LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA

Veterinarijos fakultetas

Neringa Bartaševičiūtė

Arklių infekcinių ligų serologinių tyrimų analizė
Analysis of equine infectious diseases serological investigations

Veterinarinės medicinos vientisųjų studijų
MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovė: doc.dr. Marija Stankevičienė

Kaunas, 2016

DARBAS ATLIKTAS UŽKREČIAMŲJŲ LIGŲ KATEDROJE.

PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ.

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas „Šunų išorinės ausies uždegimo sukėlėjai ir atsparumo atmikrobinėms medžiagoms nustatymas“.

1. Yra atliktas mano paties/pačios;
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje;
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą panaudotos literatūros sąrašą.

2016-01-08 Neringa Bartaševičiūtė

(data) *(autoriaus vardas, pavardė)* *(parašas)*

PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ ATLIKTAME DARBE

Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklingumą atliktame darbe.

2016-01-08 Neringa Bartaševičiūtė

(data) *(autoriaus vardas, pavardė)* *(parašas)*

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBOVADOVO IŠVADOS DĖL DARBO GYNIMO

.....

.....

2016-01-08 Marija Stankevičienė

(data) *(darbo vadovo vardas, pavardė)* *(parašas)*

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE

(aprobacijos data) *(katedros vedėjo/jos vardas pavardė)* *(parašas)*

Magistro baigiamojo darbo recenzentai

1) _____

2) _____

(vardas, pavardė) *(parašas)*

Magistro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data) *(gynimo komisijos sekretorės (-iaus) vardas pavardė)* *(parašas)*

TURINYS

SANTRUMPOS 5
SANTRAUKA 6
SUMMARY 8
ĮVADAS 10
1. LITERATŪROS APŽVALGA 12
1.1. Arklių infekcinė anemija 12
1.1.1. Etiologija/epidemiologija 12
1.1.2. Patogenezė 13
1.1.3. Klinikiniai požymiai 13
1.1.4.Patologoanatominiai pakitimai 14
1.1.5. Diagnozavimas 14
1.1.6. Prevencija 15
1.2. Leptospirozė 15
1.2.1. Etiologija/epidemiologija 15
1.2.2. Patogenezė 16
1.2.3. Klinikiniai požymiai 17
1.2.4. Patologoanatominiai pakitimai 18
1.2.5. Diagnozavimas 18
1.2.6. Gydymas 18
1.2.7. Prevencija 18
1.3. Įnosės 19
1.3.1. Etiologija/epidemiologija 19
1.3.2. Patogenezė 20
1.3.3. Klinikiniai požymiai 20
1.3.4. Patologoanatominiai pakitimai 21
1.3.5. Diagnozavimas 22
1.3.6. Gydymas ir ligos likvidavimo priemonės 22
1.4. Kergimo liga 23
1.4.1. Etiologija/epidemiologija 23
1.4.2. Patogenezė 23

1.4.3. Klinikiniai požymiai 24
1.4.4. Patologoanatominiai pakitimai 25
1.4.5. Diagnozavimas 25
1.4.6. Gydymas ir likvidavimo priemonės 26
2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA 27
2.1.Trumpas IFA metodo aprašymas 27
2.2.Trumpas IDAG metodo aprašymas 29
2.3. Trumpas MA metodo aprašymas 30
2.4. Trumpas KS metodo aprašymas 33
2.5 Statistinių duomenų analizė 34
3. TYRIMO REZULTATAI 35
3.1 Arklių infekcinės anemijos, įnosių ir kergimo ligos tyrimo rezultatai 35
3.2. Tyrimo rezultatai leptospirozės atžvilgiu 38
3.3 Leptospirų nešiotojų paplitimas arklių populiacijoje 40
3.4 Arklių santalkos įtaka leptospirų nešiotojų paplitimui 41
3.5 Leptospirų kamienų paplitimas arklių populiacijoje 42
3.6 Leptospirų nešiotijų pasiskirstymas arklinių šeimoje 43
3.7 Leptospirozės sukėlėjų pasiskirstymas pagal lytį 44
4. REZULTATŲ APTARIMAS 45
IŠVADOS 48
PADĖKOS 49
LITERATŪROS SĄRAŠAS 50
PRIEDAI 56

SANTRUMPOS

AIA – arklių infekcinė anemija

Ag – antigenas

CNS – centrinė nervų sistema

DNR– deoksiribonukleinorūgštis

E – eritrocitai

ES – eritrocitų suspencija

HS – hemolitinė sistema

HV – hemolizino vienetai

IDAG – imunodifūzija agaro gelyje

IFA – imunfermentinės analizės metodas (**ELISA**(*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*))

K – komplementas

KS – komplemento sujungimo testas

MA – mikroagliutinacijos reakcija

M/TK– mėginio optinio tankio vertės santykis su teigiamos kontrolės verte

NMVRVI –Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas

OIE – Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacija

OT– optinis tankis

RNR– ribonukleino rūgštis

TK – teigiama kontrolė

TNF – tumoro nekrozės faktorius

VMVT – Valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba

SANTRAUKA

Arklių infekcinių ligų serologinių tyrimų analizė

Neringa Bartaševičiūtė

Magistro baigiamasis darbas

Šiais laikais visoje Europoje arkliai, asilai ir kiti arklinių šeimos atstovai yra naudojami darbui, sportui, kaip augintiniai gyvūnai, terapinėje medicinoje ar net maistui. Remiantis naujausiais statistiniais duomenimis iki 2015 m. lapkričio 1d. Lietuvoje buvo 17402 arkliai, iš kurių daugiausiai Vilniaus, Alytaus, Pagėgių, Šiaulių ir Klaipėdos r. savivaldybėse (3). Pastaruoju metu išsiplėtė tarptautiniai ryšiai, pagausėjo gyvulių pervežimų, padažnėjo dalyvavimas žirginiame sporte todėl atsirado galimybė plisti užkrečiamoms infekcinėms arklių ligoms įtrauktom į OIE sąrašą: arklių infekcinei anemijai, įnosėms, kergimo ligai ar leptospirozei.

Darbo apimtis 57 puslapiai, 18 paveikslų, 6 lentelės.

Darbo tikslas: išanalizuoti seroepizotinę situaciją arklių infekcinės anemijos, kergimo, įnosių ir leptospirozės atžvilgiu.

Tyrimas atliktas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos Užkrečiamųjų ligų katedroje ir Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto (NMVRVI) Serologinių tyrimų skyriuje.

Dėl arklių užkrečiamųjų ligų per laikotarpį nuo 2011 metų iki 2015 metų spalio 21d. buvo ištirti 18519 arklių kraujo serumo mėginiai. Dėl antikūnų prieš arklių infekcinės anemijos sukėlėją – 6116, įnosių sukėlėją – 6069, kergimo ligos sukėlėją – 5894 ir leptospirozės sukėlėją – 440 kraujo serumo mėginių.

AIA, įnosių ir kergimo ligos seroteigiamų atvejų per visą analizuojamų metų laikotarpį nebuvo nustatyta. Leptospirozei teigiamų atvejų pasitaikė ir tai sudarė 18,63 proc. arklinių šeimos atstovų tarpe (arklių, asilų, ponių).

Analizuojamų ligų atžvilgiu daugiausia kraujo serumo mėginių ištirta 2013 ir 2014 metais. Tyrimas leptospirozės atžvilgiu sudarė net 70 proc. visų tirtų mėginių per visus penkerius metus.

Medžiaga leptospirozės tyrimams pristatyta iš 6 skirtingų apskričių. Antikūnai prieš šios ligos sukėlėją buvo nustatomi daugiau mėginiuose iš Panevėžio apsk. (31,82 proc.). Seroteigiamų gyvulių

dažniau pasitaikė žirgynuose (19,58 proc. sergamumas) ir kumelių tarpe (69,51proc.). Labiausiai paplitusi serogrupė arklinių tarpe per analizuojamąjį laikotarpį - *L. canicola* (33,04 proc.).

Raktiniai žodžiai: įnosės, kergimo liga, infekcinė anemija, leptospirozė, arkliai.

SUMMARY

Analysis of Equine Infectious Diseases Serological investigations

Neringa Bartaševičiūtė

Master's Thesis

These days, all across Europe horses, donkeys, and other equines are being used for work, sport, as pet animals, in therapeutic medicine, or even for food. According to the latest statistical data before 1 November 2015, in Lithuania there were 17402 horses of which a maximum was being kept in Vilnius, Alytus, Šiauliai and Klaipėda District municipalities (3). In recent yearsinternational relations have expanded, the transportation of livestock has increased in number, and the figures of participation in horse races have extended; therefore, this also created an opportunity for spread of contagious infectious equine diseases such as equine infectious anaemia, glanders, dourine, or leptospirosis which are included into the OIE list.

The content of the work: of 57 pages, 18 figures, 6 tables.

The aim of the graduate thesis is to analyze theserological situation in connection with the diseases such as equine infectious anaemia, dourine, glanders and leptospirosis.

The thesis is composed of 59 pages. The work also contains 18 Figures and 6 Tables.

The survey was conducted at the Department of Infectious Diseases of Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences, and at the Serology Investigation Section of National Food and Veterinary Risk Assessment Institute (NFVRAI).

Over the period from 21 October 2011 to 2015, 18519 blood serum samples of the horses were examined concerning equine infectious diseases. 6116 blood serum samples were investigated in relation to antibodies against equine infectious anemia agent, 6069 – the agent of glanders, 5894 – dourine agent and 440 – leptospirosis agent.

Throughout the analyzed period of the year, there has not been determined any seropositive cases of EIA (Equine Infectious Anaemia), glanders or dourine. However, there have only occurred some positive cases of leptospirosis representing 18.63% amongst other equines (horses, donkeys, and ponies).

As regardsthe treatment of diseases,the majority of blood serum samples were tested in 2013 and 2014. In relation to leptospirosis, this period represented even 70% of all the samples tested within five years.

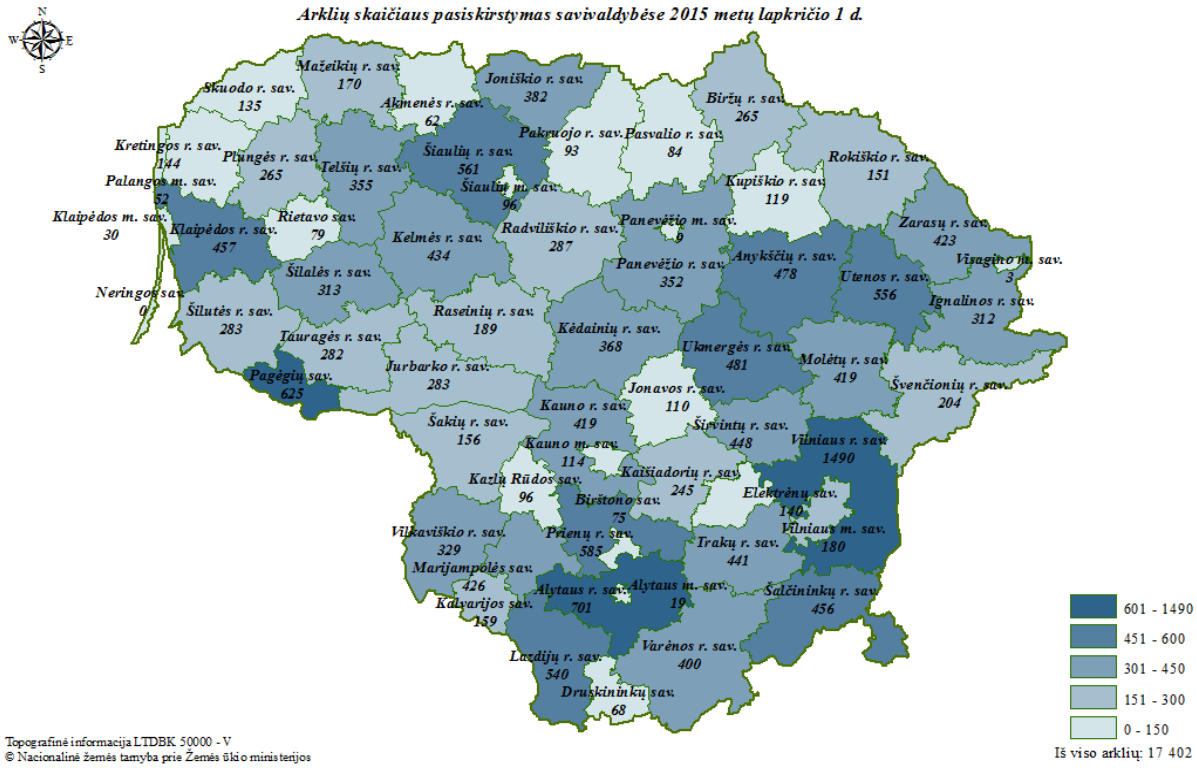
The material intended for testing leptospirosis has been delivered from 6 different counties. Antibodies to the agent of this disease have been mainly established in samples from Panevėžis County (31.82%). Seropositive animals were more common in stud farms (the incidence rate was 19.58%) and among the mares (69.51%). During the period considered, the most widespread serogroup among the equine was L. *canicola* (33.04%).

Keywords: Glanders. Dourine. Infectious anaemia. Leptospirosis. Horses. Equines.

ĮVADAS

Arklių skaičius pasaulyje 1913 m. siekė apie 102 milijonus. Tačiau vystantis pramonei ir modernėjant žemės ūkui laikomų arklių skaičius ženkliai sumažėjo (1). Pastaruoju metu išsiplėtė tarptautiniai ryšiai, pagausėjo gyvulių pervežimų, todėl atsirado galimybė plisti infekcinėms arklių ligoms. Dėl geresnės infekcinių ligų kontrolės Lietuvoje nuo 2009 metų birželio 30 d. arklių prieauglis pradėtas ženklinti mikroschemomis (2).

Lietuvoje yra 56 įmonės – žirgynai, kurie užsiima žirginiu sportu, turizmu, veisimu ir veislių išsaugojimu, pirkimu ir pardavimu. Remiantis naujausiais statistiniais duomenimis iki 2015 m. lapkričio 1 d. Lietuvoje buvo 17402 arkliai, iš kurių daugiausiai Vilniaus, Alytaus, Pagėgių, Šiaulių ir Klaipėdos r. savivaldybėse (žr. 1pav.). Lyginant su 2011 m. skaičius išaugo 4033 arkliais (3).



1 pav. *Arklių skaičius iki 2015 m. lapkričio 1 d.***.**

Žirgininkystėje, kaip ir kitose ūkio šakose neišvengiamai susiduriama su įvairiomis gyvulių sveikatos problemomis. Taigi vienas svarbiausių uždavinių yra kompleksinėmis priemonėmis išlaikyti arklių sveikatingumą. Tai padaryti galima dviem būdais: pirmasis – kovoti su pasekmėmis, antrasis – saugos programos sukūrimas ir kasdieninis jos įgyvendinimas (1).

Arklių infekcinė anemija, įnosės, kergimo liga ir leptospirozė – arklių ligos, kurios yra įtrauktos į Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacijos (OIE) sąrašą. OIE vienas iš uždavinių vykdyti užkrečiamųjų ligų stebėseną, kad nepasireikštų protrūkiai (4). Nustačius ligos atvejį reikia nedelsiant pranešti artimiausiai teritorinei valstybinei maisto ir veterinarijos tarnybai ir imtis visų reikiamų priemonių, kad liga neplistų (5).

Darbo tikslas – išanalizuoti seroepizotinę situaciją arklių infekcinės anemijos, kergimo, įnosių ir leptospirozės ligų atžvilgiu.

Darbo uždaviniai:

1. Surinkti duomenis apie 2011 – 2015m. serologinius tyrimusatliktus arklių infekcinės anemijos, leptospirozės, įnosių ir kergimo atžvilgiu.
2. Išanalizuoti arklių infekcinės anemijos, įnosių ir kergimo ligų tyrimų rezultatus.
3. Išanalizuoti leptospirų nešiotojų paplitimą arklinių šeimos atstovų tarpe.
4. Nustatyti vyraujančias serogrupes arklinių šeimoje.
5. Išanalizuoti leptospirų nešiotojų pasiskirstymą pagal santalką ir lytį.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Arklių infekcinė anemija

Tai užkrečiama vienakanopių infekcinė liga, kuri pasireiškia širdies ir kraujagyslių sistemos pažeidimais, pastoviu ar kintančiu karščiavimu, anemija, edema (6,7). Pirmosios žinios apie arklių infekcinę anemiją aptinkamos 1841 m. Alfordo veterinarijos mokyklos ataskaitoje (6,12).

Arklių infekcinė anemija – arklių liga, kuri įtraukta į Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacijos (OIE) ligų sąrašą (7).

1.1.1. Etiologija/epidemiologija

Arklių infekcine anemija paplitusi daugelyje pasaulio šalių. Sporadiniai AIA atvejai buvo nustatyti 2006 metais Airijoje ir Šiaurės Airijoje, 2007–2009 metais Italijoje, Kroatijoje, Prancūzijoje, Rumunijoje ir Vokietijoje, 2009 metais Belgijoje, 2010 metais Jungtinėje Karalystėje (8). Lietuvoje arklių infekcinė anemija neregistruota, tačiau kontrolė šios ligos atžvilgiu yra vykdoma visose Europos Sąjungos šalyse. Per 2010 metus ištirti 1211 arklių kraujo serumo mėginių, antikūnų prieš AIA virusą nenustatyta(9).

Arklių infekcine anemija gali užsikrėsti visi arklinių šeimos gyvūnų atstovai, nepriklausomai nuo jų amžiaus. Tai gali būti darbiniai, sportiniai ar veisliniai arkliai, asilai, poniai, zebrai ar net mulai (15).

Ligos sukėlėjas – RNR virusas, priklausantis *Retroviridae* šeimai *Lentivirus* genčiai. Virusas neatsparus karščiui, pakaitinus 60ºC žūva per 1 valandą. Saulės spinduliai suardo per 1–3 valandas, esant 0–2 ºC virusas išgyvena iki 2 metų. Biotermiškai apdorojant mėšlą jis žūva per 30 dienų. Inkubacinis periodas gali užsitęsti net iki trijų mėnesių, nors paprastai trunka nuo vienos iki trijų savaičių. Virusas gali plisti tiek tiesioginiu, tiek netiesioginiu būdu, per kraujasiurbius vabzdžius. Visgi pagrindinis užsikrėtimo šaltinis yra sergantys gyvuliai (10,13). Ypatingai pavojingi yra ūmia forma sergantys ir tai lemia didesnę tikimybę ligos plitimui tam tikroje zonoje ar net už jos ribų (10). Platinti gali ir latentine forma sergantys gyvuliai iš kurių organizmo virusas yra išskiriamas iki jų gaišimo. Ūmia ar lėtine liga sergančių vienakanopių ekskretai ir sekretai gali užteršti pašarus, vandenį ir tai gali būti dar vienu veiksniu infekcijos plitimui (17). Virusas gali būti pernešamas į sveikų gyvulių organizmą per odą ar gleivines mechaniškai vabzdžių, kurie turi kandamąjį maitinimosi aparatą. Dažniausiai pasitaikantys yra *Tabanus spp., Stomoxys calcitrans* (šį vabzdį liaudiškai Lietuvoje vadina "arklidžių musė"), *Hybomitra spp.* (liaudiškas atitikmuo arklinė musė, bimbalas ar gylys). Gali persiduoti ir jatrogeniniu būdu, per užkrėstų gyvūnų krauju suteptus švirkštus, adatas ar chirurginius

instrumentus, perpilant infekuotų gyvulių kraują. Retai, tačiau pasitaiko transplacentinio perdavimo atvejų, kada kumelei pasireiškia klinika nėštumo eigoje (6,14).

Užkrečiama infekcinė liga dažniau plinta šiltuoju sezono metu ir tose apylinkėse, regionuose kur drėgna, daug miškų ar pelkių. Tokiose vietovėse auga žolės, turinčios labai mažą kiekį mineralinių medžiagų, todėl net vasaros metu arkliai negauna visaverčio pašaro. Taip atsiranda karotino, kalcio ir fosforo stygius ir mažėja gyvulių rezistentiškumas (20).

1.1.2. Patogenezė

Arklių infekcinės anemijos virusas į vienakanopių gyvulių organizmą dažniausiai patenka parenteraliai. Patenka ir įsiskverbia į visus audinius bei organus, tačiau dažniausiai lokalizuojasi kraujyje ir kaulų čiulpuose taip paveikdamas imuninę sistemą (16).Gali sukelti įvairias klinikines ir patologines anomalijas dėl viruso dauginimosi ir jo sukeliamo dirginimo. Jos apima kraujavimą, apatiją, trombocitopeniją, splenomegaliją, limfadenopatiją, svorio kritimą ir dar daugybę pažeidimų (13).

Ūmios stadijos metu ypatingai būna apimta blužnis, taip pat infekuojamos kepenys, limfiniai mazgai, kaulų čiulpai, periferinio kraujo vienbranduolinės ląstelės, plaučiai, antinkščiai, inkstai ir netgi smegenys. Gali būti pažeidžiamos ir endotelinės ląstelės (13).

Patogenezėje labai svarbus veiksnys – imuninis atsakas, kadangi būtent jis leidžia pamatyti ligos plitimą ir jos tolimesnį vystymąsi. Šio veiksnio įtakoje susidaro imuniniai kompleksai svarbūs imunopatogenezėje. Makrofagai paveikti infekcinės arklių anemijos viruso skatina skirtis TNF alfa, interliaukiną 1 (IL-1) ir interliaukiną 6 (IL-6). Šiems cirkuliuojant greičiau prasideda karščiavimas, letargija, įsivysto ūmi, pastebima ligos forma (13).

Kartais būna atliekami kaulų čiulpų punktatų tyrimai, kurie parodo, kad pagrindinis ir svarbiausias infekcijos požymis – anemija, įsivystanti dėl eritrolizės ir eritripoezės nusilpimo (11).

1.1.3. Klinikiniai požymiai

Inkubacinis ligos periodas trunka nuo vienos savaitės iki 45 dienų ar dar ilgiau. Infekcinė anemija gali būti žaibiška, ūmi ar lėtinė (18). Gyvuliai turintys stiprų imunitetą gali visą gyvenimą būti besimptominėje ligos formoje ir platinti užkratą – slapta eiga (6). Pagrindiniai simptomai leidžiantys atpažinti susirgimą yra karščiavimas, silpnumas, liesėjimas, širdies veiklos sutrikimas ir anemija (20).

Infekcijai pasireiškus žaibiškai bendra gyvulio būsena būna labai sunki, jis sunkiai juda, paraližuojamos galūnės, dažniausiai galinės. Būdinga asfiksija, staigus širdies veiklos sutrikimas,

karščiavimas, kraujuojantys gleivinių uždegimai skrandyje ir plonajame žarnyne (15,19). Gaišta per kelias valandas ar po vieną, dvi dienas trukusios agonijos.

Ūmi infekcija prasideda į kraują patekus pavojingai ir virulentiškai viruso padermei ir greitai ją išnešiojus po organizmą. Viremija, apatija ar padidėjas jaudrumas, staigiai kylanti temperatūra iki $+41^0$C ir dar daugiau, gleivinių hiperemija (11). Ypač būdinga kraujosrūva atsiradusi trečiajame voke. Silpsta širdies veikla, atsiranda aritmijos, dėl to apatinėse kojų dalyse išsivysto edema. Iš nosies gali tekėti kraujas, prasideda kraujingas viduriavimas. Gyvuliai pradeda diegliuoti, kas dar labiau apsunkina situaciją ir gali sukelti nebūdingų komplikacijų (pvz: skrandžio apsisukimas, trūkimas). Apetitas nesumažėjęs, tačiau arklys vis tiek liesėja. Šia forma sirgti gali net iki vieno mėnesio (11, 21).

Lėtinė forma. Būdingiausias skirtumas yra periodinis, nepastovus karščiavimas su jo remisijomis (21). Kiti požymiai panašūs į anksčiau išvardintus, tik mažiau išreikšti. Jie labiau pastebimi kartu su temperatūros pakilimu. Tokie arkliai greitai pavargsta, pasireiškia raumenų drebėjimas ir dusulys darbo metu, liesėja (17).

Tarp kiekvieno ligos epizodo yra intervalai, kurie gali svyruoti, tai yra nuo 3–5 parų iki savaičių ar mėnesių. Slapta forma segantiems arkliams liga vystosi be klinikinių požymių, tik su nežymiu temperatūros pakilimu kas kelis mėnesius, dėl to šeimininkams labai sunku pastebėti sergantį gyvulį (11). Šia forma sergantys gyvuliai yra patys pavojingiausi greta esančiai bandai, kadangi jie nėra izoliuojami ir laisvai būna su sveikais, platindami sunkią infekcinę ligą (13).

1.1.4.Patologoanatominiai pakitimai

Arkliams, sirgusiems ūmia ligos forma, aptinkama padidėjusi blužnis ir kepenys, generalizuota limfadenopatija, gleivinių ir parenchiminių organų pakraujavimai, trombozės kraujagyslėse. Gyvuliams su neurologiniais sutrikimais aptinkamas meningitas, encefalitas, limfocitų infiltracija smegenyse. Lėtine forma sirgusiųjų blužnis taip pat padidėjusi, pjūvyje matomi pilkšvi grūdeliai, kepenys skiltėtos, sumažėjusi jų apimtis (13, 19).

1.1.5. Diagnozavimas

Infekciją diagnozuoti galima, kai pastebimi ūmios ar lėtinės ligos požymiai. Tuomet gyvulys yra tiriamas kliniškai: aptinkamas karščiavimas, petechijos, edema pilve ir galūnėse, arklys būna apatiškas, ar padidinto jaudrumo, išliesėjas (10). Ne visuomet klinika yra specifinė ir ne visuomet gali pasireikšti, todėl tirti reikia nuodugniai. Remiamasi epizootologiniais duomenimis, labaratoriniais tyrimais, jei gyvūnas gaišta – patologoanatominiais ir patologohistologiniais pakitimais vidaus organuose (18).

Labaratorijose tiriami kraujo serumo mėginiai imunodifūzija agaro gelyje (IDAG) arba Koginso testu (Coggins testas) ir imunofermentinės analizės metodu (IFA) (7, 13, 14).

1.1.6. Prevencija

Nuo infekcinės arklių anemijos nėra jokių konkrečių terapinių priemonių, kurios galėtų pagelbėti. Nuo AIA arkliai nevakcinuojami (13,19). Gyvuliams galima būtų taikyti palaikomąją terapija, kuri apimtų streso mažinimą, nesteroidinių priešuždegiminių vaistų naudojimą, hidroterapiją edemai mažinti ir kt. Kortikosteroidai yra kontraindikuotini, nes gali sukelti viremiją (13).

Geriausias būdas sergančius arklius likviduoti. Arkliai, kurie turėjo kontaktą su užsikrėtusiais arkliais, yra izoliuojami ir tiriami. Sportiniai ir poilsiui naudojami arkliai gali būti labai brangūs, todėl jų likvidavimas atneša didelius ekonominius nuostolius (8).

Būtinai turi būti atliekami serologiniai tyrimai kai arkliai: importuojami, dalyvauja varžybose ar parodose, keičiasi savininkas. Gavus teigiamą rezultatą yra privalomas patvirtinamasis testas, o arklys karantinuojamas (13). Kiti buvę apie 200 m atstumu nuo sergančiojo, taip pat karantinuojami (19).

1.2. Leptospirozė

Leptospirozė – bakterinė liga, plačiai išplitusi visame pasaulyje. Ji sukelia sunkias, gyvybei pavojingas komplikacijas, pažeisdama inkstus, kepenis, plaučius, širdį ar smegenis. Kelia pavojų gyvūnams, jų savininkams ir veterinarijos gydytojams atliekantiems chirurgines procedūras (24, 27, 29).

1.2.1. Etiologija/epidemiologija

Ligą sukelia bakterija, kuri priklauso *Leptospiraceae* šeimai, *Leptospira* genčiai. Pati gentis yra padalinta į 20 rūšių pagal DNR hibridizaciją: patogeninės – sukeliančios užkrečiamąją ligą gyvuliams ir žmonėms, oportunistinės ir nepatogeninės leptospiros (22). Tai judrios, plonytės, spiralinės lazdelės užlenktos vienu arba abiem galais, anaerobai galintys ilgą laiką išgyventi vandenyje. Dėl savo formos, panašios į klaustuką, 1907m. buvo pavadinta *Spirochaeta interrogans* (13). Patogeninės leptospiros atvirų vandens telkinių vandenyje išsilaiko iki 30 dienų ir ilgiau, drėgnoje dirvoje–280 dienų, maisto produktuose–2 dienas, nežūsta šaltyje. Patogeninės leptospiros jautrios tiesioginiams saulės spinduliams, aukštai temperatūrai (45^0C žūsta per 45 min., 70^0C–per 10 sek.), jautrios įvairioms dezinfekcinėms medžiagoms, rūgščiai terpei (23).

Paplitusi daugiau tose vietovėse, kuriose gerai išvystyta gyvulininkystė. Gyvuliai serga ir Lietuvoje (9). Ligos rezervuaras – graužikai, kiaulės, galvijai ir arkliai. Nors sukėlėjai laikiniems šeimininkas paprastai nebūna pavojingi, dėl jų mažo jautrumo, tačiau naujausiais duomenimis yra įrodyta, kad *L. interogans* arkliams, kaip ir galvijams ar kiaulėms gali sukelti susirgimą (26).

Infekcijos šaltinis – užsikrėtę laukiniai ir naminiai gyvūnai, kurie gali išskirti leptospiras į aplinką nuolatos arba su pertraukomis. Sveiki arkliai užsikrėsti gali netiesiogiai, kontaktuodami su užterštu pašaru, vandeniu ar dirva, kurie buvo užteršti sergančio gyvūno šlapimu, kitais kūno skysčiais (23). Šlapimas yra vienas iš pavojingiausiu todėl, kad lėtinės ar slaptos formos metu dauguma bakterijų slypi inkstų kanalėliuose. Leptospiros patekusios kartu su maistu, prasiskverbia pro burnos, ryklės, stemplės gleivinę. Tiesiogiai užsikrėsti galima per žaizdas. Katės, šunys, žiurkės, voverės, meškėnai gali sirgti slapta ligos forma. Ypatingą pavojų, šioje situacijoje kelia infekuotos žiurkės, kadangi gali migruoti nemenkais atstumais taip platindamos infekciją. Dažnai užkrečia stovinčio vandens telkinius (29).

1.2.2. Patogenezė

Įprastai leptospiros į organizmą patenka per lengvai pažeistos odos ar gleivinės epitelį. Kartais gali patekti jų įkvėpus, nurijus ar įkandus užsikretusiam gyvūnui (31). Susirgimas, kaip ir visų infekcinių ligų priklauso, nuo patekusių bakterijų kiekio, jų virulentiškumo ir arklio jautrumo šiai ligai. Penetracijos būdu patekę sukėlėjai dauginasi smulkių kraujagyslių endotelyje, jį pažeidžia ir patenka į kraujo apytakos ratą sukeldami diseminaciją. Paprastai bakteriemija prasideda 4 – 10 dienų po patekimo į oraganizmą. Bet kuris organas ar audinys gali būti pažeisti leptospirų endotoksinų, hemolizino bei lipazių (13).

Pažeidžiamos kepenys, inkstai, blužnis, lyties organai, pieno liauka, centrinė nervų sistema (CNS). Dėl pastarosios sutrinka daugumos organų normalios funkcijos. Pas kumelingas kumeles bakterija gali lokalizuotis gimdoje, placentoje ar net pačiame vaisiuje, ko pasėkoje įvyksta abortas. Tikslūs mechanizmai nėra visiškai aiškūs. Vienas būdingiausių pažeidimų yra sisteminis vaskulitas dėl endotelio pažeidimo, sutrikdomas audinių vientisumas, vystosi išemija ir nekrozė. Pasireiškia įvairiausi klinikiniai požymiai, kurie priklauso nuo audinių pažeidimo ir pačios infekcijos sunkumo (23).

Pirmą ligos savaitę leptospirų galima rasti smegenų skystyje, o antrąją – akies junginėje, tačiau uždegiminius pokyčius centrinėje nervų sistemoje, akyse ir inkstuose nuo antros savaitės dažniausiai lemia autoimuninis atsakas ir antigenų-antikūnų kompleksų susidarymas. Yra įrodymų, kad autoimuninė sistema gali vaidinti svarbų vaidmenį leptospirozės patogenezėje (23).

1.2.3. Klinikiniai požymiai

Arkliams leptospirozė labiausiai siejasi su abortu, apimančiu inkstų, kepenų pažeidimus ir pasikartojančiu uveitu, kitaip vadinamu „mėnuliniu aklumu“ (25). Pavieniais atvejais pasitaiko ir kaip sisteminis susirgimas. Inkubacinis periodas dažniausiai būna 7 – 9 dienos, retais atvejais gali pasitaikyti iki mėnesio. Gali sirgti žaibine, ūmine, poūme, lėtine ar atipine infekcijos forma.

Žaibinė forma pasireiškia staigiu temperatūros šuoliu iki 41^0C. Karščiavimą lydi visiškas apetito netekimas, apatija ir gelta. Nugaros raumenų virpėjimas ir skausmingumas, šlapimas gali būti šviesiai rudos spalvos. Taip kankintis arkliai gali iki 3 parų, bet galiausiai gaišta (26).

Sergant ūmia forma temperatūra būna apie 39^0C, todėl arkliai mažiau prakaituoja. Išlieka raumenų skausmingumas, gelta, o šlapimo spalva būna nuo tamsiai geltonos iki ryškiai raudonos. Jei arklys praeina ūmią ir poūmią ligos formas, prasideda lėtinė eiga. Jos metu gyvuliai būna apatiški, silpni, išliesėja, gleivinės anemiškos. Taip gali tęstis ilgiau nei metus (29).

Uveitas jau seniai priimtas, kaip sunkios leptospirozės eigos padarinys tiek arkliams, tiek ir žmonėms (žr. 2 pav.). Akies kraujagyslinio dangalo uždegimas buvo pastebėtas natūraliai užsikrėtusiems arkliams ir laboratorinio eksperimento metu su leptospiromis. Gali formuotis miozė, baimė šviesai, keratitas, katarakta, pakisti rainelės spalva, o galiausiai aklumas. Nors tai labai būdingas simptomas ligai, tačiau vien juo pasikliauti negalima (13).



***2 pav**. Uveitas – būdingas leptospirozės bruožas, bet vien pagal jį diagnozuoti sunku (Courtesy Dr. Brian Gilger) (13)*

Patekęs sukėlėjas gali sukelti reprodukcinių organų sutrikimus. Kumelingumo metu kyla grėsmė, nes kumelė gali abortuotis, pats vaisius rezorbuotis, gimti labai silpnas ar negyvas. Taip dažniausiai nutinka viduriniuoju arba vėlyvuoju kumelingumo metu (28).

1.2.4. Patologoanatominiai pakitimai

Leptospirozė pasižymi vaskulitu su endotelio pažeidimais ir uždegiminiu infiltratu sudarytu iš plazminių ląstelių, monocitų, neutrofilų ir kt. Pažeidimai odoje, gleivinėje opelės, gelta, plaučių hemoragija, inkstų edema, glomerulonefritas. Kepenys ir limfiniai mazgai padidėję, margi. Ant pilvaplėvės, taukinės ir organų randamos taškinės kraujosrūvos (28). Kraujas nesukrešėjęs ir skystas. Aborto atveju randami pažeidimai gimdoje. Nekrozė, cistiniai dariniai, gleivingas eksudatas. Alantojo hiperplazija, gaurelių nekrozė ir kalcifikacija. Kartais randami negyvi ir neišsivystę kumeliukai (30).

1.2.5. Diagnozavimas

Laboratorinė diagnozė gali būti labai sudėtinga ir apimti net keletą etapų, tam kad tiksliai nustatyti sukėlėją. Ūmios ligos atveju daug ką pasako klinikiniai simptomai, tačiau ir šioje situacijoje vien jais pasikliauti jokiu būdu negalima (23). Diagnostikoje yra naudojamas mikroskopinis tyrimas, kultivavimas, biologinis tyrimas (kai į gyvo organizmo, šiuo atveju žiurkėno, pilvo ertmę suleidžiamas atitinkamas kiekis užkrėsto šlapimo ar plazmos) (22), serologinis testas (mikroagliutinacijos reakcija naudojant gyvas leptospirų kultūras tam, kad nustatyti antikūnus prieš atskiras serologines grupes ir IFA metodas), nukleinorūgščių indikavimas, patologinės histologijos ir anatomijos tyrimas (24,31). Tiriamoji medžiaga gali būti: kraujas, kraujo serumas, šlapimas, likvoras ar parenchiminių organų mėginiai (23).

1.2.6. Gydymas

Gydymas priklausomai nuo ligos sudėtingumo ir formos, klinikinių požymių pasireiškimo. Specifinė antimikrobinė terapija yra taikoma priklausomai nuo paciento ir pačio sukėlėjo jautrumo antibiotikui. Vaistas skirtingai gali veikti ūmia ir lėtine liga sergančius (13). Gydymui gali būti naudojami šie antibiotikai: penicilinas, ampicilinas, eritromicinas, amoksicilinas. Tyrimais *in vitro* buvo įrodytas ir jautrumas streptomicinui bei tetraciklinui (25). Visais atvėjais arkliams yra reikalingas papildomas simptominis gydymas (skysčių infuzijos į veną dėl elektrolitų disbalanso, furozemidas, skausmą ir karščiavimą mažinantys preparatai, kt.). Pasireiškus uveitui yra naudojami priešuždegiminiai vaistai. Gydymas turėtų būti vykdomas ne mažiau kaip savaitę.

1.2.7. Prevencija

Naujai atvežti gyvuliai turėtų būti karantinuojami, sergantys neįleidžiami į ūkį, žirgyną. Reikia kontroliuoti galimus infekcijos šaltinius, perdavimo veiksnius ir apribotoje teritorijoje. Susirgę turi būti

izoliuojami, o patalpos valomos ir dezinfekuojamos. Sveiki privalomai vakcinuojami (31). Naikinti žiurkes, peles, tikrinti stovinčius vandens telkinius ir pašarus, ūkiniuose ir gamybiniuose pastatuose palaikyti gerą higieninę būklę. Tinkamai ir laiku tvarkomi gardai, o mėšlas biotermiškai nukenksminamas. Jei arklys sužeistas, tai žaizda privalo būti deramai sutvarkoma, kad nebūtų palankių sąlygų pro ją patekti infekcijai. Leptospirozė turėtų būti kontroliuojama tarp laukinių ir naminių gyvūnų (23).

1.3. Įnosės

Įnosės – tai užkrečiama liga, kuriai imlūs vienakanopiai gyvuliai. Kitaip žinoma kaip arklių įplautimas *(Malleus).* Apie šį susirgimą jau IV a. p. m. e. rašė Aristotelis (34). Infekcija gali užsikrėsti žmonės, todėl ji yra laikoma zoonoze, bet žmonių infekcija Jungtinėse Valstijose nuo 1945 metų nenustatyta (13). Liga įtraukta į Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacijos (OIE) ligų sąrašą.

1.3.1. Etiologija/epidemiologija

Ligos sukėlėjas – bakterija *Burkholderia mallei (*neseniai pakeista iš *Pseudomonas mallei,* buvo klasifikuojama kaip *Pfeifferella, Loefflerella, Malleomyces* ir *Actinobacillus).* Bakterija priklauso *Pseudomonaceae* šeimai (34). Pseudomonas yra gramneigiamos, nejudrios lazdelės, kurios turi žiuželius ir piles. Terpėms nereiklūs, griežti aerobai. Sporų nesudaro. Gamina pigmentus, kurie gali būti naudingi atskiriant pseudomonas nuo kitų bakterijų (37). Pseudomonų patogeniškumą lemia egzotoksinų, endotoksinų, citotoksinų ir hemolizinų sintezė, pilės polisacharidai, neutralioji proteazė, proteazė II (elastazė), proteazė III (šarminė fosfatazė) (22).

Įnosės yra nustatomos Afrikoje, Azijoje, Viduriniuose Rytuose, Centrinėje ir Pietų Amerikoje. Liga Lietuvoje nebuvo nustatyta (9).

Ligos šaltinis yra jau sergantys gyvuliai. Bakterijas jie platina su nosies išskyromis kosėdami, taip pat per pažeistus audinius, kumelės gali užsikrėsti kergimo metu nuo eržilo. Nors įnosėmis kartais gali užsikrėsti katės, šunys, kupranugariai, ožkos ar avys, tačiau pagrindiniai šeimininkai yra arkliai, asilai ir mulai (35,36). Kaip pavyzdys galėtų būti laukiniai liūtai, kurie užsikrečia suėsdami užkrėstą mėsą. Graužikai gali būti užkrėsti eksperimento metu laboratorijose,iš jų jautriausios jūros kiaulytės. Žmonės užsikrečia aerogeniniu keliu, nuo sergančių gyvulių. Nustatyta, kad patys pavojingiausi yra lėtine ligos forma sergantys ir nuolat mikrobus išskiriantys arkliai. Kiaulės ir galvijai – atsparūs susirgimui (13).

1.3.2. Patogenezė

Bakterijos į organizmą patenka per pažeistą odą (kai joje yra žaizda, sutrikdytas audinių vientisumas), gleivinę. Gali būti įkvėpta per viršutinius kvėpavimo takus, praryta su ištakomis užterštu vandeniu ar pašaru(13).

Patekusi į vidų bakterija prasiskverbia į kraujotakos ir limfos sistemas. Galiausiai kraujas ir limfa jas išnešioja po vidaus organus (36). Infekcinio proceso metu labiausiai pažeidžiami plaučiai, oda ir gleivinės, pro kurias vyksta bakterijos plitimas. Pastebimai pažeistos gali būti kepenys, blužnis ir inkstai. Sukėlėjo lokalizacijos vietoje prasideda proliferaciniai uždegimai. Uždegimo vieta infiltruojama uždegiminių ląstelių, tokių kaip gigantinės ląstelės, makrofagai. Susidaro uždegiminiai židiniai, kurie pažeidimo vietoje formuoja kalkėjančius mazgelius. Jei šioje stadijoje neįvyksta inkapsuliacija, procesas plinta apimdamas vis naujus, sveikus audinius ir bakterijų toksinais nuodija organizmą (37).

Nesugebėjimas visiškai apibūdinti *B. mallei* virulentiškumo ir patogeninių mechanizmų trukdo plėtotis medicininiams veiksniams prieš infekciją (34,38).

1.3.3. Klinikiniai požymiai

Inkubacinis laikotarpis trunka nuo 3 dienų iki mėnesio laiko. Po jo dažniausiai pasireiškia karščiavimas iki 42^0C, septicemija, liesėjimas, apatiškumas ir kiti ligos formoms būdingi simptomai. Arkliai gali sirgti ūmia ar lėtine infekcija. O pagal tai kurioje vietoje lokalizuojasi pažeidimai būna plaučių, nosies ir odos formos (33,35).

Ūmi ligos forma daugiau pasitaiko asilams, nei arkliams. Gyvuliai būna apatiški, neėda ir liesėja, prakaituoja, pasireiškia raumenų, nugaros skausmai. Stiprus kosulys, ištakos iš šnervių, kurios ilgai užsitęsus gali būti kraujingos. Sergant gali pasireikšti odos, plaučių ir nosies formos vienu metu visos arba atskirai (13, 37).

Nosies formos metu vystosi mazgeliai gleivinėje, ant pertvarų. Ilgainiui jie perauga į pūliuojančias opeles, kurių negydant susiformuoja žaizda. Gilėdamos ir pūliuodamos opos gali užkimšti burną su rykle, ko pasėkoje arkliui sunku kvėpuoti, jis pradeda dusti. Gyjant formuojasi randai, kurie būna būdingos žvaigždelės formos (33).

Plaučių formos atveju, juose randami įvairaus dydžio mazgeliai. Jų formavimasis vyksta pakankamai lėtai, dėl to dažnai gali būti nepastebima patologija. Jei liga plėtojasi ūmiai ir gyvulys yra labai jautrus, pažeidimai apima visą plaučių audinį, išsivysto pneumonija, bronchopneumonija. Mazgeliuose esantis turinys patenka į bronchus, juos dirgina ir sukelia šlapią kosėjimą (36).

Odos formos metu mazgeliai formuojasi joje, išilgai limfos tėkmei (žr. 3 pav.) (13,35). Vėliau mazgeliai plinta, perauga į opas, kurios savo išvaizda primena „kraterius“ (41). Lipnūs pūliai suteršia ir sulipdo kailį. Poodiniai audiniai sutinsta, skausmingi. Greta esantys limfiniai mazgai padidėja, nepaslankūs, taip pat skausmingi. Pažeidimai daugiau pasitaiko galūnių srityje (13).

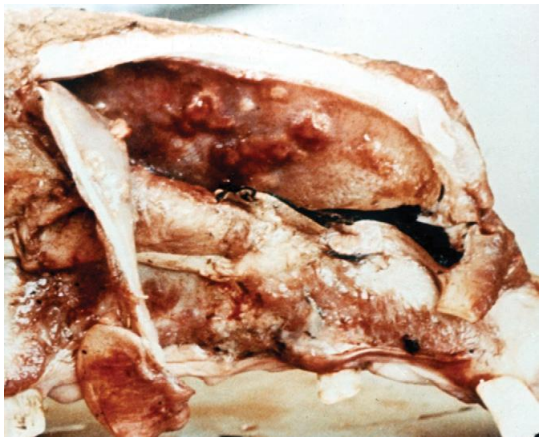


3 pav. *Įnosėms būdingos ištinusios odos limfagyslės (13)*

Lėtinės fazės metu klinikiniai požymiai yra panašūs į ūmios formos, tik mažiau išreikšti. Arkliams infekcija gali užsitęsti iki kelerių metų ir recidyvuoti (39).

1.3.4. Patologoanatominiai pakitimai

Patologinių pakitimų galima rasti tiek ūmia, tiek lėtine ligos forma sirgusiems arkliams, skiriasi tik jų pasireiškimo stiprumas. Mazgeliai, pūliuojančios opos ar jau susiformavę randai dažniausiai randami plaučiuose, nosies gleivinėje ar krūtinės, pilvo ventralinėje sienose, galūnėse ir išsidėstę prie limfagyslių. (41). Kepenyse ir blužnyje taip pat galima rasti mazgelinių pakitimų. Mazgeliai gali būti skaidrūs arba viduje pilni drumstos gelsvos masės. Lėtinio susirgimo metu gali inkapsuliuotis, sukalkėti. Būdingas bruožas – nosies ertmėje žvaigždelės formos randai (žr. 4 pav.). Histologiškai galima pastebėti trombozę, vaskulitą, uždegiminių ląstelių infiltracijas (13).



***4 pav**. Granuliomos ir opos (žvaigždės formos randai) nosies pertvaroje (13)*

1.3.5. Diagnozavimas

Diagnozuojant, ligą sukeliančias bakterijas reikia atskirti nuo kitų infekcinių ligų sukėlėjų, *Streptococcus, Rhodococcus,Pasteurella,* arba *Mannheimia*. Patvirtinimui privalu remtis ne vienu tyrimu, o esant reikalui tą patį bandymą pakartoti. Kreipiamas dėmesys į anamnezės duomenimis, klinikinius simptomus, laboratorinius tyrimus, patologinius anatominius ir histologinius tyrimus (39, 40). Diagnozė nustatoma:

- Serologiniais testais. Arkliai skirti tarptautiniai prekybai turi būti tiriami komplemento sujungimo testu *(KS).* Komplemento sujungimo testu aptinkami specifiniai *Burkholderia mallei* antikūnai. Taip pat gali naudojamas imunofermentinis metodas (35, 40).
- Akių, poodinė ir odos reakcijos. Tam tikra maleino koncentracija suleidžiama po oda ir stebimi simptomų pasireiškimai. Jeigu rezultatai nėra aiškūs maleinas lašinamas į akis ir laukiami pasikeitimai (37, 40).
- Sukėlėjų nustatymas tepinėlius dažant Gramo būdu ir metileno mėlynuoju. Rezultatai tikrinami naudojant elektroninius mikroskopus (41).
- Užkrečiant laboratorinius gyvūnėlius (jūros kiaulytes, žiurkėnus) į pilvo ertmę suleidus įtariamos medžiagos ir stebint klinikinius pokyčius (41).

1.3.6. Gydymas ir ligos likvidavimo priemonės

Vakcinos nuo arklių įnosių nėra (32). Tam, kad nekiltų naujų ligos protrūkių visi naujai įvežti arkliai privalo praeiti 30 dienų karantinavimo laikotarpį. Turi būti ištirti serologiniu, alerginiu būdu. Jei susirgimas buvo aptiktas pačiame ūkyje, sergantys arkliai izoliuojami ir eutanazuojami. Ūkis uždaromas, jam skelbiamas karantinas. Patalpos dezinfekuojamos cheminėmis, mechaninėmis

priemonėmis, mėšlas apdorojamas biotermiškai (41). Darbuotojai dirbantys tose patalpose ir laboratorijose privalo laikytis higienos, saugumo priemonių, nes tai zoonozinis susirgimas pavojingas žmonėms (40).

1.4. Kergimo liga

Viena iš dažniausiai pasitaikančių arklių venerinių ligų – kergimo liga. OIE šį susirgimą apibūdino taip: lėtinė arba ūminė užkrečiama vienakanopių liga, tiesiogiai perduodama nuo gyvūno gyvūnui, lytinio akto metu (47).

1.4.1. Etiologija/epidemiologija

Tripanosomos – tai *Sarcomastigophora* pobūrio *Mastigophora* klasės pirmuonys, galintys sukelti gyvulių ir žmonių parazitozes. Tai pailgo kūno su smailėjančiais galais vienaląsčiai organizmai, kurie iš išorės padengti citoplazmine membrana. Dauginasi paprastuoju nelytiniu dalijimosi būdu. Arklių kergimo ligą sukelia parazitas *Trypanosoma equiperdum*, 22 - 28 µm ilgio ir 1,4 - 2,6 µm pločio, aplinkoje jis greitai žūsta (42).

Pagrindiniai šeimininkai yra arklinių šeimos atstovai arkliai, asilai ir mulai (44). Liga perduodama lytiniu keliu (eržilas kumelei arba atvirkščiai) nuo eržilo penio gleivinio skysčio, sėklinio skysčio ir kumelės makšties išskyrų. Sergančios, kumelingos patelės gali perduoti sukėlėją jaunikliui. Šunys, triušiai, žiurkės ir pelės gali būti užkrėsti laboratorijose, eksperimento metu (47). Atrajotojai susirgimui nejautrūs (46).

Kergimo liga buvo plačiai paplitusi šalyse, tačiau griežti veisimo apribojimai ir tobulėjantys tyrimai situaciją pakeitė. Dabar liga paplitusi ribotai Europoje, Pietų Amerikoje, Afrikoje ir Azijoje. Niekada nenustatyta Ramiojo vandenyno regione. Lietuvoje gali pasitaikyti pavieniai atvejai. Liga yra įtraukta į Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacijos (OIE) ligų sąrašą (47).

1.4.2. Patogenezė

Tripanosomos yra perduodamos tiesioginio kontakto būdu, lytinio akto metu. Taip pat į organizmą gali patekti per užterštus instrumentus apžiūrint lytinius organus, atliekant dirbtinį sėklinimą kumelėms, kai sperma yra sergančio eržilo (47).

Patekusios į lytinius takus tripanosomos pradeda vystytis šlapimo ir lytinių organų gleivinėje ir sukelia jos uždegimą. Vėliau jos patenka į kraują ir nukeliauja į vidaus organus (42). Vystosi eržilų šlaplės, o patelių makšties gleivinėje. Pirmuonys pažeidžia kraujagysles ir suardo eritrocitus išskirdami

toksinus – tripanotoksinus. Taip lokalizacijos vietose tripanosomos sukelia infekciją ir edemą. Periferiniame kraujyje jų aptinkama labai nedaug, kadangi čia juos sunaikina fagocitai, o esantys vidaus organuose dalijasi ir plinta infekuodami organizmą. Įvairiose kūno vietose pradeda atsirasti edeminės dėmeles. *Trypanosoma equiperdum* nuo kitų tripanosomų rūšių skiriasi būtent tuo, kad yra audinių parazitas ir kraujyje aptinkamas retai(48).

1.4.3. Klinikiniai požymiai

Inkubacinis ligos periodas svyruoja nuo 1 – 4 savaičių iki 3 mėnesių, gali plisti sporadiškai. Susirgus gali užsitęsti nuo kelių savaičių, mėnesių ar metų, todėl yra suskirstyta į 3 ligos stadijas. Stadijos skiriasi klinikiniais simptomais, pakitimais ir paties arklio savijauta. Kartais liga gali turėti tik vieną stadiją ir jai būdingus požymius. Kartais požymių visai nėra, tokie gyvuliai pavojingi ir slapta platina sukėlėją (44).

Klasikinės ligos stadijos – edeminė, dilgėlinė (odos) ir paralyžinė. Dažniausiai jos eina laipsniškai, prastėjant gyvulio būklei (49).

Pirmoji arba edeminė stadija. Pasirodo bespalvės ar gelsvos gleivingos išskyros iš šlaplės, makšties. Pasikartojantis karščiavimas, neskausminga edema apie papilvę. Pagrindiniai požymiai eržilams yra tynis, edema varpos, kapšelio, prepucijaus srityse ir aplinkiniuose audiniuose, parafimozė. Kumelėms edema vulvos srityje, apima ir tarpvietę, tešmenį. Apie lytinius organus formuojasi žaizdelės, kurios vėliau susilieja ir suformuoja šlapiuojančias opas, o joms užgijus lieka randai (49, 50).

Antroji arba dilgėlinės stadija. Atsiranda 2 – 13 cm patinimai, primenantys monetas (žr. 5 pav.). Daugiausia plinta ant kaklo, krūtinės, juosmens ir pilvo odos. Tyniai išlieka nuo kelių valandų iki keleto dienų. Toje vietoje oda jautresnė, gyvuliams gali niežtėti (45, 50).



5 pav. *Tipiška monetos formos edema ant užsikrėtusio arklio galinės kojos (45)*

Trečioji arba paralyžinė stadija. Šiuo laikotarpiu pastebimai prastėja arklių savijauta, jie darosi apatiški, netenka apetito ir liesėja. Vangumas pasireiškia dėl paralyžių, koordinacijos nebuvimo. Dažnai paralyžiuojamas snukis, ypatingai viena jo pusė (persikreipia lūpos, nulinksta ausis), tada galinės kojos, o galiausiai ir priekinės. Tada gyvulys nebeatsistoja, greitai atsiranda pragulų ir gaišta (45, 49).

1.4.4. Patologoanatominiai pakitimai

Gali būti įvairūs: edema lytiniuose organuose ir aplinkiniuose audiniuose, tyniai odoje, anemija, padidėję, minkšti ar net hemoraginiai limfiniai mazgai, hidrotoraksas, ascitas, hidroperikardas. Gali būti suminkštėjusios stuburo smegenys, gyvūnas išliesėjęs, atsiranda pragulos (48). Opelės ant vulvos, makšties gleivinės, gimdos, šlapimo pūslės, ir pieno liaukų. Sėklidės gali būti įtrauktos, neatpažįstamos, primenančios sklerotinį audinį (13, 50).

1.4.5. Diagnozavimas

Kadangi arklių kergimo ligos sukėlėjas yra panašus į kitas tripanosomas, tokias kaip *T. brucei* ir *T. evansi,* susirgimas, prieš pateikiant detalias išvadas, turi būti diagnozuojamas pagal anamnezės duomenis, klinikinius požymius, patologinius pokyčius ir laboratorijoje atliekamus tyrimus: sukėlėjo identifikavimas iš patologinės medžiagos, serologinis tyrimas – komplemento sujungimo testas (KS), imunofermentinė analizė (IFA) (13, 47, 48).

Periferiniame kraujyje tripanosomų nebūna, todėl mikroskopiniam tyrimui imama lytinių organų išskyrų. Mėginį reikia imti panašiu į šaukštelį steriliu įrankiu arba steriliu objektiniu stikleliu taip, kad jame būtų kraujo pėdsakų. Iš gautos medžiagos ruošiami tepinėliai „spausto lašo“ būdu (42).

Atliekami molekuliniai tyrimai, kuriais pagal genetinius žymenis galima atskirti panašius klinikinius simptomus sukeliančius *T. equiperdum* nuo *T. evansi.* Imunofermentinės analizės metodas taip pat naudojamas *Trypanosoma equiperdum* sukeltai kergimo ligai diagnozuoti (43, 48, 51). Tyrimo metodai tobulinami iki šių dienų.

Atvejis laikomas patvirtintu kai:

- yra būdingi klinikiniai simptomai;
- serologinių tyrimų rezultatai teigiami, pakartotinai daryti 15 – 20 dienų intervale taip pat teigiami;
- atliktas tikslus epidemiologinis tyrimas (48).

1.4.6. Gydymas ir likvidavimo priemonės

Vakcinos nuo tripanosomų sukeliamos kergimo ligos nėra (47,49). Norint išvengti ligos plitimo, reikia vykdyti sistemingą arklių selekciją. Venerinių ligų svarbiausia prevencijos priemonė – kontroliuoti natūralų kumelių ir eržilų poravimąsi. Tuo tikslu tiriamas visų žirgų esančių ūkyje periferinis kraujas, kuriame sukėlėjo neturi būti, jeigu gyvulys yra sveikas. Bet kuri endeminė neištirta teritorija turi būti izoliuojama, o arkliai tiriami serologiškai. Visi užsikrėtę ir serologiškai teigiami reagavę eutanizuojami (45).

Jeigu susirgimas patvirtinamas, tai privalo būti sustabdyti visi veisimo būdai (natūralūs ir dirbtiniai). Pranešama savininkams, kurie buvo ūkyje ir išvyko, spermos gavėjams ir Nacionalinei veislininkystės asociacijai (45, 48).

Patalpose privaloma laikytis higienos reikalavimų, dezinfekuoti patalpas pradedant nuo arklidžių, baigiant visais joje esančiais daiktais. Dezinfekuoti galima cheminėmis medžiagomis arba karščiu 50 – 60^0C. Griežtai negalima naudoti tų pačių veterinarinių įrankių apžiūrint arklius, juos taip pat reikia dezinfekuoti (47, 50).

Buvo bandyta gydyti, tačiau nustatyta, kad arkliai gali likti ligos nešiotojais ir toliau platinti pirmuonis. Geriausia ligos likvidavimo priemonė – sergančių skerdimas (13).

2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA

Tiriamasis darbas atliktas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos Užkrečiamųjų ligų katedroje ir Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto Serologinių tyrimų skyriuje, įsikūrusiame (J. Kairiūkščio g. 10 Vilnius).

Per laikotarpį nuo 2011 metų iki 2015 metų spalio 21 d. ištirti 18519 arklių kraujo serumo mėginiai. Tyrimams atlikti taikytos standartinės metodikos: arklių infekcinei anemijai taikyti IFA ir IDAG metodai, leptospirozei MA metodas, įnosėms ir kergimo ligai KS metodas.

2.1.Trumpas IFA metodo aprašymas

Reagentai ir medžiagos.

Ligų diagnostikai naudojamas imunofermentinės analizės metodas (7,52). Metodas taikomas arklių serumo mėginių tyrimui rinkiniu " ID. VET Screen ® Equine Infectious Anemia Double Antigen", gamintojas ID. VET innvative diagnostics, Prancūzija. Juoarkliųkraujo serume aptinkami antikūnai.Rinkinio sudėtis:mikroplokštelių baseinai padengti NP rekombinantiniu antigenu, GAG Ag-Po Konjugatas (10x), teigiama/neigiama kontrolė, skiedimo buferis 13 ir 19, plovimo tirpalas (20X), substrato tirpalas, "stop" tirpalas. Naudojamas referentinis Sertifikuotas serumas (Prancūzija).

Procedūra.

1. Suplanuoti darbui skirtą formą, kurioje nurodoma serumų išdėstymo tvarka darbinėje mikroplokštelėje.

2. Prieš atlikimą visi reagentai laikomi kambario temperatūroje. Jie visi homogenizuojami kratytuvu (Vortex).

3. Mėginius skiesti 1/2 skiedimo buferiu 13 (žr. 6 pav.):

- 50 µl skiedimo buferio 13 į kiekvieną mikroplokštelės baseiną;
- 50 µl neigiamos kontrolės A1 ir B1;
- 50 µl teigiamos kontrolės C1 ir D1;
- 50 µl kiekvieno tiriamojo mėginio planuota tvarka.

A	N	5										
B	N	..										
C	T											

N- Neigiama kontrolė
T- Teigiama kontrolė
1 - Mėginys Nr.1
2 - Mėginys Nr.2
3 - .....

D	T											
E	1											
F	2											
G	3											
H	4											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

6 pav. *Kontrolių ir mėginių išpilstymas mikroplokšelėje*

4. Švelniai sukratoma, uždengiama ir inkubuojama 45 min.± 4 min. +21ºC(±5ºC) temperatūroje.

5. Plauti 3 kartus paruoštu plovimo tirpalu po 300 µl. Po paskutinio plovimo plokšteles rūpestingai išsausinti.

6. Konjugatą skiesti 1/10 skiedimo buferiu 19 ir išpilstyti po 100µl.

7. Inkubuoti30 min(± 3 min) kambario +21°C (± 5°C) temperatūroje.

8. Plauti 3 kartus paruoštu plovimo tirpalu.

9. Substratas. Išpilstyti po 100 µl į kiekvieną mikroplokštelės baseiną (sąveikoje su konjugatu keičia spalvą.

10. Inkubuoti (15 ±2) mintamsoje kambario +(21±5) ºC temperatūroje.

11. Išpilstyti po 100 µl „Stop“ tirpalo į kiekvieną mikroplokštelės baseiną (reakcija sustabdoma, atitinkamai spalva keičiasi į geltoną. Spalvinis nusidažymas priklauso nuo specifinių antikūnių kiekio tiriamame pavyzdyje:

- esant antikūniams, mėlynas spalava, po Stop tirpalo pridėjimo tampa geltona.

- nesant antikūniams, nenusidažo.

12. Išmatuoti optinius tankius spektrofotometru 450 nm (OT_{450}) šviesos bangos ilgiu ir gautus duomenis išspausdinti.

Rezultatų interpretavimas. Kiekvienas mėginys apskaičiuojamas formule:

$$M/Tk\% = OT_{\text{mėginio}} - OT\ Nk / OT_{Tk} - OT\ Nk \times 100$$

Rezultatas	Interpretacija
$M/TK \leq 50\%$	Teigiamas
$50\% < M/TK < 60\%$	Abejotinas
$M/TK \geq 60\%$	Neigiamas

Gavus teigiamą IFA metodu rezultatą, gyvūno tyrimas turi būti pakartotas IDAG (Koginso testu) metodu.

2.2.Trumpas IDAG metodo aprašymas

IDAG labai tikslus serologinis testas (53,54). Tiriami kraujo serumo mėginiai imunodifūzija agaro gelyje arba Koginso testu (Coggins testas). Metodas labai specifinis ir tinka identifikavimui, bet kuriai arklių anemijos eigai.

Reagentai ir medžiagos.

Naudojamas diagnostinis rinkinys angl. "Equine Infectious Anemia Antibody Test Kit, EIA-AGID", perkamas iš gamintojo IDEXX, JAV. Rinkinys skirtas naudoti "in vitro" arklių infekcinės anemijos antikūnams nustatyti. Rinkiniu galima atlikti 180 testų. Rinkinio sudėtis: arklių infekcinės anemijos antigenas (1 buteliukas (juodas dangtelis) 3,9 ml), arklių infekcinės anemijos teigiamas serumas (1 buteliukas (raudonas dangtelis) 11,7 ml). Abu reagentai konservuoti natrio azidu. Taip pat reikalingos priemonės, kurios neįeina į rinkinio sudėtį : boro rūgštis (H_3BO_3), natrio šarmas (NaOH), Noble agaras, "Trafaretas-gėlytė"-duobučių darymui agare ir distiliuotas vanduo.

Tirpalai:

1. Paruošti 1 litrą buferio: 2 mg NaOH + 9 mg H_3BO_3 viename lite distiliuoto vandens, pH privesti iki 8,6 ±0,1.

2. Paruošiamas 1% Noble agaras buferio tirpale.

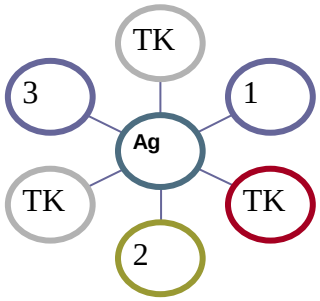
3. Mišinį užvirinti, kad agaras ištirptų arba autoklavuoti 7 minutes. Mikrobangų krosnelėje virinti 3 minutes, bet verdant agarui, daryti pertraukas po 30 sekundžių, kol ištirps agaras.

4. Į 100 mm skermens Petri lėkšteles pilti 15 ml paruošto agaro. Lėkštelės aušinamos 1 valandą kambario temperatūroje, o po to laikomos 2-8ºC temperatūroje.

Procedūra.

1.Tiriami arklių serumo mėginiai. Kontrolės užtikrinimui, galima naudoti *ir* „vidinę" kontrolę. Mėginiai gali būti išdėstomi „gėlytėje" po 3 arba, kitu atveju, po 4.

Pavyzdys 3 mėginių:



2. Lėkštelių paruošimas.

2.1. Baseinai yra 5,3 mm skersmens ir 2,4 mm atstumu vienas nuo kito. Rekomenduojama naudoti septynių baseinų šabloną – centrinį baseiną supa šeši išoriniai baseinai.

2.2. Prieš testo atlikimą su šablonu agare išpjaunami baseinai. Agaras turi būti sustingęs (po laikymo 2-8ºC), o išpjautus agaro gabaliukus išimti adata. Susikaupusi drėgmė pasišalins, kai prieš tyrimą petri plokštelę palaikysite neuždengtą.

3. Serumų ir antigeno išpilstymas.

3.1. Testuojami serumai pilami į kas antrą baseiną. Baseinai užpildomi taip, kad serumų ir antigeno meniskai būtų įlinkę (neperpildykite baseinų, nes gali pasklisti ant agaro paviršiaus).

3.2. Į centrinį baseiną įpilti Antigeną.

3.3. Kitus tris (kas antrą) likusius išorinius baseinus užpildyti „teigiamu“ kontroliniu serumu.

3.4. Lėkšteles inkubuoti drėgnoje kameroje 24–48 valandas kambario temperatūroje.

Reakcijos vertinimas.

Lėkštelės apšviečiamos iš apačios ryškiu koncentruotu šviesos sriauto spinduliu. Dėl antigeno ir antikūno specifinės sąveikos susidaro netirpus antigeno ir antikūno imuninis kompleksas-precipitatas (matoma linija). Antigeno ir antikūno precipitatas gerai matomas agaro gelyje. Reakcija yra įvykusi, kai tarp antigeno ir teigiamo kontrolinio serumo susidariusi aiški linija. Rinkinio EIAV antigenas yra labai gerai išgrynintas, todėl neaptinkamos nespecifinės precipitacijos zonos, kurios galėtų maišyti.

Rezultatai pateikiami remiantis rinkinio gamintojo nurodymais:

- Neigiamas serumas. Kontrolinė linija (B baseino) eina tiesiai link neigiamo mėginio baseino arba lengvai išlinksta link B baseino.
- Silpnai teigiamas serumas. Kontrolinės precipitacinės linijos (B baseinai) eina link mėginio baseino, tačiau išlinksta į priešingą pusę nuo B baseinų ir vienas nuo kito.
- Stipriai teigiamas serumas. Precipitacinė linija susiformuoja tarp mėginio baseino ir centrinio baseino A, ir tarp baseinų A ir B susijungia į ištisinę precipitacinę liniją.
- Labai stipriai teigiamas serumas. Kontrolinės precipitacinės linijos (B baseinai) linksta viena kitos pusėn, kol pasiekia tiriamojo mėginio baseinus. Jos gali susijungti į plačią difūzinę precipitacinę liniją, kuri susidarys greta antigeno (A) baseino.

2.3. Trumpas MA metodo aprašymas

Metodas jautrus, specifiškas, patikimas ir tinkamas rutininiam mėginių tyrimui (55).

Reagentai ir medžiagos.

Reakcija atliekama su gyvomis leptospirų kultūromis, nustatant antikūnus prieš *L. pomona, L tarassovi, L. copenhageni, L. grippotyphosa, L. canicola, L. bratislava, L. hardjo, L. saxoebing, L. ballum, L. bataviae, L.australis, L. autumnalis.*

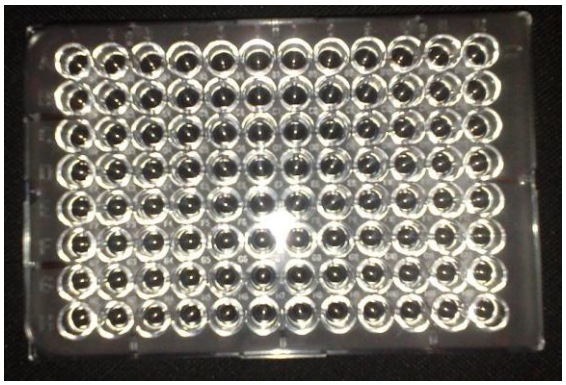
Leptospira interrogans serotipų referentiniai kamienai ir anti-serumai perkami iš Anglijos, Vokietijos. Anti-serumai iš Rusijos, Anglijos, Vokietijos referentinių institutų. Terpei reagentai perkami iš Difco laboratories, JAV. Reagentai naudojami laikantis gamintojo nurodymų.

- Natrio chloridas (NaCl)
- Leptospirų praturtintojas - *Leptospira* Medium Base EMJH
- Difco™ *Leptospira* Enrichment EMJH, pakuotėje po100 ml x 6 buteliukai

Leptospirų kultūrų kamienai yra kultyvuojami terpėje, kuri ruošiama distiliuotame vandenyje. Į 900 ml distiliuoto vandens dedama 2,3 g reagento *Leptospira* Medium Base EMJH ir autoklavuojama - pH 7,5. Po autoklavavimo dedama 100 ml leptospirų praturtintojo ir paruošta terpė išpilstoma į mėgintuvėlius. Leptospiros auginamos termostate ±29 ºC ±1 ºC temeperatūroje. Tyrimui naudojami 7-14 dienų leptospirų kultūros (antigenai) EMJH terpėje.

Procedūra.

Serumo skiedimai atliekami mėgintuvėlyje arba mikroplokštelėje (žr. 7pav.).



7 pav. *Plokštelė mikroagliutinacijos reakcijai*

1. Pasižymime linija G ir H eiles nuo1 iki 12.
2. Visus plokštelės šulinėlius nuo 1-12, išskyrus eilę G**,** užpildyti NaCl tirpalu, po 25 µl.
3. Eilę G nuo1-12 pripildyti skiesto tiriamojo serumo po 50 µl (serumas skiestas 1:12,5; 0,1 ml serumo + 1,15 ml paruošto NaCl) (žr. 8pav).

	ser. Skied.	Serogr.→ kamienai											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1:800	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	..	..	..	..	..	..	..
B	1:400	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	..	..	..	..	..	..	..
C	1:200	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	..	..	..	..	..	..	..
D	1:100	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	..	..	..	..	..	..	..
E	1:50	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	..	..	..	..	..	..	..
F	1:25	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	25 µl ↑	..	..	..	..	..	..	..
G	1:12,5	**50 µl**	**50 µl**	**50 µl**	**50 µl**	**50 µl**	..	..	..	..	..	..	..
H	K	K	K	K	K	K	→	..	..	..	..	..	..

***8 pav**. Titrų nustatymo schema mikroplokštelėje*

1. Geometriškai suformuota skiedimo eilė pipetuojama pipete po 25µl nuo G iki A (likusius 25 µl išpilti iš plokštelės).
2. Į pirmą plokštelės eilę (H-A) pilti po 25 µl vieno leptospirų serogrupės. Paskui į antrą eilę (H- A) pilti po 25 µl kito leptospirų serogrupės ir tęsti taip toliau su kitomis leptospirų serogrupėmis.
3. Maišyti kratytuvu. Dėti į inkubatorių ± 29°C, 1 ar 2 valandoms.
4. Mėginius mikroskopuoti tamsaus lauko mikroskopu.

Reakcijos vertinimas.

- Kontrolė: eilė H (1-12) bet kurio kamieno – turi būti neigiama.
- Kai skiestame serume 1:100 įvykusi agliutinacija mažesnė nei 50 % mėginys serologiškai „NEIGIAMAS“.
- Kai skiestame serume 1:100 įvykusi agliutinacija daugiau nei 50 % mėginys serologiškai „TEIGIAMAS“.
- Gavus mėginio teigiamą rezultatą, patikrinamas kamienas nustatytos serogrupės anti-serumu (teigiamu serumu).

Mėginio statuso pakartotini tyrimai atliekami po 2-3 savaičių po pirmojo mėginio ėminio. Antikūnų titro augimas nustatomas pakartotinu tyrimu, esant ūmiai leptospirozės infekcijai, antikūnų titras pakartotiname tyrime padidėja 4 ir daugiau kartų.

2.4. Trumpas KS metodo aprašymas

Komplemento sujungimo testu (48,56) kergimo ligai aptinkami specifiniai antikūnai *Trypanosoma equiperdum*, įnosėms - specifiniai *Burkholderia mallei* antikūnai tiriamam arklių kraujo serumo mėginyje.

Reagentai ir medžiagos.

Įnosių ligos arba kergimo ligos antigenas, teigiama ir neigiama kontrolės, antigenas (*Burkholderia mallei)* naudojamas gamintojo nurodytu titru, Hemolizinas (iš Rusijos, Čekijos), komplementas liofilizuotas (iš Rusijos, *ID VET innovative diagnostcs, Prancūzija ar* Čekijos), veronalinis buferis (100ml) 5:1 (iš Pourquier), avino eritrocitai (šviežiai paimti), konservuoti Olseverio tirpalu, laikant + 5ºC ±3ºC temperatūroje, tinkami apie 3 savaites.

Standartinėje procedūros metodikoje yra nurodyti veronalinio buferio ir Olseverio pasigaminimai, komplemento dozės nustatymas, hemolizino titro parinkimas, avino eritrocitų paėmimas ir laikymas. Atliekant tyrimus būtina laikytis standartinės metodikos.

Procedūra.

KS mikro – metodas atliekamas polistirolo „U“ formos mikroplokštelėje.

1.Naudojami reagentai. Skiedžiami distiliuotu vandeniu, ruošiamas 1:5 (1 dalis VB + 4 dalys distiliuoto ar bidistiliuoto vandens) veronalinio buferio tirpalas. Toliau šis VB tirpalas naudojamas skiesti visiems reagentams ir mėginiams.

- Antigenas skiedžiamas paruoštu VB tirpalu, laikantis gamintojo nurodyto darbinio titro 1:
- Reikiamas komplemento kiekis (nustatyta koncentracija 2 ar 2,5 %) skiedžiamas VB tirpalu.
- Hemolizinas (darbinis titras) skiedžiamas VB tirpalu.
- 2% eritrocitai suspencija ruošiama VB tirpale.
- Hemolitinė sistema (HS). 2% eritrocitų paruošta suspencija (ES) yra lygiomis dalimis atsargiai sumaišoma su paruoštu hemolizino tirpalu (4 HV).

2.Serumų skiedimas. Tiriamieji ir kontrolių (tik viename skiedime *1:5*) serumai skiedžiami 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, ...

3.Pagrindinis bandymas, serumų inkubavimas atliekamas „U“ formos mikroplokštelėje pagal schemą (X lentelė).

Vieno mėginio darbo eigos modelis pateikiamas lentelėje:

Plokštelėje baseinų eilė		1	2	3	:	:	:	10	11	12
1.VBT	(µl)	-	25	25	:	:	:	25	-	25
2.Serumas	(µl)	50	-	-	-	-	-	-	50	-

3. Serumą pipetuoti nuo 1 iki 10 ir nuo 11 iki 12. Iš 10 ir 12 baseinų išpilti po 25 µl (11 ir 12 serumo kontrolė)

4.VBT	(µl)	-	-	-	:	:	:	-	25	25
5.Antigenas	(µl)	25	25	25	:	:	:	25	-	-
6.Komplementas	(µl)	25	25	25	:	:	:	25	25	25

7.Uždengtos plokštelės inkubuojamos 18-24 val., 5 ºC ±3ºCtemperatūroje (šaltu būdu) arba vandens vonioje 37°C ±1°C (karštu būdu). Šaltu būdu inkubacija baigiama kambario temperatūroje ~ 1 valandą.

8. HS	(µl)	50	50	50	:	:	:	50	50	50

Reakcijos vertinimas.

Pirmiausiai patikrinti ar kontrolių rezultatai atitiko laukiamus rezultatus. Rezultatai kiekvieno serumo kiekviename skiedime fiksuojami formoje 4 (++++) kryžių sistemoje.

- nesant serume antikūnų, laisvas komplementas lizuoja eritrocitus ir rezultatas vertinamas kaip „neigiamas“,

o priešingu atveju,

- kai serume yra antikūnų, tai susidaręs imuninis kompleksas fiksuoja komplementą ir eritrocitai nusėda plokštelės baseinų dugne, rezultatas vertinamas kaip „teigiamas“.

2.5 Statistinių duomenų analizė

Gauti duomenys buvo apdorojami pasitelkus „Microsoft Excel 2016“ skaičiuoklę bei statistinių duomenų paketą SPSS 20.0. Šios programos pagalba, baigiamojo darbo rezultatuose buvo skaičiuojami patikimumų rodikliai. Rezultatai tarpusavyje lyginami tokiu principu: jeigu gauti duomenys $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$ tai laikome, kad duomenys patikimi ir yra statistiškai reikšmingi, jeigu duomenys $p>0,05$ laikome, kad duomenys statistiškai nepatikimi.

3. TYRIMO REZULTATAI

3.1 Arklių infekcinės anemijos, įnosių ir kergimo ligos tyrimo rezultatai

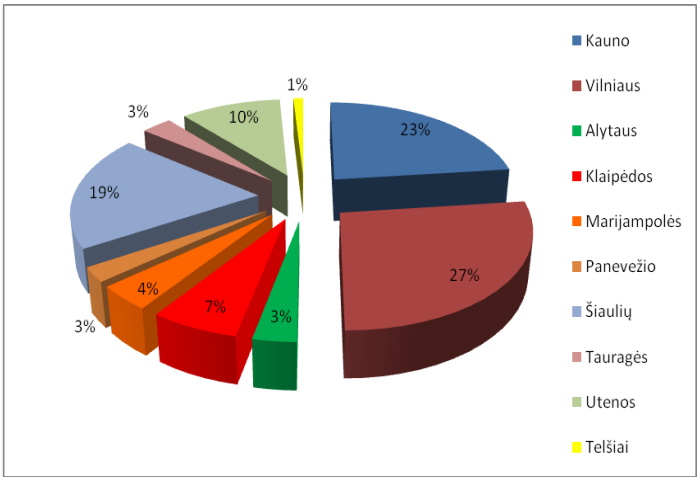
Per laikotarpį nuo 2011 metų iki 2015 metų spalio 21d. buvo ištirti 18519 -kos arklinių šeimos atstovų (arklių, asilų, ponių) kraujo mėginiai dėl analizuojamų užkrečiamųjų ligų.

Dėl arklių infekcinės anemijos ištirta 6116 mėginių, kurie buvo gauti iš Kauno, Vilniaus, Alytaus, Klaipėdos, Marijampolės, Panevėžio, Šiaulių, Tauragės, Utenos ir Telšių apskričių (apskritys buvo pavaldžios valstybės administracijai, tačiau 2010 m. liepos 1d. apskričių viršininkų administracijos buvo panaikintos). Daugiausia serologinių tyrimų atlikta 2013 m. (26,28 proc.), panašus procentas vyravo 2012 (21,27 proc.), 2014 (25,42 proc.) ir 2015 (20,44 proc.) metais. Mėginių skaičius ženkliai mažesnis buvo 2011 metais (6,59 proc.) (1 lentelė).

1 lentelė. *Arklių infekcinės anemijos atžvilgiu tirtų mėginių skaičius*

Eil. Nr.	Apskritis	Tirtų mėginių skaičius					Iš viso 2011 - 2015m.	Rasta teigiamų	
		2011m.	2012m.	2013m.	2014m.	2015m.		vnt.	%
1	Kauno	175	351	361	297	231	1415.00	0	0
2	Vilniaus	71	329	488	450	312	1650.00	0	0
3	Alytaus	15	48	46	51	32	192.00	0	0
4	Klaipėdos	19	94	95	86	99	393.00	0	0
5	Marijampolės	42	56	56	48	47	249.00	0	0
6	Panevežio	4	20	19	83	22	148.00	0	0
7	Šiaulių	55	260	280	314	275	1184.00	0	0
8	Tauragės	7	67	32	43	42	191.00	0	0
9	Utenos	15	65	211	169	172	632.00	0	0
10	Telšiai	0	11	19	14	18	62.00	0	0
Iš viso:		403	1301	1607	1555	1250	6116.00	0	0

Ištirtų mėginių skaičius apskrityse labai skirtingas. Didžioji dalis buvo iš Vilniaus (27 proc.), Kauno (23 proc.) ir Šiaulių (19 proc.) apskričių. Labai mažą dalį sudarė mėginiai iš Alytaus, Panevėžio ir Tauragės apskričių (3 proc.) bei Marijampolės (4 proc.) ir Telšių (1 proc.) apskričių (9 pav.).



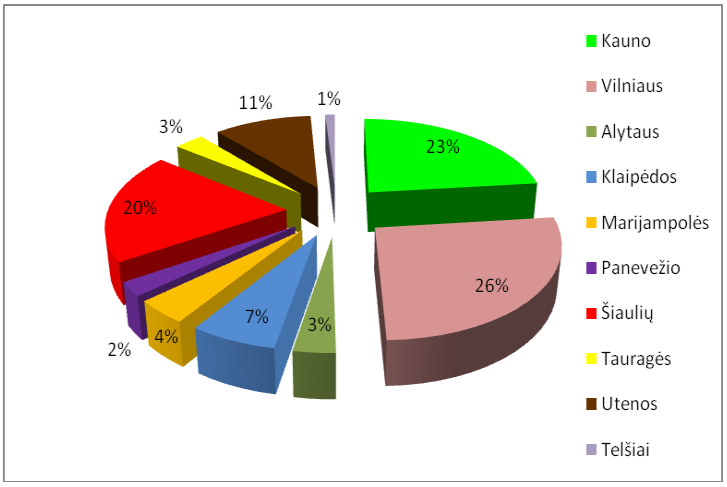
9 pav. *AIA tirtų mėginių procentinė išraiška pagal apskritis 2011 – 2015 m.*

Įnosių ligos nešiotojams nustatyti buvo ištirti 6069 mėginiai KS metodu iš 10 apskričių. Daugiausia jų buvo gauta 2013 – 2014 metais, t.y. 51,82 proc. tiriamųjų mėginių per visus penkerius metus, kai tuo tarpu 2011 metai sudaro tik 6,57 proc. (2 lentelė)

2 lentelė. *Įnosių ligos atžvilgiu tirtų mėginių skaičius*

Eil. Nr.	Apskritis	Tirtų mėginių skaičius					Iš viso 2011 - 2015m.	Rasta teigiamų	
		2011m.	2012m.	2013m.	2014m.	2015m.		vnt.	%
1	Kauno	175	344	363	297	231	1410.00	0	0
2	Vilniaus	66	303	482	443	310	1604.00	0	0
3	Alytaus	15	48	46	51	32	192.00	0	0
4	Klaipėdos	20	96	95	87	99	397.00	0	0
5	Marijampolės	42	56	56	48	46	248.00	0	0
6	Panevežio	4	27	16	78	22	147.00	0	0
7	Šiaulių	55	260	281	314	275	1185.00	0	0
8	Tauragės	7	67	32	43	42	191.00	0	0
9	Utenos	15	65	211	169	173	633.00	0	0
10	Telšiai	0	11	19	14	18	62.00	0	0
Iš viso:		399	1277	1601	1544	1248	6069	0	0

Daugiausia mėginių buvo gauta iš Vilniaus (26 proc.), Kauno (23 proc) ir Šiaulių (20 proc.) apskričių. Mažiausia tiriamųjų dalis buvo iš Telšių , Alytaus, Marijampolės, Panevežio ir nesiekė daugiau 4 proc. visų gautų mėginių (10 pav.).



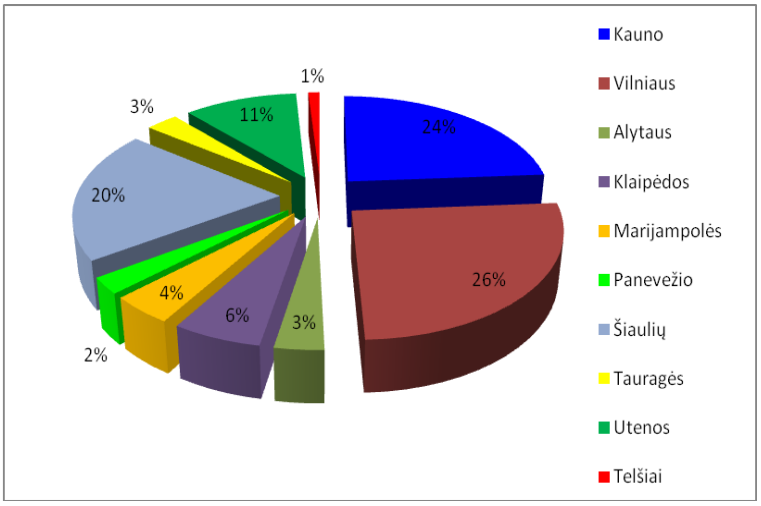
10 pav. *Įnosių atžvilgiu tirtų mėginių skaičiaus procentinė išraiška pagal apskritis (2011 – 2015 m.)*

Taip pat KS metodu buvo ištirti 5894 mėginiai dėl kergimo ligos iš 10 apskričių. 2011 metai sudaro tik 6,58 proc. per visus penkerius metus gautų mėginių, kai 2013 metai sudaro net 26,3 proc., o 2014 metai – 25,8 proc. (3 lentelė).

3 lentelė. *Tirtų mėginių skaičius kergimo ligos atžvilgiu*

Eil. Nr.	Apskritis	Tirtų mėginių skaičius					Iš viso 2011 - 2015m.	Rasta teigiamų	
		2011m.	2012m.	2013m.	2014m.	2015m.		vnt.	%
1	Kauno	175	342	365	294	231	1407.00	0	0
2	Vilniaus	55	282	462	426	287	1512.00	0	0
3	Alytaus	15	48	45	51	32	191.00	0	0
4	Klaipėdos	20	68	72	88	99	347.00	0	0
5	Marijampolės	42	56	56	48	46	248.00	0	0
6	Panevežio	4	25	16	78	22	145.00	0	0
7	Šiaulių	55	258	280	314	275	1182.00	0	0
8	Tauragės	7	61	26	40	42	176.00	0	0
9	Utenos	15	63	209	168	169	624.00	0	0
10	Telšiai	0	11	19	14	18	62.00	0	0
Iš viso:		388	1214	1550	1521	1221	5894	0	0

Daugiausia mėginių pristatyta iš Vilniaus (26 proc.), Kauno (24 proc.) ir Šiaulių (20 proc.) apskričių. Mažoji dalis buvo iš Alytaus, Marijampolės, Panevežio apskričių ir nesiekė daugiau 4 proc. visų gautų mėginių. Telšių apskrities mėginiai sudarė tik 1proc. (11 pav.).



11 pav. *Kergimo ligos atžvilgiu tirtų mėginių skaičiaus procentinė išraiška pagal apskritis 2011 - 2015m.*

Atlikus statistinę duomenų analizę, skirtumas tarp 2011 ir 2013 metų visų ištirtų mėginių skaičiaus – statistiškai reikšmingas, tad galima teigti, kad metai turėjo įtakos ištirtų AIA, įnosių ir kergimo ligų mėginių skaičiui ($p<0,001$).

Lyginant Vilniaus ir Telšių apskričių ištirtų ligų statistinius duomenis, skirtumas tarp gautų mėginių skaičiaus statistiškai nereikšmingas ($p= 0,16$).

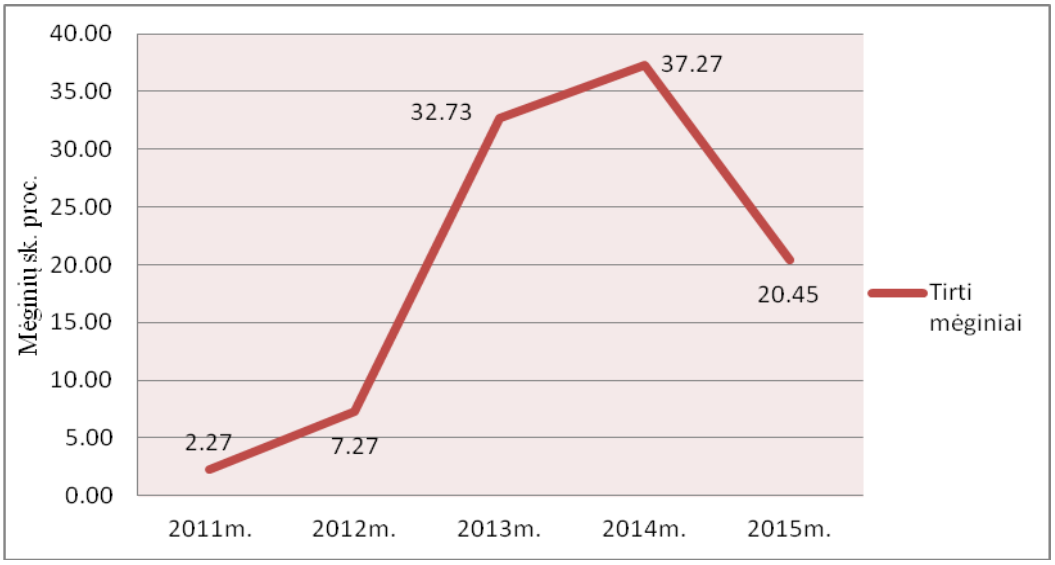
Taikant serologinius tyrimo metodus AIA, įnosių ir kergimo ligoms nustatyti, per laikotarpį nuo 2011 metų iki 2015 metų spalio 21d. teigiamų atvejų nebuvo rasta. (1, 2, 3 lentelės).

3.2. Tyrimo rezultatai leptospirozės atžvilgiu

Arklinių šeimoje leptospirozės atžvilgiu ištirti 440 kraujo serumo mėginiai MA metodu. Medžiaga tyrimams pristatyta iš 6 skirtingų apskričių. 2011 metais mėginiai gauti iš Vilniaus ir Kauno apskričių sudaro tik 2,27 proc. tiriamųjų per visus analizuojamus metus. 2012 metais mėginių skaičius kiek padidėjo ir prisidėjo dar viena, Utenos apskritis. 2013 – 2014 metais skaičius ženkliai pakilo ir sudaro net 70 proc. tirtų mėginių per visą penkerių metų laikotarpį. Taip pat mėginiai buvo gauti iš Alytaus, Panevėžio ir Šiaulių apskričių. 2015 metais mėginių skaičius mažesnis lyginant du praėjusius metus ir sudaro 20,45 proc., tačiau reikia atkreipti dėmesį į tai, kad analizuojami nepilni metai (iki spalio 21d.) ir jiems baigiantis skaičius gali ženkliai kisti (4 lentelė; 12 pav.).

4 lentelė. *Tirtų mėginių skaičius leptospirozės atžvilgiu*

Eil. Nr.	Apskritis	Tirtų mėginių skaičius					Iš viso 2011 - 2015m.	Rasta teigiamų	
		2011m.	2012m.	2013m.	2014m.	2015m.		vnt.	%
1	Vilniaus	3	9	61	51	56	180.00	29	16.11
2	Kauno	7	6	14	9	12	48.00	8	16.67
3	Utenos	0	17	65	20	20	122.00	24	19.67
4	Alytaus	0	0	3	0	0	3.00	0	0.00
5	Panevežio	0	0	1	63	2	66.00	21	31.82
6	Šiauliai	0	0	0	21	0	21.00	0	0.00
Iš viso:		10	32	144	164	90	440.00	82	18.64

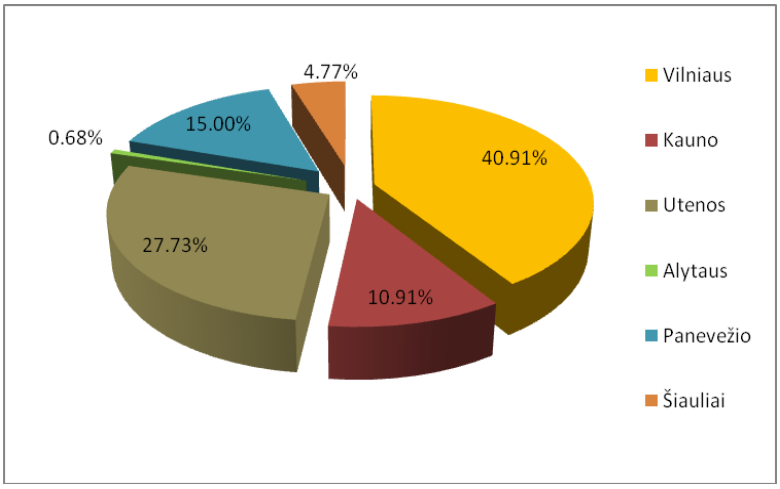


12 pav. *Tirtų mėginių skaičiaus kitimas proc. per 2011 – 2015 metų spalio 21d. laikotarpį*

Atlikus leptospirozės statistinę duomenų analizę, skirtumas tarp 2011 ir 2014 metų visų ištirtų mėginių skaičiaus – statistiškai reikšmingas (p=0,000000002). Galima teigti, kad metai turėjo įtakos ištirtų mėginių skaičiui.

Daugiausia tiriamų mėginių buvo gauta iš Vilniaus (40,49 proc.), Utenos (27,73 proc.), Panevežio (15 proc.) ir Kauno (10,91 proc) apskričių. Mažoji dalis, sudaranti tik 0,68 proc. iš Alytaus apskrities. Lyginant Vilniaus ir Kauno apskričių ištirtų mėginių skaičiaus statistinius duomenis, skirtumas tarp jų buvo statistiškai reikšmingas (p=0,00057).

Iš keturių apskričių (Klaipėdos, Marijampolės, Tauragės, Telšių) arklių kraujo mėginių leptospirozės atžvilgiu netirti (13 pav.).



13 pav. *Leptospirozės atžvilgiu tirtų mėginių skaičiaus procentinė išraiška pagal apskritis*

3.3 Leptospirų nešiotojų paplitimas arklių populiacijoje

Priešingai nei tiriant AIA, įnosių ar kergimo ligas, tiriant mėginius dėl arklių užsikrėtimo leptospiroze, iš 440 tirtų kraujo serumo mėginių, nustatyti 82 teigiamai reagavę. Taigi pagal gautus tyrimo rezultatus galima teigti, kad leptospirų nešiotojų nustatyta 18,64 proc.

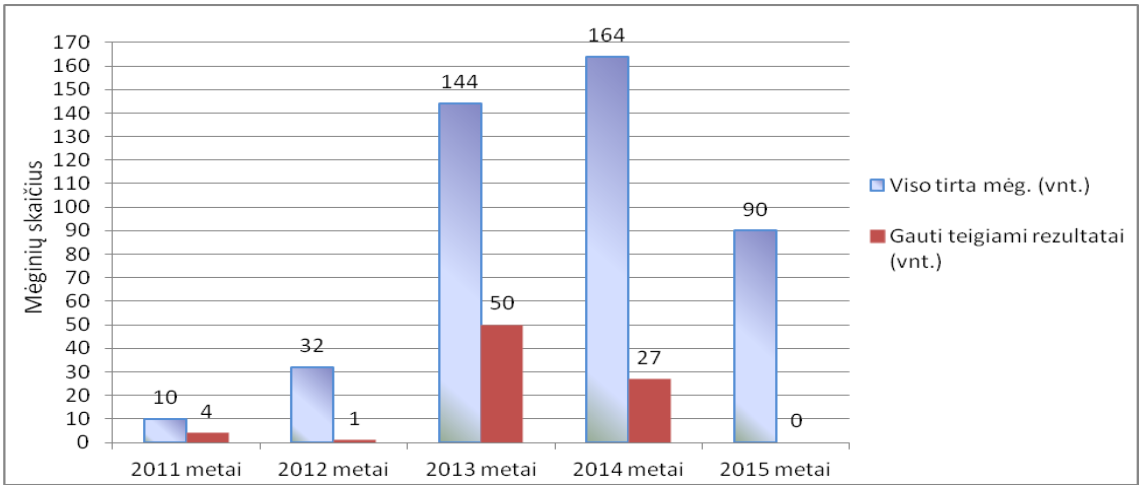
Teigiami atvejai pasitaikė keturiose iš šešių tirtų apskričių. Teigiamai reaguojančių arklių rasta Vilniaus, Panevėžio apsk. 2013 - 2014m., Kauno apsk. 2011 – 2013 m., Utenos apsk. 2013 m. Leptospirų nešiotojų rasta Panevėžio apskrityje 31,82 proc., kiek mažiau Utenos –19,67 proc., Vilniaus ir Kauno apskrityse apie 16 proc. Teigiamai reaguojančių arklių nerasta Alytaus ir Šiaulių apskrityse (5 lentelė). Lyginant Vilniaus ir Panevėžio apskričių teigiamai reagavusių gyvulių statistinius duomenis, skirtumas tarp jų buvo statistiškai reikšmingas (p=0,032).

5 lentelė. *Arklių tyrimo duomenys leptospirozės atžvilgiu*

Eil. Nr.	Apskritis	2011 m.			2012 m.			2013 m.			2014 m.			2015 m.			Iš viso:		
		Tirta	Teig. vnt.	Teig. %	Tirta	Teig. vnt.	Teig. %	Tirta	Teig. vnt.	Teig. %	Tirta	Teig. vnt.	Teig. %	Tirta	Teig. vnt.	Teig. %	Tirta	Teig. vnt.	Teig. %
1	Vilniaus	3	0	0	9	0	0	61	22	36.07	51	7	13.73	56	0	0	180	29	16.11
2	Kauno	7	4	57.14	6	1	16.67	14	3	21.43	9	0	0	12	0	0	48	8	16.67
3	Utenos	0	0	0	17	0	0	65	24	36.92	20	0	0	20	0	0	122	24	19.67
4	Alytaus	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0.00
5	Panevežio	0	0	0	0	0	0	1	1	100	63	20	31.75	2	0	0	66	21	31.82
6	Šiauliai	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0	0	0	0	21	0	0.00
Iš viso:		10	4	40	32	1	3.13	144	50	34.72	164	27	16.46	90	0	0	440	82	18.64

Matome, kad didžiausias teigiamų mėginių skaičius buvo 2013 ir 2014 metais, atitinkamai 50 (34,72 proc.) iš 144 ir 27 (16,64 proc.) iš 164 tirtų mėginių. Mažiausiai seroteigiamų rasta 2011 – 2012

metais. Tam įtakos galėjo turėti taip pat mažas surinktų kraujo mėginių skaičius. Iki 2015 m. spalio 21d. teigiamai reagavusių nebuvo (14 pav.).



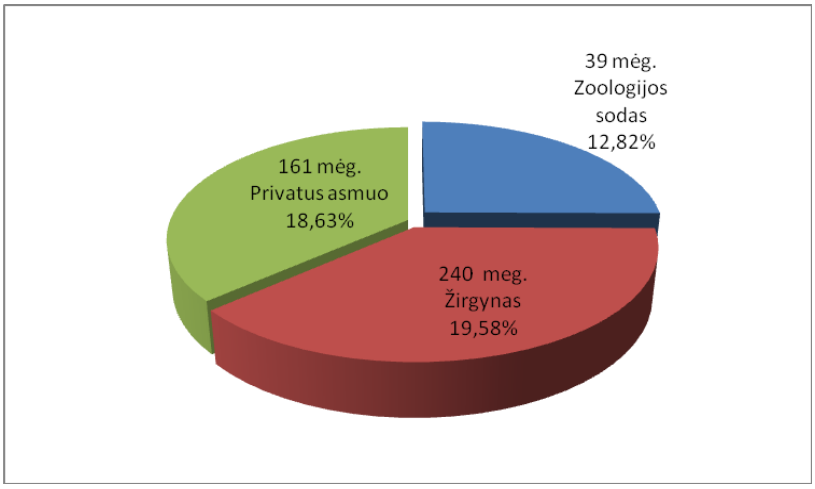
14 pav. *Seroteigiamų mėginių skaičius*

Atlikus statistinę duomenų analizę, skirtumas tarp 2012 ir 2013 metų teigiamų mėginių skaičiaus – statistiškai reikšmingas, tai reiškia, kad metai turėjo įtakos teigiamai reagavusių kraujo serumo mėginių skaičiui (p=0,000365).

3.4 Arklių santalkos įtaka leptospirų nešiotojų paplitimui

Kraujo serumo mėginiai buvo imami iš didžiųjų Lietuvos žirgynų, tokių kaip UAB „Nemuno žirgynas“, „Marijampolės jojimo centras“, „Lietuvos žirgynas“, taip pat iš privatiems asmenims priklausančių pavienių žirgų, bei zoologijos sodo arklinių šeimos atstovų. Žirgynuose žirgų skaičius labai įvairus, nuo 50 iki 140 bandoje ir daugiau. Privatūs asmenys, laikantys arklius savam tvarte/arklidėje, turi apie 1 – 10 gyvulių. Zoologijos sode laikomi Šetlando poniai, asilai ir kita fauna galinti nešioti ligos užkratą.

Iš gautų teigiamų rezultatų mažiausiai antikūnių prieš leptospiras buvo rasta zoologijos sode. Iš tirtų 39 kraujo serumo mėginių teigiami buvo 5 ir atitiko 12,82 proc. Privačių asmenų tiriamų arklių 18,63 proc. kraujo serumo mėginių buvo teigiami, t.y iš 161 mėginio 30 teigiamų. Didžiausią procentinę dalį teigiamų mėginių sudarė kraujo serumai paimti iš žirgynų. Iš 240 tirtų arklių 47 turėjo antikūnus prieš leptospiras, arba 19,58 proc. mėginių (p>0,05) (15 pav.). Galima būtų teigti, kad ten kur arklių skaičius didesnis, daugiau randama ir teigiamų atvejų. Tai gali įtakoti importas, privačių asmenų ir žirgynų žirgų dalyvavimas atvirose varžybose.



15 pav. *Arklių santalkos įtaka leptospirozės paplitimui*

3.5 Leptospirų kamienų paplitimas arklių populiacijoje

Analizuojant leptospirų nešiotojų paplitimą arklinių šeimos tarpe, buvo įdomu išsiaiškinti kokios būtent leptospirų serogrupės vyrauja arklių populiacijoje. Išstudijavus NMVRVI archyvo duomenis pastebėta, kad vieno arklio tiriamajame kraujo serume galima rasti antikūnų prieš vieną arba prieš kelis skirtingus leptospirų štamus. Pavyzdžiui 2013 metais tirto eržilo kraujo serume, mikroskopinės agliutinacijos reakcijos metu buvo rasti antikūnai prieš: titre 1:100/2+ *L.canicola,* titre 1:50/2+ *L.copenhageni* ir titre 1:50/3+ *L.grippotyphosa*. Kadangi mėginys laikomas teigiamu, kai 1:100 įvykusi agliutinacija ≥ nei 50% (2+), tai pastarasis eržilas, turėjo antikūnus ir teigiamai įvertintas prieš *L.canicola*, o *L.copenhageni* ir *L.grippotyphosa* – tik reagavo.

Per laikotarpį nuo 2011 iki 2015 m. spalio 21d. ištirta 440 arklių. Jų kraujo serumuose iš visų 368 turinčių antikūnų, aptikta 31,25 proc. teigiamai reagavusių prieš šiuos leptospirų serotipus (6 lentelė).

6 lentelė. *Nustatyti leptospirų serotipai*

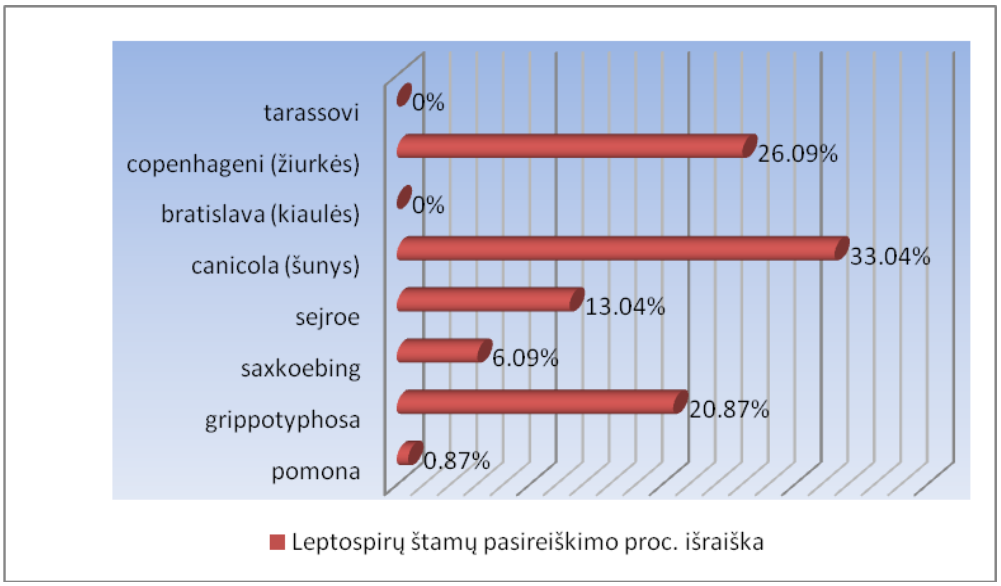
Štamai	2011 metai		2012 metai		2013 metai		2014 metai		2015 metai		Viso teigiami	Viso reagavę
	Teig.	Reagavę	Teig.	Reagavę	Teig.	Reagavę	Teig.	Reagavę	Teig.	Reagavę		
-pomona	0	0	1	1	0	0	0	13	0	0	1	14
-grippotyphosa	2	2	0	0	16	18	6	56	0	11	24	87
-saxkoebing	0	0	0	0	0	0	7	28	0	12	7	40
-sejroe	2	2	0	0	0	0	13	27	0	12	15	41
-canicola (šunys)	0	0	0	0	32	33	6	62	0	8	38	103
-bratislava (kiaulės)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-copenhageni (žiurkės)	4	4	0	0	19	22	7	49	0	8	30	83
-tarassovi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Viso ištirta mėginių:	10		32		144		164		90		115	368
Viso teigiamų	4		1		50		27		0			

Analizuojamam laikotarpyje dažniausiai randami serotipai:

- *L. canicola* (33,04 proc.);
- *L. copenhageni* (26,09 proc.);
- *L. grippotyphosa* (20,87 proc.);
- *L. sejroe* (13,04 proc.);
- *L. saxoebing* (6,09 proc.);
- *L. pomona* (0,87 proc.)seroteigiamas buvo tik vienas mėginys.

Tyrimo metu kitų leptospirų kamienų arklių kraujo serume nebuvo aptikta (16 pav.).

Atlikus statistinę duomenų analizę, skirtumas tarp *L. canicola* ir *L. pomona* serogrupių – statistiškai reikšmingas (p=0,024).

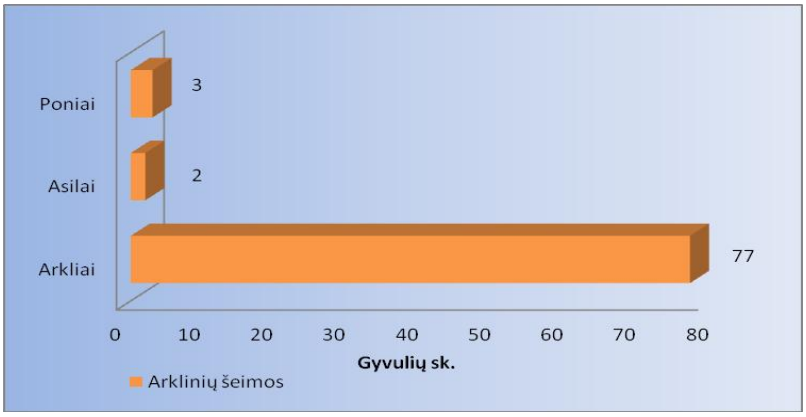


16 pav. *Leptospirų serotipų paplitimas arklių populiacijoje*

3.6 Leptospirų nešiotijų pasiskirstymas arklinių šeimoje

Iš 440 ištirtų arklinių šeimos gyvulių, seroteigiami atvejai buvo rasti arklių, ponių ir asilų kraujo serumuose. Leptospirų nešiotojai aiškiai vyravo arklių tarpe, t.y sudarė 93,9 proc., tuo tarpu poniai (Šetlando) sudarė 3,66 proc., o asilai tik 2,44 proc. (17 pav.).

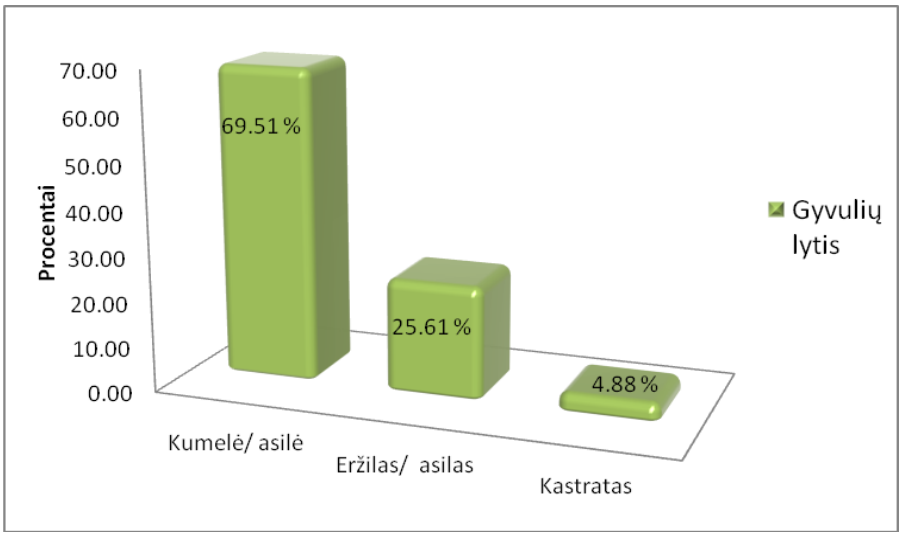
Atlikus statistinę duomenų analizę, skirtumas tarp seroteigiamų arklinių šeimos gyvulių pasireiškimo – statistiškai reikšmingas (p<0,001).



17 pav. *Leptospirų nešiotojų paplitimas arklinių šeimoje*

3.7Leptospirozės sukėlėjų pasiskirstymas pagal lytį

Pagal atliktus tyrimus, paaiškėjo, kad leptospirozės sukėlėjų, tiriamu laikotarpiu buvo rasta patelių – kumelių/asilių, patinų – eržilų/aslilų ir kastratų kraujo mėginiuose (žr. prieduose 1, 2 lenteles).



18 pav. *Leptospirozės sukėlėjų pasiskirstymas pagal lytį*

Iš 82 infekuotų gyvulių kastratai (*lot. castratus* – patinas su pašalintomis lytinėmis liaukomis) sudarė pačią mažiausią dalį, 4,88 proc. Daugiausia, net 69,51 proc. teigiamų mėginių buvo tarp patelių (18 pav.). Grafike yra matomas ryškus šios ligos paplitimo skirtumas lyties atžvilgiu (p=0,0026).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Įnosės buvo likviduotos Šiaurės Amerikoje, Australijoje ir Europoje atliekant bandymus ir pašalinus visus užkrėstus gyvūnus, kartu įvedus griežtas importo taisykles. Tačiau, liga liko sporadiška Azijos, Afrikos, Artimųjų Rytų ir Pietų Amerikos šalyse. 2010 m. balandžio mėnesį buvo pranešta apie ligos atsinaujinimą (40). Dėl to šios sritys, pagal Europos Komisijos sprendimą 2004/211/EB, importuojant gyvus arklinių šeimos gyvūnus ir arklių rūšių spermą, kiaušialąstes ir embrionus privalo tirtis dėl ligos (57). Remiantis gyvūnų ligų pranešimų sistema 2011 – 2013 m. protrūkių Europoje nebuvo (9). 2014 m. gruodį Vokietija pranešė apie seroteigiamą atvejį Osnabriuko mieste (žr. prieduose 1 pav.). Klinikiniai simptomai nepastebėti nei vienam arkliui. Buvo tirti visi (31 arklys) komplemento sujungimo metodu, tačiau teigiamas reagavo tik vienas. Jis buvo nedelsiant eutanazuotas (57). Kiti bandoje buvo tirti dar tris kartus kas dvi savaites, bet teigiamų nebuvo. Infekcijos šaltinis nustatytas nebuvo (58).

Kergimo liga pasireiškia daugumoje Azijos, Šiaurės ir Pietų Afrikos, Rusijos dalių, Artimuosiuose Rytuose, Pietų Amerikoje ir Pietryčių Europoje. Remiantis gyvūnų ligų pranešimų sistema 2011 m. Italijoje (Katanijoje ir Sicilijoje) rasti 7 sergantys arkliai, jų kraujo serumo mėginius tiriant KS metodu (žr. prieduose 2 pav.). Sukėlėjo šaltinis nustatytas nebuvo (9, 59). Italijoje liga pirmą kartą likviduota 1940 m. (60). Tam kad vyktų prekyba žirgais tarp Europos sąjungos šalių, žirgai privalo turėti sveikatos sertifikatus reglamentuotus pagal Tarybos direktyvą 2009/156/EB (59).

1978 m. AIA protrūkis prasidėjo Ispanijoje, “Madrid” ir “San Sebastian” hipodromuose, kur beveik 900 grynakraujų žirgų buvo laikomi sergančiais ir tik 1983 m. šalis tapo laisva (61). Vakarų Europoje periodiškai yra pranešama apie infekcinę arklių anemija. Galbūt todėl, kad liga labai ilgą laiką kliniškai nepasireiškia, o kartais klinikinių simptomų išvis nebūna. 2011 metais pasireiškė 368 ligos atvejai: Graikijoje (1), Vokietijoje (4), Kroatijoje (7), Vengrijoje (13), Italijoje (69), Rumunijoje (274). 2012 metais seroteigiami rasti: Belgijoje (4), Prancūzijoje (2), Vokietijoje (12), Vengrijoje (8), Italijoje (43), Slovėnijoje (2), Jungtinėse Valstijose (2) ir Rumunijoje (1549). 2013 metais sirgo: Kroatijoje (3), Prancūzijoje (1), Vengrijoje (1) Italijoje (2) ir Rumunijoje (668) (9). Situacija Europoje sparčiai gerėję, taip pat ir Italijoje, bei Rumunijoje, kur AIA buvo endeminė (žr. prieduose 3 pav.) (62).

NMVRVI per laikotarpį nuo 2011 metų iki 2015 metų spalio 21d. buo ištirta 18079 arklinių šeimos kraujo serumo mėginių, seroteigiamų dėl AIA, įnosių ir kergimo ligų nebuvo rasta.

Leptospirozės paplitimui nustatyti arklinių šeimos tarpe, buvo ištirti 440 kraujo serumo mėginiai MA metodu per 2011 – 2015 m. spalio 21d. laikotarpį. Priešingai nei pirmos trys ligos, ši Lietuvoje

pasireiškė arklių, asilų, bei ponių tarpe. Pagal atliktus tyrimus galima teigti, kad leptospirų nešiotojai sudaro 18,63 proc.

Išanalizavus NMVRVI tyrimų duomenis nustatyta, kad 2013 – 2014 m daugiausiai ištirta ir rasta leptospirų nešiotojų – kiaulių populiacijoje, tačiau tais pačiais metais ir arklių populiacijoje leptospirų nešiotojų procentas buvo didžiausias – 56 proc. (63). Pastaraisiais metais arklių tyrimo skaičius stipriai išaugo, dėl jų nepriežiūros tam tikruose ūkiuose. Blogos laikymo sąlygos, drėgmė, nesuderintas racionas, badavimas, didelė graužikų invazija ūkyje, silpna gyvulių sveikata – puikios sąlygos daugintis leptospirozės sukėlėjui (64).

NMVRVI atlikti tyrimo rezultatai prieš arklių leptospirozę parodė, kad bakterija paplitusi žirgynuose, privačiuose ūkiuose ir zoologijos sode (atitinkamai 19,58 proc., 18,63 proc., ir 12,82 proc.). Pastebėta tendencija, kad žirgynuose leptospirų kamienų aptinkama sąlyginai dažniau. Leptospiros greitai plinta dideliuose ūkiuose per gyvulių išskyras, užkrėstą aplinką (65).

Nustatytas ryšys tarp kai kurių leptospirų serotipų ir atskirų gyvūnų rūšių, pvz., serotipas *copenhageni* siejamas su žiurkėmis, serotipas *canicola* – su šunimis, serotipas *hardjo* – su stambiaisiais raguočiais (23). Lietuvoje tarp arklinių šeimos, mano duomenimis yra paplitę leptospirų kamienai *L. canicola, L. copenhageni, L. grippotyphosa, L. sejroe, L. saxoebing, L. Pomona.* Daugiausia antikūnų rasta prieš *L. canicola* (33,04 proc.).

1997–98 m. Švedijoje buvo paimti 2007 arklių kraujo mėginiai, norint nustatyti serogrupių paplitimą jų populiacijoje. Daugiausiai antikūnų rasta prieš *L.bratislava* (16,6 proc.) (66). 2001 m. Irano mieste Ahvaze, buvo atliktas tyrimas dėl kamienų paplitimo arklių ir asilų tarpe. Iš 61 arklio kraujo serumo mėginio, 27,86 proc. buvo teigiamų. Didžiausią dalį sudarė *L. ballum* (23,81proc.), o *L. canicola* (14,28 proc.) (67). Jungtinės Amerikos Valstijos *L. pomona, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae, L. grippotyphosa ir L. hardjo* serogrupes įtraukė į pavojingiausių sąrašą, nes būtent jos šunims, kiaulėms, galvijams ir arkliams sukelia susirgimus (65).

Vis gaunama duomenų apie užsikrėtimus leptospiroze iš Pietryčių Azijos regionų. Šios ligos plitimas labai daug priklauso nuo šalies ir jos visuomenės požiūrio į sveikatos priežiūrą. Daug pranešimų gaunama iš Indijos, Indonezijos, Tailando, bei Šri Lankos liūčių sezono metu. 2003m. protrūkis Džakartoje, 2005 m. Mumbajuje ir 2008 m. Šri Lankoje (68).

Kraujo serumo teigiamų mėginių analizė parodė, kad užsikrėtimas Lietuvoje yra tarp arklių, asilų ir ponių. Vis tik daugiausiai antikūnų prieš ligos sukėlėją rasta arkliams (93,9 proc.). Tokią situacija galėjo įtakoti skirtingų gyvulių mėginių skaičius ir šeimos atstovų populiacija Lietuvoje.Pagal 2001 m. tyrimą Ahvaze, 12 proc. didesnis sergamumas, pasireiškė asilų tarpe (67).

Lyginant arklinių šeimos atstovų leptospirų nešiotojų pasiskirstymą pagal lytį, daugiausia antikūnų prieš leptospiras turėjo kumelės/asilės (69,51 proc.), lyginant su eržilais/asilais. Panašūs rezultatai buvo gauti ir 2001 m.(67).

IŠVADOS

1. Arklių infekcinės anemijos, leptospirozės, įnosių ir kergimo ligų atžvilgiu 2011 - 2015 metais ištirta 18519 arklinių šeimos atstovų (arklių, asilų, ponių) kraujo serumo mėginių.
2. Daugiausiai mėginių gauta iš Vilniaus, Kauno ir Šiaulių apskričių. Pagal atliktus serologinius tyrimus per 2011 - 2015 laikotarpį AIA, įnosių ir kergimo ligų teigiamų atvejų nerasta.
3. Ištyrus 440 kraujo serumo mėginių 82 mėginiai įvertinti teigiamai t.y. turėjo antikūnus prieš leptospiras.
4. Daugiausiai 31,82 proc. teigiamai reaguojančių nustatyta Panevėžio apskrities arklių tarpe.
5. Tiriamuoju laikotarpiu arklinių šeimos atstovųtarpe daugiausiai vyravo antikūnai prieš *L.canicola* (33,04 proc.), *L.copenhageni* (26,09 proc.) ir *L.grippotyphosa* (20,87 proc.) serogrupes.
6. Leptospirų nešiotojų paplitimas arklių tarpe sudarė 93,9 proc. nuo visų tirtų arklinių šeimos atstovų.
7. Kumelės leptospirų nešiotojos sudarė 69,51 proc., nuo visų teigiamų mėginių.
8. Nustatytas didžiausias procentas leptospirų nešiotojų žirgynuose, iš 240 tirtų arklių 47 turėjo antikūnus prieš leptospiras, arba 19,58 proc. mėginių buvo teigiami.

PADĖKOS

Dėkoju mokslinio darbo vadovei doc.dr. Marijai Stankevičienei už nuoseklų darbą, patarimus, suteiktas žinias bei palaikymą.

Dėkoju Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto Serologinių tyrimų skyriaus vedėjai Jūratei Buitkuvienei už nuoširdų priėmimą, supažindinimą su instituto veikla, tiriamomis ligomis ir darbo metodikomis, ypatingai už suteiktą informaciją reikalingą mokslinio darbo temai.

Ačiū Jums!

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Algirdas Kanapeckas. Žirgininkystė. Mokomoji knyga. Girionys; 2008. p. 11.

2. World Horse Welfare and Eurogroup for Animals. George Arnett. How many horses are there in the European Union? June 2015 10.00 BST. [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. lapkričio 21d.]. Prieiga per internetą: http://www.theguardian.com/news/datablog/2015/jun/12/how-many-horses-european-union-eu-equine-census-population

3. Valstybės įmonė Žemės ūkio informacijos ir kaimo verslo centras. Statistinė informacija. Gyvūnų ir pašarų subjektų apskaitos skyrius. Arklių skaičiaus dinamika 2010–2015 metais; Arklių skaičiaus pasiskirstymas savivaldybėse 2015 m. lapkričio 1 d. [elektroninis išteklius] [žiūrėta 2015 m. rugsėjo 15 d.]. Prieiga per internetą: http://www.vic.lt/

4. Stasys Jokūbaitis. Lietuvis, padaręs karjeros šuolį: dirbau ne taip jau blogai. Ūkininko patarėjas, 2013

5. Dr. Marija Stankevičienė, dr. Vytuolis Žilaitis, Mag. Dainius Šumskas, Romas Maruška. Veterinarijos pagrindai. Mokomoji medžiaga parengta pagal „Ūkininkavimo pradmenų“ mokymo program. Vilnius, 2006.

6. Institute for international cooperation in animal biologics, Lowa State University, College of Veterinary Medicine. Equine infectious anemia. 2009 August [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. kovo 4d.]. Prieiga per internetą: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/equine_infectious_anemia.pdf

7. O.I.E. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Skyrius 2.5.6. (NB: Version adapted in May 2013).

8. Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas, Mokslinė nuomonė dėl arklių infekcinės anemijos rizikos vertinimo 2011 m., [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. balandžio 2d.]. Prieiga per internetą: http://www.nmvrvi.lt/lt/naujienos/346/

9. Lietuvos Respublikos Valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba. Gyvūnų ligos, [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. balandžio 13d.]. Prieiga per internetą: http://sena.vmvt.lt/lt/gyvunu.sveikata/gyvunu.ligos

10.Franco, M. M. J.; Paes, A. C.Equine infectious anemia. Veterinária e Zootecnia 2011 Vol. 18 No. 2 pp. 197-207

11. D. Herenda, P.G. Chambers, A. Ettriqui Manual on meat inspection for developing countries; 2000, CHAPTER 6 SPECIFIC DISEASES OF HORSES [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. balandžio 12d.]. Prieiga per internetą: http://www.fao.org/docrep/003/t0756e/T0756E07.htm

12. Virgilijus Citvaras. Epizootologija. Vilnius 1991.

13. Debra C. Sellon,Maureen Long Equine Infectious Diseases. Saunders, an imprint of Elsevier Inc, 2014, p.213-219; 301-309; 345-349; 505-506.

14. Philip Ivens Equine Infectious Disease – Ancient & Modern. MA VetMB CertEM (Int.Med.) DipECEIM MRCVS, European Specialist in Equine Internal Medicine 2011 m. [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. kovo 24d.]. Prieiga per internetą: http://www.buckinghamequinevets.com/uploads/images/PI%20Files/Equine%20Infectious%20Disease%20%E2%80%93%20Ancient%20and%20Modern.pdf

15. Derek C Knottenbelt, Reg R Pascoe. Diseases and disorders of the horse; 1999; p. 174, 183, 391.

16. Z.Dabkevičius, R.Mikaliūnaitė. Virusologijos pagrindai; 2008; p. 65, 74.

17. Raquel M. Walton. Equine clinical pathology. New York: Animal Medical Center; 2014; p. 48.

18. Frank G. R. Taylor, Tim J. Brazil, Mark H. Hill]ier. Diagnostic techniques in equine medicine. 2010, Elsevier Limited; p. 149-150, 160.

19. Peter J. Timoney, MVB (Hons), MS, PhD, FRCVS. Overview of Equine Infectious Anemia. The Merck Veterinary Manual, 2014.

20. Les Sellnow. Equine infectious anemia: symptoms and control. The Horse Media Group LLC, 2005.

21. Animal and Plant Health Inspection Service, United States Department of Agriculture. Equine Infectious Anemia. 2008 January [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. gegužės 4d.]. Prieiga per internetą: https://www.aphis.usda.gov/publications/animal_health/content/printable_version/fs_equine_infectious_anemia.pdf

22. Jūratė Šiugždaitė. Veterinarinės mikrobiologijos pagrindai; 2012; p. 125.

23. R. Jocienė, R. Matulionytė, V. Jasulaitienė, B. Morkūnas, L. Ašoklienė, J. Brilingienė. Metodinės rekomendacijos; Leptospirozės etiologija, epidemiologija, klinika, diagnostika, gydymas ir profilaktika. Vilnius 2005.

24. Rocha, Maria Teresa Ribeiro Barata da. Equine leptospirosis in Portugal; serological, immunological and microbiological studies; 2004.

25. Thomas Divers, DVM, DACVIM, DACVECC. Equine leptospirosis. CVC in Kansas city proceedings, 2008.

26. Ahmed Samir, Rafik Soliman, Mahmoud El-Hariri, Khaled Abdel-Moein, Mahmoud Essam Hatem. Leptospirosis in animals and human contacts in Egypt: broad range surveillance. Department of Zoonoses, Faculty of Veterinary Medicine, 2015.

27. Palaniappan RUM, Chang YF, Chang CF, Pan MJ, Yang CW, Harpending P, et al. Evaluation of lig-based conventional and real time PCR for the detection of pathogenic leptospires. Mol Cell Probes 2005.

28. Ashutosh Verma a , Brian Stevenson b , Ben Adler. Leptospirosis in horses. Elsevier B.V. 2013.

29. V Båverud, A Gunnarsson, E Olsson Engvall, P Franzén and A Egenvall. Leptospira seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. Acta Veterinaria Scandinavica 2009.

30. JH van der Kolk, EJB Veldhuis Kroeze. Infectious Diseases of the Horse: Diagnosis, pathology, management, and public health. CRC Press 2013, p. 116.

31.O.I.E., World organization for animal health, Terrestrial Manual. Leptospirosis. CHAPTER 2.1.9., 2008.

32. Mitali Sarkar-Tysona, Sophie J. Smither a, S.V. Hardinga, Timothy. P. Atkins a, Richard. W. Titball. Protective efficacy of heat-inactivated B. thailandensis, B. mallei or B. pseudomallei against experimental melioidosis and glanders. PubMed, 2009.

33.John F. Timoney, MVB, PhD, Dsc, MRCVS. Overview of glanders. The Merck Veterinary Manual, 2013.

34. Gregory C. Whitlock , D. Mark Estes , Alfredo G. Torres. Glanders: off to the races with Burkholderia mallei. Federation of European Microbiological Societies, published by Blackwell Publishing Ltd, 2007.

35. CIDRAP Center for Infectious Disease Research and Policy. Glanders and melioidosis, 2014. [elektroninis išteklius] [žiūrėta 2015m. lapkričio 9d.]. Prieiga per internetą: http://www.cidrap.umn.edu/infectious-disease-topics/glanders-melioidosis#overview

36.Dongyou Liu. Manual of Security Sensitive Microbes and Toxins. Taylor & Francis Inc 2014.

37. David Allan Brett Dance. Melioidosis and Glanders as Possible Biological Weapons. Edited by Fong and Alibek, Springer ScienceBusiness Media, Inc., New York, 2005, p. 101, 108-109.

38. Kay B. Barnes, Jackie Steward, Joanne E. Thwaite. Trimethoprim/sulfamethoxazole (co-trimoxazole) prophylaxis is effective against acute murine inhalational melioidosis and glanders. Elsevier B.V. 2013.

39.Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease (Ninth Edition). Melioidosis and Glanders. Elsevier B.V. 2013, p.580-583.

40. O.I.E. World organization for animal health, Terrestrial Manual. Glanders. CHAPTER 2.5.11., 2015.

41. Jamie Snow, DVM, MPH; Katie Steneroden, DVM, MPH; Radford Davis, DVM, MPH, DACVPM. Glanders. Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, 2011.

42. M.Šarkūnas. Veterinarinė parazitologija. Terra Ppublica, 2005, p. 243-245.

43. Mandy C Elschner,Holger C Scholz, Falk Melzer, Muhammad Saqib et all. Use of a Western blot technique for the serodiagnosis of glanders. BMC Vet Res. 2011; 7: 4.

44. Prof. Dr. Ahmed Abdou Ali El. Dourine. Egypt, 2005, [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015m. rugsėjo 14d.]. Prieiga per internetą: http://osp.mans.edu.eg/elsawalhy/Inf-Dis/dourine.htm#nature

45. Sidney Rickets and Andrew McGladdery. Dourine – an emerging venereal threat to European horses. AHT / BEVA / DEFrA Equine Quarterly Disease Surveillance report Volume: 6, Volume 7, No.2: April - June 2011.

46. Committee on Foreign and Emerging Diseases of the United States Animal Health Association. Foreign animal diseases, seven edition. United States Animal Health Association 2008.

47. O.I.E. World organization for animal health, Terrestrial Manual. Dourine. Aetiology Epidemiology Diagnosis Prevention and Control References. Paris, 2013.

48. O.I.E. World organization for animal health, Terrestrial Manual. Dourine. CHAPTER 2.5.3., 2013.

49. Filip Claes, Philippe Bu¨ scher, Louis Touratier and Bruno Maria Goddeeris. Trypanosoma equiperdum: master of disguise or historical mistake?. PubMed, 2005 Jul;21(7):316-21.

50. Institute for international cooperation in animal biologics, Lowa State University, College of Veterinary Medicine. Dourine. 2009 August [elektroninis išteklius] [žiūrėta: 2015 m. kovo 17d.]. Prieiga per internetą: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/dourine.pdf

51. Julien Caucharda, Andrew Soldanb, Anthony Madelinea, Paula Johnsonb, Philippe Büscher c, Sandrine Petry. Inter-laboratory ring trials to evaluate serological methods for dourine diagnosis. Elsevier B.V 0304-4017, 2014.

52. ID. VET Screen ® Equine Infectious Anemia Double Antigen gamintojas ID. VET diagnostics, Prancūzija instrukcija orginalo kalba ir vertimas.

53. O.I.E. Manual of Standards for Diagnostic Tests an Vaccines, Chapter 2.5.4. Equine infectious anaemia, Serological tests, Agar gel immunodiffusion test (AGID), 2008.

54. Rinkinio "Equine Infectious Anemia Antibody Test Kit, EIA-AGID, IDEXX, JAV" instrukcija, orginalo kalba ir vertimas.

55. O.I.E Manual of Standards for Diagnostic Tests an Vaccines, Chapter 2.2.4. Leptospirosis, Serological tests, 2008.

56. Standartinė darbo metodika „NVRL Brucellose Bundesinstitut fur gesundheitlichen verbraucherschutz und veterinarmedizin bereich Marienfelde FG-505. Arbeitsanleitung zur Durchfuhrung der Komplementbindungsreaktion in der Mikro-Method, orginalo kalba ir vertimas.

57. Jonathan Smith, Balazs Toth, Ian Mawhinney, Dr Helen Roberts. Glanders in a horse in Germany. Department for Environment, Food and Rural Affairs, Animal& Plant Health, Agency Veterinary & Science Policy Advice Team, 2015.

58. O.I.E. Dr. Karin Schwabenbauer, Ministerial Dirigentin and Chief Veterinary Officer, Directorate of Animal Health, Animal Welfare, Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) , Bonn, Germany, 2015.

59. Dr Helen Roberts, Dr Andy Paterson. Dourine (Trypanosoma equiperdum) in horses in Italy. Department for Environment, Food and Rural Affairs, Animal& Plant Health, Agency Veterinary & Science Policy Advice Team, 2011.

60. Ilaria Pascucci', Andrea Di Provvido et all. Diagnosis of dourine in outbreaks in Italy. Elsevier B.V., Volume 193, Issues 1–3, 2013.

61. Fatima Cruz, Paloma Fores, Joanne Ireland, Miguel A. Moreno, and Richard Newton. Freedom from equine infectious anaemia virus infection in Spanish Purebred horses. Vet Rec Open 2015.

62. Jonathan Smith, Dr Helen Roberts. Equine Infectious Anaemia in Germany. Department for Environment, Food and Rural Affairs, Animal& Plant Health, Agency Veterinary & Science Policy Advice Team, 2014.

63. Viktorija Mželskaja. Leptospirozė. Leptospirų serogrupių paplitimas kiaulių, arklių ir galvijų populiacijoje. Vilnius, 2014.

64. Verma A, Stevenson B, Adler B. Leptospirosis in horses. PubMed 167(1-2):61-6, 2013.

65. LD Smythe. Leptospirosis. WHO/FAO/OIE Collaborating Centre, Australia, 2008.

66. V Båverud**,** A Gunnarsson**,** E Olsson Engvall**,** P Franzén **and** A Egenvall. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. Acta Veterinaria Scandinavica 2009, 51:15.

67. Mohammad Rahim Haji Hajikola et all. Comparison of leptospiral infection in the horse and donkey. Bull Vet Inst Pulawy 49, 175-178, 2006.

68. Dr Rudy Hartskeerl, Dr. P Vijayachari. Leptospirosis. Worlds health Organization, South – East Asia, 2009.

PRIEDAI

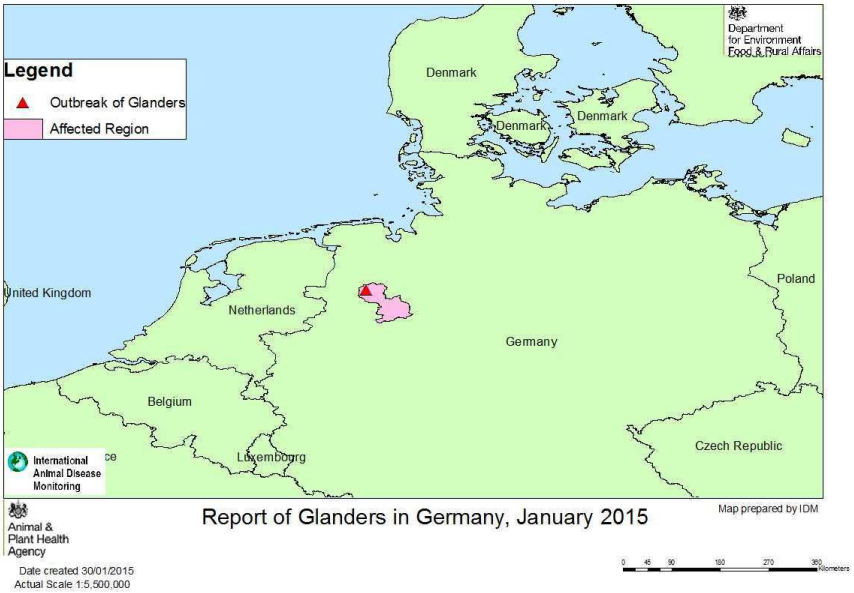
1 Priedas

1 lentelė. *Leptospirozės paplitimas arklinių šeimoje*

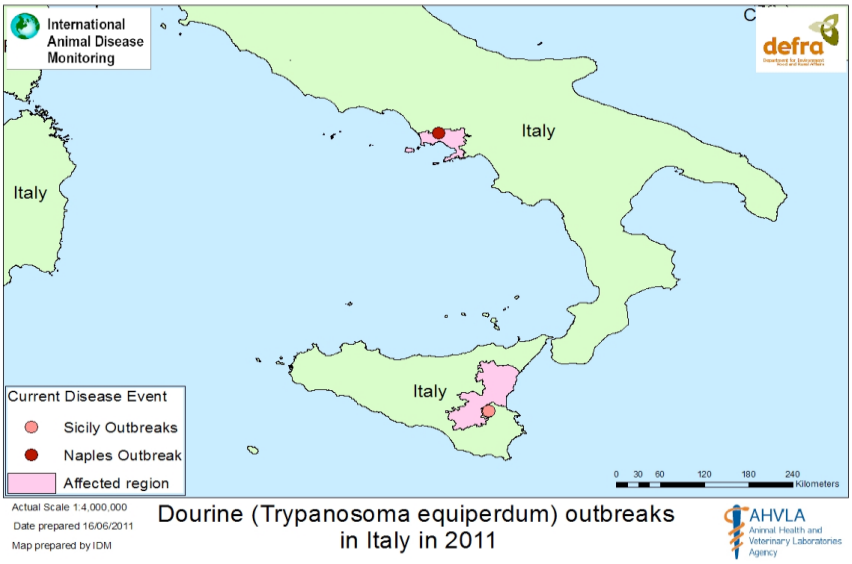
Šeima	2011m.	2012m.	2013m.	2014m.	2015m.	Viso:	Viso %:
Arkliai	0	0	50	27	0	77	93.90
Asilai	1	1	0	0	0	2	2.44
Poniai	3	0	0	0	0	3	3.66
Viso:	4	1	50	27	0	82	-

2 lentelė. *Leptospirozės paplitimas tarp lyčių*

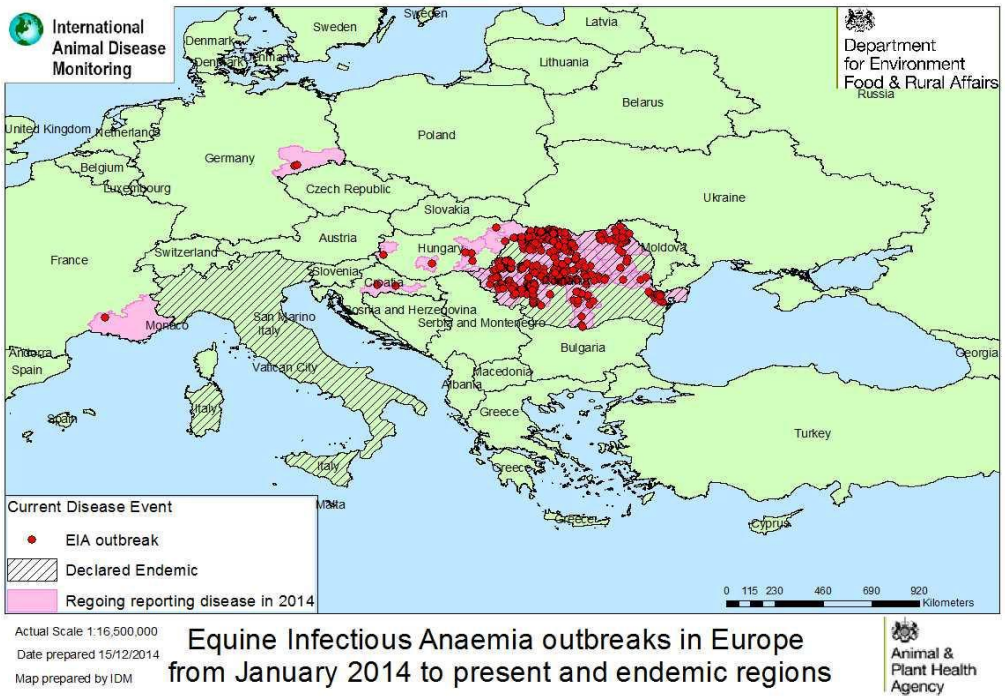
Lytis	2011m.	2012m.	2013m.	2014m.	2015m.	Viso:	Viso %:
Kumelė/ asilė	1	1	34	21	0	57	69.51
Eržilas/ asilas	1	0	14	6	0	21	25.61
Kastratas	2	0	2	0	0	4	4.88
Viso teig.:	4	1	50	27	0	82	-



1 pav. *Įnosių protrūkis Vokietijoje 2014 m.*



2 pav. *Kergimo ligos protrūkis Italijoje 2011 m.*



3 pav. *AIA protrūkiai Europoje 2014 m. ir endeminiai regionai*