

GALVIJŲ VIRUSINĖS DIARĖJOS PAPLITIMAS LIETUVOJE IR KONTROLĖS PRIEMONIŲ EFEKTYVUMAS NUSTATANT PERSISTENTIŠKAI INFEKUOTUS GALVIJUS

Rolanas Kliučinskas¹, Kazimieras Lukauskas², Jonas Milius³, Mykolas Mauricas⁴

¹*Imunotechnologijos skyrius, Imunologijos institutas, Molėtų pl. 29, LT–2021, Vilnius; tel. (8–6) 87 94 644; El. paštas: rkliucinskas@vet.lt*

²*Užkrečiamų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g.18, LT – 3022 Kaunas; tel. (8–6) 98 48 910; el. paštas: klukauskas@vet.lt*

³*Nacionalinės veterinarijos laboratorijos direktorius, Nacionalinė veterinarijos laboratorija, Kairiūkščio g. 10, LT–2021, Vilnius; tel. (8–6) 87 50 100; el. paštas: jmilius@nvl.lt*

⁴*Imunologijos instituto direktoriaus pavaduotojas, Imunologijos institutas, Molėtų pl. 29, LT–2021, Vilnius; Tel. (8–6) 98 89 322; el. paštas: mauricas@imi.lt*

Santrauka. Straipsnio tikslas – įvertinti galvijų virusinės diarėjos (GVD) viruso paplitimą, kontrolės priemonės Lietuvos Respublikoje (LR) 2001–2003 metais ir apibendrinti naujausius metodus, siekiant visiškai likviduoti ligą. Visi laboratorinių tyrimų duomenys gauti iš akredituotos Nacionalinės veterinarijos laboratorijos (NVL). Galvijų GVD serologiniai tyrimai antikūnų ir antigenų atžvilgiu buvo atliekami imunofermentinės analizės (IFA) metodu iš kraujo serumo. Per trejus metus buvo ištirti 6 843 kraujo serumo mėginiai, 2 571 nustatyti GVD antikūnai (37,5%). Teigiami GVD antikūnų (Ak) tyrimų rezultatai kasmet svyravo nuo 23,5% iki 47,6%. Tiriami gyvuliai buvo suskirstyti į grupes pagal amžių ir lytį: prieauglį, bulius, telyčias bei karves. Atlikus trejų metų tyrimų rezultatų apibendrinimą nustatyta, kad daugiausia GVD teigiamų – 54,6% – priklauso karvių grupei, tuo tarpu prieauglis sudaro tik 26,1% visų ištirtų gyvulių. Tyrimai buvo atliekami visose LR apskrityse. Atsižvelgiant į tyrimų rezultatus, nustatyta kiekvienos apskrities epizootologinė situacija. Daugiausia tyrimų atlikta išvystytose galvijininkystės apskrityse. Jose ir nustatyta daugiausia galvijų, teigiamai reagavusių į GVD Ak: Klaipėdos apskrityje – 55,9%, Marijampolės – 53,6%, Šiaulių – 47,1%, Telšių – 39,7%, Panevėžio – 31,3%, Kauno – 22,7%. Mažiausiai į GVD Ak galvijų reagavo Alytaus apskrityje – 4,2%.

2001 metais NVL pradėjo kraujo serume tirti GVD antigenus (Ag). Jų nustatymas padėjo identifikuoti persistentiškai užsikrėtusius galvijus – pagrindinį viruso platinimo šaltinį. Iš viso ištirtas 4191 kraujo serumo mėginys GVD Ag atžvilgiu, 24 iš jų rasti teigiami. Tačiau tik šešiais atvejais nustatyta, kad galvijai tikrai buvo persistentiškai infekuoti.

Raktažodžiai: galvijų virusinė diarėja (GVD), virusas, *Pestivirus*, *Flaviviridae*, imunofermentinė analizė (IFA), antikūnai (Ak), antigenai (Ag), persistentiškai infekuotas (PI).

PREVALENCE OF BOVINE VIRAL DIARRHEA IN LITHUANIA AND EFFECTIVENESS OF CONTROL MEASURES IN IDENTIFYING PERSISTENTLY INFECTED CATTLE

Summary. The aim of this study was to evaluate an effectiveness of control measures for bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in Lithuania during 2001–2003. The BVD investigation data used in this article were supplied by the reference National Veterinary Laboratory (NVL). An enzyme-linked immunosorbent assay was used to analyse sera for antibodies against BVD. During the study period 6843 samples were analysed and 2571 were found BVDV positive. The BVDV sero-prevalence varied from 23.5% to 47.6%. The cattle from which the samples had been collected were grouped according to age and sex: bulls, cows, heifers, and calves. The investigations showed that 54.6% of cows were sero-positive for BVDV whereas only 26.1% of calves had antibodies. BVD sero-prevalence was the highest in the areas of intensive animal husbandry: Klaipėda (55.9%), Marijampolė (53.6%), Šiauliai (47.1%), Telšiai (39.7%), Panevėžys (31.3%) and Kaunas (22.7%). In Alytus county only 4.2% of cattle were found BVD positive. At the beginning of 2001, NVL started to investigate cattle sera for BVD antigens in an attempt to detect persistently infected cattle in the herds. The result of this investigation showed that of 24 BVD antigen-positive cattle, only 6 were persistently infected.

Keywords: Bovine viral diarrhoea (BVD), virus, *Pestivirus*, *Flaviviridae*, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), antibodies (Ab), antigens (Ag), persistently infected (PI).

Įvadas. Lietuva – žemės ūkio šalis, čia ypač palankios sąlygos gyvulininkystei ir augalininkystei. 2003 metų sausio mėnesį šalyje užregistruoti 928 897 galvijai, iš jų 491 857 (52,9%) – karvės. Pienininkystė itin svarbus sektorius, nes 55% visų pieno produktų išvežami į užsienio šalis. Pieninių galvijų produktyvumas, sveikatingumas ir tinkamas veisimas labai svarbus krašto ekonomikai. Galvijų virusinė diarėja yra vienas iš veiksnių, sąlygojančių galvijų bandos sveikatingumą, reprodukciją bei pieno primilžį.

GVD virusas, avių pasienio ligos virusas bei klasikinio kiaulių maro virusas priklauso *Pestivirus* genties

Flaviviridae šeimai (Becher, Thiel, 2002). Visiems pestivirusams būdingas gebėjimas pereiti placentos barjerą (Meyers, Thiel, 1996). GVD virusas gali užkrėsti galvijus, avis, rečiau – kitus atrajotojus ir kiaules (Becher, König, Paton, Thiel, 1995). GVD – vienas labiausiai paplitusių galvijų virusų pasaulyje. Šio viruso pasireiškimas galvijų bandose padaro didelius finansinius nuostolius (Baker, 1987). Nuostoliai yra susiję su reprodukcijos sutrikimais. Net pusė galvijininkystės nuostolių patiriama dėl PI gyvulių, nuolat platinančių virusą (Houe, 1995). Priklausomai nuo GVD virusų elgsenos ląstelių kultūrose, jie skirstomi į citopatogeninius

ir necitopatogeninius štamus (Brownlie, 1990). Pasireiškęs GVD gali sukelti daugybę padarinių: vaisingumo problemą, imunosupresiją, diarėją, trombocitopeniją, pieno primilžio mažėjimą (Thiel, Plagemann, Moennig, 1996). Gyvuliams, besilaukiantiems palikuonių, transplacentinė infekcija gali sukelti abortus, vaisius gali gimti negyvas, išsigimimės, o palikuonims gali sukelti persistentišką infekciją. Persistentiškai užsikrėtę gyvuliai virusą platina visą savo gyvenimą. Gleivinių liga, ypač sunki GVD viruso forma, pasireiškianti klinikiniais požymiais. Liga būdinga tik persistentiškai sergantiems gyvuliams (Arias, 2003). Gleivinės liga serga nedaug gyvulių (1%), tačiau labai daug jų gaišta. Dažniausiai liga pasireiškia išskyromis iš nosies gleivinės, opomis virškinamajame trakte, kraujuojančia diarėja. Žarnų submukoziniame sluoksnyje nustatomi arteriolių, mažų arterijų vaskuliarinių sienelių segmentinė nekrozė bei perivaskuliarinių limfmazgių uždegimai (Liebler-Tenorio et al., 2000). Šia forma veršeliai gali užsikrėsti nėštumo periodu tarp 30 ir 150 dienos (Oirschot et al., 1999). Tokie gyvuliai imunotolerantiški tam GVDV štamui, kuriuo buvo infekuoti ir lieka nuolat viremiški visą gyvenimą (Nettleton, Entrican, 1995). Imunotolerancija apsiriboja konkrečiu ncp virusu, prieš persistuojantį virusą nesiformuoja specifiniai antikūnai ar citolitinės T ląstelės (Lopez et al., 1993). PI gyvuliams dažniausiai klinikiniai požymiai nepasireiškia, nors dalis veršelių apatiški, mažesnio svorio, nekoordinuotų judesių. Tokie veršeliai ilgai neišgyvena (Brown et al., 1973).

Lietuvoje galvijų virusinės diarėjos ligos diagnozavimą, kontrolę bei likvidavimo priemones reglamentuoja ir įgyvendina Valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba. Ligos kontrolės ir likvidavimo procese dalyvauja kontroliuojamų objektų savininkai, valstybiniai ir privatūs veterinarijos gydytojai, kurie savo darbe vadovaujasi Lietuvos Respublikos veterinarijos įstatymu (Žin., 1992, Nr. 2-15) ir VMVT direktoriaus 2000 m. spalio 16 d. įsakymu Nr. 281 „Dėl galvijų virusinės diarėjos kontrolės ir kovos priemonių reikalavimų patvirtinimo“ (Žin., 2001, Nr. 4-120). Privatūs ir valstybiniai veterinarijos gydytojai privalo užtikrinti teisingą mėginių paėmimą bei tinkamą transportavimą į Nacionalinę veterinarijos laboratoriją. NVL šiame įsakyme atsakinga už GVD tyrimus Ak bei Ag atžvilgiu, o VMVT pavaldžios tarnybos – už sanitarinių priemonių vykdymą ūkiuose, bandos sveikatos pažymėjimų bei leidimų vežti galvijus transporto priemonėmis išdavimą, importo bei eksporto kontrolę, sanavimo ir vakcinacijos programų organizavimą, visų galvijininkystės objektų priežiūrą.

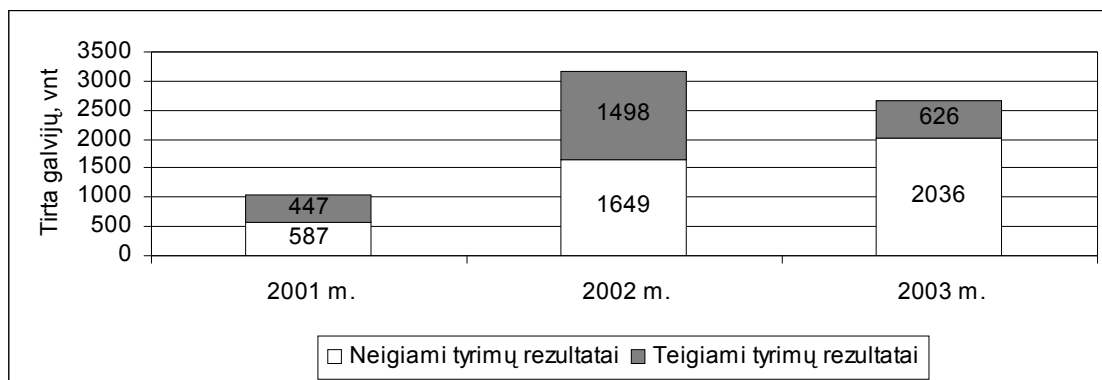
Darbo tikslas – išanalizuoti ir įvertinti šalyje vykdomą GVD kontrolės bei kovos su liga priemones; visus duomenis, gautus per trejus metus, apdoroti ir VMVT pateikti išvada bei pasiūlymus dėl tolimesnės GVD kontrolės bei viruso paplitimo sumažinimo galvijų bandose.

Tyrimo medžiagos bei metodika. Visi GVD tyrimai per 2001–2003 metus NVL buvo atliekami iš galvijų

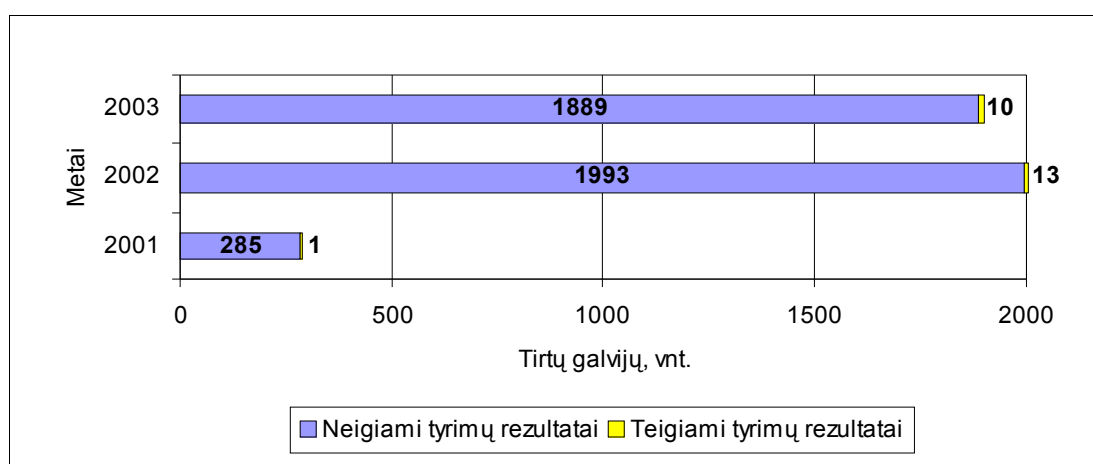
kraujo serumo mėginių. IFA metodas tyrimams buvo pasirinktas dėl to, kad jis pritaikytas masiškai tirti mėginius, atliekamas greitai ir paprastai, bet ląstelių kultūros neveikia (Beauudeau et al., 2001). Privatūs veterinarijos gydytojai turėjo paimti kraujo mėginius, užpildyti lydraščius ir nurodyti, kad imunofermentinės analizės metodu reikia ištirti GVD Ak arba Ag atžvilgiu. Visi mėginiai imti vienkartinėmis priemonėmis ir iki tyrimo laikyti -20°C temperatūroje. NVL kiekvieno galvijų mėginiai buvo tiriami atskiruose diagnostikumo šulinėliuose individualiai. Sudėtiniai mėginiai nebuvo sudaromi. Per trejus metus NVL Virusologijos skyrius GVD tyrimams naudojo keturių firmų diagnostikumus (Institut Porquer, IDEXX, Cidetest, Ingezim), dažniausiai – pagamintus Porquer institute (60%). Jais galima ištirti GVD tiek Ak, tiek Ag atžvilgiu. IFA tyrimų esmė ta, kad specifiniai GVD viruso antikūnai tiriamajame mėginyje konkuruoja arba blokuoja peroksidaze konjuguotus virusui P80 specifinius monokloninius antikūnus. IFA tyrimai buvo atliekami tiksliai, kaip nurodyta diagnostikumų gamintojų metodikose. NVL pagal patvirtintą metodiką inkubuoja mėginius trumpąja inkubacija – 1 valandą (± 5 min.) $+21^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) temperatūroje. Atliktų tyrimų rezultatai vertinami spektrometru matuojant tiriamojo mėginio optinį tankį, kai bangos ilgis $\lambda = 450$ nm (Mockeliūnienė ir kt., 2002). Tyrimų rezultatams įvertinti ir patikslinti (naudojant Porquer institute pagamintus diagnostikumus) apskaičiuojamas kiekvieno tirtu serumo mėginio validacijos kriterijus bei konkuravimo procentas. Tyrimams naudojant kitų firmų diagnostikumus, rezultatai apskaičiuojami tiksliai pagal gamintojų nurodymus. Jei rezultatai abejotami, tyrimas kartojamas po trijų savaičių.

Tyrimų duomenys. 2001–2003 metais NVL iš viso GVD Ak atžvilgiu buvo ištyrė 6 843 galvijų kraujo serumo mėginius, iš kurių 2 571 (37,5%) buvo teigiami (1 grafikas). Įsigaliojus VMVT direktoriaus 2000 m. spalio 16 d. įsakymui Nr. 281 „Dėl galvijų virusinės diarėjos kontrolės ir kovos priemonių reikalavimų patvirtinimo“ (Žin., 2001, Nr. 4-120), pradėtas sistemingas GVD viruso likvidavimas veislininkystės įmonėse, sustabdytas užkrėstų gyvulių importas į Lietuvą. 2001–2003 metais GVD tyrimų atlikta 77% daugiau nei 1998–2000 metais. 2001-aisiais ištirti 1 034 galvijų kraujo serumo mėginiai, 2002 metais – 3 147, 2003 metais – 2 662, iš jų 2 571 buvo teigiami (37,5%).

Siekdama nustatyti persistentiškai užkrėstus galvijus, nuo 2001 metų NVL pradėjo tirti galvijų kraujo serumo mėginius GVD Ag atžvilgiu. Užkrėsti galvijai yra pagrindinis GVDV platinimo šaltinis bandoje. Su sekretu ir ekskretu (seilės, nosies išskyros, sperma, šlapimas, fekalijos, pienas) galvijai platina virusą bandoje (Pilinkienė, Pieškus, 2001). Trejų metų GVD tyrimų rezultatai Ag atžvilgiu pateikti 2 grafike. Nuo 2001 iki 2004 metų ištirtas 4 191 galvijų kraujo serumo mėginys GVD Ag atžvilgiu. Iš jų teigiamų nustatyta 24 (0,5%). 2001 metais ištirti 286 galvijai, 2002 m. – 2 006, 2003 m. – 1 899 galvijai. Nuo 2001 metų 50% tų pačių galvijų buvo tirti tiek Ak, tiek Ag atžvilgiu.



1 grafikas. GVD serologiniai tyrimai Ak atžvilgiu 2001–2003 m.



2 grafikas. GVD serologiniai tyrimai Ag atžvilgiu 2001–2003 m.

Visi tiriami galvijai sugrupuoti pagal amžių ir lytį. Sąlyginai galvijai suskirstyti į bulius, karves, telyčias bei prieauglį (buliai, jaunesni nei 18 mėn., telyčaitės, jaunesnės nei 12 mėn.). Galvijų prieauglis dėl persistencinės GVD virusų infekcijos tiriamas ne anksčiau kaip 3 mėnesių. Per trejus metus buvo ištirti 6 843 galvijai, nustatyti 2 571 (37,5%) GVD teigiami. Karvės sudarė 39,4% bendro ištirtų galvijų skaičiaus, 42,9% –

telyčios, 12,2% – buliai, 5,5% – prieauglis. Iš 1 lentelės matyti, kad daugiausia į GVD reagojo karvės (54,6%) ir buliai (34,9%). Tuo tarpu teigiamai reaguoję prieauglis ir telyčaitės kartu sudarė 25,1% ištirtų mėginių. Remiantis laboratorinių tyrimų rezultatais galima daryti išvadą, kad tikimybė kontaktuoti ir užsikrėsti GVD virusu didėja su gyvulio amžiumi. Tam įtakos turi gyvulių judėjimas tarp ūkių, veisimas, gyvulių koncentracija regione.

1 lentelė. GVD serologiniai tyrimai Ak atžvilgiu pagal galvijų amžių ir lytį

	2001–2003 m.		
	Tirta iš viso	Teigiami	Procentas
Karvės	2691	1470	54,6
Telyčios	2941	711	24,1
Buliai	835	292	34,9
Prieauglis*	376	98	26,1
Iš viso	6843	2571	37,5

*Telyčaitės, jaunesnės kaip 12 mėnesių ir buliukai, jaunesni kaip 18 mėnesių.

Galvijai GVD atžvilgiu 2001–2003 metais buvo ištirti visose šalies apskrityse. Per trejus metus GVD atžvilgiu ištirti 6 843 kraujo serumo mėginiai. Iš jų teigiami buvo 2 571 (37,5%). Daugiausia GVD tyrimų atlikta Marijampolės, Šiaulių, Panevėžio ir Kauno apskrityse, kuriose mėginiai sudarė 85% visų ištirtų mėginių. Daugiausia teigiamų nustatyta Klaipėdos (55,9%),

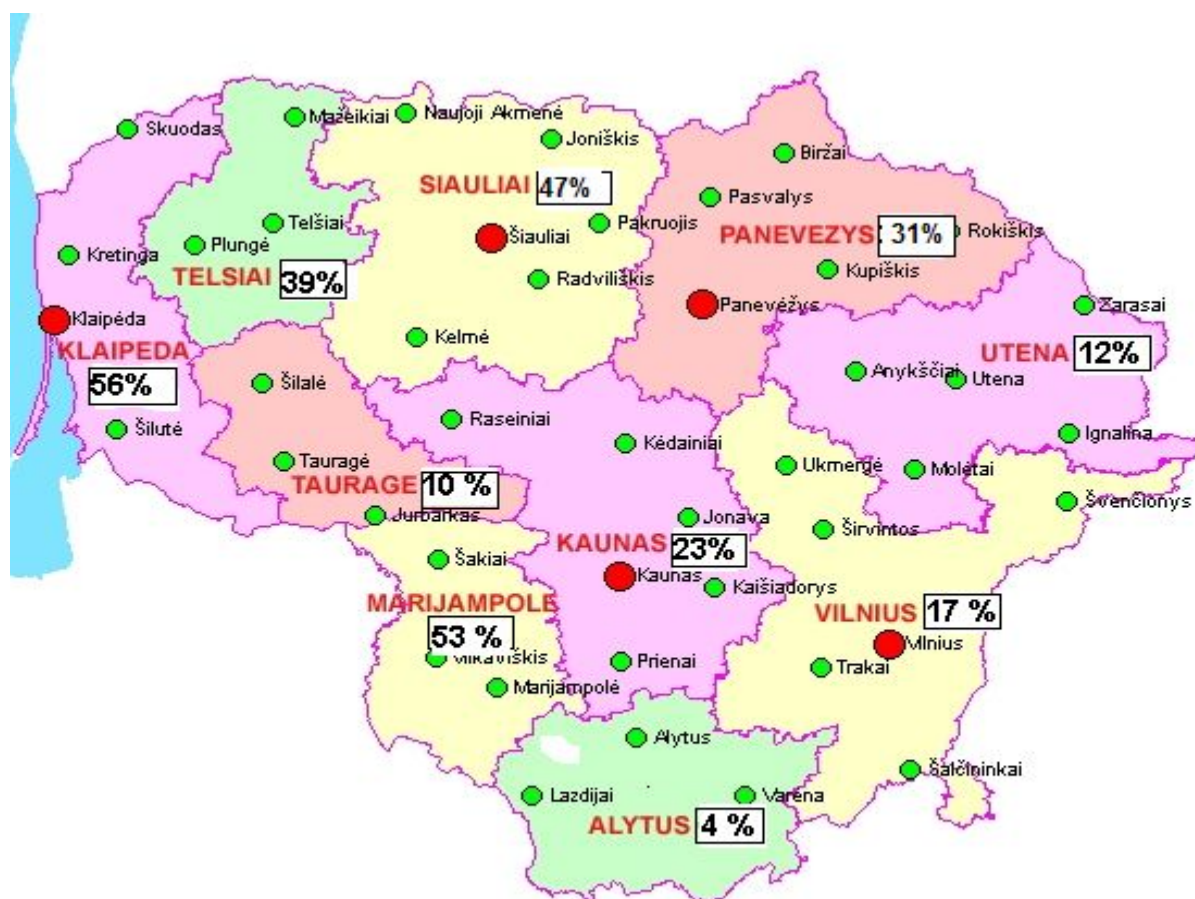
Marijampolės (53,6%), Šiaulių (47,1%) ir Telšių (39,7%) apskrityse. Apskrityse, kur galvijininkystė bei pienininkystė nėra labai išvystyta, tyrimų atlikta kelis kartus mažiau, o ir teigiamų mėginių rasta daug mažiau. Alytaus apskrityje nustatyti tik 7 teigiami GVD galvijai (4,2%), Tauragės apskrityje – 10 teigiamų (10,8%), Utenos – 14 teigiamų (11,9%). Palyginus atskirų

apskričių tyrimų rezultatus ir pavaizdavus tai žemėlapyje matyti, kad GVD virusas vyrauja Pietvakarių, Vakarų,

Vidurio ir Šiaurės Lietuvoje, kur galvijų koncentracija didžiausia.

2 lentelė. GVD serologiniai tyrimai Ak atžvilgiu šalies apskrityse 2001–2003 m.

Apskritis	2001–2003 m.			
	Galvijų skaičius	Ištirta	Teigiami, vnt.	Teigiami, %
Alytaus	52161	168	7	4,2
Kauno	124104	1221	278	22,7
Klaipėdos	87873	168	94	55,9
Marijampolės	94059	1604	861	53,6
Panevėžio	108722	1391	436	31,3
Šiaulių	132616	1584	746	47,1
Tauragės	91280	92	10	10,8
Telšių	70964	176	70	39,7
Utenos	65360	117	14	11,9
Vilniaus	76317	322	55	17,1
Iš viso	903456	6843	2571	37,5

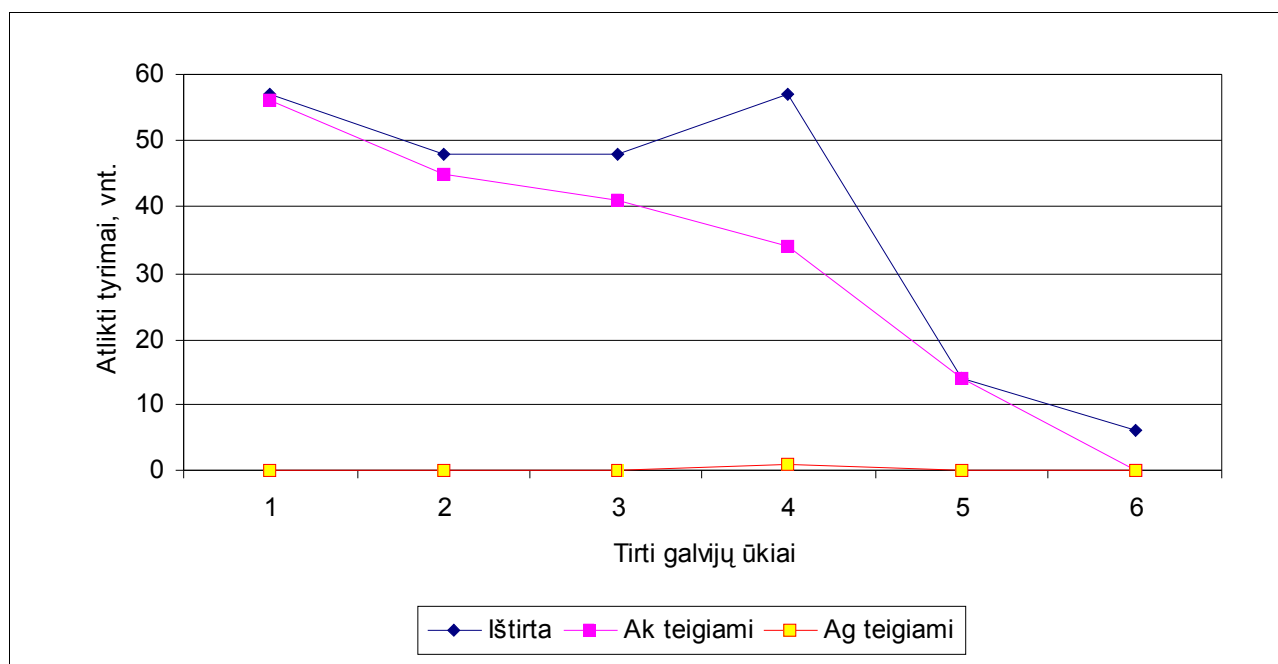


3 grafikas. Teigiami GVD serologiniai tyrimai Ak atžvilgiu šalies apskrityse 2001–2003 m., %

Nuo 2001 metų NVL galvijų kraujo serume pradėjo tirti GVD Ag. Tai buvo vienas iš svarbesnių žingsnių siekiant identifikuoti galvijų bandose persistentiškai infekuotus galvijus. Persistentiškai GVDV infekuoti galvijai, yra tie, kurie nėštumo periodu tarp 30 ir 150 dienos transplacentiniu būdu buvo užkrėsti necitopatogeniniu viruso štamu. Šiuo laikotarpiu formuojasi imuninė sistema, pašaliniai Ag laikomi savais ir nesukelia imuninio atsako. Taigi šie galvijai negali

pagaminti Ak prieš tą viruso štamą, kuriuo yra užsikrėtę. Tokie galvijai yra pagrindinis viruso bandoje šaltinis. Daugelis ūkių galvijus tyrė tiek Ak, tiek Ag atžvilgiu. GVD Ak bei Ag teigiamų tyrimų koreliacija Marijampolės apskrities ūkiuose pateikta 4 grafike. Jame matyti, kad tirti galvijai yra vienaip ar kitaip turėję sąlytį su GVD virusu ir prieš jį organizmas yra pagaminęs Ak. Keturiose bendrovėse GVD Ak atžvilgiu teigiamų galvijų nustatyta

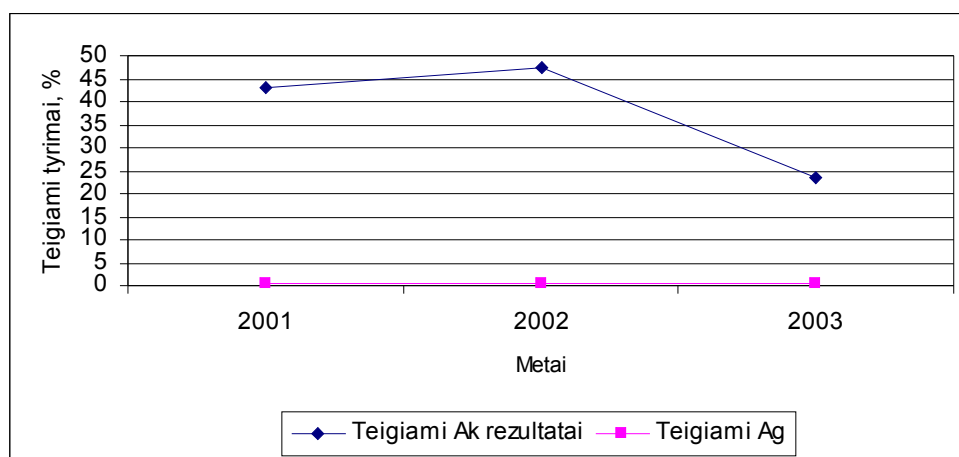
93%. Tuo tarpu teigiamai į GVD Ag reagavo tik vienas galvijai (0,4%) iš tirtų 230.



4 grafikas. Ak ir Ag teigiamų rezultatų koreliacija ištirtų mėginių Marijampolės ūkiuose 2002 m., %

Per trejus metus buvo nustatyti 24 GVD Ag atžvilgiu galvijai. Šešių Ak reakcija buvo neigiama (25%), o kitų 18–teigiama (75%). Remiantis šiais rezultatais galima daryti išvadą, kad šeši galvijai, kurių Ak reakcija buvo neigiama, buvo persistentiškai užrėsti. Kiti 18, kurių kraujo serume buvo nustatyti Ak, galėjo užsikrėsti GVD virusu neseniai (iki 10 dienų) ir taip pat platinanti bandoje virusą.

Teigiamų GVD tyrimai Ak ir Ag atžvilgiu apibendrinti 4 grafike. Jame pavaizduoti teigiamų GVDV tyrimų procentas 2001–2003 metais. Iš grafiko matyti, kad per trejus metus teigiami GVD Ak atžvilgiu galvijai sudarė 37,5%, tuo tarpu GVD Ag – 0,5%. Skirtumas tarp teigiamų GVD Ak ir Ag akivaizdus, todėl būtinos priemonės, kad kontrolė būtų efektyvesnė, o jos kaštai sumažėtų.



5 grafikas. Teigiami GVD tyrimai Ak ir Ag atžvilgiu, %

3 lentelė. Lietuvoje ištirti GVD Ak ir Ag atžvilgiu galvijai 2001–2003 m.

Metai	Galvijų skaičius, vnt.	Ištirta GVD Ak atžvilgiu, vnt.	Procentas	Ištirta GVD Ag atžvilgiu, vnt.	Procentas
2001	847357	1034	0,12	286	0,03
2002	928897	3147	0,33	2006	0,21
2003	934121	2662	0,28	1899	0,20

3 lentelėje nurodytas GVD ištirtų galvijų skaičius, kuris nesudaro 1% visų laikomų galvijų šalyje. Aiškiai matyti, kad ištirtų galvijų skaičius, siekiant išsiaiškinti PI, taip pat nėra pakankamas ir vyrauja nuo 0,03% iki 0,21% per metus.

Apibendrinimas. Galvijų kraujo serumo GVD tyrimai pradėti 1992 metais ir tęsiasi iki šiol. Nuo 2001 metų NVL galvijų kraujo serume pradėjo tirti GVD Ag. Tyrimai turėjo didelės reikšmės eliminuojant persistentiškai infekuotus galvijus iš bandų. Per trejus metus NVL ištyrė 4 191 galvijų, o GVD Ag kraujo serumo mėginius ir 24 rado teigiamus. Atlikus detalesnę analizę nustatyta, kad 18 iš jų reagavo teigiamai ir į GVD Ak. Tik 6 į GVD Ak reagavo neigiamai. Taigi darytina išvada, kad, siekiant tiksliai išsiaiškinti persistentiškai infekuotus galvijus, negana GVD tirti tik Ag atžvilgiu. Atliekant GVD tyrimus, kiekvieno gyvulio kraujo serumas tiriamas atskiruose diagnostikumų šulinėliuose. Atsižvelgiant į kitų šalių patirtį, tyrimams galima būtų naudoti ir jungtinius mėginius (Lindheim et al., 2002). NVL per trejus metus nustatė nuo 0,34% iki 0,6% galvijų, teigiamai reagavusių į GVD Ag. Priklausomai nuo apskrities, pristatytų mėginių skaičius, tirti galvijai į GVD Ak reagavo nuo 0,1% iki 1,7%. GVD kontrolės priemonės reikalauja, kad su šia liga būtų kovojama greitais ir tiksliais tyrimo metodais. IFA turi privalumą, nes šis tyrimas pigus ir greitas, ypač kai taikomas pieno mėginiams. Atliekant palyginamuosius tyrimus, tarp pieno ir serumo didelių paklaidų nenustatyta (tyrimo rezultatai sutampa 97,5% (Beaudeau et al., 2001)).

Taigi vienas iš būdų, kovojant su GVD, galėtų būti tiriamų galvijų bandų skaičiaus didinimas, panaudojant jungtinius pieno mėginius. Jungtiniai mėginiai leistų nustatyti galvijų GVD bandos statusą ir įgyvendinti tolesnes ligos likvidavimo priemones. Tyrimai iš pieno leistų lengviau, nežalojant gyvulių, paimti mėginius ir juos transportuoti į laboratoriją pigesniais sąnaudomis. Jungtiniai pieno mėginiai galėtų būti vienas iš rodiklių, teikiančių informaciją apie galvijų bandos statusą. 1,0 arba didesnis absorbcijos koeficientas rodo, kad bandoje gali būti persistentiškai infekuotas vienas ar keli gyvuliai. Tuo tarpu mažesnis arba lygus 0,2 absorbcijos koeficientas rodo, kad rasti persistentiškai infekuotą galviją bandoje beveik neįmanoma (OIE, 2000). Tačiau toks rezultatų vertinimas ne visada tikslus, kadangi galvijų bandoje esant labai dideliame GVD Ak procentui bus didesnis ir absorbcijos koeficientas, o tai ne visada susiję su PI galvijais bandoje (Zimmer et al., 2002).

Lyginant RT-PCR su kitais tyrimų metodais nustatyta, kad šio metodo jautrumas ir specifiškumas yra šimtaprocentinis identifikuojant PI gyvulius karvių bandoje. RT-PCR gali būti taikomas kartu su IFA nustatant galvijų GVD bandos statusą. Jungtiniai pieno mėginiai iš pradžių gali būti tiriami GVD Ak atžvilgiu. Mėginiai, kuriuose nustatytas 1,0 arba didesnis absorbcijos koeficientas, gali būti tiriami RT-PCR. Greitieji tyrimų metodai taikomi laktuojantiems galvijams, todėl identifikuojant PI užtrukusioms karvėms ir kitų kategorijų galvijams turi būti taikomi kiti tyrimų metodai (Trevor et al., 1999). Praktiškai tiriant PCR privalu sieti su individualiu kiekvieno gyvulio ištyrimu GVD atžvilgiu (Gamal et al., 1995).

Galvijų amžius taip pat turi įtakos GVD pasireiškimui bandoje. Per trejus metus ištyrus GVD Ak atžvilgiu 2 691 karvę, 2 941 telyčią, 835 bulius, 376 prieauglius, daugiausia teigiamų nustatyta vyresnių galvijų grupėse (54,6%). Vadinasi, daug galvijų reagavo į GVDV antigeninę stimuliaciją. Su gyvūnų amžiumi proporcingai didėja ir tikimybė kontaktuoti su GVDV (Mockeliūnienė ir kt., 2002).

Pavojingiausias GVD viruso patekimo į galvijų bandas šaltinis yra nekontroliuojami nauji galvijai bandoje ir kontaktas su galvijais iš kitų bandų (Lindberg, Alenius, 1999). GVD kontrolės programa bei persistentiškai infekuotų galvijų likvidavimas davė teigiamų rezultatų – GVDV užkrėstų galvijų palaipsniui mažėja. Tačiau, siekiant likviduoti ligą, būtina vienodai taikyti teisės aktus ir kontrolės priemones visose apskrityse. Ypatingas dėmesys turėtų būti skiriamas bandoms, naudojančioms tas pačias ganyklas, tarpusavyje prekiaujančioms gyvais galvijais. Taip pat būtina dažniau ir kruopščiau GVD Ag ir Ak atžvilgiu tirti galvijų jungtinius kraujo serumo ar pieno mėginius. Užkrėstuose ūkiuose būtina dažniau vykdyti veterinarijos kontrolę ir sudaryti epidemiologinius žemėlapius (Lindheim et al., 2002). GVD užkrėstumo žemėlapyje matyti, kad daugiausia teigiamų rezultatų nustatyta apskrityse, kur galvijininkystė ir pienininkystė intensyvesnė. Įvertinus Marijampolės apskrityje stambių ūkių galvijų GVD Ak tyrimų rezultatus, nustatyta 82,6% teigiamų atvejų.

Galima daryti išvadą, kad įtaką GVDV plitimui turi didelė galvijų koncentracija ir nepakankamai kontroliuojamas galvijų judėjimas tarp ūkių. Svarbu skatinti ūkininkus, kurie užsiima mėsinių veršelių pirkimu bei auginimu, pirkti juos tik iš tų ūkių, kuriuose GVD bandos statusas neigiamas (Gånheim et al., 2002). Siekiant efektyviau kovoti su GVD, būtina kuo daugiau ištirti galvijų, tad pirmiausia, panaudojant jungtinius kraujo serumo ir pieno mėginius, reikia nustatyti galvijų bandų statusą GVD atžvilgiu. Vėliau, pasitelkus RT-PCR, tiksliai identifikuoti persistentiškai infekuotus galvijus.

Literatūra

1. Arias P., Orlich M., Prieto M., Cedillo Rosales S., Genetic heterogeneity of bovine viral diarrhoea viruses from Spain/ Vet. Microbiol. 96. 2003.P. 327–336.
2. Baker J. C. Bovine viral diarrhoea virus: a review. / J. Am. Vet. Med. Assoc. 190. 1987, P.1449–1458.
3. Beaudeau F., Belloc C., Seegers H., Assie S., Sellal A., Joly A., Evaluation of blocking ELISA for detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. / Vet. Microbiol. 80. 2001. P. 329–337.
4. Becher P., Thiel H. J., 2002. Genus *Pestivirus* (Flavaviridae). In: Tidona, C. A., Darai, G. (Eds.). The Springer Index of Viruses. Springer, Heidelberg, Germany. P. 327–331.
5. Becher P., König M., Paton D., Thiel H.-J., 1995. Further characterization of border disease virus isolates: evidence for the presence of more than three species within the genus pestivirus. / Virology 209. P. 200–206.
6. Brown T. T., Lahunta A., Scott F. W., Kahr R. F., McKentee K., Gillespie J. H. Virus induced congenital anomalies of bovine fetus / Histopathology of cerebellar degeneration induced by the virus of the bovine viral diarrhoea / Cornell Veterinarian. 1973. Vol. 63. P. 561–578.
7. Brownlie J. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus/ Vet. Microbiol., 1990. 23. P. 371–382.

8. Gamal S. Radwan, Kenny V. Brock, Joseph S. Hogan, K. Larry Smith, Development of a PCR amplification assay as a screening test using bulk milk samples for identifying dairy herds infected with bovine viral diarrhoea virus / *Vet. Microbiol.* 44. 1995. P. 77–92.
9. Gånheim C., Alenius S., Persson Waller K., More severe respiratory disease in calves experimentally infected with Mannheimia hemolytica following BVDV infection compared to single M. hemolytica infection / Abstracts – XXII World Buiatrics Congress 2002, 18 – 23 August, Hannover, Germany. P. 171–491.
10. Houe H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus / *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 1995. Vol 11. P. 521–547.
11. Liebler-Tenorio E. M., Lanwehr A., Greiser-Wilke I., Loehr B. I., Pohlenz J. Comparative investigation of tissue alterations and distribution of BVD-viral antigen in cattle with early onset versus late onset mucosal disease. / *Vet. Microbiol.* 77. 2000. P. 163–174.
12. Lindberg, A. L., Alenius, S., 1999. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet. Microbiol.* 64. P. 197–222.
13. Lindheim D., Nyberg O., Plym Forshell K., Nafstad O., Completion of the Norwegian bovine virus diarrhoea (BVD) eradication programme - a demanding challenge / Abstracts – XXII World Buiatrics Congress 2002, 18 – 23 August, Hannover, Germany. P. 172–370.
14. Lopez O.J., Osorio F.A., Kelling C.L., Donis R.O. Presence of bovine viral diarrhoea virus in lymphoid cell populations of persistently infected cattle / *Journal of General Virology.* 1993. Vol. 74. P. 925-929.
15. Meyers G., Thiel H. J. Molecular characterization of pestiviruses / *Advances in Virus Research.* 1996. Vol 47. P. 53–118.
16. Mockeliūnienė V., Ščerbavičius R., Šalomskas A., Seroepizootiniai galvijų virusinės diarėjos tyrimai Lietuvos galvijų populiacijoje/ *Veterinarija ir zootechnika T.* 17 (39). 2002.
17. Nettleton P.F., Entrican G. Ruminant pestiviruses / *British Veterinary Journal.* 1995. Vol. 151. P. 615–642.
18. OIE Manual of standarts for diagnostic tests and vaccines, 4th edition, 2000. Bovine viral diarrhoea.
19. Oirschot J. T., Brusckhe C. J., Rijn P. A. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea / *Veterinary Microbiology.* 1999. Vol 64. P. 169–183.
20. Pilinkienė A., Pieškus J., Bovine viral diarrhoea: etiology, immunopathology, diagnostics and control/ *Veterinarija ir zootechnika T.* 13 (35). 2001.
21. Thiel, H.-J., Plagemann, P.G.W., Moennig, V., 1996. Pestiviruses, 3rd ed. In: Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds), *Fields Virology*, vol. 1, 2 vols. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, PA. P. 1059–1073.
22. Trevor W. Drew*, Fenella Yapp, David J. Paton, The detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk samples by the use of a single-tube RT-PCR / *Vet. Microbiol.* 64. 1999. P. 145±154.
23. Zimmer G., Schoustra W., Graat E. A. M., Predictive values of serum and bulk milk sampling for the presence of persistently infected BVDV carries in dairy herds. / *Res. Vet. Science.* 2002 72. P. 75–82.