

Diagnostyka laboratoryjna zakaźnych chorób świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

Laboratory diagnosis of infectious swine diseases

Summary

This paper discusses important issues that have to be taken into account in the laboratory diagnosis of infectious animal diseases, particularly swine diseases. Some of the most fundamental issues are standardization and harmonization of diagnostic tests in the international scale. Different approaches to test selection are related to the etiology of the infectious disease. The paper mentions diseases caused by one pathogen, diseases of multifactorial etiology and subclinical infections. The importance of a disease-free herd is underlined – particularly for eradication and the possibility of exporting animals. The difference between qualitative and quantitative results is defined. The number of samples used and the gold standard, as well as the sensitivity and specificity of diagnostic tests are characterized. The DIVA strategy is mentioned. The value of laboratory diagnosis in dealing with disease syndromes and infections caused by facultatively pathogenic microorganisms is described. Limitations of laboratory tests in the diagnosis of infectious swine diseases are also enumerated.

Keywords: laboratory diagnostic tests, swine, infectious diseases

Weterynaryjna diagnostyka laboratoryjna chorób zakaźnych jest podstawą ich skutecznego zwalczania. Ma znaczenie nie tylko w ograniczaniu strat w produkcji zwierzęcej, w tym trzody chlewnej, ale też ze względu na identyfikowanie w wymienionym rezerwuarze drobnoustrojów zoonotycznych, co jest istotne w zapobieganiu chorobom odzwierzęcym człowieka. W opracowywaniu testów diagnostycznych uwzględniane są najnowsze osiągnięcia bakteriologii, wirusologii, immunologii, biologii molekularnej i genetyki.

Standaryzacja i harmonizacja

Z uwagi na niezbędność standaryzacji i harmonizacji testów diagnostycznych nie tylko w obrębie kraju, ale również w skali międzynarodowej, dużą rolę odgrywa od lat w tej tematyce z punktu widzenia państwowych służb weterynaryjnych Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt OIE (World Organisation for Animal Health, OIE), Unia Europejska (UE) oraz Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organisation, WHO) (17, 21) obok innych związanych z poszczególnymi kontynentami względnie regionami organizacji uczestniczących w doskonaleniu tych czynności.

Oprócz Kodeksu Zdrowia Zwierząt Lądowych OIE (Terrestrial Animal Health Code) (1), zawierającego wytyczne postępowania w zapobieganiu i zwalczaniu chorób, w tym dotyczące zalecanych testów i terminów badań, opublikowano dzieło wspomagające. Jest nim Manual OIE, czyli Podręcznik Testów Diagnostycznych i Szczepionek dla Zwierząt Lądowych (Manual of Dia-

gnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals), którego szóste wydanie ukazało się w 2008 r. z uwzględnieniem dokonującego się postępu (5, 18). Celem kolejnych wydań tego podręcznika, znajdującego się obecnie w większości krajowych instytutów i centralnych laboratoriów weterynaryjnych na świecie, jest aktualizacja wiedzy przede wszystkim w zakresie technik diagnostyki laboratoryjnej. Równie ważnym zadaniem Manualu OIE jest ujednoczenie dla potrzeb państwowych służb weterynaryjnych stosowania w możliwie wszystkich laboratoriach w diagnostyce każdej konkretnej choroby zakaźnej z listy chorób zgłaszanych (listed diseases) (26, 29) rekomendowanych testów diagnostycznych. Warunkuje to zrozumiały dialog między specjalistą laboratoryjnym a epizootologiem w ramach kraju i w skali międzynarodowej. W tym samym celu opracowany został Standard Jakości OIE i Wytyczne dla Laboratoriów Weterynaryjnych: Choroby Zakaźne (19). Nieprzestrzeganie wymienionych w cytowanych publikacjach warunków może prowadzić, jak wspomniano wyżej, do niepokrywających się wyników odnośnie do tej samej próbki badanej w różnych laboratoriach, w tym odrębnych państw, co może komplikować obrót zwierzętami i ich produktami.

Diagnostyka laboratoryjna chorób i zespołów chorobowych oraz infekcji o przebiegu podklinicznym

Wobec wywołanych przez wyłącznie jeden czynnik etiologiczny chorób zakaźnych świń charakteryzujących się ogólnym zakażeniem, czyli posocznicą (septicaemia),

jak np. pryszczycza, klasyczny pomór świń, afrykański pomór świń, przy występowaniu dość często nietypowych objawów klinicznych i zmian sekcyjnych, w pełni trafne ich rozpoznanie wymaga zastosowania określonych laboratoryjnych testów diagnostycznych (5).

Ważną i najczęściej występującą obecnie u świń grupę chorób, nazywanych zespołami lub syndromami chorobowymi, stanowią infekcje o etiologii wieloczynnikowej, czyli wywołane przy udziale kilku drobnoustrojów, spośród których z reguły jeden gatunek inicjuje zachorowanie (11, 23-25). W odniesieniu do ich prawidłowego rozpoznania niezbędne jest wykorzystanie wyników badań laboratoryjnych.

Znane są też infekcje, które obok postaci klinicznej mają przebieg podkliniczny (np. salmonelloza świń). Zwłaszcza w tym drugim przypadku diagnostyczne badanie laboratoryjne jest wyłączną podstawą identyfikowania i eliminowania tego rodzaju rezerwuarów zakażenia. W efekcie przeciwdziałania to szerzeniu się infekcji do stad świń od nich wolnych.

Stado zwierząt wolne od chorób zakaźnych

Ujemny wynik diagnostyki laboratoryjnej w odniesieniu do grupy świń stanowi warunek uznania takiego stada za wolne od określonej choroby (disease freedom). Nie wykazanie tym sposobem nosicieli i siewców określonych drobnoustrojów chorobotwórczych umożliwia wydanie zgody na transport zwierząt z takiej fermi do innego miejsca w kraju lub za granicę. Natomiast wynik dodatni wyklucza, według Kodeksu Zdrowia Zwierząt Lądowych OIE (1), bądź cały kraj, bądź jego część (9) z realizowania eksportu świń lub ich produktów do innych krajów.

Doświadczenia z Danii w ramach realizowanych programów utrzymywania ferm świń wolnych od drobnoustrojów chorobotwórczych (specific pathogen free, SPF) wskazują, że roczna reinfekcja stad wywołana przez *Mycoplasma hyopneumoniae* wynosi 10-15% (14, 15). Prowadzenie tego rodzaju monitoringu możliwe jest wyłącznie przy stałym korzystaniu z odnośnych laboratoryjnych testów diagnostycznych.

W przypadkach spornych między laboratorium diagnostycznym kraju, z którego pochodzą eksportowane świnię i laboratorium odbiorcy, co do występowania infekcji u świń, rozstrzygnięcie sporu leży w gestii laboratoriów referencyjnych OIE lub innych renomowanych organizacji (20).

Diagnostyczne badania jakościowe i ilościowe

Laboratoryjne metody jakościowe, dotyczące izolacji i identyfikacji czynnika etiologicznego dają bądź wynik dodatni, bądź ujemny. W grę nie wchodzi element oceny ilościowej (bardziej lub mniej dodatni albo bardziej lub mniej ujemny), by można stwierdzić, czy mamy do czynienia np. z klasycznym pomorem świń lub różycą świń.

Diagnostyczne badania ilościowe odgrywają rolę przy wykrywaniu przyczyn zespołów chorobowych wywołanych przez drobnoustroje występujące ubikwitalnie –

np. PCV2. W tym przypadku o uznaniu PCV2 za przyczynę zachorowań świń np. na PMWS decyduje nie sam fakt wykrycia PCV2, ale dowiedzenie obecności dużej ilości tego wirusa w badanych węzłach chłonnych (25).

Próby diagnostyczne, w których istotnym czynnikiem są przeciwciała swoiste dla czynnika wywołującego chorobę, umożliwiają ilościową ocenę towarzyszącej zakażeniu odpowiedzi immunologicznej, dostarczając informacji do wnioskowania o przebiegu infekcji.

Istnieją 2 rodzaje wyników ilościowych testów serologicznych. Pierwszy, jak seroneutralizacja (SN), wyraża się końcowym rozcieńczeniem lub mianem. W drugim, jak np. test immunoenzymatyczny ELISA, określenie ilości przeciwciał w badanej próbce (odpowiednika miana surowicy przy zastosowaniu innych testów serologicznych, np. odczynu aglutynacji) dokonuje się przez porównanie gęstości optycznej, czyli OD surowicy badanej z OD surowicy standardowej (czyli surowicy kontrolnej dodatniej o progowym jednoznacznie dodatnim stężeniu przeciwciał). W tym celu dzieli się wartość OD surowicy badanej, czyli pobranej do badania próbki (S, sample – próbka), przez wartość OD surowicy kontrolnej dodatniej zestawu (P, positive – dodatni). Otrzymana liczba charakteryzująca stosunek S/P określa ilość przeciwciał obecnych w surowicy badanej. Wartości S/P niższe od ustalonej wartości progowej (np. 0,4) uznawane są za wyniki ujemne. Nie oznacza to, że surowica, dla której w teście ELISA uzyskano wartość S/P niższą niż 0,4 nie zawiera przeciwciał. Mogą być one obecne, jednak ich poziom znajduje się poniżej założonego progu czułości danego testu diagnostycznego.

Zróznicowanie w wynikach ilościowych testów serologicznych większej liczby osobników zakażonych tym samym drobnoustrojem pochodzi z dwóch źródeł: a) biologicznych różnic indywidualnych w odpowiedzi zwierząt (świń) zakażanych w relacji do niezakażanych, b) z różnej czułości użytego w kilku miejscach testu.

Wynik badania serologicznego może też zależeć od: dawki zakaźnej, trwania infekcji, przebiegu klinicznego, ciężkiego względnie łagodnego lub podklinicznego, od tego, czy choroba ma charakter systemowy, czy miejscowy, czy stanowi wynik infekcji mieszanej. Pewien wpływ na powyższe może mieć wiek, względnie kondycja zwierzęcia. Na poziom odpowiedzi immunologicznej wpływ może też mieć inna infekcja oraz szczepienie przeciw tej infekcji lub innym infekcjom, co łączy się z tzw. negatywną fazą odporności. Tego rodzaju dodatkowe czynniki mogą nawet prowadzić do fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników serologicznych, co jednak nie dewaluuje wartości badań serologicznych w diagnostyce chorób zakaźnych świń, zwłaszcza ze względu na badanie z reguły dużej liczby zwierząt kilkakrotnie w cyklu produkcyjnym.

Istnieją tkwiące w laboratorium przyczyny różnic w wynikach badań serologicznych tej samej próbki surowicy. Odnoszą się do sprawności pracujących wykonawców technicznych, jak również odczytujących wyniki. W grę wchodzi też różna jakość zestawów diagno-

stycznych, a nawet poszczególnych odczynników, zależnie od serii produkcji.

Powyższe potwierdza konieczność posługiwania się testami wystandaryzowanymi i przyjętymi za optymalne oraz dysponowanie wykonującym badania sprawnym i zaangażowanym personelem (4, 7).

Liczby pobieranych do badań próbek

Liczba pobieranych do badań diagnostycznych próbek zależy od szeregu czynników. Na przykład, jeżeli na podstawie badań klinicznych i sekcyjnych istnieje znacząca podstawa do podejrzenia wystąpienia choroby, wtedy liczba próbek do badań laboratoryjnych może być niewielka. W innych sytuacjach, kiedy zakażenie ma przebieg nietypowy czy podkliniczny, konieczne jest pobranie większej liczby próbek. Trzydzieści próbek na stado świń daje prawdopodobieństwo wykrycia w 95% co najmniej 1 pozytywnego (czyli zakażonego) zwierzęcia, jeśli infekcja występuje u co najmniej 10% zwierząt. Przy mniej czułych testach liczba pobieranych do badań laboratoryjnych próbek musi być większa (7).

Złoty standard

W odniesieniu do ustanawiania testów standardowych istnieją 4 wzajemnie wykluczające się kategorie wyników:

- rzeczywiście pozytywne wyniki (dodatnie w teście z próbką od świń rzeczywiście zakażonych),
- fałszywie negatywne (ujemne w teście z próbką od świń rzeczywiście zakażonych),
- fałszywie pozytywne (dodatnie w teście z próbką od świń niezakażonych),
- rzeczywiście negatywne (ujemne w teście z próbką od niezakażonych świń).

Ważnym czynnikiem w eliminowaniu lub ograniczaniu fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych wyników laboratoryjnych badań diagnostycznych jest posługiwanie się w poszczególnych laboratoriach Manualiem OIE, w tym tzw. złotym standardem, wobec którego porównuje się wyniki badanej próbki, otrzymane metodą w tym laboratorium wykonywaną i dopiero wtedy, kiedy są identyczne, ją stosuje. Niezbędnych standardów (zazwyczaj dodatnie, słabo dodatnie, ujemne surowice) w szeregu przypadków dostarczają międzynarodowe laboratoria referencyjne OIE, UE lub WHO (20, 22). Niestety, nie ma to miejsca w odniesieniu do wszystkich chorób zakaźnych świń (7). Pozytywny wpływ na jakość diagnostycznych badań laboratoryjnych mają wewnętrzne i zewnętrzne audyty zapewniania jakości (quality assurance), przeprowadzane od kilku lat okresowo w laboratoriach diagnostycznych.

Na potrzeby obrotu międzynarodowego w związku z handlem zagranicznym świń testy polecane (recommended) i alternatywne (alternative), prezentowane przez Światową Organizację Zdrowia Zwierząt (OIE) w Podręczniku Standardów Testów Diagnostycznych i Szczepionek (5) mają rangę tak zwanych złotych standardów.

Takimi testami w przypadku: choroby Aujeszky'ego jest ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay, test

immunoenzymatyczny) i VN (Virus neutralisation, czyli test neutralizacji wirusa); włośnicy – identyfikacja mikroskopowa czynnika chorobowego i ELISA; afrykańskiego pomoru świń – ELISA i IFA (Indirect fluorescent antibody test, czyli test pośredni fluoryzujących przeciwciał); klasycznego pomoru świń – ELISA i FAVN (Fluorescent antibody virus neutralisation, neutralizacja wirusa immunofluoryzującymi przeciwciałami) oraz NPLA (Neutralizing peroxidase-linked assay, seroneutralizacja peroksydazowa); brucelozy świń – ELISA, BBAT (Buffered Brucella antigen test, test z buforowanym antygenem Brucella) i FPA (Fluorescence polarisation assay, test fluoryzacyjno-polaryzacyjny); zespołu rozrodczo-oddechowego świń (PRRS) – ELISA, IFA i IPMA (Immunoperoxidase monolayer assay, immunoperoxydazowy test w komórkowej hodowli jednowarstwowej); choroby pęcherzykowej świń – VN i ELISA; picornawirusowego zapalenia mózgu i rdzenia wywołanego przez Teschovirus (dawniej choroba cieszyńska) – VN; zakaźnego zapalenia żołądka i jelit (TGE) – VN i ELISA. Procedury wykonywania wymienionych testów przedstawione są w Manualu OIE (5).

Niekiedy w złotym standardzie łączonych jest kilka metod. Przykładowo, Bager i Petersen (2) porównywali trzy podłoża wybiórcze do izolacji salmonelli z kału świń. Jeżeli chociaż na jednej z tych pożywek izolowano z tej samej próbki salmonelle, to wynik uznawano za dodatni. Gdyby jednak posłużono się tylko jedną, ale inną pożywką, można by uzyskać wynik ujemny przy badaniu tego samego materiału. Zatem posługiwanie się kilkoma pożywkami do badania większej liczby próbek kału, a nie jedną, reprezentuje tu umownie złoty standard. W cytowanych badaniach okazało się bowiem, że stosując z osobna jedną pożywkę i porównując w ten sposób otrzymane wyniki z wynikiem posługiwania się równocześnie trzema pożywkami, co uznawano za liczbę izolatów równą 100%, w przypadku bulionu Rappaport-Vassiliadis, skąd przesiewano hodowlę bakteryjną na agar z zielenią brylantową, wykryto salmonelle w 88% próbek, w porównaniu z 51% izolatów w przypadku bulionu z selenitem.

Dla niektórych chorób wirusowych SN lub inne testy serologiczne używane są jako standard, w stosunku do którego ocenia się wartość nowych testów serologicznych. Przykładowo, Weigel i wsp. (27) porównywali wartość dwóch testów ELISA z SN do wykrywania przeciwciał dla wirusa choroby Aujeszky'ego – a zwłaszcza jego glikoproteiny X, a Lanza i wsp. (9) porównywali capture ELISA z SN dla serodiagnozy TGE.

Czułość i swoistość

Inna jest definicja czułości testu wykonywanego w celu rozpoznania choroby zakaźnej oraz dla celów epidemiologicznych, a czułości testu stosowanego w analizie. W pierwszym przypadku chodzi o wykrycie możliwie dużej liczby zwierząt danego stada rzeczywiście pozytywnych (13). W drugim przypadku, czyli badań analitycznych, określenie „czułość” dotyczy wykrywania za pomocą testu: występującej w próbce naj-

mniejszej liczby bakterii lub najmniejszej ilości DNA, toksyny, względnie przeciwciała. Immunologicznie bardziej czuły test (ELISA w porównaniu z SN) wykrywa zatem przeciwciała wcześniej w trakcie procesu infekcyjnego u indywidualnej świni. W diagnozie stada, w którym występowanie zwierząt zakażonych jest średnie do wysokiego, a świny są w różnych stadiach infekcji – potrzeba wysokiej czułości testu nie musi być szczególnie duża dla sformułowania rozpoznania, że w stadzie występują świny zakażone. Taki wynik odnosi się do wchodzącego w grę stada, a nie wyłącznie do jednego lub kilkunastu zbadanych osobników.

PCR zastosowany do identyfikacji *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae*, jak podaje Blanchard i wsp. (3), ma zdolność wykrywania do 400 drobnoustrojów w jednej próbce. Jeżeli badana jest próbka z tchawiczo-oskrzelowej popłuczyny, to PCR prawidłowo wykrywało 101/116 eksperymentalnie zakażonych wymienionym drobnoustrojem świń.

Pojęcie swoistości odnosi się do testu, który poprawnie identyfikuje niezakażone świny jako rzeczywiście negatywne, a zakażone jako rzeczywiście pozytywne. Test z 90% swoistością prawidłowo klasyfikuje 90% niezakażonych świń jako negatywne i 10% świń jako zakażone (fałszywie pozytywne).

Fałszywie pozytywny wynik może być związany z podobieństwem antygenowym lub innymi właściwościami (np. DNA) czynnika wywołującego chorobę i odrębnych gatunków drobnoustrojów bądź wywołujących inne choroby niż ta, o którą chodzi, bądź drobnoustrojów niechorobotwórczych. Przykładowo, Fittipaldi i wsp. (6), badając próbki z migdałków świń przy użyciu PCR w kierunku *Actinobacillus pleuropneumoniae*, uzyskiwali, obok wyników trafnych, również fałszywie dodatnie, wskazujące na występowanie: *A. suis*, *A. minor*, *A. equuli*, *A. lignieresii*, *A. porcitonisillarum*, *Streptococcus suis* i *Haemophilus parasuis*.

W większości sytuacji terenowych pożądane jest dysponowanie w diagnostyce laboratoryjnej możliwie najwyższą swoistością i czułością używanych testów. Nabywający świny i przedstawiciele administracji weterynaryjnej zazwyczaj domagają się testów o czułości i swoistości bliskiej 100%, by minimalizować ryzyko wprowadzenia na swój teren patogenów i chorób. Podobny kierunek argumentacji reprezentują hodowcy stad świń, którzy domagają się tego rodzaju testów w celu maksymalizowania bezpieczeństwa dla nabywających oferowanych knurów i pierwiastek do remontu stada w innych fermach. To samo dotyczy akcji związanych z eradykacją choroby zakaźnej oraz utrzymaniem statusu stada wolnego np. od *M. hyopneumoniae*.

Strategia DIVA

Kolejnym problemem jest różnicowanie serologiczne w przypadku wyniku pozytywnego, czy świny były szczepione przeciw chorobie Aujeszky'ego lub klasycznemu pomorowi świń lub czy są bezobjawowymi nosicielami chorobotwórczego wirusa. W tym celu opracowa-

wane zostały specjalne testy, które umożliwiają odróżnienie przeciwciał wywołanych przez wirus szczepionkowy specjalnie w tym celu genetycznie modyfikowany od przeciwciał wytworzonych pod wpływem wirusa zjadliwego. Powyższe określane jest jako strategia DIVA (Differentiation of Infected from Vaccinated Animals) (16, 27).

Diagnostyka laboratoryjna zespołów chorobowych

Poodsadzeniowy wielonarządowy zespół wyniszczający (post-weaning multisystemic wasting syndrom, PMWS) jest przykładem wpływu większej liczby czynników na pojawienie się klinicznego przebiegu choroby (12). W takim przypadku, mimo że laboratorium może wesprzeć identyfikację drobnoustrojów potencjalnie mogących brać udział w wywoływaniu schorzenia lub obniżyć wyników produkcyjnych, udział czynników zakaźnych w porównaniu do środowiskowych przyczyn niezakaźnych jest w stanie ocenić wyłącznie terenowy lekarz weterynarii.

W chorobach o złożonej etiologii trudne jest określenie roli poszczególnych gatunków drobnoustrojów ze względu na ich warunkową chorobotwórczość. Jednakże wykazano, że w PMWS głównym czynnikiem inicjującym jest PCV2, a w enzootycznej pneumonii świń *M. hyopneumoniae* (11, 23). Stwierdzenia te, uzyskane dzięki mikrobiologicznej diagnostyce, w tym ilościowej ocenie występowania patogenu, są pomocne w wyborze odpowiedniej profilaktyki swoistej i ewentualnej antybiotykoterapii przy równoczesnym wprowadzeniu niezależnie od tego korekt zapewniających dobrostan.

Drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze

Choroby świń wywołane przez warunkowo chorobotwórcze drobnoustroje, np. kolibakterioza, stanowią pewien problem w diagnostyce laboratoryjnej w tym sensie, że 100% zwierząt w stadzie może być ich nosicielami np. szczepu *Escherichia coli* serogrupy 0138 lub 0139, a mimo to żadne zwierzę nie zachorowuje w jednym przypadku, a w drugim, identycznym w sensie nosicielstwa takich drobnoustrojów, zachorowuje na kolibakteriozę świń znaczny ich odsetek. Trudno wtedy mówić o czułości i swoistości testu, który wykrywać może wszystkie zwierzęta zakażone, a mimo to nie ma to znaczenia w aspekcie wystąpienia choroby.

Inne potrzeby

W pewnych sytuacjach zmierzających do określenia roli etiologicznej izolatu konieczna jest bliższa charakterystyka szczepu wyosobnionego od padłego zwierzęcia. Znaczenie mają wtedy molekularne metody diagnostyki laboratoryjnej, umożliwiające wykazanie, czy choroba związana jest z wystąpieniem nowego, bardziej zjadliwego w obrębie gatunku, szczepu bakterii lub wirusów. Niekiedy istnieje potrzeba różnicowania patogenego wirusa terenowego od blisko spokrewnionego, krzyżowo reagującego wirusa, np. płucnego koronawirusa świńskiego od jelitowego koronawirusa (TGE)

lub szczepów szczepionkowych PRRS od szczepów terenowych (10), co, jak wynika z cytowanych prac, jest możliwe.

Ograniczenia diagnostyki laboratoryjnej

Negatywny wynik zbadanych próbek laboratoryjnych niekoniecznie wyklucza obecność patogenu jako przyczyny choroby, zwłaszcza wtedy, kiedy zastosowany test cechuje się niższego stopnia czułością i swoistością. Fałszywie ujemne wyniki, jak nie wykazanie czynnika wirusowego lub bakteryjnego, mimo że występuje w organizmie świni, można uzyskać z różnych powodów. Są nimi nierównomierna koncentracja, a nawet brak we wchodzących w grę próbkach czynnika chorobowego. Dłuższy okres choroby może prowadzić do zmniejszenia ilości czynnika chorobowego poniżej granicy wykrywalności użytego testu. To samo może dotyczyć wykrywania przeciwciał swoistych. Test może uwzględniać identyfikację wyłącznie określonej grupy szczepów danego gatunku drobnoustroju. Warunki, w których przetrzymywano próbki do badań, też mogą odegrać istotną rolę w formułowaniu błędnych wyników, np. wysoka temperatura, czas zbyt długi od pobrania do wykonania próby. Identyfikacja ważnych diagnostycznie odcinków DNA możliwa jest nawet po bardzo długim czasie. Jednakże fałszywie negatywne wyniki w przypadku próbek z kału, przy zastosowaniu PCR, w kierunku różnych jelitowych patogenów, mogą być uzyskane bezpośrednio po pobraniu materiału do badań. Przyczyną fałszywie ujemnych wyników PCR mogą być hamujące substancje występujące w kale. Opracowano metody wykrywania tych inhibitorów (8). Fałszywie ujemne wyniki infekcji bakteryjnych mogą występować, jeśli świniom były traktowane przed badaniem antybiotykami.

Wydaje się, że najczęstszą przyczyną wyników fałszywie ujemnych są błędy popełniane w trakcie pobierania próbek (źle pobrane wymazy z nosa, zbyt późno pobrane próbki od padłych zwierząt, wybór niewłaściwych osobników do próbkobrania, etc.).

Podsumowanie

W odnoszącej się do przedstawionego tekstu konkluzji wolno stwierdzić, że właściwie wykonywana diagnostyka laboratoryjna stanowi niezbędny i bardzo ważny dział w kompleksowym zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, w tym świń. Dostarcza też najważniejszych dowodów ich eradykacji, czyli niewystępowania na geograficznie określonym obszarze. Warunkiem jest jednak wysoka kompetencja wykonujących badania specjalistów, nowoczesne wyposażenie laboratoriów oraz współpraca z renomowanymi laboratoriami referencyjnymi na świecie. Równocześnie konieczne jest współdziałanie diagnostów z administracją weterynaryjną danego państwa i terenową służbą weterynaryjną. Ich przedstawiciele powinni reprezentować wysoki poziom zawodowy i świadomość, co do możliwości wykorzystywania wyników laboratoryjnych w praktyce.

Piśmiennictwo

1. Anon.: OIE Terrestrial Animal Health Code. Paris 2010.
2. Bager F., Petersen J.: Sensitivity and specificity of different methods for the isolation of Salmonella from pigs. Acta Vet. Scand. 1991, 32, 473-481.
3. Blanchard B., Kobisch M., Bové J. M., Saillard C.: Polymerase chain reaction for Mycoplasma hyopneumoniae detection in tracheobronchiolar washings from pigs. Molec. Cell Probes 1996, 10, 15-22.
4. Drew T. W.: Comparative serology of porcine reproductive and respiratory syndrome in eight European laboratories, using immunoperoxidase monolayer assay and enzyme-linked immunosorbent assay. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 1995, 14, 761-775.
5. Edwards S. (ed.): OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). Paris 2008.
6. Fittipaldi N., Broes A., Harel J., Kobisch M., Gottschalk M.: Evaluation and field validation of PCR tests for detection of Actinobacillus pleuropneumoniae in subclinically infected pigs. J. Clin. Microbiol. 2003, 41, 5085-5093.
7. Gardner I. A., Blanchard P. C.: Interpretation of laboratory results. [w:] Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., Taylor D. J.: Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames 2006, 219-239.
8. Jacobson M., Englund S., Ballagi-Pordany A.: The use of a mimic to detect polymerase chain reaction-inhibitory substances in feces examined for the presence of Lawsonia intracellularis. J. Vet. Diagn. Invest. 2003, 15, 268-273.
9. Lanza I., Rubio P., Mufioz M., Ckmenes P.: Comparison of a monoclonal antibody capture ELISA (MACELISA) to indirect ELISA and virus neutralization test for the serodiagnosis of transmissible gastroenteritis virus. J. Vet. Diagn. Incest. 1993, 5, 21-25.
10. Mengeling W. L., Vorwald A. C., Lager K. M., Brockmeier S. L.: Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. Am. J. Vet. Res. 1996, 57, 834-839.
11. Pejsak Z., Truszczyński M.: Tematyka 21 Kongresu IPVS w Vancouver. Część II. Zakażenia świń wywołane przez Mycoplasma hyopneumoniae. Życie Wet. 2010 (w druku).
12. Poganichniy R. M., Yoon K. J., Harms P. A., Sorden S. D., Daniels M.: Case-control study on the association of porcine circovirus type 2 and other swine viral pathogens with postweaning multisystemic wasting syndrome. J. Vet. Diagn. Invest. 2002, 14, 449-456.
13. Saah A. J., Hoover D. R.: „Sensitivity” and „specificity” reconsidered: The meaning of these terms in analytical and diagnostic settings. Ann. Intern. Med. 1997, 126, 91-94.
14. Sørensen V., Barford K., Feld N. C.: Evaluation of a monoclonal blocking ELISA and IHA for antibodies to Mycoplasma hyopneumoniae in SPF-pig herds. Vet. Rec. 1992, 130, 488-490.
15. Sørensen V., Barford K., Feld N. C., Vraa-Andersen L.: Application of enzyme-linked immunosorbent assay for the surveillance of Mycoplasma hyopneumoniae in pigs. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot. 1993, 12, 593-604.
16. Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., Taylor D. J.: Diseases of Swine. Blackwell Publishing, Iowa State University Press, Ames 2006.
17. Truszczyński M.: Międzynarodowy Urząd Epizootii – powstanie i działalność. Medycyna Wet. 2004, 60, 215-219.
18. Truszczyński M. (ed.): OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. Office International des Epizooties (OIE). Paris 2000.
19. Truszczyński M. (ed.): OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases. Paris 2003.
20. Truszczyński M.: The role and importance of veterinary laboratories in the prevention and control of infectious diseases of animals. Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz. 1998, 17, 405-410.
21. Truszczyński M.: Weterynaryjna profilaktyka zoonoz. Medycyna Wet. 2008, 64, 1363-1367.
22. Truszczyński M., Blancou J.: The role of the Office International des Epizootie in the standardisation of biologicals. Develop. Biol. Standard. 1992, 72, 95-98.
23. Truszczyński M., Pejsak Z.: Chorobotwórczość cirkowirusów ze szczególnym uwzględnieniem poodsadzeniowego, wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń. Medycyna Wet. 2008, 64, 379-382.
24. Truszczyński M., Pejsak Z.: Immunosupresja jako przyczyna chorób świń o etiologii wieloczynnikowej. Medycyna Wet. 2010, 66, 370-373.
25. Truszczyński M., Pejsak Z.: Rola cirkowirusa PCV2 w wywoływaniu zaburzeń w rozrodzie świń. Medycyna Wet. 2009, 65, 6-8.
26. Truszczyński M., Wijaszka T.: Zastąpienie listy A i B jedną listą chorób zgłaszanych do OIE. Medycyna Wet. 2005, 61, 234-235.
27. Weigel E. M., Hall W. F., Scherba G., Siegel A. M., Hahn E. C., Lehman J. R.: Evaluation of the sensitivity and specificity of two diagnostic tests for antibodies to pseudorabies virus glycoprotein X. J. Vet. Diagn. Invest. 1992, 4, 238-244.
28. Wijaszka T., Truszczyński M.: Kompartmentalizacja – pozytywne rozwiązanie dla handlu międzynarodowego zwierzętami i ich produktami. Medycyna Wet. 2007, 63, 259-260.
29. Wijaszka T., Truszczyński M.: Nowa lista chorób zgłaszanych do OIE. Medycyna Wet. 2006, 62, 1455.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl