

Diagnostyka serologiczna zakaźnych chorób świń wywołanych przez bakterie i wirusy

Zygmunt Pejsak, Marian Truszczyński

z Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Rozpoznawanie chorób zakaźnych świń (podobnie jak innych gatunków zwierząt gospodarskich) opiera się na badaniach epidemiologicznych stad oraz na wynikach badań klinicznych, anatomicznych i histopatologicznych, jak też histochemicznych. Po izolacji drobnoustroju, będącego przyczyną choroby, diagnostyka uwzględnia jego badania mikrobiologiczne lub wirusologiczne, kiedy określane są, w miarę potrzeby, jego właściwości chorobotwórcze dla zwierząt laboratoryjnych

oraz w hodowli komórkowej, jak również właściwości biochemiczne, molekularne, toksyczne, antygenowe i sekwencji genomu.

Celem tego artykułu jest prezentacja danych piśmiennictwa na temat znaczenia badań i testów serologicznych w porównaniu do innych procedur diagnostycznych w rozpoznawaniu chorób zakaźnych świń, z uwzględnieniem identyfikacji występujących w surowicy, soku mięśniowym lub płynie ustnym (oral fluid) przeciwciał

specyficznych dla antygenów chorobotwórczego drobnoustroju.

Oprócz rozpoznania zakażenia u indywidualnego zwierzęcia testy serologiczne, jako łatwe i szybkie w wykonaniu oraz niewymagające wysokich nakładów umożliwiają, bardziej niż inne metody, badanie dużych grup zwierząt i w konsekwencji ocenę stopnia rozprzestrzenienia się czynnika chorobotwórczego w stadzie oraz w stadach sąsiednich, jak też w regionach i państwach, w przypadku zaistnienia epidemii lub pandemii. Są one również przydatne do weryfikowania wyników zwalczania choroby zakaźnej, włącznie z jej eradykacją. Zapewniają, że w przypadku wprowadzania do stad wolnych od chorób zakaźnych – świń z innych środowisk, w tym z zagranicy – są one na podstawie ujemnych wyników badań wolne od określonego zakażenia. Ujemne wyniki serologicznych badań monitoringowych stanowią jeden z najważniejszych wskaźników uznania określonego regionu lub kraju jako wolnego

od choroby zakaźnej, co w szczególności dotyczy chorób wysoce zaraźliwych zgłaszanych do naczelných władz weterynaryjnych kraju oraz do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE). Badania serologiczne w niektórych sytuacjach mogą być wykorzystane do oceny prawidłowości i efektywności szczepień przeciw określonej chorobie zakaźnej.

Mimo pewnych ograniczeń testów serologicznych w aspekcie trafności wyniku, czyli występowania tzw. odczynów fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych, uzyskuje się – stosując badania serologiczne, zwłaszcza jako badania dużych liczbowo grup zwierząt – wiarygodne i wysoce przydatne informacje na temat występowania lub niewystępowania określonego czynnika patogenego w populacji badanych zwierząt. Tego rodzaju dokumentacja sytuacji epidemiologicznej ma nie tylko znaczenie dla indywidualnego właściciela stada świń, ale również w skali danego państwa, dla jego budżetu narodowego z tytułu możliwości eksportu świń i ich produktów. Wiadomo bowiem, że preferowani są eksporterzy z krajów lub regionów, które wolne są od chorób zgłaszanych do OIE.

Należy dodać, że żaden test serologiczny, stosowany do rozpoznania choroby zakaźnej, w tym występującej u świń, nie jest w 100% trafny jako próba odnosząca się do jednego osobnika. Dlatego niezbędne jest badanie większej liczby świń w tym samym kierunku. Takie rozwiązanie określa się terminem próby stadnej (herd test).

Łącząc się z badaniami serologicznymi okresowe badania przeglądowe stad polegają na systematycznym zbieraniu, porównywaniu i analizie wyników badań serologicznych grup zwierząt, zgodnie z Kodeksem Zdrowia Zwierząt Lądowych OIE określone są te czynności słowem „nadzór” (surveillance; 1).

Testy serologiczne stosowane w rozpoznawaniu ważnych chorób zakaźnych świń

W kolejności omówione zostaną testy serologiczne stosowane do wykrywania w surowicy świń przeciwciał swoistych dla antygenów chorobotwórczych drobnoustrojów i rozpoznawania na tej podstawie chorób zakaźnych w ogniskach choroby oraz w trakcie przeglądów (monitoringu) stad świń, w celu ustalenia w poszczególnych stadach i na określonym obszarze, w tym w dłuższym przedziale czasowym stopnia rozprzestrzenienia się danego czynnika patogenego.

Test precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym (agar-gel immunodiffusion – AGID) jest coraz rzadziej stosowany w celu wykrywania obecności swoistych przeciwciał. Charakteryzuje się on, w porównaniu do innych testów służących do wykrywania i ilościowego określania w surowicy poziomów (mian) przeciwciał swoistych, raczej niskiego stopnia czułością. W związku z tym AGID nie znalazł szerszego zastosowania do identyfikacji przeciwciał; bywa stosowany do określania serotypów izolatów wirusa grypy świń (swine influenza virus – SIV) i niektórych bakterii, np. *Haemophilus parasuis*.

Kolejnym testem stosowanym w badaniach serologicznych w celu wykrycia swoistych przeciwciał jest odczyn kwaśnej aglutynacji płytowej (OKAP), zaliczany do grupy tak zwanych testów ze zbuforowanym antygenem *Brucella* (buffered *Brucella* antigen test – BBAT). Test ten, wykrywający obecność przeciwciał swoistych dla antygenów *Brucella* spp., znalazł szerokie zastosowanie do przeglądów serologicznych świń w kierunku wykrycia zakażenia *Brucella suis* (2). Użyty w teście antygen jest zawieszoną, którą miesza się z surowicą i inkubuje przez

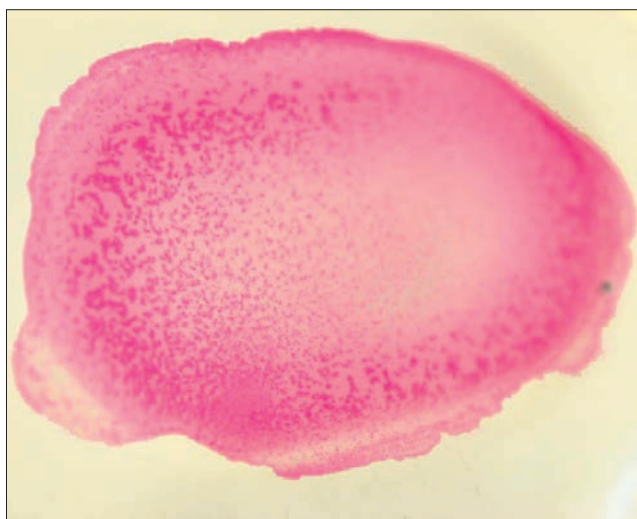
Serological diagnostic tests for swine bacterial and viral infectious diseases

Pejsak Z., Trusczyński M., Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy

The importance of serological testing for specific antibody identification in comparison to other diagnostic procedures, particularly to the direct identification of the etiological agent of an infectious disease of swine, was discussed in this article. The role of serological testing in the herd diagnosis is underlined as significant support of epidemiological and administrative decisions. It is considered as an effective tool for establishing freedom from infectious disease in a herd, as well as in a compartment, country or even a continent. The information received are of great significance for the national and international movement and trade of animals and also swine products if it concerns prevention of the spread of listed swine diseases. Having this in mind, the following diagnostic tests for the detection of antibodies against important swine pathogens were briefly characterized: agar gel immunodiffusion, buffered *Brucella* antigen test, fluorescence polarization assay, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), hemagglutination inhibition assay, indirect immunofluorescent antibody test and immunoperoxidase monolayer assay for antibody detection. The recommended serological diagnostic testing procedures for PRRS, CSF and ASF have followed.

Keywords: serological diagnostic testing, infectious diseases, swine.

4 minuty na mieszadle. Obecność aglutynatów w mieszaninie traktuje się jako wynik dodatni (ryc. 1). Stado uznaje się za wolne od brucelozy, jeżeli wszystkie świny w wieku >6 miesięcy zostaną zbadane i uznane jako serologicznie ujemne



Ryc. 1. Wynik dodatni odczynu kwaśnej aglutynacji płytowej (OKAP) w badaniu w kierunku brucelozy świń



Ryc. 2. Wynik ujemny odczynu kwaśnej aglutynacji płytowej (OKAP) w badaniu w kierunku brucelozy świń

(ryc. 2), a jeszcze pewniej, jeżeli wszystkie przebywające w stadzie osobniki są serologicznie ujemne. Mocnymi stronami odczynu OKAP są: czułość metody, łatwość wykonania oraz krótki czas potrzebny na uzyskanie wyniku. Badania tym testem mogą być przeprowadzone w praktycznie każdym laboratorium badawczym. Do słabych stron OKAP zaliczyć należy: zawodzącą niekiedy swoistość testu, szczególnie w przypadku zakażeń świń powodowanych przez drobnoustroje o podobnej z brucelami swoistości antygenowej, szczególnie ze szczepami *Yersinia enterocolitica* O:9.

Testem alternatywnym do OKAP jest odczyn fluorescencji w świetle spolaryzowanym (fluorescence polarization assay – FPA), który uznawany jest za bardziej czuły i swoisty niż OKAP. Test ten, podobnie jak OKAP, dzięki reaktywności krzyżowej wspólnych epitopów *B. abortus*, *B. melitensis* i *B. suis* pozwala na użycie tego samego antygeny dla wszystkich wymienionych gatunków rodzaju *Brucella*. Antygen reagujący ze swoistymi przeciwciałami znakowany jest izotiocyanianem fluoresceiny. Test ten umożliwia uzyskanie wyniku w krótkim czasie; może być wykorzystywany w warunkach terenowych (3).

Wykorzystywany, między innymi w rozpoznawaniu brucelozji świń, odczyn wiązania dopełniacza (OWD) rzadko używany jest obecnie w serodiagnostyce chorób zakaźnych świń, m.in. ze względu na prokomplementarność surowicy świni.

Test immunoenzymatyczny ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) znalazł powszechne zastosowanie do wykrywania przeciwciał lub antygenów drobnoustrojów chorobotwórczych. Stosowany jest głównie w monitorowaniu stanu zdrowia świń w stadach, do oceny sytuacji epidemiologicznej regionu, zwłaszcza w odniesieniu do ważnej choroby zakaźnej świń, a znacznie rzadziej do postawienia rozpoznania u poszczególnych osobników. Test ELISA w porównaniu do licznych metod diagnostyki serologicznej chorób świń (aglutynacja, precypitacja, odczyn wiązania dopełniacza i wielu innych) okazuje się najbardziej przydatny do oceny występowania określonej choroby w danym stadzie. Odnacza się wysoką czułością. Stwarza zatem możliwość stwierdzenia w surowicy nawet niskich stężeń przeciwciał, niewykrywalnych innymi testami serologicznymi. Cechuje się również dużego stopnia swoistością, to jest małą liczbą odczynów fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych. Ponadto jest to próba diagnostyczna, która nie wymaga drogiego wyposażenia i jest technicznie prosta w wykonaniu. ELISA, jako test wysoce czuły, rekomendowana jest w przypadku chorób zakaźnych zgłaszanych do OIE, czyli

chorób zwalczanych z urzędu, takich jak pomór klasyczny (CSF) i afrykański pomór świń (ASF), pryszczycyca (foot and mouth disease – FMD) oraz zespół rozrodzo-oddechowy świń (PRRS). Stosowane są różne odmiany ELISA jako: pośrednia (indirect), konkurencyjna (competitive) lub blokująca (blocking). Bliższe dane techniczne na temat ELISA w zastosowaniu do badania świń znajdują się w publikacjach zagranicznych (4, 5) oraz w publikacji krajowej (6).

Test zahamowania hemaglutynacji (hemagglutination inhibition assay – HI): odczyn ten stosuje się w diagnostyce chorób zakaźnych, w których wirusowy czynnik etiologiczny ma spontaniczne właściwości hemaglutynacji krwinek czerwonych. W odniesieniu do chorób świń cechę tę mają między innymi parwovirus świń (porcine parvovirus – PPV) i wirus grypy (swine influenza virus – SIV).

W przypadku obecności przeciwciał swoistych dla wirusa o właściwościach hemaglutynacyjnych dochodzi do zahamowania zlepienia się krwinek czerwonych. Wymieniony test stosuje się między innymi do określania nie tylko obecności, ale i poziomu przeciwciał swoistych dla wirusa grypy świń (7).

Technika wykonania badań tym odczynem polega na tym, że do dołków mikropłytki wprowadza się badaną surowicę, dodaje antygen wirusa grypy o określonym podtypie i mianie oraz zawieszinę krwinek czerwonych. Jeśli badana surowica zawiera swoiste przeciwciała skierowane przeciwko temu wirusowi, to dochodzi do blokowania jego właściwości hemaglutynacyjnych, a w konsekwencji krwinki osiadają zwartą grupą na dnie dołka, tworząc guzik. Jeśli w badanej surowicy brak jest swoistych dla określonego podtypu przeciwciał, wówczas wirus, z uwagi na jego zdolność do aglutynacji krwinek, powoduje ich osadzanie się na dnie dołka w postaci charakterystycznej chmurki. Wynik odczytuje się wizualnie. Miano przeciwciał stanowi odwrotność ostatniego rozcieńczenia surowicy, które całkowicie hamuje hemaglutynację. Mocnymi stronami testu są: możliwość dobrania określonego antygeny do badań – w zależności od zmieniającej się sytuacji epizootycznej, możliwości równoczesnego wykrywania przeciwciał dla różnych podtypów wirusa oraz niska cena badań. Słabymi stronami odczynu są: subiektywność wyniku ze względu na odczyt wizualny, prawdopodobieństwo reakcji krzyżowych oraz ewentualność wyników fałszywie ujemnych, przy źle dobranym antygenie (podtypie) wirusa grypy w przypadku badań w kierunku grypy świń.

Test immunofluorescencji pośredniej (indirect immunofluorescence / indirect

fluorescent antibody assay – IFA) oraz odczyn immunoperoksydazowy (immunoperoxidase monolayer assay – IPMA) prowadzone są w jednowarstwowej utrwalonej hodowli komórkowej. Testy te stosowane są do wykrywania swoistych przeciwciał przeciwko niektórym drobnoustrojom chorobotwórczym dla świń, jak: wirus klasycznego pomoru świń (classical swine fever virus – CSFV), cirkowirus świń typu 2 (porcine circovirus type 2 – PCV2), wirus zespołu rozrodzo-oddechowego (porcine respiratory and reproductive syndrome – PRRSV) i *Lawsonia intracellularis* (8). W niektórych przypadkach, w celu uniknięcia wyników fałszywych, uzasadnione jest zastosowanie przeciwciał monoklonalnych.

Poniżej przedstawione zostaną metody stosowane w diagnostyce serologicznej najważniejszych obecnie chorób zakaźnych świń.

Zespół rozrodzo-oddechowy świń (PRRS)

Do wykrywania przeciwciał swoistych dla PRRSV opracowano wiele testów (9). Diagnostykę serologiczną przeprowadza się z zadowalającą swoistością i czułością jako test stadny w odniesieniu do większej liczby zwierząt, czyli do stada świń.

Badanie serologiczne w kierunku PRRSV na ogół jest wykonywane przy użyciu testu immunoperoksydazowego w jednowarstwowej hodowli makrofagów płucnych (immunoperoxidase monolayer assay – IPMA) i testu IFA z komórkami MARC-145, które są zazwyczaj zakażone albo PRRSV typu europejskiego lub typu amerykańskiego. Obecność swoistych dla PRRSV przeciwciał wykrywa się również testem ELISA do wykrywania przeciwciał (9, 10). Testy te są często wykonywane z antygenem wirusowym jednego typu antygenowego (europejskiego lub amerykańskiego), co oznacza, że przeciwciała skierowane przeciw drugiemu, heterologicznemu genotypowi mogą być wykrywane z wyraźnie niższą czułością. W Danii używany był test ELISA blokujący, jako test dla typu europejskiego i amerykańskiego PRRSV (double ELISA) przy zastosowaniu obu typów 1 i 2 PRRSV, jako antygeny. Tym sposobem można wykrywać oba typy wirusa (11). Ponieważ obecnie oba typy PRRSV występują w Europie często obok siebie, zestawy diagnostyczne dla PRRSV powinny zawierać antygeny genotypów 1 i 2 wirusa.

Swoiste dla PRRSV przeciwciała mogą być wykryte, począwszy od 7–14 dnia od zakażenia. Osiągają maksymalne miano po 30–50 dniach od zakażenia. Świnie stają się seronegatywne w ciągu 3–6 miesięcy. U niektórych osobników przeciwciała

przeciwko PRRSV stwierdzać można znacznie dłużej. Przeciwciała swoiste dla PRRSV wykrywane są również w soku mięśniowym i płynie ustnym (ślinie).

W odróżnieniu od przeciwciał wykrywanych testem ELISA przeciwciała neutralizujące narastają powoli i nie osiągają wysokich mian. Mogą być wykryte od 3–4 tygodnia od zakażenia i utrzymywać się przez rok lub dłużej.

Przeciwciała matczyne dla PRRSV stwierdzane u osesków mają okres półtrwania około 12–14 dni. U prosiąt mogą być wykryte do 4–8 tygodnia ich życia, zależnie od miana przeciwciał u lochy w okresie porodu oraz ilości i czasu pobrania siary przez noworodki, a także zależnie od użytego testu.

Drew (12) przedstawił wyniki porównania wartości diagnostycznej zestawu diagnostycznego dla PRRS, przy udziale laboratoriów diagnostycznych z 8 krajów Unii Europejskiej – Belgii, Danii, Francji, Niemiec, Włoch, Holandii, Hiszpanii i Wielkiej Brytanii i zastosowaniu technik IPMA i ELISA. W badaniach wykorzystano surowice świń doświadczalnie zakażonych PRRSV, surowice świń wolnych od zakażenia PRRSV oraz ujemne i dodatnie surowice od świń zakażających się PRRSV w warunkach terenowych. Uzyskane rezultaty wykazały wysoki stopień zgodności między wynikami otrzymanymi testem IPMA we wszystkich państwach uczestniczących w badaniu jako testem stadnym. Test ELISA (typu blokującego) okazał się prawie tak samo czuły jak IPMA.

Klasyczny pomór świń

Do badań serologicznych identyfikujących przeciwciała swoiste dla wirusa klasycznego pomoru świń w ramach monitoringu i uzyskania podstawy do stwierdzenia, że kraj wolny jest od tej choroby

zalecany jest test ELISA (13). W rzadkich przypadkach mogą być uzyskane odczyn krzyżowe w wyniku zakażenia świń bydłowym wirusem wirusowej biegunki (BVDV), niechorobotwórczym dla świń.

Afrykański pomór świń

Świnie, które przeżyją zakażenie wirusem afrykańskiego pomoru świń (African swine fever – ASFV), zazwyczaj wytwarzają swoiste dla niego przeciwciała, które utrzymują się przez długi czas (14). W związku z tym tam, gdzie ASF występuje endemicznie lub gdzie zachorowania wywołane są przez szczepy wirusa o niskiej zjadliwości, badanie diagnostyczne powinno uwzględniać wykrywanie przeciwciał w surowicy lub w soku mięśniowym. Rekomendowanym testem jest test ELISA.

Ze względu na znaczenie choroby i fakt, że ELISA jest przede wszystkim „testem stadnym”, a w przypadku badanych serologicznie dzików należy je rozpatrywać indywidualnie, każdy serologiczny wynik dodatni i wątpliwy w teście ELISA powinien być potwierdzony testem immunoperoksydazowym (IPT) i tak zwanym odczynem immunoblottingu (IB). Zarówno IPT, jak i IB są testami potwierdzającymi wyniki uzyskiwane testem ELISA. Duże znaczenie w badaniach serologicznych ASF testem ELISA ma jakość surowic pochodzących od dzików przesyłanych do badań. W przypadku silnej hemolizy krwi możliwe jest uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich.

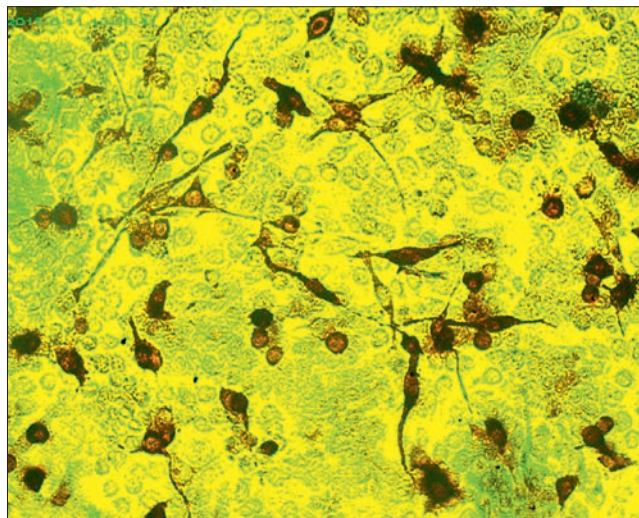
W teście immunoperoksydazowym wykorzystuje się komórki linii ciągłej. W przypadku badań prowadzonych w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach – hodowlę komórek Vero, zakażonych zaadoptowanym do hodowli szczepem ASFV, a następnie

utrwalonych. Gdy badana surowica zawiera swoiste przeciwciała dla ASFV dochodzi do tworzenia kompleksów antygen-przeciwciała. Po dodaniu koniugatu i substratu powstały kompleks jest widoczny w postaci intensywnie brązowego zabarwienia cytoplazmy zakażonych komórek (ryc. 3). Jeżeli w badanej surowicy brak jest swoistych przeciwciał, cytoplazma nie jest wybarwiona (ryc. 4). Wynik testu odczytywany jest w mikroskopie świetlnym, natomiast interpretacja wyników podobnie jak w przypadku innych odczytów podlegających ocenie wzrokowej, co wymaga dużego doświadczenia.

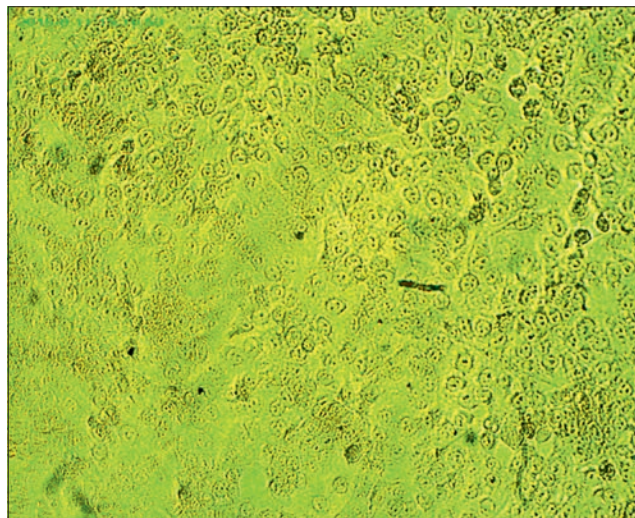
Odczyn immunoblottingu (IB) pozwala na wykrycie przeciwciał skierowanych przeciwko pojedynczym antygenom ASFV, które zostały wcześniej rozdzielone elektroforetycznie w żelu poliakrylamidowym, a następnie przeniesione na błonę nitrocelulozową. Jeżeli badana surowica zawiera swoiste przeciwciała, dochodzi do ich połączenia z antygenem. Powstałe kompleksy antygen–przeciwciała łączą się następnie z koniugatem i po dodaniu substratu obserwuje się reakcję barwną w postaci wzoru prążków występujących w kilku miejscach błony (ryc. 5). Uzyskany wzór prążków porównywany jest do kontroli dodatniej, zawierającej przeciwciała swoiste dla ASFV. Jeżeli w badanej próbce brak jest swoistych przeciwciał, prążki na pasku nie są widoczne (ryc. 6). Wynik testu odczytywany jest wizualnie. Pomimo zalet odczynu IB, jako testu potwierdzającego obecność przeciwciał swoistych dla ASFV, interpretacja wyników może być trudna, biorąc pod uwagę możliwość wystąpienia reakcji nieswoistych.

Podsumowanie

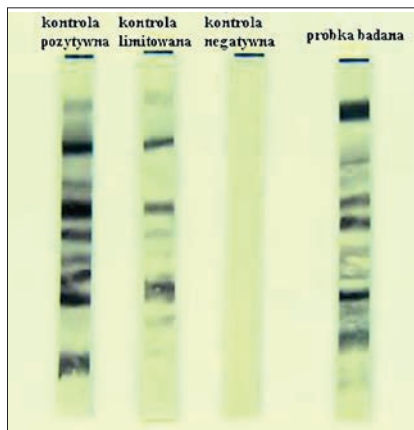
W podsumowaniu przedstawionych danych wolno stwierdzić, że diagnostyka



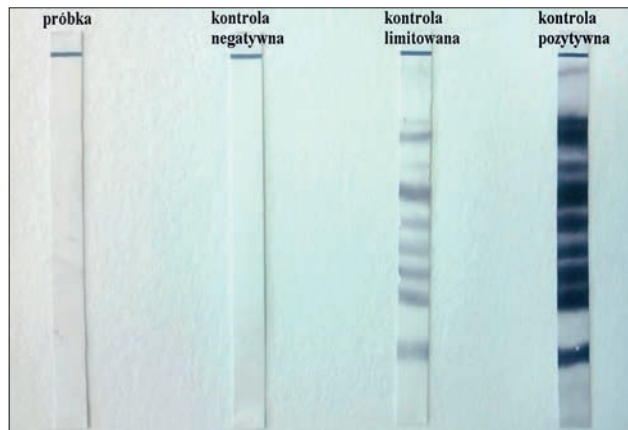
Ryc. 3. Wynik dodatni testu immunoperoksydazowego (IPT) w badaniu w kierunku wirusa afrykańskiego pomoru świń (ASF)



Ryc. 4. Wynik ujemny testu immunoperoksydazowego (IPT) w badaniu w kierunku wirusa afrykańskiego pomoru świń (ASF)



Ryc. 5. Wynik dodatni immunoblottingu (IB) w badaniu w kierunku afrykańskiego pomoru świń (ASF)



Ryc. 6. Wynik ujemny immunoblottingu (IB) w badaniu w kierunku afrykańskiego pomoru świń (ASF)

serologiczna zakaźnych chorób świń, identyfikująca przeciwciała, znajduje szerokie zastosowanie w ich rozpoznawaniu i monitorowaniu. Spośród dostępnych metod, w tym identyfikujących bezpośrednio chorobotwórcze bakterie lub wirusy, serodiagnostyka jest najczęściej wykorzystywaną techniką badawczą.

Jak zaznaczono na wstępie, w diagnozie choroby zakaźnej i ocenie sytuacji epidemiologicznej konieczne jest uwzględnienie kompleksowego analizowania wyników szeregu typów badań, w tym z zakresu: kliniki, patologii, epidemiologii, mikrobiologii oraz biologii molekularnej.

Należy podkreślić, że rozpoznanie laboratoryjne, w tym serologiczne, powinno być traktowane jako bardzo ważny element dochodzenia epidemiologicznego, ale nie jako badanie ostatecznie rozstrzygające.

Piśmiennictwo

- OIE: *Terrestrial Animal Health Code*. World Organisation for Animal Health. Paris, France, 2014, 23rd ed. vol. 1, 2.
- Szulowski K., Pilaszek J., Iwaniak W.: Brucelozja świń. *Med. Weter.* 2003, **59**, 283–286.
- Weiner M., Iwaniak W., Szulowski K., Szymajda M.: Verification of sera from cattle and pigs for brucellosis with fluorescence polarization assay. *Bull. Vet. Inst. Puławy* 2013, **57**, 157–160.
- O'Connor M., Fallon M., O'Reilly P.J.: Detection of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: reduction of cut-off value of an ELISA, with confirmation by immunoperoxidase monolayer assay. *Irish Vet J.* 2002, **55**, 73–75.
- Erlanson K.R., Evans R.B., Thacker B.J., Wegner M.W., Thacker E.L.: Evaluation of three serum antibody enzyme-linked immunosorbent assays for *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J. Swine Health Prod.* 2005, **13**, 198–203.
- Truszczyński M., Pejsak Z.: *ELISA w serologicznym rozpoznawaniu rozrodzo-oddechowego zespołu chorobowego świń*. Monografia, Puławy 2004, 1–36.
- Markowska-Daniel I., Kwit K., Urbaniak K., Kowalczyk A.: Serological evidence of co-circulation of different subtypes of swine influenza virus in Polish pig herds. *Bull. Vet. Inst. Puławy*, 2012, **56**, 425–429.
- Knittel J.P., Jordan D.M., Schwartz K.J., Janke B.H., Roof M.B., McOrist S., Harris D.L.: Evaluation of antemortem polymerase chain reaction and serologic methods for detection of *Lawsonia intracellularis*-exposed pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1998, **59**, 722–726.
- OIE: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. W: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2012, Seventh Edition, Vol. 2, Chapter 2.8.7., 1114–1126.
- Stadejek T., Oleksiewicz M.B., Pejsak Z.: Opracowanie testów ELISA do wykrywania zakażeń wirusem zespołu rozrodzo-oddechowego świń. *Med. Weter.* 2007, **63**, 1336–1341.
- Sørensen K.J., Strandbygaard B., Bøtner A., Madsen E.S., Nielsen J., Have P.: Blocking ELISA's for the distinction between antibodies against European and American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 1998, **60**, 169–177.
- Drew T.W.: Comparative serology of porcine reproductive and respiratory syndrome in eighty European laboratories, using immunoperoxidase monolayer assay and enzyme-linked immunosorbent assay. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1995, **14**, 761–775.
- OIE: Classical Swine Fever (hog cholera). W: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2012, Seventh Edition, Vol. 2, Chapter 2.8.3., 1089–1104.
- OIE: African Swine Fever. W: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2012, Seventh Edition, Vol. 2, Chapter 2.8.1., 1067–1079.

Prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: zpejsak@piwet.pulawy.pl.