

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA AKTUELNIH INFEKTIVNIH OBOLJENJA PREMA ZAHTEVIMA MEĐUNARODNIH STANDARDA

Sava Lazić *, Tamaš Petrović, Maja Velhner, Milanov Dubravka,
Sara Savić, Branka Vidić

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Kratak sadržaj

Jedan od najvećih izazova savremene laboratorijske dijagnostike je izbor postupaka i metoda kojima se brzo i pouzdano može utvrditi uzročnik infekcije. Pred laboratorijsku dijagnostiku infektivnih oboljenja, danas se sve češće postavlja zahtev da se u najkraćem mogućem roku identifikuje uzročnik i utvrde njegove biološke karakteristike, kao što su patogenost, grupna pripadnost, osetljivost, pa čak i genetske sekvence. Uz navedene zahteve, laboratorijska dijagnostika mora da se sprovodi i u skladu sa zahtevima brojnih međunarodnih standarda kao i uz poštovanje principa dobre laboratorijske prakse. Poštovanjem zahteva međunarodnih standarda, odnosno dobre laboratorijske prakse, laboratorijska dijagnostika je značajno unapređena, posebno sa aspekta validnosti dobijenih rezultata ispitivanja. U cilju unapređenja laboratorijske dijagnostike infektivnih oboljenja od značaja u veterinarskoj medicini, u ovom radu su predstavljeni zahtevi standarda SRPS ISO/IEC 17025:2006 (Opšti zahtevi za kompetentnost laboratorija za ispitivanje i laboratorija za etaloniranje), SRPS ISO 15189:2008 (Medicinske laboratorije – Posebni zahtevi za kvalitet i kompetentnost) kao i zahtevi Svetska organizacija za zdravlje životinja (O.I.E.). Implementacija ovih standarda prikazana je kroz postupke laboratorijske dijagnostike najznačajnijih bakterijskih i virusnih infekcija životinja na teritoriji Republike Srbije. U radu je kroz predstavljanje zahteva u pogledu referentnih materijala, opreme, prostora i kadrova, predstavljena laboratorijska dijagnostika: antraksa, leptospiroze, paratuberkuloze, kju groznice, hlamidioze, tuberkuloze, mikoplazmoze, bruceloze, listerioze, pastereloze, salmoneloze, klostridioze, Aujeszkijeve bolesti, bolesti plavog jezika, besnila, infektivnog bronhitisa živine, influence, atipične kuge peradi, infektivnog burzitisa, Marekove bolesti, virusne dijareje goveda, enzootske leukoze goveda, infektivnog govedeg rinotraheitisa, infektivne anemije kopitara, rinopneumonitisa konja, virusnog arteritisa konja, me-di-visne, klasične kuge svinja i respiratorno reproduktivnog sindroma svinja.

* E-mail: lazic@niv.ns.ac.rs

Ključne reči: laboratorijska dijagnostika, bakterijske infekcije, virusne infekcije, zahtevi standarda, O.I.E.

LABORATORY DIAGNOSTICS OF CURRENT INFECTIOUS DISEASES ACCORDING TO INTERNATIONAL STANDARDS

Sava Lazić, Tamaš Petrović, Maja Velhner, Milanov Dubravka,
Sara Savić, Branka Vidić

Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, Rumenački put 20

Abstract

One of the greatest challenges of modern laboratory diagnostic is selection of methods and procedures for fast and reliable diagnostic. Contemporary laboratory diagnostic is faced with the request to develop the technologies for rapid detection of agents and identification of biological features, as for example pathogenicity, group affiliation, sensitivity, or even genetic sequencing. Beside the aforementioned requests, laboratory diagnostic must implement numerous international standards and apply the principles of good laboratory practice. By compliance to international standards, i.e. good laboratory practice, laboratory diagnostic has considerably been improved, especially regarding the validity of the obtained results. With the aim to improve laboratory diagnostic of infectious diseases in veterinary medicine, this paper presents the demands of the standard SRPS ISO/IEC 17025:2006 (General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories), SRPS ISO 15189:2008 (Medical Laboratories – Particular Requirements for Quality and Competence) as well as the demands of World Organization for Animal Health (O.I.E.). Implementation of these standards is presented through the procedures of laboratory diagnostic of most important bacterial and viral animal infections on the territory of the Republic of Serbia. This paper presents the demands regarding the reference material, equipment, workspace and staff, for the laboratory diagnostic of the following diseases: anthrax, leptospirosis, paratuberculosis, Q fever, chlamydiosis, tuberculosis, mycoplasmosis, brucellosis, listeriosis, pasteurellosis, salmonellosis, clostridiosis, Aujeszky's disease, blue tongue, rabies, infectious bronchitis in poultry, influenza, atypical poultry plague, infectious bursitis, Marek's disease, bovine viral diarrhea, enzootic bovine leukosis, infectious bovine rhinotracheitis, equine infectious anemia, equine rhinopneumonitis, equine viral arteritis, maedi-visna, classical swine fever and porcine reproductive and respiratory syndrome.

Key words: laboratory diagnostic, bacterial infection, virus infection, standard demands, O.I.E.

UVOD

Mnogobrojni zahtevi koji se nameću laboratorijskim ispitivanjima usloveli su uvođenje sistema kvaliteta u ovu oblast delatnosti veterinarske medicine. Rezultati laboratorijskih ispitivanja predstavljaju ključni faktor za utvrđivanje uzroka oboljenja, kao i za utvrđivanje mera kojima se bolest stavlja pod kontrolu, suzbija i iskorenjuje. Laboratorija, kao specifična organizaciona celina u okviru koje se vrši proces ispitivanja, predstavlja značajnu kariku na nacionalnom nivou a može imati ulogu i na međunarodnom planu. U cilju uklanjanja barijera u međunarodnoj trgovini i ubrzanju protoka robe i materijala, moraju se implementirati zahtevi odgovarajućih standarda u sve procese laboratorijskog rada. Širenje implementacije sistema kvaliteta na globalnom nivou usloвило je i potrebu za obezbeđenjem sistema kvaliteta u našim laboratorijama, saglasno međunarodnom standardu ISO 9001. Ovo se posebno odnosi na laboratorijska ispitivanja koja predstavljaju timsku aktivnost i koja uključuju osoblje iz različitih disciplina i različite kvalifikacione strukture, korišćenje sofisticirane opreme i specifičnih metoda ispitivanja (2).

S obzirom na specifičnost laboratorijskih ispitivanja, zahteve za primenu međunarodnih validovanih, harmonizovanih i standardizovanih metoda ispitivanja i međusobnog priznavanja rezultata ispitivanja, usloveli su i potrebu akreditovanja laboratorija prema međunarodnim standardima. U tom smislu Međunarodna organizacija za standardizaciju (ISO) i Međunarodna elektrotehnička komisija (IEC) su 1999. godine donele poseban standard: ISO/IEC 17025, kojim se definišu zahtevi za kompetentnost laboratorija za ispitivanje. Ovaj standard je nastao kao rezultat velikog iskustva u primeni ISO/IEC Uputstvo 25 i EN 45001, koje je on zamenio. U tački 4. Standarda ISO/IEC 17025 specificirani su zahtevi koji se odnose na menadžment, a u tački 5. zahtevi za tehničku kompetentnost laboratorije u odgovarajućem području ispitivanja. Laboratorije koje žele da ostanu konkurentne moraju da uspostave, dokumentuju, primenjuju i održavaju sistem kvaliteta i da stalno poboljšavaju njegovu efikasnost u skladu sa zahtevima međunarodnih standarda. Standardi nemaju za cilj da nametnu uniformnost u strukturi sistema kvaliteta, niti uniformnost dokumentacije, već daju osnovne zahteve za sistem menadžmenta i kompetentnosti koje laboratorije moraju ispuniti (7).

Menadžment u procesu laboratorijskih ispitivanja

Istorijski gledano, osnove sistema kvaliteta koje su definisane u standardu ISO 9001:2001, a uglavnom potiču od osnovnih postavki koje je još tridesetih godina dvadesetog veka definisao statističar Walter Shewart. Shewart je definisao četiri faze rešavanja problema: planiraj, uradi, proveri i deluj, poznate kao Shewartov ciklus. Pedesetih godina prošlog veka, Edwards Deming je ove faze efektivno promovisao

kao alat za menadžment kvalitetom, poznat kao Demingov krug. Demingov krug se efikasno primenjuje u cilju povećanja efikasnosti, efektivnosti i zadovoljenja zahteva korisnika, kako u proizvodnim organizacijama, tako i organizacijama koje se bave davanjem usluga (14). Treba napomenuti da opisane postavke u mnogim standardima predstavljaju osnovu za razradu tačaka upravljanja kvalitetom. Prema standardu ISO/IEC 9001:2001 faze Shewartovog ciklusa znače:

Planiraj: utvrdi ciljeve i uspostavi procese potrebne za dobijanje rezultata u skladu sa zahtevima korisnika i politikom kvaliteta;

Uradi: primeni procese;

Proveri: prati i meri procese i proizvod, poredeći ih sa politikom, ciljevima i zahtevima za proizvod i izveštavajte o rezultatima;

Deluj: preduzmi akcije za stalno poboljšanje performansi procesa.

Upravljanje kvalitetom u laboratorijama za dijagnostikovanje zaraznih bolesti može biti zasnovano na primeni više standarda (11;12;13), ali i na zahtevima O.I.E. (9) posebno u slučajevima međunarodnog prometa životinja. Laboratorije moraju da obezbede odgovarajući i dokumentovani sistem upravljanja kvalitetom. Međutim, standard ISO/IEC 17025 je inkorporiran i predstavlja osnovu mnogih zahteva O.I.E. kao i standarda ISO/IEC 15189 i na taj način predstavlja standard kojeg laboratorije, ukoliko žele da budu akreditovane, moraju implementirati u svoju organizaciju rada. Tačka 4. ovog standarda odnosi se na zahteve koji definišu postupke menadžmenta u procesima laboratorijskog ispitivanja. Ova tačka definiše sledeće zahteve: opis organizacije, sistem menadžmenta, upravljanje dokumentima, preispitivanje zahteva, ponuda i ugovora, podugovaranje ispitivanja, nabavku proizvoda i usluga, odnos prema klijentu, prigovore, upravljanje neusaglašenim ispitivanjima, poboljšavanja, korektivne mere, preventivne mere, upravljanje zapisima, interne provere i preispitivanje od strane rukovodstva laboratorije.

Tehnički zahtevi u procesu laboratorijskih ispitivanja

Svaka laboratorija, a posebno laboratorije koje se bave dijagnostikovanjem zaraznih bolesti, moraju raspolagati odgovarajućim ljudskim, prostornim, materijalnim, tehničkim i ostalim resursima, a svi oni su definisani u tački 5. standarda ISO/IEC 17025. Prema tome, laboratorija mora da upravlja i raspolaže kompetentnim osobljem, prostorom, metodama ispitivanja, opremom, da obezbedi sledljivost merenja (standardi, referentni materijali), da pravilno uzorkuje, da pravilno rukuje uzorcima, da obezbedi poverenje u kvalitet rezultata ispitivanja i da vrši izveštavanje o rezultatima ispitivanja.

Osoblje koje rukuje specifičnom opremom, obavlja ispitivanja, vrednuje rezultate i potpisuje izveštaje o ispitivanjima, mora biti obučeno za te aktivnosti. Pored

toga, osoblje koje obavlja određene zadatke mora da bude osposobljeno na osnovu odgovarajućeg obrazovanja, obuke, dokazanih iskustava i veština, uz kontinuiranu edukaciju prilagođenu trenutnim i strateškim zadacima laboratorije.

Pored toga što mora da ima odgovarajući prostor sa neophodnim izvorom energije, odgovarajućim osvetljenjem i drugim propisanim uslovima, laboratorija mora da kontroliše i vodi zapise o ambijentalnim uslovima (temperatura), a posebno o mikrobiološkoj kontaminaciji.

Odabir metoda koje će se koristiti u procesu ispitivanja ključni je momenat u radu svake laboratorije. Laboratorija mora da koristi metode ispitivanja koje zadovoljavaju potrebe korisnika i koje su prikladne za ispitivanje. U odabiru metoda prednost se daje standardizovanim metodama koje su objavljene u međunarodnim ili nacionalnim standardima; od strane ugledne tehničke institucije (npr. O.I.E.); u relevantnim naučnim časopisima ili ih je specificirao proizvođač. Laboratorija može u svom radu da koristi metode koje je sama razvila, ali uz obavezu sprovođenja kompletnog postupka validacije.

Veoma značajan momenat u radu svake laboratorije predstavlja oprema. Opremljenost laboratorije je jedan od presudnih faktora konkurentnosti, ali i zadovoljenja zahteva korisnika. Dobra opremljenost laboratorije je osnovni preduslov za dobru efektivnost i efikasnost. Prema zahtevima ISO standarda opremom može da rukuje samo obučeno i ovlašćeno osoblje. Osoblju moraju uvek biti na raspolaganju uputstva za rad i održavanje opreme kao i svi zapisi koji se vode o delovima opreme. Posebna pažnja se poklanja proveru rada opreme kroz proces etaloniranja. Pored redovnog etaloniranja, poželjno je sprovoditi i međuprovere, jer se na taj način održava poverenje o radu opreme, a time i u kvalitet dobijenih rezultata.

Sledljivost merenja je takođe veoma značajan deo procesa ispitivanja. Kod mikrobioloških ispitivanja sledljivost merenja podrazumeva korišćenje referentnih materijala (sojevi mikroorganizama, specifični antiserumi, antigeni, nukleinske kiseline) koji su sertifikovani od strane relevantnih institucija. Upotreba referentnih materijala tokom ispitivanja omogućava ispitivaču da isključi subjektivnost i omogućava mu visok stepen poverenja u dobijene rezultate ispitivanja. Laboratorija može da proizvede referentne materijale koje će koristiti u radu, ali mora da im dokaže svojstva i sledljivost do sertifikovanih materijala.

Uzorkovanje, kao i rukovanje uzorcima u procesima mikrobioloških ispitivanja, često ima presudnu ulogu na ishod i rezultate ispitivanja. Postupak uzorkovanja, dopremanje uzoraka do laboratorije i njihovo skladištenje, kao i izrada test uzorka su veoma specifične i odgovorne aktivnosti, koje moraju biti jasno definisane i opisane.

Obezbeđenje poverenja u kvalitet rezultata ispitivanja je zahtev standarda kojim se omogućava praćenje valjanosti obavljenih ispitivanja. Svi zapisi koji se vode tokom ispitivanja moraju biti dostupni, ali i pored toga laboratorija mora da planira i sprovede preispitivanje poverenja u kvalitet svojih rezultata. To može da obuhvati sledeće:

- upotrebu setifikovanih referentnih materijala,
- učešće u programima međulaboratorijskih uporednih ispitivanja,
- ponavljanje ispitivanja upotrebom istih ili različitih metoda,
- ponavljanje ispitivanja čuvanih uzoraka, ili
- ispitivanje istih uzoraka istim metodama od strane dva ili više ispitivača.

Krajni proizvod rada laboratorije predstavlja izveštaj o ispitivanju. On mora da bude jasno identifikovan sa svim stranama koje ga sačinjavaju. Takođe mora da obuhvati podatke o vlasniku materijala, naručiocu ispitivanja, uzorkovanju i uzorku, vrsti ispitivanja, metodama koje su se koristile tokom ispitivanja. Izveštaj može da sadrži izjavu da se rezultati odnose samo na ispitane uzorke, što je kod mikrobioloških ispitivanja veoma važno. Sastavni deo izveštaja su rezultati ispitivanja, koji moraju da budu jasno i nedvosmisleno predstavljeni uz podatke o referentnim vrednostima, jedinici merenja, identifikaciji metoda ispitivanja i ukoliko je moguće, poželjno je da se navedu podaci o mernoj nesigurnosti ispitivanja. Izveštaj o ispitivanju mora biti verifikovan od strane ispitivača kao i rukovodioca laboratorije.

Ispunjenje tehničkih zahteva je verovatno najodgovorniji deo implementacije standarda ISO/IEC 17025. Autori koji su se bavili implementacijom ovoga standarda ističu višestruki značaj ispunjenja ovih zahteva, jer predstavljaju skup dominantnih faktora za pouzdan rad laboratorije, ispunjenje zahteva korisnika, ali i zahtevaju značajna finansijska sredstva (Ašanin, Kljajić, Aćamović, O.I.E.)

Laboratorijsko dijagnostikovanje infektivnih oboljenja životinja

Uzimajući u obzir značaj opisanih standarda u procesima laboratorijskog dijagnostikovanja, kao i prema aktuelnoj epizootiološkoj situaciji u Republici Srbiji, u ovom delu rada dat je prikaz standarda, materijala koji se ispituju i metoda ispitivanja. Radi preglednosti, laboratorijska dijagnostika aktuelnih infektivnih oboljenja životinja, prikazana je tabelarno.

Tabela 1: Laboratorijsko dijagnostikovanje infektivnih oboljenja životinja

Red. br.	Naziv oboljenja	Standard/Referenca	Dokazivanje uzročnika		Dokazivanje antitela	
			Materijal	Metod	Materijal	Metod
1.	Listerioza (<i>Listeria monocytogenes</i>)	OIE (2.9.7.)	Septikemija: tkivo jetre, bubrezi i/ili slezina. Encefalitis: spinalna tečnost, pons i produžena moždina. Pobačaj: placenta (koti-ledoni), sadržaj abomazusa fetusa i/ili iscedak iz materice.	Izolacija na selektivnim podlogama: FDA; AOAC; ISO 11290; USDA; Francuski standardi;	Krvni serum	Aglutinacija (nema dovoljnu osetljivost)
2.	Antraks (<i>Bacillus anthracis</i>)	OIE (2.1.1.)	Periferna krv (ušna školjka), Slezina.	Izolacija na krvnom agaru; direktna mikroskopija (bojenje polihromnim metilenskim plavim); PCR za potvrdu prisustva plazmida: pX01 i pX02 Imunološki testovi: Askoli precipitacija, Imunofluorescencija.	-	-
3	Pastereloza (<i>Pasteurella multocida</i>)	Clinical veterinary microbiology (Quin PJ et al.) 1998	nosni bris eksudat mleko pluća jetra slezina bubrezi limfni čvorovi	Direktna mikroskopija (bipolarno bojenje Gimza); Izolacija na krvnom agaru; Biohemijsko ispitivanje; Serološka tipizacija izolata <i>P. multocida</i> A, B, D, E I F (u referentnim laboratorijama).	-	-

Red. br.	Naziv oboljenja	Standard/ Referenca	Dokazivanje uzročnika		Dokazivanje antitela	
			Materijal	Metod	Materijal	Metod
4.	Klostridioza (Cl. perfringens; Cl. novyi; C. chauvoei; C. septicum; C. haemolyticum; C. sordellii C. tetani)	Clinical veterinary microbial. (Quin PJ et al.) 1998	Tkiva i eksudati (odmah posle uginuća)	Direktna mikroskopija (bojenje po Gramu i TFA); Anaerobna izolacija; Biohemijsko ispitivanje (API 20A, ATB 32A, gasna hromatografija); Identifikacija toksina biološkim testom.	-	-
5.	Leptospiroza	OIE (2.1.9.)	krv, mleko, urin, tkivne tečnosti, unutrašnji organa pobačenih plodova (bubrezi, jetra, pluća, nadbubrežne žlezde)	Izolacija na hranljivim podloga, PCR	Krvni serum	MAT, ELISA
6.	Paratuberkuloza	OIE (2.1.11.)	razmaz sadržaja creva, feces	Bojenje po Ziehl-Neelsen-u i mikroskopija, bakteriološka kultura, PCR	Krvni serum	ELISA, RVK, AGID
7.	Q groznica	OIE (2.1.12.)	placenta, vag. iscedak, mleko, kolost., feces, sadržaj org. pobač. ploda (jetra, pluća, želudac)	Bojenje razmaza po Stamp-u, Gimenez-u, Macchiavelli-u, Giemsi, PCR, izolacija na embrioniranim jajima ili kulturi ćelija	Krvni serum	ELISA, RVK, Indirektna imunofluorescencija
8.	Tuberkuloza	OIE (2.4.7.)	limfni čvorovi, pluća, creva, jetra, slezina, pleura i peritoneum	Bojenje razmaza po Ziehl-Neelsen-u, imunoperoksidaza test, izolacija na podlogama po Lowenstein-Jensen, Coletsos, Stonebrinks, PCR	krv	γ interferon test, limfocitna proliferacija, ELISA

Red. br.	Naziv oboljenja	Standard/ Referenca	Dokazivanje uzročnika		Dokazivanje antitela	
			Materijal	Metod	Materijal	Metod
9.	Bruceloza	OIE (2.4.3.; 2.7.2.; 2.7.9.; 2.8.5.)	pobačeni sadržaj, vaginalni iscedak, sadržaj uterusa, pobačeni plod, sekret vimena, limfni čvorovi i reproduktivni organi	Bojenje razmaza po Stamp modifikaciji Ziehl-Neelsen, Test imuperoksidaze, Kultivacija, PCR	Krvni serum, mleko	BAB, Rose bengal, RVK, spora aglutinacija, ELISA -i, ELISA -c, prstenasta proba, γ interferon test
10.	Salmoneloza	OIE (2.9.9.)	Delovi creva, jetra, feces, stelja brisevi krmne smeše	Izolacija preko hranljivih podloga (predobogaćenje i obogaćenje)	Krvni serum	Aglutinacija ELISA
11.	Infektivna anemija kopitara	OIE (2.5.6.)	Nekoagulirana krv	Izolacija virusa (kultura leukocita), PCR	Krvni serum	AGID, ELISA
12.	Medi -visna (MVV); Artritis i encefalitis koza (CAEV)	OIE (2.7.3/4.)	leukociti periferne krvi ili mleka, pluća, sinovijane membrane, vime	Izolacija na kulturi ćelija, PCR	krv	AGID, ELISA
13.	Infektivni bovini rinotraheitis/ Infektivni pustularni vulvovaginitis	OIE (2.4.13.)	Nosni bris Bris oka Vagin. bris Seme Pluća Placenta Bubrezi Slezina	Izolacija na kulturi ćelija, Imunohistohe-mijski PCR	Krvni serum Mleko	Virus neutralizacija ELISA
14.	Enzootska leukoza goveda	OIE (2.4.11.)	Leu. perif. krvi, Sek. nosa, pljuvačka, mleko	Izolacija na kulturi ćelija, PCR	Krvni serum Mleko	AGID, ELISA
15.	Virusna dijareja goveda	OIE (2.4.8.)	Bris. sluzok. perif. krv, seme, pluća, plac., bubrezi, slezina	Izolacija na kulturi ćelija, Imunohistohe-mijski ALISA – Ag RT-PCR	Krvni serum Mleko	Virus neutralizacija ELISA

Red. br.	Naziv oboljenja	Standard/ Referenca	Dokazivanje uzročnika		Dokazivanje antitela	
			Materijal	Metod	Materijal	Metod
16.	Bolest plavog jezika	OIE (2.1.3.)	Nekoagulisana krv, slezina, limfni čvorovi	Izolacija na embrioniranim jajima, imunohistohe-mijski RT-PCR	Krvni serum	RVK, ELISA
17.	Rinopneumonitis konja	OIE (2.5.9.)	N. bris, vagin. bris, seme, pluća, placenta bub. slezina	Izolacija virusa na kulturi ćelija, Imunohistohe-mijski PCR	Krvni serum	Virus neu-trali-zacija
18.	Virusni arteritis konja	OIE (2.5.10.)	Nazofaringealni brisevi, bris oka, seme limfni čvorovi slezina	Izolacija virusa na kulturi ćelija RT-PCR	Krvni serum	Virus neu-tralizacija, ELISA
19.	Besnilo	OIE (2.1.13.)	Mozak	Imunohistohe-mijski test inokulacije na miševima	Krvni serum	Test neu-tralizacije imuno-fluo-rescenc. Test neu-tralizacije virusa na miševima ELISA
20.	Aujeszkijska bolest	OIE (2.1.2)	Mozak, pluća	Izolacija virusa preko kulture ćelija PCR	Krvni serum	Virus neu-tralizacija, ELISA
21.	Klasična kuga svinja	OIE (2.8.3.)	Tonzile, slezina, l. čvorovi ileum bubrezi	Imunohistohe-mijski ELISA RT-PCR	Krvni serum	Neutraliza-cija imuno-prek. ELISA
22.	Reproduk-tivni i respi-ratorni sindrom svi-nja	OIE (2.8.7.)	Pluća, limfni čvorovi, slezina brisevi nosa placenta organi pobač. fetusa	Imunohistohe-mijski Izolacija na kulturi ćelija RT-PCR	Krvni serum	Neutraliza-cija imuno-prek. ELISA

Red. br.	Naziv oboljenja	Standard/Referenca	Dokazivanje uzročnika		Dokazivanje antitela	
			Materijal	Metod	Materijal	Metod
23.	Newcastle bolest	OIE (2.3.14.)	Oronazalni bri-sevi, pluća, slezina creva, bubrezi mozak	Izolacija preko embrioniranih jaja RT-PCR	Krvni serum	Inhibicija hemaglutinacije ELISA
24.	Hlamidioza ptica	OIE (2.3.1.)	Pluća, bubrezi, slezina, jetra, perikardium, Eksudat	Izolacija preko kulture ćelija ili embrioniranih jaja, Imunohistohe-mijski PCR	Krvni serum	RVK ELISA
25.	Infektivni bronchitis živine	OIE (2.3.2.)	Oronazalni i tra-healni brisevi, pluća, bubrezi, jajovod,	Izolacija preko kulture ćelija i/ili embrioniranih jaja, RT-PCR	Krvni serum	Virus neu-tralizacija, ELISA, Inhibicija hemaglutinacije
26.	Influenca ži-vine	OIE (2.3.4.)	Oronazalni, tra-healni i kloakalni brisevi, pluća, bubrezi, slezina, creva, mozak	Izolacija preko kulture ćelija i/ili embrioniranih jaja, RT-PCR	Krvni serum	AGID, Inhibicija hemaglutinacije, ELISA
27.	Infektivni bursitis (Gamboro bolest)	OIE (2.3.12.)	B. fabricii	AGID, Izolacija preko embrioniranih jaja i/ili kulture ćelija Imunohistohe-mijski RT-PCR	Krvni serum	AGID, ELISA, Virusneu-tra-lizacija,
28.	Marekova bolest	OIE (2.3.13.)	Tumorozno tkivo (pluća, jetra), nervno tkivo, slezina, krv sa antikoagu-lans.	Izolacija preko kulture ćelija, PCR	Krvni serum	AGID

PCR – polimeraza lančana reakcija; RT-PCR – reverzna transkripcija polimeraza lančana reakcija;

RVK – reakcija vezivanja komplementa (CF – complement fixation); AGID – agar gel imunodifuzija; ELISA – imunoenzimska reakcija (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

MAT – mikroskopska aglutinacija u tamnom polju

Zahtevi koji se nameću laboratorijskoj dijagnostici infektivnih oboljenja kod nas su sve veći i sadržajni. Njihovo ispunjenje je uslovljeno brojnim faktorima, u našim uslovima faktori finansijske prirode za realizaciju mnogih od ovih zahteva. Treba istaći da je za unapređenje laboratorijske dijagnostike pored finansijskih resursa veoma bitno i postojanje adekvatnih legislativa kojima bi se u svetlu savremenih naučnih saznanja regulisala ova delatnost (8). Postojeći "Pravilnik o laboratorijskim testovima i metodama i o uslovima koje moraju da ispunjavaju veterinarske organizacije udruženog rada koje proveravaju rezultate laboratorijskih ispitivanja u oblastima zaraznih bolesti životinja i veterinarsko sanitarne ispravnosti sirovina i proizvoda životinjskog porekla", donesen je još 1988. godine. Mnoge metode opisane ovim pravilnikom su zastarele, a umesto njih su u razvijenijim zemljama sveta propisane i primene savremenije, brže, efikasnije i pouzdanije metode (1).

Konkurentnost u oblasti laboratorijskih ispitivanja infektivnih oboljenja je je doprinela povećanju broja akreditovanih laboratorija, kao i unapređenju i proširenju obima rada. Konstantnim unapređenjem svih elemenata procesa laboratorijskih ispitivanja stiču se uslovi da se i u našim uslovima rada prihvate i realizuju zahtevi savremenih trendova laboratorijske dijagnostike infektivnih oboljenja životinja.

LITERATURA

1. Aleksić Z., Branislava Đukić, M. Tešić, Z. Mašić, R. Kljajić: Neophodnost usklađivanja veterinarskih propisa iz oblasti laboratorijske dijagnostike zaraznih bolesti životinja virusne etiologije sa standardima OIE-a. U: Zbornik radova i kratkih sadržaja, 12 Savetovanje veterinara Srbije, str. 136-137, 2000.
2. Aćamović N.: Kako akreditovati laboratoriju. Beograd: Evropa Jugoinspekt, Centar za sisteme kvaliteta, 1994.
3. Aćamović N., Kljajić R., Mašić Z., Pavkov S.: Značaj međulaboratorijskih uporednih ispitivanja u veterinarskim laboratorijama. U: Zbornik radova II, 7. Kongres veterinara Jugoslavije, Beograd, 27-29. oktobra, Beograd: Savez veterinara Jugoslavije, str. 561-567, 1998.
4. Ašanin Ružica; Branka Vidić, D. Krnjajić: Validacija laboratorijskih dijagnostičkih metoda u sistemu kvaliteta, *Vet glasnik*, 59, 1-2, 71-78, 2005.

5. Kljajić R., Nedić D., Aćamović N., Vidić B., Petrović J.: Integrirani sistemi za bezbednost hrane, *Veterinarski žurnal Republike Srpske*, 1, (1/2) str. 50-58, 2003.
6. Kljajić R.: Savremeni aspekti i razrada sistema i metoda zdravstvene zaštite životinja i ispravnosti namirnica animalnog porekla i stočne hrane, Zbornik radova, Naučni skup povodom 50 godina postojanja i rada Instituta, Novi Sad, Naučni institut za veterinarstvo, str. 13-27, 2000.
7. Lazić S., Kljajić R., Vidić B., Ušćebrka G.: Akreditovana laboratorija - preduslov za kompetentnost i dobijanje ovlašćenja u procesu ispitivanja, *Menadžment totalnim kvalitetom*, Vol. 32, (3-4) CD rom, 2004.
8. Lazić S., Gordana Jermolenko, N. Milić: Laboratorijske metode u dijagnostikovanju virusnih bolesti domaćih životinja. U: Zbornik radova, VII kongres veterinarstva Jugoslavije, 27-29. oktobar, Beograd, str. 241-257, 1998.
9. OIE (World Organization for Animal Health): Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2008.
10. Quin P.J., Carter M.E., Markey B.K., Carter G.R.: Clinical Veterinary Microbiology, London: Mosby International, 1998.
11. SRPS ISO/IEC 17025:2006: Opšti zahtevi za kompetentnost laboratorija za ispitivanje i laboratorija za etaloniranje, Beograd: Institut za standardizaciju, 2006.
12. SRPS ISO/IEC 9001:2001, Sistem menadžmenta kvalitetom, Beograd: Institut za standardizaciju, 2006.
13. SRPS ISO/IEC 1589, Medicinske laboratorije – Posebni zahtevi za kvalitet i kompetentnost, Beograd: Institut za standardizaciju, 2008.
14. SRPS ISO/TR 22869: Medicinske laboratorije – Uputstvo za primenu ISO 15189:2003 u laboratorijama, Beograd: Institut za standardizaciju, 2007.

Primljeno: 15.05.2010.
Odobreno: 17.06.2010.