

KIAULIŲ ENZOOTINIO ABORTO TYRIMAI

Gediminas Gerulis, Jonas Bagdonas, Marija Stankevičienė

Lietuvos veterinarijos akademija,

Tilžės g. 18, Kaunas, LT-3022, tel. 363143, fax. 362417, el.paštas viralab@lva.lt

Santrauka: Kiaulių enzoootinis abortas yra antropozoonozė, kurio sukėlėjas yra chlamidijos. Tai binariniu būdu besidauginantys viduląsteliniai parazitai. Šios rūšies chlamidijos gali sukelti susirgimus žmonėms ir gyvūnams. Šio darbo tikslas ištirti *C. psittaci* paplitimą įvairiose kiaulių amžiaus grupėse bei palyginti PGR tyrimo metodą su kitais šios ligos diagnostikos metodais.

Ištirti 2502 kiaulių kraujo serumo mėginiai, teigiamai reaguojančių rasta 192 (7,7 %). Nustatėme chlamidijų paplitimą įvairiose kiaulių amžiaus grupėse ir palyginome įvairius šios ligos tyrimų metodus. Sergančių penimų kiaulių grupėje nustatyta 2,7 karto daugiau kiaulių, užsikrėtusių chlamidijomis, negu visų penimų kiaulių grupėje. Veislinėje sergančių kiaulių grupėje chlamidijomis buvo užsikrėtę 2,5 kartus daugiau negu bendroje grupėje. Kiaulių užsikrėtimas chlamidijomis ūkiuose buvo nuo nulio iki 22,0 %. Specifinių antikūnų kiekybinis įvertinimas buvo $1,24 \pm 0,59 \log_2$.

Ištirus tiesioginiu imunofluorescencijos metodu (TIF) 1633 mėginius teigiamų mėginių rasta 487 arba 1,9 karto daugiau negu komplemento sujungimo reakcijoje (KSR). Imunofermeninės analizės (IFA) metodu iš 614 kiaulių kraujo mėginių, užsikrėtusių chlamidijomis nustatyta 2,6 karto daugiau, negu KSR. Tiriant netiesioginės imunofluorescencijos metodu (NIF) 143 mėginius teigiamai reaguojančių kiaulių nustatyta 1,8 karto daugiau negu tiriant KSR. Analizuojant 94 kiaulių mėginius mikroimunofluorescencijos metodu (MIF) išaiškinta 2,1 karto daugiau kiaulių, turinčių priešchlamidinius antikūnus negu KSR. Palyginamasis kiaulių enzoootinio aborto tyrimo metodų įvertinimas parodė, kad daugiausiai (35,7 %) kiaulių, turinčių specifinius antikūnus sukėlėjui nustatyta IFA metodu, kuris buvo 2,6 kartus jautresnis negu KSR. MIF metodas buvo 17,0 % jautresnis negu KSR. Polimerazės grandininės reakcijos (PGR) palyginamajam įvertinimui buvo surinkti 83 sergančių kiaulių patloginė medžiaga. Tiriant šiuo metodu teigiamai reaguojančių rasta 36,6 % arba 22,9 % daugiau negu TIF metodu. Tirdami 252 mėginius TIF ir ląstelių kultūros (LK) metodais nustatėme, kad LK metodas buvo 8,4 % jautresnis, negu TIF metodas. Išaiškinta, kad PGR gali būti taikoma chlamidijų rūšių diferenciacijai, leidžiančiai atskirti *C.psittaci* nuo *C. trachomatis* (CMOMP/CTMOMP) bei *C. pneumoniae* (CMOMP/CPNMOMP).

Raktažodžiai: kiaulės, chlamidijos, diagnostika, PGR.

PIG ENZOOTIC ABORTION STUDY

Summary: Pig enzootic (viral, neorexic, pararexic, chlamydial) swine abortion is antropozoonosis caused by binarily multiplying intercell parasites. Chlamydia of this type can affect both humans and animals. The study investigates the spread of *C. psittaci* in various pig age groups and compares the PCR test method with other diagnostic methods for the given disease.

Out of the 2502 blood serum samples tested 192 (7.67 %) were found positive. The spread of chlamydia in various swine age groups was determined and various investigation methods of the disease were compared. The number of chlamydia infected pigs was found to be 2.72 times higher in the sick fattening pig group compared to that in the entire fattening pig group. Chlamydial infection was 2.49 times higher in the breeding group as against that in the common group. The spread of chlamydia in individual farms ranged from 0 to 22 %. The quantitative specific antibody evaluation obtained is $1.24 \pm 0.59 \log_2$.

Tests of 1633 blood samples by direct immuno-fluorescence method (DIF) revealed 487 or 1.9 times more positive reactions than the number obtained by complement fixation (CF). Indirect fluorescent antibody (IFA) of 614 pig blood samples showed 2.58 times more chlamydia infection cases to those indicated by CF. IFA applied to 143 samples detected 1.78 times more positive reactions than the number shown by CF. 94 samples were tested by immuno-fluorescence method and the resulting number of pigs with antichlamydia antibodies 2.14 times exceeded that found by CF. Comparative evaluation of pig enzootic abortion methods shows that the IFA method is 2.57 times sensitive than CF and diagnoses the highest number of pigs carrying specific antibodies (35.67). MIF is 17.01 times more sensitive than CF. For comparative evaluation of polimerase chain reaction (PCR) 83 samples from sick pigs were tested resulting in 36.57 % positive reactions, i. e. 22.89 % more than by the DIF method. Testing of 252 samples by DIF and cell culture (CC) methods led to the conclusion that CC method is 8.49 % more sensitive than the DIF one. It was also established that PGR could be applied in chlamydia species differentiation enabling to distinguish *C. psittaci* from *C. trachomatis* (CMOMP/CTMOMP) and *C. pneumoniae* (CMOMP/CPNMOMP).

Keywords: pigs, chlamydia, diagnostics, PCR

Ivadas. Chlamidijos – mažos, obligatinės, gramneigiamos bakterijos, augančios ir besidauginančios ląstelėse. Jų sienelės struktūra labai panaši į bakterijų, turi savybių artimų virusams. Į virusą panašios tuo, kad gali vystytis tik gyvose ląstelėse, bet pagal daugelį požymių turi daug bendro su bakterijomis. Turi apvalkalą, kuriame yra muraminės rūgšties, DNR ir RNR, dauginasi binarinio skilimo būdu, yra jautrios tetraciklino grupės antibiotikams. Be to, jos turi savitą vystymosi ciklą. Suaktyvėjus chlamidijų metaboliniams procesams, susiformuoja retikuliniai kūneliai (RK). Vėliau RK transformuojasi į elementariusius kūnelius (EK), kurie ląstelei suirus patenka į tarpląstelinę aplinką [Барановская, 2001].

Stuburiniams patogeniškiausia yra *C. psittaci* [Domeika, 1994; Heinen, 1994; Storz, 1971]. Kitos chlamidijų padermės labiau pavojingos tam tikrai gyvūnų rūšiai ir/ar žmogui. Aprašyti atvejai kai chlamidijomis užsikrėtė veterinarijos specialistai [Wachendorfer, 1980], melžėjos, priauglio prižiūrėtojai [Heinen, 1994; Rodolakis, 1993] bei gyvulininkystės produktų perdavimo darbuotojai [Терских, 1979]. Žmonėms pavojų sudaro termiškai neapdoroti gyvulininkystės produktai [Любецкий, 1983]. Piene chlamidijos gali išsilaikyti ilgą laiką [Schiller, 1997]. Nustatyta, kad fekalijos ir įvairūs ekskretai yra sukėlėjo šaltinis [Louv, 1989; Storz, 1971; Tait, 1980].

Šie mikroorganizmai nepasižymi specifiškumu šeimininkui, bet pasižymi audinių tropizmu. Viena ir ta pati padermė gali sukelti generalizuotus ar lokalius vieno ir/ar kelių šeimininko organų ir audinių pažeidimus [Bagdonas, 2000; Davidson, 1994; Domeika, 1994].

Priklausomai nuo sukėlėjo patogeniškumo, gyvulio rūšies, amžiaus ir lyties, chlamidijos gali sukelti šiuos ligos sindromus: pneumoniją, meningoencefalitą, abortą, poliartritą, poliserozitą, enteritą, konjunktyvitą ir genitalinę infekciją [Martinov, 1997; Pienaar, 1975]. Teigiama, kad ligos sindromas atspindi sukėlėjo patekimo į organizmą kelią [Szeredi, 1996].

Chlamidiozę gali platinti kliniškai sveiki kuiliai reproduktoriai - chlamidijų nešiotojai, spermai patekus į patelių organizmą, jos susergera genitaline chlamidioze, pasireiškiančia pogimdyminiu parezu, endometritu, vaginitu, mastitu, abortu [Quenberger, 1990; Wachendorfer, 1980]. Ligos pasekoje patelės gali neapsivaisinti.

Pirmieji duomenys apie kiaulių enzootinės pneumonijos sukėlėjus - chlamidijas aprašyti 1950 metais Rumunijoje, o 1959 metais aprašytas paršelių susirgimas, kurį sukėlė chlamidijos. Susirgimas pasireiškė fibrininio perikarditu ir peritonitu. Ekspeimentiška užkrėtus paršelius buvo įrodyta chlamidinė etiologija [Бортничук, 1991].

Bulgarijoje iš sergančių pneumonija kiaulių plaučių išskyrė mikroorganizmus, kurie pasirodė esą panašūs į ornitozės - limfogranulomos - trachomos sukėlėjus [Бортничук, 1991]. Analogiški infekciniai agentai buvo išskirti iš kiaulių buvusioje TSRS [Бортничук, 1991; Погуляева, 1973]. Tiriant kiaules enzootinės pneumonijos

atžvilgiu, specifiniai priešchlamidiniai antikūnai buvo nustatyti nuo 66,8 iki 76,9 % [Вишнякова, 1975]. Užsikrėtimui jautrios įvairaus amžiaus kiaulės. Priešchlamidiniai antikūnai praskiedimuose 1:4 -1:32 nustatyti 15,6-38 % kuilių ir 26,4- 60 % paršavedžių. Paršeliams ir penimoms kiaulėms priešchlamidiniai antikūnai nustatyti nuo 12,5 iki 34 % [Щербань, 1982].

Pirminiuose židiniuose liga beveik visada prasideda paršingų paršavedžių ir naujagimių paršelių susirgimais, vėliau užsikrečia ir kitų amžiaus grupių kiaulės. Inkubacinis periodas gali tęstis nuo keleto savaičių iki metų. Liga gali pasireikšti latentine forma. Enzootiniams protrūkiams atsirasti įtakos turi metų laikai bei klimatinės sąlygos. Stovyklinio laikymo metu kiaulės serga mažiau [Wollen, 1990].

Kiaulių genitalinės chlamidiozės atsiradimo pasekmė yra sergančios paršavedės, kurios su gemaliniais skysčiais, apvalkalais ir vaisiais sukėlėja išskiria į aplinką. Chlamidijos taip pat platinamos su užsikrėtusių kuilių sperma. Tokiame ūkyje susidaro uždara grandinė: sukėlėjas - jautrus organizmas. Gyvulių užsikrėtimo laipsnis fermoje priklauso nuo daugelio veiksnių. Jis ryškesnis tuose ūkiuose, kur didelė gyvulių santalka, nepalankios zoohigieninės sąlygos, gyvuliai šeriami nevisaverčiais, nesubalansuotais pašarais [Szeredi, 1996; Бортничук, 1991].

Vienas iš užsikrėtimo būdų – embrioninis, kai chlamidijos, patekusios į paršavedės gimdą, pereina placentinį barjerą ir užkrečia vaisių, kuris susergera ir žūsta. Įrodytas chlamidijų perdavimas lytiniu keliu. Heinen E. aprašė kuilių susirgimą orchitais ir uretritais bandose, kuriose paršavedėms pasireiškė abortai, o naujagimiams paršeliams – pneumonijos [Heinen, 1994]. Iš kuilių sėklidžių buvo išskirtos chlamidijos. Bortničiuk V.A. nurodo, kad kiaulių užsikrėtimo šaltiniu gali būti karvių, sergančių chlamidioze, pienas ir jo produktai, o taip pat kontaktas su infekuotais paukščiais, gyvuliais ir graužikais [Бортничук, 1991]. Chlamidijomis galima užsikrėsti alimenteriniu, aerogeniniu ir kontaktiniu būdu [Wollen, 1990].

Gyvulių chlamidiozė buvo tyrinėta ir Lietuvoje. Išskirtos ir identifikuotos chlamidijos iš enteritu bei bronchopneumonija sirgusių veršelių patologinės medžiagos [Bagdonas, 2000]. Tirta galvijų chlamidiozės epizootinė situacija [Domeika, 1991], išskirtos chlamidijų padermės iš bulių spermos [Domeika, 1994], diagnozuota kiaulių chlamidiozė [Bagdonas, 1996]. Tačiau apie kiaulių chlamidiozės paplitimą, epizootinę situaciją ir tyrimų metodus duomenų iki šiol buvo nedaug. Tobulėjant tyrimo metodams kiaulių chlamidiozės diagnostikai naudojama PGR [Mardh, 1990; Mahony, 1990].

Darbo tikslas. Ištirti *C. psittaci* paplitimą įvairiose kiaulių amžiaus grupėse. Palyginti PGR tyrimo metodą su kitais šios ligos diagnostikos metodais.

Tyrimų metodai ir sąlygos. 1990-2000 m. kiaulininkystės ūkiuose tirtas kiaulių chlamidiozės paplitimas. Mėginiai surinkti iš 24 kiaulininkystės ūkių kiaulių. Tyrimai atlikti Lietuvos veterinarijos akademijos

Užkrečiamų ligų katedros virusologijos laboratorijoje, Kauno visuomenės sveikatos centro laboratorijoje, Nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje ir Uppsalos universiteto klinikinės bakteriologijos institute (Švedija).

Ištirti 2502 kraujo serumo ir 56 nugaišusių paršelių parenchiminiai organų mėginiai. TIF metodu ištirti 1633 kiaulių gleivinių tepinėliai. *C. psittaci* nustatymui LK-oje buvo ištirti 252 kiaulių patloginės medžiagos mėginiai surinkti iš Kauno ir Švenčionių rajonų ūkių.

KSR atlikta pagal Terskich I.I., 1979 metodiką. KSR naudota nustatant priešchlamidinius komplementą sujungiančius antikūnus kiaulių kraujo serumuose. Šioje reakcijoje, panaudojus specifinį antigeną, galima atlikti chlamidijų rūšių diferenciaciją. Reakcija nėra jautri, nes užsikrėtusių gyvulių kraujyje specifiniai IgG poklasiai susidaro santykiu $IgG1:IgG2 = 1:4$. Šiuo atveju KSR randamas tik IgG1 poklasis, nes IgG2 nesujungia jūrų kiaulyčių komplemento.

Priešchlamidinių antikūnų analizę atlikome komerciniais Odesos biofabriko (Ukraina), "Behringwerke" (Vokietija) ir "Bioveta" (Čekijos Respublika) gamybos antigenais bei mūsų pasigamintais pagal Volkert A. ir Christensen B., (1955) metodiką, modifikuotą V.I. Červonskij ir O.M. Popovos, (1958) antigenais. Reakcijoje naudojome kontrolinius (imuninius) triušų ir galvijų serumus. Reakciją vertinome pagal 50 procentinę eritrocitų hemolizę. Serumus skiedėme nuo 1:8 iki 1:128.

Yra du fluorescuojančių antikūnų tyrimo metodai - tiesioginis ir netiesioginis. Tiriant tiesioginės imunofluorescencijos metodu naudojami specifiniai antikūnai konjuguoti fluoresceinu. Monokloniniai antikūnai reaguodami su *C. psittaci* membranų proteinais sukelia EK ir RK švytėjimą. Reakcijoje naudojamas fluoresceinizotiocianatu (FITC) žymėtas specifinis imunoglobulinas, kuris jungiasi su tiriamoje medžiagoje esančiu chlamidijų antigenu. Naudojome komercinius "Syva Mikro Track" ir "Chlamyset" diagnostikumus. Netiesioginiam imunofluorescencijos metodui specifiniai chlamidijoms antikūnai naudojami be fluoresceino. Po to naudojamas priešrūšinis imunoglobulinas dažytas fluorochromais. Gaunamas švytintis kompleksas antigenas + antikūnas + žymėti antirūšiniai antikūnai.

MIF reakciją atlikome pagal E.Jawetz 1970 m. metodiką. Jos principas yra artimas netiesioginės imunofluorescencijos reakcijai.

Tyrimė panaudojome netiesioginės MIF reakciją su inaktyvuotu *C. psittaci* L 4 serotipo antigenu, pagamintu N.F.Gamalėjos mikrobiologijos ir epidemiologijos instituto chlamidiozių laboratorijoje. Darbui naudojome FITC žymėtus pelių antikūninius IgG antikūnus.

IFA metodas pagrįstas tuo, kad aptinkant tiriamoje medžiagoje antigeną, naudojamas specifinis imuninis serumas, kurio antikūnai turi fermentinį žymenį (pvz. peroksidazę). IFA reakciją atlikome pagal M. Domeikos ir kt.1985m. metodiką. Naudojome specifinį antigeną,

pagamintą iš chlamidijų (*C. psittaci*) LO-7 padermės. Susidaręs antigeno ir antikūno kompleksas išaiškinamas spalvinėje reakcijoje, vertinant mikrospektrofotometrais "Sumal" ir "Syva Mikrotrack".

PGR buvo atlikta Švedijos Uppsalos universiteto klinikinės bakteriologijos institute pagal metodikas aprašytas D. R. Pollard ir kt. 1989 m. Tyrėme vieno mėnesio amžiaus paršelių, nugaišusių nuo ūmios pneumonijos, plaučius, kepenis ir blužnį.

Reakcijoje naudotos padermei specifinės *C. psittaci* (CMOMPM / CPSMOMPC), *C. trachomatis* (CMOMPN / CTMOMPC) ir *C. pneumoniae* (CMOMPN / CPNMOMPC) sekos. Buvo aptiktos *C. psittaci* 1.200 ilgio sekų poros. Tyrimui buvo pasirenkamas reikalingas DNR segmentas, kuris vėliau buvo dengiamas susintetintomis trumpomis nukleotidų sekomis, vadinamomis pradžiomis.

LK tyrimui naudojome chlamidijomis užkrėtus vištų embrionus ir McCoy linijos ląsteles.

Tyrimų rezultatai. Ištyrę 2502 kiaulių kraujo serumo mėginius, priešchlamidinius komplementą sujungiančius antikūnus nustatėme 192 mėginiuose (7,7 %). Analizuojant serologinius tyrimus nustatyta, kad chlamidijomis užsikrėtusių kiaulių skaičius buvo nuo nulio Prienų ir Trakų rajonuose iki 22,0 % Mažeikių rajone ($2,53 \pm 1,06$ log). Kaišiadorių rajone chlamidijomis buvo infekuota 17,2 % kiaulių, Panevėžio – 13,5 % ir Vilkaviškio raj. 12,3 % kiaulių atitinkamai. Chlamidijomis užsikrėtusių kiaulių rasta mažai Šiaulių (1,2 %) ir Klaipėdos (2,5 %) rajonų ūkiuose (1 lentelė).

Išnagrinėję serologinio tyrimo rezultatus nustatėme, kad vidutiniškai 13,0 (0,5 %) kiaušės buvo užsikrėtę chlamidijomis. Didžiausias nukrypimas (9,5 %) nuo vidutinio kiaušė užsikrėtimo skaičiaus nustatytas Mažeikių ir (4,8 %) Kaišiadorių rajonų ūkių kiaušė serumuose. Nagrinėjant pirmos lentelės duomenis pagal Lietuvos administracinį suskirstymą didžiausias priešchlamidinių antikūnų kiekis rastas Telšių apskrityje (22,0 %), Panevėžio (13,5 %), Tauragės (9,3 %), Vilniaus (7,8 %), Marijampolės (7,3 %) ir mažiausiai rasta Kauno (5,7 %), Klaipėdos (4,5 %) bei Šiaulių apskrityse (2,8 %).

Analizuodami 2 lentelėje pateiktus duomenis matome, kad sergančių penimų kiaušė grupėje nustatyta 2,3 karto daugiau kiaušė, užsikrėtusių chlamidijomis negu pirmoje grupėje. Penimų kiaušė grupėje ištyrus visus gyvulius rasta 5,1 %, o sergančių grupėje – kiaušė infekuotų chlamidijos buvo 13,9 % - 2,7 karto daugiau. Veislinėje bandoje sergančių kiaušė buvo 12,2 % t.y. 2,5 karto daugiau negu bendroje grupėje. Priešchlamidinių komplementą sujungiančių antikūnų tyrimai parodė, kad penimų kiaušė grupėje nustatyta 8,8 % mažiau užsikrėtusių chlamidijomis kiaušė. Persirgusios įvairiomis ligomis kiaušė buvo infekuotos chlamidijomis 2,7 karto daugiau negu penimos.

1 lentelė. Kiaulių chlamidiozės paplitimas ūkiuose 1990 – 2001 metais (NKSR)

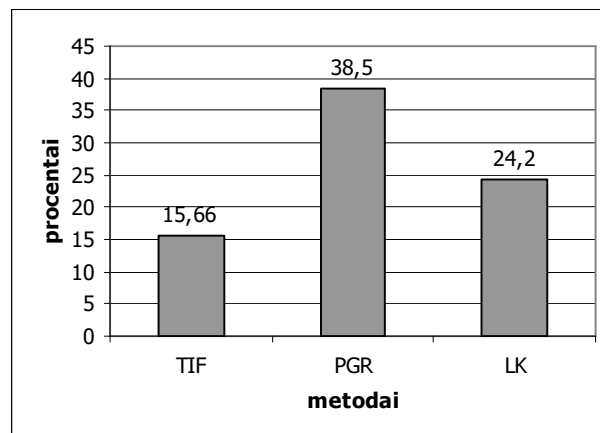
Eil. Nr.	Rajonas	Tirtų serumo mėg. skaičius	Rasta teigiamų	%	Log2 M±m
1.	Jurbarko	107	10	9,3	2,20±0,86
2.	Kaišiadorių	116	20	17,2	2,57±0,63
3.	Kauno	602	22	3,7	1,23±0,44
4.	Kėdainių	19	1	5,3	0,00±0,00
5.	Klaipėdos	40	1	2,5	0,00±0,00
6.	Marijampolės	308	16	5,2	1,09±1,14
7.	Mažeikių	109	24	22,0	2,53±1,06
8.	Panevėžio	349	47	13,5	1,88±1,04
9.	Prienų	22	0	0	0,00±0,00
10.	Radviliškio	77	6	7,8	1,58±0,00
11.	Šakių	56	3	5,4	0,50±0,71
12.	Šiaulių	241	3	1,2	1,58±0,00
13.	Šilutės	117	6	5,1	1,29±0,41
14.	Švenčionių	141	15	10,6	1,44±1,77
15.	Trakų	52	0	0	0,00±0,00
16.	Vilkaviškio	146	18	12,3	1,98±1,5
	Viso	2502	192	7,7	1,24±0,59

2 lentelė. Sveikų ir sergančių kiaulių chlamidiozės serologinių tyrimų rezultatai (NKSR)

Kiaulių grupės	Tirta iš viso mėginių		Iš jų sergančių	
	mėginių sk.	teigiamų sk. (%)	mėginių sk.	teigiamų sk. (%)
Penimos	432	21 (5,1)	108	15 (13,9)
Veislinė banda	2011	98 (4,9)	716	87 (12,2)
Iš viso	2443	119 (4,9)	824	108 (11,0)

KSR, TIF, IFA, NIF ir MIF metodais ištyrėme 1633 kraujo, akių gleivinės, uretros, makštų, apyvarpės bei spermos mėginius. KSR metodu priešchlamidiniai antikūnai nustatyta 259-uose (15,8 %) kraujo mėginiuose. Ištyrus TIF metodu teigiamų rasta 487 (29,8 %) 1,9 karto daugiau negu KSR. Tiriant IFA metodu 614 kraujo mėginių nustatyta 35,7 % kiaulių užsikrėtusių chlamidijomis arba 2,6 kartus daugiau negu KSR (13,8 %). Tiriant NIF metodu nustatyta 28,6 % arba 1,8 karto daugiau infekuotų kiaulių chlamidijomis negu KSR (16,1 %). Analizuojant 94 mėginius MIF ir KSR metodais nustatėme, kad pirmojoje reakcijoje rasta teigiamų 31,9 % arba 2,1 karto daugiau negu KSR (14,9 %). Palyginamasis kiaulių enzootinio aborto tyrimo metodų įvertinimas parodė, kad daugiausiai (35,7 %) specifinių antikūnų chlamidijoms nustatyta IFA metodu, kuris buvo 2,6 karto jautresnis negu KSR. Tiriant šiuo metodu atskirose kiaulių grupėse nustatyta 13,8 -16,1 % kiaulių, turinčių priešchlamidinius antikūnus. MIF testas buvo 17,0 % jautresnis negu KSR.

Pastaraisiais metais medicinoje, biologijoje ir veterinarijoje plačiai taikomas PGR metodas. Tyrimų analizė parodė, kad PGR buvo 22,9 % jautresnė už TIF metodą. 252 tiriamieji mėginiai buvo analizuojami TIF ir LK metodais. Šių tyrimų analizė parodė, kad pastarasis metodas yra 8,4 % jautresnis negu TIF reakcija. Specifiškumu ir jautrumu LK ir TIF metodai nusileidžia PGR 14,4 ir 23,5 % atitinkamai. Duomenys pateikiami paveiksle.

Paveikslas. *C. psittaci* antigeno nustatymo metodų palyginimas

PGR pasižymi dideliu specifiškumu, apie ką liudija 38,6 % mėginių, kuriuose nustatyti *C. psittaci* specifinės DNR sekos (CMOMPM / CPSMOMPC). Nustatytos 1.200 ilgio sekų poros. PGR pagalba galima tiksliai atlikti chlamidijų rūšinę diferenciaciją.

Atlikus kiaulių chlamidiozės tyrimo metodų palyginamąjį įvertinimą nustatyta, kad PGR 2,9 % yra jautresnė už IFA metodą. Tačiau kiaulių chlamidiozės epizootinei situacijai nustatyti IFA metodas yra ekonomiškėnis. Šiuo metodu rajonų kiaulininkystės ūkiuose buvo išaiškinta 35,7 % kiaulių, turinčių specifinius antikūnus.

Aptarimas. Chlamidiozė (enzootinis kiaulių abortas) nustatytas daugelyje pasaulio šalių. Chlamidijomis gali

užsikrėsti žmonės, gyvuliai, žvėrys ir paukščiai [Quinn, 1990]. 1992 m. chlamidijos buvo suskirstytos į 4 padermes: *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* ir *C. pecorum*.

C. trachomatis - sukelia žmonėms trachomą, klinikinę ir asimptominę urogenitalinę patologiją, Reiterio sindromą, bronchopneumoniją, endokarditą, gastroenterokolitą. Naujagimiams - laringitą, pneumoniją, vidurinės ausies uždegimą ir kt.

C. pneumoniae žmonėms sukelia kvėpavimo takų patologiją: sinusitą, faringitą, bronchitą, pneumoniją. Literatūroje kartais šis sukėlėjas vadinamas TWAR, nes pirmasis izoliatas buvo pavadintas TW-83, o kitas - AR - 39. *C. pneumoniae* padermė identifiukuota 1986 m.

C. pecorum išskirta 1994 m. Manyta, kad tai yra tik galvijams patogeniškas mikroorganizmas. Ši chlamidijų padermė ne kartą buvo izoliuota iš kiaulių parenchiminių organų.

C. psittaci - žmonėms ir paukščiams sukelia ornitozę ir psitakozę. Jos galvijams sukelia pneumoniją, enteritą, veršelių poliartritą, karvių mastitą, abortą ir metritą. Smulkiems atrajotojams - sukelia enzootinį abortą, pneumoniją, poliartritą ir orchitą. Arkliai užsikrėtę chlamidijomis susergeria pneumonija, artritu. Kumelėms liga pasireiškia nevaisingumu ar negyvų vaisių atsivedimu. Šunų chlamidiozei būdingi įvairūs klinikiniai požymiai. Jiems dažnai pastebima pneumonija, gastroenteritas, karščiavimas. Kartais liga pasireiškia lėtiniu keratokonjunktyvitu ar nevaisingumu. Kačių chlamidiozei būdingos pneumonijos ir konjunktyvitai.

Dėl vaisiaus organų degeneracijos paršavedės abortuoja, veda mažo svorio paršelius, jų gaištumas siekia iki 90 %. Išlikusiems paršeliams nustatomi enteritai, pneumonijos, artritai, odos nekrozės. Kuiliams chlamidijos sukelia lėtinį šlaplės uždegimą, poliartritą, židininį orchitą, keratitą, balanopostitą ir uretritą.

Kiaulių sergamumą enzootiniu abortu skatina blogos gyvulių laikymo sąlygos ir įvairūs stresai, pvz. gyvulių pervežimas, ženklavimas ir kt. Atsparūs infekcijai gyvuliai persergeria asimptomine ligos forma [Lichtenwaler, 1997; Багдонас, 1973].

Pirminis infekcijos šaltinis ir pagrindinis enzootinio kiaulių aborto židinyje yra sergantys ir persirgę gyvuliai. Epizootiniu požiūriu jie ypač pavojingi, nes su jų sekretu ir ekskretais į aplinką patenka sukėlėjai. Didžiausią grėsmę kelia abortuoti vaisiai, jų dangalai ir vandenys. Dažnai chlamidijos randamos užsikrėtusių reproduktorių spermoje.

Dėl patognominių požymių įvairovės enzootinį kiaulių abortą diagnozuoti sunku. Jį tenka diferencijuoti nuo: klasikinio kiaulių maro, Aujeskiro, japoniško encefalito, gripo, transmisinio gastroenterito, pikorna, parvovirusų, KRRS ir virusinių ligų sukeliančių SMEDI sindromą [Bagdonas, 2000].

Enzootinis kiaulių abortas diagnozuojamas įvertinus ligos kliniką, epizootinių, patmorfologinių, histologinių ir laboratorinių tyrimų duomenimis. Per pastarąjį penkiasdešimtmetį šios ligos epizootiniams tyrimams buvo naudojami nevienareikšmiai traktuojami

serologiniai tyrimai [Vodas, 1987; Wachendorfer, 1980].

Pagal duomenis pateiktus literatūroje matome, kad enzootinio kiaulių aborto stebėsenai buvo taikomi įvairiausi specifinių antikūnų sintezės bei chlamidijų antigenų nustatymo metodai. Rusijos tyrinėtojai nurodo, kad netiesioginės KSR metodu išaiškinta nuo 13,3 iki 42,7 % kiaulių užsikrėtusių chlamidijomis daugiau negu tiriant KSR [Щербанъ, 1982]. Mūsų atlikti serologiniai tyrimai liudija, kad Lietuvoje nustatyta 4,1 karto mažiau gyvulių užsikrėtusių chlamidijomis negu Ukrainoje [Бортничук, 1991], 2,3 karto mažiau negu Bulgarijoje [Yonkova, 1997], 1,7 karto mažiau negu Austrijoje [Quenberger, 1990] ir 4,7 karto mažiau negu Indijoje [Joshi, 1997].

Tačiau atlikus priešchlamidinių antikūnų palyginamąjį įvertinimą matome, kad IFA metodu buvo išaiškinta 2,3 karto daugiau kiaulių užsikrėtusių chlamidijomis negu juos tiriant KSR. Apie tai, kad IFA metodas šiuo metu yra jautriausias priešchlamidinių antikūnų nustatymui, liudija daugelio autorių atlikti tyrimai [Domeika, 1993; Holland, 1996; Kimani, 1996; Louv, 1989; Вишнякова, 1975]. V.A. Bortničuk nurodo, kad jų tyrimų duomenimis IFA metodu buvo išaiškinta 17,5 % daugiau užsikrėtusių chlamidijomis negu KSR [Бортничук, 1991]. Vokietijoje atlikta analogiškų tyrimų analizė parodė, kad IFA metodu buvo nustatyta 22,2 % daugiau infekuotų kiaulių chlamidijomis negu KSR [Wollen, 1990]. Szeredi L. nustatė, kad IFA metodu buvo nustatyta 54,0 % daugiau kiaulių turinčių priešchlamidinių antikūnų negu KSR [Szeredi, 1996]. Įvairiose šalyse gauti nevienodi minėtų antikūnų kiekybiniai palyginamieji rezultatai rodo, kad epizootiniams tyrimams didelę reikšmę turi pasirinktas metodas, jo specifiškumas bei jautrumas.

Palyginus penkis priešchlamidinių antikūnų (KSR, TIF, IFA, NIF, MIF) tyrimų metodus paaiškėjo, kad IFA metodas tik 3,7 % jautresnis už MIF reakciją. TIF metodu buvo nustatyta 29,8 %, o NIF 28,6 % kiaulių užsikrėtusių enzootinio aborto sukėlėju.

Atliekant enzootinio kiaulių aborto seroepizootinę analizę tikslinga panaudoti bent du laboratorinių tyrimų metodus (pvz. IFA ir MIF), kurie papildydami vienas kitą, leidžia tiksliau nustatyti chlamidijomis infekuotas kiaules.

Išvados.

1. Serologiniais tyrimais nustatėme, kad kiaulių enzootinio aborto paplitimas Lietuvos rajonų kiaulininkystės ūkiuose buvo nuo 0 iki 22,0 %. Specifinių antikūnų kiekybinis įvertinimas buvo $1,24 \pm 0,59 \log_2$.

2. Daugiausiai kiaulių (13,9 %), turinčių priešchlamidinius antikūnus, buvo sergančių penimų kiaulių grupėje arba 2,85 karto daugiau negu visoje veislinėje bandoje.

3. Kompleksiniais (KSR, TIF, IFA, MIF, NIF) tyrimų metodais nustatyta, kad kiaulių enzootinio aborto sukėlėju išaiškinimui jautriausias (35,7 %) buvo IFA metodas, leidžiantis diagnozuoti 2,6 karto daugiau kiaulių, užsikrėtusių chlamidijomis negu KSR.

4. Pirmą kartą Lietuvoje panaudojus PGR specifines sekas (CMOMPM/CPSMOM) buvo nustatyta 38,6 % kiaulių, turinčių *C. psittaci* genetinę medžiagą. Tyrimų rezultatai parodė, kad PGR yra 2,5 karto jautresnė negu LK metodas.

5. Išaiškinta, kad PGR gali būti taikoma chlamidijų rūšinei diferencijacijai, leidžiančiai atskirti *C. psittaci* nuo *C. trachomatis* bei *C. pneumoniae*.

Padėka. Dėkojame Upsalos klinikinės bakteriologijos instituto (Švedija) Pr.Dr. Mariui Domeikai už pagalbą atliekant PGR.

Literatūra

1. Bagdonas J. Kiaulių chlamidiozė ir jos diferencinė diagnostika. Kaunas: Candela. 1998. P.78
2. Bagdonas J., Gerulis G., Baliukonienė V. ir kt. Chlamidijų bioimunologinių savybių tyrimas. Veterinarija ir zootechnika. 2000. T.9 (31). P. 5-11
3. Bagdonas J., Tamašauskienė B., Liutkevičienė V. Kiaulių chlamidiozė ir jos diagnostikos ypatybės Veterinarija ir zootechnika. 1996. N.1(23). P. 20-25.
4. Davidson H., Rogers D., Yeary T. and etc. Conjunctival microbial Flora of clinically normal pigs. American Journal of Veterinary Reserch. 1994. N. 55:7. p. 949-951.
5. Domeika M., Ganusauskas A., Bassiri M. & Mårdh P-A. Comparison of polymerase chain reaction, direct immunofluorescence, cell culture and EIA for the detection of *Chlamydia psittaci* in bull semen. Vet. Microbiology. 1994. N. 42:4. p.273-280.
6. Domeika M., Liutkevičienė V., Džiugienė D. Lietuvos ūkių galvijų chlamidiozų seroepizootinė situacija // Veterinarija: mokslo darbai. Lietuvos veterinarijos akademija. Vilnius. 1991. P. 32-37.
7. Domeika M., Mårdh P-A. ABC on infection by Chlamydia. Uppsala. 1993. P. 57-64.
8. Heinen E. Untersuchungen zur Aetiologie von Fruchbarkeitsstorungen und Atemwegserkrankungen beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung von paramyxoviren und Chlamydien. 1994. Fachbereich Veterinarmedizin. Justus-Liebig-Universita/Giesen. Germany. P.119-146.
9. Holland M.J., Bailey R.L., Conway F. and etc. T helper type-1 (Th-1)/Th2 profiles of periferal blood mononuclear cells (PBMC); responses to antigens of Chlamydia trachomatis in subjects with trachomatis-endemic population // Clin. Exp. Immunol.1996. Vol. 105. p. 429-435.
10. Yonkova V., Lyutskanova V., Lupcke W. Chlamydia - associated infections in humans and animals in Varna region [of Bulgaria]. Scripta- Scientifica- Medica. 1997. 29:Supp 4. 10 ref. P.127-130.
11. Joshi V., Katoch R., Nagal K., Batta M., Asrani R., Sharma M. Serosurvey of Chlamydia psittaci infections among livestock and human beings employings complement fixation test. Journal of Applied Animal Research. 1997. 12 ref. P.163-168.
12. Kimani J., Maclean I.W., Bwayo J.J., et al. Risk factors for Chlamydia trachomatis pelvic inflammatory disease among sex workers in Nairobi. Kenya // J. Infect. Dis. 1996. Vol. 173. P. 1437-1444.
13. Lichtenwaler A.B., Patton D.L., Sweeney C. et al. Evidence of genetic susceptibility to Chlamydia trachomatis induced pelvic inflamatory disease in pig-tailed macaque // Infect. Immun. 1997. Vol. 65. P. 2250-2253.
14. Louw WC., Austin H., Perlman J., Alexander WJ. Oral contraceptive use and risk of chlamydial and gonococcal infections // Am.J.Obstet. Gynecol.1989.Vol.160. P.396-402.
15. Mårdh P. A., Oriol D. Genital chlamydial infections // Chlamydial infections: Cambridge Univ. Press. 1990. P.293-302.
16. Mahony J.B., Luinstra K.E., Sellors J.W., Chornesky M.A. Comparison of polimerase chain reaction (PCR), enzyme immunoassay and culture for the diagnosis of Chlamydia trachomatis infections in symptomatic and asymptomatic male an female / Chlamydial infections: Cambridge Univ. Press. 1990. P.487-490.
17. Martinov S.P., Kazachka D., Shoilev H. and etc. Studies on the *Chlamydia psittaci* infection in birds and humans // J. Biotechnol & Biotechnol. Eq. 11/1997/1. P. 74-80.
18. Pienaar J.G., Schutte A.P. The occurrence and pathology of chlamydiosis in domestic and laboratory animals: A review. Onderstepoort J. Vet. Res. 1975. N. 42. p.77-90.
19. Quenberger P., Schuller W., Awad-Masalmeh M. Untersuchung uber das Vorkommen von komplementbindenden Anticorpern gegen Chlamydia psittaci und Toxoplasma gondii beim Schwein in den einzelnen Bundeslandern Osterreichs. Wiener Tierarztliche Monatsschrift. 1990. N. 77:9. p.285-290.
20. Quinn T.C., Bobo L., Holland S.M. and etc. Diagnosis of Chlamydia trachomatis cervical infection by polymerase chain reaction // Chlamydial infections. Cambridge Univer. Press.1990. p.491-494.
21. Rodolakis A. Les infections à *Chlamydia psittaci*: acquisitions aviairescanines et félines // Port. Med. Chir. Comp. 1993. Nr. 28. P. 321-330.
22. Schiller I., Koesters R., Weilenmann R., Kaltenboeck B., Pospischil A. Polymerase chain reaction (PCR) detection of porcine Chlamydia trachomatis and ruminant Chlamydia psittaci serovar 1 DNA in formalin-fixed intestinal specimens from swine. Zentralbl Veterinarmed. 1997. 44(3). p.185-91.
23. Storz J. Chlamydia and chlamydia-induced diseases. Springfield Illinois. Charles Thomas. 1971.p.293.
24. Szeredi L., Schiller T., Sydler T. and etc. Intestinal Chlamydia in finishing pigs. Veterinary Pathology.1996. 33(4). p. 369-374.
25. Tait I.A., Rees E, Hobson D, Byng R.E. and etc. Chlamydial infection of the cervix in contacts of men with nongonococcal urethritis // Br.J.Venerol. Dis.1980.Vol.56. p.37-45.
26. Vodas K., Martinov S.V, The epizootic process with year-old female sheep experimentally infected with *Salmonella abortus ovis* and *Chlamydia psittaci*. Central Veterinary Research Institute. Sofia. 1987. P. 248-251.
27. Wachendörfer G., Lohrbach W, Neuere Erkenntnisse zur humanpathogenitat von saugtierchlamydien. Berl. und Münch. Tierärztl. Woch. 1980. 93(13). P.248-51.
28. Wollen N., Daniels E.K., Yeary T., Leipold H.W., Phillips R.M. Chlamydial infection and perinatal mortality in a swine herd. Journal of the American Veterinary-Medical Association. 1990. 197(5). P. 600-601.
29. Багдонас И., Терских И.И., Абрамова Л.Н. Выделение и идентификация возбудителя пневмонии телят в Литовской ССР // Тезисы докладов всесоюзной межвузовской научной конференции по ветеринарной вирусологии. М. 1973. Ч.1. С.93.
30. Барановская Е.И., Мельникова Л.Н., Бельская С.В., Думова С.В. Роль хламидийной урогенитальной инфекции в патологии женщин, проживающих на территории, загрязненной радионуклидами, Чернобыльская катастрофа 15 лет спустя: Науч.практ.аспекты пробл. Могилев.26 апр.2001 г./Мн.:Тесей.с. 416.
31. Бортничук В.А. Хламидиоз свиней // Киев. Урожай.1991.с.5-192.
32. Вишнякова Л.А. Изучение специфичности иммуглобулинов различных классов (IgM, IgG) в течение орнитозной инфекции // Вопр. Вирусологии.1975. N 5. С. 611-616.
33. Любецкий В.И. Выживаемость хламидий в мясе и субпродуктах // Научно практическая конференция.Тез. Докл.Минск. 1983. С. 153-154.
34. Погуляева Л.В. К изучению этиологии пневмонии свиней // Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии. М. 1973. Ч. 2. С. 19-21.
35. Терских И.И. Орнитоз и другие хламидийные инфекции.1979. Москва. Медицина. С.229-240.
36. Щербань Г.П., Фирсова Г.Д., Воскресенская Т.Г. Хламидиоз свиней //Ветеринария.1982. С.55-58.

2002 06 04