

## LEPTOSPIRŲ SEROGRUPIŲ PAPLITIMAS TARP LIETUVOJE AUGINAMŲ GALVIJŲ

Rita Šiugždiniene<sup>1</sup>, Modestas Ružauskas<sup>1</sup>, Marius Virgailis<sup>1</sup>, Jūratė Buitkuvienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys;

tel. (8~346) 6 06 93, faks (8~346) 6 06 97; el.paštas: siugzdnene@yahoo.de

<sup>2</sup>Nacionalinė veterinarijos laboratorija, J. Kairiūkščio g. 10, LT-08409 Vilnius; tel. (8~5) 278 0473

**Santrauka.** Darbo tikslas – apibūdinti leptospirų serogrupių pasiskirstymo dėsningsumus tarp Lietuvoje auginamų galvijų ir nustatyti geografinį leptospirozės paplitimą šalyje. Tyrimai atliki mikroagliutinacijos reakcija (MAR). Nustatyta, kad galvijų kraujų serume dažniausiai randami antikūnai prieš šias leptospirų serogrups: *Leptospira Grippotyphosa* (32,46 proc.), *Leptospira Hebdomadis* (25,42 proc.), serovariantas Kabura, ir *Leptospira Sejroe* (18,98 proc.), serovariantas Poland. Daugiausia skirtingu leptospirų serogrupių randama tarp Vidurio ir Šiaurės Lietuvos galvijų. Klaipėdos apskrityje nustatyta tik viena leptospirų serogrupė - *Leptospira Grippotyphosa*, o *Leptospira Tarassovi* nustatyta tik Panevėžio apskrityje. Antikūnų prieš pastarosios serologinės grupės leptospiras kitose šalies vietose nerasta. Kiekvienais metais iš visų tiriamų galvijų vidutiniškai 7 proc. nustatomi teigiami antikūnų titrai prieš leptospiras.

**Raktažodžiai:** galvijai, leptospiros, leptospirozė, Lietuva, mikroagliutinacijos reakcija.

## THE PREVALENCE OF LEPTOSPIRA SEROVARS AMONG CATTLE IN LITHUANIA

Rita Šiugždiniene<sup>1</sup>, Modestas Ružauskas<sup>1</sup>, Marius Virgailis<sup>1</sup>, Juratė Buitkuvienė<sup>2</sup>

Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys;

tel.: (+370~346) 60 693; faks (+370~346) 60 697, e.mail: siugzdnene@yahoo.de

<sup>2</sup>National Veterinary Laboratory, J. Kairiūkščio 10 LT-08409 Vilnius, Lithuania

**Summary.** The aim of this investigation was to define consistent pattern of distribution of leptospira serogroups in cattle and to establish geographical distribution of *Leptospira* in Lithuania. Laboratory investigations were carried out by micro-agglutination test. The results showed that antibodies against *Leptospira Grippotyphosa* (32.46 %), *Leptospira Hebdomadis* (25.42 %) ser. Kabura and *Leptospira Sejroe* (18.98 %) ser. Poland were the most prevalent in cattle blood sera. Highest serological diversity of different leptospira serogroups were observed at the Central and Northern counties of the republic. Only one serogroup – *Leptospira Grippotyphosa* was found at the Klaipėda county. *Leptospira Tarassovi* was found only at Panevėžys county and were did not detected at any other county. In Lithuania about 7% of all tested cattle had antibody titers against *Leptospira*. This level was observed yearly independent of the number of tested animals.

**Key words:** cattle, *Leptospira*, serogroup, leptospirosis, Lithuania, micro-agglutination.

**Ivadas.** Leptospirozė – infekcinė gyvūnų ir žmonių ligga, kurią sukelia *Leptospira interrogans* rūšies bakterijos. Žinomi trys leptospirozės židiniai ir tipai: gamtiniai, antropurginiai ir mišrūs. Antropurginiai židiniai randami gyvulių fermose, kaimo vietovėse ir miestuose. Mišrūs židiniai kartu yra ir antropurginiai, ir gamtiniai. Laukiniai graužikai ir vabzdžiaėdžiai yra gamtinis leptospirozės rezervuaras (Burakauskas, Danilevičius, 1985).

Pastero instituto genetikos centre išaiškinta 10 leptospirų rūsių, iš jų viena – patogeninė (*L. interrogans*). I ją įtrauktos visos pavojingos žmonėms ir gyvūnambs leptospiros, viena – nepatogeninė (*L. biflexa*). Šios leptospiros laisvai egzistuoja aplinkoje ir nesukelia susirgimų. Aštunios atskiro rūšys išaiškintos vėliau ir įtrauktos į klasifikacijos sistemą.

Leptospirų sistematika gana sudėtinga dėl didelės serologinės ivairovės, todėl atskiro leptospirų rūšys skirto mos į serologines grupes, o šios – į serologinius variantus. Yra tam tikras ryšys tarp kai kurių leptospirų serovariantų ir atskirų gyvūnų rūsių. Pvz., serovariantas Copenhagen siejamas su žiurkėmis, serovariantas Canicola – su šunimis, Hardjo – su stambaisiais raguočiais. Susirgusių gyvūnų ligos eiga gali būti ūminė, poūmė arba létinė. Lėtinės ligos atveju gyvūnai ilgą laiką (mėnesiais ar metais)

su šlapimu išskiria leptospiras į aplinką, užteršia vandenį ir sukelia užkrato pavoju kitiems gyvūnams bei žmonėms.

Išsamiai leptospirozės mokslinių tyrimų Lietuvoje atliki palyginti nedaug. 1972–1973 m. kai kuriuose Lietuvos administraciniuose rajonuose leptospirozė buvo tirta. Išaiškinta, kad į šios ligos epizootinę grandinę yra patekę aštuonių rūsių graužikai ir vienas vabzdžiaėdžių astovas. Galima daryti išvadą, kad šalyje gali egzistuoti leptospirozės gamtiniai židiniai (Burakauskas, Danilevičius, 1985; Motiejūnas ir dr., 1974). Néra tiksliai nustatyta, ar šie židiniai dideli, ar lokalūs, kaip jie gali būti susiję su naminiais gyvuliais. Taigi svarbu išaiškinti leptospiromis užsikrėtusius gyvulius atskiruose regionuose.

Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institute 1986–1990 metais atliki moksliniai tyrimai gydymo ir profilaktikos priemonių efektyvumui prieš galvijų ir kiaulių leptospiras nustatyti. Atskiruose šalies rajonuose iš laukinių ir naminiių gyvūnų vidaus organų bei šlapimo išskirtos kai kurios leptospirų serogrups. Iš galvijų leptospirų padermių išskirta daugiausia. Siekiant išaiškinti, kaip galvijai yra užsikrētę leptospiromis šiuo metu, nustatyti galvijų kraujų serume esantys antikūnai prieš leptospiras. Dėl didesnių ekonominių nuostolių ir pavojaus žmonių sveikatai galvijų leptospirozė yra aktualesnė pro-

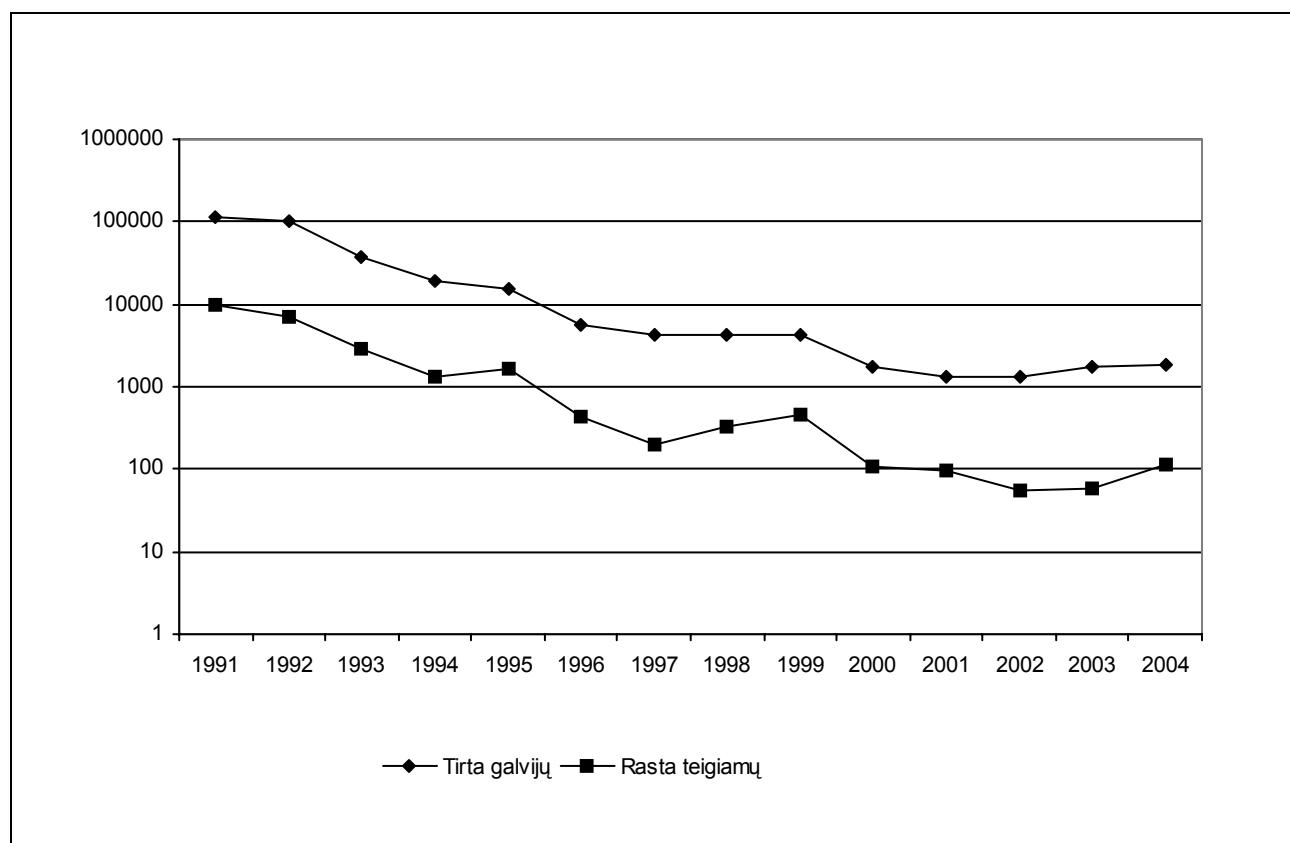
blema nei kitų gyvulių rūšių. Žinomi periodiniai žmonių susirgimo leptospiroze atvejai dažniausiai susiję su galviams būdingų leptospirų serologinių grupių užsikrėtimu.

**Darbo tikslas** – apibūdinti leptospirų serogrupių pasiskirstymo dėsningumus tarp galvijų ir nustatyti geografinį leptospirozės paplitimą Lietuvoje.

**Medžiagos ir metodai.** Gyvūnų leptospirozių paplitimas tirtas veislinėse galvijų bandose, veislininkystės įmonėse, bulių auginimo ir spermos surinkimo centruose. Tyrimams atliki taikytas oficialus standartinis metodas – mikroagliutinacijos reakcija. Ją pirmieji dar 1918 metais panaudojo Martin ir Pettit. Nepaisant to, ir dabar ši reakcija yra pagrindinis serologinis diagnozavimo metodas (Ahmad et al., 2005; Lottersberger et al., 2002; Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for terrestrial animals. OIE, 2004). Tyrimams naudotos 4–8 parų etaloninės leptospirų kultūros, augintos galvijų serumo albumino (BSA) terpéje su „Tween 80“ priedu 29°C temperatūroje. Mikroagliutinacijos plokštelės inkubuotos 29°C temperatūroje 2–4 valandas, apžiūrėtos mikroskopu tamsaus lauko mikroskopijos metodu. Reakcija vertinta 4 pliusų sistema, kaip numato Tarptautinio epizootijų biuro reikalavimai.

Reakcija laikyta teigama, kai agliutinacija ivertinta ne mažiau nei dviem pliusais. Laboratoriniai tyrimai atliki Nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje, Serologinių tyrimų skyriuje ir apskričių veterinarijos stočių laboratorijose, o duomenys išanalizuoti ir apibendrinti LVA Veterinarijos institute. Duomenys apie gyvulių skaičių gauti Statistikos departamento (Lietuvos statistikos metraštis, 2003).

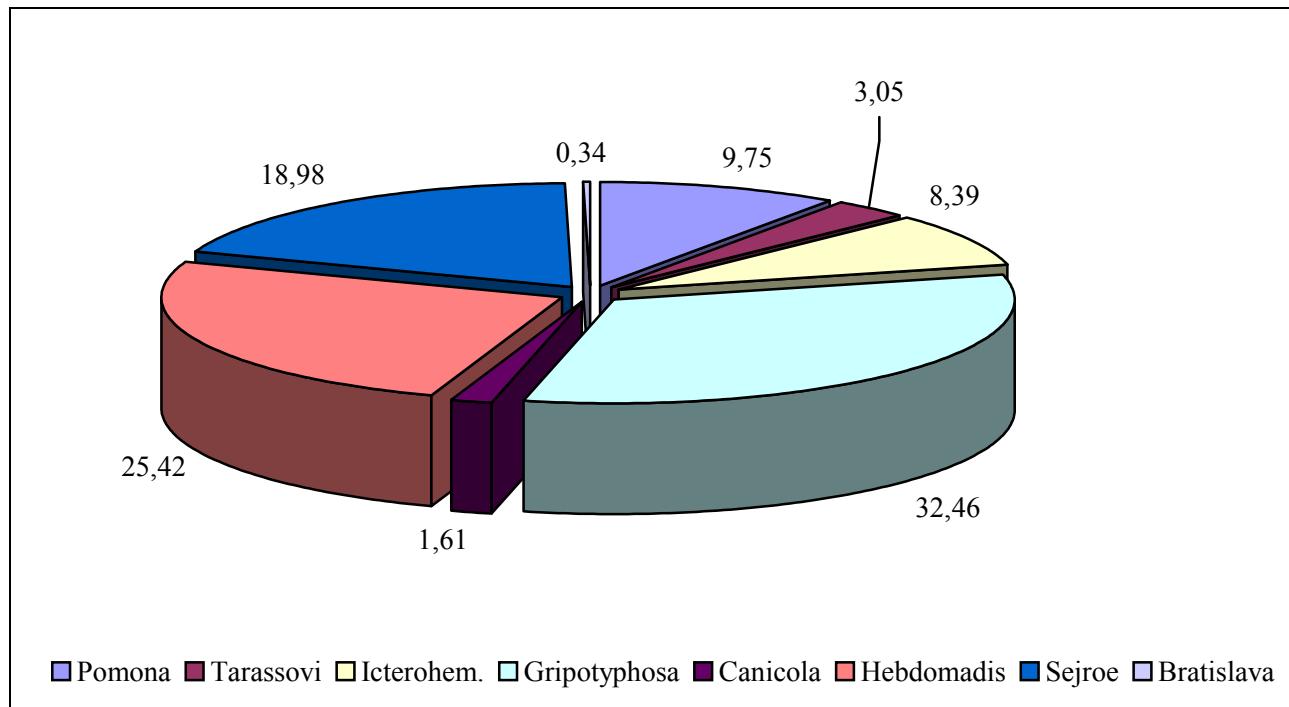
**Tyrimų rezultatai.** Kiekvienais metais serologiškai ištirta maždaug 10 proc. galvijų bandos (1 pav.). Kaip matyti iš 1 pav. duomenų, kiekvienais metais 5–10 proc. tiriamų galvijų buvo serologiškai teigiami leptospiroziu atžvilgiu. 2 pav. pateikta leptospirų serogrupių paplitimas. Lietuvoje auginamų galvijų krauso serume dažniausiai nustatomi antikūnai prieš šias leptospirų serogrupes: *Leptospira Grippotyphosa* (32,46 proc.), *L. Hebdomadis* (25,42 proc.; serovariantas Kabura) ir *L. Sejroe* (18,98 proc.; serovariantas Poland). Rečiau išskiriamos *L. Pomona* (9,75 proc.) ir *L. Icterohaemorrhagica* (8,39 proc.). Tik pavieniais atvejais išskiriamos šios serogrupės: *L. Tarassovi* (3,05 proc.), *L. Canicola* (1,61 proc.) ir *L. Bratislava* (0,34 proc.).



1 pav. Galvijų serologiniai leptospirozės tyrimai

3 pav. pateikta leptospirų serogrupių pasiskirstymas pagal geografinius regionus. Daugiausia leptospirų serogrupių yra Vidurio (Kauno, Marijampolės ir Vilniaus aps.) ir Šiaurės Lietuvoje (Telšių, Šiaulių ir Panevėžio aps.). Kai kuriose apskrityse, kaip antai Kauno, Šiaulių ir Panevėžio, paplitusios net septynios leptospirų serogrupės iš aštuonių išaiškintų. Teigama galvijų krauso serumo reak-

cija į *Leptospira Tarassovi* antigeną nustatyta tik Panevėžio apskrityje. Alytaus apskrityje nustatyti antikūnai prieš tris leptospirų serogrupes: *L. Pomona*, *L. Icterohemorrhagica* ir *L. Canicola*. Tauragės ir Utenos apskrityse tyrimų laikotarpiu antikūnų galvijų krauso serume prieš leptospiras nebuvvo rasta.



2 pav. Leptospirų serogrupių pasiskirstymas tarp galvijų



3 pav. Leptospirų serogrupės apskrityse

Išskirtų leptospirų serotipai

- |                                 |                                 |
|---------------------------------|---------------------------------|
| 1. <i>L. Pomona</i>             | 2. <i>L. Tarassovi</i>          |
| 3. <i>L. Icterohemorrhagiae</i> | 4. <i>L. Gripotyphosa</i>       |
| 5. <i>L. Canicola</i>           | 6. <i>L. Hebdomadis, Kabura</i> |
| 7. <i>L. Sejroe, Poland</i>     | 8. <i>L. Bratislava</i>         |

**Aptarimas ir išvados.** Leptospirozių sukelėjai priklauso *Leptospiraceae* šeimos *Leptospira* genčiai, kurioje yra 10 rūšių. Iš jų – viena patogeninė (*L. interrogans*), viena nepatogeninė (*L. biflexa*) ir aštuonios atskiro rūšys, vėliau išaiškintos ir įtrauktos į klasifikacijos sistemą, ku-

rią iš dalies sudarė 25 serogrupės ir daugiau nei 250 skirtingu serologinių variantų (kasmet jų vis daugėja). Šiuo metu Tanzanijoje atrastas naujas *L. Kirschneri* rūšies *Icterohaemorrhagiae* serogrupės variantas, kuriam suteiktas Sokoine pavadinimas (Mgode et al., 2006).

Lentelė. Galvijų skaičiaus dinamika šalyje 1997–2005 metais (tūkstančiais)

	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Galvijai	1054,1	1016,3	922,8	897,8	748,3	751,7	779,1	812,1	792,0
Iš jų karvės	589,9	582,8	537,7	494,3	438,4	441,8	443,3	448,1	433,9

Nors Lietuvoje tradiciškai plėtojama pieninė galvijininkystė ir vis daugiau auginama mėsinių galviju, jų skaičius šalyje nuolat mažėja (Lietuvos statistikos metraštis, 2005) (lentelė). Nepaisant to, kasmet galvijų kraujo serume nustatomi antikūnai prieš leptospiras. Idomu tai, kad kai kuriose apskrityse leptospirozė išvis nenustatyta, kai aplinkinėse egzistuoja net keletas leptospirų serogrupių. Vadinas, gali egzistuoti lokalinių pobūdžio gamtiniai leptospirozės židiniai, anksčiau nustatyti Vidurio Lietuvoje (Мотеюнас и др., 1974). Matyt, židiniai gali išlikti ne vieną dešimtmetį. Be to, Viniaus, Kauno, Šiaulių ir Panevėžio apskrityse sukonzentruota didžioji dalis stambiosios pramonės, čia ir žmonių koncentracija didžiausia. Taigi susidaro palankios sąlygos veistis žiurkėms ir pelėms, kurios platina leptospiras. Klaipėdos apskrityje išskirta viena leptospirų serogrupė – *L. Grippotyphosa*. 1968 metais šalies galvijų bandose vyravo *L. Pomona* ir *L. Tarrasovi* serogrupės (Шимкус, 1968). Šiuo metu *L. Tarassovi* išskirta tik Panevėžio apskrityje, kai tuo tarpu kitos serogrupės randamos bemaž visoje Lietuvoje.

Šiuo metu šalies galvijų bandose dažniausiai aptinkamos šios leptospirų serogrupės: *L. Grippotyphosa*, *L. Hebdomadis* (serovariantas Kabura) ir *L. Sejroe* (serovariantas Poland). Rečiau nustatoma *L. Pomona* ir *L. Icterohaemorrhagica*. Tik pavieniais atvejais išskiriamos *L. Tarassovi*, *L. Canicola* ir *L. Bratislava* serogrupės.

Kitose šalyse sitaucija skirtinga. Pavyzdžiui, Šveicarijoje vyrauja *L. Hardjobovis*, Bratislava, Hebdomadis, Bataviae, Australi ir Grippotyphosa; Lenkijoje – *L. Icterohaemorrhagiae*, Hebdomadis, Bataviae ir Valbuzzi (Kita and Anusz, 1991). Lenkijoje tyrimais nustatyta, kad 50 proc. laukinių žiurkių populiacijos randami antikūnai prieš *Leptospira Interrogans* (serovariantas Canicola). Rečiau nustatomi antikūnai prieš *Leptospira Icterohaemorrhagiae*, Sejroe ir Hebdomadis (Wincewicz, 2002). JAV paplitę *L. Hardjo*, *Pomona*, ir *Grippotyphosa*. Labiausiai paplitusi serogrupė tarp Didžiosios Britanijos galvijų – *L. Hardjo*, mažiau – kitos serogrupės – *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Canicola*, *L. Pomona* ir *L. Grippotyphosa* (Zoonoses Report United Kingdom, 2001). Šiaurės Ispanijoje vyrauja *L. Bratislava* (Atxaerandio et al., 2005).

Lyginant skirtingu šalių ir Lietuvos duomenis galima teigti: nors leptospirozėms būdingi gamtiniai židiniai ir vyraujančios leptospirų serologinės grupės kiekvienoje šalyje kiek skirtinos, aiškiai išsiskiria 4–7 zoonotinės leptospirų serologinės grupės. *L. Canicola*, *Gripotyphosa*

ir *Icterohaemorrhagica* paplitusios visame pasaulyje.

Pasaulyje placiai paplitę alternatyvūs leptospirozės diagnozavimo metodai (Bomfim, Koury, 2006; Bomfim et al., 2005; Mariya et al., 2006), tačiau mikroaglutiinacijos reakcija lieka oficialiai pripažintas standartinis vienas iš geriausių diagnostikos metodų. Rekomenduojama tirti ne mažiau nei 10 proc. bandos gyvūnų arba bent 10 gyvūnų bandoje (Cole et al., 1980). Tyrimais nustatyta, kad dešimties bandos gyvūnų ištyrimas gali parodyti, ar banda užsikrėtusi leptospiroze (Hathaway et al., 1986). Mūsų tyrimų duomenys iš dalies tą patvirtina: atlikę tyrimus, nepriklausomai nuo regiono, nustatėme, kad bandose leptospiroze užsikrėtę maždaug 7 proc. visų tiriamų gyvūnų. Iš 1 pav. aiškiai matyti, kad antikūnų prieš leptospiras kiekis yra tiesiogiai proporcingas atlirkų tyrimų skaičiui. Taigi žinant šiuos skaičius ateityje pagal poreikius galima planuoti didesnės ar mažesnės apimties profilaktinius šios ligos tyrimus.

#### Išvados.

1. Lietuvoje tiriamų galvijų kraujo serume dažniausiai nustatomi antikūnai prieš šias leptospirų serologines grupes: *L. Grippotyphosa*, *L. Hebdomadis* ir *L. Sejroe*.
2. Klaipėdos apskrityje tiriamų galvijų kraujo serume nustatyti antikūnai tik prieš vieną leptospirų serologinę grupę – *L. Grippotyphosa*.
3. *L. Tarassovi* nustatyta tik Panevėžio apskrityje.
4. Kiekvienais metais iš visų tiriamų leptospirozės atžvilgiu galvijų vidutiniškai 7 proc. reaguoją teigiamai.

#### Literatūra

1. Ahmad S. N., Shah S. H., Ahmad F. M. Laboratory diagnosis of leptospirosis. J Postgrad Med., 2005. 51. P. 195–200.
2. Atxaerandio R., Aduriz G., Ziluaga I., Esteban J. I., Maranda L., Mainar-Jaime R. C. Serological evidence of *Leptospira interro-gans* serovar Bratislava infection and its association with abortions in cattle in northern Spain. The Veterinary record. 2005. 156 (12). P. 376–380.
3. Bomfim M. R., Koury M. C. Evaluation of LSSP-PCR for identification of *Leptospira* spp. in urine samples of cattle with clinical suspicion of leptospirosis. Journal Veterinary Microbiology, 2006. In Press.
4. Bomfim M. R., Ko A. and Koury M. C. Evaluation of the recombinant LipL32 in enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of bovine leptospirosis. Veterinary Microbiology. Volume 109, Issues 1-2, 10 August 2005. P. 89–94.
5. Burakauskas A., Danilevičius E. Naminį gyvulių ir paukščių gamtiniai ligų židiniai. Vilnius, 1985. P. 19–20.
6. Cole J. R., Ellinghausen H. C. and Rubin H. L. Laboratory di-

- agnosis of leptospirosis of domestic animals. *Proc. U.S. Anim. Health Assoc.*, 1980. P. 189–199.
7. Espi A., Prieto J. M., Fernandez M., Alvarez M. Serological prevalence to six leptospiral serovars in cattle in Asturias (Northern Spain). *Epidemiol Infect.*, 2000 Jun; 124 (3). P. 599–602.
  8. Hathaway S. C., Little T. W. A. and Pritchard D. G. Problems associated with the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in bovine populations. *Vet. Rec.* (19), 1986. P. 84–86.
  9. Kita J. and Anusz K. Serologic survey for bovine pathogens in free-ranging european bison from Poland. *Journal of Wildlife Diseases*, 27 (1), 1991. P. 16–20.
  10. Lietuvos statistikos metraštis. Žemės ūkis, miškininkystė ir žuvininkystė. 2005. P. 52.
  11. Lietuvos veterinarijos instituto 1986 m. veiklos ataskaita. Baisogala, 1987 m. P. 43–56.
  12. Lietuvos veterinarijos instituto 1987 m. veiklos ataskaita. Baisogala, 1988 m. P. 169–175.
  13. Lietuvos veterinarijos instituto 1988 m. veiklos ataskaita. Baisogala, 1989 m. P. 104–105.
  14. Lottersberger J., Pauli R., Vanasco. Development and validation of an ELISA test for the diagnosis of bovine Leptospirosis Arch. Med. Vet., Vol. XXXIV. Nr 1, 2002. P. 89–95.
  15. Mariya R., Chaudhary P., Kumar A. A., Thangapandian E., Amutha R., Srivastava S. K. Evaluation of a recombinant LipL41 antigen of *Leptospira interrogans* serovar Canicola in ELISA for serodiagnosis of bovine Leptospirosis. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2006 Sept 14. In Press.
  16. Mgode G. F., Machang'u R. S., Goris M. G., Engelbert M., Sondj S., Hartskeerl R. A. New *Leptospira* serovar Sokoine of serogroup Icterohaemorrhagiae from cattle in Tanzania. Int J Syst Evol Microbiol. 2006 Mar; 56 (Pt 3). P. 593–597.
  17. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. OIE, 2004.
  18. VMVT ataskaitos. 1998–2000.
  19. Wincewicz E. Microbiological examination of wild rats living in various environments in the epizootic aspect. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Veterinary Medicine, 2002, Volume 5, Issue 1. – [žiūrėta 2006-06-05]. – internete: <http://www.ejpau.media.pl/series/volume5/issue1/veterinary/article-04.html..>
  20. Zoonoses Report United Kingdom 2001. Department for Environment, Food and Rural Affairs© Crown copyright 2003. P. 42-44. Website: [www.defra.gov.uk](http://www.defra.gov.uk).
  21. Мотеюнас Л. И., Ковалева Л. И., Езерскене Е. П. Спонтанная зараженность популяции мышевидных грызунов патогенными для человека возбудителями в Литовской ССР. ЖМЭИ. Москва, 1974 (9). С. 122–123.
  22. Шимкус К. Распространение лептоспироза в Литовской ССР. Ветеринария (4), Москва, 1968. С. 35–36.