

## PASIUTLIGĖS VIRUSO IR ORALINĖS VAKCINACIJOS EFEKTYVUMO USŪRINIŲ ŠUNŲ POPULIACIJAI IMUNOLOGINIAI TYRIMAI

Ingrida Jacevičienė<sup>1,2</sup>, Eugenijus Jacevičius<sup>3,2</sup>, Vytas Antanas Tamošiūnas<sup>1</sup>, Gediminas Pridotkas<sup>3,2</sup>,  
Jonas Milius<sup>2,4</sup>, Kazimieras Lukauskas<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>*Molekulinės imunologijos laboratorija, Vilniaus universiteto Imunologijos institutas  
Molėtų pl. 29, LT-08409 Vilnius*

<sup>2</sup>*Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas, J. Kairiūkščio g. 10, LT-08409 Vilnius  
tel. (8~5) 278 0498; el. paštas: ijaceviciene@vet.lt*

<sup>3</sup>*Užkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas*

<sup>4</sup>*Maisto saugos ir gyvūnų higienos katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas*

<sup>5</sup>*LR valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba, Siesikų g. 19, LT-0717 Vilnius*

**Santrauka.** Analizuojant 2003–2008 metų usūrinių šunų (*Nyctereutes procyonoides*) pasiutligės fluorescuojančių antikūnų (FAT) metodu atliktus tyrimus iš galvos smegenų, ištyrus 3291 mėginį rasta 66,63 proc. pasiutligės atvejų. Didžiausias usūrinių šunų infekuotumas pasiutlige FAT tyrimo metodu nustatytas 2006 m. (89,40 proc.). 2006 m. atlikta oralinė vakcinacija prieš pasiutligę pastebimai sumažino usūrinių šunų susirgimų skaičių. 2007 m. pasiutligės atvejų registruota 37,77 proc., o 2008 metais – tik 6,81 proc. Mūsų tyrimai parodė, kad 2006–2008 metais visoje Lietuvos teritorijoje reguliariai atliekama pasiutligės laukinių gyvūnų oralinė vakcinacija (POV) „Lysvulpen“ vakcina, (gamintojas „Bioveta“, Čekijos Respublika) turėjo poveikį usūrinių šunų susirgimų pasiutlige sumažėjimui. Tyrimai POV efektyvumui nustatyti buvo atliekami imunofermentinės analizės (IFA) metodu, naudojant komercinį „Bio-Rad Platelia™ Rabies II“ rinkinį (gamintojas „Bio-Rad“, Prancūzija). Lietuvoje 2006–2008 metais ištirta 510 usūrinių šunų kraujo mėginių, o 237 mėginiuose nustatyti antikūnai (46,47 proc.); buvo ištirti 83 usūrinių šunų iki vienerių metų kraujo mėginiai – 24 mėginiuose rasti antikūnai (28,91 proc.) ir 427 vyresnio amžiaus usūrinių šunų kraujo mėginiai – antikūnų rasta 213 mėginiuose (49,88 proc.). Mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad oralinės imunizacijos programa yra efektyvus būdas kontrolei ir kovai prieš pasiutligę usūrinių šunų populiacijoje. Nustatant imunitetą pasiutligei, t. y. tiriant specifinių antikūnų titrą sumedžiotų usūrinių šunų kraujyje IFA metodu, nustatyti 46,47 proc. gyvūnų, kuriems buvo identifikuoti 0,5TV/ml ir didesni specifinių antikūnų titrai.

**Raktažodžiai:** imunologiniai metodai, oralinė vakcinacija, pasiutligė, usūriniai šunys.

## IMMUNOLOGICAL INVESTIGATION OF RABIES VIRUS AND ORAL VACCINATION EFFECTIVENESS IN RACCOON DOG POPULATION IN LITHUANIA

Ingrida Jacevičienė<sup>1,2</sup>, Eugenijus Jacevičius<sup>3,2</sup>, Vytas Antanas Tamošiūnas<sup>1</sup>, Gediminas Pridotkas<sup>3,2</sup>,  
Jonas Milius<sup>2,4</sup>, Kazimieras Lukauskas<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>*Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Immunology of Vilnius University, Molėtų str. 29  
LT-08409 Vilnius*

<sup>2</sup>*National Food and Veterinary Risk Assessment Institute, Kairiūkščio str. 10, LT-08409 Vilnius  
tel. +370 5 278 0474; e-mail: ijaceviciene@vet.lt*

<sup>3</sup>*Department of Infectious Diseases, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas*

<sup>4</sup>*Department of Food Safety and Animal Hygiene, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas*

<sup>5</sup>*LR, The State Food and Veterinary Service, Siesikų str. 19, LT-07170 Vilnius*

**Summary.** Rabies is a zoonotic disease with an epidemiological complex. Analysis of rabies in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in 2003-2008 allowed to assess the epidemiological situation in Lithuania. By the method of direct immunofluorescence (FAT) rabies antigens were detected in 66.63% from 3291 raccoon dog brain samples tested. The highest number of infected animals was found in 2006 (89.40%). However, the number of disease cases decreased significantly in 2007 (37.77%) and in 2008 (6.81%). It might be explained by the fact that the wildlife oral rabies vaccination (ROV) using „Lysvulpen“ live vaccine produced by Bioveta (Czech Republic) was carried out in the territory of Lithuania in 2006-2008.

Efficacy of rabies oral vaccination in raccoon dogs was tested by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Platelia Rabies II produced by Bio-Rad (France). In the period of 2006-2008, 510 blood samples from raccoon dogs were examined by ELISA and 237 (46.47%) of them were found to be positive. Eighty three blood samples from one year old or younger animals were investigated and 24 of them were found to have antibodies (28.91%). In 427 blood samples from older raccoon dogs the antibodies were found in 213 cases (49.88%). Our study showed that the programme of oral immunization is an effective way to prevent and control the spread of the disease in raccoon dog population. After ROV we studied the immunity against rabies determining the specific antibodies by ELISA technique only 46.47% of samples of hunted raccoon dogs with the antibody titers of 0.5IU/ml or higher.

**Keywords:** immunological investigation, oral vaccination, rabies, raccoon dog.

**Ivadas.** Pasiutligė yra zoonozinė virusinė liga, paplitusi visuose pasaulio žemynuose (Finnegan et al., 2002). Ligą sukelia neurotropinis RNR virusas, priklausantis *Rhabdoviridae* šeimai, *Lyssavirus* genčiai. Pasiutlige užsikrečiama, kai pasiutęs gyvūnas įkanda kitam gyvūnui ar žmogui arba apseilėja sužalotą odą.

Pasiutligės virusas yra dviejų rūšių – natūralus „lauko“ (pranc. – Virus de rues) ir fiksuotas (pranc. – Virus fixe), pirmą kartą dirbtinai gautas L. Pastero (Sureau et al., 1983). Fiksuotas virusas išvestas iš natūralaus „lauko“ viruso 1885 metais, todėl gautas pasiutligės viruso biotipas yra tinkamas pasiutligės vakcinoms gamybai (Sureau et al., 1983). Natūralus „lauko“ virusas cirkuliuoja tarp laukinių ir naminių gyvūnų ir pasižymi ilgu, bet nevienodos trukmės inkubaciniu periodu. Po kontakto su sergančiu laukiniu ar naminiu gyvūnu žmonės ir gyvūnai gali užsikrėsti ir susirgti pasiutlige. Kritusių gyvūnų nuo pasiutligės pailgosiose smegenyse, Amonio rage ir kitose smegenų dalyse randama Babešo-Negrio kūnelių (Sureau et al., 1983). Daug virusų yra seilių liaukose ir seilėse. Plėšrieji žinduoliai yra pagrindinis pasiutligės užsikrėtimo šaltinis tarp laukinės faunos.

1982 m. tolimiausia Europos vakarinėje dalyje pasiutligės paplitimo vieta buvo nustatyta Prancūzijoje (EU Commission, 2002). Daugiausia – 83 proc. – teigiamų pasiutligės atvejų sudarė rudosios lapės (*Vulpes vulpes*) (Aubert, 1995) – vienos pagrindinių pasiutligės viruso platintojų.

Antrasis pasiutligės rezervuaro šaltinis Europoje yra usūriniai šunys (*Nyctereutes procyonoides*). Šie gyvūnai naujomis sąlygomis sugeba prisitaikyti geriau nei lapės. Usūriniai šunys labai gerai adaptavosi Rytų Europoje ir greitai paplito į vakarus ir rytus. Pirmiausia jie paplito Suomijoje – 1935 m., 1945–1946 metais pasiekė Švediją, 1952 m. – Rumuniją, 1955 m. – Lenkiją, 1959 m. – Slovakiją, 1961–1962 m. – Vokietiją ir Vengriją, 1983 m. – Norvegiją (Kauhala, 1996). 1950-aisiais usūriniai šunys buvo atvežti į Estiją ir labai greitai paplito Latvijoje, Lietuvoje (Baltrūnaite, 2002). Azijos usūrinių šunų (*Nyctereutes procyonoides*) rūšis, apie 1920 metus atkeliavusi į Vakarų Rusiją, vėliau pasiutligės virusą išplatino Centrinėje Europoje ir Suomijoje – 10,5 proc. susirgimų (Kauhala, 1996).

Lietuvoje usūriniai šunys (*Nyctereutes procyonoides*) išlieka vienu pagrindinių gamtinių pasiutligės plitimo šaltinių (Bourhy et al., 2005). Jų populiacija šalyje augo sparčiau negu lapių (1995 m. siekė 6100, o 1999 m. – 18 tūkst.) ir skatino pasiutligės plitimą (Zienius, 2004).

Šiuo metu pasiutligė yra paplitusi ir visose kaimyninėse šalyse – Rusijoje, Lenkijoje, Baltarusijoje ir Latvijoje. Viena iš priemonių likviduojant pasiutligę yra oralinė vakcinacija su gyvomis – atenuotomis pasiutligės viruso padermėmis (Zienius, 2004). Kovodama su liga Lietuva rėmėsi senųjų ES valstybių – Prancūzijos, Vokietijos, Belgijos, Austrijos ir Liuksemburgo – patirtimi. Laukinių gyvūnų oralinė vakcinacija prieš pasiutligę (POV) ir naujosiose ES valstybėse – Slovakijoje, Čekijoje, Lenkijoje, Latvijoje bei Estijoje – labai sumažino susirgimų pasiutlige.

Prieš pradėdant POV buvo analizuojama usūrinių šunų

pasiutligės epidemiologinė situacija mūsų šalyje, aiškiamos plitimo tendencijos ir pavojus užsikrėsti. Toje sekoje buvo taikomi tikslūs pasiutligės imunologiniai tyrimo metodai, o ligai likviduoti naudojamos efektyvios imunoprofilaktikos priemonės – vakcinos. 2006 m. birželio mėn. šalyje pradėta laukinių gyvūnų POV su „Lysvulpen“ vakcina (gamintojas „Bioveta“, Čekijos Respublika).

**Darbo tikslas ir uždaviniai** – išanalizuoti usūrinių šunų pasiutligės situaciją 2003–2008 metais ir įvertinti pasiutligės oralinės vakcinacijos efektyvumą usūrinių šunų populiacijai.

**Medžiagos ir metodai.** 2003–2008 metais Lietuvoje usūrinių šunų pasiutligės situacija buvo vertinama Nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje (NVL), o 2008 m. – įsteigtame Nacionaliniame maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institute (NMVRVI). Usūrinių šunų pasiutligės epidemiologinei situacijai išaiškinti medžiaga laboratoriniams tyrimams buvo renkama įvairiose Lietuvos vietose. Mėginiai buvo imami tokiais atvejais: a) usūrinį šunį įtarus sergant pasiutlige, tai yra atsiradus būdingiems pasiutligei požymiams (pasikeitus gyvūno elgesiui, atsiradus agresyvumui, parezei, paralyžiui, gyvūnui atėjus į sodybą, apsigyvenus ir pan.), b) žvėreliui staiga nugaišus, c) radus kritusį žvėrelį.

Tyrimams į NVL (NMVRVI) 2003–2008 metais buvo siunčiama usūrinio šuns gaišena arba galva. Mėginiai buvo pristatomi laikantis griežtų pasiutligės mėginio paėmimo ir pristatymo sąlygų (OIE, 2008). Diagnostika fluorescuojančių antikūnų tyrimo (FAT) metodu iš galvos smegenų atspaudų buvo ištirtas 3291 mėginys. Diagnostika FAT metodu atliekama pagal standartizuotą Tarptautinių epizootijų biuro (TEB) metodą (OIE, 2008). NVL, (vėliau – NMVRVI) Virusologinių tyrimų skyriuje pasiutligės FAT metodo teigiami ir neigiami tyrimo rezultatai buvo tvirtinami ir identifikuojami tiesioginės imunofluorescencijos audinių kultūroje (TIFAK) metodu (WHO, 1992). Pasiutligės TIFAK buvo ištirti 662 mėginiai.

2006–2008 metais mėginiai buvo renkami visoje Lietuvoje, kur buvo atliekama laukinių gyvūnų POV „Lysvulpen“ vakcina. Usūrinių šunų kraujo mėginiams oralinės vakcinacijos prieš pasiutligę antikūnų (Ak) titrui nustatyti buvo naudojamas komercinis imunofermentinės analizės (IFA) rinkinys (angl. – Bio-Rad Platelia<sup>TM</sup> Rabies II Kit, gamintojas Prancūzija). Vertinant usūrinių šunų POV efektyvumą IFA tyrimo metodu ištirta 510 mėginių.

Pasiutligės FAT tyrimo metodas naudojant galvos smegenis pagrįstas fluorescuojančių antikūnų ypatybe specifiskai jungtis su homologiniais antigenais ir sukelti jų švytėjimą liuminescencinio mikroskopo ultravioletinėje spektro dalyje (Meslin, Kaplan, 1996). Tiriamoji medžiaga – galvos smegenys fiksuojamos prie objekcinio stiklo ir veikiamos fluoresceino izotiocianato (FITC) prieš pasiutligę polikloniniai antikūnai, kovalentiškai sujungti su fluorochromu. Dėl specifinės antigeno ir antikūnų sąveikos bei fluorochromo švytėjimo ultravioletinėje spinduliuotėje nustatoma tiksli antigeno vieta. Pasiutligės FAT tyrimo metodui buvo naudojami komercinis konjugatas FITC prieš pasiutligę (gamintojas „Bioveta“, Čekijos Respublika). Fluorescencijos specifiskumui naudoja-

mos kontrolės: FITC konjugatas prieš pasiutligę (teigiamas) + tiriamoji medžiaga (galvos smegenys) ir neigiamas FITC konjugatas + tiriamoji medžiaga (galvos smegenys). Fluorescenciniam pasiutligės viruso baltymų dažymui naudojamas FITC, ultravioletinės spinduliuotės skleidžiamoje žaliajo šviesoje absorbuojamas ultravioletinės šviesos išspinduliuoja šviesą, kuri gerai matoma. Šiuo FAT metodu nukleokapsidinio proteino specifinis darinys identifikuojamas pagal švytėjimą. Pasiutligės FAT tyrimas įvertintas liuminescenciniu mikroskopu „Nicon“ (Japonija).

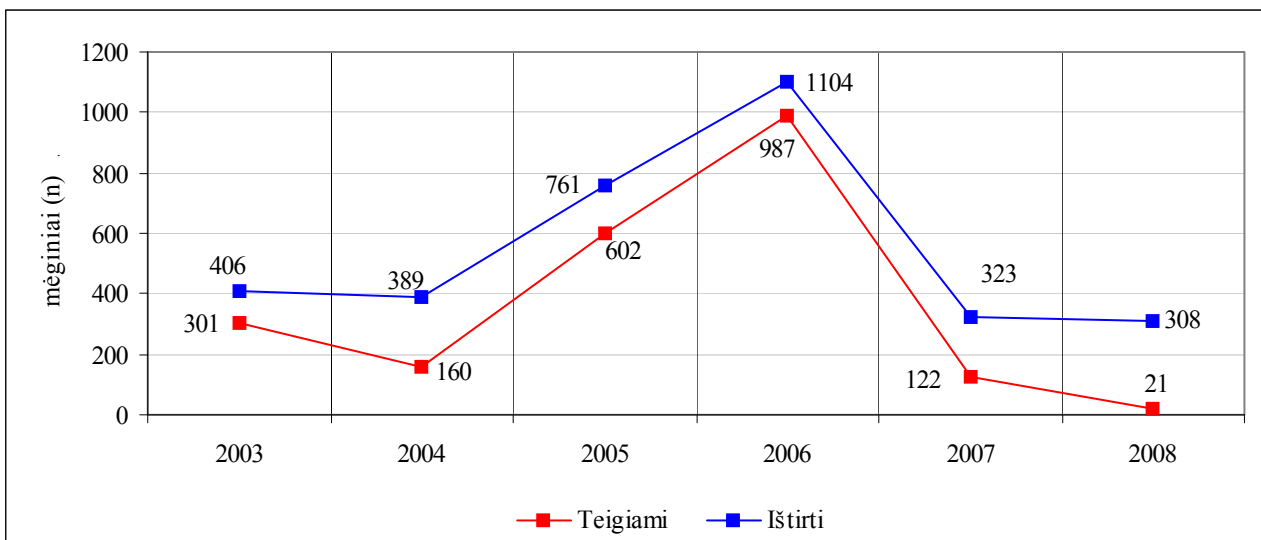
**Pasiutligės viruso išskyrimo TIFAK metodas.** Etaloniškos medžiagos – ląstelių linija N2a CCL-131 ( angl. – Neuroblastoma cell line) ir pasiutligės virusas CVS-11 (ATCC VR 959) (angl. – challenge virus standard) – gauti iš AFSSA (pranc. – Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). Pasiutligės TIFAK tyrimo principas pagrįstas tuo, kad *in vitro* buvo užkrečiama pasiutligės virusui jautri N2a CCL-131 ląstelių linija (Meslin, Kaplan, 1996). Šiam tyrimo metodui audinių kultūroje naudojamos nervinės N2a CCL-131 ląstelių linijos, kurios inokuliuojamos po 0,10 ml usūrinių šunų galvos smegenų suspensija (1:10). Šis tyrimas buvo atliekamas naudojant 96 šulinėlių (F) formos plokštelę, kai į kiekvieną šulinėlį įpilama po 0,20 ml paruoštos N2a CCL-131 ląstelių linijos  $3 \times 10^5$ /ml suspensijos su DMEM (angl. – Dulbecco's Modified Eagle Medium) auginimo terpe, į kurios sudėtį įeina 10 proc. fetalinio veršelio serumo (FVS) (DMEM+10 proc. FVS). Lygiagrečiai tuo pačiu TIFAK tyrimo principu audinių kultūroje buvo naudojama pasiutligės viruso CVS-11 (ATCC VR 959) teigiama kontrolė. Praėjus inkubacijai inokuliuotos nervinės N2a CCL-131 ląstelių linijos fiksuojamos prie mikroplokštelės ir veikiamos FITC prieš pasiutligę monokloniniais antikūnais (gamintojas „Fujirabio“, JAV), chemiškai sujungtais su fluorochromu. Rezultatai vertinami liuminescenciniu invertiniu mikroskopu „Leica“ (Vokietija). Teigiamas rezultatas laikomas įvertinus visą šulinėlio plotą ir aptikus nors

vieną ar daugiau fluorescuojančių ląstelių. Rezultatas laikomas neigiamas įvertinus visą šulinėlio plotą ir neaptikus nė vienos fluorescuojančios ląstelės.

**Pasiutligės vakcininių antikūnų (Ak) nustatymas IFA metodu.** Usūrinių šunų pasiutligės vakcininiams antikūnams nustatyti buvo naudojamas komercinis IFA (angl. – Bio-Rad Platelia™ Rabies II Kit) rinkinys; teigiamas referentinis serumas 0,5 TV/ml ir teigiamas referentinis serumas 4 TV/ml gautas iš AFSSA (pranc. – Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). Kontroliniai serumai kalibruoti pagal Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) ir TEB nurodymus (OIE, 2008). Metodas paremtas netiesiogine imunofermentine analize (Servat et al., 2007). Tiriamasis kraujas bei referentinės teigiamos kontrolės išpilstomos į glikoproteinu padengtos mikroplokštelės šulinėlius. Rezultatai pateikiami optinio tankio vienetais (OT), mikroplokštelę nuskaičius automatiškai mikroplokštelių analizatoriumi ELx808 (gamintojas „Bio-Tek“, JAV) 450 nm bangos ilgyje.

**Tyrimų rezultatai ir aptarimas.** Vertinant epizootinę situaciją 2003–2007 metais Lietuvoje tarp skirtingų rūšių laukinių gyvūnų, pastebėta kad pasiutligės FAT teigiami atvejai sudarė 56,53 proc., bet daugiausia buvo užsikrėtę usūriniai šunys – 72,81 proc. Kitų laukinių žvėrių šia liga buvo užsikrėtusių mažiau: lapių – 59,28 proc., kiaunių – 39,59 proc., šėškų – 24,33 proc., kitų laukinių gyvūnų – 15,45 proc. (Jacevičienė ir kt., 2008).

Vertinant 2008 m. epizootinę situaciją Lietuvoje pastebėta, kad pasiutligės FAT teigiami atvejai sudarė tik 4,62 proc., o usūrinių šunų buvo užsikrėtusių daugiausia – 6,81 proc.; lapių – 3,29 proc., kiaunių – 6,04 proc., šėškų – 4,16 proc. Remiantis šių tyrimų duomenimis pastebėta, kad pasiutligė usūrinių šunų populiacijoje buvo paplitusi labiau. Vertinant 2003–2008 metų pasiutligės epizootinę situaciją šalyje, buvo atliekama NVL (NMVRVI) duomenų analizė, ir nustatytas nevienodas usūrinių šunų infekuotumas (1 pav.).



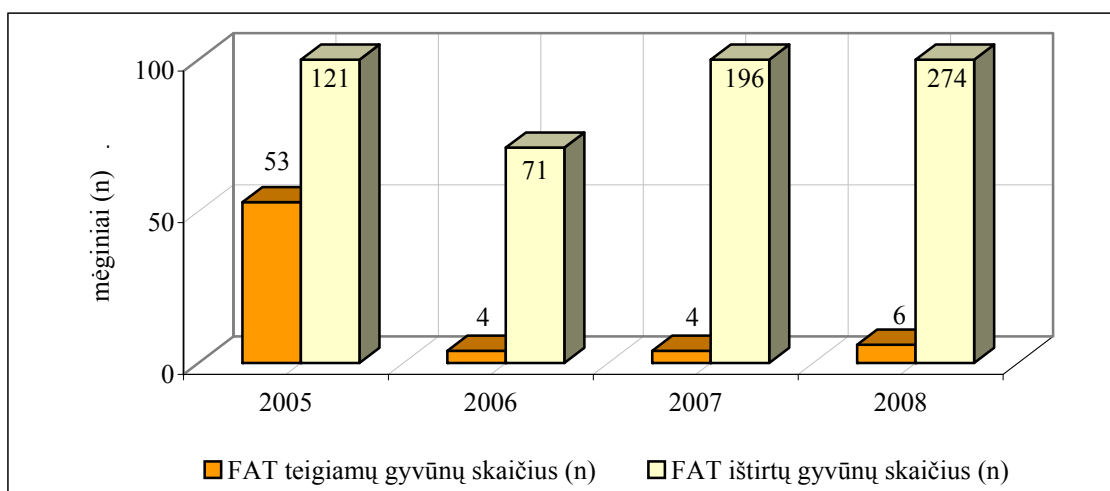
1 pav. Usūrinių šunų infekuotumo pasiutlige dinamika Lietuvoje 2003–2008 metais

Didžiausias usūrinių šunų infekuotumas pasiutlige FAT tyrimo metodu buvo nustatytas 2005 metais – 79,10 proc., o 2006 metais – 89,40 proc. Analizuojant 2007 m. registruotų usūrinių šunų pasiutlige atvejus nustatyta, kad susirgimų sumažėjo 37,77 proc., o 2008 m. nustatyti tik 6,81 proc. susirgimų (1 lentelė). Lygindami 2006 m. pasiutlige FAT tirtų usūrinių šunų skaičių (n=1104) su 2007 m. tirtų gyvūnų skaičiumi (n=323) pastebėjome, kad 2007

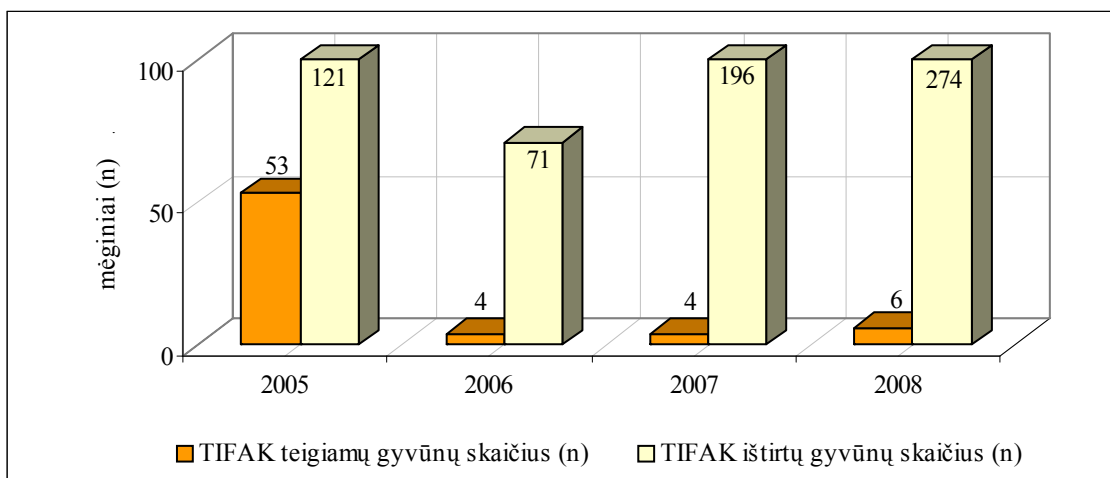
m. ištirta 29,25 proc. mažiau, todėl negalime teigti, kad dėl 2006 m. prasidėjusios POV tais metais padaugėjo ir pasiutlige sergančių usūrinių šunų (n=987) (1 lentelė). Lygindami 2007 m. pasiutlige FAT tirtų usūrinių šunų skaičių (n=323) su 2008 m. (n=308) nustatėme, kad 2008 m. usūrinių šunų ištirta tik 5 proc. mažiau. Vertindami šio palyginimo rezultatus galime teigti, kad atlikus POV usūrinių šunų susirgimų pasiutlige kasmet mažėja.

1 lentelė. Usūrinių šunų susirgimai pasiutlige Lietuvoje 2003–2008 metais

Metai	Tirtų gyvūnų skaičius (n)	Teigiami atvejai (n)	Teigiami atvejai (%)
2003	406	301	74,13
2004	389	160	41,13
2005	761	602	79,10
2006	1104	987	89,40
2007	323	122	37,77
2008	308	21	6,81
Iš viso:	3291	2193	66,63



a) FAT metodo rezultatai



b) TIFAK metodo rezultatai

2 pav. Usūrinių šunų (n=662), tirtų FAT ir TIFAK metodais, gautų rezultatų palyginimas

Norėdami patvirtinti pasiutligės FAT tyrimo metodo rezultatus neradus specifinių fluorescuojančių darinių tiriamoje medžiagoje ar radus nespecifinių fluorescuojančių darinių (galvos smegenyse), usūrinių šunų pasiutligės virusą audinių kultūroje išskyrėme naudodami N2a CCL-131 ląstelių liniją. Ši ląstelių linija yra jautri „lauko“ viruso izoliatams. Pasiutligės FAT ir TIFAK metodams palyginti ėmėme tuos pačius mėginius. FAT metodu buvo ištirti (n=662) usūrinių šunų galvos smegenų mėginiai, iš kurių 67 nustatyta pasiutligė (2 pav. a). Tie patys (n=662) usūrinių šunų galvos smegenų mėginiai buvo tirti TIFAK metodu. 67 mėginiuose buvo išskirtas ir identifikotas pasiutligės virusas (2 pav. b).

Vertinant 2005–2007 metų usūrinių šunų pasiutligės FAT su TIFAK tyrimo metodų rezultatus, gautos vienos išvados. Taikant pasiutligės TIFAK tyrimo metodą sumažinamas atliekamų biologinių tyrimų skaičius – laboratorinių pelių užkrėtimas (MIT) (OIE, 2008), kartu nuo 30 iki kelių dienų sutrumpinamas patvirtinamą rezultatą trukmės laikas.

Usūrinių šunų pasiutligės POV situacijai įvertinti 2006–2008 metais Lietuvoje mes taikėme IFA tyrimo metodą, kuriuo remdamiesi atlikome pasiutligės vakcinių antikūnų duomenų analizę. 2006–2008 metais POV visoje Lietuvos teritorijoje buvo atliekama du kartus per metus – pavasarį ir rudenį.

2 lentelė. Skirtingo amžiaus grupių usūrinių šunų oralinės vakcinacijos efektyvumo vertinimas IFA 2006–2008 metais

Apskritis	Jauni usūriniai šunys (iki 1 metų)			Teigiamų mėginių %	Suaugę usūriniai šunys (>1 metų)			Teigiamų mėginių %
	Bendras mėginių skaičius (n)	Neigiamas mėginių skaičius (n)	Teigiamų mėginių skaičius (n)		Bendras mėginių skaičius (n)	Neigiamų mėginių skaičius (n)	Teigiamų mėginių skaičius (n)	
Alytaus	0	0	0	0	8	4	4	50
Kauno	7	6	1	14,28	49	28	21	42,85
Klaipėdos	0	0	0	0	34	15	19	55,88
Marijampolės	4	4	0	0	14	8	6	42,85
Panevėžio	8	4	4	50	28	14	14	50
Šiaulių	12	6	6	50	49	24	25	51,02
Tauragės	13	12	1	7,69	62	33	29	46,77
Telšių	9	6	3	33,33	31	18	13	41,93
Utenos	30	21	9	30	94	33	61	67,77
Vilniaus	0	0	0	0	58	37	21	64,89
Iš viso:	83	59	24	28,91	427	214	213	49,88

Mes savo tyrimais nustatėme, kad usūrinių šunų pasiutligės epidemiologinė būklė yra susijusi su populiacijos dydžiu, galbūt ir imuniniu statusu. 2006–2008 metais visoje Lietuvos teritorijoje buvo atliekama POV naudojant „Lysvulpen“ vakciną, kuri yra atenuota SAD Berne (angl. – Street Alabama Dufferin) (Matouch et al., 2006). Tai tiesiogiai siejama su pasiutligės, kaip gamtinės infekcijos aktyvumo, svyravimais: įgyvendinant ilgalaikes POV programas, dideliuose regionuose padaugėja susirgimų pasiutlige. Pradėjus įgyvendinti 2006 m. POV programą, tais pačiais metais padaugėjo usūrinių šunų susirgimų pasiutlige (1 pav). Virusams infekuojant usūrinių šunų populiaciją, individų skaičius joje mažėja iki ribinės imlių

Usūrinių šunų POV *in vitro* efektyvumui iš kraujo nustatyti buvo naudojamas komercinis IFA rinkinys, taikomas nustatyti ir titruoti IgG pasiutligės viruso glikoproteiną gyvūnų kraujyje (Servat et al., 2007). 2006–2008 metais mūsų tyrimais nustatytas usūrinių šunų POV efektyvumas (2 lentelė). Antikūnų prieš pasiutligės virusą titravimas parodo vakcinuotų gyvūnų imuninio atsako intensyvumą. Pagal PSO rekomendaciją po vakcinacijos antikūnų titras 0,5TV/ml yra riba, rodanti gerą apsaugą uo pasiutligės usūriniais šunims (Matouch et al., 1998). Kita vertus, antikūnų prieš pasiutligės virusą nustatymas leidžia netiesiogiai įvertinti vakcinų efektyvumą oralinės laukinių gyvūnų vakcinacijos metu (Servat et al., 2007).

Mūsų tyrimais 237 mėginiuose rasti antikūnai (46,47 proc.). Buvo ištirti 83 (iki vienerių metų) usūrinių šunų kraujo mėginiai. Iš jų 24-iuose mėginiuose rasti vakcininiai antikūnai (28,91 proc.). Ištirtuose 427 vyresnio amžiaus usūrinių šunų kraujo mėginiuose antikūnų rasta 213 (49,88 proc.) (2 lentelė).

Išanalizavus šiuos duomenis galima teigti, kad imuniteto susidarymas prieš pasiutligės virusą yra efektyvesnis tarp vyresnio amžiaus gyvūnų (20 proc.). Galbūt vyresni gyvūnai (daugiau kaip 1 metų) turi galimybę ilgesnį laiką kontaktuoti su pasiutligės virusu, o ir jų imuninė sistema yra labiau išsivysčiusi.

gyvūnų koncentracijos ploto vienetu ir užtikrina pasiutligės persistentinį perdavimo tipą. Tokiu atveju 2004 m. pasiutligės atvejų natūraliai sumažėja, vėliau usūrinių šunų populiacija pradeda gausėti, kartu gausėja ir susirgimų. Lietuvoje 2005–2006 metais usūrinių šunų sergamumas gausėjo (1 pav.), todėl manoma, kad susirgimų svyravimai galimi kas 5–10 metų (Zienius, 2007).

Analizuojant usūrinių šunų infekuotumo pasiutlige dinamiką pastebėta, kad susirgimų skaičius sumažėjo 2007 ir 2008 metais (1 pav.). Tai gali būti susiję su „Lysvulpen“ vakcinacija, jos imunogenišku ir POV efektyvumu.

Mūsų atlikti tyrimai patvirtino, kad oralinės imuniza-

cijos programa yra efektyvus būdas kovojant su usūrinių šunų pasiutlige. Vakcinacijos efektyvumas matuojamas imuninio statuso kokybiniais rodikliais, t. y. kiek vakcinuotų usūrinių šunų įgavo imunitetą. Usūrinių šunų populiacijos imunitetas intensyvėja kiekvienos vakcinacijos metu, bet ir idealiai suplanavus POV programą gali siekti 50–90 proc., titruojant serumus Ak 30–80 proc. (0,5TV/ml) (Zienius, 2007). Stiprėjant populiacijos imunitetui gausėja populiacija, t. y. padidėja imlių infekcijai gyvūnų skaičius (Zienius, 2007).

Lietuvoje usūrinių šunų pasiutligės oralinė revakcinacija atliekama du kartus per metus – pavasarį ir rudenį. Rudeninės vakcinacijos metu POV atliekama suaugusiems ir jauniems (iki 1 metų) gyvūnams, o pavasarinė skiriama kasmet mažesniai suaugusių ir jaunų populiacijos skaičiui. Europos usūriniai šunys jaunikius atsiveda gegužę, nes jų ilgesnis šuningumo laikotarpis negu lapių (Kauhala, 1996), o lapės – nuo gegužės 15 iki balandžio 15 (Lloyd, 1980). Lapės jaunikliai maistą (jauką) ima dantimis (Mac Donald, 1987), o usūrinių šunų jaunikliai neima (Kauhala, 1996). Mūsų atliktų IFA tyrimų rezultatai parodė, kad ištirtuose usūrinių šunų jaunikių mėginiuose (28,91 proc.) buvo nustatyti antikūnai. Taigi manome, kad usūrinių šunų jaunikliai, nesuėdę jauko su vakcina, ir toliau lieka potencialūs pasiutligės viruso nešiotjai ir platintojai.

Mūsų tyrimai parodė, kad usūrinių šunų populiacijos ir susirgimų pasiutlige mažėjimas verčia įvertinti ir pasiutligės paplitimo ekologinius aspektus. Periodiškai mažėjantys susirgimai pasiutlige nustatyti Europoje (Toma, Andral, 1977). Manoma, kad per pastaruosius metus sklandžiai ir laiku atlikta POV ateityje padės įveikti šią pavojingą užkrečiamąją ligą.

Sėkminga laukinių POV priklauso nuo kelių elementų: aiškios vakcinacijos vietos, vakcinacijos laiko vakcinos (jauko) platinimo būdo, jų kiekio, vakcinos savybės ir programos efektyvumo (Niin et al., 2008).

### Išvados.

1. Usūriniai šunys yra vienas iš pagrindinių pasiutligės virusų plėtos vektorių Lietuvoje, nes jų populiacijoje pasiutligės paplitimas 2003–2008 metais sudarė 66,63 proc.

2. 2006–2008 metų Lietuvoje laukinių gyvūnų pasiutligės oralinė vakcinacija buvo efektyvi, nes pasiutligės užsikrėtimo mastą usūrinių šunų populiacijoje įgalino sumažinti nuo 89,40 proc. (2006 m.) iki 6,81 proc. (2008 m.).

3. Tiriant specifinių antikūnų titrą usūrinių šunų kraujyje IFA metodu nustatyta, kad 46,47 proc. mėginių buvo identifikuoti 0,5TV/ml ir didesni specifinių antikūnų titrai.

### Literatūra

1. Aubert A. M. Dualité dans le groupe de Grothendieck de la catégorie des représentations lisses de longueur finie d'un groupe reductif p-adique. *Trans. Amer. Math. Soc.* 347. 1995. P. 2179–2189.

2. Baltrunaite L. Diet composition of the red fox (*Vulpes vulpes L.*), pine marten (*Martes martes L.*)

and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides Gray*) in clay plain landscape. Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*. 2002.12. P.362–368.

3. Bourhy H., Dacheux L., Strady C., Mailles A. Rabies in Europe in 2005. *Eurosurveillance*. 2005. 10. P. 213–216.

4. EU Commission. The oral vaccination of foxes against rabies. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. 2002. P. 1–55.

5. Finnegan C. J., Brookes S. M., Johnson N., Smith J., Manfield K. L., Keene V. L., McElhinney L., Fooks A. R. Rabies in North America and Europe. *J. R. Soc. Med.* 2002. 95. P. 9–13.

6. Jacevičienė I., Jacevičius E., Tamošiūnas V. A., Milius J., Lukauskas K., Pridotkas G. Lapių oralinės vakcinacijos prieš pasiutligę įvertinimas imunologiniais tyrimais. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 43. 2008. 65. P. 30–37.

7. Kauhala K. Introduced carnivores in Europe with special reference to central and northern Europe. *Wildlife Biology*. 1996. 2. P. 197–204.

8. Kauhala K. Reproductive strategies of the raccoon dog and the red fox in Finland. *Acta Theriol.* 1996. 41. P. 8–51.

9. Lloyd H. G. The red fox. London: Batsford B.T. 1980. P. 320.

10. Mac Donald D. Running with the fox. London, Sydney: Unwin Hyman. 1987. P. 224.

11. Matouch O., Jaroš J., Vrazal. Oral vaccination of fox cubs against rabies in the vicinity of dens. *Vet MedCzech*. V.1998. 43. P. 245–248.

12. Matouch O., Vitasek J., Semerad Z., Malena M. Elimination of rabies in the Czech Republic. *Dev Biol*. 2006. 125. P. 141–143.

13. Meslin F. X., Kaplan M. M. An overview of laboratory techniques in the diagnosis and prevention of rabies in rabies research. In: Meslin F. X., Kaplan M. M., Koprowski H., editors. *Laboratory techniques in rabies*. 4 th ed. Geneva: World Health Organization. 1996. P. 9–27.

14. Niin E., Laine M., Guiot A. L., Demerson J. M., Cliquet F. Rabies in Estonia: Situation before and after the first campaigns of oral vaccination of wildlife with SAG2 vaccine bait. *Vaccine*. 2008. 26. P. 3556–3565.

15. OIE (Office International des Epizooties), 2008. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Rabies. Chapter 2.1.13 P. 304–323.

16. Servat A., Feysaguet M., Blanchard I., Morize J. L., Schereffer J. L., Boue F., Cliquet F. A Quantitative indirect ELISA to monitor the effectiveness of rabies vaccination in domestic and wild carnivores. *J Immunol Methods*. 2007. 318: P. 1–10.

17. Sureau P., Rollin P., Wiktor T. J. Epidemiological analysis of antigenic variations of street rabies virus: detection by monoclonal antibodies. *American J. of Epidemiology*. 1983. Vol.117. 5. P. 605–609.

18. Zienius D. Retrospektyviniai pasiutligės prevencijos ir kontrolės aspektai Lietuvos laukinių gyvūnų populiacijoje 1995–2002 metais. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 27. 2004. 49: P. 34–40.

19. Zienius D. Lietuvos laukinių gyvūnų pasiutligės: prevencijos priemonių efektyvumo kriterijai. *Veterinarija ir zootechnika*. 2007. 38: P. 84–90.

20. Toma B., Andral L. Epidemiology of fox rabies. In: Laufer MA, Bang FB, Maramoroch K., Smith K. M, editors. *Advances in virus research*. New York: Academic Press. 1977. 21. P. 1–36.

21. WHO (World Health Organization). Expert Committee on Rabies. WHO Technical Report. 1992. N. 824. P.84.

Gauta 2009 10 05

Priimta publikuoti 2010 05 05