

Processing fluids til PCR for PRRS virus

Anbefalinger ver. 1.0

Lars E. Larsen og Lise Kvisgaard, KU
Elisabeth Okholm og Hanne Bak, SEGES



KØBENHAVNS
UNIVERSITET

SEGES
INNOVATION

PROCESSING FLUIDS TIL UNDERSØGELSE FOR PRRSV VED PCR

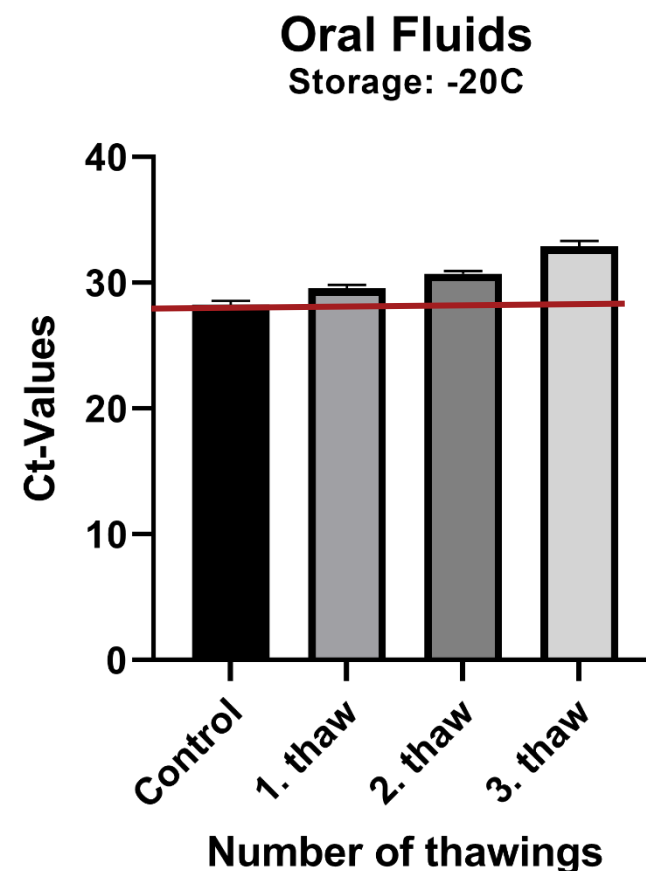
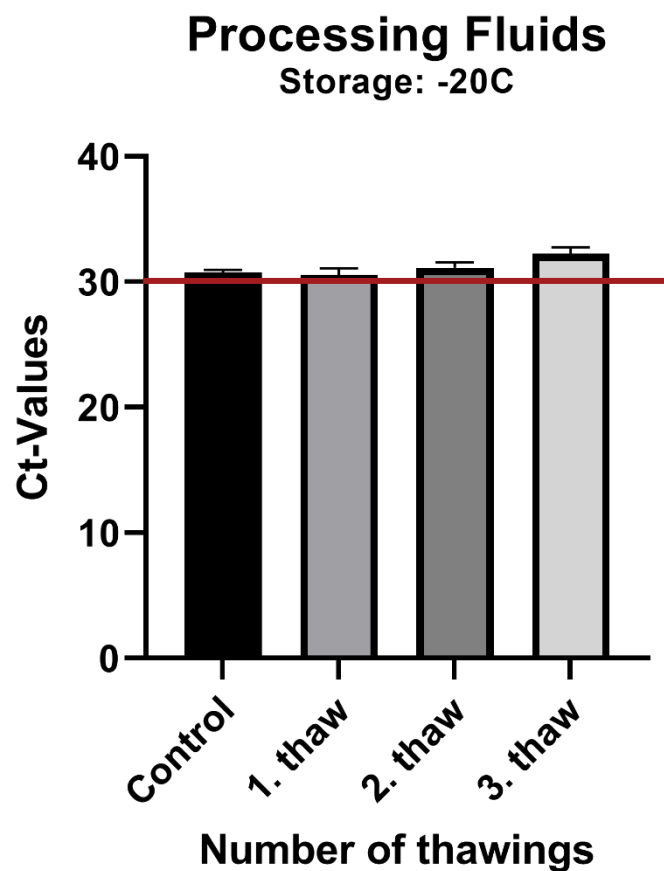
- KU og SEGES arbejder på anbefalinger for håndtering af PF prøver.
- Procedurerne vil blive opdateret i takt med at der kommer ny viden.
- Sker der noget ved at fryse PF prøver?
- Kan PF prøver ligge på køl i lang tid?
- Hvad sker der ved rumtemperatur?

**Det er særligt vigtigt, når virus forekomsten er meget lav
Vi skal sikre os mod falsk negative prøve svar**

Opbevaring af prøvemateriale

- Vi har spiket PRRSV negativt processing fluids og oral fluids med PRRSV-1
- Opbevaring ved forskellige temperaturer og tidsperioder
- Kontrol prøver blev oprenset samme dag som spikning af prøvemateriale
- Gentaget bestemmelse af hver behandling (n=5)
- Lise Kvisgaard KU har lavet forsøget med laborant Nina Dam Grønnegård som teknisk hjælp

Test af frys/tø på detektion af PRRSV



Frysning skader ikke PCR-testens følsomhed for PF væske

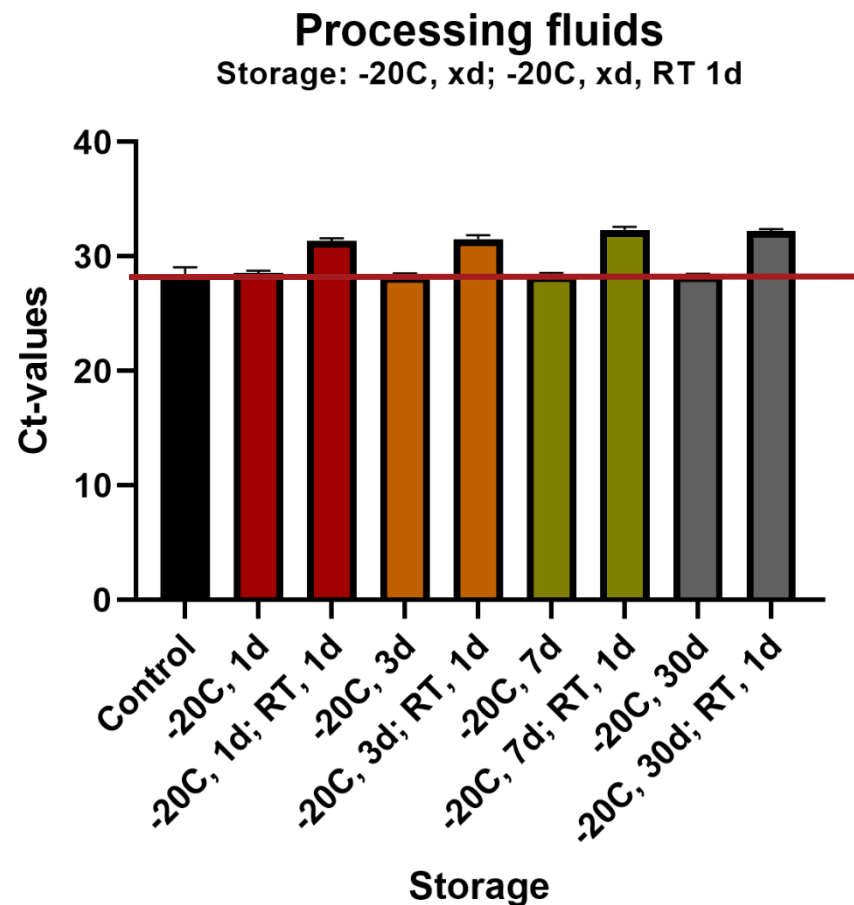
OF spytprøver taber ved gentagne frysninger

Jo højere Ct-værdi – jo svagere testresultat for prrs virus

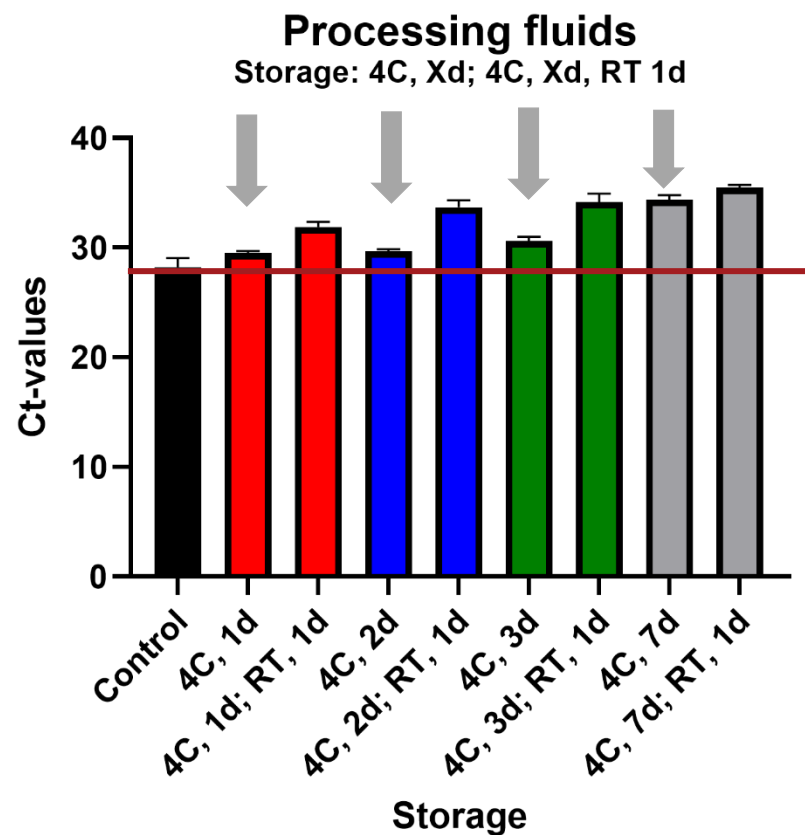
Resultater for real-time RT-PCR på processing fluids (-20C)

Frysning i op til 30 dage
skader ikke PCR-testens
følsomhed på PF væske

**Men en enkelt dag ved
rumtemperatur giver en
højere Ct værdi = svagere
PRRS virus påvisning**



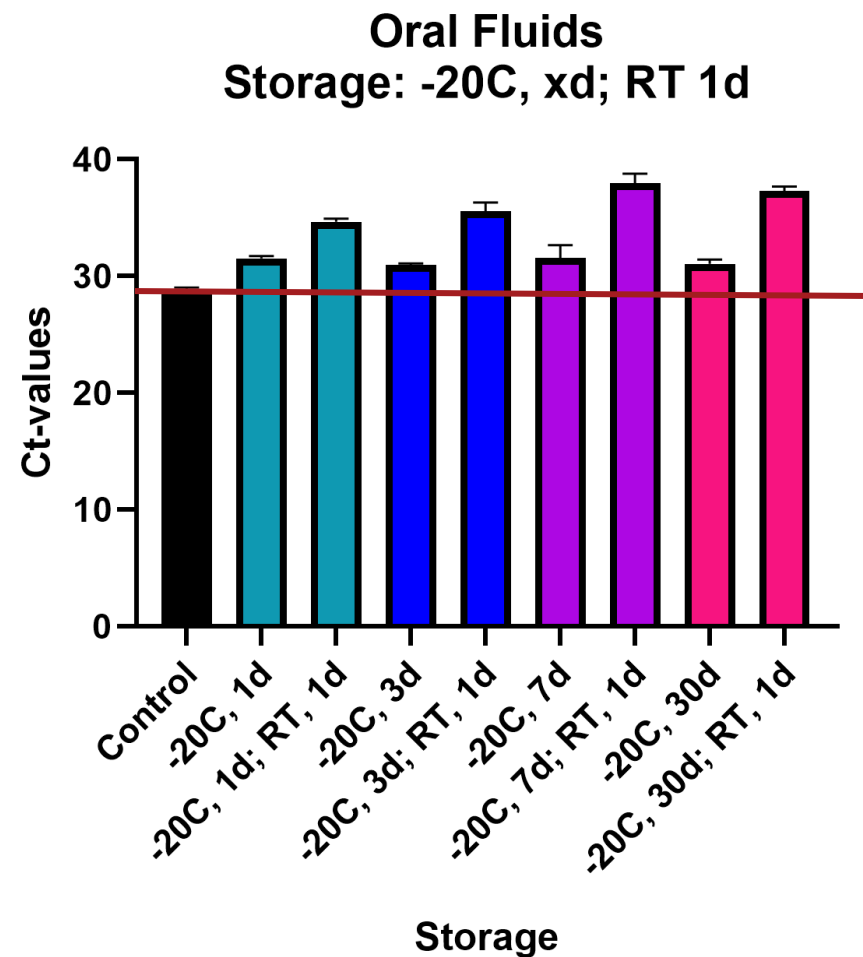
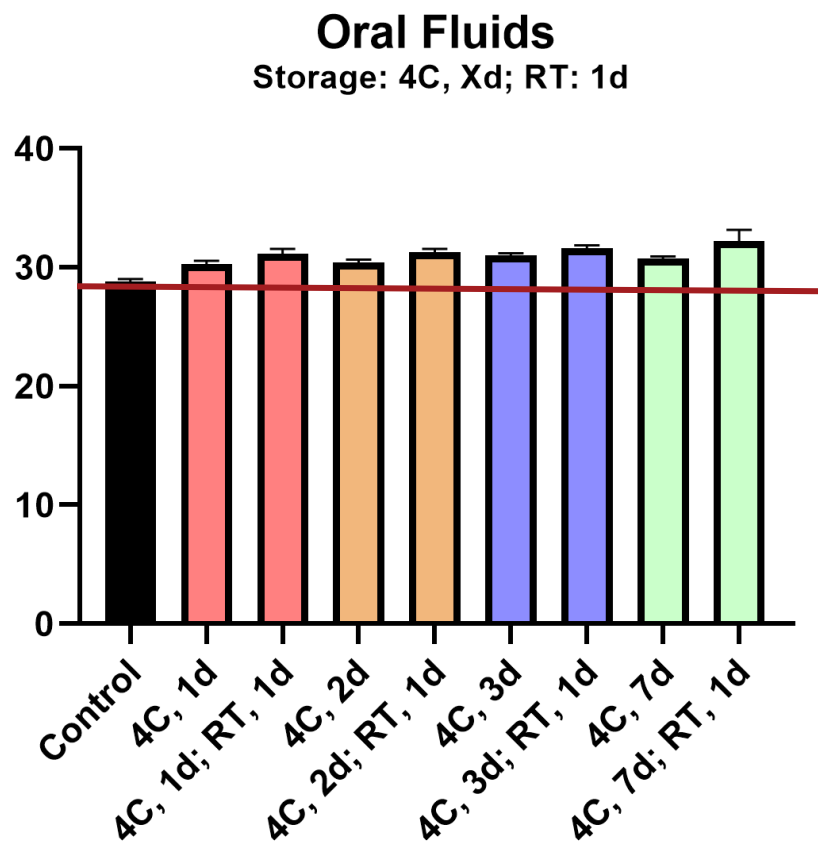
Resultater for real-time RT-PCR på processing fluids (4C)



**Køleskab i op til 7 dage
giver PF prøver en højere
Ct værdi = svagere PRRS
virus påvisning**

En enkelt dag ved
rumtemperatur giver en
højere Ct værdi = svagere
PRRS virus påvisning

Resultater for real-time RT-PCR på oral fluids fluids (4C og -20C)



UDTAGNING, OPBEVARING OG FORSENDELSE af PF prøver

- Maks. 10 kuld/pose.
- Posen med testikler/haler skal lægges **på frost hurtigst muligt**
- Optøning i køleskab – men PF prøver bør ikke opbevares på køl i dagevis
- Væsken opsamles i en plastikbeholder med låg , der kan lukkes forsvarligt
- Indsend prøven **direkte fra køl/frost** sammen med 1-2 fryseelementer.

PRRS virus i PF prøver nedbrydes ved opbevaring ved rumtemperatur



UDTAGNING, OPBEVARING OG FORSENDELSE af OF prøver

- Et reb per 30 grise/et kuld i 30-40 min.
- **Minimum 2 ml væske**, men gerne mere.
- **Frysning af OF prøver giver tab af følsomhed**
- OF prøver kan opbevares **køl ved 4-8 grader i op til 5 dage**
- Indsend prøven **direkte fra køl** sammen med 1-2 køleelementer.



PRRS virus i OF prøver nedbrydes ved opbevaring ved rumtemperatur

Dansk validering af PCR for PRRSV1 – L&F projekt

- Besætninger med smittecirculation med PRRS1
- Serum pool fra 5 grise
- PF testikel pool fra 5 grise
- Prøvetagning på kastrationsdag
- Projektstart december/januar

PF testikel væske i forstudie

