

# ANBEFALINGER FOR UDTAGNING, OPBEVARING OG FORSENDELSE AF PRØVEMATERIALER TIL UNDERSØGELSE FOR PRRSV VED PCR

Elisabeth Okholm Nielsen<sup>a</sup>, Lars E. Larsen<sup>b</sup>, Lise Kvisgaard<sup>b</sup>, Pia Ryt-Hansen<sup>b</sup>,  
Anne-Grete Hassing-Hvolgaard<sup>c</sup> og Charlotte K. Hjulsager<sup>d</sup>

<sup>a</sup> SEGES Innovation P/S, Grisesundhed

<sup>b</sup> Københavns Universitet, Institut for Veterinær- og Husdyrvidenskab

<sup>c</sup> Veterinært Laboratorium, L&F

<sup>d</sup> Statens Seruminstitut

STØTTET AF

**Svine**afgiftsfonden

---

## Hovedkonklusion

I de senere år er danske dyrlæger begyndt at anvende prøvematerialer som spytpøver og væske fra haler/testikler (såkaldt processing fluid – PF) til undersøgelse for PRRS-virus (PRRSV) ved PCR test. SEGES, Københavns Universitet (KU), Veterinært Laboratorium og Statens Serum Institut (SSI) har udarbejdet disse anbefalinger for, hvorledes denne type prøvematerialer bør udtages, håndteres, opbevares og transporteres til laboratorierne. Anbefalingerne vil blive opdateret, såfremt der kommer nye resultater fra de undersøgelser, der udføres på KU.

---

## Sammendrag

Anbefalingerne beskriver, hvorledes spytpøver og hale/testikel-væske udtages, håndteres, opbevares og transporteres til de diagnostiske laboratorier til undersøgelse for PRRS-virus ved PCR test.

For spytpøver gælder det, at enzymer i spytet kan nedbryde PRRS-virus specielt ved stuetemperatur. Undersøgelser på Københavns Universitet (KU) har vist, at opbevaring ved stuetemperatur, både før og efter, at prøver har været på køl/frys, medfører et signifikant tab af følsomhed. Derfor er det vigtigt at lægge prøven på køl så hurtigt som muligt efter udtagelsen.

Ved kastration opsamles testikler/haler i en plasticpose. Efter indsamling anbringes poserne på frost (-20 grader). Undersøgelser på KU har vist, at opbevaring ved stuetemperatur, både før og efter, at prøverne har været på køl/frys, medfører en betydeligt tab af følsomhed. Det er derfor meget vigtigt at lægge prøven på køl eller frys så hurtigt som muligt efter udtagelsen.

## Baggrund

Traditionelt har undersøgelser for PRRS-virus været foretaget på blodprøver (serum) udtaget fra søer/grise mistænkt for infektion. Dette er, sammen med materiale fra døde eller svagfødte grise og næsesvabere fra sygdomsramte dyr, stadig det eneste tilladte prøvemateriale til afklaring af en klinisk mistanke, og disse undersøgelser skal foretages på Statens Serum Institut (SSI). I de senere år er danske dyrlæger begyndt at anvende andre prøvematerialer som spyt, enten fra en gruppe af grise (oral fluid – OF) eller fra kuld af grise inkl. soen inden fravæning (såkaldt "family oral fluid – FOF"), væske fra haler/testikler (såkaldt processing fluid – PF), samt væske fra tunger fra døde grise (tongue tip fluid – TTF). Endvidere er der forsøgsvis anvendt luftprøver og yveraftørring som prøvemateriale. Internationalt, specielt i USA, har der været gennemført en række forsøg med henblik på at undersøge, hvordan disse prøver mest hensigtsmæssigt udtages, opbevares og sendes til laboratoriet for at undgå, at virus nedbrydes under processen. Flere af de større danske dyrlægepraksis har efterhånden også en del erfaring med nogle af prøvematerialerne. Endelig har KU i samarbejde med SEGES Innovation udført en række undersøgelser med henblik på at vurdere, hvilken effekt, forskellige procedurer, som f.eks. frysning og opbevaring ved stuetemperatur, har på følsomheden af testen for PRRS-virus.

## Formål

På baggrund af viden beskrevet i den internationale litteratur og erfaringer fra danske dyrlægepraksis, er der udarbejdet anbefalinger for, hvorledes de forskellige prøvematerialer udtages, håndteres, opbevares og transporteres til laboratoriet. Anbefalingerne er udarbejdet med henblik på at beskrive procedurer, der er lette at anvende i praksis. Procedurerne er beskrevet selvstændigt for hvert prøvemateriale og vil blive opdateret, såfremt der kommer nye resultater fra de undersøgelser, der udføres på KU.

## Udstyr til spytprøver

Reb, plastikpose (f.eks. frysepose 4 liter) og plastikbeholder med skruelåg, der skal kunne lukkes forsvarligt, til opsamling af væske, f.eks. rør til næsesvabere uden væske i (eller f.eks. Varenr. 02-572-8001, Frisenette; Varenr. 62.547.004, Hounisen eller Varenr. 62.547.254, Hounisen). Køleskab/fryser til opbevaring. Anvend bomuldsreb (1,6 cm i diameter for slagtegrise og <0,8 cm for mindre grise). Brug ikke andre rebtyper end bomuld, da de kan indeholde stoffer, der hæmmer laboratorietesten. Hvis tykt reb anvendes til mindre grise, anbefales det at spalte rebet.

## Procedure for indsamling af spytprøver

Hæng et reb per 30 grise/et kuld i en højde, så grisene kan nå det, uden rebet rører staldbunden (grisens skulderhøjde). Anvendes rebet i farestalden, så prøv at få soen til at bide i det, inden det hænges op, og hæng det så op, så både soen og pattegrisene kan nå det. Lad rebet hænge i 30-40 min.



Fjern rebet og placer det i en ren plastikpose – vrid så meget væske ud af rebet som muligt, mens det er i posen, evt. ved at trække rebet i posen hen over sti-adskillelsen. Hæld væsken over i plastikbeholderen og skru låget forsvarligt på. Sørg for, at der minimum overhældes 2 ml væske til beholderen – gerne mere, men ikke helt op til kanten af røret. Mærk beholderen med dato, CHR-nummer samt evt. so-nummer. Kontaminering af væske med fæces kan let ske, men væsken kan stadig anvendes til test for PRRSV. Undgå sammenblanding af væske fra forskellige stier/enheder, der ønskes undersøgt, og skift udstyr, saks, handsker, mm. mellem stier.

## Opbevaring og indsendelse af spytpøver

Enzymer i spyttet kan nedbryde PRRSV, specielt ved stuetemperaturer. Undersøgelser på KU har vist, at opbevaring ved stuetemperatur, både før og efter, at prøver har været på køl/frys, medfører et signifikant tab af følsomhed. Derfor er det vigtigt at lægge prøven på køl så hurtigt som muligt efter udtagelsen.

Hvis prøven sendes til test på laboratoriet indenfor 5 dage, kan den opbevares på køl ved 4-8 grader. Ved længere opbevaringstid inden forsendelse (>5 dage) kan prøven fryses ved minimum -20 grader og gerne koldere. Ved frysning vil der være et tab i følsomhed, så det bør undgås, og det er specielt vigtigt at **undgå, at den samme prøve fryses og optøs flere gange**, da dette kan nedbryde virus yderligere.

Ved forsendelse skal prøverne tages direkte fra køl eller frys lægges i en plasticpose og over i en egnet vandtæt kasse sammen med 1-2 køleelementer. Det er afgørende **vigtigt at undgå opbevaring ved stuetemperatur under udtagelse, opbevaring og forsendelse**. Husk at medsende en udfyldt indsendelsesblanket med angivelse af, at materialet er oral fluid/spyt.

## Udstyr til hale/testikel-væske (processing fluid, PF)

Plastikpose (stor frysepose eller lign.) og plastikbeholder med skruelåg til opsamling af væske. Beholderen skal kunne lukkes forsvarligt (f.eks. rør, der anvendes til næsesvabere). Køleskab/fryser til opbevaring.

## Procedure for indsamling af PF-væske

Ved kastration og halekupering opsamles testikler/haler i en plastikpose, hvorpå der skrives dato, antal kuld og CHR-nummer – maks. 10 kuld/pose. Efter indsamling anbringes poserne på frost (-20 grader). Undersøgelser på KU har vist, at opbevaring ved stuetemperatur, både før og efter, at prøverne har været på køl/frys, medfører et betydeligt tab af følsomhed. Det er derfor meget vigtigt at lægge prøven på køl eller frys så hurtigt som muligt efter udtagelsen. Hvis indsamlingen foregår over længere tid eller afbrydes i længere tid (> 1 time), anbefales det at anbringe de indsamlede prøver på køl, indtil prøveindsamlingen genoptages.



**Det er meget vigtigt at undgå opbevaring ved stuetemperatur under opbevaring og forsendelse. Skriv prøvearten "Processing Fluid" på indsendelsesblanketten.**

## Optøning og opsamling af PF-væske

Forsøg på KU har vist, at PF kan opbevares på frys i minimum 30 dage uden væsentligt tab af følsomhed. Pose med prøvemateriale optøs langsomt – helst i køleskab. Prøvevæsken fra det

optøede væv opsamles i en beholder med skruelåg, eventuelt ved at anvende en engangssprøjte med kanyler, eller blot skære et lille hul i posen med en ren engangsskalpel. Sørg for, at vævsrester forinden presses op, så der kun står væske i spidsen af posen. Der skal minimum overføres 1,5-2 ml væske til beholderen, men gerne mere. Mærk beholderen tydeligt med dato og CHR, og anfør tydeligt på indsendelsessedlen, at det er processing fluid.

Veterinært laboratorium (L&F) kan modtage testikler/haler i frossen tilstand til aftapning af væske. Laboratoriet på SSI modtager ikke hele testikler/haler, men kun den aftappede væske (processing fluid).

## Opbevaring og indsendelse af PF-væske

Opbevar prøven på køl ved 4-8 grader indtil forsendelse samme dag eller senest dagen efter. **Undgå at fryse den aftappede væske**, da frys/tø kan forårsage nedbrydning af virus.

Ved forsendelse kommer prøverøret direkte fra køl i en plastikpose og en egnet vandtæt beholder sammen med 1-2 køleelementer. Det er **ekstremt vigtigt at undgå opbevaring ved stuetemperatur både under udtagelse, opbevaring og forsendelse**. Husk at medsende en udfyldt indsendelsesblanket, hvor prøvearten "processing fluid" fremgår tydeligt.

## Konklusion

Anbefalingerne beskriver, hvorledes spytpøver og hale/testikel-væske udtages, håndteres, opbevares og transporteres til de diagnostiske laboratorier til undersøgelse for PRRS-virus ved PCR test. For spytpøver gælder det, at enzymer i spyttet kan nedbryde PRRS-virus specielt ved stuetemperatur. Opbevaring ved stuetemperatur, både før og efter, at prøver har været på køl/frys, medfører et signifikant tab af følsomhed. Derfor er det vigtigt at lægge prøven på køl så hurtigt som muligt efter udtagelsen.

Ved kastration og halekupering opsamles testikler/haler i en plastikpose. Efter indsamling anbringes poserne på frost (-20 grader). Opbevaring ved stuetemperatur, både før og efter, at prøverne har været på køl/frys, medfører en betydeligt tab af følsomhed. Det er derfor meget vigtigt at lægge prøven på køl eller frys så hurtigt som muligt efter udtagelsen.

## Referencer

- [1] Olsen, C. et al. Probability of detecting porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection using pen-based swine oral fluid specimens as a function of within-pen prevalence. *J. Vet. Diagn. Invest.* 25, 328–335 (2013).
- [2] Ramirez, A. et al. Efficient surveillance of pig populations using oral fluids. *Prev. Vet. Med.* 104, 292–300 (2012).
- [3] Prickett, J. R. & Zimmerman, J. J. The development of oral fluid-based diagnostics and applications in veterinary medicine. *Anim Health Res. Rev.* 11, 207–216 (2010).
- [4] Caini, S. et al. Distribution of influenza virus types by age using case-based global surveillance data from twenty-nine countries, 1999-2014. *BMC Infect. Dis.* 18, 269 (2018).
- [5] López, W. A. et al. Practical aspects of PRRSV RNA detection in processing fluids collected in commercial swine farms. *Prev. Vet. Med.* 180, 105021 (2020).
- [6] López, W. et al. Considerations in the use of processing fluids for the detection of PRRSV RNA and antibody. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 34, 859–863 (2022).

Afprøvning nr. 1825

NAV nr.: 1452

//KARL//

Dyregruppe: grise

Fagområde: virussygdomme, PRRS virus

Nøgleord: PRRS, virus

---

**SEGES**  
INNOVATION

Tlf.: 87 40 50 00

[info@seges.dk](mailto:info@seges.dk)

Ophavsretten tilhører SEGES Innovation P/S. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.

SEGES Innovation P/S er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.