WYMAGANIA DOTYCZĄCE PRÓBEK DO BADAŃ W PRACOWNI PATOLOGII I PDW

Próbki powinny być opakowane w sposób uniemożliwiający ich wymieszanie i zanieczyszczenie oraz oznakowane w sposób uniemożliwiający ich pomylenie.

1. *SALMONELLA*

1.1. Ogólne wymagania dotyczące próbek według Krajowych programów zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* – obszar regulowany prawnie (przepisy podane w zleceniu 46a WZN)

Próbki można transportować w temperaturze otoczenia, o ile unika się wystawienia ich na działanie temperatury powyżej 25°C i promieni słonecznych (wskazanie do oceny temperatury dostarczenia próbek). W laboratorium próbki powinny być przechowywane w stanie schłodzonym aż do badania, które powinno być przeprowadzone do 48 godzin po ich przyjęciu i w ciągu 96 godzin po ich pobraniu.

1.2. Najczęściej pobierane próbki

- stado kur hodowlanych: co najmniej dwie próbki odchodów (dla chowu klatkowego 2 x 150 g) lub co najmniej dwie próbki wymazów podeszwowych z kurnika (2 x 5 szt.)
- stado kur niosek: próbka zbiorcza z kurnika; w badaniach urzędowych dwie próbki tego samego materiału badane są razem, a jedna osobno (pobrać 3x2 szt. okładzin na buty lub 3x150g kału); w badaniach właścicielskich dwie próbki badane są razem (pobrać 2x2 szt. okładzin na buty lub 2x150 g kału)
- stado brojlerów kurzych: 2x2 szt. okładzin na buty (można połączyć w jedną próbkę) lub 2 szt. okładzin na buty i 1 próbka 100 g kurzu (badane oddzielnie)
- stada indyków rzeźnych: 2x2 szt. okładzin na buty (można połączyć w jedną próbkę) lub 2 szt. okładzin na buty i 1 próbka 100 g kurzu (badane oddzielnie)

1.3. We wszystkich krajowych programach zwalczania *Salmonella* konieczne są następujące informacje zamieszczone w dokumentach próbek

- ✓ dane fermy i jej właściciela oraz powiat, w którym się znajduje,
- ✓ numer lub oznaczenie stada, wiek, liczebność, gatunek, rasa, typ produkcji,
- ✓ weterynaryjny numer identyfikacyjny gospodarstwa,
- ✓ dane osoby pobierającej próbki,
- ✓ data i godzina pobrania próbek,
- ✓ rodzaj zastosowanej szczepionki przeciw *Salmonella* oraz terminy jej podania (poza brojlerami kurzymi),
- ✓ stosowane środki przeciwdrobnoustrojowe oraz terminy ich podania, gdy to może wpłynąć na wynik badań laboratoryjnych.

1.4. Wymagania dotyczące próbek według krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w <u>stadach hodowlanych</u> gatunku kura (*Gallus gallus*) - stada reprodukcyjne

1.4.1. Reprezentatywność próbek

<u>W przypadku chowu ściółkowego lub wolnowybiegowego:</u>

- 5 par okładzin na buty lub jedna para okładzin/skarpet na buty i dodatkowa próbka kurzu (np. na skarpecie); lub jedna para okładzin i dwa zwilżone tampony do ręcznego zebrania materiału, łączone w minimum dwie próbki zbiorcze;
- próbki kału o wadze niemniejszej niż 1 g każda, łączone w dwie próbki zbiorcze, zebrane z określonej liczby miejsc w kurniku zgodnie z tabelą:

Liczba ptaków trzymanych w stadzie hodowlanym	Liczba próbek odchodów, które należy pobrać ze stada hodowlanego
250-349	200
350-449	220
450-799	250
800-999	260
1000 lub więcej	300

- gdy nie gromadzi się wystarczająca ilość odchodów, pobiera się przynajmniej cztery zwilżone tampony do zbierania materiału z powierzchni co najmniej 900 cm^2.

W przypadku chowu klatkowego:
- dwie próbki kału, każda o masie przynajmniej 150 g w celu przeprowadzenia oddzielnego badania;

1.4.2. Potwierdzające pobieranie próbek

- do pięciu ptaków na kurnik (badane razem)
- wyściółka wraz z mekonium z 10 pojemników transportowych z każdej dostawy (badane razem)

1.4.3. Inne rodzaje próbek wynikające z polskich przepisów implementujących

- próbka wyściółki wraz z mekonium z 10 pojemników transportowych
- próbka wymazów powierzchniowych z dna 10 pojemników transportowych
- padłe pisklęta (w tym również w czasie transportu), nie więcej niż 20 sztuk
- próbki wymazów powierzchniowych w celu stwierdzenia skuteczności wykonanego oczyszczania i odkażania (np. 4 z podłoża, 4 z kątów narożnych, 3 z karmideł, 2 z systemu wentylacyjnego, 2 z magazynu jaj).

1.5. Wymagania dotyczące próbek i sposób posiewu próbek według krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach niosek gatunku kura (*Gallus gallus*)

1.5.1. Reprezentatywność próbek

W przypadku chowu ściółkowego lub wolnowybiegowego:
- dla badań właścicielskich: dwie pary okładzin na buty (badane razem) lub para okładzin na buty i para zwilżonych tamponów do zbierania materiału

- dla badań urzędowych: dwie pary okładzin na buty + co najmniej jedna próbka dodatkowa lub jedna para okładzin na buty + co na jmniej druga para zwilżonych tamponów do ręcznego zbierania materiału + co najmniej jedna próbka dodatkowa

W przypadku chowu klatkowego:
- dla badań właścicielskich: dwie próbki kału po 150 g (badane razem). Gdy nie gromadzi się wystarczająca ilość odchodów, pobiera się przynajmniej cztery zwilżone tampony do zbierania materiału z powierzchni co najmniej 900 cm^2

- dla badań urzędowych: dwie próbki kału, każda o masie przynajmniej 150 g + co najmniej jedna próbka dodatkowa lub przynajmniej cztery zwilżone tampony do zbierania materiału z powierzchni co najmniej 900 cm^2.

Właściwy organ powinien pobrać dodatkowo próbkę zawierającą co najmniej 100g kurzu lub co najmniej jeden zwilżony tampon do ręcznego zebrania materiału. Badanie oddzielne dla każdego rodzaju pobranego materiału z kurnika/stada.
W badaniach urzędowych dwie próbki tego samego materiału badane są razem, a jedna osobno; w badaniach właścicielskich dwie próbki badane są razem.

1.5.2. Inne rodzaje próbek wynikające z polskich przepisów implementujących

- próbka wyściółki wraz z mekonium z 10 pojemników transportowych
- próbka wymazów powierzchniowych z dna 10 pojemników transportowych
- padłe pisklęta (w tym również w czasie transportu), nie więcej niż 20 sztuk
- próbki wymazów powierzchniowych w celu stwierdzenia skuteczności wykonanego oczyszczania i odkażania (np. 4 z podłoża, 4 z kątów narożnych, 3 z karmideł, 2 z systemu wentylacyjnego, 2 z magazynu jaj).

1.6. Wymagania dotyczące próbek i sposób posiewu próbek według krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*)

1.6.1. Reprezentatywność próbek

Dwie pary wymazów podeszwowych łączone w laboratorium w jedną próbkę zbiorczą.
W przypadku badań urzędowych dopuszczalne jest pobranie próbki kurzu o wadze 100 g oraz okładzin na buty, które należy zbadać oddzielnie. Próbka kurzu może być zastąpiona jednym lub kilkoma zwilżonymi tamponami z tkaniny, którymi pobrano kurz. Właściwy organ może podjąć decyzję o zwiększeniu minimalnej liczby próbek, jak też o badaniu próbki kurzu razem z parą okładzin na buty.

1.6.2. Inne rodzaje próbek wynikające z polskich przepisów implementujących

Próbki wymazów powierzchniowych w celu stwierdzenia skuteczności wykonanego oczyszczania i odkażania (np. 4 z podłoża, 4 ze ścian, 3 z karmideł, 2 z systemu wentylacyjnego).
Właściciel może pobrać też próbkę wyściółki z mekonium, wymazów powierzchniowych z dna 10 pojemników, padłe pisklęta (w tym również w czasie transportu), choć nie jest to obecnie wymagane przepisami prawa.

1.7. Wymagania dotyczące próbek i sposób posiewu próbek według krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach indyków rzeźnych

1.7.1. Reprezentatywność próbek:

Dwie pary okładzin na buty/skarpety zgromadzone w jednej próbce lub para okładzin na buty/skarpety i próbka kurzu. Próbkę kurzu bada się oddzielnie. Właściwy organ może jednak zdecydować o przeanalizowaniu tej próbki razem z parą okładzin na buty/skarpety. Właściciel może pobrać też próbkę wyściółki z mekonium, wymazów powierzchniowych z dna 10 pojemników, padłe pisklęta (w tym również w czasie transportu).

1.7.2. Inne rodzaje próbek wynikające z polskich przepisów implementujących:

Próbki wymazów powierzchniowych w celu stwierdzenia skuteczności wykonanego oczyszczania i odkażania (np. 4 z podłoża, 4 z kątów narożnych, 3 z karmideł, 2 z systemu wentylacyjnego).

1.8. *Salmonella* - wysyłka do Finlandii i Szwecji

Obszar regulowany prawnie: Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1688/2005:
Stado musi być poddane badaniu w okresie 2 tygodni przed rozpoczęciem nieśności, a następnie co najmnej raz na 25 tygodni. W przypadku kur hodowanych na grzędach lub na wolnym wybiegu pobiera się próbki jedną z następujących metod:
- kał: minimum 60 g z kurnika
- okładziny na buty: dwie pary okładzin lub skarpet z gazy

Z chowu klatkowego takie próbki pobierane są ze zbieraków lub z powierzchni pozostałych odchodów w boksie.

2. PRÓBKI ŚRODOWISKOWE Z PRODUKCJI PIERWOTNEJ

Obszar regulowany prawnie: Rozporządzenie MR i RW z dnia 27 września 2013 r.
Wymazy z urządzeń i pomieszczeń są pobierane z określonej powierzchni, badane są najczęściej w kierunku obecności i identyfikacja *Salmonella* spp., ogólnej liczby drobnoustrojów oraz liczby pleśni i drożdży. Wymazy mają być pobrane z określonej powierzchni podanej w dokumentacji próbek, np. z 25 cm^2. Mają być dostarczone do laboratorium w jak najkrótszym czasie od pobrania. Najlepiej gdy podczas transportu są przechowywane w warunkach chłodniczych 1-8°C.

3. BADANIE W KIERUNKU LYSSYWIRUSÓW (WŚCIEKLIZNY)

Obszar regulowane prawnie: Rozporządzenie MR i RW z dnia 30 grudnia 2016 r.
Ze względu na możliwość zakażenia osoby przyjmujące próbki nie mogą otwierać opakowań z próbkami! Materiał do badań rutynowych stanowią całe zwłoki lub głowy różnych gatunków zwierząt. Próbki mają być opakowane w sposób zabezpieczający przed wyciekiem zawartości i indywidualnie oznakowane. Niedopuszczalne jest uszkodzenie zwłok, które uniemożliwi badanie mózgu testem immunofluorescencji bezpośredniej (IF). Jeżeli próbka wykazuje rozkład gnilny, to można wykonać badanie IF, ale uzyskanie wyniku ujemnego nie wyklucza obecności antygenu lyssawirusa w badanej próbce, o czym informujemy zleceniodawcę w Sprawozdaniu z badań. W przypadku próbki o cechach rozkładu gnilnego, nie wykonujemy badania metodą RTCIT (izolacja w hodowli komórek mysiej neuroblastomy), ze względu na toksyczne działanie produktów tego rozkładu na komórki mysiej neuroblastomy. W takim przypadku przekazujemy próbkę do PIWet-PIB w Puławach do dalszych badań.
Do każdej próbki dołączone są dokumenty podpisane przez urzędowego lekarza weterynarii.

4. BADANIE W KIERUNKU ZGNILCA AMERYKAŃSKIEGO PSZCZÓŁ (*Paenibacillus larvae*)

Obszar regulowany prawnie: Rozporządzenie MR i RW z 11.07.2016
Wymagania wg Instrukcji Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWpr 02010-23/2016 z dnia 16 sierpnia 2016 r.

4.1. Plastry z czerwiem

Próbkę stanowi wycinek o powierzchni około 20 cm^2, zawierający jak najwięcej komórek z chorym czerwiem (w miarę możliwości bez miodu). Każda próbka ma być oddzielnie zawinięta np. w papier i oznakowana w sposób pozwalający zidentyfikować rodzinę. Umieszczenie próbek w kartonowym pudełku zabezpiecza je przed zgnieceniem. Próbki najlepiej jest transportować w temperaturze poniżej 0°C. Mogą być też przewożone w warunkach chłodniczych, np. gdy zostały pobrane w dniu dostarczenia do laboratorium lub poprzednim.

4.2. Miód / zapas pokarmu cukrowego

Próbkę stanowi około 50 g (40 ml) miodu / zapasu pokarmu cukrowego. Najlepiej umieścić miód w plastikowym pojemniku, zamykanym szczelnym przykryciem. Wycinek plastra z miodem powinien być zapakowany w worek foliowy strunowy. Próbki mogą być przewożone w temperaturze pokojowej lub w warunkach chłodniczych. Do badań diagnostycznych mogą być także pobierane zbiorcze próbki miodu (z kilku rodzin) lub pozyskane z partii odwirowanego miodu.

5. BADANIE W KIERUNKU ZGNILCA EUROPEJSKIEGO PSZCZÓŁ (*Melisococcus plutonius*)

Obszar regulowany prawnie.
Wymagania wg Instrukcji Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWpr 02010-24/2016 z dnia 16 sierpnia 2016 r.

5.1. Plastry z czerwiem

Próbkę stanowi wycinek o powierzchni około 20 cm^2, zawierający gdy jest to możliwe jak najwięcej komórek z chorym czerwiem (w miarę możliwości bez miodu). Każda próbka ma być oddzielnie zawinięta np. w papier i oznakowana w sposób pozwalający zidentyfikować rodzinę. Umieszczenie próbek w kartonowym pudełku zabezpiecza je przed zgnieceniem. Próbki najlepiej jest transportować w temperaturze poniżej 0°C. Mogą być też przewożone w warunkach chłodniczych, np. gdy zostały pobrane w dniu dostarczenia do laboratorium lub poprzednim.

6. BADANIE W KIERUNKU WARROZY PSZCZÓŁ

Obszar regulowany prawnie.
Wymagania wg Instrukcji Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWpr 02010-22/2016 z dnia 16.08.2016

6.1. Pszczoły

Próbka składa się z około 200-300 pszczół, umieszczonych w papierowej kopercie lub pojemniku. Próbki należy transportować w temperaturze poniżej 0°C lub w warunkach chłodniczych, np. gdy zostały pobrane w dniu dostarczenia do laboratorium albo poprzednim. Mogą być też transportowane w 70% roztworze etanolu.

6.2. Osyp

Próbkę osypu pobiera się z dna ula i umieszcza się w papierowym lub plastikowym opakowaniu. Próbka powinna mieć objętość około 200 ml. Zaleca się przewozić próbkę w temperaturze poniżej 0°C. Może być też transportowana w warunkach chłodniczych, np. gdy została pobrana w dniu dostarczenia do laboratorium lub poprzednim.

7. BADANIE W KIERUNKU NOSEMOZY PSZCZÓŁ

Obszar regulowany prawnie

7.1. Pszczoły

Minimum 60 pszczół.

8. BADANIA BAKTERIOLOGICZNE, MYKOLOGICZNE BEZPOŚREDNIE, MYKOLOGICZNE HODOWLANE, PARAZYTOLOGICZNE

Materiału do badania zawsze powinno być wystarczająco dużo, by uzyskać wiarygodny wynik. Powinna być zamieszczona informacja o użytych lekach.

8.1. Narządy wewnętrzne

Materiał do badań bakteriologicznych powinien być szczelnie opakowany i nie powinien wykazywać cech rozkładu gnilnego (co dyskwalifikuje użycie go do badań). Narządy lub wycinki narządów powinny być pobrane w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie mikroflorą postronną i umieszczone w jałowych workach lub pojemnikach. Materiał powinien być dostarczony do laboratorium w jak najkrótszym czasie od pobrania i najlepiej transportowany w warunkach chłodniczych. W przypadku dostarczenia zwłok do badań, narządy pobiera się w laboratorium.

8.2. Zeskrobiny

Materiał do badań bakteriologicznych powinien być szczelnie opakowany i dostarczony do laboratorium w jak najkrótszym czasie od pobrania. Powinien być pobrany z miejsca granicznego między chorą a zdrową tkanką, w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie mikroflorą postronną. Zeskrobinę umieszcza się na przykład w jałowej probówce lub płytce Petriego. Najlepiej gdy dostarczona jest osobna próbka do badania bakteriologicznego, osobna do mykologicznego hodowlanego i osobna do parazytologicznego.

8.3. Wydzieliny i wydaliny

Materiał do badań bakteriologicznych powinien być pobrany w sposób uniemożliwiający zanieczyszczenie mikroflorą postronną, szczelnie opakowany i dostarczony do laboratorium w jak najkrótszym czasie od pobrania. Najlepiej gdy jest transportowany w warunkach chłodniczych. Kał powinien być umieszczony na przykład w jałowym pojemniku. Mleko lub mocz powinny być umieszczone w jałowej probówce, strzykawce lub innym jałowym pojemniku szczelnie zamkniętym.

8.4. Płyny ustrojowe

Materiał do badań bakteriologicznych powinien być szczelnie opakowany. Powinien być dostarczony do laboratorium w jak najkrótszym czasie od pobrania, najlepiej transportowany w warunkach chłodniczych. Płyn stawowy od drobiu najczęściej pobiera się bezpośrednio z dostarczonych zwłok.

8.5. Wymazy

Materiał do badań bakteriologicznych powinien być szczelnie opakowany. Powinien być dostarczony do laboratorium w jak najkrótszym czasie od pobrania, najlepiej transportowany w warunkach chłodniczych. Powinien być pobrany w sposób uniemożliwiając zanieczyszczenie mikroflorą postronną, z użyciem jałowej wymazówki, którą umieszcza się w podłożu transportowym.

9. BADANIE W KIERUNKU OBECNOŚCI LARW WŁOŚNI METODĄ WYTRAWIANIA WEDŁUG PN-EN ISO 18743:2015-11/A1:2024-02 oraz Instrukcji GLW Nr BP.0200.1.8.2024 z dnia 8 maja 2024 r.

9.1. Masa jednostkowej próbki właścicielskiej przyjmowane do badania nie powinna być mniejsza niż 100 g, ze względu na potrzebę identyfikacji sztuki zakażonej larwami włośni. Próbka nie powinna zawierać tkanki łącznej i tłuszczowej. Osoba dostarczająca próbki potwierdza ten fakt w protokole pobrania próbek. Klient zostaje poinformowany o terminie wykonania badania.

Badanie próbek mrożonych powinno mieć zastosowanie jedynie w przypadku badań monitoringowych. Jeżeli klient wyrazi zgodę na badanie próbki zamrożonej, po wcześniejszym poinformowaniu go o ograniczeniach metody z tym związanych, wówczas laboratorium może wykonać takie badanie z zastrzeżeniem, aby masa próbki laboratoryjnej przeznaczonej do wytrawiania nie była mniejsza niż 50g (zalecenie KLR).

Krajowe Laboratorium Referencyjne w Puławach zaleca by z tusz świń w tym macior i knurów pobierać próbki z filarów przepony.

W przypadku braku filarów przepony pobiera się próbkę z części żebrowej lub mostkowej przepony, lub z mięśni żuchwowych, mięśni języka lub z mięśni brzusznych.

W przypadku badania kawałków mięsa pobiera się próbkę z mięśni poprzecznie prążkowanych, o małej zawartości tłuszczu oraz, w miarę możliwości, z miejsca w pobliżu kości lub ścięgien.

Gatunek zwierzęcia i mięśnie predylekcyjne dla larw włośni:

Świnia (*Sus scrofa f. domestica*) filary przepony, mm. szczękowe
Koń (*Equs f. caballus*) mm. szczękowe, filary przepony, mm. języka
Dzik (*Sus scrofa*) filary przepony, mm. przedramienia, mm. języka
Pies (*Canis lupus familiaris*) filary przepony, mm. szczękowe, mm. języka
Niedźwiedź (*Ursus spp.*) filary przepony, mm. szczękowe, mm. języka
Mors (*Odobenus spp.*) mm. języka
Foka (rodzina *Phocidae*) filary przepony, mm. międzyżebrowe, mm. języka
Krokodyl (*Crocodylus niloticus*) mm. międzyżebrowe
Lis (*Vulpes* spp.) filary przepony, mm. przedramienia, mm. języka
Jenot (*Nyctereutes procyonoides*) filary przepony, mm. przedramienia, mm. języka
Bóbr (*Castor fiber*) filary przepony, mięśnie żwacza; mięśnie okołojęzykowe; język
Borsuk (*Meles meles*) filary przepony, mięśnie żwacza; mięśnie okołojęzykowe; język
Nutria (*Myocastor coypus*) filary przepony, mięśnie żwacza; mięśnie okołojęzykowe; język

10. WYKRYWANIE MEZOCERKARII MOTYLICZKI MIĘŚNIOWEJ (*ALARIA ALATA*) W TKANKACH DZIKÓW

Minimalna łączna masa próbki do badania powinna wynosić 30g i składać się z tkanek: mięśniowej, tłuszczowej, łącznej i gruczołowej.

Zaleca się, aby próbka do badań stanowiła próbkę zbiorczą składającą się z 6 wycinków o masie 5g każdy, pobranych z wielu miejsc takich jak: „policzek" głowy, otrzewna z tkanką tłuszczową, filary przepony, krtań z tkanką łączną, język, mięśnie żwacz, skroniowy, skrzydłowy.

W przypadku więcej niż jednego zwierzęcia, próbki oraz mięso dzika należy oznakować tak, aby możliwa była szczegółowa identyfikacja

Próbka do badania nie może być zamrażana.

WYMAGANIA DOTYCZĄCE PRÓBEK DO BADAŃ W PRACOWNI PATOLOGII I PDW

Egz. nr 1 – Pa + PDW
Egz. nr 2 – OK
Egz. nr 3 – archiwalny