholdere med prosjektnavn og dato** (fisk nr og vev).
4. Klipp ut det ønskede vev-snittet med skalpell (se nedenfor for detaljer)
5. Overfør vev til individuelle histokassetter ved å bare berøre endene på seksjonen. Hvis seksjonen er for bred til å passe inn i histokasette, skjær bort noe av vevet.
6. **Med pre-merket 90 ml beholdere:** Legg de merkede histokassetene i en merket kontainer og fyll med 10% buffret formalin. Sjekk at alle prøvene er eksponert for formalin. Fest med tape for å forhindre lekkasje.
- Med Biopsafe® beholdere** (less Biopsafe® bruksanvisning): a) Skru av lokket og legg de merkede histokassetene. b) Steng Biopsafe ved å skru lokket på beholderen. **Gjengene må skrus helt til de stopper!** d) frigjør formalin ved å trykke på toppen av lokket.
7. Fyll **Fisk identifikasjonsskjema** (side 5)
8. Pakk forsvarlig. Send til Quantidoc (se Appendiks for detaljer)



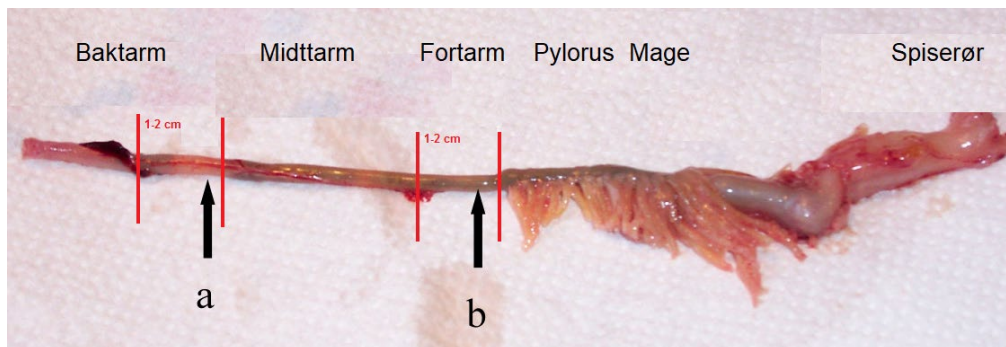
Venstre: eksempel på histokassetstørrelse og merking for gjeller (Gjel), hud under ryggfinner (Hud), baktarm (Bak) og fortarm (For) fra en fisk (nummer 2). Sentrum: eksempel på merket 90 ml beholder. Høyre: eksempel på Biopsi kontainer (Biopsafe®) med 3 histokassetter.

For HUDEN: Ved hjelp av en skarp skalpell gjør du en rektangel på ca 1-2 cm x 1-2.5 cm like under ryggfinner (se figur). Løft en kant forsiktig og fjern hudrektangelen med litt av den underliggende muskelen. Legg forsiktig inn i histokassetten, lukk histokassetten og sett inn i Biopsafe kontainer eller en kontainer med 10% formalin. Flere hudprøver kan kuttes etter behov. Hode og hale hud seksjonene er tatt i den rekkefølgen fordi det er vanskelig å holde halen fast.



Hvis prøven flipper selv over eller faller ned, kan slimcellene skades, så start på nytt. Noen treningsrunder er nyttige. Hvis prøven likevel er forstyrret, noter det i kommentarfeltet i skjemaet.

For TARMEN: Klipp et stykke av baktarm ("a" av bildet) og et stykke av fortarm ("b" av bildet). Skyll det med sjøvann hvis det er nødvendig for å fjerne ut av gjenværende mat, men ikke kutt den opp. Plasser inn merket histokasset og sett inn i 10% fosfatbufret formalin. På dette punktet, noter fisk-kjønn ved å sjekke **gonader** (kjønn gjør en forskjell). Det er viktig at alle prøver er fra standardiserte steder fordi slimepitelet har forskjellige soner.



For GJELLER: fjern mye av den andre gjellebuen (**den ene under den ytre**) med gjellefilamentene og lamellene, uten å berøre mykvevet. *Det er ofte lettest å holde buene spredt ved å gå gjennom munnen.* Skjær på toppen og bunnen av "V" på gjellebuen, slik at de ytre mykdelene blir uberørt av deg og intakt. Løft av benkanten, legg nøye inn i merket histokassette og sett inn i 10% formalin.



Appendiks

Merking

Forkortelser for kroppsdelar: HUD-hud under ryggfinnen ("dorsal"), GJEL-gjeller, BAK-baktarm, FOR-fortarm, MID-midttarm, HODE-hodehud, CD-halehud (topp).

Bruk en seriell sekvens av tall for alle fiskene, som 1, 2, 3.... Et eksempel på merking er "HUD 12", "GJEL 12", "BAK 12" eller "FOR 12", der "FOR 12" betyr en fortarm prøve fra fisken 12.

Hvis du har mer enn 1 prøve per fisk, behold alle prøver fra en fisk i en beholder/kontainer. Hvis du bare har 1 prøve per fisk, vennligst plasser 3-6 histokassetter i en kontainer og merk denne beholderen med **prosjektnavn og dato** (fisk nr, vev). Det skal være opptil 3 histokassetter i en Biopsi-kontainer (Biopsafe®). Merk beholdere/kontainere med papiretiketter (bruk blyant) eller "permanent marker". Sett fast etiketter med tape.

Emballasje og frakt

Sett inn 90 ml kontainere i plastpose med zip lock sammen med noe absorberende materiale (papirhåndkle). Til slutt pakk plastposer med zip lock og litt boblepakning i en tilstrekkelig sterk beholder, for eksempel en stiv papp- eller styrofoam-shippingboks.

Alle formaliniserte prøver skal sendes som bedriftspakke i Norge. I tillegg kan de prøvene sendes med TNT. I henhold til TNTs retningslinjer skal et formalinsikkerhetsdatablad (i plastpose med zip lock) festes på siden av den ytre emballasjen. I tillegg skal det gis 2 kopier av formalinsikkerhetsdatablad (se vedlegg) til TNT-agent.

Sendingsadresse:

Att: Grigory Merkin, Quantidoc AS
Co / Resepsjon 2 etg- Thormøhlensgate 53 A
5006 BERGEN

Kontaktinformasjon:

Kontaktperson for materiale, prøvetaking og analyser:
Grigory Merkin (Grigory.Merkin@gmail.com)

- Telefon Laboratorium: (+47) 55 58 46 11 (dagtid) / (+47) 94 27 61 89 (mobil)
- Telefon vitenskapelig leder – Karin Pittman (+47) 91 73 63 82
- Telefon salg/daglig leder – Ole Jacob Myre: (+47) 97 73 37 49
- Epost: info@quantidoc.net