

AVIŲ ENZOOTINIO ABORTO PAPLITIMO IR DIAGNOSTIKOS TYRIMAI LIETUVOJE

Jonas Bagdonas, Algirdas Šalomska, Saulius Petkevičius, Žilvinas Augustinavičius, Gediminas Gerulis, Raimundas Mockeliūnas

Užkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas; tel. (8-686) 94 008, faks. (8-37) 36 24 17; el. paštas: bagdonas@lva.lt

Santrauka. Pirmą kartą Lietuvoje tirtas avių enzootinio aborto (chlamidiozės) paplitimas ir diagnostikos metodų jautrumas bei specifiskumas mažųjų atrajotojų populiacijoje. Buvo nustatyti šios infekcijos simptomai, diagnostikos ypatumai ir įvairių veiksnių įtaka. Avininkystės fermose 2004–2005 m. atlikti enzootinio aborto klinikiniai, serologiniai ir imunologiniai tyrimai. Komplemento jungimosi reakcija nustatyta, kad avių enzootinio aborto sukėlėjos (chlamidijos) yra paplitusios tarp 26,9 proc. tirtų avių. Mažiausiai (23,1 proc.; antikūnų titrų vidurkis 3,191 log₂; p<0,05) infekuotų avių nustatyta iki 18 mėn. amžiaus grupėje. Daugiausia (53,8 proc.; antikūnų titrų vidurkis 4,224 log₂; p<0,001) teigiamai reagavusių buvo 18–24 mėn. amžiaus grupėje. Vyresnio amžiaus grupėse antikūnų geometrinio vidurkio titras mažėjo ir daugiau kaip trejų metų avių grupėje (M = 3,486 ± 0,075 log₂). Ištyrus abortavusių avių kraujo serumą nustatyta, kad daugiausia (86,36 proc.) infekuotų gyvulių buvo 18–24 mėn. amžiaus grupėje, kurioje priešchlamidinių antikūnų titrų geometrinis vidurkis M=4,929 ± 0,344 log₂. Abortavusių avių antikūnų titrų geometrinis vidurkis statistiškai nesiskyrė nuo bendro vidurkio ir tarp atskirų grupių (p<0,05). Abortavusių avių grupėje nustatyta 2,5 karto daugiau gyvulių, infekuotų chlamidijomis, negu visų tirtų avių grupėje. Ištyrę NIF metodu avių pataloginės medžiagos atspaudėlius nustatėme, kad vidutiniškai 54,5 proc. mažųjų atrajotojų buvo infekuotos enzootinio aborto sukėlėjomis – chlamidijomis (*Chlamydomphila abortus ovis*). Daugiausia (66,7 proc.) šių mikroorganizmų nustatyta atspaudėliuose, paruoštuose iš abortavusių avių placentų.

Raktažodžiai: avys, enzootinis abortas, klinika, komplemento sujungimo reakcija, imunofluorescencija.

THE PREVALENCE AND DIAGNOSTIC METHODS OF EWES ENZOOTIC ABORTION IN LITHUANIA

Jonas Bagdonas, Algirdas Šalomska, Saulius Petkevičius, Žilvinas Augustinavičius, Gediminas Gerulis, Raimundas Mockeliūnas

Department of Infectious Diseases, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės st. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; Phone: +370-686 94 008; fax: +370 37 36 24 17; e-mail: bagdonas@lva.lt

Summary. The purpose of performed research was to investigate the prevalence of enzootic abortion of ewes (EAE) caused by *Chlamydiae* in Lithuania and to compare the sensibility and specificity of different diagnostic methods. The clinical, serological and immunological tests in different range sheep farms were performed in 2004–2005. For diagnosis of EAE the sensitivity of complement fixation reaction (CF) and immunofluorescence (IF) was compared. CF revealed that 26.9 % of tested sheep were positive to EAE. Analysis of different sheep groups according age revealed that the lowest number of infected sheep was registered in >18 month age group (23.1%, antibodies titre 3.191 log₂, P<0,05) and highest in 18-24 month age group (53.8% antibodies titre 4.224, log₂, P<0,001). In sheep aged <3 years titre of antibodies was significantly reduced. The majority of infected sheep (86.4%) was registered in 18-24 month age group. Furthermore, in aborted sheep was registered 2.5 fold higher infection level compared to non-aborted sheep. Analysis of surears from patalogical material by IF revealed that 54.5 % of animals were positive to *Chlamydomphila abortus ovis* infection. The highest prevalence of chlamydia (66.7%) was registered in placentas of aborted sheep.

Key words: enzootic abortion, ewes, complement fixation, imunofluorescence.

Įvadas. 2005 metais Lietuvos ūkiuose buvo laikoma 45 280 mažųjų atrajotojų. 1941 metais šalyje jų buvo užauginta 610 tūkst. Dėl nepalankių rinkos ekonominių sąlygų ir neišsivysčiusios avininkystės produktų gamybos bei realizavimo infrastruktūros šiuo metu šalyje vyrauja avių bandos, kur 1 770 ūkininkų laiko po 1–5 avis, 669 ūkiuose, kuriuose yra 7 069 gyvuliai, priskaičiuojama po 6–20 avių. 401-ame ūkyje laikoma po 21–100 avių. Daugiau nei 100 avių turėjo 57 ūkiai. Juose buvo 18 111 avių. Keturiuose ūkiuose avių skaičius viršijo 1 000. Šiuolaikinės ekologiškos avininkystės vystymą ir plėtojimą stabdo nepakankamas užkrečiamųjų ligų, tarp jų – enzootinio avių aborto – modernių diagnostikos, gydymo ir profilaktikos priemonių stygius.

Avių enzootinis abortas (sinonimas – avių chlamidiozė) – tai kontagiozinė infekcija, pasireiškianti abortu pas-

kutinėmis ėringumo savaitėmis arba priešlaikiniu ėriavimusi ir silpnų ėriukų atsivedimu. Ligos sukėlėjas yra *Chlamydomphila abortus ovis*, priklausantis *chlamydomphila psittaci* mikroorganizmams (Everett et al., 1999; Bagdonas, 2004). Chlamidijų taksonomija iki praeito dešimtmečio buvo pagrįsta atskirų fenotipinių ląstelių ir morfologinių požymių analize. Naujų mikroorganizmų su chlamidijoms būdingu vystymosi ciklu atradimas ir anksčiau žinomų *Chlamydia* padermių genomo tyrimai leido peržiūrėti *Chlamydiales* eilės klasifikaciją ir nomenklatūrą. Šiuolaikinei klasifikacijai taikomi griežti genų sistemos kriterijai įvairaus lygio bakterinėms taksoninėms grupėms aprašyti: 95 proc. homologija rRNR 16S ir 23S genų nukleotidų sekoje genties, 90 proc. – šeimos, 80 proc. – eilės mikroorganizmų klasės atstovams. Avių chlamidiozė nustatyta visose šalyse, kur buvo tiriama: Prancūzi-

joje, Vokietijoje, Anglijoje, Airijoje, Škotijoje, Ispanijoje, Portugalijoje, Rumunijoje, Italijoje, Bulgarijoje, Čekijoje, Graikijoje, Rusijoje, daugelyje Amerikos, Afrikos ir Azijos šalių (Hechard et al., 2003; Rekiki et al., 2004; Smith et al., 2005).

Pirmą kartą ši liga aprašyta Škotijoje 1936 metais. Išvystytos avininkystės šalyse didelius ekonominius nuostolius padaro mišrios infekcijos, tokios kaip salmoneliozė ir chlamidiozė, mikoplazmozė ir chlamidiozė, toksoplazmozė ir chlamidiozė bei kiti įvairių sukėlėjų deriniai. Pavyzdžiui, Sardinijoje ir Sicilijoje, kur laikoma 3,5 ir 2 milijonai avių, dėl minėtų infekcijų kasmet abortuoja iki 10 proc. gyvulių ir patiriama apie 10 milijonų eurų nuostolių. Apie 60 proc. avių abortų lieka nediagnozuoti. Enzootinio avių aborto sukėlėjai gerai dauginasi vištos embriono ląstelėse, įvairiose mažųjų atrajotojų organų ląstelių sistemose bei daugelyje persėjamųjų ląstelių. Sukėlėjui būdingos epiteliotropinės savybės. Daugelis laboratorinių gyvulėlių (baltosios pelytės, jūros kiaulytės, žiurkėnai ir kt.) yra jautrūs šios ligos sukėlėjui. Įvairiais metodais nudažyti elementiniai kūneliai gerai matomi su šviesos ir luminescenciniais mikroskopais. Chlamidijos yra pakankamai atsparios aplinkos veiksniams. Su išmatomis patekusios į aplinką, 5–10°C temperatūroje jos išlieka gyvybingos iki šešių mėnesių. Kambario temperatūroje nežūsta 10–15 dienų, –42°C gyvos išlieka metus. Chlamidijos jautrios cheminėms medžiagoms. Geriausios dezinfekuojamosios medžiagos yra 3 proc. chloramino, 5 proc. chlorkalkių tirpalas, formalinas, pieno rūgštis (Rekki et al., 2002).

Avių enzootinis abortas dažniausiai pasireiškia ėriavimosi laikotarpiu. Paprastai išsimeta 20–60 proc. pirmo ėringumo avių. Antrais metais bandoje išsimeta tik 5–10 proc. infekuotų avių. Persirgusios avys įgyja nesterilų imunitetą, todėl kitais metais abortuoja daug mažiau patelių. Infekcijos šaltinis yra sergančios ir persirgusios avys – chlamidijų nešiotijos. Nustatyta, kad jaunikliai gali užsikrėsti per piena, tačiau daugiausia chlamidijų išskiriama į aplinką su abortavusio vaisiaus dangalais, skysčiais, fekalijomis, šlapimu, kvėpavimo takų ekskretais ir seilėmis. Avys užsikrėčia kergimo metu. Tada vienas infekuotas chlamidijomis avinas gali užkrėsti daug sveikų patelių. Užsikrėtę patinai ilgą laiką yra chlamidijų nešiotjai (Berthier et al., 1991).

Enzootinio avių aborto inkubacinis periodas labai įvairus – nuo keleto dienų iki kelių mėnesių ir/ar metų. Trukmė priklauso nuo ėringumo, chlamidijų agresyvumo, jų dozės, užsikrėtimo būdo ir nuo gyvulio sveikatingumo bei imuniteto būklės. Slapta avių chlamidiozė nustatoma serologiniais, imunologiniais ir/ar bakteriologiniais tyrimais. Subkliniškai sergančios avys ėriuojasi normaliai, bet jų vaisių dangaluose ir išskyrose randamos chlamidijos. Jų ėriukai gimsta silpni, blogai vystosi. Tipiškos ligos atveju avys išsimeta arba ėriuojasi anksčiau laiko, atsiveda silpnus ėriukus, kurie nugaišta pirmomis gyvenimo dienomis. Dažnai avys išsimeta likus 2–3, o kartais 6–8 savaitėms iki įprasto ėriavimosi (Souriau et al., 1994). Prieš abortą avims pakyla kūno temperatūra, jos diegliuoja, atsiranda gleivėtos ir/ar pūlingos genitalinės išskyros. Likę gyvi ėriukai yra silpni, su artrito, konjunktyvito požymiais, daliniu ar visišku galūnių paralyžiumi, nekoordinuotų judesių, iškrypsiu stuburu. Kartais liga komplikuojasi plaučių uždegimu arba virškinimo sutrikimu. To-

kie ėriukai po kelių dienų dažnai nugaišta. Jeigu vaisius žūva prieš abortą, tai patelės sveikata per daug nenukenčia arba pablogėja nežymiai. Enzootinio avių aborto atveju vaisiaus poodiniame ir raumeniniame audiniuose randamos kraujosrūvos, o krūtinės ir pilvo ertmėse atsiranda rausvas serozinis skystis. Abortuotas vaisius gali būti mumifikuotas. Nustatyta, kad mėgiamiausia chlamidijų lokalizacijos vieta yra gimdos gleivinės epitelinių ląstelių citoplazma. Abortuoto vaisiaus kepenyse ir inkstuose randasi negrįžtami pokyčiai, inersticinis miokarditas ir/ar intersticinė pneumonija. Enzootinis avių abortas diagnozuojamas remiantis epizootiniais, klinikiniais, patomorfologiniais ir laboratoriniais tyrimais. Abortuoto vaisiaus dangaluose, parenchiminiuose organuose, avių išskyrose ir/ar avių spermose radus chlamidijas nustatomas enzootinis avių abortas. Avių chlamidiozė būtina diferencijuoti nuo bruceliozės, toksoplazmozės, salmoneliozės, vibriozės, listeriozės, leptospirozės, Q- karštligės, įvairių mikozų ir medžiagų apykaitos sutrikimų sukeltų ligų. Enzootiniam avių abortui būdingas tropizmas, zooniškumas, stacionariškumas. Nustatyta, kad avių enzootinio aborto sukėlėjas yra patogeniškas žmogui. Literatūroje gausu duomenų, įrodančių, kad moterų nevaisingumo, persileidimų, abortų priežastis yra chlamidijos – mažųjų atrajotojų aborto sukėlėjos. Nuo gyvulių užsikrėtę chlamidijomis žmonės gali susirgti netipiška pneumonija, konjunktyvitu, sąnarių, urogenitalinėmis ir kitokiomis ligomis (Berthier et al., 1991; Abadia et al., 2001).

Tyrimų tikslas ir uždaviniai – ištirti avių enzootinio aborto paplitimą šalies avininkystės fermose, nustatyti ligos klinikinį požymius ir įvertinti diagnostikos metodų jautrumą bei specifiškumą.

Medžiagos ir metodai. Tyrimus atlikome avininkystės fermose ir ūkiuose, Lietuvos veterinarijos akademijoje, Nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje bei Mažųjų atrajotojų ir bičių tyrimų ir studijų laboratorijoje, Prancūzijoje (Laboratoire d' Etudes et de Recherches sur les Petits Ruminants et les Abeilles). Taikėme komplemento sujungimo reakciją (KSR) ir netiesioginės imunofluorescencijos (NIF) metodus. 2003–2004 metais tyrėme avių enzootinio aborto paplitimą 15 ūkininkų ir keturių bendrovių fermose. Buvo surinkti 430 įvairaus amžiaus avių kraujo mėginiai. Po dviejų trijų savaičių iš 64 avių dar kartą buvo paimti vadinamieji poriniai kraujo mėginiai. Buvo surinkti abortavusių avių placentos ir skysčių bei 44 abortuotų ėriukų parenchiminių organų mėginiai.

Surinktus iš avių kaklo venos kraujo mėginius per naktį laikėme kambario temperatūroje. Nusistovėjusį serumą tris kartus centrifugavome 1 500 aps./min. 15 min. Visą serumą konservavome 1:10 000 praskiestu mertiolato tirpalu, išpilstėme po 1,0 ml į sterilius vienkartinis plastikinius indelius ir iki tyrimo laikėme –20°C temperatūroje. KSR atlikome mikrometodu, laikydamiesi veterinarinių laboratorinių tyrimų reikalavimų (*Manual of Diagnostic Tests and Vaccines*, 2004; Bagdonas et al., 2005). Kontrolei naudojome triušių ir/ar avių imuninį serumą. Tiriamąjį, neigiamą ir kontrolinį serumą dekomplementavome 30 min. 58,5°C temperatūros vandens vonelėje. Reakcija buvo vertinama pagal 50 proc. eritrocitų hemolizę keturių pliusų sistema. Kraujo serumą skiedėme iki 1:256, t. y. iki 7 log₂. Reakcijai naudojome Čekijoje pagamintą „Bioveta“ firmos ir Prancūzijoje gaminamą „bioMérieux“ chlamidinius diagnostikumus. Fluorescuo-

jančiam imuniniam serumui nustatyti panaudojome *Evans blue* reagentą. Tamponėliais iš sergančių avių lytinių takų buvo paimti ir į laboratoriją nusiųsti atspaudėliai. Abortų atveju buvo paimti placentos gabalėliai, abortavusiųjų išskyros iš makščių, vaisiaus parenchiminių organų ir/ar makšties sienelės gleivinės cilindrinio epitelio ląstelių atspaudėliai. Paruošti preparatai 10 min. fiksuoti šaldytu -20°C metilo spiritu ir iki tyrimo laikyti $2-8^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. NIF reakcija nustatėme chlamidijų antigeną tiriamojoje medžiagoje. Naudojome priešrūšinius komercinius G ir M fluoresceino izocianato konjugatus (Pasteur Diagnostic, Prancūzija). Reakciją atlikome pagal J. Salinas (Salinas et al., 1995) aprašytą metodiką. Rezultatai įvertinti liuminescenciniu mikroskopu (Zeiss).

Tyrimai atlikti vadovaujantis Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymu (Valstybės žinios, 1997 11 28, Nr. 108) bei poįstatyminiu aktu – LR valstybinės veterinarinės tarnybos direktoriaus įsakymu „Dėl laboratorinių gyvūnų veisimo, dauginimo, priežiūros ir transportavimo veterinarijos reikalavimų“ (1998 12 31, Nr. 4 – 361) ir „Dėl laboratorinių gyvūnų naudojimo moksliniams bandymams“ (1999 01 18, Nr. 4 16). Duomenys įvertinti matematinės statistikos pagrindais. Apskaičiuotas geometrinis vidurkis (M), vidurkio paklaida ($\pm m$). Gauti duomenys laikyti patikimais, kai $p < 0,05$. Duomenims grafiškai pateikti bei statistiniams parametrams apskaičiuoti panaudota „Graph Pad PRISM 3.0“ duomenų apdorojimo programa.

Tyrimų rezultatai. Avių klinikiniai stebėjimai parodė, kad chlamidinei infekcijai būdinga ilgalaikė susirgimo trukmė su periodiškais sveikatos pagerėjimais. Avių chlamidiniam abortui būdingas folikulinis konjunktyvitas,

pasireiškęs 35,7 proc. abortavusių gyvulių. Panašus konjunktyvitas pastebėtas esant chlamidiniam ėriukų poliartritui. Avims pažeidžiami sąnariai. Jos pradeda šlubuoti, atsilikti bandą pervarant į ganyklą ar į tvartą. Kai kurioms patelėms enzootinis avių abortas pasireiškė slapta ligos forma, be išreikštų klinikinių simptomų. Inkubacinis periodas tęsėsi nuo kelių savaičių iki pusės metų. Tyrimais nustatėme, kad paskutinį mėnesį prieš patologinį ėriavimąsi avys tapo vangios, hipodinamiškos, sumažėjo jų apetitas. Gyvuliai atsiskirdavo nuo bandos, norėdavo gulėti. Kartais kūno temperatūra joms pakildavo iki $40,5-41,0^{\circ}\text{C}$.

Nustačius avims tokius simptomus, ėringumas dažnai baigdavosi abortu. Kartais po ėriavimosi jaunikliai būdavo silpni, negyvybingi. Bandoje ligai pasireiškus pirmą sykį, susirgo visų amžiaus grupių gyvuliai. Pasikartojus enzootiniam avių abortui, liga paliesdavo tik pirmo ėringumo avytes. Po aborto ar atsivedus silpnų, negyvybingų jauniklių, avims buvo nustatytas katarinis arba katarinis-pūlingas endometritas, cervicitas ir/ar vaginitas su daugybiniais pakraujavimais lytinių takų gleivinėje. Dvylikai abortavusių avių nustatytas nuovalų užsilikimas, endometritas. Po dviejų trijų savaičių septynių avių sveikata pagerėjo. Penkioms avims rastos pūlingos, nemalonaus kvapo lytinių takų išskyros. Pasireiškus avių mastitui nustatytas serozinis-katarinis ar katarinis-pūlingas tešmens uždegimas, dėl kurio 30 proc. tirtų avių išsivystė agolaktija. Kartais lytinių takų uždegiminis procesas komplikavosi endosalpingitu. Avinams enzootinis abortas praėdavo be ryškių klinikinių simptomų. Jų lytinių organų pažeidimai (katarinis uretritas, balanopostitas ir/ar orchitas) buvo silpnai išreikšti.

1 lentelė. Patologinės medžiagos NIF metodu tyrimų rezultatai

Eil. Nr.	Patologinės medžiagos atspaudėliai iš	Ištirtų mėginių		Teigiamų mėginių	
		(n)	%	(n)	%
1	Lytinių takų	12	27,3	7	58,3
2	Placentų	9	20,5	6	66,7
3	Abortavusių avių genitalijų skysčių	8	18,2	5	62,5
4	Abortuotų ėriukų vidaus organų	9	20,5	4	44,4
5	Avinų šlapimtakių	6	13,6	2	33,3
	Iš viso:	44	100	24	54,5

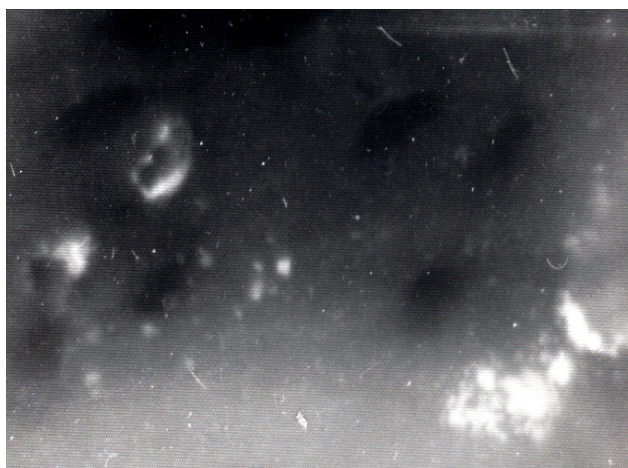
Lentelėje matyti, kad patologinės medžiagos mėginių vidutiniškai buvo priskaičiuojama nuo 13,6 proc. avinų šlapimtakių iki 27,3 proc. avių lytinių takų atspaudėlių. Avių patologinės medžiagos NIF tyrimų rezultatai su komerciniais žymėtaisiais globulinais parodė, kad mikroskopuojant 24-uose (54,5 proc.) mėginiuose nustatyti tipiški chlamidijų antigenai žaliai fluorescuojantys kūneliai arba jų sankaupos. Kadangi chlamidijos yra viduląsteliniai parazitai, dažniausiai specifinis švytėjimas pastebėtas fiksuotų ląstelių citoplazmoje (1 pav.). Dėl chlamidijų vystymosi šie kūneliai išprovokavo epitelinių ląstelių destruktinius procesus, o citoplazmoje susiformavo vakuolės. Jų viduje matėme žaliai fluorescuojančius darinius. Suirus ląstelės apvaskalėliui, atskiruose preparatuose matėme žaliai švytinčius kūnelius, netvarkingai išsidėsčiusius fiksuotoje tarpląstelinėje medžiagoje (2 pav.). Specifiškai švytintys EK buvo išsidėstę mažesnėmis ar didesnėmis grupelėmis įvairių darinių pavidalu visame matymo lauke.

Iš lentelės matyti, kad NIF metodu visose patologinės medžiagos rūšyse buvo aptiktas specifiškai chlamidijoms fluorescuojantis antigenas. Mažiausiai (33,3 proc.) šio antigeno buvo nustatyta iš avinų šlapimtakių paruoštuose atspaudėliuose. Daugiausiai (66,7 proc.) imunofluorescencijai pozityvių mėginių nustatėme atspaudėliuose, paruoštuose iš abortavusių avių placentos gabalėlių. Atspaudėliuose, paruoštuose iš abortuotų ėriukų vidaus organų, nustatyta 22,3 proc. mažiau imunofluorescencijai pozityvių mėginių nei preparatuose, paruoštuose iš placentų patologinės medžiagos. Taigi NIF metodu ištyrę avių patologinės medžiagos atspaudėlius nustatėme, kad vidutiniškai 54,5 proc. mažųjų atrajotojų buvo infekuotos enzootinio aborto sukėlėjomis – chlamidijomis.

Iš 2 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad ištyrę 15-os ūkių 430 avių kraujo serumo KSR su specifiniu (Dade Behring) antigenu, naudodami programą (COFRAC n 109 Essai IS.100), radome vidutiniškai 26,9 proc. gyvulių, infekuotų enzootinio aborto sukėlėjomis – chlamidijomis.



1 pav. Ląstelių citoplazma, pripildyta EK ir RK. NIF (x900)



2 pav. Citoplazmoje ir tarpląstelinėje substancijoje matomi EK ir RK. NIF (x900)

Didžiausioje, iki 18 mėn. amžiaus, grupėje turėjusių kontaktą su chlamidijomis buvo nustatyta 23,1 proc. tirtų

avių. Šios grupės avių antikūnų titrai buvo mažesni už vidutinį visų tirtų avių antikūnų tirtų lygį ($p < 0,05$) ir ypač skyrėsi nuo antros grupės avių geometrinio vidurkio ($p < 0,01$). Vyresnių, t. y. 18–24 mėn. amžiaus avių grupėje buvo rasta net 53,8 proc. gyvulių, turėjusių kontaktą su enzootinio aborto sukėlėjomis. Šios grupės avių priešchlamidinių antikūnų sintezė buvo intensyvesnė, jų geometrinio vidurkio titras siekė net $4,224 \log_2$ ir buvo daug didesnis ne tik už vidutinį visų tirtų avių antikūnų tirtą ($p < 0,001$), bet ir už trečios bei ketvirtos grupės vidurkį ($p < 0,05$). 23,07 proc. šios grupės gyvulių priešchlamidiniai komplementą jungiantys antikūnai nustatyti serumą skiedžiant 1:32. Trečioje grupėje buvo 21,4 proc. daugiau infekuotų chlamidijomis avių negu ketvirtojoje, nors specifinių antikūnų geometrinio vidurkio titrai skyrėsi nežymiai ($p > 0,05$).

Taigi 2 lentelėje pateiktų tyrimų ir statistinės analizės rezultatai parodė, kad visose avių amžiaus grupėse buvo nustatyti priešchlamidiniai komplementą sujungiantys antikūnai skiedžiant nuo 1:8 iki 1:32. Infekuotų gyvulių santykis svyravo nuo 23,1 proc. pirmojoje grupėje iki 53,8 proc. antroje grupėje. Vyresnio amžiaus grupėse antikūnų geometrinio vidurkio titras mažėjo, ir vyresnių nei trejų metų avių grupėje $M = 3,486 \pm 0,075 \log_2$.

Ištyrus 64 abortavusių avių kraujo serumą KSR nustatyta (3 lentelė), kad daugiausia (86,36 proc.) infekuotų gyvulių buvo antroje (18–24 mėn.) amžiaus grupėje. Šios grupės avių priešchlamidinių komplementą sujungiančių antikūnų sintezė buvo intensyvi, net 18,18 proc. tirtų šios grupės gyvulių antikūnai buvo nustatyti serume, praskiestame iki 1:128. Mažiausiai (35,26 proc.) teigiamai reaguojančio kraujo serumo su chlamidiniu antigenu buvo nustatyta trečioje (24–36 mėn.) amžiaus grupėje. Šios grupės avių priešchlamidinių komplementą sujungiančių antikūnų sintezė buvo silpniau išreikšta ir tik dviem avims nustatyti specifiniai antikūnai serume, atskiestame iki 1:64. Abortavusių avių antikūnų tirtų vidurkis statistiškai nesiskyrė nei nuo bendro vidurkio, nei tarp atskirų grupių ($p > 0,05$).

2 lentelė. Kliniškai sveikų avių kraujo serumo KSR tyrimų rezultatai

Eil. Nr.	Amžius, mėn.	Tirta (n)	Antikūnų titrai, \log_2				Teigiamų, %	Geom. vidurkis, M	Stand. paklaida, $\pm m$	p palyginti su vidurkiu
			<3	3	4	5				
1	<18	242	186	44	12	0	23,1	3,191	0,055	<0,05
2	18-24	13	6	1	3	3	53,8	4,224	0,286	<0,001
3	24-36	14	7	3	4	0	50,0	3,536	0,202	>0,05
4	>36	161	115	22	24	0	28,6	3,486	0,075	>0,05
Iš viso:		430	314	70	43	3	26,9	3,382	0,051	

Palyginamasis 2 ir 3 lentelių avių porinio kraujo serumo įvertinimas parodė, kad tirtų abortavusių avių priešchlamidinių antikūnų tirtų vidurkis yra $4,585 \pm 0,215 \log_2$ ir 1,36 karto viršija kliniškai sveikų avių antikūnų tirtų $3,382 \pm 0,051 \log_2$ vidurkį ($p < 0,01$). Abortavusių avių grupėje nustatyta 2,5 karto daugiau gyvulių, turinčių priešchlamidinių antikūnų diagnostiniame titre. Nors įvertinus 2 ir 3 lentelių 24–36 mėnesių amžiaus avių KSR tyrimus nustatyta, kad šioje grupėje abortavusių seropozityvių avių skaičius sumažėjo 14,74 proc.

($p > 0,05$). Atlikus šių dviejų lentelių statistinę analizę galima konstatuoti, kad turėjusių priešchlamidinių antikūnų abortavusių avių likusiose trijose grupėse buvo 1,4–2,47 karto daugiau. Dėl objektyvizuotos šių antikūnų sintezės dinamikos galima nustatyti, kad Lietuvos avininkystės fermose cirkuliuoja avių enzootinio aborto sukėlėjos – chlamidijos, kurių sukelta infekcija pasireiškia patelių bergždumu, negyvybingu jauniklių atsivedimu, avių abortu, agalaktija, avinų lytinės funkcijos sutrikimais.

3 lentelė. Abortavusių avių kraujo serumo KSR tyrimų rezultatai

Eil. Nr.	Amžius, mėn.	Tirta (n)	Antikūnų titras, log ₂						Teig., %	Geom. vid., M	Stand. paklaida	p palyginti su vidurkiu
			<3	3	4	5	6	7				
1	<18	14	6	2	1	3	2	0	57,14	4,479	0,419	>0,05
2	18-24	22	3	4	3	2	6	4	86,36	4,929	0,344	>0,05
3	24-36	17	7	1	5	0	2	2	35,26	4,714	0,458	>0,05
4	>36	11	5	0	2	1	3	0	54,54	3,595	0,333	>0,05
Iš viso:		64	21	7	11	6	13	6	67,18	4,585	0,215	

Pastaba. p apskaičiuotas grupių antikūnų titrus lyginant su visų tirtų avių antikūnų titrų vidurkiu.

Aptarimas. Dėl nepalankių rinkos ekonomikos sąlygų ir netobulos avininkystės produktų gamybos neišsivysčiusios realizavimo infrastruktūros 2004 metais Lietuvos avininkystės fermose ir ūkiuose buvo auginama 17,13 karto mažiau avių negu paskutiniaisiais tarpukario metais. Chlamidijų taksonomija iki pastarojo dešimtmečio buvo pagrįsta atskirų fenotipinių ląstelių ir morfologinių požymių analize. Naujai klasifikacijai taikomi griežti genų sistemos kriterijai įvairaus lygio bakterinėms taksonominėms grupėms aprašyti (Bagdonas, 2004). Avių enzootinio aborto sukėlėjas *Chlamydophila abortus ovis* pavadintas pagal pagrindinį susirgimo simptomą. Ši rūšis paplitusi tarp atrajotojų ir dažniausiai kolonizuoja placenta, gimdą, kiaušides bei kitas urogenitalinės sistemos epitelines ląsteles. Avių enzootinis abortas, išplitęs visame pasaulyje, padaro nemažą ekonominių nuostolių avininkystei, kelia grėsmę žmonių sveikatai (Rekiki et al., 2004; Smith et al., 2005).

Pirmą kartą mūsų atliktais seroepidemiologiniais tyrimais nustatyta, kad Lietuvos avininkystės fermose 26,9 proc. avių turėjo priešchlamidinių komplementą sujungiančių antikūnų, kurių titrų geometrinis vidurkis $3,382 \log_2 \pm 0,051$. Daugiausiai (53,8 proc.) seropozityvių avių nustatyta 18–24 mėn. amžiaus grupėje, kurioje priešchlamidinių antikūnų titrai buvo $4,224 \log_2 \pm 0,286$ ($p < 0,001$). Taigi mūsų atliktų serologinių tyrimų ir statistinės analizės rezultatai parodė, kad visose avių amžiaus grupėse buvo rasta priešchlamidinių komplementą sujungiančių antikūnų. Infekuotų gyvulių santykis svyravo nuo 23,1 proc. avių iki 18 mėn. amžiaus grupėje ir 53,8 proc. avių 18–24 mėn. amžiaus grupėje. Tokie enzootinio aborto seroepidemiologiniai tyrimai aiškinami tuo, kad avys, būdamos chlamidijų nešiotijos, dažnai suseraga ėringumo metu ir apsiėriavusios. Suaktyvėjęs komplementą sujungiančių antikūnų sintezei, KSR išaiškinama daugiau seropozityvių gyvulių (Jorgensen, 1997; Rekiki et al., 2004). Enzootiniu abortu persirgusios avys įgauna nesterilų imunitetą, todėl kitais metais abortuoja mažiau patelių. Tyrimais nustatėme, kad paskutinį mėnesį iki patologinio ėriavimosi avys tapo vangios, sumažėjo jų apetitas, kūno temperatūra pakildavo iki 41,0°C. Šitokia klinika kartais baigdavosi abortu arba negyvybingų jauniklių atsivedimu. 27,3 proc. avių buvo nustatytas nuovalų užsilaikymas, 30 proc. – tešmens uždegimas. NIF metodo tyrimų rezultatai parodė, kad avinams enzootinio aborto sukėlėjai neišprovokuoja ryškios klinikos, ir jie lieka šios infekcijos platintojais. Daugiausia (66,7 proc.) imunofluorescencijai pozityvių mėginių nustatėme atspaudėliuose, paruoštuose iš abortavusių avių placenta. Apie chlamidijų diseminaciją

abortavusių avių ir jų atvestų ėriukų vidaus organuose liudija daugelis enzootinio aborto tyrinėtojų (Hechard et al., 2003; Salich Alj Debbah et al., 2002). Mūsų tyrimais NIF metodu buvo nustatyta, kad vidutiniškai 54,5 proc. mažųjų atrajotojų buvo infekuotos enzootinio aborto sukėlėjomis – chlamidijomis.

Enzootinio avių aborto diagnostikoje svarbią vietą užima porinio kraujo serumo tyrimų KSR rezultatai (Smith et al., 2005). Mūsų atliktų KSR tyrimų duomenys parodė, kad seropozityvių abortavusių avių buvo 32,56 proc. daugiau, negu visų tirtų avių 18–24 mėn. amžiaus grupėje. Visose abortavusių avių grupėse nustatyta 40,28 proc. daugiau infekuotų chlamidijomis, negu bendroje avių grupėje. Palyginamasis sveikų ir sirgusių avių porinių kraujo serumo tyrimų įvertinimas parodė, kad jų priešchlamidinių antikūnų titrų geometrinis vidurkis ($3,382 \pm 0,051 \log_2$) buvo ženkliai didesnis $4,585 \pm 0,215 \log_2$ už sveikų avių šių titrų rezultatus ($p < 0,0001$).

Išvados.

1. Pirmą kartą Lietuvoje epidemiologiniais, klinikiniais ir serologiniais tyrimais nustatyta, kad 26,9 proc. tirtų avių yra seropozityvios enzootinio aborto sukėlėjo atžvilgiu. Priešchlamidiniai komplementą sujungiantys antikūnai nustatyti visų tirtų avių amžiaus grupėse. Daugiausia (53,8 proc.) infekuotų avių, kurių antikūnų titrų geometrinis vidurkis $4,224 \pm 0,286 \log_2$, rastas 18–24 mėn. amžiaus grupėje.

2. Porinio kraujo serumo tyrimų KSR rezultatai parodė, kad abortavusių avių priešchlamidinių antikūnų titrų geometrinis vidurkis M buvo diagnostikai reikšmingas, nes $1,203 \log_2$ didesnis už visų tirtų avių minėtų antikūnų vidurkį.

3. Imunologiniais (NIF) tyrimais nustatyta, kad 54,5 proc. patologinės medžiagos tirtų mėginių aptikti specifiskai *Chlamydophila abortus ovis* švytinčių EK ir RK, kurie buvo išsidėstę ląstelių citoplazmos vakuolėse ir/ar tarpląstelinėje substancijoje.

4. Avių enzootiniam abortui diagnozuoti ir diferencijuoti nuo kitos etiologijos panašių susirgimų būtina atlikti porinio kraujo serumo tyrimą KSR ir patologinės medžiagos atspaudėlių mikroskopavimą NIF metodu.

Padėka. Autoriai nuoširdžiai dėkoja Laboratoire d'Etudes et des Recherches sur les Petits Ruminants et les Abeilles bendradarbiams dr. **Michel PEPIN** ir inžinieriui tyrėjui **Pierr RUSSO**, geranoriškai padėjusiems atlikti serologinius ir imunologinius tyrimus.

Literatūra

1. Abadia G., Sall N'Diaye P., Masson P., Laurens E., Delemotte B., Choutet P. Les chlamydioses d'origine aviaire. Maladies professionnelles. Med. Mal. Infect. 2001, 31, P. 226–232.
2. Bagdonas J. Chlamidijų taksonomijos istorija ir šiuolaikinė klasifikacija. Veterinarija ir zootechnika, 2004, 26 (48), P. 5–10.
3. Bagdonas J., Mauricas M., Gerulis G., Petkevicius S., Jokimas J. Evaluation of different laboratory methods for diagnosis pig chlamydiosis in Lithuania. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2005, 8, 1, P. 49–56.
4. Bagdonas J., Stimbrys A., Jokimas J., Nekrošienė N. Ožkų populiacijos vaidmuo kai kurių zoonozių etioepidemiologijoje. Veterinarija ir zootechnika. 2005, 30 (52), P. 14–20.
5. Berthier M., Bonneu D., Marechaud M., Oriot D., Deshayes M., Levillain P., Magnin G. Infection materno-foetale par Chlamydia psittaci transmise par la chevre: une nouvelle zoonose? Bull. Soc. Path. Ex. 1991, 84, P. 590–596.
6. Everet K. D. E. *Chlamydia* and *Chlamydiales*; more than meets the eye. Vet. Microbiol., 1999, N.75, P. 109–126.
7. Everett K. D.E., Bush R. M., Anderson A. A. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. International Journal of Systematic Bacteriology. 1999, 49, P. 415–440.
8. Jorgensen D. M. Gestational psittacosis in a Montana sheep rancher. Emerg. Infect. dis. 1997, V, 3, P. 191–194.
9. Hechard C., Grepinet O., Rodolakis A. Proteic boost enhances humoral response induced by DNA vaccination with the dnaK gene of *Chlamyphila abortus* but fails to protect pregnant mice against a virulence challenge. Veterinary Research, 2003, 34 (1), P. 119–125.
10. Herring A. J. Restriction endonuclease analysis of DNA from two isolates of *Chlamydia psittaci* obtained from human abortions. Brit. Med. J. 1987, V. 295, P. 1239–11241
11. Manual of Diagnostic tests and Vaccines for terrestrial Animals. Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis). 2004.
12. Rekkiki A., Bouakane A., Rodolakis A. Combined vaccination of live 1B *Chlamydomphila abortus* and killed phase 1 *Coxiella burnetii* vaccine does not destroy protection against chlamydiosis in a mouse model. Can. J. Vet. Res., 2004, 68 (3), P. 226–228.
13. Rekki A., Sidi – Boumedine K., Souriau A., Jemil J., Hammami S., Rodolakis A. Isolation and characterisation of local strains of *Chlamydomphila abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) from Tunisia. Veterinary Research. 2002, 33, P. 215–222.
14. Salih Alj Debbarh H., Touhami M., El Idrissi A., Saile R., Rodolakis A. Chlamydiosis abortive des petits ruminants au Maroc: opportunité d'améliorer le diagnostic serologique. Revue med. Vet. 2002, N.153(2), P. 101–161.
15. Salinas J., Souriau A., Cuello F., Rodolakis A. Antigenic diversity of ruminant *Chlamydia psittaci* strains demonstrated by the indirect microimmunofluorescence test with monoclonal antibodies. Veterinary Microbiology, 1995, 43, P. 219–226.
16. Smith K. A., Bradley K. K., Strobierski M. G., Tengelsen L. A. Compendium of measures to control *Chlamydomphila psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds. J. Am. Med. Assoc. 2005, 226 (4), P. 532–539.
17. Souriau A., Salinas I. J., Layacbi, Rodolakis A. Identification of subspecies – and serotype 1-specific epitopes on the 80- to 90-kilodalton protein region of *Chlamydia psittaci* that may be useful for diagnosis of chlamydial induced abortion. American Journal of Veterinary Research. 1994, 55(4), P. 510–514.