

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

TVIRTINU:

**ŽEMĖS ŪKIO MINISTERIJOS 2015-2022 METŲ TARPTAUTINIŲ
MOKSLINIŲ TYRIMŲ IR TAIKOMOSIOS VEIKLOS PROGRAMA**

Projektas Nr. TM-21-1/2021-PRO-00041

**“Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir
įvertinimas”**

Angliškas pavadinimas: “Development of a rapid screening test for on-site serological diagnostics of
caprine arthritis-encephalitis using individual milk samples”

GALUTINĖ ATASKAITA

(Už 2021-2025 metus)

Tyrimo vadovas

Prof. Habil. Dr. Saulius Petkevičius

Kaunas

2025

Pagrindiniai tyrimo vykdytojai

Projekto vadovas	Prof. Habil. dr. Saulius Petkevičius, LSMU VA Veterinarinės patobiologijos katedros vedėjas.	Tyrimo vadovas, parazitinių ir kitų užkrečiamųjų ligų tarptautinio lygio ekspertas.
Projekto vykdytojai	Prof. Dr. Alvydas Malakauskas, LSMU VA Veterinarinės patobiologijos katedros profesorius.	Veterinarijos gydytojas epidemiologas, smulkių atrajotojų ligų prevencijos ekspertas.
	Prof. Dr. Algirdas Šalomska, LSMU VA Veterinarinės patobiologijos katedros profesorius.	Atrajotojų virusinių ligų diagnostikos ir prevencijos priemonių parengimo ekspertas.
	Dr. Tomas Kupčinskas, LSMU VA Veterinarinės patobiologijos katedros lektorius.	Gyvūnų užkrečiamųjų ligų prevencijos ekspertas.

Projektas vykdomas pagal iniciatyvą “International Coordination of Research on Infectious Animal Diseases (ICRAD)” European Union’s Horizon 2020 tyrimų ir inovacijų programą pagal dotacijos sutartį Nr. 862605. **Projekte dalyvauja sekantys užsienio šalių partneriai:**

Projekto koordinatorius	Dr. Michał Czapowicz, Warsaw University of Life Sciences-SGGW Institute of Veterinary Medicine. michal_czapowicz@sggw.edu.pl Tel.: 0048 225936111 Mobile: 0048 508874651
Projekto įgyvendinime dalyvaujančios institucijos	Prof. Snorre Stuen, Norwegian University of Life Sciences. snorre.stuen@nmbu.no Tel.: 0047 4748201929 Mobile: 0047 4748201929. Prof. Giuseppe Bertoni, University of Bern Department of Infectious diseases and Pathobiology. bertoni@vetsuisse.unibe.ch Tel.: 0041 316312483 Mobile: 0041 787375760.

	Dr. László Ózsvári, University of Veterinary Medicine Budapest (UVMB) Department of Veterinary Forensics and Economics. ozsvari.laszlo@univet.hu Tel.: 0036 14784185 Mobile: 0036 304887651. Prof. Saulius Petkevicius, Lithuanian University of Health Sciences (LSMU) Department of Veterinary Pathobiology. saulius.petkevicius@lsmuni.lt Tel.: +370 37363559 Mobile: +370 67667396.
--	--

IVADAS

Ožkų infekcinis artritas - encefalitas (OIAE) lėtinis susirgimas, kurį sukelia *Lentivirus* genties, *Retroviridae* šeimos virusas (Leroux ir kt., 2008). OIAE virusas – vienos grandinės RNR virusas, gebantis integruoti savo informaciją į šeimininko DNR prieš pradėdamas daugintis. Tokia integruota informacija vadinama provirusu ir ilgą laiką gali išlikti latentinės būsenos bei sporadiškai suaktyvėti. Tokiu atveju infekuotos ląstelės pradeda gaminti naujas virusų kopijas (Highland, 2017). Nustatyta, kad ožkų infekcinis artrito – encefalito virusas ir avių Maedi – Visna virusai yra labai genetiškai artimi, todėl yra klasifikuojami kaip smulkių atrajotojų lentivirusai (SALV). Šie virusai yra patogeniški tiek ožkoms, tiek ir avims (Leroux ir kt., 2010).

Smulkiųjų atrajotojų lentivirusai gali infekuoti įvairias organizmo ląsteles, tačiau pagrindiniai jų taikiniai – monocitai, makrofagai ir dendritinės ląstelės (Lechner ir kt., 1997). Monocitams bręstant į makrofagus audiniuose, skatinamas transkripcijos faktorius. Būtent tai lemia viruso genetinės informacijos integravimąsi į šeimininko DNR ir ilgalaikį viruso replikavimąsi šiose ląstelėse (Blacklaws, 2012). Patogenas gali replikuotis tik subrendusiuose monocituose – makrofaguose (Crespo ir kt., 2013). Virusas replikuojausi makrofaguose, tačiau limfocitų nepažeidžia. Virusų imunopatologinis mechanizmas dar nėra visiskai aiškus. Tačiau žinoma, jog dalyvauja komponentai atsakingi už imuninį organizmo atsaką: ląstelės atpažįstančios antigenus, T ir B limfocitai (Narayan, Clements, 1989; Crespo ir kt., 2013). Monocituose esantis lentivirusinis provirusas ilgai būna labai mažai ar visai nepatogeniškas. Manoma, kad šios latentiskai infekuotos ląstelės veikia kaip “Trojos arklys” ir išnešioja patogeną po visą organizmą, tačiau jo poveikis neiškart būna pastebimas (Georgsson ir kt., 1989). Šio tipo virusai sukelia lėtinius ir lėtai progresuojančius susirgimus, pasireiškiančius retikuloendotelinėje sistemoje, pieno liaukose, CNS, plaučiuose ir/ar sąnariuose (Narayan, Clements, 1989). Įprastai, į organizmą virusas patenka per kvėpavimo sistemos ar virškinimo sistemos gleivines. Iš pradžių virusas infekuoja gleivinių dendritines ląsteles ir jomis keliauja į limfinius mazgus. Čia infekuojamos imuninio atsako ląstelės – monocitai. Monocitams bręstant prasideda viruso replikacija. Infekuoti makrofagai patenka į kraują ir sukelia sisteminę infekciją organizme. Persistuojanti infekcija pasireiškia kaip jungiamojo audinio kaulų čiulpuose uždegimas arba lėtinis kamieninių ląstelių uždegimas. Kraujas išnešioja infekuotus monocitus po visą organizmą. Patekusios į audinius, tokius kaip plaučių, pieno liaukų, CNS ir sąnarių, monocitinės ląstelės subręsta į makrofagus. Audiniuose prasideda imuninis atsakas į viruso antigenus, o tai skatina didesnę uždegiminių ląstelių infiltraciją į šiuos audinius. Taip sukurama tinkama aplinka virusui daugintis makrofaguose ir infekuoti sveikus monocitus. Būtent dėl šio ciklo audiniuose nuolat vyksta uždegiminiai procesai ir imunopatogeninis mechanizmas. Kuomet audiniuose susikaupia daug uždegiminių ląstelių, jos susigrupuoja į limfoidinius folikulus, panašius kaip limfinių mazgų viduje. Be

to, infekuotuose audiniuose vyksta specifiniai pokyčiai, suardoma būdinga audinių sandara ir sutrikdomas jų funkcionavimas (Blacklaws, 2012).

SALV plačiai paplitę visame pasaulyje. Užsikrėtimai fiksuojami Taivane, Kanadoje, Jordanijoje, Meksikoje, JAV, Australijoje, Didžiojoje Britanijoje, Ispanijoje, Egipte, Lenkijoje (Enache ir kt., 2016). Ožkų ir avių populiacijose, infekuotų gyvūnų skirtinguose endeminiuose regionuose, gali svyruoti nuo mažiau kaip 5 proc. iki 60 ir daugiau proc. (www.cfsph.iastate.edu). Virusas greičiau plinta didesnėse bandose, kur gyvuliai ilgą laiką laikomi uždaromis sąlygomis (Minguijón ir kt., 2015). OIAE viruso paplitimas didesnis pieninių ožkų ūkiuose, negu mėsai ar kailiui auginamų ožkų ūkiuose. Šių skirtumų priežastys iki galo nežinomos, tačiau manoma, kad įtakos turi genetiniai faktoriai ar kitokios auginimo sąlygos (www.cfsph.iastate.edu). OIAE viruso infekcija Lietuvoje yra diagnozuojama, tačiau mokslinių publikacijų šia tema nebuvo paskelbta ir epidemiologinė situacija nebuvo nuodugniau išnagrinėta.

Smulkiųjų atrajotojų lentivirusus gali platinti visi infekuoti individai, sergantys klinicine ar subklinicine ligos forma (Enache ir kt., 2016). Virusas perduodamas horizontaliuoju keliu, tiesioginio kontakto metu per kvėpavimo takus ar vertikaliuoju keliu, kai infekuota ožka perduoda virusus ožiukui su krekenomis ar pienu (Brotto ir kt., 2021; Peterhans ir kt., 2004). Tai buvo įrodyta radus virusą pieno liaukos audiniuose bei piene (Boleaa, Monleóna, 2006). Tačiau atlikus detalesnius tyrimus, nustatyta, jog laktogeniniu keliu virusu užsikrečia tik 10 – 15 proc. ožiukų. Taip pat nustatyta, kad toks virusų perdavimo būdas labiau būdingas ožkoms, nei avims (Schultz ir kt., 2020). Virusų perdavimas lytiniu keliu, dirbtinio ar natūralaus sėklinimo metu pasitaiko itin retai (Peterson, Brinkhof, 2008).

SALV infekcijai būdingas ilgas inkubacinis periodas. Užsikrėtusių ožkų bandose klinikiniai požymiai gali pasireikšti tik mažiau nei 30 proc. infekuotų individų (Hasegawa ir kt., 2016; Brotto ir kt., 2021; Newcomer ir kt., 2021). Ožkų artrito-encefalito virusui būdingesni klinikiniai ligos požymiai yra artritas, mastitas ir jaunesnių ožiukų encefalomyelitas (Brotto ir kt., 2021, Newcomer ir kt., 2021). Retesniais atvejais infekuotų ožkų organizmuose virusas gali sukelti intersticinę plaučių pneumoniją ir progresuojančią dispneją (Barrero ir kt., 2017). Taip pat gali būti pastebimi ir kiti simptomai: raumenų tremoras, depresija, vaikščiojimas ratu, galvos trankymas į sieną, klinikinis mastitas, limfadenopatija (Villoria ir kt., 2013; Souza ir kt., 2013; Houwers, 1990). Jauniems gyvūnams dažniausiai diagnozuojama intersticinė pneumonija ir encefalitas, tuo tarpu vyresniems gyvuliams dažniau pasireiškia mastitas bei artritas (Leitner ir kt., 2010). Kadangi šių virusų infekcijai būdinga didelė klinikinių požymių įvairovė, vertinant ožkų sveikatingumą papildomai turėtų būti atliekami ir kitų galimų infekcijų diferenciniai diagnostiniai tyrimai, atliekant kitų lėtinių infekcijų ar parazitų invazijos testus.

Lentivirusų infekcija gali būti nustatoma serologiniu metodu nustatant antikūnus kraujo serume ar molekuliniais metodais, aptikus viruso RNR ar į ląstelės genomą integruotą provirusinę DNR (Tu ir

kt., 2017). Vieni tiksliausių OIAE viruso infekcijos diagnozavimo metodų yra imunofermentinė analizė (ELISA) ir imunodifuzija agarų gelyje (AGID). Tačiau, šie diagnozavimo metodai palyginti brangūs, tyrimai turi būti atliekami laboratorijoje, kas yra nepraktiška, ypač mažų bandų laikytojams (Cheevers ir kt., 1981). Serologinė analizė ELISA ir AGID metodais gali būti atliekama tiriant kraujo serumą ar pieną, tačiau kraujo serumo mėginių tyrimas rodo didesnę metodo jautrumą nei pieno mėginių tyrimas (Brinkhof ir kt., 2007; Plaza ir kt., 2009). Visi šie tyrimo metodai gali būti atliekami paėmus mėginius ir juos nugabenus į laboratoriją. Todėl ir yra poreikis sukurti greitai ir paprastai atliekamą OAE virusų infekcijos nustatymo būdą, kurį būtų galima atlikti net fermos sąlygomis iš kraujo ir/ar pieno.

SALV yra skirstomi į ožkų infekcinio artrito-encefalito virusus bei avių Maedi-visna virusus ir jiems yra priskiriami skirtingi genotipai. A genotipas priskiriamas avių Maedi-visna virusams, o B genotipas priskiriamas OIAE virusams. Kadangi šie virusai yra patogeniški ožkoms ir avims, yra žinoma, kad ožkos gali užsikrėsti ne tik genotipu B, bet ir genotipu A. Iki šiol nebuvo žinoma, kokie lentivirusų genotipai cirkuliuoja Lietuvos ožkų populiacijoje, todėl smulkių atrajotojų A ir B genotipų identifikavimas buvo dar vienas svarbus žingsnis aiškinantis OAE etiologiją.

Projekto tikslas: Sukurti ir įvertinti greitąjį antikūnų testą CAE-RAPID testą visą gyvenimą trunkančiai ir nepagydomai ožkų artrito-encefalito ligai, kurią sukelia *Retroviridae* šeimos virusai, diagnozuoti.

Tiriamieji projekto objektai: ožkos - tiriami kraujo ir pieno mėginiai, renkami duomenys epidemiologinei analizei.

Tyrimo uždaviniai 2021-2024 metams:

1. Įvertinti pieninės ožkininkystės ūkių gyvulių sveikatingumo problemas.
2. Ištirti virusinės ligos ožkų artrito-encefalito serologinį paplitimą ir epidemiologinius ypatumus.
3. Įvertinti naujai kuriamo greitojo OAE antikūnų nustatyto testo taikymo galimybes lauko sąlygomis taikant neinvazinius tyrimo metodus ir juos lyginant su tradiciniais tyrimo būdais.
4. Parengti rekomendacijos ožkininkystės ūkiams ir veterinarijos gydytojams OAE prevencijai, ligos diagnostikai, kontrolei ir likvidavimui.

1. TYRIMŲ METODIKA

1.1. Ūkininkų atranka ir ūkių grupavimas

Tyrimui reikalingi duomenys buvo pradėti rinkti nuo 2021 metų gegužės mėn. iš visų ožkų augintojų, išsidėsčiusių dešimtyje Lietuvos apskričių ir apie kuriuos internete yra randama viešai prieinama kontaktinė informacija. Taip pat, buvo bendradarbiaujama su Lietuvos ožkų augintojų asociacijomis bei buvo prisijungta prie ožkų augintojų grupės socialiniame tinklapyje "Facebook". Atrinkta 30 ūkių, kurie atitiko minimalų auginamų ožkų skaičių (10 vnt. viename ūkyje) bei sutiko dalyvauti projekto veikloje. Iš viso 2021-2023 metais buvo surinkta mėginių iš 46 ožkų ūkių.

1.2. Klausimynas ūkininkams

Parengtas klausimynas, kuris buvo pateiktas ūkininkams. Klausimyno tikslas - išanalizuoti ožkų infekcinio artrito-encefalito (OIAE) ligos epidemiologinius duomenis ožkininkystės ūkiuose, siekiant nustatyti šios ligos virusų sukeltas bei bendrąsias sveikatingumo ir produktyvumo problemas ožkų ūkiuose ir galimus šių problemų sprendimo būdus pateikiant rekomendacijas.

Apklausą sudaro 26 klausimai. Tyrimo anketoje klausimai apima kelias sritis: bandos valdymo informacija (ožkų skaičius, laikymo ir šėrimo tipas, veisimo būdas, gyvūnų grupavimas ir kt.), bandos sveikatingumo duomenys (ūkio statusas infekcinių ligų atžvilgiu, ligų pasireiškimas ir dažnis ūkyje, dažniausi klinikiniai požymiai ožkoms (jeigu yra buvę problemų), taikomos profilaktikos priemonės (profilaktikos ir prevencijos priemonės, atliekamos vakcinacijos bei taikomos biosaugos priemonės ūkyje).

1.3. Kraujo mėginių tyrimo metodika

1.3.1. OIAE antikūnų tyrimas

Surinkti kraujo mėginiai buvo tiriami imunofermentinės analizės (IFA) metodu, naudojant išgrynintus MVV/CAEV antigeno baltymus (ID Screen MVV/CAEV indirect Screening test, Innovative Diagnostics, Prancūzija). Šis diagnostikos rinkinys skirtas antikūnams aptikti ir yra tinkamas nustatyti Maedi-visna viruso (MVV) arba ožkų artrito encefalito viruso (CAEV) infekcijas. Šiuo būdu tiriami avių ir ožkų kraujo serumai, plazmos ar pieno mėginiai. Rinkinio diagnostiniai šulinėliai yra padengti iš MVV/CAEV virusų išskirtais gp135 ir p25 baltymais. Anti-MVV/CAEV antikūnai, jei jų yra, sudaro antigeno-antikūnų kompleksą. Anti-atrajotojų IgG klasės antikūnų ir peroksidazės (HRP) konjugatas taip pat pilamas į tyrimo plokštelės mikrosulinius. Reakcijos metu konjugatas jungiasi su anti-MVV/CAEV antikūnais ir susidaro antigeno-antikūno-konjugato-HRP kompleksas. Po plovimo, siekiant pašalinti perteklinį konjugato kiekį, įpilamas substrato tirpalas (TMB). Įvykus reakcijai su

substrato medžiaga TMB, pakitusi spalva priklauso nuo specifinių antikūnų kiekio, esančių tiriamame mėginyje: 1. jei yra antikūnų, tirpalas nusidažo mėlynai, kuris, papildomai įpylus stabdymo skysčio, tampa geltonas; 2. jei nėra antikūnų, tirpalas lieka bespalvis. Galutinis reakcijos vertinimas buvo atliekamas spektrofotometru (BioTek Synergy Mx) matuojant skysčio optinį tankį ir pagal spalvos intensyvumo skirtumus buvo nustatoma ar mėginyje yra antikūnų ar jų nėra.

1.3.2. Molekuliniai (PGR) tyrimai

Siekiant išskirti leukocitų frakciją (periferinio kraujo mononuklearinės ląstelės (PBMC)), kraujo mėginiai su EDTA buvo apdoroti specialia medžiaga „Ficoll-plaque PLUS“. Išskirta ląstelių frakcija buvo naudojama PGR tyrimams. DNR išskyrimas buvo atliktas naudojant Qiagen DNeasy® Blood & Tissue rinkinį (Qiagen, Hilden, Vokietija). Genetinis ryšys tarp smulkiųjų atrajotojų lentivirusų buvo analizuojamas naudojant 200 bp ilgio LTR-gag viruso genomo sekos fragmentą.

Tyrimui pasirinkta lizdinė realaus laiko polimerazės grandininė reakcija (PGR, *angl. nested real-time PCR*). Lizdinė polimerazės grandininė reakcija mažina nespecifinių DNR molekulių amplifikaciją. Ši PGR modifikacija yra skirta pagerinti jautrumą ir specifiškumą. Realaus laiko PGR – vadinama kiekybinė PGR mėginio amplifikacija. DNR amplifikacija nustatoma realiu laiku, naudojant fluorescencinius signalus. Fluorescencinio signalo stipris tiesiogiai proporcingas amplifikuotų DNR molekulių skaičiui.

Lizdinė realaus laiko PGR buvo atlikta dviem iš eilės amplifikacijos etapais. Pirmoje PGR reakcijoje, kurią sudaro įprastas kokybinis PGR, buvo naudojamas Hotstar Taq Master Mix (HotStarTaq DNA Polymerase rinkinys, Qiagen GmbH, Hilden, Vokietija), specifiniai pradmenys ir ekstrahuota DNR. Amplifikacija pradedama polimerazės aktyvavimu, vykdomi PGR ciklai skirtingose temperatūrose.

1.3.3. SRLV genų sekos nustatymas

Buvo susisiepta su seropozityvių bandų savininkais ir gauti leidimai pakartotinai paimti kai kurių seropozityvių ožkų mėginius molekuliniams tyrimams. Kraujo mėginiai buvo paimti iš *vena jugularis* į 10 ml mėgintuvėlius su etilendiaminotetraacto rūgštimi (EDTA) kaip antikoaguliantu (BD Vacutainer, BP-Plymouth UK) ir centrifuguojami 3000 aps./min. ($1390 \times g$) 10 min. Paimta 500 µl leukocitų frakcijos ir eritrocitų priemaiša buvo lizuojama naudojant 1 ml RBC lizės buferio (G-Biosciences, St. Louis, Missouri, JAV). Gauti leukocitai buvo laikomi -20 °C temperatūroje iki tyrimo atlikimo. DNR iš leukocitų buvo ekstrahuota naudojant Qiagen DNeasy® Blood & Tissue rinkinį (Qiagen, Hilden, Vokietija) ir išskiriama naudojant 100 µL eliuavimo buferio pagal gamintojo protokolą. Ekstraktai buvo tiriami naudojant dviejų pakopų realaus laiko PGR (RT-nPCR), siekiant nustatyti SRLV genotipo A ir

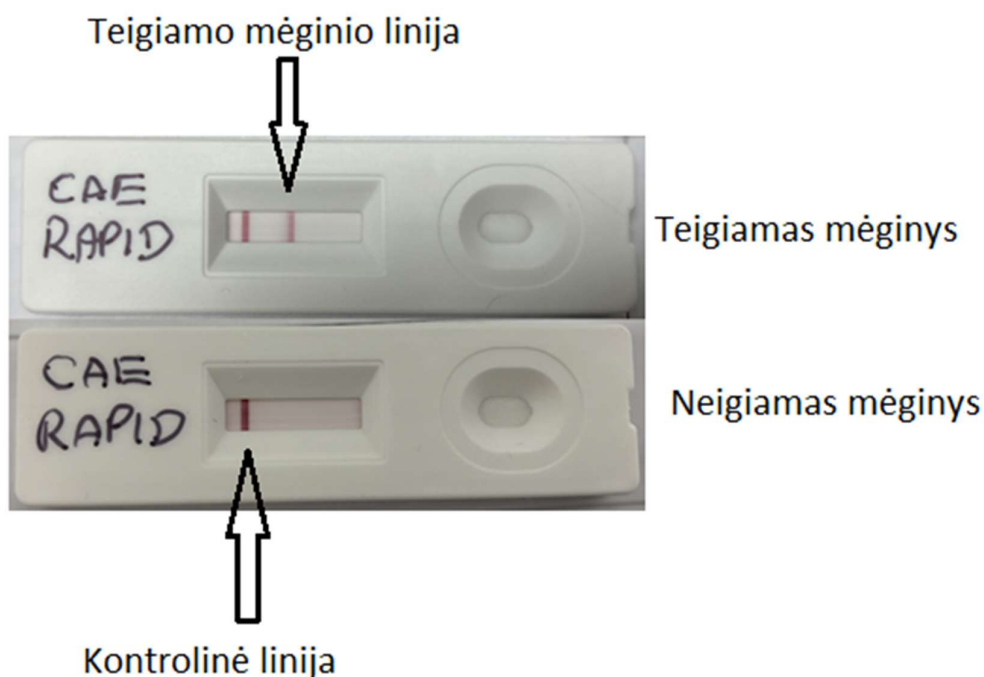
B provirusinę DNR (Schaer ir kt., 2022). RT-nPCR buvo iširta dviem nuosekliais amplifikacijos etapais. Pirmasis žingsnis buvo įprastas kokybinis PGR, kuriame buvo 12,5 µl Hotstar Taq Master Mix (HotStarTaq DNA Polymerase rinkinys, Qiagen GmbH, Hilden, Vokietija), 0,15 µl pradmenų mišinio (S1 lentelė) ir 5 µL ekstrahuotos DNR. Amplifikacija prasidėjo polimerazės aktyvavimu 95° C temperatūroje 15 minučių, po to 40 ciklų: 20 s 94° C temperatūroje, 30 s 60° C temperatūroje atkaitinimui ir 45 s 72° C pratęsimui. Antrame etape visi pirmojo PGR produktai buvo išbandyti lygiagrečiai, naudojant du genotipui būdingus RT-PGR, kad būtų galima aptikti ir atskirti SRLV genotipus A ir B. RT-PGR reakcijose buvo 12,5 µl TaqMan™ universalaus PCR pagrindinio mišinio. (Applied Biosystems, Life Technologies, Waltham, MA, JAV), 0,25 µl kiekvieno pradmens, 0,5 µl zondų ir 5 µL PGR produkto iš pirmojo etapo. Amplifikacijos profilius sudarė 20 s laikymo stadija 95° C temperatūroje ir 40 ciklų PGR stadija: 15 s 95° C temperatūroje ir 60 s 60° C temperatūroje. Terminis ciklas buvo atliktas naudojant 7300 Real-Time PGR sistemą (Applied Biosystems, Life Technologies, Waltham, MA, JAV) ir LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Šveicarija).

Iš kiekvienos RT-nPCR teigiamos ožkų bandos viena kiekvieno SRLV genotipo padermė buvo pateikta RT-nPCR tikslinės srities sekos nustatymui naudojant Sanger metodą. Sekvenavimą atliko komercinė laboratorija (Genomed, Varšuva, Lenkija). Sekos buvo deponuotos „GenBank“ (prisijungimo numeriai: PP855635–PP855644). Genetinis giminingumas tarp SRLV padermių buvo analizuojamas remiantis 200 bp ilgio ilgojo galo regiono (LTR) fragmentu ir provirusinės DNR gag geno seka (LTR-gag), esančia RT-nPCR tikslinėje sekoje (Schaer ir kt., 2022). Iš viso 10 sekų, papildytų 27 glaudžiai susijusiomis etaloninėmis RNR arba provirusinėmis DNR sekomis iš viso A1 potipių (EV1, Kv1514, Kv1772, SA-OMVV), A2 (OvLV 85/34, USMARC-200303013-1, 1150) SRLV genomo.), A2/A3 (697), A4 (AY445885), A18 (SRLV025), A19 (SRLV009), B1 (CAEV-Cork, SRLV020, SRLV/B1/Goat/MX/INIFAP-1/2013, FESC-752, išanalizuoti iš GenBank gauti SRLV_To1.89, SRLV010, Gansu), B2 (Ov496, SRLV001, SRLV042), B3 (Fonni, Volterra), C1 (1GA), E1 (Roccaverano) ir E2 (Seui) (S2 lentelė) filogenetiškai. Gautos provirusinės DNR sekos buvo suderintos naudojant Muscle algoritimą, įdiegtą Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) programinėje įrangoje. Filogeninė konstrukcija buvo atlikta naudojant kaimynų sujungimo (NJ) metodą (Saitou ir Nei, 1987), taip pat MEGA. Evoliuciniai atstumai buvo apskaičiuoti naudojant Tamura-Nei metodą (Tamura ir Nei, 1993) ir išreikšti nukleobazių pakeitimų (perėjimų ir transversijų) skaičiumi vienoje vietoje išilgai horizontalių filogeninių medžių šakų. Grafiškai tai rodoma visų horizontalių šakų tarp dviejų SRLV padermių ilgių suma. Dviejų padermių tapatumo procentas buvo apskaičiuotas kaip 100 proc. atėmus visų nukleobazės pakaitų sumą vienoje vietoje tarp dviejų padermių. Topologijų patikimumo lygis buvo įvertintas naudojant 1000 įkrovos pakartojimų ir pateiktas filogenetiniame medyje kaip įkrovos medžių, turinčių tą pačią topologiją, dalis (Zharkikh ir Li, 1995). Visos pozicijos, kuriose yra spragų ir trūkstanų

duomenų, buvo ignoruojamos. Padermė buvo priskiriama tam tikram potipiui, jei ji skyrėsi nuo prototipinio (-ių) padermės mažiau nei 0,15 nukleobazės pakeitimų vienoje vietoje (tapatumas $\geq 85\text{proc.}$ proc.) (Bertolotti ir kt., 2011).

1.3.4. Bandomųjų testų (CAE-RAPID) efektyvumo papildomas tyrimas

Bandomosios testo serijos buvo pagamintos panaudojus smulkių atrajotojų lentivirusų A ir B genotipų transmembraninio (TM3) antigeno (sintetinių peptidų, konjuguotų su ovalbuminu) mišinius. Bandomieji *CAE-RAPID* greitieji testai buvo išbandyti vertinant jų jautrumą ir specifiškumą praėjus 10 - 40 minučių po kraujo lašo įlašinimo į šulinėlį pagal specifinių linijų susidarymą testo kasetėje (1 pav.).



1 pav. Bandomieji *CAE-RAPID* greitieji testai buvo vertinami-praėjus 10 - 40 minučių po kraujo lašo įlašinimo į šulinėlį pagal specifinių linijų susidarymą testo kasetėje

Pirmajame greitojo testo tyrimų etape kartu su projekto kordinatoriumi iš Varšuvos gyvybės mokslų universiteto šis bandomasis tyrimas buvo atliktas LSMU VA Veterinarinės patobiologijos katedroje ir Varšuvos gyvybės mokslų universitete, Veterinarinės medicinos institute su 92 teigiamais ir 46 neigiamais kraujo mėginiais, kurie prieš tai buvo įvertinti standartiniu ELISA tyrimu.

Antrajame greitojo testo tyrimų etapui buvo atrinkta 217 ožkų kraujo serumo ir tiek pat pieno mėginių. Šie mėginiai buvo suslirstyti į tikrai teigiamus mėginius (143 mėginiai, gauti iš ožkų,

kurių užsilrėtumas buvo patvirtintas ELISA ir PGR metodais) ir 74 tikrai neigiamus mėginius (šie mėginiai buvo paimti iš ožkų, kurios buvo neužsikrėtę OAE virusais, tiriant jas ELISA ir PGR metodais).

Diagnosticinis greitojo testo jautrumas buvo apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{proc.} = \frac{TT}{TT + NN} \times 100$$

Kur TT – tikrai teigiamų mėginių skaičius, nustatytas standartine reakcija; NN – netikrai neigiamų mėginių skaičius, nustatytas lyginamąja reakcija, bet teigiami tiriant standartiniu ELISA testu.

Diagnosticinis specifiškumas buvo apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{proc.} = \frac{TN}{TN + NT} \times 100$$

Kur TN – tikrai neigiamų mėginių skaičius, standartinėje ELISA reakcijoje nereagavę; NT – netikrai teigiamų mėginių skaičius, t. y. teigiami tiriant greituosiu testu, bet neigiami tiriant standartine ELISA.

1.3.5. Paratuberkuliozės (MAP) tyrimas

Paratuberkuliozė (*Mycobacterium paratuberculosis*) yra lėtinė sekinanti liga, kurios kai kurie pirminiai simptomai gali būti panašūs ir į OIAE sukeltus požymius.

Tyrimams buvo naudojamas specifiškai jautrus netiesioginės ELISA testas (INDICAL's cattletype MAP Ab Kit). Šis diagnostikos metodas yra skirtas *Myobacterium avium* antikūnams aptikti atrajotojų serumo, plazmos ir pieno mėginiuose. Mikrotitravimo plokštelės duobutės padengtos MAP antigenu. Jei tiriamajame mėginyje yra MAP specifinių antikūnų, mėginio inkubacijos metu jie jungiasi prie imobilizuoto antigeno ir suformuoja antigeno-antikūno kompleksus. Nesurištos medžiagos pašalinamos skalaujant. Pradedama kolorimetrinė reakcija pridedant substrato tirpalo. Jei mėginyje yra MAP specifinių antikūnų, peroksidazės HRP katalizatorius reakcijos tirpalą nudažo mėlyna spalva, o įpylus reakciją stabdančio skysčio- jis tampa geltonas. Jei antigeno-antikūno kompleksas nesusidarė, reakcijos tirpalas lieka bespalvis. Optinis tankis matuojamas spektrofotometru. Optinio tankio reikšmės koreliuoja su anti-MAP antikūnų koncentracija mėginyje.

1.3.6. Fascioliozės tyrimas

Imunofermentinis tyrimas, skirtas IgG klasės antikūnų prieš *Fasciola* kraujo serume nustatymui. *Fasciola* rinkinys yra kietosios fazės su fermentais susietas imunosorbentinis tyrimas (ELISA). Plastikiniai mikroplokštelės šulinėliai, kaip kieta fazė, yra padengti *Fasciola* antigenu, gautu iš suaugusių kepeninių siurbikių. Praskiesti mėginiai ir paruošti naudoti kontroliniai mėginiai pipete

įpilami į šias duobutes. Inkubacijos metu teigiamų mėginių ir kontrolinių bandinių *Fasciola* specifiniai antikūnai yra prijungiami prie imobilizuotų antigenų. Po plovimo etapo, siekiant pašalinti neprisijungusias medžiagas, krienų peroksidaze konjuguoti antikūnai prieš IgG įpilami į mikroplokštelės duobutes. Antrosios inkubacijos metu šis anti-IgG konjugatas specifiškai prisijungia prie IgG antikūnų, todėl susidaro su fermentais susiję imuniniai kompleksai. Po antrojo plovimo etapo nesurištam konjugatui pašalinti, susidarę imuniniai kompleksai (jeigu rezultatai teigiami) nustatomi inkubuojant su TMB substratu (indikatoriumi) ir gaunant mėlyną spalvą. Sustabdžius fermentinę indikatoriaus reakciją sieros rūgštimi, mėlyna spalva virsta geltona. Šios spalvos intensyvumas yra tiesiogiai proporcingas *Fasciola* specifinių IgG antikūnų kiekiui mėginyje.

1.3.7. Parazitologiniai ir atsparumo antihelmininėms medžiagoms tyrimai

Parazitologiniai ir atsparumo antihelmininėms medžiagoms tyrimai buvo atlikti siekiant įvertinti bendrą ožkų sveikatingumą, bei atmesti aukštas parazitų invazijas kaip vieną iš rodiklių, kuris gali daryti įtaką ir OIAE dėl imuniteto slopinimo ir/ar galimo tarpusavio ryšio.

Išmatų mėginiai imti atsitiktine tvarka, atsižvelgiant į laikomų gyvulių skaičių, iš ne mažiau nei 10 proc. laikomų ožkų arba ne mažiau nei 10 ožkų. Ūkiuose, kuriuose buvo laikoma 100 ir daugiau ožkų buvo imami mėginiai iš 10 proc. ožkų arba nemažiau kaip 10 mėginių. Ūkiuose, kuriuose laikoma iki 100 individų buvo visada imama bent 10 mėginių. Imant išmatas gyvūnai buvo fiksuojami tam skirtose staklėse arba saugiai laikant. Mėginiai surinkti iš kiekvieno gyvūno tiesiosios žarnos su vienkartinėmis pirštinėmis, jas keičiant po kiekvieno individo. Iš kiekvienos ožkos buvo paimama apie 5 g išmatų. Mėginiai transportavimo metu buvo laikomi +4° C laipsnių temperatūroje ir per kelias valandas pristatyti į laboratoriją, kurioje per 7 dienas buvo ištiriami.

Buvo atliekami Bermano, Makmasterio ir lervų kultūrų tyrimai siekiant įvertinti ožkų ūkiuose vyraujančią virškinimo trakto bei plaučių parazitų įvairovę ir invazijų intensyvumą.

Atliekant atsparumo antihelmininėms medžiagoms tyrimą buvo taikomas *in vitro* lervų vystymosi mikro- agarė metodas, kuris buvo pasirinktas dėl tinkamumo visoms trimis antihelmininių medžiagų grupėms (makrocikliniams laktonams, benzimidazolams ir imidazotiazolui). Tyrimo principas – atsparios konkrečiai antihelminicinei medžiagai L3 stadijos lervos išsivysto ir migruoja į agarą. Po 14 d. nuo tyrimo pradžios yra vertinamas parazitų išsivystymas iki tam tikros stadijos bei L3 stadijos lervų santykis su visų kitų stadijų individais. Remiantis gautais rezultatais ūkis klasifikuojamas į ūkį neturintį problemų su atsparumu antihelmininėms medžiagoms ar turintį vienai medžiagai ar keletui.

1.4. Statistinė duomenų analizė

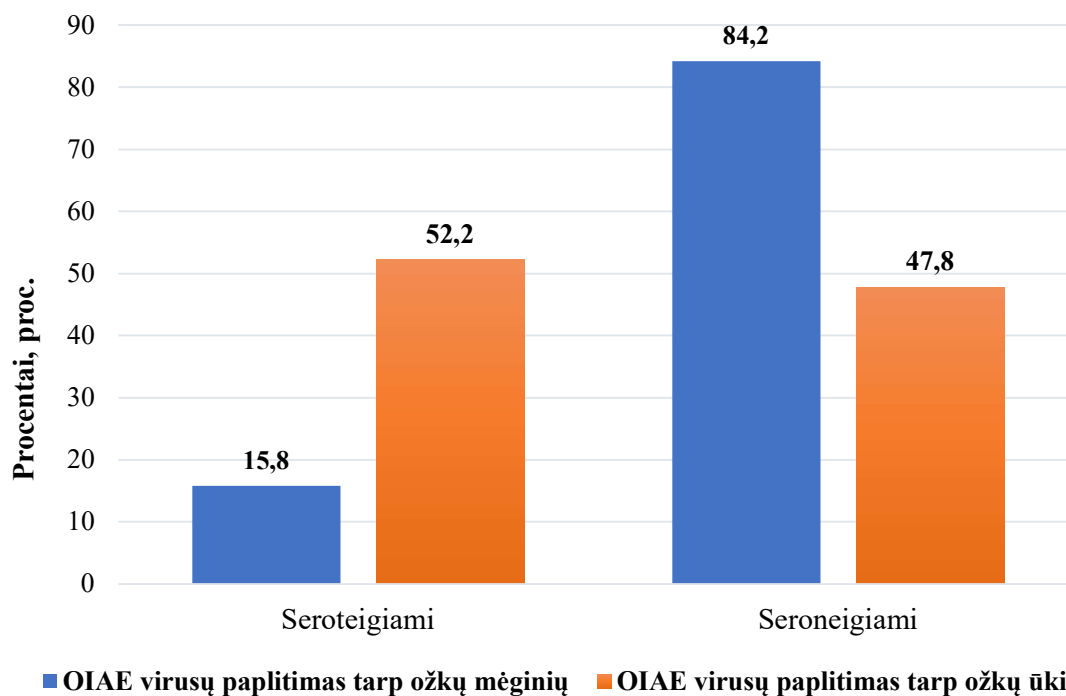
Ataskaitiniu laikotarpiu buvo detalios analizuojami ankstesnių tyrimų ir 2024 metais atliktų papildomų tyrimų duomenys. Tikėtinas virusų paplitimas bandos lygiu buvo apskaičiuotas atsižvelgus į tai, kad banda buvo laikoma užkrėsta, jei bent vienos suaugusios ožkos ELISA testas buvo teigiamas. Tikrasis paplitimas buvo įvertintas naudojant Bayes metodą (Joseph ir kt., 1995; Branscum ir kt., 2004) „EpiTools“ internetinėje epidemiologinėje skaičiuoklėje (Sergeant, 2018).

Absoliutūs paplitimo skaičiai buvo įvertinti naudojant normalios tikimybės diagramas ir Shapiro-Wilk testą. Kategoriniai kintamieji (ožkų lytis, bandos dydžio kategorija, serologinė būklė) buvo apibendrinti kaip skaičius (n) ir proporcija (proc.) ir palyginti tarp grupių, naudojant didžiausios tikimybės G testą arba Fišerio testą. Proporcijų 95 proc. pasikliautiniai intervalai (PI 95 proc.) buvo apskaičiuoti naudojant Wilson metodą (Altman ir kt., 2000). Statistiniai testai buvo dviejų krypčių, o statistinio reikšmingumo lygis buvo nustatytas 0,05. Statistinė analizė atlikta naudojant TIBCO Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA).

2. TYRIMŲ REZULTATAI

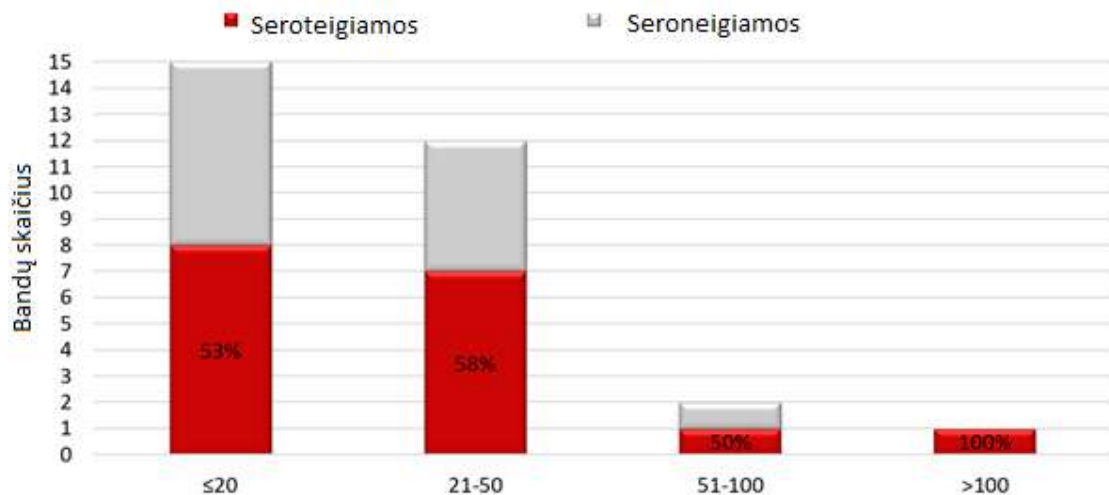
2.1 Serologiniai tyrimai

Atsižvelgus į Lietuvoje laikomų ožkų populiacijos dydį, buvo nustatyta, kad minimalus mėginių kiekis, leidžiantis tiksliai nustatyti ligos paplitimą turi būti ne mažesnis nei 238 mėginiai. Todėl per 2021-2023 metus aplankyti 46 ūkiai visoje Lietuvoje ir surinkta iš viso 583 kraujo mėginiai, kurie buvo ištirti ELISA būdu dėl OIAE ligos. Iš 583 tirtų ožkų kraujo serumo mėginių net 92 mėginiai (15,8 proc., 95 proc. PI 12,9-19,0) buvo teigiami OIAE atžvilgiu (1 pav.). Taip pat, atlikus tyrimus nustatyta, kad net 24 iš 46 ištirtų ūkių buvo rasta bent viena užsikrėtusi ožka. Tai reiškia, kad apie 52,2 proc. (95 proc. PI 36,9-67,1) ožkų ūkių Lietuvoje turi šią virusinę ligą (1 pav.).



2 pav. Serologinis OIAE virusų infekcijos paplitimas tarp ožkų mėginių ir ūkių, proc.

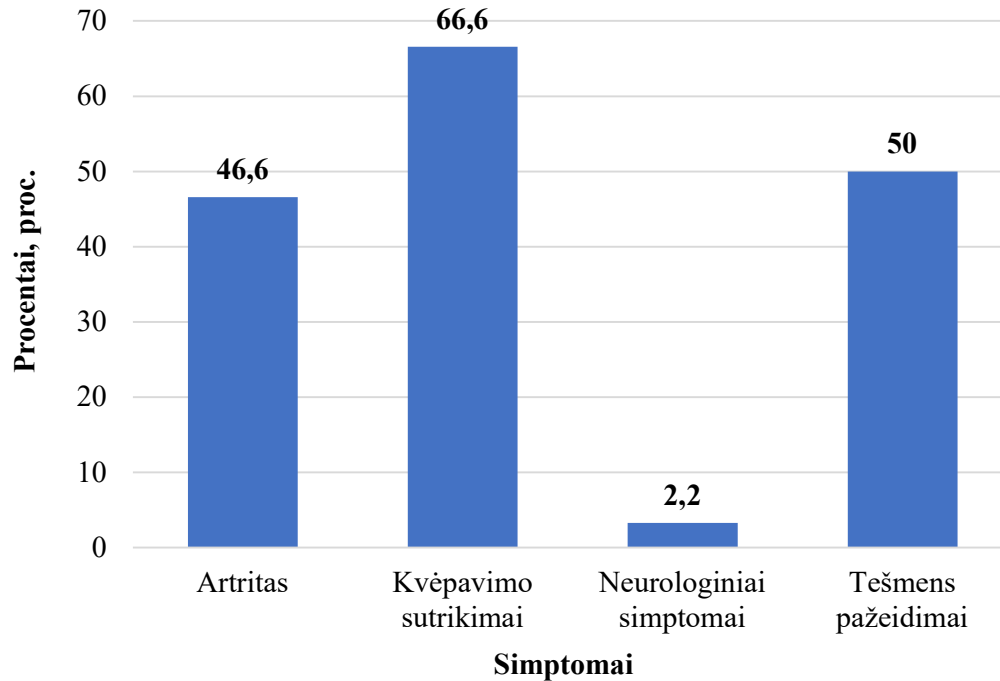
2024 metais buvo papildomai ir detaliai išanalizuoti 30 ožkų bandų duomenys, kuriose buvo laikoma nuo 10 iki 500 suaugusių ožkų, kurių mediana (IQR) buvo 22 (12–38) suaugusios ožkos, o 23/30 bandų (77 proc.) buvo laikomi nuo 1 iki 4 patinų (mediana 1). Penkiolika bandų (50 proc.) buvo labai mažos (≤ 20 suaugusių ožkų), 12 bandų (40 proc.) buvo mažos (21-50 suaugusių ožkų), ir tik 3 bandose (10 proc.) buvo laikoma daugiau nei 50 suaugusių ožkų (2 pav.).



3 pav. Ožkų artrito-encefalito virusams seropozityvių bandų dalis keturiose bandos dydžio kategorijose

Iš viso seroteigiamos buvo 74/380 ožkos (19,5 proc.). Iš jų 6/39 patinai (15,4 proc.) ir 68/341 patelė (19,9 proc.) ($p=0,485$). 12/17 bandų buvo teigiamos tik patelės, 4/17 bandų – ir patinai ir patelės, o 1 bandoje (#23) – vienas patinas. Seropozityviose bandose nuo 1 iki 11 ožkų buvo teigiamos, o mediana buvo 3 (2–7) ožkos. Šie skaičiai atitiko nuo 7 proc. iki 100 proc. (mediana: 26 proc., IQR: 17 proc. – 34 proc.) bandoje tirtų ožkų. 3 bandose (5, 22, 23 banda) tik 1 ištirtų ožkų buvo serologiškai teigiama. 4 bandose (banda Nr. 3, Nr. 6, Nr. 18 ir Nr. 22) buvo ištirtos visos suaugusios ožkos ir 3 iš šių bandų buvo nustatyti seroteigiami gyvūnai: 1 seroteigiama ožka iš 12 ožkų 22 bandoje (8 proc.), 5/16 (31 proc.) 18 bandoje ir 11/32 (34 proc.) 3 bandoje. Ketvirtoji banda (#6), kurioje buvo 11 ožkų, visi gyvūnai buvo seroneigiami. Taigi, iš paveikslė pateiktų duomenų matome, kad OAE paplitimui bandos dydis neturėjo įtakos virusų paplitimui ($p>0,05$). Nors didesnė nei 100 individų bandose paplitimas buvo 100 proc., tačiau statistiškai šios reikšmės negalėjome įvertinti dėl per mažos imties.

Be mėginių rinkimo, ūkininkai buvo konsultuojami ir kitais jiems rūpimais klausimais, teikiama veterinarinė pagalba ir rekomendacijos, siekiant įvertinti ir pagerinti gyvulių sveikatingumą bandoje. Taip pat, buvo atliekama ūkininkų apklausa siekiant nustatyti šios ligos virusų sukeltas sveikatingumo ir produktyvumo problemas ožkų ūkiuose. Iš viso buvo apklausti 46 ožkų laikytojai. Pagal anketoje pateiktus klausimus (1 lentelė), buvo nustatyta, kad pagrindiniai ūkiuose pastebėti klinikiniai simptomai buvo kvėpavimo sutrikimai (66,6 proc.) ir tešmens pažeidimai (50 proc.). Artrito ir sąnarių pažeidimai (46,6 proc.), o neurologiniai simptomai pastebėti tik viename ūkyje (2,2 proc.) (3 pav.).



4. pav. Dažniausiai pasireiškusių klinikinių simptomų pasiskirstymas ūkiuose, proc.

Taip pat, atlikus apklausą paaiškėjo, jog ožkų laikytojai turi mažai žinių apie tiriamosios OIAE ligos plitimo, kontrolės ir prevencijos priemones. Pagal anketoje pateiktus klausimus (1 ir 2 lentelė) nustatyta, kad prieš mums atliekant tyrimus, tik 6 ūkiuose iš 46 buvo tirtas ir diagnozuotas ožkų artritas-encefalitas, o visuose ūkiuose jaunikliai yra girdomi ožkų krekenimis tiesiai iš tešmens jų termiškai neapdorojant pagal ligos kontroliavimo/prevencijos rekomendacijas. Be to, apklausus ūkininkus paaiškėjo, kad ožkų mainai/prekyba tarp ūkių vyksta gan intensyviai. Dėl tokios apklausos rezultatų ūkininkams kartu su atliktų tyrimų atsakymais buvo pateikiamos ir rekomendacijos atsižvelgiant į individualią ūkio padėtį.

1 lentelė. Apklausa ir pateikti ūkininkų atsakymai 1/2

Klausimas anketoje	Taip	Ne
Ar esate pastebėję laktuojančių ožkų tešmens patinimą, skausmingumą, sumažėjusį pieno produktyvumą?	23	23
Ar esate pastebėję, kad pakito suaugusių ožkų judėjimas, jos sunkiai atsistoja, šlubuoja, vaikšto ant kelių sąnarių, jų sąnariai patinė, skausmingi?	20	26

Ar esate pastebėję, kad ožiukams pasireiškė neurologiniai sutrikimai (sutrikusi koordinacija, nerangūs judesiai, silpnumas, galūnių paralyžius, galva palinkusi į vieną pusę)?	3	43
Ar esate pastebėję, kad ožkoms ir/ar ožiukams pasireiškė kvėpavimo takų sutrikimai (kosulys, dusulys, padažnėjęs kvėpavimas, ištakos iš šnervių)?	31	15

2 lentelė. Apklausa ir pateikti ūkininkų atsakymai 2/2

Klausimas anketoje	Taip	Ne	Kartais
Ar ūkyje kada nors buvo diagnozuotas ožkų artritas-encefalitas?	6	40	-
Ar ūkyje ožkos laikomos kartu su avimis?	15	31	-
Ar jaunikliai girdomi ožkų krekenimis ir pienu?	46	0	-
Jei naudojamas ožkų pienas ir krekenos jaunikliams girdyti, ar jos yra termiškai apdorojamos (kaitinamos iki 56°C 1 val.)?	0	46	-
Ar sergančias ožkas laikote atskirai nuo sveikų?	26	20	-
Ar pastebėję gyvūnų negalavimus kreipiatės į veterinarijos gydytoją?	36	3	7
Ar parduodate ir/ar perkate ožkas iš kitų ūkių?	42	4	-
Jeigu perkate/parduodate ožkas, ar savanoriškai atliekate tyrimus dėl infekcinių ligų? (Pavyzdžiui, serologiniai infekcinio ožkų artrito encefalito tyrimai)	3	43	-
Ar taikote šiuos biosaugos reikalavimus ūkyje: Įsigiję naujas ožkas iš kitų ūkių jas karantinuojate (laikote atskirai)	28	18	-

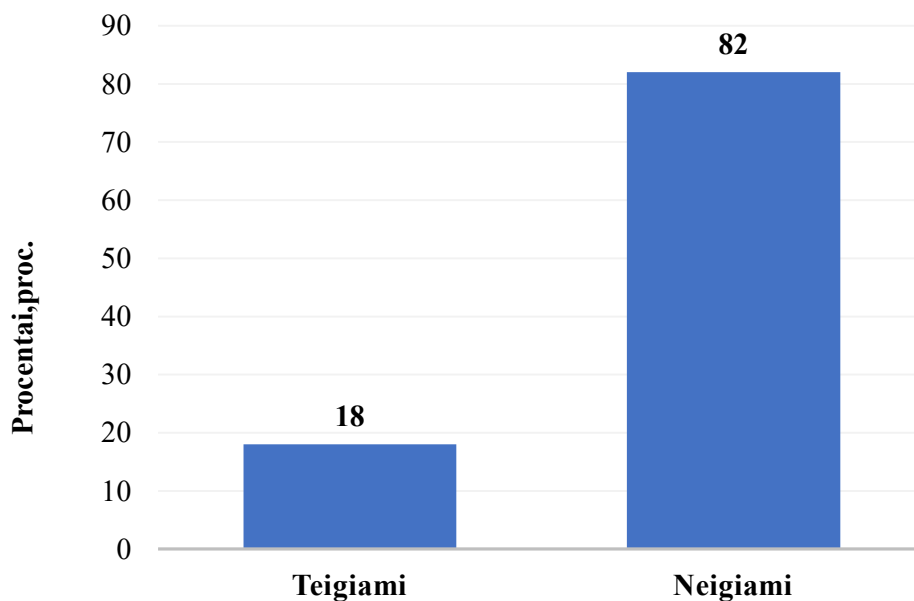
Vertinant gyvulių sveikatingumą ūkininkams buvo užduoti klausimai apie bandose atliekamus tyrimus, vakcinaciją bei biosaugos reikalavimų laikymąsi. Į klausimą apie virškinamojo trakto parazitinių ligų tyrimus bei gyvulių gydymą, 10 ūkininkų atsakė, kad gyvulius ir tiria, ir gydo, 5

ūkininkai atsakė, kad nei tiria, nei gydo, o 31 atsakė tik profilaktiškai gydantys, tačiau tyrimų neatliekantys. Vakcinacija bei rutininiai kitų infekcinių ligų tyrimai neatliekami nei viename iš 30-ies ūkių.

Prie įvairių ligų plitimo bandose stipriai prisideda ne tik aktyviai vykstanti gyvulių prekyba ar mainai, bet ir karantino taikymas naujai į bandą patekusiems gyvuliams. Karantinavimą teigė taikantys 26 ūkininkai, tačiau pastebėjome, kad jis gali būti atliekamas netinkamai, kadangi ūkininkai dažniausiai neturi galimybės visiškai izoliuoti gyvūno nuo likusios bandos, ypač ganykliniu periodu. Dažniausiai karantinuojamas gyvūnas būna laikomas tame pačiame pastate, tik atskirame gardelyje, arba ganosi toje pačioje ganykloje. Įvertinus kiekvieno ūkininko pateiktus atsakymus ir jiems kilusius klausimus buvo pateiktos rekomendacijos ir patarimai, kaip teisingai elgtis įsigyjant naujus gyvūnus.

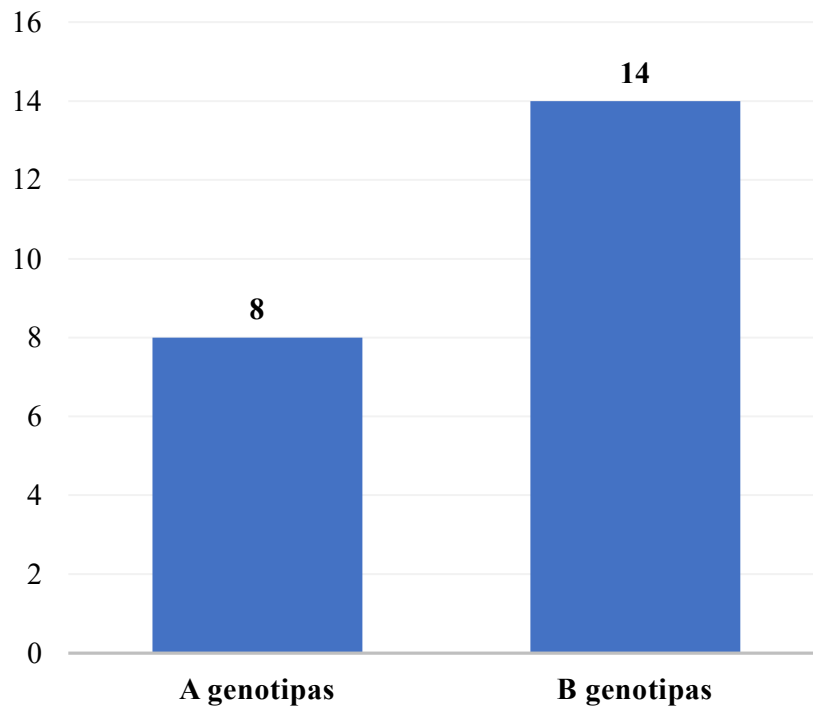
2.2 Molekuliniai (PGR) tyrimai

Stażuotės metu buvo atrinkti genotipavimui tinkami pradmenys ir įsisavinta tyrimų metodika. Iš Lietuvos buvo atrinkti ir išsiųsti 27 kraujo mėginiai iš 10 skirtingų Lietuvos ūkių. PGR tyrimu iš 27 (82 proc.) seroteigiamų mėginių buvo nustatyti 22 teigiami mėginiai (4 pav.).



5 pav. Realus laiko PGR reakcijos rezultatai, proc.

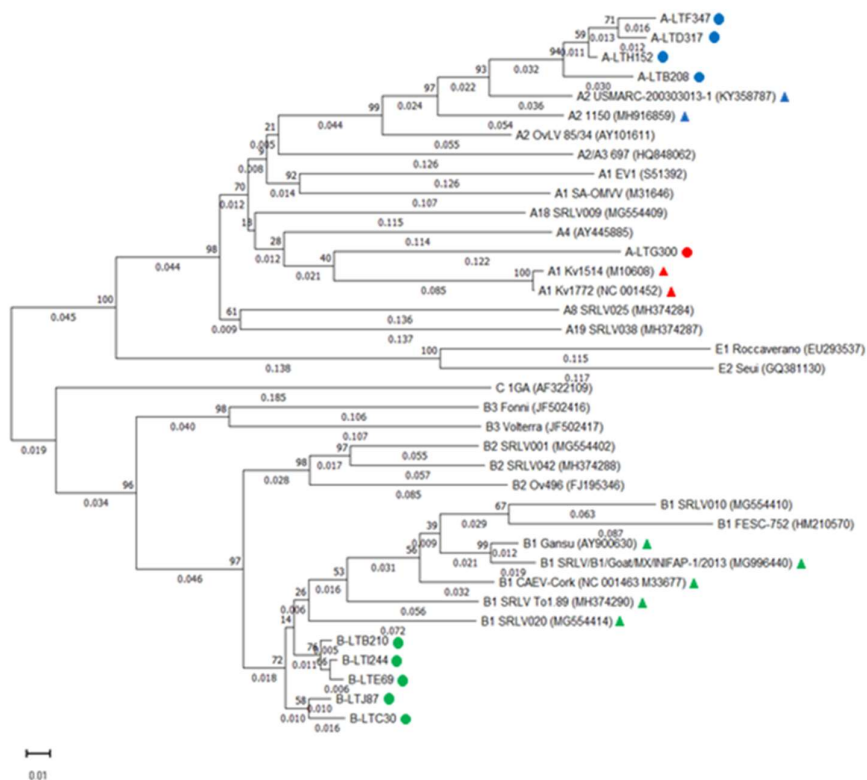
Taip pat, identifikuoti du skirtingi (A ir B) smulkiųjų atrajotojų lentivirusų genotipai. A genotipas (avių Maedi-visna) nustatytas 8-iose mėginiuose, o B genotipas (OIAE) 14-oje mėginių. Šie rezultatai rodo, kad Lietuvoje yra paplitęs ne tik ožkoms būdingas smulkiųjų atrajotojų lentivirusų genotipas B, tačiau ir genotipas A, kuriuo yra užsikrėtusi Lietuvos ožkų populiacija (5 pav.).



6 pav. SALV genotipų rezultatai atlikus realaus laiko PGR reakciją

Sekančiame tyrimų etape dešimtyje seroteigiamų (užkrėstų) bandų, kurių savininkai sutiko pakartotinai imti ožkų kraujo mėginius (3, 4, 7, 9, 14, 18, 20, 23, 24 ir 27 bandos), nuo 1 iki 5 atsitiktinai atrinktos seroteigiamos ožkos buvo tiriamos naudojant RT-nPCR (iš viso 27 ožkos). 22 iš 27 seroteigiamų ožkų (81 proc.) ir 9 iš 10 seroteigiamų bandų rezultatas buvo teigiamas: 4 bandose buvo nustatytas ožkoms būdingas viruso genotipas A (iš viso 7 ožkos iš bandų Nr. 14, Nr. 23, Nr. 24, Nr. 27), 4 bandose ožkoms nustatytas B (būdingas avims) genotipas (iš viso 12 ožkų iš #3, #7, #9, #20 bandų), o 1 bandoje (#18) – 2 ožkoms buvo nustatytas genotipas B ir 1 ožka teigiama A genotipui, kuris reiškia, kad banda buvo užsikrėtusi dviem genotipais vienu metu. Vienoje bandoje (#4) viena ožka, tirta naudojant RT-nPCR, buvo neigiama.

Iš kiekvienos iš 9 seroteigiamų bandų, kuriose RT-nPCR metodu buvo patvirtintas užsikrėtimas PAE virusais, po vieną kiekvieno genotipo mėginį buvo išsiųstas sekvenavimui Sanger metodu (iš viso 10 mėginių) ir buvo pagal gautus duomenis sukonstruotas filogeninis medis (6 pav.).



7 pav. Filogeninis medis, kuriame yra 10 smulkių atrajotojų lentiviruso (SRLV) padermių iš 9 bandų, teigiamų realiojo laiko PGR (pažymėta spalvotais taškais – mėlyna padermėms, glaudžiai susijusioms su A2 potipiu, žalia – B1 potipiui ir raudona – spėjamam A1 potipiui) ir 27 etaloniniai potipiai (A1, A2/3, A4, A18, A19, B1, B2, B3, C, E1, E2, pažymėti atitinkamų spalvų trikampiais). Dešimtainės trupmenos išilgai medžio šakų rodo nukleotidų bazių pakeitimų skaičių vienoje vietoje, per kurią padermės yra nutolusios nuo šaknies. Etaloninės padermės žymimos potipiu, padermės pavadinimu ir GenBank priedo numeriu.

Virusų molekuliniai tyrimai parodė, kad keturios bandos buvo užsikrėtusios padermėmis, labiausiai susijusiomis su B1 potipiu (padermės B-LT-C30, B-LT-E69, B-LT-I244 ir B-LT-J87; 90,5–90,7 proc. tapatumas). 3 bandose identifikuoti virusai, labiausiai susiję su A2 potipiu (padermės A-LT-D317, A-LT-F347 ir A-LT-H152; 89,8 proc. – 91,9 proc. tapatumas), o banda su mišria infekcija buvo užsikrėtusi padermėmis, labiausiai susijusios su B1 (B-LT-B210; 90,7 proc. tapatumas) ir A2 potipiu (A-LT-B208; 89,9 proc. tapatumas). Bandoje, kurioje tik vienas individas buvo seroteigiamas, buvo identifikuotas A1 potapis, tačiau šio potipio tapatumas buvo tik 79,7 proc., taigi, šis virusas (A_LT_G300) genetiškai buvo labiausiai nutolęs nuo visų kitų Lietuvoje identifikuotų lentivirusų padermių (6 pav.).

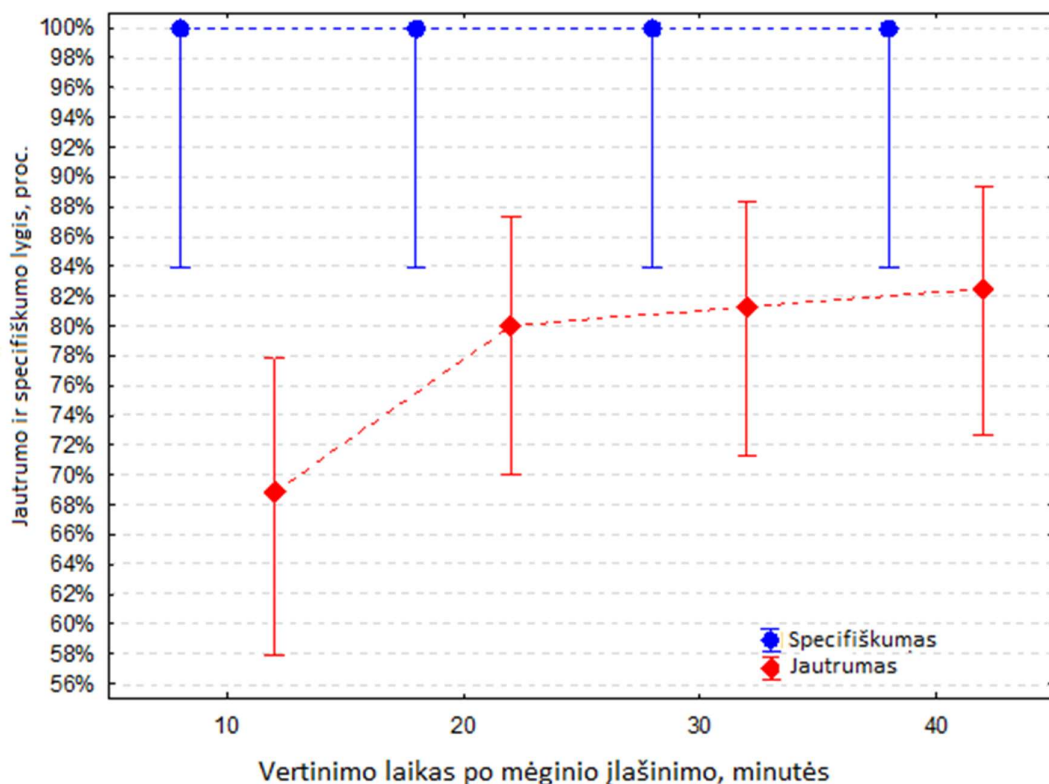
2.3. Naujai pagamintų greitųjų *CAE-RAPID* diagnostinių testų tyrimas

Sukurti ir pagaminti pirmieji bandomieji *CAE-RAPID* greitieji testai jau buvo išbandyti 2023 metais su kraujo serumu ir vertinant jų jautrumą ir specifiškumą praėjus 10 - 20 minučių po kraujo įlašavimo į šulinėlį. Pradinis bandomasis tyrimas buvo atliktas su 92 teigiamais ir 46 neigiamais mėginiais, kurie prieš tai buvo patvirtinti ELISA tyrimu. Jie pasižymėjo šimtaprocentiniu specifiškumu, tačiau jautrumas neviršijo 62 proc. Atsižvelgus į tai, projekto užsienio partneriai atliko patobulinimus testų konstravimo technologijoje, 2023 ir 2024 m. gautų naujų testų vertinimo rezultatai pateikiami 3 lentelėje.

3 lentelė. Diagnostinis jautrumas (proc. tikrojo teigiamo nuo teigiamo ELISA) ir diagnostinis specifiškumas (proc. klaidingai (netikrai) teigiamų nuo neigiamo ELISA tyrimo metu) priklausomai nuo rezultato nuskaitymo laiko. Pirmojo tyrimų etapo rezultatai.

Bandomoji partija	Jautrumas po 10 min. (proc.)	Jautrumas po 20 min. (proc.)	Specifiškumas po 10 min. (proc.)	Specifiškumas po 20 min. (proc.)
BD1/2023	20,9	32,2	100	100
BD2/2023	20	29,6	100	100
BD3/2023	43,5	58,3	100	100
BD4/2023	46,1	61,7	100	100
BD1/2024	68,8	80,0	100	100

2023 metais atlikti tyrimai parodė, kad bandomosios partijos BD3 ir BD4 veikė daug geriau nei bandomosios partijos BD1 ir BD2, tačiau jų diagnostinį jautrumą dar reikėtų žymiai pagerinti. Naujų testų 2024 m. tyrimo rezultatai parodė pakankamai didelį (80 proc.) jautrumą ir šimtaprocentinį specifiškumą. Detalesnė 2024 metų bandomojo testo charakteristika pateikta 7 paveiksle.



8 pav. Modifikuoto CAE-RAPID greitojo testo 2024 metų preliminarūs vertinimo rezultatai.

Kaip matyti 4 paveiksle pateiktuose duomenyse, praėjus daugiau, nei 20 minučių nuo tiriamojo mėginio įlašinimo, testo jautrumas padidėjo ne daugiau, kaip 2,5 proc. Tas skirtumas buvo statistiškai nereikšmingas ($p>0,05$), todėl manome, kad optimalus vertinimo laikas yra 20 minučių.

Antrojo testo efektyvumo tyrimų etapo, atlikto 2024 metų pabaigoje, eigoje buvo vertinamas testo efektyvumas tiriant ne tik kraujo serumus, bet ir pieną. Tyrimo metu buvo nustatyta, kad CAE-RAPID testo jautrumas tiriant pieną buvo reikšmingai didesnis, nei tiriant kraują (4 lentelė).

4 lentelė. CAE-RAPID greituoju testu ištirtų mėginių jautrumo palyginamasis įvertinimas tiriant užsikrėtusias ožkas. Skliausteliuose pateikta pasikliautinojo intervalo reikšmė, esant 95 proc. tikimybei.

	Iš viso mėginių (n=143)		
Mėginys	Vertinimas po 20 min.	Vertinimas po 30 min.	Vertinimas po 40 min.
Kraujas	110 teigiamų / 143 76.9 proc. (69.4proc. – 83.1 proc.)	118 teigiamų / 143 82.5 proc. (75.5 proc. – 87.9 proc.)	120 teigiamų / 143 83.9 proc. (77.0 proc. – 89.0 proc.)
Pienas	123 teigiami / 143 86.0 proc. (79.4 proc. – 90.8 proc.)	125 teigiami / 143 87.4 proc. (81.0 proc. – 91.9 proc.)	126 teigiami / 143 88.1 proc. (81.8 proc. – 92.4 proc.)
McNemar's testo p-reikšmė ($\alpha=0.05$)	0.001	0.027	0.046

Testo specifiškumas buvo vertinamas tiriant 74 tikrai sveikas, neužsikrėtusias ožkas. Tyrimo rezultatai pateikti 5 lentelėje.

5 lentelė. CAE-RAPID greituosiu testu ištirtų mėginių specifiškumo palyginamasis įvertinimas tiriant 74 sveikas ožkas. Skliausteliuose pateikta pasikliautinojo intervalo reikšmė, esant 95 proc. tikimybei.

Mėginys	Vertinimas po 20 min.	Vertinimas po 30 min.	Vertinimas po 40 min.
Kraujas	74 neigiami / 74 100 proc. (95.1 proc. – 100 proc.)	74 neigiami / 74 100 proc. (95.1 proc. – 100 proc.)	74 neigiami / 74 100 proc. (95.1 proc. – 100 proc.)
Pienas	73 neigiami / 74 98.6 proc. (92.7 proc. – 99.8 proc.)	73 neigiami / 74 98.6 proc. (92.7 proc. – 99.8 proc.)	73 neigiami / 74 98.6 proc. (92.7 proc. – 99.8 proc.)
McNemar's testas p reikšmė ($\alpha=0.05$)	0.999	0.999	0.999

Kaip matyti iš 5 lentelėje pateiktų duomenų, testo specifiškumas buvo labai aukštas tiek tiriant kraują, tiek ir pieną. Nors tiriant kraujo mėginius specifiškumas buvo kiek didesnis, tačiau šie skirtumai nebuvo statistiškai reikšmingi.

Kadangi taikant praktikoje greituosius testus labai svarbus rodiklis yra rezultatų pakartojamumas, visi atrinkti pieno mėginiai ($n=214$) tyrimai skirtingu laiku buvo pakartotinai ištirti du kartus, o tyrimų rezultatai pateikti 6 lentelėje.

6 lentelė. Ožkų pieno mėginių tyrimo rezultatai atlikus du nuoseklius ir nepriklausomus CAE-RAPID testus. Skliausteliuose pateikta pasikliautinojo intervalo reikšmė, esant 95 proc. tikimybei.

Pieno mėginiai	Vertinimas po 20 min.	Vertinimas po 30 min.	Vertinimas po 40 min.
Iš viso ($n=217$)	212 pasikartojo / 217 97.7 proc. (94.7 proc. – 99.0 proc.)	213 pasikartojo / 217 98.2 proc. (95.4 proc. – 99.3 proc.)	214 pasikartojo / 217 98.6 proc. (96.0 proc. – 99.5 proc.)
Užsikrėtę ožkos ($n=143$)	138 pasikartojo / 143 96.5 proc. (92.1 proc. – 98.5 proc.)	140 pasikartojo / 143 96.5 proc. (92.1 proc. – 98.5 proc.)	141 pasikartojo / 143 96.5 proc. (92.1 proc. – 98.5 proc.)
Sveikos ožkos ($n=74$)	74 pasikartojo / 74 100 proc. (95.1 proc. – 100 proc.)	73 pasikartojo / 74 98.6 proc. (92.7 proc. – 99.8 proc.)	73 pasikartojo / 74 98.6 proc. (92.7 proc. – 99.8 proc.)
McNemar's testas p-reikšmė ($\alpha=0.05$)	0.074	0.617	0.999

Kaip rodo 6 lentelėje pateikti duomenys, testas pasižymėjo aukštu pakartojamumo rodikliu, veikė stabiliai ir patimimai, o pastebėti procentiniai svyravimai nebuvo statistiškai reikšmingi.

2.4 Parazitologiniai išmatų tyrimai

Siekiant įvertinti bandos sveikatingumo buvo ne tik atliekama ūkininkų apklausa ir peteikiamos rekomendacijos, tačiau tuo pačiu ir renkami išmatų mėginiai parazitologiniams tyrimams atlikti. Išmatos buvo renkamos gyvūnui ką tik pasituštinus arba iš tiesiosios žarnos. Atlikus tyrimus, buvo nustatyta:

1. Antihelmininis atsparumas bent vienam antihelmentikui buvo nustatytas beveik pusėje visų tirtų ožkų ūkių - 47 proc. ūkių. Atsparumas tiabendazolui nustatytas 41 proc., ivermektinui 36 proc., o levamizolui 12 proc. ūkių. Taip pat gauti rezultatai buvo suskirstyti į žemo, vidutinio ir aukšto atsparumo lygius. Aukštas antihelmininis atsparumas pasireiškė 11,8 ožkų ūkių tiabendazolui ir ivermektinui, vidutinis arba žemas atsparumo lygis buvo nustatytas visiems antihelmentikams atskirai bent viename ūkyje.
2. Lervų kultūrų metodas padėjo diferencijuoti nematodų rūšis. Iš viso buvo nustatytos 5 skirtingų genčių nematodų lervos: *Teladorsagia* (42 proc.), *Trichostrongylus* (37 proc.), *Haemonchus* (7,0 proc.), *Chabertia* (6,0 proc.), *Oesophagostomum* (9,0 proc.). Nustatytas virškinamojo trakto helmintų kiaušinėlių/oocistų paplitimas tirtuose ūkiuose: *Eimeria* spp. buvo užsikrėtę 92,6 proc.; trichostrongilai 82,7 proc.; *Strongyloides* spp. 49,3 proc.; *Moniezia expansa* 3,94 proc.; *Nematodirus* spp. 3,0 proc. Apskaičiuotas bendras endoparazitų kiaušinėlių vidurkis: *Eimeria* spp. $908,3 \pm 3226,6$; trichostrongilų $687,7 \pm 915,7$; *Strongyloides* spp. $121,7 \pm 239,9$. Tiriant veiksnių įtaką užsikrėtimui, nustatytas 1,5 karto mažesnis strongilų kiekis gydytose ožkose ($p > 0,05$). Įdomus pastebėjimas, jog gydytų ožkų išmatose buvo rasta 1,5 karto didesnis eimerijų oocistų skaičius ($p > 0,05$). Nustatytos didžiausios strongilidų ir *Strongyloides* spp. kiaušinėlių koncentracijos ūkiuose, kuriuose ožkų judėjimas buvo neribojamas ($p < 0,05$).
3. Iš viso, 81,25proc. visų analizuotų grupių nustatyta teigiamas bet kurios rūšies plaučių parazitų buvimas, tuo tarpu tik vienas iš jų buvo teigiamas kepenų parazito - *Fasciola hepatica* atžvilgiu - 6,25proc. (95proc. PI 0.001-0.315). Skirtumas buvo statistiškai nereikšmingas ($P > 0,05$). Dažniausiai pasitaikanti plaučių parazitų rūšis teigiamuose ožkų ūkiuose yra - *Muellerius capillaris*.

2.5 Paratuberkuliozės tyrimai

Tam, kad būtų galima įvertinti bandos sveikatingumą, svarbu atlikti keletos ligų tyrimus. Kai kurių ligų tyrimai svarbūs siekiant diferencijuoti ir atskirti panašius simptomus sukeliančias priežastis. Paratuberkuliozė – tai lėtinė infekcinė atrajojančių gyvūnų liga, pasireiškianti gausiu sekinančiu viduriavimu ir liesėjimu. Šią ligą sukelia aplinkos veiksniams atspari bakterija *Mycobacterium*

paratuberculosis. Sergantys gyvuliai išskiria bakterijas su išmatomis, šlapimu, pienu, tačiau diagnozuoti šią ligą galima ir iš kraujo mėginių naudojant specialius diagnostikos metodus. Paratuberkuliozė būna latentinė, arba besimptomė, ir su ryškiais klinikiniais požymiais. Be aiškių simptomų sergantys gyvuliai blogiau auga ir penisi. Kūno apačioje atsiranda pabrinkimų, sumažėja pieno primilžis, gyvuliai lysta, viduriuoja. Išmatose būna gleivių ir kraujo. Paratuberkuliozės simptomai artimi virškinamojo trakto parazitų sukeliamoms ligoms bei infekcinio ožkų artrito-encefalito viruso sukeliamiems simptomams.

Šiems tyrimams buvo panaudoti anksčiau surinkti 583 kraujo serumo mėginiai. Juos ištyrus dėl paratuberkuliozės, nustatyta, kad 27 mėginiuose iš visų tirtų buvo rasti antikūnai prieš *Mycobacterium paratuberculosis* (4,6 proc. PI 3,0-6,6). Iš tirtų mėginių 7 mėginių atsakymai buvo ribiniai (1,2 proc.).

PAPILDOMA VEIKLA IR VIEŠINIMAS

Išanalizavus parengto klausimyno atsakymus, buvo konstatuota, kad ožkų artrito-encefalito viruso infekcijos aktualumas ir atliktų tyrimų svarba Lietuvos ūkininkams yra mažai žinoma. Todėl, 2022 metų rugsėjį, buvo atspausdintas informacinis lankstinukas apie ožkų artrito-encefalito ligą, skirtas ūkininkams, veterinarijos gydytojams bei mokslo bendruomenei. Lankstinuke skelbiami atliktų tyrimų rezultatai bei trumpa informacija apie OIAE ligą, plitimą bei kontrolės priemonių rekomendacijos. Vėliau, 2023 metų birželio mėnesį buvo išleistas ir straipsnis žurnale „Ūkininko patarėjas“ tema „Ožkų artrito-encefalito viruso paplitimas Lietuvoje“ (Priedai Nr.1 ir Nr. 2)

Be to, sukurtas atskiras rekomendacijų sąrašas, skirtas pasidalinti su ūkininkais apie OIAE ligos profilaktiką bei kontrolę, siekiant sustabdyti šios ligos plitimą ne tik bandos lygiu, bet ir tarp skirtingų ūkių (Priedas Nr. 3)

Taip pat, atliktų tyrimų rezultatai skelbti tarptautinėse konferencijose:

1. “XXI Middle European Buiatrics Congress”, Stare Jabłonki, Poland, 2022 m. gegužės 19-22 d.
“Seroprevalence of caprine arthritis-encephalitis virus infection in Lithuania”, P. Klibavičė, J. Raibikis, A. Šalomska, T. Kupčinskas, A. Malakauskas, S. Petkevičius (Priedas Nr.4)
2. “13th International Conference on Goats”, Eger, Hungary, 2022 m. rugsėjo 19-22 d.
“Seroprevalence in Lithuanian goat herds of small ruminant lentivirus infection, the cause of caprine arthritis encephalitis”, Klibavičė P, Raibikis J, Šalomska A, Kupčinskas T, Petkevičius S (Priedas Nr. 5)
3. „10th International Sheep Veterinary Congress 2023“, Seville, Spain, 2023 m. kovo 6-10 d.
„First report of the occurrence of SRLV genotypes A and B in Lithuanian goat population“, Klibavičė P, Morok-Fik A, Biernacka K, Mickiewicz M, Nowak Z, Petkevičius S, et al. (Priedas Nr. 6)
4. „10th International Sheep Veterinary Congress 2023“, Seville, Spain, 2023 m. kovo 6-10 d.
“Characteristics of SRLV genotypes circulating in Polish goat population”, Moroz-Fik A, Biernacka K., Mickiewicz M, Nowek Z, Berton G, Abril C, Stuenkel S, Ózsvári L, Petkevičius S, et.al. (Priedas nr.7)

Be tarptautinių mokslinių renginių, atliktų tyrimų rezultatai 2022 m. rugsėjo 30 dieną pristatyti ir Lietuvoje vykusioje tarptautinėje konferencijoje “Mikrobiota ir gyvūnas: sąveika, sveikatingumas, gerovė ir produkcija”.

Siekiant dalintis pasiektais rezultatais, buvo sudalyvauta ir 2023 metų birželio 20-23 dienomis Lenkijoje, Varšuvoje vykusiame šio tarptautinio mokslinio projekto dalyvių suvažiavime ir simpoziume

pavadinimu „Caprine arthritis–encephalitis – a challenge for breeders and veterinarians“. Jo metu visi dalyviai dalinosi pasiektais rezultatais, aptarinėjo kylančius klausimus ir problemas, tolimesnius darbus bei planus.

2024 metais gauti tyrimų rezultatai paskelbti 2 publikacijose, publikuotose Q1 kvartilės tarptautiniuose žurnaluose su aukštu IF:

1. **Petkevičius, S., Klibavičė P., Šalomska A., Kupčinskas T.,** Moroz-Fik A., Biernacka A., Mickiewicz M., Nowek Z., Ózsvári L., Bárdos K. Stuen S., Abril C.E., Bertoni G., Kaba J., Czopowicz M. (2024). The herd-level prevalence of caprine arthritis-encephalitis and genetic characteristics of small ruminant lentivirus in the Lithuanian goat population. *Preventive Veterinary Medicine*, Vol. 233, 1006363 <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2024.106363>. (Priedas nr. 8).
2. Ózsvári, L.; Bárdos, K.; Moroz-Fik, A.; Biernacka, K.; Mickiewicz, M.; Nowek, Z.; Abril, C.E.; Bertoni, G.; Stuen, S.; **Petkevičius, S.**; et al. First Molecular Characterization of Small Ruminant Lentiviruses in Hungarian Goat Population. *Pathogens* **2024**, *13*, 939. <https://doi.org/10.3390/pathogens13110939>. (Priedas nr. 9).

Šio projekto dėka buvo parengti ir publikuoti (*portalcris.lsmuni.lt*) du Veterinarinės medicinos ir vienas Veterinarinės medicinos (anglų k.) studentų baigiamieji darbai temomis: “Virškinamojo trakto nematodų paplitimas ožkų ūkiuose”, “Ožkų virškinamojo trakto nematodų atsparumas antihelminatinėms medžiagoms naudojant in vitro lervų vystymosi mikroagare metodą” ir “Plaučių parazitų, kepenų ir didžiojo prieskrandžio siurbikių paplitimas Lietuvos ožkų ūkiuose”.

2025 sausio 22-24 dienomis Lietuvoje, Kaune įvyko galutinis projekto partnerių susitikimas, kurio metu buvo aptarti galutiniai rezultatai.

APIBENDRINIMAS

Projekto vykdymo metu apžvalgius 46 ūkius visoje Lietuvoje ir atlikus serologinius bei molekulinis tyrimus tapo aišku, kad OAE virusų infekcija Lietuvoje yra endeminė. Net 24 ūkiuose iš 46-ies buvo rastas bent vienas serologiškai teigiamas mėginys. Tai rodo, kad numanomas ligos paplitimas bandų lygyje yra 50 proc. (PI 95proc.: 33proc., 67proc.), o statistiškai apskaičiuotas tikrasis paplitimas – 48 proc. (95proc. PI: 29proc. - 69proc.). Panaši situacija dėl OAE paplitimo registruojama ir kaimyninėse šalyse, pavyzdžiui, Lenkijoje, kur tikrasis ligos paplitimas (užkrėstų bandų dalis) yra 61 proc (PI 95proc.: 53proc., 68proc.). Tačiau reikalinga atsižvelgti, kad šioje šalyje ožkų populiacija yra gerokai didesnė, o vidutinis bandų dydis yra apie 50 ožkų (Kaba ir kt., 2023).

Atliktų tyrimų duomenys leidžia teigti, kad ūkininkams ši liga ir jos plitimo ypatumai yra mažai žinomi, nes, prieš Lietuvoje atliekant tyrimus, tik 6 ūkiuose iš 46 buvo tirtas ir diagnozuotas ožkų artritas-encefalitas, o ligos kontrolės ir prevencijos priemonės mažai žinomos. Deja, bet galimi šios ligos simptomai klaidingai priskiriami įvairioms kitoms ligoms. Dėl to taikomos neefektyvios gydymo ir prevencijos priemonės. Pagal anketoje pateiktus klausimus, nustatyta, kad pagrindiniai pastebimi simptomai yra kvėpavimo sistemos sutrikimai, tešmens bei sąnarių pažeidimai. Neurologiniai simptomai buvo pastebėti tik viename ūkyje.

Papildomai, vertinant bandos sveikatingumą, atlikome ir parazitinius išmatų tyrimus, paratuberkuliozės tyrimus bei molekulinis tyrimus tam, kad galėtume plačiau panagrinėti infekcinio ožkų artrito-encefalito etiologiją ir paplitimą Lietuvoje.

Išbandžius 2024 metais pagamintus patobulintus – CAE-RAPID greituosius testus su kraujo serumu, vertinant jų jautrumą ir specifiškumą, nustatytas specifiškumas - 100 proc., o jautrumas viršijo 80,0 proc. Taip pat tyrimai parodė, kad testo rezultatų optimalus vertinimo laikas yra 20 minučių, nes ilgesnė inkubacija nors ir padidina testo jautrumą, tačiau šis pokytis nėra statistiškai reikšmingas.

Papildomi greitojo testo tyrimai, išbandžius šio diagnostinio metodo efektyvumą pieno mėginiams, parodė labai aukštus jautrumo, specifiškumo bei pakartojamumo rodiklius, viršijančius rekomenduojamą 95 proc. ribą. Taigi, sukurti ir išbandyti greitieji testai yra tinkami naudoti praktikoje ir galės prisidėti prie efektyvios OAE virusų infekcijos kontrolės tiek Lietuvoje, tiek ir kitose Europos šalyse. .

Apibendrinant serologinių ir molekulinis tyrimų rezultatus, galima teigti, kad tai pirmasis tyrimas, aiškiai parodantis, kad Lietuvos ožkų populiacijoje yra ir plačiai paplitusi smulkių atrajotojų lentivirusų infekcija tiek klasikiniiais SRLV genotipais A (ožkų potipis), tiek ir B genotipu (avių potipis). Tai reiškia, kad CAE greičiausiai taps didele ožkų sveikatos ir gerovės problema, ypač tuose ūkiuose, kurios bandys intensyvuoti pienininkystę ir produkcijos gamybą. Anksčiau mūsų atliktų apklausos

duomenų analizė leidžia teigti, kad ūkininkams ši liga ir jos plitimo ypatumai, ligos kontrolės ir prevencijos priemonės mažai žinomos. Dėl ko gali būti taikomos neefektyvios gydymo ir prevencijos priemonės. Todėl aktyvios priežiūros ir kontrolės programos, naudojant CAE-RAPID greituosius ligos diagnostikos testus, yra labai pagrįstos ir reikalingos, siekiant sumažinti galimas neigiamas tolesnio infekcijos plitimo pasekmes tiek tarp bandų, tiek jau užkrėstose bandose.

Siekiant sustabdyti ligos plitimą ūkiuose, pateikėme rekomendacijas ožkų augintojams atsižvelgiant į kiekviename ūkyje esamą padėtį bei informavome dėl OIAE ligos reikšmės gyvūnų sveikatingumui, produkcijai ir gerovei. Taip pat, su ūkininkais pasidalinome atspausdintu informaciniu lankstinuku bei papildomai išleidome švietėjiško pobūdžio straipsnį ne tik ūkininkams, bet ir veterinarijos gydytojams, siekiant supažindinti kuo platesnę auditoriją su atliktų tyrimų rezultatais ir OIAE ligos padėtimi Lietuvoje.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad net 52,2 proc. (PI 36,9-67,1 proc.) ožkų ūkių Lietuvoje gali turėti šią virusinę ligą, todėl Lietuvoje OIAE yra svarbi ožkų infekcinė liga galinti sukelti ženklus ekonominius nuostolius ir ožkų ūkių veiklos sutrikimus.
2. Iš 583 tirtų ožkų kraujo serumo mėginių 92 mėginiai (15,8 proc.) buvo teigiami OIAE atžvilgiu. Remiantis preliminariais duomenimis, kai kuriuose ūkiuose OIAE paplitimas yra mažas, todėl tinkamas bandos valdymas ir prevencinės priemonės gali padėti reikšmingai sumažinti šios ligos nuostolius ar jos likvidavimą.
3. Remiantis ūkininkų apklausos rezultatais nustatyta, kad pagrindiniai šios ligos klinikiniai simptomai, kuriuos gali pastebėti ūkininkai, yra kvėpavimo sistemos sutrikimai, tešmens bei sąnarių pažeidimai.
4. Remiantis ūkininkų apklausa nustatyta, kad iki šio tyrimo, tik 6 ūkiuose iš 46 dalyvavusių ūkių buvo tirtas ir diagnozuotas OIAE. Dėl to galima teigti, kad ši liga ūkininkams apklausos metu buvo mažai žinoma.
5. Pagamintų ir patobulintų CAE-RAPID greitųjų testų jautrumas siekė 83,4 proc., tiriant kraują. Testo jautrumas tyrimui naudojant pieną siekė iki 88,1 proc. Testo specifiskumas buvo nuo 95,1 iki 100 proc. tiriant abiejų rūšių mėginius. Testo rezultatų pakartojamumas svyravo nuo 97,7 iki 98,6 proc. Taigi, šis testas yra tinkamas naudoti praktikoje.
6. Įrodyta, kad Lietuvos ožkų populiacijoje yra paplitę tiek A (ožkų) ir B (avių) smulkiųjų atrajotojų lentivirusų genotipai, genetiškai giminingi Europoje paplitusioms padermėms. Tačiau yra užregistruota ir egzotiška lentivirusų padermė, kurios atsiradimo šaltinis nėra aiškus.
7. Antihelmintinis atsparumas bent vienam antihelmintikui buvo nustatytas beveik pusėje visų tirtų ožkų ūkių - 47 proc. ūkių, o 81,25proc. visų analizuotų grupių nustatyta teigiamas bet kurios rūšies plaučių parazitų buvimas. Taip pat, lervų kultūrų metodu buvo diferencijuotos ir nustatytos 5 skirtingų genčių nematodų lervos.
8. Atlikus paratuberkuliozės tyrimus, nustatyta, kad antikūnų prieš *Mycobacterium paratuberculosis* rasta 27 mėginiuose iš 583 (4,6 proc.).
9. Parengta informacinio pobūdžio informacija ūkininkams ir veterinarijos gydytojams, parengtos atskiros rekomendacijos dėl OIAE ligos prevencijos ir kontrolės. Atliktų tyrimų rezultatai skelbti tarptautinėse mokslo konferencijose ir kongresuose, suorganizuota ir įvykdyta mokslinė stažuotė. Atliktų tyrimų rezultatai paskelbti 2 publikacijose, publikuotose Q1 kvartilės tarptautiniuose žurnaluose su aukštu IF.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Barrero Domínguez, B.; Luque, I.; Maldonado, A.; Huerta, B.; Sánchez, M.; Gomez Laguna, J.; Astorga, R. Seroprevalence and risk factors of exposure to caprine arthritis encephalitis virus in southern Spain. *Vet. Rec.* 2017, 180, 226.
2. Blacklaws, B. A. 2012. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 35:259–269.
3. Brinkhof, J.M.A., Houwers, D.J., van Maanen, C., 2007. Development of a sample pooling strategy for the serodiagnosis of small ruminant lentiviral infections using the ELITEST-MVV ELISA. *Small Rumin. Res.* 70 (2–3), 194–199.
4. Brotto Rebuli, K., Giacobini, M., & Bertolotti, L. (2021). Caprine Arthritis Encephalitis Virus Disease Modelling Review. *Animals*, 11(5), 1457.
5. Cheevers, W. P., Roberson, S., Klevjer-Anderson, P., & Crawford, T. B. (1981). Characterization of caprine arthritis-encephalitis virus: A retrovirus of goats. *Archives of Virology*, 67(1), 111–117.
6. Crespo, H., Bertolotti, L., Jugaru, M., Glaria, I., de Andrés, D., Amorena, B., ... Reina, R. (2013). Small ruminant macrophage polarization may play a pivotal role on lentiviral infection. *Veterinary Research*, 44(1), 83.
7. Enache, D.A.; Baraitareanu, S.; Danes, D. The incidence of SRLVs infection in European countries over the 10 year period, 2006 to 2015. *Agric. Food* 2016, 4, 518–529.
8. Georgsson, G., Houwers, D. J., Palsson, P. A., & Petursson, G. (1989). Expression of viral antigens in the central nervous system of visna-infected sheep: an immunohistochemical study on experimental visna induced by virus strains of increased neurovirulence. *Acta Neuropathol.* 1989;77(3):299-306. doi: 10.1007/BF00687582.
9. Highland MA. Small Ruminant Lentiviruses: Strain Variation, Viral Tropism, and Host Genetics Influence Pathogenesis. *Veterinary Pathology.* 2017;54(3):353-354.
doi:10.1177/0300985817695517
10. Houwers D. J. Economic Importance, Epidemiology and Control (1990) *Medi-Visna and Related Diseases*, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, pp. 83-117.
11. https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/maedi_visna_and_caprine_arthritis_encephalitis.pdf Žr. 2021.09.02

12. Lechner F., Machado J., Bertoni G., Seow H.F., Dobbelaere D.A.E., Peterhans E. Caprine arthritis encephalitis virus dysregulates the expression of cytokines in macrophages. *J. Virol.* 1997;71:7488–7497.
13. Leitner, G., O. Krifucks, L. Weisblit, Y. Lavi, S. Bernstein, and U. Merin. 2010. The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats. *Vet. J.* 183:328–331
14. Leroux C, Mornex JF. Retroviral infections in sheep and the associated diseases. *Small Rumin Res* 2008;76(1–2):68–76.
15. Leroux C., Cruz J.C.M., Mornex J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Curr. HIV Res.* 2010;8:94–100.
16. Minguijón, E.; Reina, R.; Pérez, M.; Polledo, L.; Villoria, M.; Ramírez, H.; Leginagoikoa, I.; Badiola, J.J.; García-Marín, J.F.; de Andrés, D.; Luján, L.; Amorena, B.; Juste, R.A. (2015). Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Veterinary Microbiology.* 181(1-2):75-89.
17. Peterhans, E.; Greenland, T.; Badiola, J.; Harkiss, G.; Bertoni, G.; Amorena, B.; Eliazewicz, M.; Juste, R.A.; Kraßnig, R.; Lafont, J.P.; et al. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet. Res.* 2004, 35, 257–274.
18. Peterson, K.; Brinkhof, J.; Houwers, D.; Colenbrander, B.; Gadella, B. Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. *Theriogenology* 2008, 69, 433–442.
19. Plaza, M., Sánchez, A., Corrales, J. C., De la Fe, C., & Contreras, A. (2009). Caprine arthritis encephalitis virus diagnosed by ELISA in lactating goats using milk samples. *Small Ruminant Research*, 81(2-3), 189–192.
20. Rosa Boleaa, Eva Monleóna, Librado Carrascob, Antonia Vargasa, Damián de Andrésc, Beatriz Amorenac, Juan José Badiolaa and Lluís Lujána 2006. Maedi-visna virus infection of ovine mammary epithelial cells. *Vet. Res.* 37, 133-144.
21. Schaer, Jessica et al. “Evaluation of Serological Methods and a New Real-Time Nested PCR for Small Ruminant Lentiviruses.” *Pathogens* (Basel, Switzerland) vol. 11,2 129. 21 Jan. 2022, doi:10.3390/pathogens11020129
22. Schultz, E. B., Santana, T. E. Z., Silva, F. F., Garcia, A. O., Oliveira, H. R., Rodrigues, M. T., & Brito, L. F. (2020). Short communication: Genetic parameter estimates for caprine arthritis encephalitis in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 103(7), 6407–6411.

23. Souza, K. C. de, Pinheiro, R. R., Santos, D. O., Brito, R. L. L. de, Rodrigues, A. de S., Sider, L. H., Andrioli, A. (2013). Transmission of the caprine arthritis–encephalitis virus through artificial insemination. *Small Ruminant Research*, 109(2-3), 193–198.
24. Tu P, Shiao J, Lai F, Yang S, Wang P. Diagnostic tests for caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) infection *J Rare Dis Res Treat*. (2017) 2(5): 13-17.
25. Villoria, M., Leginagoikoa, I., Luján, L., Pérez, M., Salazar, E., Berriatua, E., Minguijón, E. (2013). Detection of Small Ruminant Lentivirus in environmental samples of air and water. *Small Ruminant Research*, 110(2-3), 155–160.

LSMU Veterinārās patobioloģijas
katedras vadītājs
prof. habil. dr. Saulius Petkevičius



Tyrimo vadovas:

2025.01.22

PRIEDAI

Priedas Nr. 1

INFEKCINIS OŽKŲ ARTRITAS – ENCEFALITAS: NEPAGYDOMA LIGA



Kokia tai liga?

Ožkų infekcinis artritas - encefalitas (OIAE) yra lėtinė virusinė liga, kuri paveikia ožkų imuninę sistemą. Dėl to ožkos tampa mažiau atsparios įvairiems užkrečiamųjų ligų sukėlėjams ir parazitams. Tyrimai rodo, kad užkrėstose bandose ožkų sveikatos priežiūros išlaidos padidėja net iki 60 proc., nes tokiose bandose dažniau pasireiškia įvairūs virškinamojo trakto, kvėpavimo takų ar bendri negalavimai, o taikomas gydymas antibiotikais, antihelmintikais ar kitais vaistais dažnai būna neefektyvus. Daug nuostolių patiriama ir dėl produkcijos sumažėjimo bei gaišimų.



Kaip ožkos užsikrečia šiais virusais?

Virusai perduodami iš motinos jaunikliui maitinantis priešpieniu ar pienu. Šis virusas gali plisti ir tarp ožkų artimo kontakto būdu, per kūno išskyras bei išmatas. Svarbu įsidėmėti, kad galimas ir netiesioginis virusų perdavimas per įvairius apyvokos daiktus bei per užkrėstus įrankius (nagų žirkles, adatas ir pan.).

Kokie simptomai?

Išskiriamos 5 pagrindinės klinikinės formos:

- Artritas (sąnarių pažeidimas ir judėjimo sutrikimas)
- Encefalitas (neurologiniai pakitimai)
- Pneumonija (kvėpavimo takų uždegimas)
- Mastitas (pieno liaukos uždegimas)
- Lėtinis išsekimas

Sąnarių pažeidimai ir judėjimo sutrikimai dažniausiai pasireiškia suaugusioms ožkoms, o encefalitas - jaunikliams. Lėtinis išsekimas gali pasireikšti atskirai arba kartu su bet kokia kita ligos forma. Tačiau kartais simptomai ožkoms gali nepasireikšti visai. Svarbu, kad ožkos, užsikrėtusios šia liga, yra virusų nešiotijos bei platintojos ir kelia pavojaus sveikoms bandos ožkoms.

INFEKCINIS OŽKŲ ARTRITAS- ENCEFALITAS: LIGOS DIAGNOZAVIMAS IR KONTROLĖ

Kokia padėtis Lietuvoje?

2021-2022 metais buvo ištirta 30 ožkų ūkių iš įvairių Lietuvos vietovių. Iš 370 tirtų ožkų kraujo serumo mėginių net 71 mėginys (19 proc.) buvo teigiamas OIAE atžvilgiu.

Atlikus tyrimus nustatyta, kad net 17 iš 30 ištirtų ūkių buvo rasta bent viena užsikrėtusi ožka. Tai reiškia, kad apie 56,7 proc. ožkų ūkių Lietuvoje gali turėti šią virusinę ligą.

Kaip diagnozuoti ligą?

Praktiškiausias ir patikimiausias būdas patvirtinti infekcinio ožkų artrito-encefalito diagnozę- atlikti serologinius (antikūnų nustatymo) tyrimus kartu su klinikiniais tyrimais.



Kaip apsaugoti ožkas?

Tik prevencinių priemonių visuma gali padėti sustabdyti OIAE viruso plitimą ir ožkų sergamumą:

- Gimusius ožiukus reikia atskirti nuo šiais virusais užsikrėtusios motinos prieš jiems maitinantįs krekenimis
- Jei bandoje yra užsikrėtusių ožkų, jaunikliai turi būti maitinami:
 - Komerciniais mišinukais
 - Sveikos karvės ar ožkos krekenimis
 - Ožkos krekenimis, pakaitintomis 1 valandą 56 laipsnių temperatūroje
- Prieš įsigyjant ožkas yra svarbu jas ištirti dėl OIAE ir kitų infekcinių ligų
- Bandoje reikia atskirti sveikas ožkas nuo užsikrėtusiųjų
- Būtina laikytis higienos ir biosaugos reikalavimų

Deja, bet specifinio gydymo nuo šios ligos nėra.

Tyrimus finansavo Lietuvos žemės ūkio ministerija. Tyrimai vykdyti pagal projektą „Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir įvertinimas“, TM-21-1.

LSMU: VETERINARIJOS IR GYVŪNŲ MOKSLUI

Ožkų artrito-encefalito viruso paplitimas Lietuvoje

Prof. habil. dr. Saulius PETKEVIČIUS,
prof. dr. Algirdas ŠALOMSKAS,
dr. Tomas KUPČINSKAS,
dakt. Patricija KLİBAVIČĖ
LSMU VA mokslo darbuotojai

Pasaulyje vis labiau populiarėja smulkiųjų atrajotojų, tokių kaip avių ir ožkų, ūkiai. Susidomėjimas šių gyvūnų laikymu pastaraisiais metais išaugo dėl rinkoje ypač vertinamo jų pieno, mėsos ir kailio. Jau nuo seno ožkos pienas laikomas labai vertingu ir saugančiu nuo įvairių ligų. Šiandien yra žinoma, kad ožkos pienas yra geriau toleruojamas ir įsivainikimas žmogaus organizmo nei karvės pienas. Ožkos pienas ir jo produktai ypač vertinami žmonių, kurių organizmas netoleruoja laktozės. Ūkininkystė Lietuvoje vykdoma ir dėl ožkų pieno produkcijos naudojimo savo reikmėms, ir dėl produkcijos realizavimo rinkoje. Svarbu suprasti, kad pieno ir jo produktų kokybė ir kiekis tiesiogiai priklauso nuo gyvūno sveikatos, šėrimo bei laikymo sąlygų.

Ožkų užsikrėtimas OAE virusais

Ožkų artritas-encefalitas (OAE) yra lėtinė infekcinė liga, kurią sukelia *Retroviridae* šeimos, *Lentivirus* genties virusas. Šie virusai priskiriami smulkiųjų atrajotojų lentivirusų grupei, nes jais užsikrėsti gali ne tik ožkos, bet ir avys. Avims lentivirusų sukeliamą infekcinę ligą vadinama *Maedi-visna*.



Ožkų artrito-encefalito viruso užsikrėtusios ožkos kelių sąnarių pažeidimai.

OAE virusai gali plisti keliais būdais, tačiau pirminis infekcijos šaltinis yra jauniklio maitinimasis užkrėtusios ožkos pienu ir priešpienu. Šis virusas tarp ožkų gali plisti ir artimo kontakto būdu, per kūno išskyras ir išmatas. Svarbu įsidėmėti, kad galimas ir netiesioginis virusų perdavimas per įvairius apyvokos daiktus ir per užkrėstus įrankius (nagų žirkles, adatas ir pan.), todėl būtina laikytis higienos normų ir reikalavimų.

Ligos simptomatika

OAE neigiamai paveikia ožkų imuninę sistemą, dėl to ožkos tampa mažiau atsparios įvairiems užkrečiamųjų ligų sukėlėjams ir parazitams. Tyrimai rodo, kad užkrėstose bandose ožkų sveikatos priežiūros išlaidos padidėja net iki 60 proc., nes tokiose bandose dažniau pasireiškia įvairūs virškinamojo trakto, kvėpavimo takų ar bendri negalavimai, o taikomas gydymas antibiotikais, antihelmintikais (vaistai nuo virškinamojo

trakto parazitų) ar kitais vaistais dažnai būna neefektyvus.

Ligai progresuojant ožkos patiria nerimą, skausmą, o tai neigiamai atsiliepia gyvulio sveikatingumui ir bandos produktyvumui. Atlikti tyrimai rodo, kad OAE virusu užsikrėtusiose bandose sumažėja gyvulių svoris, trumpėja jų gyvenimo trukmė, padidėja išsigimimų tikimybė, o kartais pasitaiko ir gaisimų. Taigi, infekcinis OAE



Vienas iš viruso perdavimo kelių – žindymas.

dingo ilgo inkubacinio periodo. Užsikrėtęs gyvūnas lieka infektuotas visą likusį gyvenimą. Svarbu įsidėmėti, kad ožkos, užsikrėtusios šia liga, yra virusų nešiotojos bei platinančios, ir taip sukelia povojų užsikrėsti sveikoms bandos ožkoms.

Ligos diagnostavimas

Laboratorinių tyrimų, skirtų diagnozuoti OAE, yra ne vienas, tačiau ne visi jie yra praktiški ir pritaikomi kasdienybėje. Kai kurie metodai yra labiau pritaikyti ir tinkami atlikti mokslinėms viruso ir jo paplitimo analizėms. Praktiškiausias ir paprasčiausias būdas patvirtinti infekcinio OAE diagnozę – atlikti serologinius (antikūnų nustatymo) tyrimus. Atliekant bet kokius laboratorinius tyrimus visada rekomenduojama stebėti ir klinikinius požymius, įvertinti bendrą gyvūno sveikatingumą ir gyvybinius rodiklius. Būtent dėl šiai ligai būdingo ilgo inkubacinio periodo, kai antikūnų formavimas kraujyje gali trukti net keletą savaičių ar mėnesių po užsikrėtimo, šią ligą diagnozuoti yra gana sudėtinga. Atliekant kraujo serologinius tyrimus, galima aptikti klaidingai neigiamus rezultatus, t. y. antikūnai gali būti dar nesusiformavę. Tokiu atveju svarbu atkreipti dėmesį į galbūt esamus klinikinius požymius ir vėliau serologinius kraujo tyrimus atlikti dar kartą.

Padėtis Lietuvoje

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (LSMU) Veterinarijos akademijos veterinarinės patobiologijos katedros moklininkai ir tyrėjai nuo 2021 metų dalyvauja tarptautiniame projekte „Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir įvertinimas“. Šio projekto tikslas – sukurti neinvazinį greitąjį OAE diagnostavimo testą, kurį būtų galima pritaikyti ūkininkystėje, ir taip lengviau kontroliuoti šią ligą ožkų bandose. Deja, Lietu-

voje OAE liga nėra plačiai iširta ir nėra privalomos šios ligos stebėjimo ir kontrolės programos. Todėl per pirmuosius dalyvavimo projekte metus (2021–2022 m.), universiteto veterinarijos gydytojai-tyrėjai apėmė 30 ožkų ūkių įvairiose Lietuvos vietovėse ir iš kiekvieno ūkio surinko ir ištyrė 380 ožkų kraujo serumo mėginių, iš kurių 74 mėginiai (19,47 proc.) buvo teigiami OAE atžvilgiu. Atlikus tyrimus nustatyta, kad net 17 (56,7 proc.) iš 30 iširtų ūkių buvo rasta bent viena užsikrėtusi ožka.

Prevencijos priemonės ir ūkio apsauga

OAE yra sudėtinga ir apgaulinga liga. Jos stebėseną ir kontrolę yra nelengvas procesas, tačiau OAE ligos pašalinimas iš užsikrėtusios bandos – dar sudėtingesnis. Todėl, kalbant apie visas užkrečiamąsias ligas ir siekiant nuo jų apsaugoti, geriausia ir patikimiausia priemonė yra prevencija. Svarbu suprasti, kad prevencija yra įvairių priemonių visuma ir tik jų laikymasis gali padėti sustabdyti OAE viruso plitimą tarp ožkų ir taip sumažinti sergamumą.

Viena iš pagrindinių ir svarbiausių prevencijos priemonių yra gimusių jauniklių atskyrimas nuo OAE virusais užsikrėtusios ožkos prieš jiems pradant maitintis krekonomis ir pienu. Jei ožka yra užsikrėtusi OAE, jos jaunikliui galima duoti sveikos ožkos ar karvės krekoną, naudoti komercinius mišinius arba sergančios ožkos krekonas pakaitinti 1 val. 56 laipsnių temperatūroje tam, kad OAE virusas būtų sunaikintas, bet krekonos esančios baltymų struktūros liktų nepažeistos.

Kadangi OAE viruso plitimas galimas ir tarp ožkų joms tiesiogiai kontaktuojant, reikėtų bandose esančias sveikas ožkas atskirti nuo sergančiųjų ir taip suformuoti dvi bandas. Nusprendus ūkyje pasilikti sergančias ožkas,

būtina laikytis biosaugos reikalavimų ir mechanškai neperešti viruso iš sergančios bandos gyvūnų sveikos bandos gyvūnams. Jeigu norima ligos atsikratyti viename ūkyje, deja, užsikrėtusias ožkas būtina likviduoti, o dėl lėto antikūnų formavimosi kraujyje sveikas ožkas reikia nuolat tirti serologiškai (bent kartą per metus) ir taip prižiūrėti, kad virusas bandoje neplistų.

Kitas svarbus aspektas siekiant apsaugoti bandą nuo OAE infekcijos – gyvūnų prekyba ir mainai. Labai svarbu suprasti, kad su nauju į bandą atkeliaujančiu gyvūnu gali „atkeliauti“ ir infekcija. Norint apsaugoti nuo tokios rizikos rekomenduojama naujai įsigytus gyvūnus karantinuoti (bent 60 dienų) ir stebėti jų sveikatos pokyčius. Taip pat svarbu atlikti infekcinių ligų tyrimus. Šiuo atveju, norint iširti naujai įsigytus gyvūnus dėl užsikrėtimo OAE virusu, serologinius tyrimus rekomenduojama atlikti pirmomis karantinavimo dienomis, o baigiantis karantino laikotarpiui tyrimą pakartoti. Tik sveikus ir neužsikrėtusius gyvūnus rekomenduojama įleisti į ožkų bandą.

Be visų, jau išvardytų apsaugos ir prevencijos priemonių, ne mažiau svarbi yra biosauga



Veterinarijos gydytojo vizitai ūkyje reikalingi ne tik surinkti mėginius laboratoriniams tyrimams, bet ir įvertinti klinikinius ligos požymius.

ir higiena. Žinant OAE viruso plitimo ypatumus, reikia į juos atsižvelgti ir atitinkamai taikyti bei laikytis higienos ir biosaugos reikalavimų. Žmonės, dirbantys ūkyje, turi turėti atskirą darbo aprangą ir avalynę, laikytis asmenų higienos normų, dezinfekuoti įrankius, naudojamus ūkyje, naudoti dezokimilius ir vengti mechaninio OAE viruso platinimo bandoje ir ūkyje. Deja, nei specifinio gydymo, nei vakcinacijos ožkoms nuo OAE infekcijos nėra. Žmonės šia liga neužsikrečia ir ji nėra jiems pavojinga.

Tyrimus finansavo Lietuvos žemės ūkio ministerija. Tyrimai vykdyti pagal projektą „Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir įvertinimas“, TM-21-1.

LSMU VA nuotraukos



LIETUVOS SVEIKATOS
MOKSLŲ UNIVERSITETAS



VETERINARIJOS
AKADEMIJA

Priedas Nr. 3

REKOMENDACIJOS OŽKŲ INFEKCINIO ARTRITO – ENCEFALITO KONTROLEI

Parengtos pagal Lietuvoje atliktus tyrimus, vykdant projektą „Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir įvertinimas“

Sukėlėjas ir liga:

Ožkų virusinį artritą - encefalitą (OIAE) sukelia virusas, kuris yra priskiriamas *Lentivirus* genčiai, *Retroviridae* šeimai. Serganti ar užsikrėtusi, bet kliniškai sveika, ožka virusą dažniausia perduoda savo palikuonims per pieną ir krekenas. Galimas ir tiesioginis viruso perdavimas tarp suaugusių individų, per apyvokos daiktus ar per nešvarius veterinarinius įrankius (nagų žirkles, adatas ir pan.). Užsikrėtusiems ožiukams gali nepasireikšti klinikiniai ligos požymiai (encefalitas), tačiau užsikrėtę gyvūnai tampa virusų nešiotojais visą likusį gyvenimą. Artrito (sąnarių uždegimo) forma pasireiškia suaugusioms ožkoms. Ligos inkubacinis laikas – nuo kelių savaičių (jauni gyvuliai), iki kelių metų. Ryškūs ligos simptomai pastebimi apie 30 procentų užsikrėtusių ožkų.

Paplitimas:

Lietuvoje ožkų infekcinio artrito – encefalito vidutinis serologinis paplitimas siekia apie 16 proc., o daugiau nei pusėje tirtų ūkių rastos užsikrėtę ožkos.

Ligos diagnostika:

Praktiškiausias ir patikimiausias būdas patvirtinti infekcinio ožkų artrito-encefalito diagnozę yra serologiniai (antikūnų nustatymo) ir klinikiniai tyrimai. Serologinius tyrimus galima atlikti laboratorijoje arba pačiame ūkyje, naudojant tinkamus greituosius antikūnų nustatymo testus.

Rizikos veiksniai:

- Ožkų laikymas didelėse bandose;
- Užsikrėtusių virusu (seroteigiamų) ožkų krekenų ir pieno girdymas;
- Serologinių tyrimų neatlikimas ir karantinavimo nebuvimas įsigijus ožkas iš kito ūkio;
- Užsikrėtusių ir sveikų ožkų bendras laikymas;
- Perkant ožkas iš kitų šalių ūkių gyvuliai nebuvo tikrinami dėl infekcinių ligų.

Ligos kontrolė:

Vakcinos nuo OIAE nėra sukurtos, todėl pagrindinė ligos kontrolės priemonė yra užsikrėtusių ožkų nustatymas serologiniais metodais.

- Užsikrėtusių ožkų krekenos ir pienas turėtų būti termiškai apdorojamas 56° C temperatūroje 60 min. arba keičiamas pakaitalais (sveikos ožkos ar karvės pienu, krekenomis);
- Seroteigiamų ožkų naujagimiai turėtų būti atskiriami nuo motinos iš karto po gimimo, kad negautų infekuotų krekenų;

- Seroteigiamos ožkos turi būti atskirtos nuo sveikų, kad tarpusavyje neturėtų kontakto;
- Užkrėstoje bandoje ožkos turėtų būti grupuojamos (pvz. laikomos atskiruose garduose, mažesnėmis grupėmis arba po vieną);
- Jei banda sveika (atliktas serologinis tyrimas ir nerasta teigiamai reagavusių), perkant ožkas iš kitų Lietuvos ar užsienio šalyse esančių ūkių būtina karantinuoti ir atlikti serologinius infekcinio artrito - encefalito tyrimus;
- Kergimui naudoti tik sveikus (seroneigiamus) gyvulius. Kergti tik sveikas ožkas su sveikais ožiais;
- užsikrėtusias (seroteigiamas) ožkas melžti paskutines;
- Atlikti serologinius ožkų infekcinio artrito - encefalito tyrimus 1-2 kartus per metus, seroteigiamus atskirti ir, jei įmanoma, brokuoti, kol bus likviduoti paskutiniai užsikrėtę (seroteigiami) gyvuliai;
- Laikytis asmens higienos taisyklių, biosaugos reikalavimų (švarūs apyvokos daiktai, vienkartiniai ar sterilizuoti veterinariniai įrankiai ir t.t.);
- Būtina taikyti karantinavimą naujai įsivežtiems gyvūnams.

Priedas Nr. 4

SEROPREVALENCE OF CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS VIRUS INFECTION IN LITHUANIA

P. KLİBAVIČĖ¹, J. RAIBIKIS¹, A. ŠALOMSKAS¹, T. KUPČINSKAS¹, A. MALAKAUSKAS¹, S.
PETKEVIČIUS^{1*}

¹Department of Veterinary Pathobiology, Veterinary Faculty, Lithuanian University of Health Sciences,
Kaunas, Lithuania

*Correspondence: (saulius.petkevicius@ismuni.lt)

Background: Caprine arthritis-encephalitis (CAE) is a viral disease of goats caused by small ruminant lentiviruses (SRLV), members of *Retroviridae* family. CAE is widespread worldwide and it is currently considered as one of the main threats to goat production in the European countries. CAE virus causes a persistent and slowly progressing infection in goats and most infected animals remain asymptomatic because of the slow and progressive evolution of the infection. Goats acquire the infection via lactogenic route from their dams or from their herdmates via contact with respiratory secretions, faeces and lung fluids. The infection can lead to chronic progressive arthritis, pneumonia, mastitis, and encephalitis. However, there is no control program of this disease in Lithuania. The purpose of performed research was to determine current situation of CAE seroprevalence in Lithuania and select infected farms for further and more detailed investigation.

Methods: For this study samples of goat blood serum were collected from farms of different regions in Lithuania. Goats for testing were selected randomly or by presence of clinical symptoms. Whole blood samples were collected from *v. jugularis* using blood collection tubes with clot activator. Blood serum was investigated by enzyme-linked immunosorbent assay (ID Screen® MVV / CAEV Indirect screening test). Results of serological tests were registered in database and used for statistical analysis.

Results: A total 252 blood serum samples from goats were investigated by ELISA test until April 2022. It was shown that 96 (38.1%) of samples were seropositive (95% CI, 32.3 - 44.2%). It was determined that in different farms the seroprevalence of CAE was significantly variable. In 36 of 42 (85.7%; 95% CI 72.6 – 94.0%) investigated goat farms at least one seropositive animal was found. Seroprevalence increased with the size of the herd.

Conclusions: The preliminary study has shown that CAE virus infection is quite common and endemic in Lithuania. The further and more detail study of CAE virus infection distribution in Lithuania goat farms should be performed.

Keywords: goats, virus, arthritis-encephalitis, prevalence

The research was granted by CAE-RAPID project (Development of a rapid screening test for on-site serological diagnostics of caprine arthritis-encephalitis using individual milk samples), ID:39.

Priedas Nr. 5



ICG2022
13th INTERNATIONAL
CONFERENCE
ON GOATS

ONLINE
19-22 SEPTEMBER,
2022



S02-P01 | Patricija Klibavičė | Lithuania | patricija.klibavice@ismu.lt

Seroprevalence in Lithuanian goat herds of small ruminant lentivirus infection, the cause of caprine arthritis encephalitis

P.Klibavičė, J. Raibikis, A.Šalomska, T.Kupčinskas, S. Petkevičius

Department of Veterinary Pathobiology, Veterinary Faculty, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania

Caprine arthritis-encephalitis (CAE) is a viral disease of goats caused by small ruminant lentivirus (SRLV) of *Retroviridae* family. CAE is widespread worldwide and most infected animals remain subclinically affected. However, seroprevalence of CAE virus in Lithuania requires more study. The purpose of this study is to determine the seroprevalence of CAE in Lithuania.

Dairy goat farms having at least 10 animals (older than 6 months) were selected by the voluntary participation in this research from different regions of Lithuania. Goats for testing were selected randomly or by presence of clinical symptoms of arthritis or respiratory disorders. 10-15 whole blood samples were collected from each farm using blood collection tubes with clot activator. Blood serum was investigated by enzyme-linked immunosorbent assay (ID Screen® MVV/CAEV Indirect screening test). Results of serological tests were used for statistical analysis.

A total 172 blood serum samples from goats were investigated by ELISA test. It was shown that 38 (22.1%) of samples were seropositive (95% CI: 16.5-28.9). It was determined that in different farms the seroprevalence of CAE was significantly variable. The range of seroprevalence in tested blood samples of different farms was broad: from 0 to 100%. In 9 of 15 investigated goat farms there was at least one seropositive animal, those herds were considered CAE virus infected.

The study has shown that CAE virus infection is quite common and endemic in Lithuania. The further and more detail study of CAE virus infection distribution in Lithuania goat farms should be performed.

Acknowledgements

The research was granted by CAE-RAPID project, ID:39.



O-119 First report of the occurrence of SRLV genotypes A and B in Lithuanian goat population

P. Klibavice^a, A. Moroz-Fik^b, K. Biernacka^b, M. Mickiewicz^b, Z. Nowek^b, S. Petkevičius^a, G. Bertoni^c, C.E. Abril^d, S. Stuen^e, L. Ózsvári^f, J. Kaba^b, M. Czopowicz^b

Show more

Outline | Share | Cite

<https://doi.org/10.1016/j.anscip.2023.01.195>

[Get rights and content](#)

Previous

Next

Introduction

Caprine arthritis-encephalitis (CAE) and maedi-visna (MV) are persistent lentivirus infections of goats and sheep. They are often grouped together as the small ruminant lentivirus (SRLV) infection. There are five recognized SRLV genotypes (A-E), but genotypes A and B are widespread. No study of prevalence of SRLV genotypes in Lithuania was performed before and that was the purpose of this study.

Material and methods

The study was carried out in years 2021–2022 and 10 of 17 herds from various regions of Lithuania known to be seropositive for SRLV infection were enrolled. All adult goats (>1 year-old) in these herds were blood sampled and screened using an indirect commercial ELISA coated with the panel of synthetic peptides from SRLV structural proteins (ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test, ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, France). Then, the herds were revisited and blood was collected only from seropositive goats. Blood was collected to 2-ml tubes with EDTA anticoagulant, mixed with Ficoll to isolate peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from whole blood using density gradient centrifugation. After buffy coat was harvested, it was washed and centrifuged with PBS. Then, leukocyte pellets were stored at -20°C until testing. DNA from leukocyte pellets was extracted (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen, Germany) and the material was tested using a two-stage real-time nested PCR (RT-nPCR) which distinguishes between SRLV genotype A and B. In total, blood samples from 27 seropositive goats from 10 goat herds were tested using RT-nPCR.

Results and discussion

Twenty two of 27 seropositive goats (82%) tested positive in RT-nPCR. The goats came from 9 of 10 tested herds (90%). Both SRLV genotypes were identified – 8 goats were infected with genotype A (MVV) and 14 goats were infected with genotype B (CAEV). No concomitant infection were detected.

Conclusion and implications

Both SRLV genotypes (A and B) are widespread in Lithuanian goat population.



ScienceDirect

Animal - science proceedings

Volume 14, Issue 1, March 2023, Pages 143-144

O-118 Characteristics of SRLV genotypes circulating in Polish goat population

A. Moroz-Fik^a, K. Biernacka^a, M. Mickiewicz^a, Z. Nowek^a, G. Bertoni^b, C. Abril^b, S. Stuen^c, L. Ózsvári^d, S. Petkevičius^e, O. Szaluś-Jordanow^a, E. Bagnicka^f, I. Markowska-Daniel^a, J. Kaba^a, M. Czopowicz^a  

Show more 

 Outline |  Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.anscip.2023.01.194> 

[Get rights and content](#) 



Previous

Next



Keywords

Caprine arthritis-encephalitis; Goat; PCR; Small ruminant lentivirus

Introduction

Caprine arthritis-encephalitis (CAE) in goats and maedi-visna disease in sheep are widespread infectious diseases caused by small ruminant lentivirus (SRLV). SRLV is classified into 5 genotypes (A-E) of which A and B are widespread. Both have been reported from Polish goat population, however only small-scale studies were carried out. We aimed to estimated herd-level prevalence of SRLV genotypes.

Material and methods

The study was carried out in years 2021–2022. Twenty goat herds were randomly selected from 100 herds known to be seropositive for SRLV infection. This sample size allowed herd-level prevalence estimation assuming expected prevalence of 50% and 20% precision. The herds were located in 10 provinces of Poland. They counted from 10 to 500 adult goats (median – 30 goats). All adult goats (>1 year-old) in these herds were blood sampled and screened using an indirect commercial ELISA coated with the panel of synthetic



The herd-level prevalence of caprine arthritis-encephalitis and genetic characteristics of small ruminant lentivirus in the Lithuanian goat population

Saulius Petkevičius ^a✉, Patricija Klibavičė ^a✉, Algirdas Šalomskaš ^a✉, Tomas Kupčinskas ^a✉, Agata Moroz-Fik ^b✉, Kinga Biernacka ^b✉, Marcin Mickiewicz ^b✉, Zofia Nowek ^b✉, László Ózsvári ^c✉, Krisztina Bárdos ^c✉, Snorre Stuen ^d✉, Carlos Eduardo Abril ^e✉, Giuseppe Bertoni ^e✉, Jarosław Kaba ^b✉, Michał Czopowicz ^b✉

Show more ▼

+ Add to Mendeley Share Cite

<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2024.106363>

[Get rights and content](#)

Under a Creative Commons [license](#)

open access

Abstract

Caprine arthritis-encephalitis (CAE) is a progressive disease of goats caused by small ruminant lentivirus (SRLV) and is considered as one of the most important threats for

Article

First Molecular Characterization of Small Ruminant Lentiviruses in Hungarian Goat Population

László Ózsvári ^{1,2}, Krisztina Bárdos ^{1,2}, Agata Moroz-Fik ³, Kinga Biernacka ³, Marcin Mickiewicz ³, Zofia Nowek ³, Carlos Eduardo Abril ⁴, Giuseppe Bertoni ⁴, Snorre Stuen ⁵, Saulius Petkevičius ⁶, Jarosław Kaba ³ and Michał Czopowicz ^{3,*}

¹ Department of Veterinary Forensics and Economics, University of Veterinary Medicine Budapest, István u. 2, 1078 Budapest, Hungary; ozsvari.laszlo@univet.hu (L.Ó.); bardos.krisztina@univet.hu (K.B.)

² National Laboratory of Infectious Animal Diseases, Antimicrobial Resistance, Veterinary Public Health and Food Chain Safety, University of Veterinary Medicine Budapest, 1078 Budapest, Hungary

³ Division of Veterinary Epidemiology and Economics, Institute of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Nowoursynowska 159c, 02-776 Warsaw, Poland; agata_moroz@sggw.edu.pl (A.M.-F.); kinga_biernacka@sggw.edu.pl (K.B.); marcin_mickiewicz@sggw.edu.pl (M.M.); nowekz@wp.pl (Z.N.); jaroslaw_kaba@sggw.edu.pl (J.K.)

⁴ Institute of Virology and Immunology, Department of Infectious Diseases and Pathobiology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Laenggass-Str. 122, CH-3012 Bern, Switzerland; carlos.abril-gaona@unibe.ch (C.E.A.); giuseppe.bertoni@unibe.ch (G.B.)

⁵ Department of Production Animal Clinical Sciences, Norwegian University of Life Sciences, Svebastadveien 112, N-4325 Sandnes, Norway; snorre.stuen@nmbu.no

⁶ Department of Veterinary Pathobiology, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences, Tilzes Str. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; saulius.petkevicius@lsmu.lt

* Correspondence: michal_czopowicz@sggw.edu.pl



Citation: Ózsvári, L.; Bárdos, K.; Moroz-Fik, A.; Biernacka, K.; Mickiewicz, M.; Nowek, Z.; Abril, C.E.; Bertoni, G.; Stuen, S.; Petkevičius, S.; et al. First Molecular

Abstract: In 2023, a molecular study was conducted on the Hungarian goat population to determine genotypes and subtypes of small ruminant lentiviruses (SRLV) infecting these herds. Ten goat herds seropositive for SRLV infection according to a serosurvey conducted earlier in Hungary were selected, and 135 adult goats (>1 year old) were blood sampled. The two-stage nested real-time PCR (nRT-PCR) was used to detect proviral DNA of SRLV and distinguish between two main viral genotypes (A and B). PCR products were submitted for Sanger dideoxy sequencing, and phylogenetic and molecular evolutionary analyses were conducted on the 200–250 bp-long proviral DNA sequences from the