

Znaczenie badań laboratoryjnych w rozpoznawaniu chorób zakaźnych świń

Zygmunt Pejsak, Marian Trusczyński

z Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Badania laboratoryjne mają podstawowe znaczenie w zapobieganiu i zwalczaniu chorób zakaźnych świń. Stosuje się je do izolacji i identyfikacji wywołujących je drobnoustrojów i/lub wytwarzanych przez nie toksyn. Pozwalają na ocenę stanu zakażenia lub ekspozycji świń na czynnik patogenny. Określają, czy stado świń (chlewnia, tuczarnia) jest zakażone przez dany drobnoustrój, a jeżeli tak, której grupy wiekowej to dotyczy. Badania laboratoryjne, zwłaszcza serologiczne, informują o odsetku stad lub świń z przeciwciałami na występujący w danej populacji patogen. Pozwalają też na ocenę efektywności aklimatyzacji czy też analizę postępu w zwalczaniu choroby zakaźnej, do jej eradykacji włącznie.

Wybór testów laboratoryjnych zależy od specyfiki i rodzaju celu, który zamierza się osiągnąć. Temu odpowiada też rodzaj dostarczanych do laboratorium próbek. Istotne są takie czynniki, jak: obiektywizm wyniku, koszt, szybkość otrzymania wyniku i złożoność metody. Zwłaszcza choroby zakaźne o szczególnym znaczeniu, w tym zgłaszane i zwalczane z urzędu oraz zwierzęta przeznaczane na eksport, muszą być badane wiarygodnymi metodami, zgodnie z najwyższym w danym momencie standardem jakości. Wtedy należy stosować testy rekomendowane przez Unię Europejską, Światową Organizację Zdrowia Zwierząt (OIE) lub uzgodnione między eksporterem a importerem. W miarę możliwości powinno się używać ich w diagnostyce chorób zakaźnych świń również na potrzeby krajowego obrotu zwierzętami oraz w dążeniu do uzyskania w ramach kraju pogłowia wolnego od chorób zakaźnych, przede wszystkim tych, które uniemożliwiają międzynarodowy obrót trzodą chlewną lub powodują znaczne straty gospodarcze. Wtedy obowiązują testy walidowane i standaryzowane.

Metody laboratoryjne cechują się różnym zakresem możliwości. Niektóre dostarczają wyniku dodatniego lub ujemnego. Dotyczy to np. izolacji lub braku izolacji chorobotwórczego drobnoustroju. Inne testy, zwłaszcza serologiczne, dają wyniki ilościowe, wyrażane różnym stężeniem przeciwciał, czyli ich zróżnicowanym mia-

niem. Stężenie przeciwciał wyraża się wysokością podwójnych stężeń surowicy do momentu, kiedy reakcja antygen – przeciwciała przestaje być widoczna. Może też wyrażać się, jak w przypadku odczynu immunoenzymatycznego ELISA, różną gęstością optyczną, mierzoną za pomocą spektrofotometru i określoną stosunkiem S/P (miano surowicy badanej – S w stosunku do miana surowicy dodatniej – P).

W przypadku świń zakażonych odpowiedzi serologiczna zależy od czasu trwania zakażenia, dawki zakaźnej patogenu, faktu czy zakażenie ma przebieg subkliniczny, czy też towarzyszą mu objawy kliniczne, czy ma charakter ogólny, czy wykazuje przebieg łagodny lub miejscowy. Wyniki fałszywie dodatnie uzyskuje się przy zakażeniu drobnoustrojem o podobnej, jak właściwy patogen budowie antygenowej, co określa się jako reakcję krzyżową. Przeciwciała identyczne, jak w następstwie zakażenia, wytwarza organizm zwierzęcia po szczepieniu szczepionką stosowaną w immunoprofilaktyce danej choroby zakaźnej. Stan ten można jednak odróżnić od zakażenia, jeżeli stosuje się szczepionki znakowane. Umożliwiają to stosowne zestawy diagnostyczne.

Wpływ na wynik badania laboratoryjnego ma również osoba wykonująca testy oraz interpretująca ich wynik.

Zestawiając wymienione powody, które wpływają na wiarygodność wyniku, należy liczyć się z zależnymi od wartości testu i sprawności wykonawcy wynikami fałszywie dodatnimi lub fałszywie ujemnymi, czyli błędnymi.

Sprawą istotną dla skuteczności diagnostyki laboratoryjnej chorób zakaźnych świń jest właściwy dobór odpowiednich w danym przypadku metod. Decyzja należy do pracowników laboratoryjnych. Odpowiednio do tego lekarz pracujący w terenie powinien przysłać takie próbki, które dla tych określonych testów są właściwe.

Czułość testu w pojęciu mikrobiologicznym lub serologicznym różni się od tego określenia w pojęciu epizootologicznym. W tym ostatnim przypadku jako czuły uznaje się test, za pomocą którego udaje się wykryć największą liczbę zwierząt zaka-

Importance of laboratory examinations in the diagnosis of swine infectious diseases

Pejsak Z., Trusczyński M. • National Veterinary Research Institute, Puławy.

The diagnosis of infectious diseases is based on information gleaned from a variety of sources including laboratory tests. In the diagnosis plan the systematic outline of procedures and tests to be undertaken should be prepared. This paper presents the proceedings to be followed when swine infectious disease is suspected. The value of laboratory tests performed for etiological agent(s) identification strongly depends on the sampling procedure. Thus classical tests and molecular biology techniques recommended for particular purposes are described and evaluated. Authors indicate the need of cooperation between practitioners and laboratory experts when the rapid and accurate diagnosis in swine infectious disease is strongly required.

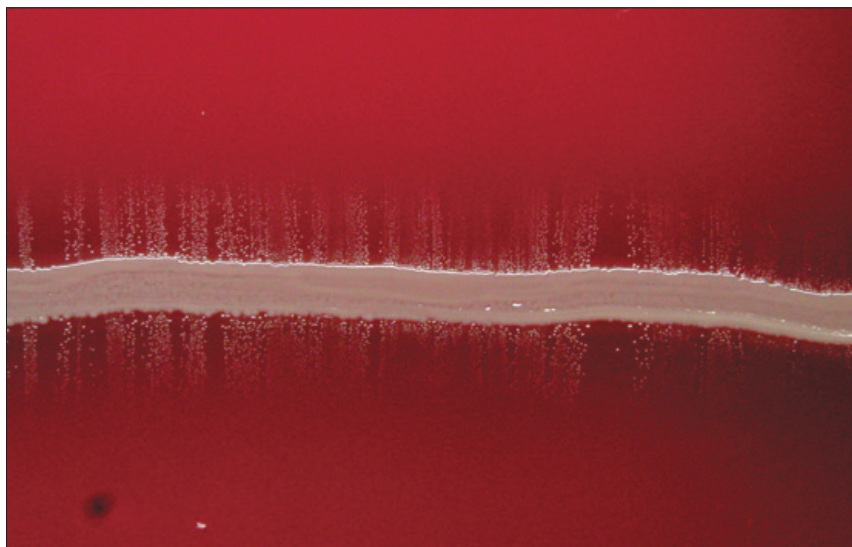
Keywords: infectious disease, swine, diagnosis.

zonych, z wyłączeniem wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych. Test taki, oprócz wysokiego stopnia czułości, cechuje się wysokim stopniem swoistością, czyli dostarcza wyniki wiarygodne. Wykrywa zatem trafnie najmniejszą liczbę drobnoustrojów chorobotwórczych, najmniejszą ilość DNA takich drobnoustrojów, najmniejszą ilość toksyn bakteryjnych lub przeciwciał. Przykładowo bardziej czuły test – ELISA, w porównaniu do seroneutralizacji (SN), wykrywa wcześniej przeciwciała w trakcie zakażenia. Swoistość w konwencji epizootologicznej oznacza, że dany test właściwie odróżnia świnię zakażoną od świń nie zakażonych.

W przypadku wystąpienia zachorowań i niepewności co do rozpoznania choroby na podstawie objawów klinicznych i zmian sekcyjnych niezbędne jest wykonanie badań laboratoryjnych zmierzających do sformułowania wiarygodnej diagnozy. W tym celu przesyła się odpowiednie próbki z padłych lub chorych świń do najbliższego Zakładu Higieny Weterynaryjnej, Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach lub innego laboratorium diagnostycznego.

Zasady pobierania i przesyłania próbek

Laboratoria wykonujące badania diagnostyczne wymagają, by pobrane próbki dotarły w stanie umożliwiającym wykonanie niezbędnych testów badawczych. W przypadku rozpoznawania choroby zakaźnej próbki powinny odpowiadać jej specyfice. Gdy istnieje uzasadniona potrzeba, prób-



Ryc. 1. Wzrost *Haemophilus parasuis* na agarze z krwią w sąsiedztwie hodowli *Staphylococcus aureus* (pasma hodowli), umożliwiający wstępną identyfikację *Haemophilus parasuis*

ki należy pobierać z uwzględnieniem warunków aseptycznych. Przesyłka z próbkami powinna być starannie zapakowana, a zawarty w niej materiał biologiczny zabezpieczony przed uszkodzeniem, zwłaszcza w celu uniknięcia zakażenia środowiska i ludzi drobnoustrojami chorobotwórczymi. Próbkę należy czytelnie oznakować z podaniem rodzaju próbki i numeru zwierzęcia, od którego pochodzą. Do przesyłki musi być dołączone pismo przewodnie zredagowane przez lekarza weterynarii kierującego materiałem do badań. Powinno ono zawierać adres piszącego, numer telefonu i adres e-mailowy oraz takie same dane fermy, z której pochodzą przesyłane próbki. W wymienionym piśmie należy umieścić informacje na temat występującej w obiekcie choroby, ewentualne podejrzenie co do rozpoznania oraz własne sugestie co do ukierunkowania badań laboratoryjnych.

Należy dokładnie określić cel, jakiemu badanie ma służyć. Zawsze w przypadku pobierania materiału od żywych zwierząt (zwłaszcza krwi do badań serologicznych) lub narządów wewnętrznych od zwierząt padłych lub zabitych w celach diagnostycznych należy zwracać uwagę na zagrożenie ze strony choroby odzwierzęcej.

Krew powinno się pobierać z uwzględnieniem aseptyki i antyseptyki, najlepiej z żyły czczej przedniej, w celu uzyskania

hodowli na pożywkach wchodzących w grę bakterii chorobotwórczych, co w przypadku wyniku dodatniego świadczy o przebiegu posocznicy choroby. W tym przypadku pobiera się krew do probówek z antykoagulantem. Nie stosuje się antykoagulantu, jeżeli krew przeznaczona jest do badań serologicznych. Wtedy ze skrzepu wydziela się surowica, która po jej pozyskaniu i ewentualnym odwirowaniu nadaje się do badań na obecność zawartych w niej swoistych przeciwciał.

Próbki z narządów wewnętrznych należy pobierać każdą oddzielnie do sterylnych pojemników, dokładnie oznaczonych, jaki narząd zawierają, z datą pobrania i numerem zwierzęcia, od którego zostały pobrane. Próbki te służą do badań mikrobiologicznych, wirusologicznych lub wykrywania kwasów nukleinowych genomu chorobotwórczego drobnoustroju. Próbki narządów mogą być przesyłane również w różnych płynach lub stałych podłożach transportowych, zależnie od kierunku badań bakteriologicznych. Próbki należy przesyłać po ich schłodzeniu. Jeżeli czas transportu przekracza 48 godzin, wskazane jest, zależnie od rodzaju drobnoustroju, zamrażanie przesyłanych wycinków narządów.

Istotnym elementem diagnostyki laboratoryjnej chorób zakaźnych zwierząt, w tym

świń, jest stosowanie odpowiednio dobranych metod rozpoznawczych. W celu trafnego przesłania próbek do badań laboratoryjnych niezbędna jest orientacja lekarza terenowego o możliwościach poszczególnych laboratoriów. Niejednokrotnie konieczny jest też wcześniejszy kontakt lekarza z laboratorium w celu uzgodnienia rodzaju przesłanego do badań materiału. Przykładem niewłaściwego podejścia lekarza nadzorującego stan zdrowotny fermy jest zlecenie przeprowadzenia badań serologicznych w kierunku parwowirusy (PPV) lub cirkowirusy (PCV2) lub prośba o wykonanie badania serologicznego lub genetycznego (PCR) pojedynczych świń, albo badanie wymazów z nosa w kierunku *Haemophilus parasuis* lub *Streptococcus suis*. Wiadomo bowiem, że PPV, PCV2, *H. parasuis*, *S. suis* są ubikwitarne, co oznacza, że występują w większości obiektów chowu świń. Zatem np. wykazanie *H. parasuis* lub *S. suis* w wymazach z nosa wcale nie wskazuje, że drobnoustroje te są w danym przypadku czynnikiem etiologicznym choroby. By to wykazać należałoby wyizolować *H. parasuis* lub *S. suis* z mózgu, zmienionych chorobowo stawów lub płuc.

Charakterystyka technik badawczych do bezpośredniego wykrywania patogenu

Dla lekarza weterynarii istotna jest wiedza, jakie metody laboratoryjne są najbardziej przydatne do sformułowania diagnozy przypadków zachorowań w danej chlewni. Ważna jest też świadomość czasu oczekiwania na wynik, zależnie od zastosowania określonej metody.

W tabeli 1 przedstawione zostały przykładowo i w sposób ogólny techniki laboratoryjne stosowane do wykrywania patogenów, ich antygenów lub swoistych przeciwciał.

Badanie bakteriologiczne (izolacja bakterii), w którym stosuje się między innymi płynne podłoża wybiórczo-namnażające oraz podłoża stałe, wykrywa obecność bakterii w przesłanym materiale. W kolejnym etapie określa się przynależność gatunkową lub serowarową i identyfikację np. włoskowca różowy, *Salmonella Choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida* lub wielu innych gatunków bakterii chorobotwórczych dla świń. Ze względu na konieczność wykonywania szeregu testów identyfikujących, tego rodzaju badanie zajmuje od 2 do 7 dni, a niekiedy trwa nawet dłużej. Należy pamiętać, że niektóre gatunki bakterii izoluje się z materiału chorobowego łatwo, np. *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *S. suis*, *E. coli*, *Arcanobacterium pyogenes*. Trudności w izolacji napotyka się w przypadku *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis*, *Brachyspira hyodysenteriae*,

Tabela 1. Wykrywanie patogenów, ich antygenów lub swoistych przeciwciał

Technika laboratoryjna	Co wykrywamy?
Izolacja bakterii	żywe bakterie
Izolacja wirusów	żywe wirusy
Immunofluorescencja	antygeny (białka) bakteryjne lub wirusowe, przeciwciała
Immunohistochemia (barwnik widziany w świetle białym)	antygeny (białka) bakteryjne lub wirusowe, przeciwciała

Lawsonia intracellularis, *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Rycina 1** przedstawia wzrost *Haemophilus parasuis* na agarze z krwią w sąsiedztwie hodowli *Staphylococcus aureus*, umożliwiającą wstępną identyfikację *Haemophilus parasuis*.

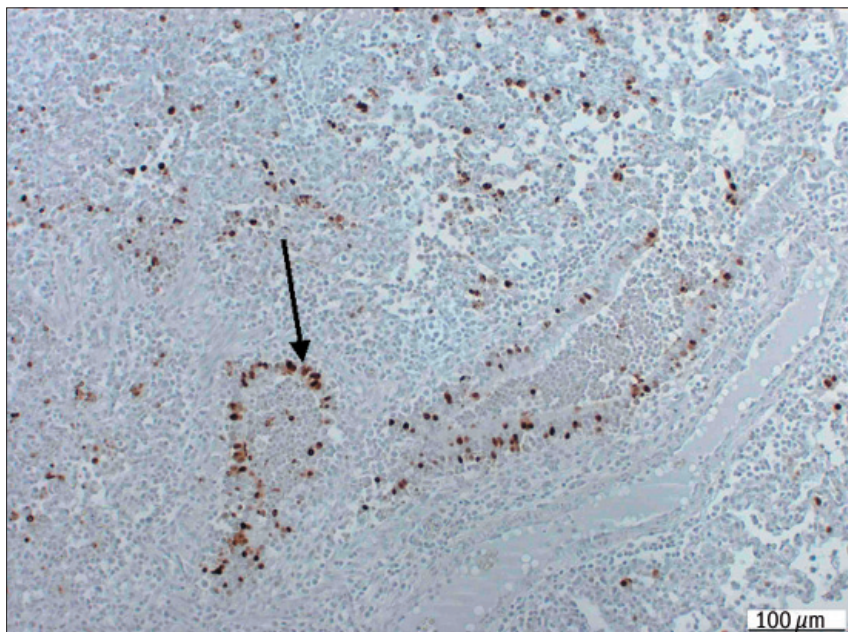
Często uzasadnione jest określenie antybiotykowrażliwości wyizolowanego szczepu bakterii. Badanie to trwa zazwyczaj 2–3 dni. W celu wykrycia w przesłanym materiale wirusów i ich identyfikacji konieczne jest namnożenie ich w hodowli komórkowej, a następnie wykonanie wielu testów identyfikujących, np. SN. Czas uzyskania wyniku wynosi w związku z tym od 3 do 14 dni, a nawet dłużej.

Metodą immunofluorescencji (IF), przy dysponowaniu testem diagnostycznym dla identyfikacji bakterii i wirusów, wykrywane są charakterystyczne dla danego gatunku antygeny lub w przypadku immunofluorescencji pośredniej przeciwciała. Czas uzyskania wyniku wynosi od około kilku godzin do 2 dni. Analogicznie jest przy stosowaniu testów immunohistochemicznych, w których widoczny podobnie jak wyżej, łączony z kompleksem antygen–przeciwciało barwnik widoczny jest w świetle białym odpowiedniego mikroskopu (**ryc. 2**).

Nie zawsze udaje się bezpośrednio wykryć w badanym materiale obecność czynnika chorobotwórczego. Nie wszystkie bakterie rosną na podłożach bakteriologicznych (np. *L. intracellularis*) lub wzrost ich nastręcza duże trudności (np. *Leptospira spp.*). W tej sytuacji znajdują coraz większe zastosowanie, stanowiące osiągnięcia biologii molekularnej i inżynierii genetycznej, metody wykrywania kwasów nukleinowych czynnika patogenego. Zbiór tych testów przedstawia **tabela 2**.

W teście określanym jako hybrydyzacja *in situ* następuje swoiste przyłączenie znakowanej najczęściej digoksygeniną sondy do komplementarnego fragmentu DNA czynnika chorobotwórczego. W przypadku obecności w badanym materiale DNA poszukiwanego drobnoustroju dochodzi do widocznej w mikroskopie świetlnym reakcji barwnej (**ryc. 3**).

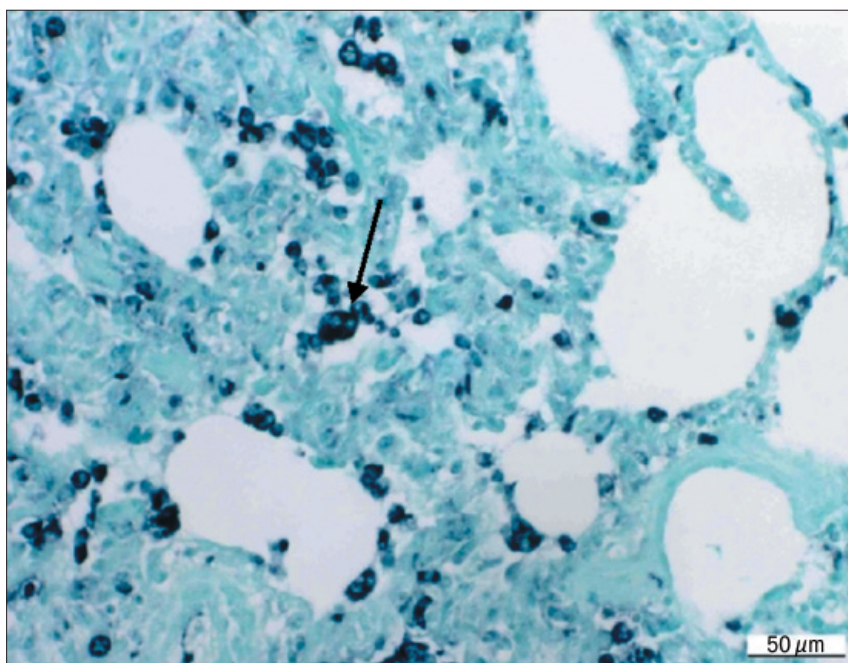
Za pomocą jakościowego testu PCR, czyli reakcji łańcuchowej polimerazy, wykrywany jest DNA lub RNA drobnoustroju chorobotwórczego techniką odwrotnej transkrypcji (RT-PCR). W przypadku obecności w badanym materiale nawet minimalnych ilości poszukiwanego fragmentu DNA lub RNA określonego drobnoustroju dochodzi do jego wielokrotnego powielenia, co umożliwia wykrycie kwasu nukleinowego drobnoustroju w procesie elektroforezy (**ryc. 4**). Odmianą testu PCR jest PCR ilościowy, czyli tzw. real time PCR (PCR w czasie rzeczywistym). W teście tym dzięki zastosowaniu związków fluorescencyjnych obserwujemy dynamikę powielania poszuki-



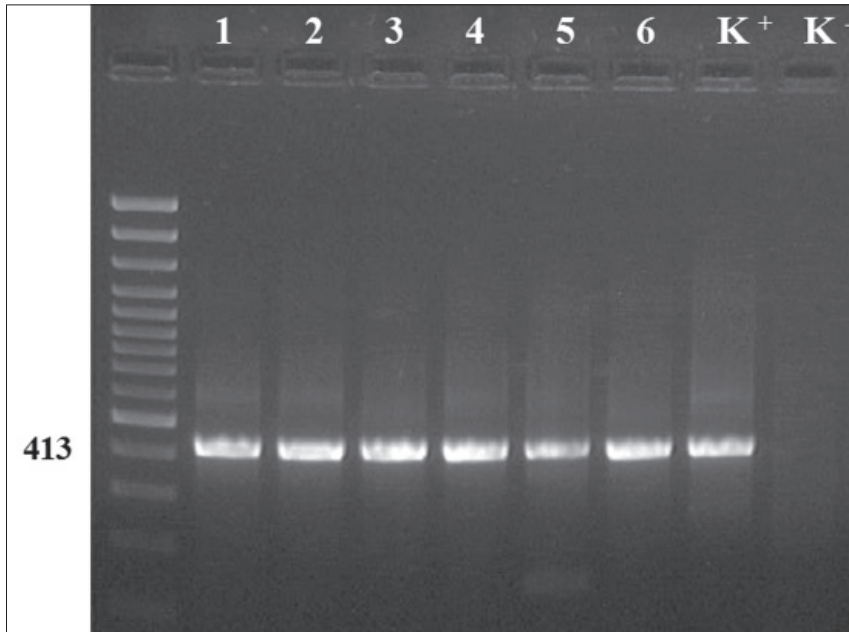
Ryc. 2. Badanie immunohistochemiczne (IHC) – znakowane enzymem przeciwciała, swoiste łączą się z antygenem tworząc kompleks, który po wybarwieniu obserwowany jest w mikroskopie

Tabela 2. Wykrywanie kwasu nukleinowego czynnika patogenego

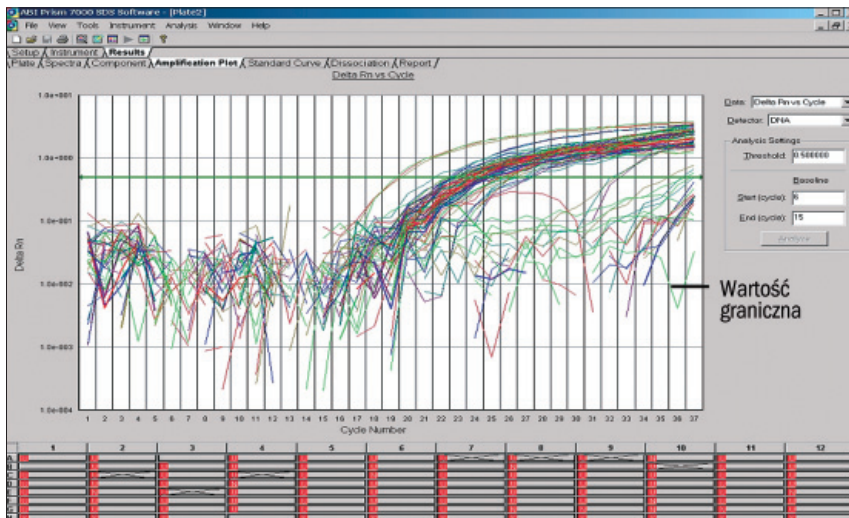
Technika laboratoryjna	Co wykrywamy?
Hybrydyzacja <i>in situ</i> (przyłączanie znakowanej sondy do komplementarnego fragmentu DNA)	genom (fragment genomu) czynnika patogenego
PCR – ilościowy (real time PCR)	DNA lub RNA czynnika patogenego
Immunofluorescencja	ilość DNA w badanym materiale
Sekwencjonowanie	sekwencję nukleotydów w analizowanym fragmencie DNA (pokrewieństwo między różnymi szczepami patogeno- geny)



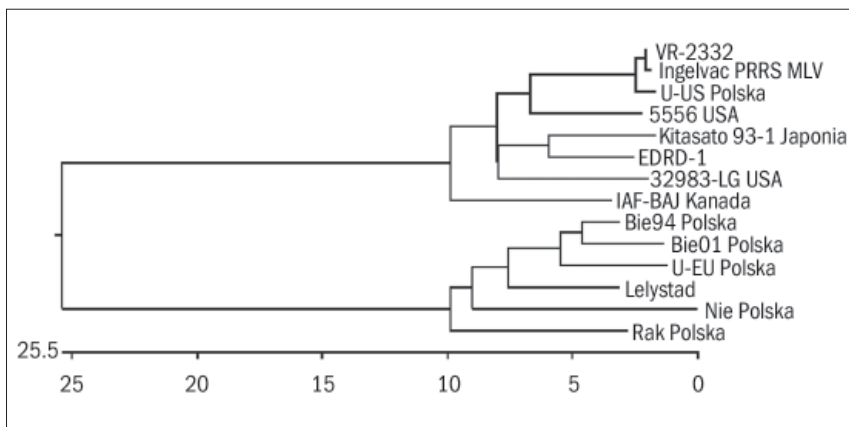
Ryc. 3. Hybrydyzacja *in situ* (ISH). Sonda molekularna (znakowany digoksygeniną fragment kwasu nukleinowego) łączy się z komplementarnym fragmentem sekwencji kwasu nukleinowego czynnika patogenego. W przypadku obecności patogenu powstały kompleks ulega wybarwieniu i staje się widoczny w mikroskopie



Ryc. 4. Wynik badania metodą klasyczną PCR – wizualizacja na żelu agarozowym. Występowanie prążków na tej samej wysokości (tutaj 413 par zasad) jak w kontroli dodatniej (K⁺) świadczy o występowaniu poszukiwanego materiału genetycznego w 6 kolejnych próbkach. Brak analogicznego prążka na ścieżce kontroli ujemnej (K⁻) świadczy o braku kontaminacji badanej próbki i wiarygodności wyniku



Ryc. 5. R-T PCR – PCR w czasie rzeczywistym. Liczba cykli PCR, po których krzywa przekracza wartość graniczną jest odwrotnie proporcjonalna do ilości DNA w próbce (przy dużej początkowej ilości DNA liczba cykli, po której przekraczana jest wartość graniczna, jest mała). Każda badana próbka oznaczona jest innym kolorem



Ryc. 6. Drzewo filogenetyczne szczepów PRRSV. Suma długości gałęzi jest wprost proporcjonalna do pokrewieństwa genetycznego między porównywanymi szczepami

wanego fragmentu DNA. Wynik dodatni rejestrowany jest na wykresie monitora w postaci przyrostu krzywej fluorescencji (ryc. 5). W związku z tym nie ma potrzeby stosowania techniki elektroforetycznej.

Sekwencjonowanie polegające na porównaniu kolejności (sekwencji) nukleotydów w analizowanym fragmencie kwasu nukleinowego umożliwia określenie pokrewieństwa między różnymi szczepami lub podtypami danego patogenu.

Przedstawione metody uwidaczniają istotny postęp w stosunku do metod klasycznych w diagnostyce chorób zakaźnych zwierząt, w tym świń. Zaletą ich jest wyraźne skrócenie oczekiwania na wynik do kilkunastu godzin. Ograniczeniem jest natomiast możliwość ich wykonania wyłącznie w wyspecjalizowanym w tym kierunku laboratorium, chociaż w wyniku coraz większej dostępności określonych zestawów diagnostycznych zakres możliwości może być rozszerzony w również na inne laboratoria. **Rycina 6** przedstawia drzewo genetyczne szczepów wirusa PRRS określone drogą porównania zgodności analizowanej sekwencji DNA.

Testy serologiczne – pośrednie wykrywanie zakażenia

Ważny dział w diagnostyce chorób zakaźnych świń zajmują dużo tańsze badania serologiczne. W przypadku dysponowania odpowiednimi zestawami diagnostycznymi powstaje możliwość wykrycia swoistych przeciwciał, które zwierzę wytworzyło w wyniku zakażenia. Stwarza to możliwość rozpoznania choroby w sposób pośredni, to jest nie przez bezpośrednią identyfikację czynnika etiologicznego, a dzięki indukowanemu przez niego swoistym przeciwciałom.

W ten sposób uzyskany wynik nie zawsze jest równorzędny z bezpośrednim wykazaniem w badanym materiale patogenu. Należy mieć świadomość, że badanie serologiczne cechuje się zazwyczaj pewnym odsetkiem wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych. Jednak dzięki łatwości wykonania testów na dużym materiale zwierząt żywych, łącznie z możliwością kilku powtórzeń, badanie to posiada dużą wartość w diagnostyce chorób zakaźnych, w tym w monitorowaniu obecności bezobjawowych nosicieli zarazka. Daje też podstawę do odróżniania zwierząt szczepionych szczepionkami znakowanymi od zwierząt zakażonych, co umożliwia stosowanie strategii DIVA (differentiating infected from vaccinated individuals), czyli unikania masowego wybijania zwierząt (co obecnie obowiązuje np. przy klasycznym pomorze świń). Badanie serologiczne różnych grup wiekowych zwierząt w danym gospodarstwie umożliwia również określenie tak zwanego profilu serologicznego stada, a w ślad za tym wskazanie terminu zakażenia się świń. Na podstawie powyższe-

go ustala się w sposób precyzyjny optymalny termin szczepienia zwierząt. Pod pojęciem „optymalny” rozumie się w tym przypadku okres, kiedy zwierzęta utraciły przeciwciała bierne i nie zostały jeszcze zakażone; jest to tzw. okno immunologiczne.

Jeżeli celem badań serologicznych jest rozpoznanie choroby zakaźnej, wówczas krew należy pobrać od kilkunastu losowo wybranych osobników. Jeżeli natomiast zamiarem badań jest ustalenie momentu zakażenia, należy pobrać co najmniej po 6 próbek od zwierząt z poszczególnych grup wiekowych to jest od świń 4-, 8-, 12-, 16- i 20-tygodniowych.

W tabeli 3 zebrano najważniejsze metody serologiczne, które aktualnie stosowane są w diagnostyce i monitoringu chorób zakaźnych trzody chlewnej. Są to testy immunoenzymatyczne ELISA, służące między innymi do wykrywania przeciwciał oraz seroneutralizacja, umożliwiająca wykrycie przeciwciał w przypadku wielu chorób wirusowych trzody chlewnej lub pomocna w identyfikowaniu wirusa wyizolowanego z badanego materiału. Znacznie mniejszą wartość diagnostyczną posiada odczyn wiązania dopełniacza ze względu na prokomplementarne właściwości surowicy świni, czego wynikiem jest hemoliza krwinek czerwonych, fałszywie wskazująca na wynik dodatni. Małą wartość diagnostyczną ma odczyn aglutynacji, którym uzyskuje się duży odsetek odczynów fałszywie dodatnich. Na przykład w badaniu w kierunku brucelozы świń test ten powinien być zastąpiony przez test ELISA lub OKAP.

Okres oczekiwania na wynik badania serologicznego, licząc czasu od uzyskania próbek, wynosi 1–3 dni.

Badania histopatologiczne

W przypadku podejrzenia zespołu skórno-nerwowego (PDNS), zespołu wyniszczenia podsadzeniowego (PMWS) lub choroby ciężarnej znaczenie diagnostyczne ma badanie histopatologiczne. Wykonują je niektóre zakłady higieny weterynaryjnej i Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach. Okres oczekiwania na wynik wynosi 3–6 dni.

Zasady współpracy lekarza z laboratorium

Ważnym elementem dla postawienia trafnego rozpoznania choroby jest współpraca między pracującym w terenie lekarzem weterynarii, a ośrodkiem wykonującym badania laboratoryjne. Chodzi o informację dotyczącą konkretnego przypadku, a zwłaszcza określenie sytuacji epizootologicznej w danej chlewni lub tuczarni. Ważną sprawą jest podanie przez lekarza jego podejrzenia co do przyczyny zacho-

Tabela 3. Badania serologiczne – wykrywanie przeciwciał w surowicy

Technika laboratoryjna	Co wykrywamy?
Test ELISA	przeciwciała dla czynnika patogenego lub jego fragmentu (np. przeciwciała przeciwko <i>Pasteurella multocida</i>)
Seroneutralizacja	przeciwciała neutralizujące patogen, można określić miano przeciwciał (test indywidualny)
Odczyn wiązania dopełniacza, odczyn aglutynacji, etc.	przeciwciała aktywujące dopełniacz, przeciwciała aglutynujące, etc.

rowań i padnięć świń – na podstawie objawów klinicznych i zmian sekcyjnych. Innymi słowy, chodzi o ukierunkowanie toku badań laboratoryjnych.

Od tego rodzaju informacji zależy czy podejrzana jest choroba o wieloczynnikowej etiologii, na którą składają się nieodpowiednie warunki środowiskowe i na tym tle ujawniona chorobotwórczość różnych gatunków warunkowo chorobotwórczych drobnoustrojów, jak: *E. coli*, *S. suis*, *Pasteurella multocida*, czy też chodzi o udział jednego czynnika etiologicznego, np. PRRSV i powikłań bakteryjnych (zakażenia mieszane) lub też czy przyczyną zachorowania jest wyłącznie jeden wirus lub jeden gatunek chorobotwórczy dla świń patogenowy.

Uzyskane od lekarza terenowego informacje mogą decydować o tym, czy pracownik laboratoryjny wybiera drogę bezpośredniego określenia czynnika chorobowego, czy też oprze się na pośrednim jego ustaleniu, na podstawie identyfikacji swoistych dla niego przeciwciał, czy też zastosuje oba kierunki badań diagnostycznych.

Zalecenia dotyczące przesyłania próbek do badań

Terenowy lekarz weterynarii przesyłający próbki do badań diagnostycznych, powinien przestrzegać następujących zaleceń.

1. Nie należy przysyłać do badań w kierunku wykrycia bakteryjnych czynników etiologicznych próbek od zwierząt leczonych antybiotykami.
2. Błędem jest umieszczenie różnych próbek w tym samym opakowaniu (np. w tym samym słoiku). Interpretacja wyników w takiej sytuacji może być bowiem niemożliwa lub błędna.
3. Próbki powinny być świeże, a nie z zaawansowanym procesem gnilnym.
4. Próbki należy, każdą z osobna, umieszczać w oddzielnym pojemniku, dokładnie oznakować z podaniem rodzaju narządu lub tkanki, numeru świni i chlewni, z której pochodzi.
5. Nie należy zamrażać próbek krwi, powoduje to bowiem ich niepożądaną hemolizę.
6. Zamrażanie tkanek przeznaczonych do badań histopatologicznych jest

przeciwwskazane. Należy je przysyłać w 10% formalinie.

7. Niedopuszczalne jest przesłanie do badań bakteriologicznych lub wirusologicznych wycinków narządów w formalinie.
8. Wycinków narządów wewnętrznych, ani mózgowia i rdzenia kręgowego, nie należy przysyłać w woreczkach plastikowych. W takich warunkach ulegają szybko nieodwracalnym zmianom.
9. Próbki przeznaczone do badań bakteriologicznych i wirusologicznych można przysyłać w stanie zamrożenia.
10. Zaleceniem w odniesieniu do wszystkich rodzajów próbek jest nieprzesyłanie materiału do badań diagnostycznych w piątek, gdyż z reguły w takim przypadku badanie rozpocznie się dopiero w poniedziałek. W związku z przeniesieniem przesyłki na okres późniejszy, w okresie od pobrania do wysłania materiału należy przetrzymać w temperaturze lodówki, a kiedy dopuszczalne jest zamrożenie, to w stanie zamrożenia.

Powyższe zalecenia nie dotyczą chorób zwalczanych z urzędu i sytuacji wyjątkowo ważnych. W takich przypadkach materiał powinien być dostarczony jak najszybciej, a o wysłaniu próbek laboratorium należy poinformować telefonicznie.

Na zakończenie trzeba dodać, że błędem jest uznanie wyniku ujemnego jako informacji bez większego znaczenia. Przeciwnie – wynik ujemny może stanowić podstawę do zmiany postępowania weterynaryjnego w danej fermie, co wiąże się z oszczędnościami na rzecz właściciela – klienta.

Uwaga końcowa

Jak wskazują obserwacje własne, tylko nieliczna grupa lekarzy weterynarii korzysta w odpowiednim zakresie z usług laboratoriów weterynaryjnych oraz docenia znaczenie tego rodzaju badań w realizacji programów zwalczania chorób świń. Sytuacja ta powinna ulec zmianie, zwłaszcza ze względu na oczywistą poprawę tym sposobem efektywności postępowania i w konsekwencji obniżenie strat wywołanych przez nie tylko zakaźne choroby świń.

Piśmiennictwo

1. Gardner I. A., Blahard P. B.: Interpretation of laboratory results. *Diseases of Swine*. 8th ed. Ames, Iowa State University Press 1999, s. 19–39.
2. Hirsh D. C., Zee Y. Ch., Castro A. E.: *Laboratory Diagnoses. Veterinary Microbiology* Blackwell Science 1999, s. 15–27.
3. Malicki K., Binek M. (red.): *Zarys klinicznej bakteriologii weterynaryjnej*. Tom I, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2004.
4. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*, vol. 1, 5th ed., 2004.
5. Oleksiewicz M. B., Stadejek T., Maćkiewicz Z., Porowski M., Pejsak Z.: Discriminating between serological responses to European-genotype live vaccine and European-genotype field strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) by peptide ELISA. *J. Virol. Meth.* 2005, **129**, 134–144.
6. Pejsak Z.: An opportunistic organism. *Pig Progress*. 2005, **21**, 14–16.
7. Pejsak Z.: Virus que provocan trastornos reproductivos en ganado porcino. *Avances in tecnologia porcina*. 2004, **1**, 18–32.
8. Straw B. E., Dewey C. E., Wilson M. R.: Differential diagnosis of swine. *Diseases of Swine*. 8th ed., Iowa State University Press, Ames 1999, s. 46–86.
9. Truszczyński M., Pejsak.: Znaczenie ELISA w epidemiologii i zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. *Medycyna Wet.* 2005, **61**, 10–13.
10. Truszczyński M. (edit.): *OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases*. World Organisation for Animal Health OIE, Paris 2002, s. 1–63.
11. Żmudzki J., Osek J., Stankevicius A., Pejsak Z.: Rapid detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Lawsonia intracellularis* in swine faecal and mucosal specimens by multiplex PCR. *Bull Vet Inst Pulawy* 2004, **48**, 207–214.

Prof. dr hab. Z. Pejsak, Państwowy Instytut Weterynaryjny,
al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy