

Postęp w badaniach oraz w zwalczaniu pleuropneumonii świń

Marian Truszczyński, Zygmunt Pejsak

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

Pleuropneumonia wywołana przez *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) pozostaje jedną z najważniejszych chorób świń. Choroba ta występuje na całym świecie. Stanowi obecnie, również w Europie, przyczynę poważnych strat w produkcji świń (1, 2, 3). Znaczenie jej wynika z wystąpienia zapalenia płuc i opłucnej, kończącego się śmiercią u dość dużego odsetka prosiąt i warchlaków, łączy się też z postacią choroby o przebiegu przewlekłym, której często towarzyszy wyniszczenie organizmu, zmuszające do brakowania zwierząt z tuczu. Subkliniczny przebieg zakażenia *Actinobacillus pleuropneumoniae* może być przyczyną wolniejszych przyrostów masy ciała oraz stanowi zagrożenie przechodzenia w postaci o przebiegu klinicznym,

kiedy uwidaczniają się wyżej podane objawy chorobowe (2, 3). Oprócz strat bezpośrednich dochodzą wydatki hodowców związane z interwencjami weterynaryjnymi i zakupem leków oraz szczepionek. Problemem równoległym jest nie zawsze efektywna antybiotykoterapia ze względu na zbyt zaawansowane w wielu przypadkach objawy i zmiany chorobowe. Dodatkowo, niedostrzegany przebieg subkliniczny zakażenia, po którym ujawniają się w czasie uboju w rzeźni zmiany chorobowe, skłania w niektórych krajach *ex post* do monitoringu serologicznego i dążenia do uzyskania stad loch oraz przeznaczonych do tuczu prosiąt jako wolnych od zakażeń *A. pleuropneumoniae* w czasie całego cyklu produkcyjnego. To jednak również jest

związane z nakładem znacznych kosztów. Reasumując, straty wywołane przez pleuropneumonię oraz wydatki związane ze zwalczaniem tej choroby są wysokie, a utrzymanie stad wolnych od *A. pleuropneumoniae* jest trudne.

Wyrazem postępu w badaniach nad doskonaleniem zwalczania pleuropneumonii świń wywołanej przez *A. pleuropneumoniae* jest ostatnie wystąpienie Marcelo Gottschalka (3) na 22. Kongresie Międzynarodowego Towarzystwa Specjalistów Chorób Świń (22nd International Pig Veterinary Society Congress – IPVS), który odbył się 10–13 czerwca 2012 r. w Jeju, w Republice Korei.

Właściwości zarazka

Actinobacillus pleuropneumoniae stanowi Gram-ujemną pałeczkę lub kokopałeczkę. Nie rośnie (poza pewnymi wyjątkami, o czym niżej) na agarze z krwią, chyba że jest wzbogacony przez NAD (nicotinamide adenine dinucleotide), zwanym też czynnikiem V, wykazując satelitarne kolonie wokół kolonii gronkowca złocistego dostarczającego NAD (*ryc. 1*). Tak zachowują się szczepy zarazka biotypu I. Szczepy

Progress in research and control of porcine pleuropneumonia

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

The aim of this article was to present new important issues in the studying and controlling porcine pleuropneumonia. Characteristics of the disease was presented, being also emphasized that porcine pleuropneumonia is still causing serious losses in herds of many countries. They result from fatal pleuropneumonia in a considerable number of pigs. The losses are also connected with a chronic form of the disease in which, depending on the situation of a given herd, pigs must be eliminated from the production chain before being ready for slaughter. Also the subclinical form of porcine pleuropneumonia is quite common and it may change into clinical appearance. This subclinical infection, not showing visible symptoms, may in some cases slow reaching the slaughter ability of the finishers. The properties of the etiological agent, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, were characterized. Presently, 15 serotypes are recognized. Serotypes 1 to 12 and 15 belong to biotype I while serotypes 13 and 14 are classified as biotype II. The geographic distribution of serotypes associated with the disease in different continents is given. Strains belonging to the same serotype, evaluated as being pathogenic, may differ in virulence. Depending on serotype and strain the following toxins are produced: Apx I, Apx II and Apx III. It is stated that serology (ELISA), is the best way to identify subclinically infected herds. Finally, it was mentioned that there are still controversies, regarding ability of some *A. pleuropneumoniae* serotypes or strains to produce disease in certain farms but not in the others. This topic and other unclear questions need to be elucidated in near future.

Keywords: porcine pleuropneumonia, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, virulence factors, control.

biotypu II rosną na agarze z krwią, bez obecności NAD.

Obecnie istnieje 15 uznanych serotypów (zależnie od struktury otoczkowego polisacharydu *A. pleuropneumoniae*). Spośród nich serotypy 1 do 12 i 15 zostały zaliczone do biotypu I, a serotypy 13 i 14 do biotypu II, określonego jako nietypowy. Niektóre szczepy serotypów 2, 4, 7 lub 9 mogą też być włączone do biotypu II; opisano je głównie w Europie (3). Stwierdzono też inne wyjątki, które w tym miejscu nie zostaną przedstawione, a są podane w cytowanej publikacji (3).

Podsumowując dane dotyczące serotypów i ich chorobotwórczości, można zauważyć, że dane podawane przez różnych autorów nie zawsze są zgodne. Nie ma też zgodności co do tego czy można łączyć

Tabela 1. Serotypy *Actinobacillus pleuropneumoniae* najczęściej wywołujące chorobę w różnych regionach świata (3)

Region	Serotypy
Ameryka Północna	5, 7, (1) ^a
Ameryka Łacińska ^b i region karaibski ^b	1, 5, 7, 3-6-8 ^c , 12
Europa	2, 9, 11, 3-6-8 ^d , 8 ^d , 5, (4) ^e
Azja	2, 9, 1
Australia	15, 1

^a Uprzednio najczęściej występujący serotyp, obecnie prawie wcale nieizolowany od chorych zwierząt

^b Dane dostępne z nielicznych krajów tego regionu

^c Reakcje krzyżowe, trudności w różnicowaniu

^d Potwierdzony za pomocą PCR w Wielkiej Brytanii

^e Jedynie w Hiszpanii, rzadki w innych krajach

jedne serotypy z postacią kliniczną choroby, a inne zachorowaniami subklinicznymi. Dane te różnią się zależnie od autorów oraz czasu i miejsca wykonanych badań.

Dodać należy, że nie wszystkie szczepy tego samego serotypu charakteryzują się taką samą zjadliwością. Różnice mogą m.in. być związane z geograficznym miejscem pochodzenia. Zwierzęta eksperymentalnie zakażone szczepami francuskimi *A. pleuropneumoniae* serotypu 2 wykazały objawy kliniczne kilka godzin po zakażeniu i dodatkowo występowała wysoka śmiertelność zakażonych prosiąt. Natomiast zwierzęta zakażone szczepami kanadyjskimi tego samego serotypu nie wykazywały żadnych objawów klinicznych, nawet zwyżki temperatury ciała. Istnieje zatem wyraźna różnica między tymi dwiema grupami szczepów serotypu 2: europejskie szczepy wytwarzają toksyny Apx II i Apx III, podczas gdy szczepy kanadyjskie i z USA wytwarzają jedynie Apx II. Jednak nie wydaje się, by ta różnica mogła w pełni wyjaśnić brak zjadliwości szczepów kanadyjskich. Warto dodać, że zwierzęta zakażone szczepem kanadyjskim były chronione przed zakażeniem zjadliwym szczepem francuskim (3). Podobnie szczepy serotypu 4, opisane jako wysoce zjadliwe w Hiszpanii, nie wykazywały tej cechy w żadnym innym kraju. W kolejnym przykładzie szczepy serotypu 15 wywoływały u świń objawy kliniczne w Australii, ale rzadziej w innych krajach, jak Kanada, USA, Meksyk, Japonia i Brazylia.

Mimo omówionych wyżej danych, wymieniono w tabeli 1 serotypy *A. pleuropneumoniae*, najczęściej wywołujące pleuropneumonię świń w różnych regionach świata (3).

Zjadliwość szczepów *A. pleuropneumoniae* jest skorelowana z wytwarzaniem przez nie wspomnianych toksyn Apx I, Apx II i Apx III, mimo że istnieją też inne czynniki chorobotwórczości o podobnym działaniu. Tak jest w odniesieniu do serotypów 1, 9, 11 lub 5. Jednak zależność ta nie jest regułą. Dlatego Gottschalk (3) przypuszcza, że bliżej nieokreślone, genetycznie

uwarunkowane, dodatkowe czynniki, są też istotne w wykazywaniu przez dany szczep zjadliwości po zakażeniu nim świń, a ich brak skutkuje brakiem chorobotwórczości.

Na wyjaśnienie oczekuje zatem, w skrajnym ujęciu, też fakt wywoływania zachorowań przez ten sam szczep *A. pleuropneumoniae* u świń jednego stadu, a brak zjadliwości tego szczepu u świń w innym stadzie. Zagadnienie to wymaga dalszych badań. Należałoby uwzględnić w nich nie tylko czynnik etiologiczny, ale też ewentualne różnice w odporności wrodzonej i swoistej świń stad zakażonych tym samym szczepem *A. pleuropneumoniae*. Różnice w przeciwwykazanej odporności odgrywają bowiem istotną rolę w patogenezie schorzeń wywoływanych przez warunkowo chorobotwórcze drobnoustroje, do których zalicza się *A. pleuropneumoniae*. W grę mogą też wchodzić np. koinfekcje wywołane przez *Mycoplasma hyopneumoniae* w jednym stadzie, które w drugim nie występują (4). Zatem w 2012 r., czyli na dziś, zdaniem Gottschalka (3) *A. pleuropneumoniae* ciągle pozostaje, w pewnych aspektach zagadką. Praktyczne znaczenie ma jednak stwierdzenie, że potencjalnie chorobotwórczy szczep może nie wywołać choroby w fermach o skutecznym nadzorze weterynaryjnym oraz dobrze zarządzanych, dodatkowo bez równoczesnych innych ważnych zakażeń, natomiast może wywołać chorobę przy mniej korzystnych warunkach środowiskowych i błędach w zarządzaniu oraz obniżanej różnymi czynnikami odporności.

Może być również tak, że szczepy *A. pleuropneumoniae* o niskiej zjadliwości, ale wytwarzające wspomniane toksyny uodporniają w czasie bezobjawowego nosicielstwa świnię, które następnie nie wykazują objawów klinicznych, mimo dodatkowego zakażenia szczepami serotypów uznanych za wysoce lub średnio zjadliwe (3).

Wychodząc z założenia, że świnię są głównym źródłem zjadliwych szczepów

A. pleuropneumoniae, wprowadzanie do stada loch lub stada przeznaczonych na tuczących zwierząt z innych stad powinno być uwarunkowane wykluczeniem na podstawie badań laboratoryjnych nosicieli chorobotwórczych szczepów. Jedynie w ten sposób można uzyskać i utrzymać stada wolne od *A. pleuropneumoniae*, które ekonomicznie są najbardziej pożądane i opłacalne dla hodowcy (5).

Patogeneza i obraz choroby

Actinobacillus pleuropneumoniae kolonizuje migdałki i górny odcinek układu oddechowego świń, gdzie często występuje jako niewywołujący objawów chorobowych drobnoustrojów warunkowo chorobotwórczy. Bakterie te nie zostały wykazane u innych gatunków zwierząt oraz u człowieka. Transmisja od świni do świni ma miejsce drogą bezpośrednią lub z zanieczyszczonego środowiska albo za pośrednictwem wysztuszanych aerozoli z tym drobnoustrojem.

Pojawienie się ogniska choroby bywa często skorelowane z nadmiernym zagęszczeniem świń w pomieszczeniu, niedostateczną wentylacją i niską odpornością przeciwwakacyjną świń. Najczęściej chorują zwierzęta w okresie 4–6 miesięcy. Zachorowalność i śmiertelność wahają się od 30 do 50%.

Głównymi objawami pleuropneumonii świń o ostrym przebiegu są (3): utrata apetytu, depresja, podwyższona temperatura ciała, kaszel, duszność i przyspieszony oddech oraz niekiedy wymioty. Choroba może rozwinąć się w krótkim czasie, a śmierć nastąpić w ciągu kilku godzin. Sekcyjnie stwierdza się krwotoczno-martwicze zapalenie płuc, zrosty opłucnej płucnej i opłucnej trzewnej oraz wysięk w jamie opłucnej (ryc. 2, 3 i 4).

Pleuropneumonia o przebiegu przewlekłym cechuje się mniej wyraźnie zaznaczonymi objawami klinicznymi, które utrzymują się przez kilka do kilkunastu tygodni. Straty występują w następstwie obserwowanych w czasie sekcji lub uboju zmian patologicznych, wymienionych wyżej oraz ropni płuc przy również przedłużonym, w porównaniu do zwierząt zdrowych, okresie osiągnięcia wagi ubojowej. Przewlekła postać pleuropneumonii bywa często wikłana innymi warunkowo chorobotwórczymi bakteriami lub wirusami, przekształcając się w zespół chorobowy o etiologii wieloczynnikowej. Istotną rolę w rozwoju postaci przewlekłej pleuropneumonii świń odgrywają błędy związane z niewłaściwym zarządzaniem fermą tuczników, jak też utrzymywanie się nosicielstwa *A. pleuropneumoniae* u loch, od których pochodzą przeznaczone do tuczki prosięta (3). Z tego

względnie możliwie wczesna identyfikacja stad loch zakażonych przez *A. pleuropneumoniae* jest ważna w aspekcie zwalczania choroby ze względu na to, że zwierzęta nosiciele są najważniejszym źródłem transmisji zarazki do przeznaczonych na tuczki prosiąt.

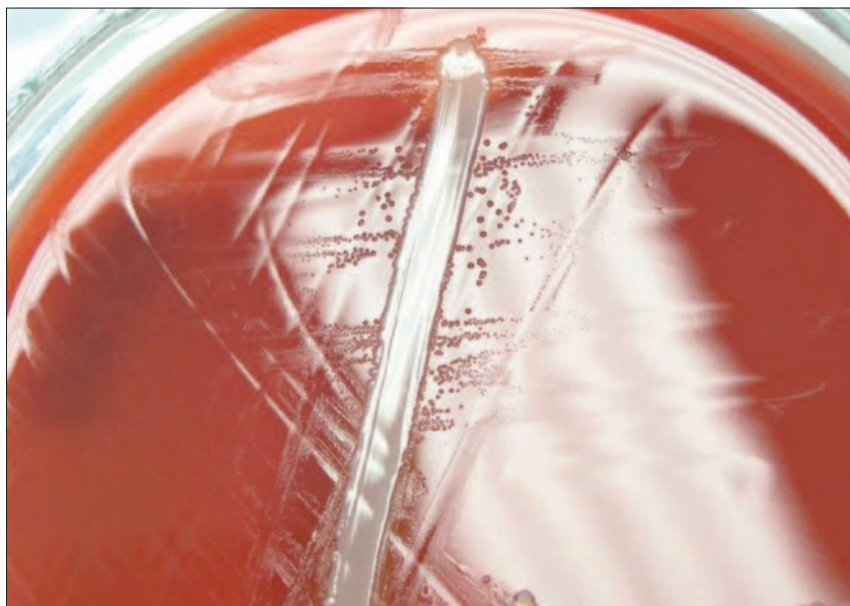
Postać kliniczna choroby jest w znacznym stopniu zwalczona w USA i Kanadzie, ale ciągle pozostaje problemem w licznych krajach Ameryki Południowej, na Karaibach, w Azji oraz w państwach europejskich (3).

W przypadku klinicznej postaci pleuropneumonii zastosowanie znajduje antybiotykoterapia i zapobiegawczo stosowane szczepienia ochronne. Dodatkowo wczesne odsadzanie prosiąt od loch przyczynia się w wielu sytuacjach do zwalczania choroby o przebiegu klinicznym. W przypadku

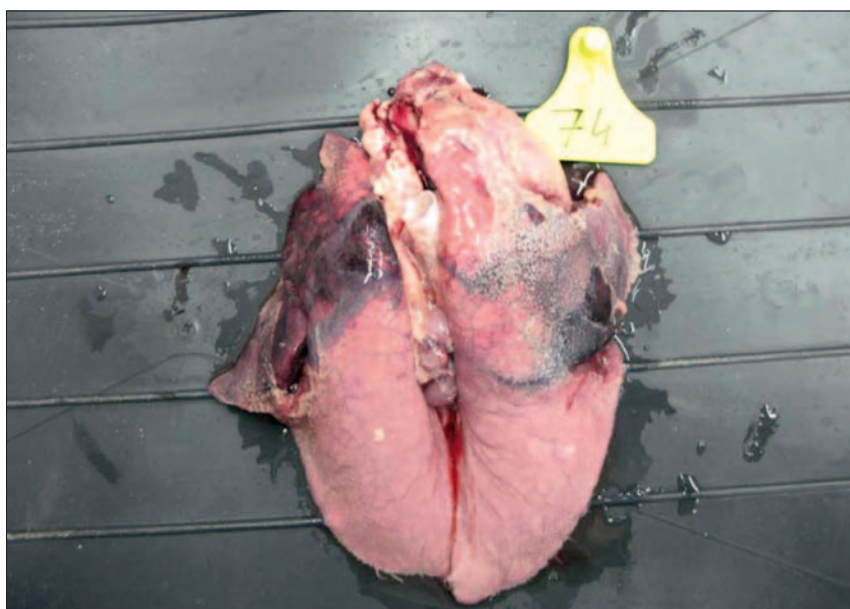
zakażenia subklinicznego istotne staje się monitorowanie tych zakażeń, zwłaszcza w stadach loch produkujących prosięta nabywane do tuczki. Celem jest dysponowanie lochami wolnymi od *A. pleuropneumoniae* oraz pochodzącymi od nich przeznaczonymi na tuczki prosiętami.

Znaczenie monitoringu serologicznego

Badania serologiczne stanowią najbardziej oszczędne podejście do określenia stopnia zakażenia stad świń przez *A. pleuropneumoniae*. Lochy w zakażonych stadach przekazują oseskom wraz z siałą przeciwciała przeciwko *A. pleuropneumoniae*. Przeciwciała matczyne utrzymują się do maksymalnie 6 tygodni życia. Występujące następnie u prosiąt przeciwciała anti-App, wytworzone czynnie w wyniku zakażenia,



Ryc. 1. Satelitarny wzrost *Actinobacillus pleuropneumoniae* w pobliżu posiewu *Staphylococcus epidermidis*



Ryc. 2. Włóknikowo-martwicze zapalenie płuc; zakażenie doświadczalne *A. pleuropneumoniae*

stwierdzane są, począwszy od 10–12 tygodnia życia u przeznaczonych do tuczu zwierząt.

Większość testów serologicznych do badań w kierunku *A. pleuropneumoniae*, zwłaszcza najczęściej stosowany obecnie test ELISA, zostało zwalidowanych w odniesieniu do warchlaków, a nie tuczników, krótko przed ich ubojem oraz pierwiastek i z tego powodu lub innych przyczyn pojawiają się niejasności w interpretacji uzyskanych wyników. Toteż lekarze nadzorujący fermy produkujące do tuczu prosięta oraz tuczarnie powinny być w związku z tym w ścisłym kontakcie z pracownikami laboratoriów diagnostycznych lub instytutów badawczych, przed podjęciem określonych decyzji co do zwalczania.

Dostępne są 3 typy testów serologicznych:

- 1) specyficzne dla serotypu *A. pleuropneumoniae*,

- 2) takie, które wykrywają wszystkie serotypy *A. pleuropneumoniae*,

- 3) takie, które różnicują mieszaninę serotypów.

Zestawy ELISA typu 1 dysponują wysoce oczyszczonymi lipopolisacharydami (LPS) jako antygenami diagnostycznymi, które mogą identyfikować serotypy, takie jak 2, 5, 10, 12 i 14 lub zespołami, czyli serogrupami, jak: 1, 9, 11; 3, 6, 8, 15 lub 4, 7. Dobierane w ELISA serotypy wchodzące w grę muszą, w celu redukcji wydatków, uwzględniać specyfikę kontynentu lub kraju (tab. 1).

Inny diagnostyczny test serologiczny (który nie znajduje się w handlu) to odczyn wiązania dopełniacza (OWD), obecnie używany przez nieliczne laboratoria. Test ten zazwyczaj cechuje się wysoką swoistością, ale bardzo niską czułością. Mimo to jest on wymagany przez niektóre kraje (Rosja, Chiny) jako test referencyjny w przypadku importu zwierząt, co może dawać

fałszywie ujemne wyniki, z konsekwencją zakupu świń zakażonych przez *A. pleuropneumoniae*. Dodatkowo są trudności w standaryzacji OWD (3).

W handlu dostępny jest test typu 2, wykrywający przeciwciała gatunkowo swoiste, czyli przeciwko wszystkim serotypom *A. pleuropneumoniae*, bez ich różnicowania. Test ten oparty jest na Apx IV jako antygenie, czyli toksynie gatunkowo swoistej *A. pleuropneumoniae*, która jest wytwarzana jedynie *in vivo*. Test ten nadaje się do monitoringu wysokiego statusu zdrowia stad, co do których przypuszcza się, że są wolne od zakażenia. Wyniki pozytywne odnoszą się do stad często zakażonych szczepami o niskiej zjadliwości, niewywołującymi objawów chorobowych. Te wyniki należy potwierdzać serotypowo lub serogrupowo swoistymi testami ELISA (3).

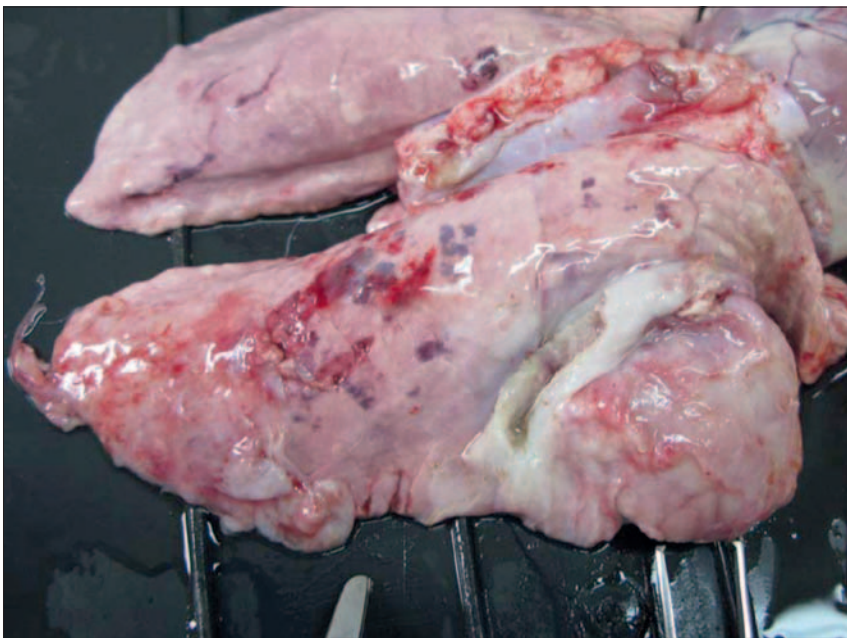
Testy typu 3 zawierają, wśród też innych antygenów, antygeny toksyn Apx I lub Apx II. Mimo że serotypy produkujące jedną lub drugą z tych toksyn, mogą być tymi testami wykrywane, to należy się spodziewać fałszywie pozytywnych reakcji, ponieważ inne gatunki bakterii niż *A. pleuropneumoniae* (jak np. *Actinobacillus suis* występujący w większości stad świń) są zdolne do wytwarzania takich toksyn (6).

Zazwyczaj nie stwierdza się wysokich poziomów serokonwersji przy niskiej liczbie dodatnio reagujących świń w podklinicznie zakażonych stadach przeciw wysoce zjadliwym serotypom, jak serotypy 1, 9, 11 lub 5. W stadach, w których występuje postać przewlekła pleuropneumonii serokonwersja u tuczników w fazie końcowej tuczu jest niekiedy nie tak wysoka, jak można by się spodziewać.

Izolacja i identyfikacja czynnika chorobowego

Konieczne, zdaniem Gottschalka (3), jest badanie bakteriologiczne i określenie obecności *A. pleuropneumoniae* jedynie u świń w stadach hodowlanych, kiedy uprzednim badaniem serologicznym wykryto osobniki seropozytywne. Możliwe są 3 różne procedury: izolacja *A. pleuropneumoniae* na podłożu z krwią w obecności NAD i bez NAD oraz bliższe określenie właściwości izolowanego szczepu; identyfikacja przy użyciu znanych surowic diagnostycznych antygenów *A. pleuropneumoniae*, zwłaszcza serotypów uznanych za chorobotwórcze; identyfikacja właściwego dla *A. pleuropneumoniae* DNA.

Do badań laboratoryjnych nadają się wycinki chorobowo zmienionych płuc; tkanka niezmienniona z reguły nie zawiera *A. pleuropneumoniae*. Migdałki większość badaczy uznaje za najbardziej właściwy materiał do izolacji szczepów tego zarazka. Czułość izolacji na podłożu jest



Ryc. 3. W pleuropneumonii świń rozwija się włóknikowe zapalenie opłucnej, prowadzące do powstawania zrostów (na zdjęciu na powierzchni opłucnej płucnej płatów przeponowego i sercowego)



Ryc. 4. Cięcie poprzeczne płata płucnego – charakterystyczne dla pleuropneumonii ostre odgraniczenie zmian krwotoczno-martwiczych

wyższa przy dysponowaniu w pracowni bakteriologicznej całym migdałkiem, a nie jego wycinkiem (7). Wobec zanieczyszczenia migdałków również inną niż *A. pleuropneumoniae* florą bakteryjną i w konsekwencji wzrostem różnych kolonii na agarze z krwią, nawet w sferze oddziaływania NAD, kolonie morfologicznie podobne do kolonii *A. pleuropneumoniae* należy dodatkowo identyfikować za pomocą PCR, porównując znany i badany DNA. Badania właściwości biochemicznych i antygenowych izolowanych szczepów nie mają dużej wartości diagnostycznej, gdyż istnieją odczyny krzyżowe z innymi gatunkami niż *A. pleuropneumoniae*, też występującymi w migdałkach.

Przechorowanie po zakażeniu jednym serotypem *A. pleuropneumoniae* może chronić świnię przed zakażeniem innym serotypem, ale nie zawsze ma to miejsce i zależy od różnych stopni pokrewieństwa antygenowego.

Podsumowanie

Wywołana przez *A. pleuropneumoniae* pleuropneumonia świń, jak wynika

z przedstawionych danych pozostaje ważnym problemem w stadach świń w licznych krajach, ale stopień zagrożenia jest zróżnicowany. W niektórych krajach straty są znaczące. W innych przypadkach, jak np. w USA, mamy do czynienia przede wszystkim z przebiegiem podklinicznym oraz pytaniem, co do różnej wielkości strat po różnym ilościowo przechodzeniu postaci bezobjawowej w postać kliniczną. Problem zwalczania postaci podklinicznej należy uznać jako istotny w sensie dążenia do eradykacji bezobjawowego zakażenia świń, co powinno być celem ostatecznym, gdyż jest ekonomicznie uzasadnione.

Jak wynika z opinii Gottschalka (3), wybitnego i wieloletniego badacza pleuropneumonii świń, po 50 latach badania tej choroby i właściwości *A. pleuropneumoniae* ciągle pozostają niewyjaśnione niektóre zagadnienia, np. dlaczego niektóre ściśle określone szczepy lub serotypy zarazka w jednych fermach wywołują chorobę, a w innych nie. Są też inne niezrozumiałe zjawiska, które uzasadniają kontynuowanie badań nad zwalczaniem wywołanej przez *A. pleuropneumoniae* pleuropneumonii świń w naszym kraju.

Piśmiennictwo

- Gottschalk M., Broes A., Fittipaldi N.: Recent developments on *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Proc. Am. Assoc. Swine Vet.* 2003, s. 387-393.
- Gottschalk M., Taylor D.J.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*. W: Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S., Taylor D.J.: *Diseases of Swine*. 9th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2006, s. 563-576.
- Gottschalk M.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: an old but still relevant swine pathogen in the XXI century. *22nd International Pig Veterinary Society Congress*, Korea 2012, LS-002, 26-31.
- Marois C., Gottschalk M., Morvan H., Fablet C., Madec F., Kobisch M.: Experimental infection of SPF pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 alone or in association with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2009, **135**, 283-291.
- Desrosiers R.: Epidemiology, diagnosis and control of swine diseases. Howard Dunne Memorial Lecture. *Proc. Am. Assoc. Swine Vet.* 2004, 9-37.
- MacInnes J.L., Gottschalk M., Lone A.G., Metcalf D.S., Ojha S., Rosendal T., Watson S.B., Friendship R.M.: Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* in representative Ontario swine herds. *Can. J. Vet. Res.* 2008, **72**, 242-248.
- 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.

Prof. dr hab. Marian Truszczyński, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl