

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

Patricija Klibavičė

**OŽKŲ INFEKCINIO
ARTRITO-ENCEFALITO VIRUSO
PAPLITIMAS IR MOLEKULINIS
CHARAKTERIZAVIMAS LIETUVOS
OŽKŲ POPULIACIJOJE**

Daktaro disertacija
Žemės ūkio mokslai,
veterinarija (A 002)

Kaunas, 2026

Disertacija rengta 2021–2026 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos Veterinarijos fakulteto Veterinarinės patobiologijos katedroje.

Mokslinis vadovas

prof. dr. Algirdas Šalomska (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002).

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas

prof. dr. Arūnas Stankevičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002).

Nariai:

prof. dr. Alius Pockevičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002);

doc. dr. Arnoldas Pautienius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002);

prof. dr. Jana Radzijeuskaja (Vytauto Didžiojo universitetas, gamtos mokslai, biologija – N 010);

doc. dr. Gyula Balka (Budapešto veterinarijos medicinos universitetas (Vengrija), žemės ūkio mokslai, veterinarija – A 002).

Disertacija bus ginama viešajame Veterinarijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2026 m. spalio 8 d. 14 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos dr. S. Jankausko auditorijoje.

Disertacijos gynimo vietos adresas: Tilžės g. 18, LT-47181, Kaunas.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

Patricija Klibavičė

**PREVALENCE AND MOLECULAR
CHARACTERIZATION OF CAPRINE
ARTHRTIS-ENCEPHALITIS VIRUS IN
THE LITHUANIAN GOAT POPULATION**

Doctoral Dissertation
Agricultural Sciences,
Veterinary (A 002)

Kaunas, 2026

The dissertation has been prepared at the Department of Veterinary Pathobiology of the Faculty of Veterinary Medicine of the Veterinary Academy of the Lithuanian University of Health during the period 2021–2026.

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Algirdas Šalomskas (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – A 002).

The dissertation is defended at the Veterinary Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences:

Chairperson

Prof. Dr. Arūnas Stankevičius (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine – A 002).

Members:

Prof. Dr. Alius Pockevičius (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – A 002);

Assoc. Prof. Dr. Arnoldas Pautienius (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – A 002);

Prof. Dr. Jana Radzijeuskaja (Vytautas Magnus University, Natural Sciences, Biology – N 010);

Assoc. Prof. Dr. Gyula Balka (University of Veterinary Medicine Budapest (Hungary), Agricultural Sciences, Veterinary – A 002).

The dissertation will be defended at the open session of the Veterinary Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on 8th of October, 2026 at 2 p.m. in Dr. S. Jankauskas Auditorium of the Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences.
Address: Tilžės St. 18, LT-47181, Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SANTRUMPOS	6
IVADAS	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
2. TYRIMO METODAI.....	17
2.1. Tiriamoji ožkų populiacija.....	17
2.2. Ūkininkų atranka ir ūkių grupavimas.....	18
2.3. Ūkininkų apklausa	20
2.4. Kraujo mėginių tyrimo metodika	20
2.5. OAE antikūnų tyrimas.....	21
2.6. Molekuliniai (PGR) tyrimai	22
2.6.1. SALV genų sekos nustatymas.....	22
2.7. Bandomųjų testų (<i>CAE-RAPID</i>) efektyvumo tyrimas.....	24
2.8. Kitų ožkų ligų tyrimų metodika	25
2.8.1. Toksoplazmozė	25
2.8.2. Hipodermozė	26
2.8.3. Neosporozė	27
2.8.4. Mikoplazmozė	28
2.8.5. Pasienio liga.....	29
2.8.6. Q karštinė.....	29
2.9. Statistinė duomenų analizė.....	30
3. REZULTATAI.....	32
3.1. Ožkų artritas-encefalitas.....	32
3.1.1. Serologiniai tyrimai	32
3.1.2. Molekuliniai tyrimai	36
3.2. Kitų ligų serologiniai tyrimai	40
3.3. Porinių statistinių palyginimų ir infekcinių sukėlėjų sąsajų analizė	41
3.4. Mišrios infekcijos	41
3.4.1. Asociacijos testas mišrių infekcijų pagrindu	42
3.5. Kitų tirtų ligų serologinio paplitimo ryšys su ūkio dydžiu.....	43
3.6. Ūkininkų apklausos rezultatai	44
3.7. Skirtingų OAE infekcijos klinikinių požymių ir ūkio būklės statistinė analizė	45
3.8. Naujai sukurtų greitųjų <i>CAE-RAPID</i> diagnostinių testų tyrimas	47
4. REZULTATŲ APTARIMAS	49
IŠVADOS.....	59
REKOMENDACIJOS	60
SUMMARY	61
LITERATŪROS SĄRAŠAS	78
DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS.....	86
MOKSLINIŲ KONFERENCIJŲ, SUSIJUSIŲ SU DISERTACIJOS TEMA, SĄRAŠAS.....	87
PRIEDAI.....	88
CURRICULUM VITAE	96
PADĖKA	97

SANTRUMPOS

OAE	– ožkų artritas-encefalitas
OAEV	– ožkų atrito-encefalito virusas (angl. <i>CAEV</i>)
CAE-RAPID	– ožkų artrito-encefalito (angl. <i>caprine arthritis-encephalitis</i>) greitasis testas
MV	– Maedi-visna virusas
SALV	– smulkiųjų atrajotojų lentivirusai
CNS	– centrinė nervų sistema
ELISA	– imunofermentinė analizė
AGID	– imunodifuzija agarų gelyje
BD	– pasienio liga (angl. <i>Border disease</i>)
BDV	– pasienio ligos virusas (angl. <i>Border disease virus</i>)
SeH	– ūkių lygmens jautrumas (angl. <i>herd-level sensitivity</i>)
SpH	– ūkių lygmens specifiskumas (angl. <i>herd-level specificity</i>)
Ct	– ciklo slenksčio vertė
PBS	– fosfatinis buferinis subalansuotas druskų tirpalas (angl. <i>phosphate-buffered saline</i>)
PBMC	– periferinio kraujo mononuklearinės ląstelės
IQR	– interkvartilinis režis (angl. <i>interquartile range</i>)
TPH	– tikrasis paplitimas (angl. <i>true prevalence</i>)
APH	– matomas paplitimas (angl. <i>apparent prevalence</i>)
TI	– tikėtinumo intervalas (angl. <i>credible interval, CrI</i>)
PI	– patikimumo intervalas (angl. <i>confidence interval, CI</i>)
TMB	– HRP fermento substratas/ tetrametilbenzidino chromogeninis substratas
HRP	– peroksidazės fermentas, katalizuojantis spalvinę reakciją
OD	– optinis tankis, atspindintis spalvinės reakcijos intensyvumą (angl. <i>optical density</i>)
RT-nPCR	– atvirkštinės transkripcijos lizdinė polimerazės grandininė reakcija

IVADAS

Ožkų auginimas Lietuvoje užima svarbią vietą gyvulininkystės sektoriuje, ypač mažesniuose ūkiuose, kur jis dažnai laikomas alternatyva pieninių arba mėsinių galvijų auginimui. Ožkos vertinamos dėl jų gebėjimo prisitaikyti prie įvairių laikymo sąlygų, palyginti nedidelių išlaikymo sąnaudų. Tačiau ožkų augintojai susiduria su reikšmingais gyvulių sveikatos iššūkiais, ypač dėl užkrečiamųjų ligų. Infekcinės ligos gali plisti tiek tiesioginio kontakto metu, tiek per užterštą aplinką, pašarus, pieną ar net vabzdžius pernešėjus. Dėl nepakankamos ligų kontrolės kai kurie sukėlėjai gali ilgą laiką išlikti bandose ir sukelti lėtines infekcijas, kurios ne visada pasireiškia aiškiais klinikiniais požymiais. Tai apsunkina ankstyvą ligų nustatymą ir efektyvų jų valdymą ūkiuose, o tai kelia grėsmę gyvulių sveikatai ir produktyvumui, gali padaryti ekonominių nuostolių bei paveikti gyvulių gerovę ir net sutrikdyti žmogaus sveikatą. Dėl infekcinių ligų mažėja pieno primilžis, blogėja reprodukciniai rodikliai, didėja gaišimo rizika bei veterinarinės priežiūros išlaidos. Nepaisant ožkų pieno ir jo produktų paklausos, ribota veterinarinė priežiūra ir diagnostikos ištekliai riboja tyrimus apie ožkų sveikatą (1; 2).

Viena iš pagrindinių užkrečiamųjų ligų yra ožkų artritas-encefalitas (OAE), kurį sukelia smulkiųjų atrajotojų lentivirusai (SALV). Ožkų artritas-encefalitas (OAE) yra lėtinė, lėtai progresuojanti virusinė liga, trunkanti visą gyvenimą ir progresuodama pirmiausia pažeidžia sąnarius, plaučius, pieno liaukas ir centrinę nervų sistemą. Klinikiniai požymiai gali būti sunkūs, tačiau daugelis infekcijų ilgai išlieka subklinikinės, palaiptiui mažėja produktyvumas ir gyvūno gerovė, nors akivaizdžių ligos simptomų nepastebima. OAE virusas daugiausia perduodamas per užkrėtą priešpienį ir pieną, ypač kai naujagimius ožiukus tiesiogiai maitina užsikrėtusios ožkos. Horizontalus virusų perdavimas taip pat gali vykti ir per artimą kontaktą, kvėpavimo takų sekretus. Smulkiųjų atrajotojų lentivirusai yra plačiai paplitę ožkų populiacijose, o infekcija gali sukelti artritą, mastitą, intersticinę pneumoniją, o ožiukams – encefalomielitą. Nors serologiškai teigiamas rezultatas, rodantis, kad gyvulys yra užsikrėtęs, gali būti dažnas, tik daliai užsikrėtusių gyvūnų (maždaug 20–30 proc.) pasireiškia akivaizdūs klinikiniai požymiai (3).

Norint diagnozuoti OAE ligą, dažniausiai taikomi serologiniai antikūnų aptikimo tyrimai, kurie leidžia nustatyti užsikrėtusius gyvūnus įvairiose infekcijos stadijose. Imunofermentinės analizės (ELISA) testai pasižymi dideliu jautrumu ir specifiskumu, todėl yra plačiai naudojami tiek individualių gyvūnų, tiek visų bandų tyrimams. Šie testai suteikia galimybę identifikuoti serologiškai teigiamus gyvūnus net tada, kai infekcija dar nepasireiškia klinikiniais požymiais ir vyksta subklinikinė forma. Molekuliniai metodai, tokie

kaip PGR, papildo antikūnų nustatymo metodus, ir leidžia aptikti viruso genetinę medžiagą ankstyvosiose infekcijos stadijose, kai antikūnų kiekis dar nėra pakankamas serologiniam nustatymui. PGR metodai yra ypač naudingi tiriant jauniklius arba gyvūnus, kuriems įtariama nesena infekcija (4; 5).

Kol kas nėra licencijuotos vakcinos ar specifinio OAE gydymo. Todėl pagrindinis dėmesys skiriamas ligos prevencijai ir efektyviam bandos valdymui. OAE ligos kontrolė remiasi nuolatiniu gyvūnų stebėjimu, reguliariais laboratoriniais tyrimais ir griežtomis biosaugos priemonėmis, tokiomis kaip: seroteigiamų gyvūnų nustatymas ir jų skerdimas arba izoliavimas; naujai išgytų ožkų karantinavimas ir patikrinimas prieš jas įvedant į bandą; priešpieno ir pieno terminis apdorojimas prieš girdant ožiukus; naujagimių atskyrimas nuo užsikrėtusių patelių, siekiant išvengti ankstyvos infekcijos. Papildomai rekomenduojama laikytis geros higienos praktikos, dezinfekuoti naudojamą įrangą bei vengti bendro adatų ar kitų veterinarinių priemonių naudojimo tarp gyvūnų (3; 6; 7).

Be OAE, Lietuvos ožkos gali sirgti ir kitomis užkrečiamomis ligomis, įskaitant toksoplazmozę (*Toxoplasma gondii*), mikoplazmozę (*Mycoplasma spp.*), neosporozę (*Neospora caninum*), hipodermozę (*Hypoderma spp.*), Q karštinę (*Coxiella burnetii*), pasienio ligą (*Border disease*), kurios, ištyrus serologiškai, nustatytos mažesniu paplitimu, tačiau gali paveikti gyvulių sveikatą ir produktyvumą. Šios ligos gali sukelti įvairius klinikinius požymius – reprodukcinis sutrikimas, abortus, kvėpavimo sistemos pažeidimus, sumažėjusį produktyvumą bei mažesnę jauniklių išgyvenamumą. Kai kurios iš jų taip pat pasižymi zoonoziniu potencialu, todėl gali kelti pavojų ne tik gyvūnams, bet ir žmonių sveikatai. Dėl mišrių infekcijų galimybės keli sukėlėjai vienu metu gali apsunkinti ligų diagnostiką ir padidinti ekonominius nuostolius ūkiuose. Tačiau dauguma iš paminėtų ligų Lietuvos ožkų populiacijoje netyrinėtos, jų paplitimas ir užsikrėtimo rizikos veiksniai nežinomi. Taip pat trūksta duomenų apie galimus infekcijų perdavimo kelius, regioninius paplitimo skirtumus bei skirtingų laikymo sąlygų įtaką ligų plitimui. Ribotas epidemiologinių tyrimų skaičius apsunkina galimybę tiksliai įvertinti šių ligų svarbą Lietuvos ožkininkystės sektoriui ir numatyti efektyvias kontrolės priemones. Dėl nepakankamos stebėsenos kai kurios infekcijos gali likti nepastebėtos ilgą laiką ir plisti tarp ūkių. Todėl duomenys apie šias ligas pabrėžtų būtinybę nuolat stebėti ir analizuoti ligų galimą plitimą, tinkamai taikyti biosaugos priemones ir šviesti ūkininkus siekiant sumažinti infekcijų riziką bei apsaugoti gyvulių gerovę ir produktyvumą. Reguliarūs serologiniai tyrimai, ankstyva diagnostika ir ūkininkų informavimas apie pagrindinius rizikos veiksnius galėtų padėti sumažinti infekcinių ligų paplitimą. Be to, efektyvus veterinarinės priežiūros ir biosaugos priemonių taikymas prisidėtų prie sveikesnių bandų formavimo, didesnio produktyvumo ir mažesnių ekonominių nuostolių ūkiuose (8–10).

Lietuvos ožkų populiacijos tyrimas dėl OAE ligos yra svarbus ne tik nacionaliniu, bet ir platesniu moksliniu mastu, nes smulkiųjų atrajotojų lentivirusų epidemiologija Europoje pasižymi reikšmingu geografiniu heterogeniškumu (11; 12), o Baltijos regionas iki šiol išlieka vienas mažiau ištirtų. Dėl šios priežasties Lietuvos duomenys užpildo svarbią geografinę ir epidemiologinę spragą tarptautiniuose SALV paplitimo ir genetinės įvairovės tyrimuose.

Be to, SALV infekcijos pasižymi dideliu genetiniu kintamumu ir skirtingų genotipų cirkuliacija tarp šalių (12; 13), todėl kiekvienos naujos populiacijos tyrimas prisideda prie viruso evoliucijos, plitimo kelių ir tarpregioninės transmisijos supratimo. Lietuvos ožkų populiacijos duomenys leidžia palyginti SRLV paplitimą ir genotipų struktūrą su kitomis Europos šalimis bei įvertinti galimus regioninius epidemiologinius ypatumus.

Praktiniu požiūriu tyrimas svarbus veterinarijos gydytojams ir ožkų augintojams, nes padeda geriau įvertinti infekcijos paplitimą ir jos kontrolės poreikį. Ūkininkų ribotos žinios apie ligą ir diagnostinių tyrimų prieinamumo problemos išryškina efektyvesnių ir prieinamesnių diagnostikos bei kontrolės priemonių poreikį. Sukurtas greitasis neinvazinis diagnostikos metodas gali palengvinti ligos nustatymą ir prisidėti prie efektyvesnės CAE kontrolės ūkiuose.

Atlikti tyrimai yra reikšmingi tiek veterinarijos mokslui, nes papildo SALV epidemiologijos ir genetinės įvairovės žinias, tiek praktinei gyvūnų sveikatos priežiūrai, nes sudaro prielaidas veiksmingesnei ligos diagnostikai ir kontrolei ūkiuose.

Darbo tikslas

Atlikti ožkų artrito-encefalito (OAE) ligos ir kitų ožkų ligų epidemiologinius tyrimus Lietuvos ožkininkystės ūkiuose, siekiant įvertinti esamą situaciją ir nustatyti galimus ryšius tarp šių infekcijų.

Darbo uždaviniai:

1. Ištirti virusinės ligos ožkų artrito-encefalito serologinį paplitimą ir epidemiologinius ypatumus.
2. Identifikuoti Lietuvoje paplitusius ožkų OAE virusų genotipus ir atlikti šių virusų molekulinį charakterizavimą.
3. Atlikti palyginamąjį diagnostikos metodų tyrimą ir naujai sukurto greitojo neinvazinio diagnostinio testo tinkamumo įvertinimą.
4. Ištirti kitų ligų, įskaitant toksoplazmozę, hipodermozę, neosporozę, mikoplazmozę, Q karštinę ir pestivirusinę infekciją (pasienio ligą), serologinį paplitimą Lietuvos ožkų populiacijoje bei galimą ryšį su OAE virusų infekcija.

Mokslinis darbo naujumas

Mokslinio tyrimo metu buvo įvertintas ožkų sveikatingumas Lietuvos ožkininkystės ūkiuose, nustatytas ožkų artrito-encefalito viruso serologinis paplitimas ir epidemiologiniai ligos ypatumai ožkų populiacijoje. Šio viruso paplitimo tyrimų Lietuvoje iki šiol buvo atlikta labai mažai. Taip pat pirmą kartą Lietuvoje buvo atlikta OAE viruso molekulinė charakterizacija ir nustatyti Lietuvos ožkų populiacijoje cirkuliuojantys SALV genotipai. Gauti molekulinio tyrimų rezultatai papildė iki šiol turėtus molekulinis duomenis apie SALV genetinę įvairovę, sudarydami galimybes palyginti Lietuvoje nustatytus viruso genotipus su kitose Europos šalyse cirkuliuojančiais SALV genotipais, tirti viruso evoliuciją bei galimus jo plitimo kelius tarp valstybių. Dėl intensyvaus gyvų smulkiųjų atrajotojų judėjimo Europos Sąjungoje SALV epidemiologinė stebėseną ir cirkuliuojančių viruso genotipų charakterizavimas yra svarbūs vertinant galimą infekcijos plitimą tarp valstybių bei stiprinant regioninę šios infekcijos epidemiologinę stebėseną.

Ožkininkystės ūkiuose buvo atliekamas ir vertinamas OAE antikūnų tyrimas, naudojant neinvazinį tyrimą, t. y. greitąjį testą, skirtą aptikti OAE viruso antikūnus. Tyrimo rezultatai buvo palyginti su standartiniais laboratoriniais tyrimais Veterinarijos akademijos Veterinarinės patobiologijos katedroje ir užsienio partnerių laboratorijose. Šis naujai sukurtas antikūnų nustatymo būdo pritaikymas leis greitai identifikuoti užsikrėtusius gyvūnus, o tai suteiks galimybę taikyti tinkamas ligos prevencijos, kontrolės ir likvidavimo priemones. Šios virusinės ligos nustatymui greitas testas sukurtas ir panaudotas pirmą kartą. Sukurtas metodas turi potencialą būti taikomas ne tik Lietuvoje, bet ir kitose Europos šalyse, vykdant SALV epidemiologinę stebėseną, mokslinius tyrimus bei ligos kontrolės programas, taip prisidedant prie diagnostikos metodų tobulinimo ir harmonizavimo Europoje.

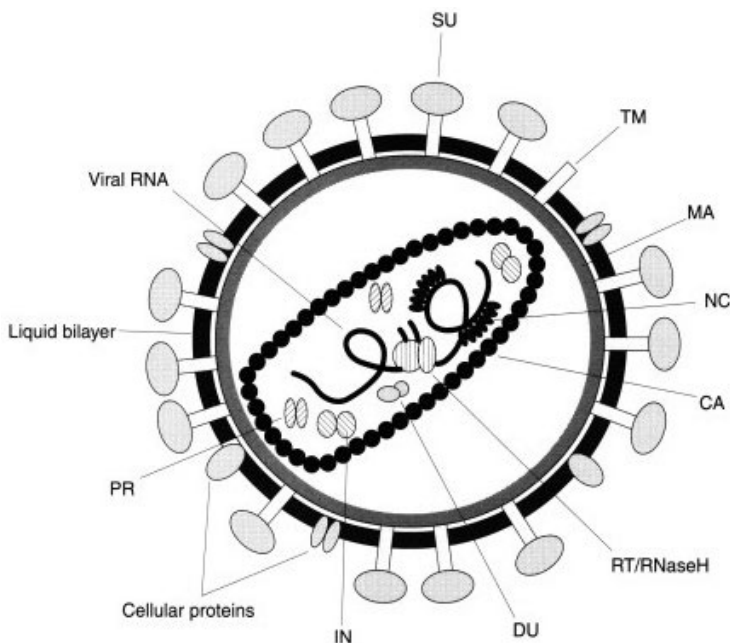
Taip pat pirmą kartą buvo detalai ištirta pagrindinių infekcinių ligų, įskaitant toksoplazmozę, hipodermozę, neosporozę, mikoplazmozę, Q karštinę ir pestivirusinę infekciją, serologinis paplitimas, šių ligų koinfekcijos su OAE ypatumai Lietuvos ožkų populiacijoje, įvertinta esama situacija ir nustatyti galimi ryšiai tarp šių infekcijų. Gauti rezultatai papildė tarptautines žinias apie pagrindinių ožkų infekcinių ligų paplitimą ir koinfekcijų ypatumus bei gali būti naudojami lyginamiesiems epidemiologiniams tyrimams kitose Europos šalyse.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

Tarp dažniausiai pasitaikančių ir svarbiausių užkrečiamųjų ligų Lietuvos ožkų populiacijoje pagrindinę reikšmę ožkų sveikatai turi patogenai, tokie kaip lentivirusai, sukeliantys ožkų artrita-encefalitą (OAE), *Toxoplasma gondii*, *Hypoderma* spp., *Neospora caninum*, *Mycoplasma* spp., *Coxiella burnetii* ir pestivirusai (pvz.: pasienio ligos virusas, BDV).

Infekcinis ožkų artritas-encefalitas (OAE) yra lėtinis susirgimas, kurį sukelia *Lentivirus* genties, *Retroviridae* šeimos virusas. Lentivirusai pasižymi ilgu inkubaciniu periodu ir lėta ligos eiga, todėl infekuoti gyvūnai ilgą laiką gali nerodyti jokių klinikinių požymių, nors virusas organizme jau aktyviai plinta. Dėl šios priežasties liga dažnai nustatoma tik pažengusiose stadijose arba atliekant serologinius tyrimus (14).

Viruso genomą sudaro dvi viengrandės RNR molekulės bei keli pagrindiniai genai, atsakingi už struktūrinių baltymų, fermentų ir apvalkalo glikoproteinų sintezę. Virusą dengia lipidinis apvalkalas, kuriame esantys glikoproteinai padeda prisitvirtinti prie šeimininko ląstelių ir patekti į jų vidų. Vienas svarbiausių viruso fermentų yra atvirkštinė transkriptazė, kuri virusinę RNR paverčia DNR forma. Ši virusinė DNR vėliau integruojama į šeimininko genomą (1.1 pav.). Tokia integruota informacija vadinama provirusu ir ilgą laiką gali išlikti latentinės būsenos bei sporadiškai suaktyvėti. Tokiu atveju infekuotos ląstelės pradeda gaminti naujas virusų kopijas (15).



1.1 pav. Ožkų artrito-encefalito viruso sandara (16)

SU ir TM žymi apvalkalo baltymus (g135 ir gp38). MA – matriksas (baltyminis apvalkalas p17); NC – nukleokapsidė (p14); CA – kapsidė (p25); RT/RNaseH – atvirkštinė transkriptazė ir ribonukleazė H₂; DU – deoksiuridintrifosfatazė (dUTPazė); IN – integrazė; PR – proteazė; Liquid bilayer – takus viruso lipidų dvisluoksnius (lipidinis apvalkalas); cellular proteins – ląsteliniai baltymai viruso apvalkale; viral RNA – virusinė RNR (viengrandė).

Nustatyta, kad ožkų infekcinis artrito-encefalito virusas ir avių Maedi-visna (MV) virusai yra labai genetiškai artimi, todėl yra klasifikuojami kaip smulkių atrajotojų lentivirusai (SALV). Šių virusų genetinis panašumas rodo jų gebėjimą prisitaikyti prie skirtingų smulkiųjų atrajotojų rūšių ir tam tikrais atvejais pereiti iš vienos rūšies į kitą. Dėl šios priežasties mišriuose avių ir ožkų ūkiuose padidėja infekcijos plitimo rizika tarp skirtingų gyvūnų rūšių. Molekuliniai tyrimai rodo, kad SALV virusai pasižymi didele genetinė variacija, kuri gali turėti įtakos viruso virulentiškumui, audinių pažeidimo pobūdžiui ir diagnostinių tyrimų jautrumui. Šie virusai yra patogeniški tiek ožkoms, tiek ir avims. Nors klinikiniai požymiai gali skirtis priklausomai nuo gyvūnų rūšies, abiem atvejais infekcija dažniausiai būna lėtinė ir progresuojanti. Užsikrėtę gyvūnai tampa ilgalaikiais viruso nešiotojais bei svarbiu infekcijos šaltiniu bandoje (4; 12; 17).

Smulkiųjų atrajotojų lentivirusai gali infekuoti įvairias organizmo ląsteles, tačiau pagrindiniai jų taikiniai – monocitai, makrofagai ir dendritinės ląstelės (18). Monocitams bręstant į makrofagus audiniuose, skatinamas transkripci-

jos faktorius. Būtent tai lemia viruso genetinės informacijos integravimąsi į šeimininko DNR ir ilgalaikį viruso replikavimąsi šiose ląstelėse (4).

Patogenas gali replikuotis tik subrendusiuose monocituose – makrofaguose (19). Virusas replikuoja makrofaguose, tačiau limfocitų nepažeidžia. Virusas imunopatologinis mechanizmas dar nėra visiskai aiškus. Tačiau žinoma, jog dalyvauja komponentai, atsakingi už imuninį organizmo atsaką: ląstelės, atpažįstančios antigenus, T ir B limfocitai (19; 20). Monocituose esantis lenti-virusinis provirusas ilgai būna labai mažai ar visai nepatogeniškas. Manoma, kad šios latentiskai infekuotos ląstelės veikia kaip „Trojos arklys“ ir išnešioja patogeną po visą organizmą, tačiau jo poveikis neiškart būna pastebimas (21). Šio tipo virusai sukelia lėtinius ir lėtai progresuojančius susirgimus, pasireiškiančius retikuloendotelinėje sistemoje, pieno liaukose, CNS, plaučiuose ir/ar sąnariuose (20).

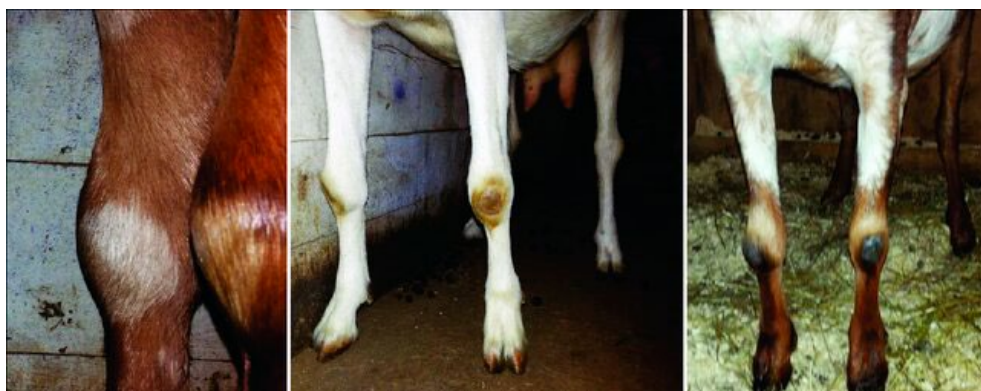
Įprastai, OAE virusas į organizmą patenka per kvėpavimo arba virškinimo sistemos gleivines. Iš pradžių jis infekuoja gleivinių dendritines ląsteles ir jų pagalba pernešamas į limfinius mazgus, kur užkrečia monocitus. Užkrėsti monocitai patenka į kraują ir cirkuliuoja organizme kaip infekcijos nešiotojai. Migracijos į audinius (plaučius, pieno liauką, CNS, sąnarius) metu monocitai diferencijuojasi į makrofagus, kuriuose prasideda aktyvi viruso replikacija. Infekuoti makrofagai palaiko vietinį uždegiminį atsaką ir prisideda prie sisteminės infekcijos plitimo. Persistuojanti infekcija pasireiškia jungiamojo audinio ir kaulų čiulpų pažeidimais bei lėtiniu imuniniu aktyvumu. Nuolatinė uždegiminių ląstelių infiltracija lemia limfoidinių folikulų susidarymą audiniuose, panašiai kaip limfmazgiuose. Ilgainiui sutrinka normali audinių struktūra ir funkcija, išsivysto lėtiniai patologiniai pokyčiai (4).

SALV plačiai paplitę visame pasaulyje. Užsikrėtimai fiksuojami Taivane, Kanadoje, Jordanijoje, Meksikoje, JAV, Australijoje, Didžiojoje Britanijoje, Ispanijoje, Egipte, Lenkijoje (22). Ožkų ir avių populiacijose infekuotų gyvūnų skaičius skirtinguose endeminiuose regionuose gali svyruoti nuo mažiau kaip 5 proc. iki 60 ir daugiau proc. (23). Virusas greičiau plinta didesnėse bandose, kur gyvuliai ilgą laiką laikomi uždaromis sąlygomis (24). OAE viruso paplitimas didesnis pieninių ožkų ūkiuose, negu mėsai ar kailiui auginamų ožkų ūkiuose. Šių skirtumų priežastys iki galo nežinomos, tačiau manoma, kad įtakos turi genetiniai faktoriai ar kitokios auginimo sąlygos (23). OAE viruso infekcija Lietuvoje yra diagnozuota, tačiau mokslinių publikacijų šia tema nėra paskelbta ir epidemiologinė situacija nėra nuodugniau išnagrinėta.

Smulkiųjų atrajotojų lentivirusus gali platinti visi infekuoti individai, sergantys klinicine ar subklinicine ligos forma (22). Virusas perduodamas horizontaliuoju būdu, tiesioginio kontakto metu per kvėpavimo takus ar vertikalioju būdu, kai infekuota ožka perduoda virusus ožiukui su krekenomis ar pienu (25; 26). Tai buvo įrodyta radus virusus pieno liaukos audiniuose

bei piene (27). Tačiau atlikus detalesnius tyrimus, nustatyta, jog laktogeniniu keliu virusu užsikrečia tik 10–15 proc. ožiukų. Taip pat nustatyta, kad toks virusų perdavimo būdas labiau būdingas ožkoms nei avims (28). Virusų perdavimas lytiniu keliu, dirbtinio ar natūralaus sėklinimo metu pasitaiko itin retai (29).

SALV infekcijai būdingas ilgas inkubacinis periodas. Užsikrėtusių ožkų bandose klinikiniai požymiai gali pasireikšti tik mažiau nei 30 proc. infekuotų individų (30; 31). Ožkų artrito-encefalito virusui būdingi klinikiniai ligos požymiai yra artritas, mastitas, o jaunikliams – encefalomielitas (30) (1.2 pav.). Retesniais atvejais infekuotų ožkų organizmuose virusas gali sukelti intersticinę plaučių pneumoniją ir progresuojančią dispneją (32).



1.2 pav. Ožkų artrito-encefalito klinikinė išraiška – sąnarių pažeidimai (33)

Taip pat gali būti pastebimi ir kiti simptomai: raumenų tremoras, depresija, vaikščiojimas ratu, galvos trankymas į sieną, klinikinis mastitas, limfadenopatija (34–36). Jauniems gyvūnams dažniausiai diagnozuojama intersticinė pneumonija ir encefalitas, tuo tarpu vyresniems gyvuliams dažniau pasireiškia mastitas bei artritas (37).

Šių virusų infekcija gali būti nustatoma serologiniu metodu nustatant antikūnus kraujo serume ar molekuliniiais metodais, aptikus viruso RNR ar į ląstelės genomą integruotą provirusinę DNR (38). Vieni tiksliausių OAE viruso infekcijos diagnozavimo metodų yra imunofermentinė analizė (ELISA) ir imunodifuzija agarų gelyje (AGID). Serologinė analizė ELISA ir AGID metodais gali būti atliekama tiriant kraujo serumą ar pieną, tačiau iki šiol manoma, kad kraujo serumo mėginių tyrimas rodo didesnę metodo jautrumą nei pieno mėginių tyrimas (39; 40). Ožkos, be OAE, gali būti užsikrėtusios ir sirgti kitomis užkrečiamomis ligomis. Tarp labiausiai paplitusių ir svarbiausių užkrečiamųjų ligų mokslininkai išskiria tokius patogenus kaip *Toxoplasma gondii*, *Hypoderma* spp., *Neospora caninum*, *Mycoplasma* spp., *Coxiella*

burnetii ir pestivirusai (Border liga, BD), kurių paplitimas Lietuvos ožkų populiacijoje yra netyrinėtas ir jų reikšmė ožkų sveikatai nežinoma (41).

Yra žinoma, kad *Toxoplasma gondii* sukelia reprodukcinis sutrikimus, daugiausia abortus, ir plinta oocistomis, kurios užteršia pašarą, vandenį ar aplinką. Ši liga pavojinga ir žmonėms, kadangi *Toxoplasma gondii* gali būti perduodama per užkrėstą gyvūninės kilmės produkciją ar kontaktą su užkrėsta aplinka. Žmonėms infekcija gali sukelti nervų sistemos pažeidimus, o nėščiosioms – vaisiaus apsigimimus ar persileidimą (42). Paskutiniai toksoplazmozės paplitimo tyrimai buvo atlikti 2005 metais, o tyrimo rezultatai parodė, kad jau tuomet *Toxoplasma gondii* buvo paplitusi Lietuvos ožkų bandose (nustatytas serologinis paplitimas siekė nuo 50 iki 83 proc.), tačiau nuo to laiko išsamesnių duomenų apie šios ligos paplitimą ožkų populiacijoje buvo labai mažai ir dabartinė situacija yra nežinoma (43).

Hypoderma spp. sukelia odos mijazę – parazitinę ligą, kai musių lervos po kiaušinėlių padėjimo ant gyvūno kailio prasiskverbia į audinius ir migruoja po oda, sudarydamos poodinius gumbus (angl. *warbles*). Šie patogenai plinta per suaugusiųjų musių dedamus kiaušinėlius. Ožkoms ši infekcija pasireiškia kaip poodiniai mazgai, odos pažeidimai. Dėl to nukenčia gyvūno gerovė, o taip pat gali būti sukelti ir ekonominiai nuostoliai dėl odos kokybės pablogėjimo (44). Deja, bet Lietuvoje nebuvo nuosekliai tirtas *Hypoderma* spp. paplitimas ožkų populiacijoje, todėl ligos epidemiologinė situacija išlieka neaiški.

Neospora caninum ožkoms dažniausiai sukelia reprodukcinis sutrikimas, tokius kaip abortas, nors ši infekcija tarp ožkų yra rečiau tiriama nei tarp galvijų. Oocistos su išmatomis patenka į aplinką, kur jos subręsta ir tampa užkrečiamos. Vėliau jas su pašaru ar vandeniu gali praryti tarpiniai šeimininkai (pvz., ožkos), ir taip prasideda infekcija. Sukėlėjas plinta tiek vertikaliai (iš užsikrėtusios patelės vaisiui), tiek horizontaliai, kai gyvuliai užsikrečia per pašarą ar vandenį, užterštą šunų išmatomis, nes šunys yra galutiniai parazitų šeimininkai. Tai viena svarbiausių horizontalaus infekcijos perdavimo formų ūkiuose (45). *Neospora caninum* Lietuvos ožkų populiacijoje iki šiol yra menkai ištirta.

Mycoplasma spp. ožkoms sukelia įvairias ligas, tokias kaip mastitas, artritas ir kvėpavimo takų infekcijos. Tai svarbios patogeninės bakterijos ožkų bandose, galinčios plisti per tiesioginį kontaktą tarp gyvūnų, taip pat per užkrėstą pieną ar išskyras. Naujausi tyrimai rodo, kad ožkų mastitas yra dažna problema pienininkystės ūkiuose ir gali būti susijęs su įvairiomis *Mycoplasma* spp. rūšimis, sukeliančiomis lėtines ir sunkiai gydomas infekcijas (46). Lietuvoje *Mycoplasma* spp. ožkų populiacijoje iki šiol nebuvo išsamiai tirta.

Coxiella burnetii yra Q karštinės sukėlėjas, kuris ožkoms sukelia reprodukcinis sutrikimus, ypač abortus, ir turi didelę zoonozinę reikšmę. Infekcija plinta daugiausia per aplinką, užterštą placentos audiniais, vaisiaus vandeni-

mis ir kitomis išskyromis ožkų ožiavimosi metu, taip pat per užkrėstą pieną ar užterštą ūkio inventorių. Dėl didelio atsparumo aplinkoje ši bakterija lengvai išlieka ir gali užkrėsti tiek gyvūnus, tiek žmones (47). *Coxiella burnetii* ožkų populiacijoje Lietuvoje iki šiol yra menkai tirta, ypač lyginant su galvijais ir kitais atrajotojais. Dėl šios priežasties reali infekcijos situacija ožkų ūkiuose išlieka nepakankamai ištirta.

Pestivirusai, įskaitant pasienio ligos virusus, ožkoms gali sukelti reprodukcinį sutrikimą ir įgimtą apsigimimą. Užsikrėtusioms ožkoms klinikiniai simptomai dažnai nepasireiškia, tačiau jos gali ilgą laiką išskirti virusą ir taip palaikyti infekcijos cirkuliaciją ūkyje. Infekcija plinta dažniausiai per tiesioginį kontaktą su užsikrėtusiais gyvuliais ir jų išskyromis, todėl ypač greitai gali išplisti mišriuose ūkiuose, kur kartu laikomos ožkos ir avys, sudarant palankias sąlygas viruso perdavimui ir išlikimui populiacijoje (48). Anksčiau atliktuose moksliniuose tyrimuose daugiausiai tirti galvijai ir avys, todėl duomenų apie šio viruso paplitimą šalyje trūksta.

Visos šios infekcijos neigiamai veikia bendrą ožkų sveikatą ir biologinį saugumą, lemia produktyvumo sumažėjimą ir finansinius nuostolius. Klinikiniai požymiai gali būti įvairūs – nuo besimptomų infekcijų iki reprodukcinų, kvėpavimo ar nervų sistemos sutrikimų, taip pat sąnarių pažeidimų (pvz., artrito, šlubavimo). Taigi, dažnai šios ligos pasireiškia tokiais klinikiniais požymiais, kuriuos sunku diferencijuoti nuo OAE, kuriai taip pat būdinga simptomų įvairovė (44; 49–51).

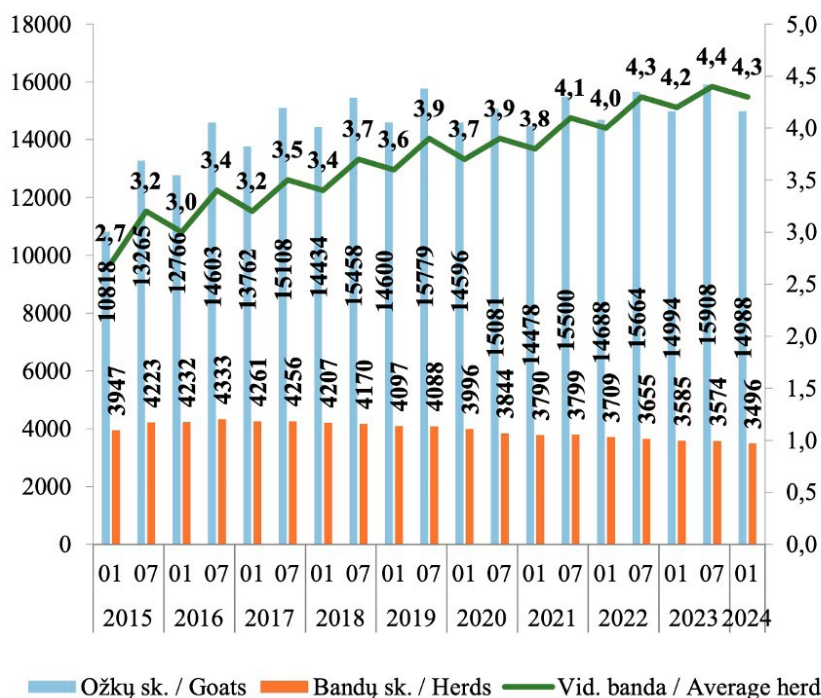
Taigi, mišrios infekcijos, kai ožka vienu metu užsikrečia daugiau nei vienu patogenu, gali apsunkinti diagnozę, sukelti netipiškus klinikinius požymius ir suteikti klaidingus tyrimų rezultatus. Jos taip pat siejamos su sunkesniais klinikiniais požymiais ir galimais didesniais ekonominiais nuostoliais. Tokių ligų kontrolė yra sudėtinga, nes patogenai skiriasi savo gyvavimo ciklais, gydymo ir prevencijos metodais. Rūpinantis šių ligų prevencija, gyvūnų sveikatingumo valdymas ūkiuose reikalauja kombinuotų gydymo metodų, tikslų vakcinacijos ar dehelmintizacijos planų bei griežtų biologinio saugumo priemonių ir nuolatinės kontrolės (52–55).

Nepaisant didelio ožkininkystės potencialo, kai tiek registruotų ožkų skaičius, tiek vidutinis bandos dydis pastarąjį dešimtmetį nuosekliai didėjo (56), Lietuvoje vis dar trūksta išsamių duomenų apie ožkų ligų paplitimą ir epidemiologinius ypatumus bei ligų plitimo rizikos veiksnius. Ankstesni lokalizuoti tyrimai apie sezoniską nematodų infekcijas ir parazitų atsparumą pabrėžia poreikį plačiai, šalies mastu vykdomai ožkų sveikatos priežiūrai, ypač virusinių, pirmuonių ir bakterinių infekcijų atžvilgiu. Todėl užkrečiamųjų ligų analizė ožkų populiacijoje yra būtina siekiant parengti veiksmingas, moksliškai pagrįstas prevencijos ir kontrolės strategijas.

2. TYRIMO METODAI

2.1. Tiriamoji ožkų populiacija

Remiantis šalies nacionalinių institucijų atlikta statistikos analize, nuo 2015 m. pradžios iki 2024 m. pradžios registruotų ožkų skaičius išaugo nuo 10 818 iki 14 988. Ožkų bandų skaičius per šį laikotarpį išlieka labai panašus. 2025 m. VĮ Žemės ūkio duomenų centre yra užregistruota 3 191 ožkų banda ir 14 160 ožkų. Vidutiniai ožkų bandos rodikliai taip pat didėja. Per minėtą laikotarpį šis rodiklis pasikeitė nuo 2,7 iki 4,3 gyvūno vienoje bandoje (2.1.1 pav.) (56).



2.1.1 pav. Ožkų bandos skaičiaus dinamika 2015–2024 m. (56)

Mėlyna spalva rodo bendrą ožkų skaičių, oranžinė – bandų skaičių, o žalia – vidutinio bandos dydžio skaičių.

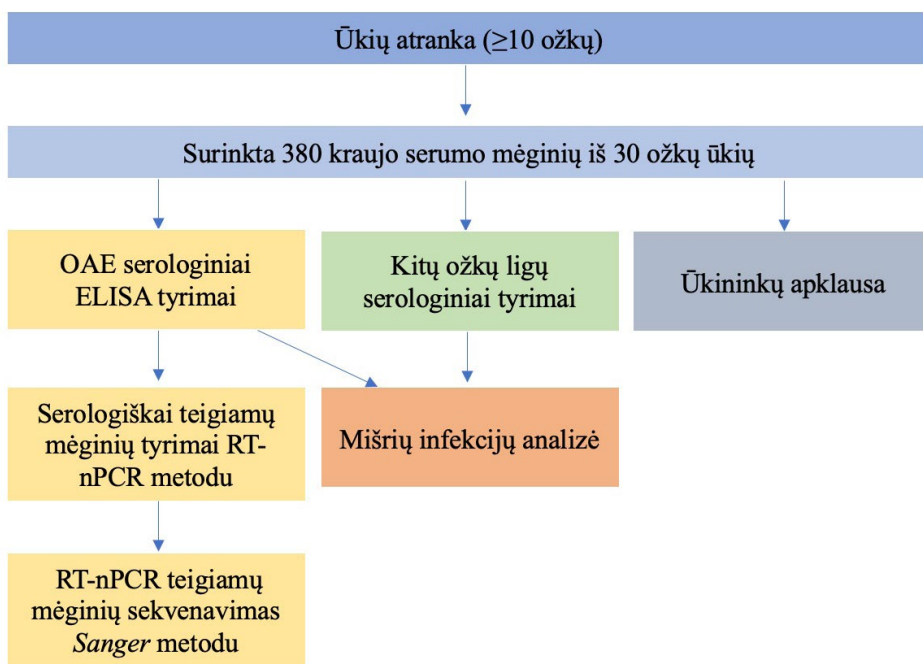
2.2. Ūkininkų atranka ir ūkių grupavimas

Tyrimui reikalingi duomenys buvo pradėti rinkti nuo 2021 metų gegužės mėn. iš visų ožkų augintojų, išsidėsčiusių dešimtyje Lietuvos apskričių (2.2.1 pav.) ir apie kuriuos internete yra randama viešai prieinama kontaktinė informacija. Taip pat buvo bendradarbiaujama su Lietuvos ožkų augintojų asociacijomis bei buvo prisijungta prie didžiausios Lietuvoje ožkų augintojų grupės socialiniame tinklapyje „Facebook“. Atrinkta 30 ūkių, kurie atitiko minimalų auginamų ožkų skaičių (10 vnt. viename ūkyje) bei sutiko dalyvauti tyrime (2.2.2 pav.).



2.2.1 pav. Tyrimo metu aplankytų ožkų ūkių žemėlapis Lietuvoje, 2021–2024 m.

Žemėlapis spalvos nesusijusios su tyrimo rezultatais.



2.2.2 pav. Tyrimo eiga ir planas

Reikalingas ūkių skaičius atsitiktinei atrankai iš Lietuvos ožkų populiacijos (ūkių lygmens imtis) buvo apskaičiuotas darant prielaidą, kad tikėtinas paplitimas yra 50 proc., paklaida ± 20 proc., ūkių lygmens diagnostinis jautrumas (SeH) – 96 proc., o specifiškumas (SpH) – 94 proc. Visose analizėse 95 proc. buvo laikomas pasiklovimo lygis. Apskaičiuota, kad reikalinga imtis yra 28 ūkiai. Tyrimas buvo suplanuotas taip, kad SALV infekuotas ūkis būtų aptiktas, jei tikrasis paplitimas ūkyje būtų bent 20 proc. Taikyta paprasta atsitiktinė ūkių atranka.

Reikalingas gyvūnų skaičius kiekviename ūkyje (vidaus ūkio imtis) buvo apskaičiuotas remiantis ELISA jautrumo ir specifiškumo rodikliais, darant prielaidą, kad vieno seropozityvaus mėginio užtenka, kad ūkis būtų laikomas infekuotu. Kiekviename ūkyje buvo tiriami visi suaugę patinai (≥ 1 metų amžiaus) ir reprezentatyvus suaugusių patelių (≥ 1 metų amžiaus) skaičius. Reikalinga vidaus ūkio imtis buvo 8–17 gyvulių.

Ūkių lygmens jautrumas (SeH) ir ūkių lygmens specifiškumas (SpH) buvo apskaičiuoti naudojant FreeCalc metodą (Cameron ir Baldock, 1998) „EpiTools“ (Sergeant, 2018) platformos HerdPlus modulyje, darant prielaidą, kad vidutinis ožkų ūkio dydis yra 20 gyvulių, o vidinė imtis – 12 atsitiktinai parinktų ožkų. Remiantis šiomis prielaidomis, SeH buvo 96 proc., o SpH – 94 proc.

Šiame tyrime dalyvavo įvairaus dydžio bandos. Bandos dydis svyravo nuo 10 iki 500 ožkų. Atsižvelgdami į tiriamos bandos dydį ir vidutinį ožkų bandos dydį Lietuvoje, tiriamas bandas suskirstėme į mažas (10–20 ožkų, $n = 15$), vidutines (21–50 ožkų, $n = 12$) ir dideles (>50 ožkų, $n = 3$), kad galėtume įvertinti ožkų sergamumo lygį pagal bandos dydį. Ši kategorija buvo pasirinkta remiantis tiriamų bandų dydžiu Lietuvoje ir kitais atliktais tyrimais (57).

2.3. Ūkininkų apklausa

Atliekant tyrimą buvo parengtas klausimynas, kuris buvo pateiktas ūkininkams. Klausimyno tikslas – išanalizuoti infekcinio ožkų artrito-encefalito (OAE) ligos epidemiologinius duomenis ožkininkystės ūkiuose, siekiant nustatyti šios ligos virusų sukeltas sveikatingumo ir produktyvumo problemas ožkų ūkiuose ir kaip galima padėti išvengti šių problemų.

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

2.4. Kraujo mėginių tyrimo metodika

Tyrimui ožkos buvo atrinktos atsitiktinai arba pagal klinikinių simptomų buvimą ir iš vieno ūkio buvo surinkta 10–15 kraujo mėginių, kurie buvo imami iš ožkos jungo venos į 10 ml mėgintuvėlius su krešėjimą skatinančia medžiaga (BD Vacutainer, BP–Plymouth, JK), laikomi per naktį $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad susidarytų krešulys, ir centrifuguojami 3000 aps./min. ($1390\times g$) 10 minučių. Serumai buvo surenkami į 2 ml Eppendorf mėgintuvėlius ir užšaldomi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje iki ELISA tyrimo.

Molekuliniams tyrimams siekiant išskirti leukocitų frakciją (periferinio kraujo mononuklearinės ląstelės (PBMC)), kraujo mėginiai su EDTA buvo apdoroti specialia medžiaga „Ficoll-Paque PLUS“. Į mėgintuvėlius su fikolu atsargiai supilamas kraujas, atskiestas su PBS. Mėgintuvėliai centrifuguojami 30 minučių $400g$ išcentrine jėga. Centrifuguojant susidaro atskiri sluoksniai, o PBMC ląstelės, randamos balkšvame „žiede“ tarp plazmos ir fikolo, surenkamos ir kelis kartus plaunamos su PBS centrifuguojant ir pašalinant priemaišas. Galiausiai ląstelės suspenduojamos PBS, perpilamos į kriomėgintuvėlius ir užšaldomos saugojimui $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje iki tyrimo.

Iš viso buvo ištirta 30 ožkų bandų ir surinkta 380 kraujo mėginių. Šiam tyrimui atlikti buvo gautas Bioetikos komiteto leidimas (2024-03-12

Nr. 2024-BEC3-T-008). Serologiniai tyrimai atlikti LSMU Veterinarijos akademijoje, Veterinarinės patobiologijos katedroje, o molekuliniai tyrimai atlikti Varšuvos gyvybės mokslų universitete mokslinės stažuotės metu su tarptautinio projekto partneriais.

2.5. OAE antikūnų tyrimas

Surinktų kraujo mėginių tyrimui naudotas netiesioginis komercinis ELISA testas, padengtas SALV struktūrinių baltymų sintetinių peptidų rinkiniu – paviršiaus glikoproteinu (gp135), transmembraniniu glikoproteinu (gp46) ir kapsidės baltymu (p25/p28) (ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test, ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, Prancūzija). Šis diagnostikos rinkinys skirtas antikūnams aptikti ir yra tinkamas nustatyti Maedi-visna viruso (MVV) arba ožkų artrito-encefalito viruso (OAEV) infekcijas. Šiuo būdu tiriami avių ir ožkų kraujo serumai, plazmos ar pieno mėginiai. Anti-MVV/OAEV antikūnai, jei jų yra, sudaro antigeno-antikūnų kompleksą. Anti-atrajotojų IgG klasės antikūnų ir peroksidazės (HRP) konjugatas taip pat pilamas į tyrimo plokštelės mikrošulinėlius. Reakcijos metu konjugatas jungiasi su anti- MVV/OAEV antikūnais ir susidaro antigeno-antikūno-konjugato-HRP kompleksas. Po plovimo, siekiant pašalinti perteklinį konjugato kiekį, įpilamas substrato tirpalas (TMB). Įvykus reakcijai su substrato medžiaga TMB, pakitusi spalva priklauso nuo specifinių antikūnų kiekio, esančių tiriamame mėginyje:

1. Jei yra antikūnų, tirpalas nusidažo mėlynai, kuris, papildomai įpylus stabdymo skysčio, tampa geltonas;
2. Jei nėra antikūnų, tirpalas lieka bespalvis.

Galutinis reakcijos vertinimas atliekamas spektrofotometru (BioTek Synergy Mx) matuojant skysčio optinį tankį ir pagal spalvos intensyvumo skirtumus nustatoma ar mėginyje yra antikūnų ar jų nėra.

ELISA tyrimas buvo atliktas pagal gamintojo instrukciją, o optinis tankis (OD) matuotas 450 nm bangos ilgyje naudojant Epoch mikroplokštelių spektrofotometrą (BioTek, JAV). Nustatytas ribinis (cut-off) taškas buvo mėginio ir teigiamos kontrolės santykis (S/P proc.) – 50 proc. Esant šiai ribinei vertei, tyrimo individualaus lygio diagnostinis jautrumas (SeI) buvo 91,7 proc. (95 proc. PI: 85,0–95,6 proc.), o specifiškumas (SpI) – 98,9 proc. (95 proc. PI: 96,2–99,7 proc.) (58). Jei optinis tankis viršijo 4,0 (viršutinė spektrofotometro aptikimo riba), S/P% buvo sąlyginai laikomas >500 proc.

2.6. Molekuliniai (PGR) tyrimai

DNR išskyrimas buvo atliktas naudojant Qiagen DNeasy® Blood & Tissue rinkinį (Qiagen, Hilden, Vokietija). Genetinis ryšys tarp smulkiųjų atrajotojų lentivirusų buvo analizuojamas naudojant 200 bp ilgio LTR-gag viruso genomo sekos fragmentą.

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

2.6.1. SALV genų sekos nustatymas

Buvo susisiektas su seropozityvių bandų savininkais ir gauti leidimai pakartotinai paimti kai kurių seropozityvių ožkų mėginius molekuliniams tyrimams. Kraujo mėginiai buvo paimti iš *vena jugularis* į 10 ml mėgintuvėlius su etilendiaminotetraacto rūgštimi (EDTA) kaip antikoagulantu (BD Vacutainer, BP-Plymouth JK) ir centrifuguojami 3000 aps./min. ($1390 \times g$) 10 min. Paimta 500 μ l leukocitų frakcijos, išskirtos naudojant „Ficoll-Paque PLUS“ tankio gradientinį centrifugavimą. Leukocitai buvo surinkti iš tarpfazinio sluoksnio, pašalinus eritrocitus ir plazmos priemaišas. Gauta leukocitų suspensija laikyta -20°C temperatūroje iki tolimesnių tyrimų.

DNR iš leukocitų buvo ekstrahuota naudojant Qiagen DNeasy® Blood & Tissue rinkinį (Qiagen, Hilden, Vokietija) ir išskiriama naudojant 100 μ l eliuavimo buferio pagal gamintojo protokolą. Ekstraktai buvo tiriami naudojant dviejų pakopų lizdinę realaus laiko PGR (RT-nPCR), siekiant nustatyti SALV genotipo A ir B provirusinę DNR (59). Buvo vykdomi du nuoseklūs amplifikacijos etapai. Pirmasis žingsnis buvo įprastas kokybinis PGR, kuriame buvo 12,5 μ l Hotstar Taq Master Mix (HotStarTaq DNA Polymerase rinkinys, Qiagen GmbH, Hilden, Vokietija), 0,15 μ l pradmenų mišinio (2.6.1.1 lentelė) ir 5 μ l ekstrahuotos DNR. Amplifikacija prasidėjo polimerazės aktyvavimu 95°C temperatūroje 15 minučių, po to 40 ciklų: 20 s 94°C temperatūroje, 30 s 60°C temperatūroje atkaitinimui ir 45 s 72°C pratęsimui. Antrame etape visi pirmojo PGR produktai buvo išbandyti lygiagrečiai, naudojant du genotipui būdingus RT-PGR, kad būtų galima aptikti ir atskirti SALV genotipus A ir B. RT-PGR reakcijose buvo 12,5 μ l TaqMan™ universalaus PGR pagrindinio mišinio (Applied Biosystems, Life Technologies, Waltham, MA, JAV), 0,25 μ l kiekvieno pradmens, 0,5 μ l zondų ir 5 μ l PGR produkto

iš pirmojo etapo. Amplifikacijos profilius sudarė 20 s laikymo stadija 95 °C temperatūroje ir 40 ciklų PGR stadija: 15 s 95 °C temperatūroje ir 60 s 60 °C temperatūroje. Terminis ciklas buvo atliktas naudojant 7300 Real-time PGR sistemą (Applied Biosystems, Life Technologies, Waltham, MA, JAV) ir LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Šveicarija). Atlikto RT-nPCR rezultatai laikyti teigiamais, kai ciklo slenksčio (Ct) vertė < 35, o teigiamiesiems mėginiams Ct reikšmės registruotos kaip santykinė viruso kiekio informacija.

2.6.1.1 lentelė. *Pradmenys, naudoti dviejų etapų įdėtinėje realaus laiko PGR (nRT-PGR) smulkiųjų atrajotojų lentiviruso (SRLV) provirusinės DNR aptikimui ir A bei B genotipų diferencijavimui (59)*

Lizdinė realaus laiko PGR (RT-nPCR)		Oligonukleotidai	Pradmenų sekos	Padėtis SALV genome
Pirmas etapas	Išoriniai pradmenys	SRLV-F1	5'-CGCAGGTGGCGCCCAAG-3'	158-173
		SRLV-F2	5'-CGCAGSTGGCGCCCAA-3'	158-173
		SRLV-R1	5'-CCTTCTGTCAGGCGCTCCCC-3'	622-642
		SRLV-R2	5'-CCTTCCGTCAAGGTCTCC-TTCC-3'	621-642
		SRLV-R3	5'-CCTTCTGTCAAGGTCTCC-TTCCC-3'	620-642
		SRLV-R4	5'-CCTTCTGTCAAGTGCTCCCC-TCT-3'	620-642
		SRLV-R5	5'-CCTTCTGTCAGGTGCTCCCC-TCT-3'	620-642
Antras etapas	A genotipui specifinė realaus laiko PGR	RT-A-LTRgag-F	5'-GGGGACGCCTGAAGTRAGG-TAA-3'	287-308
		RT-A-LTRgag-R	5'-YTTGAGCTCRGGGTAYCCC-TT-3'	517-537
		RT-A-LTRgag-P	5'-FAM-CTTTGAGCCTTGCKTC-GCCATGTCT-TAMRA-3'	486-510
	B genotipui specifinė realaus laiko PGR	RT-B-LTRgag-F	5'-CTGRAGGAGTAMGGTAAG-TRACTCTGC-3'	324-350
		RT-B-LTRgag-R	5'-TTGATRCATTTKTCSAKCTCA-GGATAA-3'	565-591
		RT-B-LTRgag-P	5'-FAM-CCGGAGACTTGCCCTCGC-CATGTC-TAMRA-3'	530-552

Iš kiekvienos RT-nPCR teigiamos ožkų bandos viena kiekvieno SALV genotipo padermė buvo pateikta RT-nPCR tikslinės srities sekos nustatymui naudojant Sanger metodą. Sekvenavimą atliko komercinė laboratorija (Genomed, Varšuva, Lenkija). Referentinės sekos buvo atrinktos iš GenBank duomenų bazės taip, kad reprezentuotų pagrindinius literatūroje aprašytus

SALV genotipus ir potipius bei sudarytų galimybę tiksliai nustatyti Lietuvos izoliatų filogenetinę priklausomybę. Sekos buvo deponuotos „GenBank“ (prisijungimo numeriai: PP855635–PP855644). Genetinis giminingumas tarp SALV padermių buvo analizuojamas remiantis 200 bp ilgio ilgojo galo regiono (LTR) fragmentu ir provirusinės DNR gag geno seka (LTR- gag), esančia RT-nPCR tikslinėje sekoje (59). Iš viso buvo analizuotos 10 sekų, papildytų 27 glaudžiai susijusiomis etaloninėmis RNR arba provirusinės DNR sekomis, apimančiomis įvairius smulkiųjų atrajotojų lentivirusų (SALV) genomo potipius: A1 (EV1, Kv1514, Kv1772, SA-OMVV), A2 (OvLV 85/34, USMARC-200303013-1, 1150), A2/A3 (697), A4 (AY445885), A18 (SRLV025), A19 (SRLV009), B1 (CAEV-Cork, SRLV020, SRLV/B1/Goat/MX/INIFAP-1/2013, FESC-752, SRLV_To1.89, SRLV010, Gansu), B2 (Ov496, SRLV001, SRLV042), B3 (Fonni, Volterra), C1 (1GA), E1 (Rocca-verano) ir E2 (Seui). Detalesnė informacija apie naudotas referentines sekas pateikta 1 priede.

Gautos provirusinės DNR sekos buvo palygintos tarpusavyje naudojant Muscle algoritmą, įdiegtą Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) programinėje įrangoje. Filogeninė konstrukcija buvo atlikta naudojant kaimynų sujungimo (angl. *Neighbor-Joining*, NJ) metodą (60), taip pat MEGA. Evoliuciniai atstumai buvo apskaičiuoti naudojant Tamura-Nei metodą (61) ir išreikšti nukleobazių pakeitimų (perėjimų ir transversijų) skaičiumi vienoje vietoje išilgai horizontalių filogeninių medžių šakų. Grafiškai tai rodoma visų horizontalių šakų tarp dviejų SALV padermių ilgių suma. Dviejų padermių tapatumo procentas buvo apskaičiuotas kaip 100 proc. atėmus visų nukleobazės pakaitų sumą vienoje vietoje tarp dviejų padermių. Topologijų patikimumas buvo įvertintas atliekant 1000 bootstrap pakartojimų, o rezultatai pateikti filogenetiniame medyje kaip procentinė dalis medžių, kuriuose pasikartojo ta pati topologija. (62). Visos pozicijos, kuriose yra spragų ir trūkstamų duomenų, buvo ignoruojamos. Padermė buvo priskiriama tam tikram potipiui, jei ji skyrėsi nuo prototipinės (-ių) padermės mažiau nei 0,15 nukleobazės pakeitimų vienoje vietoje (tapatumas > 85proc. proc.) (63).

2.7. Bandomųjų testų (*CAE-RAPID*) efektyvumo tyrimas

Atsižvelgiant į tai, kad CAE ligos diagnozavimui reikalingas dažnas gyvūnų testavimas, o serologiniai tyrimai nėra priimtini visiems ūkininkams, buvo sukurtas greitis *CAE-RAPID* testas vykdant tarptautinį mokslinį projektą „Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir įvertinimas“. Vykdyti keli etapai siekiant ištobulinti testo kokybę ir tikslumą.

Mokslinio projekto metu bandomieji testai buvo gauti iš Varšuvos gyvybės mokslų universiteto profesoriaus, tarptautinio projekto autoriaus ir koordinatoriaus Michał Czapowicz. Bandomosios testo serijos buvo pagamintos panaudojus smulkių atrajotojų lentivirusų A ir B genotipų transmembraninio (TM3) antigeno (sintetinių peptidų, konjuguotų su ovalbuminu) mišinius. Bandomieji *CAE-RAPID* greitieji testai buvo išbandyti vertinant jų jautrumą ir specifiškumą praėjus 10–40 minučių po kraujo lašo įlašinimo į šulinėlį pagal specifinių linijų susidarymą testo kasetėje.

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

Antrajame greitojo testo tyrimų etapui buvo atrinkta 217 ožkų kraujo serumo ir tiek pat pieno mėginių. Šie mėginiai buvo suskirstyti į tikrai teigiamus mėginius (143 mėginiai, gauti iš ožkų, kurių užsikrėtimas buvo patvirtintas ELISA ir PGR metodais) ir 74 tikrai neigiamus mėginius (šie mėginiai buvo paimti iš ožkų, kurios buvo neužsikrėtę OAE virusais, tiriant jas ELISA ir PGR metodais).

Diagnosticinis greitojo testo jautrumas buvo apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{Proc.} = (\text{TT} / (\text{TT} + \text{NN})) \times 100\%,$$

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

Diagnosticinis specifiškumas buvo apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{Proc.} = (\text{TN} / (\text{TN} + \text{NT})) \times 100\%,$$

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

2.8. Kitų ožkų ligų tyrimų metodika

2.8.1. Toksoplazmozė

Toxoplasma gondii infekcijos paplitimui įvertinti buvo atlikta serologinė analizė, naudojant komercinį testą ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species (IDvet, Prancūzija). Šis testas dažnai taikomas veterinariniuose ir epidemiologiniuose tyrimuose dėl aukšto jautrumo ir specifiškumo, leidžiančio patikimai nustatyti IgG antikūnus prieš *T. gondii* įvairių gyvūnų rūšių kraujo serume (64).

Prieš analizę serumo mėginiai buvo atšildyti kambario temperatūroje ir homogenizuoti, siekiant užtikrinti jų vientisumą. Pagal gamintojo nurodymus mėginiai buvo praskiedžiami specifiniu praskiedikliu, kuris užtikrina optimalias antigeno–antikūno sąveikos sąlygas (IDvet 2020). ELISA plokštelės duobutės, padengtos *T. gondii* antigenais, buvo pripildytos praskiestais mėginiais ir kontrolėmis. Teigiama ir neigiama kontrolės užtikrina tyrimo kokybinę kontrolę bei rezultatų interpretacijos tikslumą.

Pirmojo inkubacijos etapo metu mėginiuose esantys specifiniai IgG antikūnai, jei jie buvo susiformavę, prisijungė prie plokštelėje esančių *T. gondii* antigenų. Po inkubacijos plokštelė buvo išplauta pašalinant visus nesusijusius komponentus, o tuomet į duobutes pridėtas fermentu žymėtas antrinis anti-IgG konjugatas.

Po pakartotinio plovimo į mikroplokštelės duobutes buvo pridėtas chromogeninis substratas TMB. Fermentinė reakcija lėmė spalvos intensyvėjimą, kuris yra proporcingas prisijungusių antikūnų kiekiui mėginyje. Reakcija buvo sustabdyta rūgštiniu tirpalu, o optinis tankis išmatuotas 450 nm bangos ilgyje. Jei mėginyje yra antikūnų, jie jungiasi prie antigeno ir prie jų prisijungęs fermentas suskaido TMB substratą. Atsiradus spalvai, jos intensyvumas parodo, daug ar mažai antikūnų yra aptikta tiriamajame mėginyje.

Remiantis gamintojo pateiktomis ribinėmis vertėmis, mėginiai buvo klasifikuojami kaip teigiami, neigiami arba abejotini. ELISA metodas dėl savo patikimumo, standartizuotų procedūrų ir tinkamumo didelės apimties serologiniams tyrimams laikomas vienu svarbiausių *T. gondii* epidemiologijoje ir serologinio paplitimo tyrimuose (65).

2.8.2. Hipodermozė

Ožkų užsikrėtimo *Hypoderma* spp. lervomis paplitimui įvertinti buvo atliktas serologinis tyrimas, taikant komercinį enzimų imuninės sorbcijos (ELISA) metodą ID Screen® Hypodermosis Indirect (IDvet, Prancūzija). Šis testas plačiai taikomas galvijų ir smulkiųjų atrajotojų hipodermozės diagnostikoje, nes pasižymi aukštu jautrumu latentinei infekcijai diagnozuoti, leidžiančiu aptikti ankstyvą humoralinį IgG atsaką dar prieš lervų migracijos klinikinę stadiją.

Tyrimui naudoti ožkų serumo mėginiai buvo atšildyti kambario temperatūroje ir homogenizuoti. Vadovaujantis gamintojo nurodymais, mėginiai buvo praskiedžiami specifiniu praskiedikliu, paruoštu užtikrinti optimalias antigeno–antikūno sąveikos sąlygas (IDvet 2021). ELISA plokštelės duobutės, padengtos *Hypoderma* spp. lervų antigenais, buvo pripildytos paruoštais tiriamaisiais mėginiais ir kontroliniais tirpalais. Teigiama ir neigiama kontrolės leido įvertinti tyrimo patikimumą.

Pirmojo inkubacijos etapo metu mėginiuose esantys specifiniai anti-*Hypoderma* IgG antikūnai jungėsi prie plokštelėje imobilizuotų antigenų. Vėliau, plokštelę išplovus ir pašalinus nesusijusius komponentus, į duobutes buvo pridėtas fermentu žymėtas anti-rūšinis konjugatas, specifiskai atpažįsantis ožkų IgG. Šio konjugato naudojimas leidžia tirti skirtingų rūšių atrajotojų mėginius, todėl šis testas yra tinkamas mišrių bandų epidemiologiniams tyrimams.

Po antrojo inkubacijos etapo ir pakartotinio plovimo į duobutes buvo pridėtas chromogeninis substratas TMB. HRP fermento reakcijos metu susidarė mėlyna spalva, kurios intensyvumas buvo proporcingas mėginyje esančių anti-*Hypoderma* spp. antikūnų kiekiui. Reakcija sustabdyta rūgštiniu sustabdymo tirpalu, spalvai pasikeitus į geltoną. Mėginyje susijungus antikūnams ir antigenams, o prie jų prisijungus fermentams, kurie suskaido TMB substratą, atsiranda spalva. Kuo spalva ryškesnė, tuo daugiau antikūnų aptikta tiriamajame mėginyje.

Mėginiai buvo suskirstyti į teigiamus, neigiamus arba abejotinus. Teigiamas rezultatas indikuoja, kad gyvūnas buvo kontaktavęs su *Hypoderma* spp. lervomis ir yra susiformavęs specifinis IgG atsakas, kuris paprastai nustatomas ankstyvose migracinių lervų stadijose dar prieš klinikinių požymių pasireiškimą.

2.8.3. Neosporozė

Norint įvertinti ožkų užsikrėtimo *Neospora caninum* paplitimą ir specifinio humoralinio imuniteto susiformavimą, buvo atlikta serologinė analizė, naudojant komercinį ID Screen® *Neospora caninum* Indirect (IDvet, Prancūzija) testą. Šis metodas yra plačiai naudojamas galvijų ir smulkiųjų atrajotojų neosporozės diagnostikoje dėl aukšto jautrumo ir specifiskumo, ypač vertinant reprodukcinius nuostolius bei identifikuojant latentines infekcijas.

Tyrimui buvo naudojami ožkų serumo mėginiai, prieš analizę atšildyti kambario temperatūroje ir homogenizuoti. Vadovaujantis gamintojo rekomendacijomis, serumo mėginiai buvo praskiedžiami specifiniu praskiedikliu, optimizuotu antigeno–antikūno reakcijai (IDvet 2021). ELISA plokštelės duobutės, padengtos *N. caninum* antigenais, buvo pripildytos praskiestais tiriamaisiais mėginiais ir kontroliniais tirpalais.

Inkubacijos metu mėginiuose esantys specifiniai anti-*N. caninum* IgG antikūnai jungėsi prie plokštelėje esančių imobilizuotų antigenų. Pasibaigus inkubacijai, plokštelė buvo plauna, siekiant pašalinti nesusijusius komponentus, o tuomet į duobutes buvo pridėtas fermentu HRP žymėtas anti-rūšinis antikūnų konjugatas, siekiant aptikti specifinius antikūnų–antigenų kompleksus.

Po antrojo inkubacijos etapo plokštelė vėl buvo plaunama, o į duobutes įpilta tetrametilbenzidino (TMB) chromogeninio substrato. HRP–substrato

reakcija sukėlė mėlyną spalvą, kurios intensyvumas buvo tiesiogiai proporcingas mėginyje esančiam anti-*N. caninum* IgG antikūnų kiekiui. Reakcija buvo sustabdyta rūgštiniu tirpalu, spalvai pasikeitus į geltoną, o optinis tankis išmatuotas 450 nm bangos ilgyje. Jei mėginyje yra antikūnų, jie jungiasi prie antigeno ir prie jų prisijungęs fermentas suskaido TMB substratą, o tada atsiranda spalva. Kuo spalva ryškesnė, tuo daugiau antikūnų aptikta tiriamajame mėginyje.

ELISA metodas yra patikimas tiriant reprodukcinius sutrikimus bei tinka aptikti latentines ir subkliniškes ligos stadijas. Serologiniai *N. caninum* tyrimai suteikia vertingą informaciją apie infekcijos plitimą ožkų populiacijose, galimas transplacentinės infekcijos rizikas ir bendrą bandų sveikatingumo būklę.

2.8.4. Mikoplazmozė

Ožkų mikoplazmozės diagnostikai buvo atlikta serologinė analizė, taikant komercinį fermentų imuninės sorbcijos (ELISA) testą ID Screen® Mycoplasma agalactiae Indirect (Innovative Diagnostics, Prancūzija). Šis testas naudojamas nustatyti specifinius IgG antikūnus prieš *Mycoplasma agalactiae*, pagrindinį ligos sukėlėją.

Tyrimui buvo naudojami ožkų serumo mėginiai, prieš analizę atšildyti kambario temperatūroje, homogenizuoti ir vizualiai patikrinti dėl hemolizės ar užterštumo. Vadovaujantis gamintojo rekomendacijomis, mėginiai buvo praskiedžiami tam skirtu praskiedikliu, optimizuotu antigeno–antikūno ryšiui susidaryti. ELISA plokštelės duobutės, padengtos *M. agalactiae* antigenais, buvo pripildytos praskiestais tiriamaisiais mėginiais ir kontrolėmis.

Inkubacijos metu mėginiuose esantys specifiniai anti-*M. agalactiae* IgG antikūnai prisijungė prie plokštelėje imobilizuotų antigenų. Pasibaigus inkubacijos laikui plokštelė buvo plaunama keliais ciklais, siekiant pašalinti nesurištus baltymus ir kitus mėginio komponentus. Vėliau į duobutes buvo įpilta fermentu (HRP) žymėtas antrinis anti-rūšinis IgG konjugatas, kuris specifiskai atpažįsta ožkų IgG. Ši reakcija sudaro pagrindą vėlesnei kolorimetrinei detekcijai.

Po antrosios inkubacijos ir pakartotinio plovimo į duobutes buvo pridėta tetrametilbenzidino (TMB) substrato. HRP fermento sukelta substrato oksidacija sąlygojo mėlyną spalvą, kurios intensyvumas yra tiesiogiai proporcingas tiriamajame mėginyje esančių specifinių antikūnų kiekiui. Reakcija buvo sustabdyta rūgštiniu stop tirpalu, spalvai pasikeitus į geltoną, o optinis tankis (OD) išmatuotas 450 nm bangos ilgyje spektrofotometrinio skaitytuvu. Kuo ryškesnė geltona spalva (t. y. didesnis optinis tankis), tuo didesnė anti-*M. agalactiae* IgG koncentracija mėginyje, o blyški arba vos pastebima

spalva rodo antikūnų trūkumą arba labai mažą kiekį. Remiantis gamintojo pateiktomis ribinėmis vertėmis, mėginiai buvo suskirstyti į teigiamus, neigiamus arba abejotinus mikoplazmozės atžvilgiu. Teigiamas rezultatas rodo specifinės IgG imuninės reakcijos susiformavimą, o neigiamas rezultatas rodo, kad antikūnai neaptikti arba jų koncentracija yra per maža.

2.8.5. Pasienio liga

Ožkų užsikrėtimo pasienio liga (Border Disease, BD) paplitimui įvertinti buvo atlikta serologinė analizė, taikant komercinį ELISA testą ID Screen® BVD p80 Antibody Competition (Innovative Diagnostics, Prancūzija). Nors testas buvo sukurtas galvijų virusinės diarėjos antikūnams nustatyti, p80 (NSP23) baltymas yra konservatyvus pestivirusų grupėje, todėl testas gali būti pritaikytas pirminei pasienio ligos (BD) infekcijos serologinei diagnostikai ožkose.

Tyrimui buvo naudojami ožkų serumo mėginiai, kurie prieš analizę buvo atšildyti kambario temperatūroje ir homogenizuoti. Pagal gamintojo rekomendacijas mėginiai buvo praskiedžiami specifiniu praskiedikliu, optimizuotu antigeno–antikūno reakcijai. ELISA plokštelės duobutės, padengtos p80 antigenais, buvo pripildytos praskiestais tiriamaisiais mėginiais bei kontroliniais tirpalais.

Inkubacijos metu mėginiuose esantys anti-pestivirus IgG antikūnai, jei jų yra, konkuruoja su HRP fermentu žymėtu konjugatu dėl ribotų antigeno prisijungimo vietų. Pasibaigus inkubacijos laikui, plokštelė buvo plaunama, pašalinant neprisijungusius komponentus. Vėliau į duobutes buvo pridėtas konjugatas, o po antros inkubacijos ir pakartotinio plovimo – tetrametilbenzidino (TMB) substratas. HRP fermento reakcija sukėlė spalvos pokytį: mažesnis optinis tankis (blyški geltona spalva) atitinka didesnį antikūnų kiekį mėginyje, o stipresnė spalva (didesnis optinis tankis) rodo mažą antikūnų kiekį arba jų nebuvimą taikant konkurencinį ELISA metodą. Reakcija buvo sustabdyta rūgštiniu stop tirpalu, spalvai pasikeitus į geltoną, o optinis tankis buvo matuojamas 450 nm bangos ilgyje. Mėginiai buvo suskirstyti į teigiamus, neigiamus arba abejotinus.

2.8.6. Q karštinė

Norint įvertinti ožkų užsikrėtimą Q karštine (*Coxiella burnetii*) buvo atlikta serologinė analizė naudojant komercinį ELISA testą ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species (IDvet, Prancūzija). Šis testas yra pritaikytas įvairioms rūšims, įskaitant ožkas, ir leidžia nustatyti specifinius IgG antikūnus prieš *C. burnetii*, taip vertinant humoralinį imuninį atsaką infekcijos metu.

Tyrimui buvo naudojami ožkų serumo mėginiai, kurie prieš analizę buvo atšildyti kambario temperatūroje ir homogenizuoti. Pagal gamintojo nurodymus mėginiai buvo praskiedžiami tinkamu praskiedikliu, optimizuotu antigeno–antikūno reakcijai. ELISA plokštelės duobutės, padengtos *C. burnetii* antigenais, buvo pripildytos praskiestais tiriamaisiais mėginiais bei teigiamos ir neigiamos kontrolės tirpalais.

Inkubacijos metu mėginyje esantys specifiniai anti-*C. burnetii* IgG antikūnai jungėsi prie plokštelėje esančių antigenų. Po inkubacijos plokštelė buvo kruopščiai plaunama, kad būtų pašalinti nesusijungę komponentai. Tuomet į duobutes buvo pridėtas HRP (horseradish peroxidase) žymėtas antrinis anti-IgG konjugatas, specifiskai atpažįstantis ožkų IgG. Konjugato prisijungimas prie antigeno–antikūno kompleksų sudarė pagrindą vėlesnei kolorimetrinei detekcijai.

Po pakartotinio plovimo į duobutes buvo pridėtas tetrametilbenzidino (TMB) substratas. HRP–substrato reakcija sukėlė mėlyną spalvą, kuri, sustabdžius reakciją rūgštiniu tirpalu, pasikeitė į geltoną. Spalvos intensyvumas yra tiesiogiai proporcingas mėginyje esančių specifinių IgG antikūnų kiekiui – kuo ryškesnė geltona spalva, tuo daugiau anti-*C. burnetii* antikūnų, o blyški arba vos pastebima spalva rodo antikūnų nebuvimą arba labai mažą jų koncentraciją mėginyje. Mėginiai buvo klasifikuoti kaip teigiami, neigiami arba abejotini.

2.9. Statistinė duomenų analizė

Visi apklausos duomenys ir serologinių tyrimų rezultatai buvo suvesti į duomenų bazę ir naudoti tolimesnei analizei. Statistinė analizė atlikta naudojant IBM SPSS Statistics programinę įrangą, 30.0.0 versiją (IBM Corp., Armonk, NY, JAV). Pasirinkti statistiniai metodai atitiko analizuojamų duomenų tipą ir tyrimo tikslus. Z testas naudotas proporcijų skirtumams tarp grupių vertinti, o Pirsono χ^2 ir Fišerio tikslusis testas – galimoms asociacijoms tarp kategorinių kintamųjų nustatyti. Fišerio tikslusis testas buvo taikomas tais atvejais, kai dėl mažų imčių χ^2 testo taikymas buvo ribotas. Visoms analizėms statistinio reikšmingumo lygmuo buvo nustatytas kaip $p < 0,05$.

Serologinio paplitimo ožkų populiacijoje pasikliautinis intervalas (PI) ir paplitimo skirtumų patikimumas esant 95 proc. tikimybei buvo apskaičiuoti naudojant EpiTools epidemiologinę skaičiuoklę, pagal formulę:

$$PI = p \pm Z \times \sigma$$

kur PI – pasikliautinis intervalas; p – teigiamų mėginių dalis; Z – pasikliautinis koeficientas 0,95; σ – standartinė paklaida.

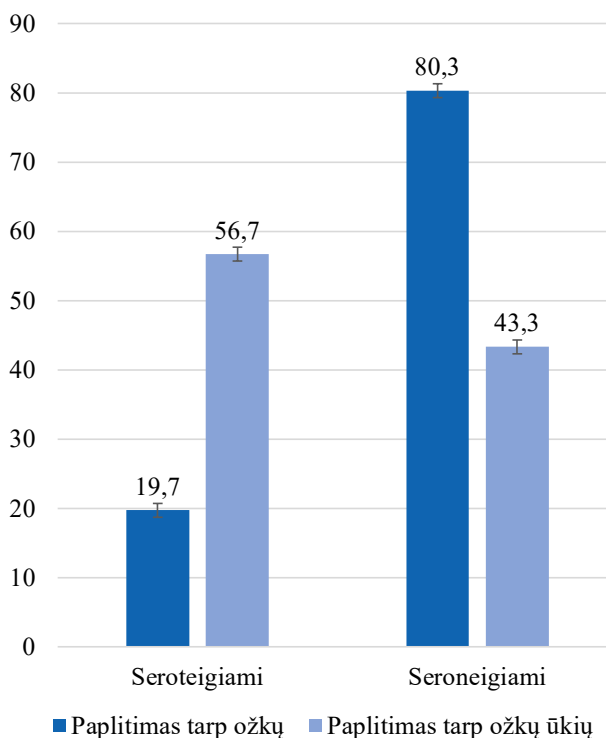
Tikėtinas virusų paplitimas bandos lygiu buvo apskaičiuotas atsižvelgus į tai, kad banda buvo laikoma užkrėsta, jei bent vienos ožkos ELISA testas buvo teigiamas.

3. REZULTATAI

3.1. Ožkų artritas-encefalitas

3.1.1. Serologiniai tyrimai

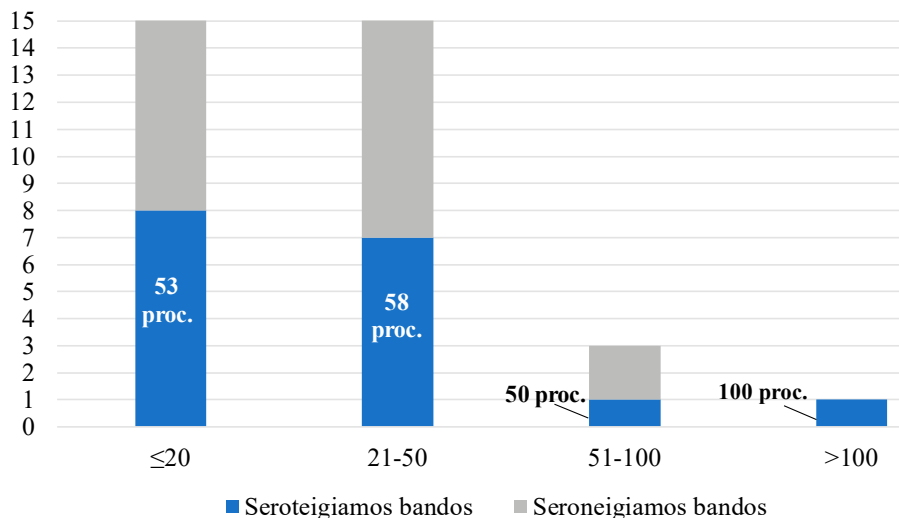
Iš viso buvo surinkta 380 ožkų kraujo serumo mėginių. Antikūnai prieš OAE virusą aptikti 75 mėginiuose (19,7 proc.). Buvo apskaičiuotas šio paplitimo 95 proc. patikimumo intervalas (PI), kurio vertės svyravo nuo 15,61 iki 23,82 proc. Nustatyta, kad skirtinguose ūkiuose OAE serologinis paplitimas reikšmingai skyrėsi. 17 iš 30 (56,7 proc.; 95 proc. PI 37,43–74,54 proc.) tirtų ožkų ūkių buvo rastas bent vienas serologiškai teigiamas gyvūnas (3.1.1.1 pav.)



3.1.1.1 pav. Serologinis OAE virusų infekcijos paplitimas tarp ožkų mėginių ir ūkių, proc.

Visose tyrimo dalyvavusiose ožkų bandose buvo nuo 10 iki 500 suaugusių ožkų, o mediana (IQR) buvo 22 (12–38) suaugusios ožkos. 23 iš 30 bandų (77 proc.) buvo laikoma nuo 1 iki 4 patinų (mediana – 1). 15 bandų (50 proc.) buvo labai mažos (≤ 20 suaugusių ožkų), 12 bandų (40 proc.) buvo mažos

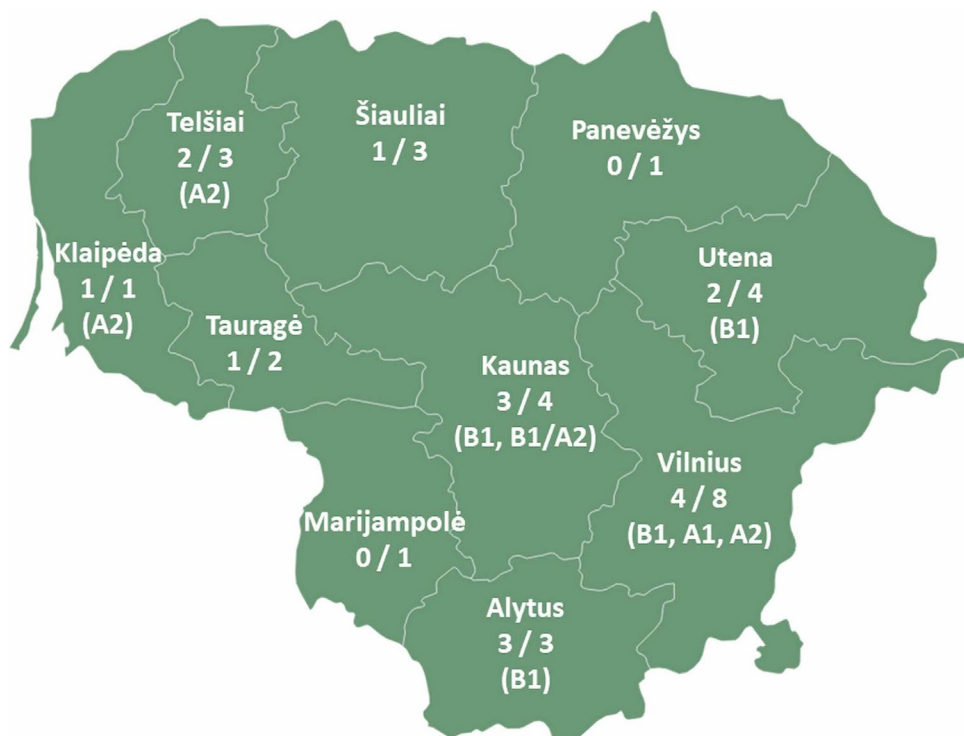
(21–50 suaugusių ožkų) ir tik 3 bandose (10 proc.) buvo laikoma daugiau nei 50 suaugusių ožkų. Didžiausia serologiškai teigiamų bandų dalis nustatyta 21–50 ožkų grupėje (58 proc.), tačiau panašus serologinis paplitimas buvo stebimas ir mažesnėse bandose (53 proc.) (3.1.1.2 pav.).



3.1.1.2 pav. *SALV infekcijai serologiškai teigiamų bandų pasiskirstymas pagal keturias bandų dydžio kategorijas (66)*

X ašis – bandos dydžio kategorija, Y ašis – bandų skaičius.

Bandos buvo išsidėsčiusios visose 10 Lietuvos apskrityų, tačiau net 8 bandos (27 proc.) buvo įsikūrusios Vilniaus apskrityje, o keturiose apskrityse buvo tik viena ar dvi bandos (3.1.1.3 pav.; 3.1.1.1 lentelė).



3.1.1.3 pav. *Tyrime dalyvavusių 30 ožkų bandų geografinis pasiskirstymas 10-yje Lietuvos apskričių (66)*

Trupmenos nurodo serologiškai teigiamų ožkų bandų skaičių iš visų serologiškai ištirtų ožkų bandų, o skliaustuose pateikiami nustatyti smulkiųjų atrajotojų lentiviruso (SALV) genetiniai potipiai.

3.1.1.1 lentelė. Smulkiųjų atrajotojų lentiviruso (SALV) infekcijai serologiškai tirtų bandų geografinis pasiskirstymas

Miestas	Serologiškai tirtos bandos	Serologiškai teigiamos bandos	Serologiškai teigiamos bandos tirtos su nRT-PGR	RT-nPCR ir Sangerio sekoskaitos metodu nustatyti SALV genetiniai potipiai (skliaustuose nurodyti padermių žymenys)
Vilnius	8	4	3	B1 (B-LT-I244), A1 (A-LT-G300), A2 (A-LT-H152)
Kaunas	4	3	2	B1 (B-LT-C30), A2&B1 (A-LT-B208 & B-LT-B210)
Utena	4	2	1	B1 (B-LT-J87)
Alytus	3	3	1	B1 (B-LT-E69)
Telšiai	3	2	1	A2 (A-LT-F347)
Šiauliai	3	1	0	-
Tauragė	2	1	0	-
Klaipėda	1	1	1	A2 (A-LT-D317)
Marijampolė	1	0	-	-
Panevėžys	1	0	-	-

14 iš 30 bandų (47 proc.) mėginių ėmimo metu arba per pastaruosius 5 metus ožkos buvo laikomos kartu su avimis. Kiekvienoje bandoje buvo iš-tirtos 4–32 ožkos (mediana: 12, IQR: 10–15). Tai atitiko 58 proc. bandos ožkų mėginių ėmimo medianinę dalį (IQR: 40–88 proc; diapazonas: 2–100 proc.). 19 iš 30 bandų (63 proc.) kraujo mėginiams paimtų ožkų skaičius atitiko išankstinius bandos mėginio dydžio reikalavimus, o likusiose 11 bandų kraujo mėginiams paimtų ožkų skaičius buvo mažesnis nei reikalaujama – 1–7 gyvūnai (mediana – 3). Iš viso serologiškai ištirta 380 suaugusių ožkų – 39 patinai (10,3 proc.) ir 341 patelė (89,7 proc.).

17-oje iš 30 tirtų bandų nustatyta bent viena serologiškai teigiama ožka, o tai sudaro 57 proc. bandų lygmens aparentini paplitimą (APH; 95 proc. PI: 39–73 proc.). Serologiškai teigiamos bandos buvo tolygiai pasiskirsčiusios visoje šalyje, tik 2 apskrityse tirtos bandos (po vieną bandą kiekvienoje) buvo seroneigiamos (3.1.1.3 pav.). APH nebuvo statistiškai reikšmingai susijęs nei su bandos dydžiu ($p = 0,902$) (3.1.1.2 pav.), nei kontaktu su avimis ūkyje ($p = 0,961$). APH statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp bandų, kuriose išankstiniai reikalavimai bandoje imties dydžiui buvo (11 iš 19 bandų; 58 proc.) arba nebuvo įvykdyti (6 iš 11 bandų; 55 proc.; $p = 0,728$). Tikrasis paplitimas (TPH) siekė 56 proc. (95 proc., tikėtinumo intervalas (TI): 36–76 proc.).

Iš viso 75 iš 380 ožkų ELISA tyrimo rezultatai buvo teigiami (19,7 proc.) – 6 iš 39 patinų (15,4 proc.) ir 69 iš 341 patelių (20,2 proc.) ($p = 0,459$). 12 iš 17 bandų teigiami buvo tik patelių kraujo mėginiai, 4 iš 17 bandų – patinų ir patelių, o vienoje bandoje (Nr. 23) teigiamas buvo tik vieno patino kraujo mėginys. Serologiškai teigiamose bandose teigiami buvo nuo 1 iki 11 ožkų kraujo mėginiai, o mediana buvo 3 (IQR: 2–7) ožkos. Šie skaičiai atitiko 7–100 proc. (mediana: 26 proc., IQR: 17–34 proc.) visų bandoje ištirtų ožkų. Trijose bandose (5, 22, 23 bandoje) tik viena iš tirtų ožkų buvo serologiškai teigiama.

Keturiose bandose (3, 6, 18 ir 22 bandose) buvo ištirtos visos suaugusios ožkos, ir 3 iš šių bandų buvo nustatyti keli serologiškai teigiami gyvūnai: 1 iš 12 ožkų 22 bandoje (8 proc.), 5 iš 16 (31 proc.) 18 bandoje ir 11 iš 32 (34 proc.) 3 bandoje. Ketvirtojoje bandoje (#6), kurioje buvo 11 ožkų, visos ožkos buvo seroneigiamos. ELISA teigiamų mėginių S/P santykis svyravo nuo 56,8 proc. iki >500 proc., o mediana buvo 316 proc. (IQR: 203 proc. – >500 proc.), ir jie reikšmingai nesiskyrė tarp patinų ir patelių ($p = 0,207$).

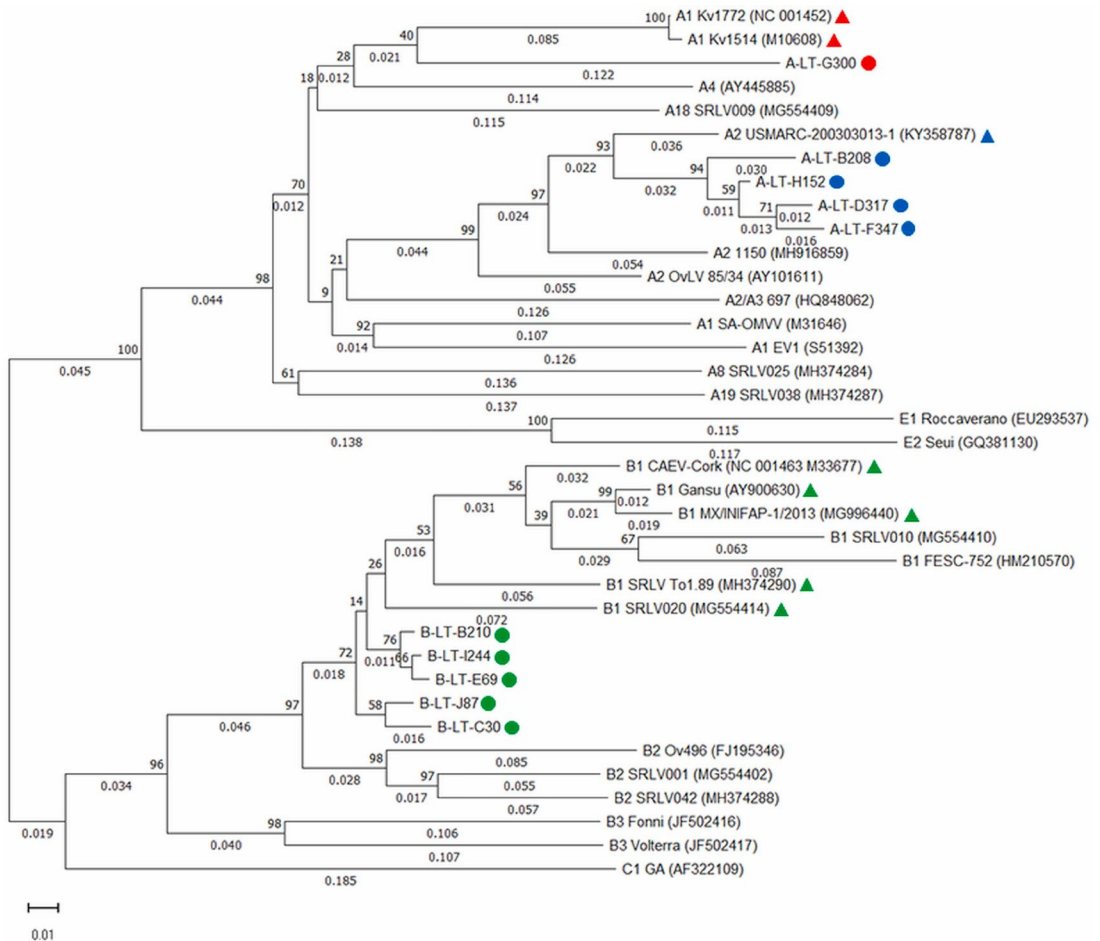
Išsamūs kiekvienos bandos duomenys pateikti 2 priede.

3.1.2. Molekuliniai tyrimai

Iš 10 serologiškai teigiamų bandų, kurių savininkai sutiko pakartotinai ištirti serologiškai teigiamų ožkų mėginius (3, 4, 7, 9, 14, 18, 20, 23, 24 ir 27 bandos), 1–5 atsitiktinai atrinktos serologiškai teigiamos ožkos buvo ištirtos naudojant nRT-PGR (iš viso 27 ožkos). 22/27 serologiškai teigiamų ožkų (81 proc.) iš 9/10 serologiškai teigiamų bandų rezultatas buvo teigiamas: 4 bandose ožkoms nustatytas A genotipas (iš viso 7 ožkos iš 14, 23, 24, 27 bandų), 4 bandose ožkoms nustatytas B genotipas (iš viso 12 ožkų iš 3, 7, 9, 20 bandų), o 1 bandoje (#18) 2 ožkoms nustatytas B genotipas, o 1 ožkai – A genotipas. Tai reiškia, kad banda buvo užkrėsta abiem genotipais. Vienoje bandoje (Nr. 4) viena ožka, tirta naudojant nRT-PGR, buvo neigiama. Iš viso 8 ožkos buvo teigiamos A genotipo, o 14 ožkų – B genotipo. Ct vertės svyravo nuo 6 iki 21 ciklo ir buvo reikšmingai mažesnės B genotipo atveju (mediana: 15 ciklas, IQR: 12–18 ciklas) nei A genotipo atveju (mediana: 19 ciklas, IQR: 17–20 ciklas; $p = 0,029$), o tai rodo santykinai didesnę SALV B genotipo virusinę apkrovą (angl. *viral load*) nei A.

Kontaktą su avimis turėjo 4 bandos iš 9, kuriose RT-nPCR tyrimo atsakymai buvo teigiami. A genotipas buvo aptiktas 1 iš šių 4 bandų (Nr. 24), B genotipas – 2 bandose (Nr. 3 ir Nr. 9), o mišri infekcija su A ir B genotipais taip pat buvo 1 bandoje (Nr. 18). Iš kiekvienos iš 9 serologiškai teigiamų bandų, kurioms nRT-PGR patvirtinta, kad jos užsikrėtusios SALV, po vieną kiekvieno genotipo PGR produktą buvo nusiųsta sekvenavimui *Sanger* metodu

(iš viso 10 mėginių), o LTR-gag sekos buvo panaudotos filogeniniam medžiui sudaryti (3.1.2.1 pav.).



3.1.2.1 pav. Lietuvos ožkų bandose nustatytų smulkiųjų atrajotojų lentivirusų (SALV) padermių ir skirtingiems SALV potipiams priskirtų etaloninių padermių filogenetinis medis

Filogenetiniame medyje pateikiamos 10 SALV padermių, nustatytų 9 bandose, kurios buvo teigiamos dviejų etapų lizdinės realaus laiko PGR (RT-nPCR) metodu. Nustatytos padermės pažymėtos spalvotais taškais: mėlyna spalva žymi padermes, glaudžiai susijusias su A2 potipiu, žalia – su B1 potipiu, o raudona – numanomą A1 potipį. Etaloninės padermės, atstovaujančios A1, A2/3, A4, A18, A19, B1, B2, B3, C, E1 ir E2 potipiams, pažymėtos atitinkamos spalvos trikampiais. Skaitinės reikšmės prie šakų nurodo nukleotidų pakaitų skaičių vienoje vietoje, atspindintį genetinį atstumą tarp padermių ir medžio šaknies. Bootstrap reikšmės (proc.) prie mazgų nurodo kladų patikimumo lygį (bootstrap medžių, kuriuose išlaikoma ta pati kladė, proporciją). Etaloninės padermės žymimos nurodant potipį, padermės pavadinimą ir „GenBank“ prisijungimo numerį.

Sekos buvo 203–299 bp ilgio (mediana 248 bp) ir susidėjo iš LTR fragmento, kurio ilgis buvo nuo 169 iki 207 bp (mediana 204 bp), ir gag geno fragmento, kurio ilgis buvo nuo 34 iki 95 bp (mediana 44 bp). Keturios bandos buvo užkrėstos padermėmis, labiausiai susijusiomis su B1 potipiu (B-LT-C30, B-LT-E69, B-LT-I244 ir B-LT-J87 padermės; identiškumas 90,5 proc. – 90,7 proc.), 3 bandos – su padermėmis, labiausiai susijusiomis su A2 potipiu (A-LT-D317, A-LT-F347 ir A-LT-H152 padermės; identiškumas 89,8 proc. – 91,9 proc.), o banda su mišria infekcija buvo užkrėsta padermėmis, labiausiai susijusiomis su B1 (B-LT-B210; identiškumas 90,7 proc.) ir A2 potipiu (A-LT-B208; identiškumas 89,9 proc.).

Bandoje, kurioje serologiškai teigiamas buvo tik vienas ožys patinas (#23), nustatyta, kad šis patinas buvo infekuotas padermės A-LT-G300 virusu, kuris filogenetiškai artimiausias A1 potipiui, nors nukleotidų pakaitų skaičius vienai vietai tarp šios SALV padermės ir prototipinės A1 potipio padermės buvo beveik dvigubai didesnis (20,3 proc., t. y. tik 79,7 proc. tapatumas) nei tarp kitų padermių ir atitinkamų prototipinių SALV potipių (3 priedas). Šios bandos SALV padermė buvo nutolusi nuo visų kitų Lietuvos padermių (3.1.2.1 pav., 3.1.2.1 lentelė).

3.1.2.1 lentelė. Dešimties Lietuvos SALV padermių evoliucinės divergencijos įverčiai, apskaičiuoti kaip nukleotidų pakeitimų skaičius vienai nukleotido vietai tarp SALV sekų (standartinės paklaidos pateiktos skliausteliuose)

	A-LT-G300	A-LT-H152	A-LT-F347	A-LT-D317	A-LT-B208	B-LT-B210	B-LT-C30	B-LT-E69	B-LT-I244
A-LT-H152	0,364 (0,060)								
A-LT-F347	0,359 (0,061)	0,025 (0,010)							
A-LT-D317	0,378 (0,063)	0,037 (0,013)	0,029 (0,011)						
A-LT-B208	0,380 (0,065)	0,059 (0,016)	0,042 (0,014)	0,065 (0,017)					
B-LT-B210	0,400 (0,061)	0,445 (0,060)	0,438 (0,060)	0,455 (0,062)	0,462 (0,064)				
B-LT-C30	0,393 (0,061)	0,471 (0,063)	0,464 (0,063)	0,481 (0,065)	0,480 (0,067)	0,051 (0,016)			
B-LT-E69	0,401 (0,065)	0,477 (0,068)	0,470 (0,068)	0,482 (0,070)	0,497 (0,073)	0,018 (0,009)	0,056 (0,017)		
B-LT-I244	0,417 (0,066)	0,481 (0,069)	0,474 (0,069)	0,486 (0,071)	0,502 (0,074)	0,009 (0,007)	0,053 (0,017)	0,009 (0,007)	
B-LT-J87	0,393 (0,061)	0,471 (0,064)	0,464 (0,064)	0,481 (0,066)	0,480 (0,068)	0,042 (0,014)	0,025 (0,010)	0,046 (0,015)	0,042 (0,015)

Glaudžiai tarpusavyje susijusios A2 potipiui priskirtos padermės pažymėtos mėlynai, B1 potipiui priskirtos padermės – žaliai, o labiau nutolusi A1 potipio padermė – raudonai.

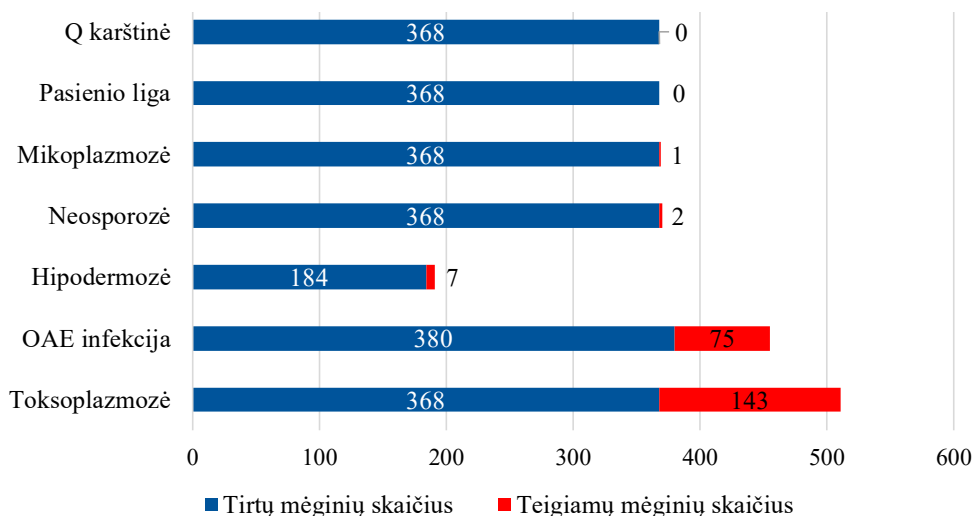
3.2. Kitų ligų serologiniai tyrimai

Tam, kad būtų galima įvertinti bandos sveikatingumą, svarbu atlikti keletos ligų tyrimus. Kai kurių ligų tyrimai svarbūs siekiant diferencijuoti ir atskirti panašius simptomus sukeliančias infekcijas. Šiame tyrime buvo įvertintas kelių infekcinių sukėlėjų serologinis paplitimas Lietuvos ožkų populiacijoje.

Iš viso ištirti 368 kraujo serumo mėginiai dėl *Toxoplasma gondii* antikūnų, kurie buvo aptikti 143 (38,9 proc.) mėginiuose (95 proc. PI: 33,85–44,05 proc.). Ūkių lygmeniu teigiami atvejai nustatyti 29 iš 30 aplankytų ūkių (96,6 proc.; 95 proc. PI: 82,78–99,92 proc.). Toje pačioje mėginių imtyje buvo tiriami *Neospora caninum* antikūnai, kurių paplitimas buvo labai mažas – tik 2 (0,5 proc.) mėginiuose (95 proc. PI: 0,07–1,95 proc.), o ūkių lygmeniu teigiami atvejai nustatyti 2 iš 30 ūkių (6,7 proc.; 95 proc. PI: 0,81–22,07 proc.). Taip pat, *Mycoplasma agalactiae* antikūnai buvo aptikti tik 1 (0,3 proc.) iš 368 mėginių (95 proc. PI: 0,01–1,51 proc.), o ūkių lygmeniu – viename iš 30 ūkių (3,3 proc.; 95 proc. PI: 0,08–17,22 proc.).

Be to, atlikta 184 serumų mėginių analizė dėl *Hypoderma* spp. Antikūnai buvo rasti 7 (3,8 proc.) mėginiuose (95 proc. PI: 1,54–7,68 proc.). Ūkių lygmeniu teigiami atvejai nustatyti 5 iš 16 ūkių (29,4 proc.; 95 proc. PI: 11,02–58,66 proc.; 6 pav.)

Siekiant nustatyti specifinių antikūnų prieš pestivirusus ir *Coxiella burnetii* buvimą, buvo ištirti 368 kraujo serumo mėginiai. Visi ištirti mėginiai buvo įvertinti kaip neigiami – nė vienas iš jų neturėjo antikūnų prieš minėtus patogenus (3.2.1 pav.).



3.2.1 pav. Kitų patogenų serologinis paplitimas tirtose ožkose

3.3. Porinių statistinių palyginimų ir infekcinių sukėlėjų sąsajų analizė

Šiame skyriuje pateikiami visi poriniai tirtų ligų palyginimai, naudojant tris statistinius metodus: **Z testą** proporcijoms (seropaplitimui) palyginti, **Fišerio testą** dvejetainiam ryšiui (ypač tinka retų atvejų atveju) ir **Chi kvadrato testą** bendro pasireiškimo ryšiui nustatyti. Kiekvienoje eilutėje palyginamos dvi ligos ir parodoma, ar skirtumas ar ryšys yra statistiškai reikšmingas (3.3.1 lentelė).

3.3.1 lentelė. Porinis ligų palyginimas

I liga	II liga	Patikimumas ($p < 0,05$)	Testai su reikšmingu rezultatu	Reikšmingas skirtumas	Reikšmingas ryšys
Toksoplazmozė	OAE	Taip	Z-test, Fisher, χ^2	Taip	Taip
Toksoplazmozė	Hipodermozė	Taip	Z-test, Fisher, χ^2	Taip	Taip
Toksoplazmozė	Neosporozė	Taip	Z-test	Taip	Ne
Toksoplazmozė	Mikoplazmozė	Taip	Z-test	Taip	Ne
Toksoplazmozė	Q karštinė	Taip	Z-test	Taip	Ne
Toksoplazmozė	Pasienio liga	Taip	Z-test	Taip	Ne
OAE	Hipodermozė	Taip	Z-test, Fisher, χ^2	Taip	Taip
OAE	Neosporozė	Taip	Z-test, Fisher, χ^2	Taip	Taip
OAE	Mikoplazmozė	Taip	Z-test	Taip	Ne
OAE	Q karštinė	Taip	Z-test	Taip	Ne
OAE	Pasienio liga	Taip	Z-test	Taip	Ne
Hipodermozė	Neosporozė	Taip	Z-test, Fisher, χ^2	Taip	Taip
Hipodermozė	Mikoplazmozė	Taip	Z-test, Fisher, χ^2	Taip	Taip
Hipodermozė	Q karštinė	Taip	Z-test	Taip	Ne
Hipodermozė	Pasienio liga	Taip	Z-test	Taip	Ne
Neosporozė	Mikoplazmozė	Taip	Fisher, χ^2	Ne	Taip
Neosporozė	Q karštinė	Ne	-	Ne	Ne
Neosporozė	Pasienio liga	Ne	-	Ne	Ne
Mikoplazmozė	Q karštinė	Ne	-	Ne	Ne
Mikoplazmozė	Pasienio liga	Ne	-	Ne	Ne
Q karštinė	Pasienio liga	Ne	-	Ne	Ne

Pastaba: dažniai apskaičiuojami iš bendro mėginių skaičiaus (380), nes analizė pagrįsta visos imties kontekstu. Kai kurios infekcijos (hipodermozė – 184 mėginiai) buvo tirtos mažesnėje imtyje, todėl dažniai vertinami atsargiai.

3.4. Mišrios infekcijos

Ištyrus skirtingas ožkų ligas, buvo mėginių, kurie buvo teigiami prieš keletą ligų. Antikūnai prieš vieną ligą buvo rasti 171 mėginyje, iš kurių beveik visi mėginiai buvo teigiami toksoplazmozei. Antikūnai prieš dvi ligas buvo

rasti 28 mėginiuose, iš kurių dauguma mėginių buvo prieš toksoplazmozę ir OAE viruso infekciją. Antikūnai prieš tris ligas buvo rasti 1 mėginyje, kuriam nustatyti antikūnai prieš toksoplazmozę, neosporozę ir OAE. Šie duomenys pabrėžia, kaip svarbu stebėti mišrias infekcijas bandų sveikatos valdyme (3.4.1 lentelė).

3.4.1 lentelė. Tirtų ligų antikūnų paplitimas bei jų sąsajos su kitų ligų antikūnais Lietuvos ožkų bandose

Aptiktų patogenų skaičius	Patogenas	Teigiamų mėginių skaičius	Teigiamų rezultatų dalis, proc.
1	<i>Toxoplasma gondii</i>	116	30,5
	<i>Hypoderma</i> spp.	1	0,54
	Lentivirusai/OAE	54	14,2
Iš viso		171	45
2	<i>Toxoplasma gondii</i> + <i>Hypoderma</i> spp.	6	1,57
	<i>Toxoplasma gondii</i> + <i>Neospora caninum</i>	2	0,54
	<i>Neospora caninum</i> + <i>Mycoplasma agalactiae</i>	1	0,27
	<i>Toxoplasma gondii</i> + Lentivirusai/OAE	19	5
Iš viso		28	7,4
3	<i>Toxoplasma gondii</i> + <i>Neospora caninum</i> + Lentivirusai/OAE	1	0,3
Iš viso		1	0,3
Bent vienas		200	52,6

Pateikiami 30 ištirtų ūkių rezultatai, kuriuose nustatyti antikūnai bent vienam iš tirtų patogenų.

3.4.1. Asociacijos testas mišrių infekcijų pagrindu

Šiame skyriuje pateikiami χ^2 asociacijos testo (angl. *chi-square test*) rezultatai tarp ligų porų, remiantis tik ožkomis, kurioms buvo patvirtintos infekcijos ($n = 200$). Vertinama, ar kelių infekcijų bendras pasireiškimas toms pačioms ožkoms yra dažnesnis, nei būtų tikėtina atsitiktinai. Tikslas – nustatyti, ar dvi ligos statistiškai susijusios tarp tuo pačiu metu užsikrėtusių gyvūnų.

Rezultatai parodė, kad statistiškai reikšminga sąsaja nustatyta tik tarp toksoplazmozės ir OAE ($\chi^2 = 19,05$, $p < 0,001$), o tai rodo dažnesnį nei tikėtasi bendrą pasireiškimą.

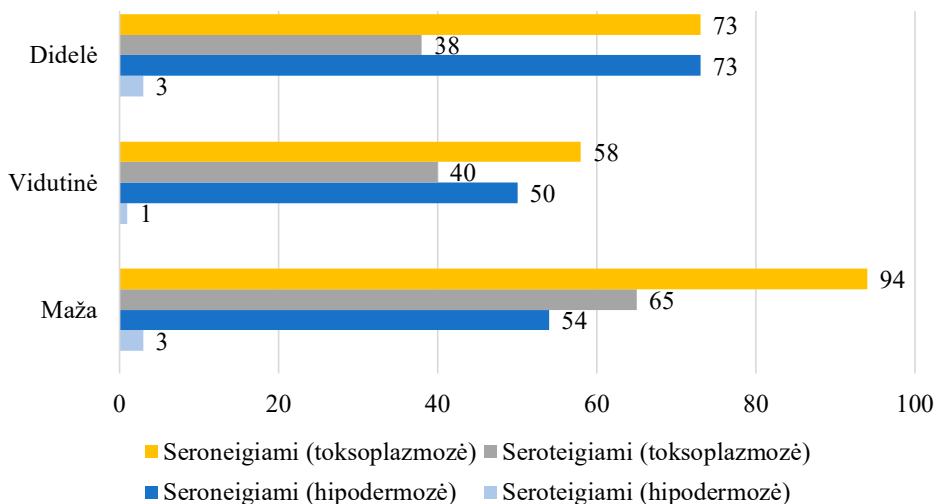
Visos kitos ligų poros arba neturėjo statistiškai reikšmingos asociacijos, arba duomenų buvo per mažai prasmingam testavimui, ypač retų infekcijų atvejais, kaip *Mycoplasma agalactiae*, *Neospora caninum* ir *Hypoderma* spp.

3.5. Kitų tirtų ligų serologinio paplitimo ryšys su ūkio dydžiu

Tyrime ištirti kraujo serumo mėginiai dėl kelių infekcinių ligų serologinio paplitimo Lietuvos ožkų populiacijoje. Iš viso ištirta 368 mėginiai toksoplazmozės, neosporozės ir mikoplazmozės atvejais bei 184 mėginiai hipodermozės atvejais.

Hypodermozės seroteigiamumas skirtingo dydžio ūkiuose buvo nedidelis: mažuose ūkiuose – 5,3 proc. teigiami, 94,7 proc. neigiami; vidutiniuose – 2 proc. teigiami, 98 proc. neigiami; dideliuose – 4 proc. teigiami, 96 proc. neigiami. Statistinė analizė neparodė reikšmingos sąsajos tarp ūkio dydžio ir seroteigiamų mėginių ($\chi^2 = 0,805$, $df = 2$, $p > 0,05$; 9 pav.).

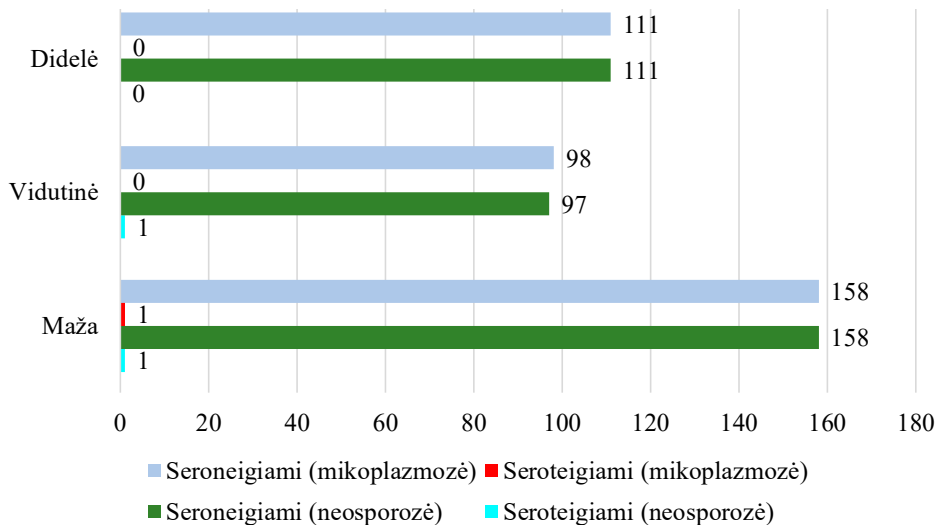
Toksoplazmozės seroteigiamumas buvo panašus mažose ir vidutinėse bandose (maži ūkiai – 40,9 proc. teigiami, 59,1 proc. neigiami; vidutiniai – 40,8 proc. teigiami, 59,2 proc. neigiami), o dideliuose ūkiuose skirtumai buvo mažesni (34,2 proc. teigiami, 65,8 proc. neigiami). Ūkio dydžio įtaka seroteigiamiems mėginiams nebuvo statistiškai reikšminga ($\chi^2 = 1,431$, $df = 2$, $p > 0,05$; 3.5.1 pav.).



3.5.1 pav. Ūkio dydžio įtaka serologiškai teigiamų ir neigiamų mėginių pasiskirstymui (hipodermozė ir toksoplazmozė)

Neosporozės ir mikoplazmozės atvejais seroteigiamumas buvo labai mažas. Seroteigiamų ir seroneigiamų mėginių paplitimas skirtingo dydžio bandose buvo toks: mažos bandos – 0,6 proc. teigiami ir 99,4 proc. neigiami neosporozės ir mikoplazmozės atvejais; vidutinės bandos – 1 proc. teigiami ir 99 proc. neigiami neosporozės atveju, o mikoplazmozės atveju – 0 proc. teigiami ir 100 proc. neigiami; didelės bandos – 0 proc. teigiami ir 100 proc. neigiami.

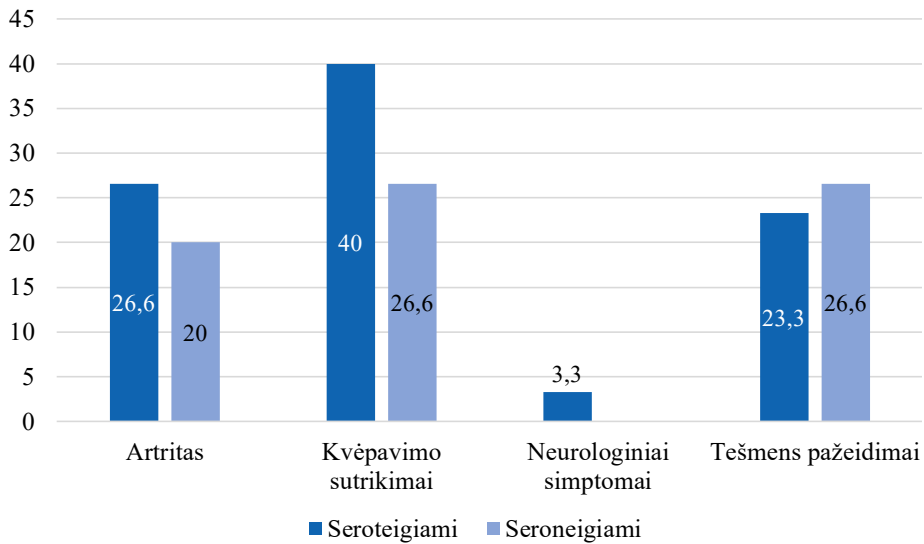
neigiami abiejų ligų atveju. Seroteigiamų mėginių dažnių analizė neparodė statistiškai reikšmingo ryšio tarp bandos dydžio ir seroteigiamumo nei neosporozei ($\chi^2 = 1,040$, $df = 2$, $p > 0,05$), nei mikoplazmozei ($\chi^2 = 1$, $df = 2$, $p > 0,05$; 3.5.2 pav.).



3.5.2 pav. Ūkio dydžio įtaka serologiškai teigiamų ir neigiamų mėginių pasiskirstymui (neosporozė ir mikoplazmozė)

3.6. Ūkininkų apklausos rezultatai

Be mėginių rinkimo, ūkininkai buvo konsultuojami ir kitais jiems rūpimais klausimais, teikiama veterinarinė pagalba. Taip pat, buvo atliekama ūkininkų apklausa siekiant nustatyti OAE ligos virusų sukeltas sveikatingumo ir produktyvumo problemas ožkų ūkiuose. Iš viso buvo apklausta 30 ožkų laikytojų. Kiekviename ūkyje nustatyti klinikiniai požymiai buvo palyginti su serologinių tyrimų rezultatais. Dažniausiai ūkiuose nustatyti klinikiniai požymiai buvo kvėpavimo sutrikimai (20 atvejų; 66,6 proc.) ir tešmens pažeidimai (15 atvejų; 50 proc.). Artrito požymiai nustatyti 14 atvejų (46,6 proc.), o neurologiniai simptomai užfiksuoti tik viename ūkyje (3,3 proc.) (3.6.1 pav.).



3.6.1 pav. Skirtingų OAE klinikinių požymių pasiskirstymas pagal ūkių serologinį statusą, proc.

3.7. Skirtingų OAE infekcijos klinikinių požymių ir ūkio būklės statistinė analizė

Skirtingų klinikinių požymių pasireiškimas tirtuose ožkų ūkiuose buvo palygintas su bandos/ūkio serologiniu statusu (seroteigiamos ir seroneigiamos ožkų bandos). Seroteigiamose bandose didžiausią dalį sudarė kvėpavimo takų ligos (40 proc.), o seroneigiamose bandose dažniausiai nustatyti kvėpavimo takų sutrikimai ir tešmens pažeidimai (po 26,6 proc.)

Lyginant klinikinių požymių pasireiškimą skirtingo serologinio statuso bandose, seroteigiamose ožkų bandose nustatyta 1,3 proc. daugiau artrito požymių ir 6,5 proc. daugiau kvėpavimo sutrikimų. Seroneigiamose ožkų bandose užfiksuota 11,4 proc. daugiau tešmens pažeidimų. Skaičiavimai rodo, kad bandos serologinis statusas yra statistiškai reikšmingai susijęs su klinikinių požymių pasireiškimu ($p < 0,001$) (3.7.1 lentelė).

3.7.1 lentelė. *Klinikinių simptomų pasireiškimo palyginimas su skirtingu bandos statusu*

Bandos statusas	Ūkiai su klinikiniais simptomais				Viso	χ^2	p reikšmė
	Artritas	Kvėpavimo sutrikimai	Neurologiniai simptomai	Tešmens pažeidimai			
Seroteigiama	8	12	1	7	28	84,00	0,001
Seroneigiama	6	8	0	8	22	44,00	0,001
Iš viso	14	20	1	15			

Apklausa taip pat parodė, kad ožkų augintojai turi nedaug žinių apie ožkų artrito-encefalito (OAE) plitimo, kontrolės ir prevencijos priemones. Pagal anketoje pateiktus klausimus nustatyta, kad iki šio tyrimo pradžios tik 4 iš 30 ūkių buvo tirti ir diagnozuoti dėl ožkų artrito-encefalito, o visuose ūkiuose jaunikliai girdomi ožkų pienu tiesiai iš tešmens, netaikant rekomenduojamų ligos kontrolės ar prevencijos priemonių. Be to, apklausus ūkininkus paaiškėjo, kad ožkų keitimasis ir prekyba tarp ūkių vyksta gana intensyviai. Įvertinus apklausos rezultatus kartu su atlikto tyrimo duomenimis, ūkininkams buvo pateiktos rekomendacijos, atsižvelgiant į individualius ūkių poreikius.

Vertinant gyvulių sveikatingumą, ūkininkams buvo užduoti klausimai (3.7.2 lentelė) apie bandose atliekamus tyrimus, vakcinaciją ir biologinio saugumo reikalavimų laikymąsi. Į klausimą apie virškinamojo trakto parazitinių ligų tyrimus ir gydymą 6 ūkininkai atsakė, kad tiek tiria, tiek gydo gyvulius, 2 nurodė, kad nei tiria, nei gydo, o 22 atsakė, kad gyvulius gydo profilaktiškai, tačiau tyrimų neatlieka. Vakcinacija ir rutininiai tyrimai dėl kitų infekcinių ligų nebuvo atliekami nė viename iš 30 apklaustų ir tirtų ūkių.

3.7.2 lentelė. *Apklausos ištrauka ir pateikti ūkininkų atsakymai*

Klausimas anketoje	Taip	Ne	Kartais
Ar ūkyje kada nors buvo diagnozuotas ožkų artritas-encefalitas?	4	26	-
Ar ūkyje ožkos laikomos kartu su avimis?	10	20	-
Ar jaunikliai girdomi ožkų krekenimis ir pienu?	30	0	-
Jei naudojamas ožkų pienas ir krekenos jaunikliams girdyti, ar jos yra termiškai apdorojamos (kaitinamos iki 56 °C 1 val.)?	0	30	-
Ar sergančias ožkas laikote atskirai nuo sveikų?	19	11	-
Ar pastebėję gyvūnų negalavimus kreipiatės į veterinarijos gydytoją?	24	2	4
Ar parduodate ir/ar perkate ožkas iš kitų ūkių?	27	3	-
Jeigu perkate/parduodate ožkas, ar savanoriškai atliekate tyrimus dėl infekcinių ligų? (Pavyzdžiui, serologiniai infekcinio ožkų artrito-encefalito tyrimai)	2	28	-

Įvairių ligų plitimui bandose didelę įtaką daro ne tik aktyvi gyvūnų prekyba ar mainai, bet ir karantino taikymas naujai į bandą atvestiems gyvuliams. 18 ūkininkų teigė taikantys karantiną, tačiau nustatyta, kad jis dažnai taikomas netinkamai, nes ūkininkai paprastai neturi galimybių visiškai izoliuoti gyvūno nuo likusios bandos, ypač ganymo laikotarpiu. Dažniausiai karantinuojamas gyvūnas laikomas tame pačiame pastate, tik atskirame garde, arba ganomas toje pačioje ganykloje. Įvertinus kiekvieno ūkininko pateiktus atsakymus ir jiems kilusius klausimus, buvo pateiktos rekomendacijos bei patarimai, kaip tinkamai elgtis išsijojant naujus gyvūnus.

3.8. Naujai sukurtų greitųjų *CAE-RAPID* diagnostinių testų tyrimas

Buvo atlikta klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų analizė, nustatytos galimos jų atsiradimo priežastys ir pateiktos rekomendacijos testo tobulinimui. Taip pat optimizuotos inkubacijos ir rezultatų nuskaitymo sąlygos, įvertinant optimalaus nuskaitymo laiko įtaką klaidingai teigiamų rezultatų dažniui.

Molekulinį tyrimų rezultatai prisidėjo prie testo antigeno atrankos ir sukūrimo, o atlikti tyrimai patvirtino testo tinkamumą Lietuvos ožkų populiacijos tyrimams. Sukurti ir pagaminti pirmieji bandomieji *CAE-RAPID* greitieji testai buvo išbandyti 2023 metais su kraujo serumu ir vertinamas jų jautrumas ir specifiškumas praėjus 10–20 minučių po kraujo įlašinimo į šulinėlį. Pradinis bandomasis tyrimas buvo atliktas su 92 teigiamais ir 46 neigiamais mėginiais, kurie prieš tai buvo patvirtinti ELISA tyrimu. Jie pasižymėjo šimtaprocentiniu specifiškumu, tačiau jautrumas neviršijo 62 proc. Atsižvelgus į tai, projekto užsienio partneriai atliko patobulinimus testų kūrimo technologijoje.

Antruoju etapu, 2024 metų testų tyrimo rezultatai parodė pakankamai didelį (80 proc.) jautrumą ir šimtaprocentinį specifiškumą. Eigoje buvo vertinamas testo efektyvumas tiriant ne tik kraujo serumą, bet ir pieną. Tyrimo metu buvo nustatyta, kad *CAE-RAPID* testo jautrumas tiriant pieną buvo reikšmingai didesnis nei tiriant kraują.

Atlikus testo jautrumo palyginimą skirtingais laiko intervalais, nustatyta, kad, praėjus daugiau nei 20 minučių nuo tiriamojo mėginio įlašinimo, testo jautrumas padidėjo ne daugiau kaip 2,5 proc. Šis skirtumas buvo statistiškai nereikšmingas ($p > 0,05$), todėl galima teigti, kad optimalus vertinimo laikas yra 20 minučių (3.8.1 lentelė).

3.8.1 lentelė. CAE-RAPID greituojų testu ištirtų mėginių jautrumo palyginamasis įvertinimas tiriant užsikrėtusias ožkas

Iš viso mėginių (n = 143)			
Mėginys	Vertinimas po 20 min.	Vertinimas po 30 min.	Vertinimas po 40 min.
Kraujas	110 teigiamų / 143 76,9 proc. (69,4proc. – 83,1 proc.)	118 teigiamų / 143 82,5 proc. (75,5 proc. – 87,9 proc.)	120 teigiamų / 143 83,9 proc. (77,0 proc. – 89,0 proc.)
Pienas	123 teigiami / 143 86,0 proc. (79,4 proc. – 90,8 proc.)	125 teigiami / 143 87,4 proc. (81,0 proc. – 91,9 proc.)	126 teigiami / 143 88,1 proc. (81,8 proc. – 92,4 proc.)
McNemar's testo p-reikšmė ($\alpha = 0,05$)	0,001	0,027	0,046

Skliausteliuose pateikta pasikliautinojo intervalo reikšmė, esant 95 proc. tikimybei.

Testo specifiškumas buvo vertinamas tiriant 74 tikrai sveikas, neužsikrėtusias ožkas. Tyrimo rezultatai pateikti 3.8.2 lentelėje. Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, visais testo rezultatų vertinimo laikotarpiais testo specifiškumas buvo identiškas.

3.8.2 lentelė. CAE-RAPID greituojų testu ištirtų mėginių specifiškumo palyginamasis įvertinimas tiriant 74 sveikas ožkas

Mėginys	Vertinimas po 20 min.	Vertinimas po 30 min.	Vertinimas po 40 min.
Kraujas	74 neigiami / 74 100 proc. (95,1 proc. – 100 proc.)	74 neigiami / 74 100 proc. (95,1 proc. – 100 proc.)	74 neigiami / 74 100 proc. (95,1 proc. – 100 proc.)
Pienas	73 neigiami / 74 98,6 proc. (92,7 proc. – 99,8 proc.)	73 neigiami / 74 98,6 proc. (92,7 proc. – 99,8 proc.)	73 neigiami / 74 98,6 proc. (92,7 proc. – 99,8 proc.)
McNemar's testo p reikšmė ($\alpha = 0,05$)	0,999	0,999	0,999

Skliausteliuose pateikta pasikliautinojo intervalo reikšmė, esant 95 proc. tikimybei.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Tyrimai buvo atliekami bendradarbiaujant su užsienio partneriais ir mokslininkais tarptautinio projekto „Ožkų virusinio artrito-encefalito (OAE) diagnostikos greitojo testo sukūrimas ir įvertinimas“ metu, kurį finansavo Lietuvos žemės ūkio ministerija (ŽŪM). Mokslinis projektas vyko 2021–2025 metais, o sėkminga tyrimų eiga leido įvykdyti iškeltą projekto tikslą – buvo sukurtas greitasis antikūnų *CAE-RAPID* testas, skirtas diagnozuoti visą gyvenimą truncančią ir nepagydomą ožkų artrito-encefalito ligą, kurią sukelia *Retroviridae* šeimos virusai.

Projekto vykdymo metu aplankius 30 ūkių visoje Lietuvoje ir atlikus serologinius bei molekulinis tyrimus tapo aišku, kad OAE virusų infekcija Lietuvoje yra endeminė. Tyrimas atskleidė naujausią serologinio paplitimo situaciją Lietuvos ožkų bandose dėl smulkiųjų atrajotojų lentiviruso infekcijos. Ožkų artrito-encefalito (OAE) liga buvo diagnozuota daugiau nei pusėje tirtų bandų (17 iš 30), o serologinis paplitimas siekė 19,7 proc. (95 proc. PI, 15,6–23,8 proc.) visų tirtų gyvulių. Šie rezultatai rodo pavienių atvejų ar galimų infekcijos židinių egzistavimą bandose, todėl reikalingi tolesni tyrimai stebėti ir kontroliuoti OAE virusą Lietuvos ožkų populiacijoje.

Tyrime nustatytas 19,7 proc. serologinis paplitimas rodo platų šios ligos paplitimą ožkų bandose, o panaši situacija fiksuojama ir kitose šalyse. Pavyzdžiui, Albanijoje pranešta, kad OAE viruso serologinis paplitimas ožkų bandose siekia iki 33,5 proc. (67). Kadangi OAE virusas dažniausiai plinta per užkrėstą pieną ar krekenas, seroteigiami atvejai gali būti susiję su netinkamu jauniklių izoliavimu po gimimo nuo seropozityvių ožkų. Deja, nepaisant pagrindinių kontrolės priemonių, OAE virusas taip pat plinta horizontaliai, artimai kontaktuojant bandos ožkoms (57; 68).

Panaši situacija dėl OAE paplitimo registruojama ir kaimyninėse šalyse. Pavyzdžiui, Lenkijoje 2023 metais vykusiam tyrimo dalyvavo 165 bandos iš įvairių Lenkijos regionų, o ištirta 8354 suaugusios ožkos. Nustatyta, kad tikrasis ligos paplitimas (užkrėstų bandų dalis) yra 61 proc. (95 proc. PI: 53–68 proc.). Šie rezultatai rodo, kad bandos lygiu serologinis paplitimas yra panašus į mūsų tyrimo rezultatus, o Lietuvoje bandos lygio serologinis paplitimas siekia beveik 57 proc. (57; 68; 69). Tačiau reikalinga atsižvelgti, kad šioje šalyje ožkų populiacija yra gerokai didesnė, o vidutinis bandų dydis yra apie 50 ožkų vienoje bandoje.

Tyrimas pirmą kartą parodė, kad SALV infekcija paplitusi Lietuvos ožkų populiacijoje, o užsikrėtę gali būti maždaug pusė ūkių. Nustatyti A ir B genotipų virusai, priklausantys klasikiniams A2 ir B1 potipiems. Tačiau dėl riboto

tyrimo tikslumo tikrasis infekuotų bandų skaičius gali svyruoti nuo maždaug trečdalis iki trijų ketvirtadalių visų ūkių.

SALV infekcijos paplitimas bandose pagal dydį Lietuvoje atrodo panašiai kaip Lenkijoje. Bendras TPH Lenkijoje siekė 61 proc. (95 proc. PI: 53–68 proc.), tačiau nustatyta, kad jis teigiamai susijęs su bandos dydžiu (57). Vidutinė ožkų banda Lietuvoje yra mažesnė nei Lenkijoje, todėl lyginant Lietuvos TPH su labai mažomis ar mažomis Lenkijos bandomis (≤ 50 ožkų), paaiškėja, kad rodikliai yra beveik vienodi. Atsižvelgiant į tai, nenuostabu, kad Lietuvoje TPH nebuvo reikšmingai susijęs su bandos dydžiu. Dauguma Lietuvos bandų pagal mūsų klasifikaciją buvo labai mažos arba mažos (≤ 50 ožkų), o šiose kategorijose TPH Lenkijoje taip pat reikšmingai nesiskyrė (57). Tik trys šiame tyrime analizuotos Lietuvos bandos turėjo daugiau nei 50 ožkų, ir šis skaičius buvo akivaizdžiai per mažas patikimai nustatyti statistiškai reikšmingus skirtumus.

Bendras TPH (bandų paplitimo) įvertinimas gali būti neigiamai paveiktas kelių akivaizdžių tyrimo trūkumų. Pirma, mažiausias tikrasis bandos paplitimas, kurį tyrimas galėjo patikimai aptikti (t. y. savotiška OAE aptikimo riba, būdinga šiam tyrimui), buvo net 20 proc. Tai reiškia, kad jei užsikrėtusių gyvūnų buvo mažiau, jie galėjo būti nepastebėti. Tokia situacija buvo įmanoma, nes vienoje iš trijų bandų, kuriose buvo ištirtos visos ožkos, tik 1 iš 11 ožkų buvo teigiama.

Be to, 11 iš 30 tirtų bandų buvo ištirta mažiau gyvūnų, nei teoriškai reikėjo, daugiausia dėl organizacinių priežasčių. Kita vertus, bandą laikėme SALV infekuota, jei joje buvo bent viena serologiškai teigiama ožka, remiantis prielaida, kad ELISA testo specifiškumas (SpI) yra 100 proc.. Tačiau žinoma, kad ELISA testas nėra visiškai specifiškas, nors jo specifiškumas yra labai aukštas ir siekia apie 99 proc. (58; 70). Todėl dviejų bandų, kuriose ELISA metodu buvo nustatyta tik viena teigiama ožka ir kurios nebuvo patvirtintos RT-nPCR metodu (#5 ir #22), statusas turėtų būti vertinamas atsargiai. Vis dėlto, net jei šios dvi bandos iš tiesų nebūtų užsikrėtusios, SALV infekcijos APH (gyvūnų paplitimas) ir TPH (bandų paplitimas) Lietuvoje būtų atitinkamai 50 proc. (95 proc. PI: 33–67 proc.) ir 48 proc. (95 proc. PI: 29–69 proc.). Abu šie rodikliai vis tiek išlieka 95 proc. patikimumo intervalo ribose, apskaičiuotose pirminiam TPH įvertinimui.

Atvejis vienoje bandoje (#23), kurioje tik viena ožka buvo teigiama, o šio gyvūno statusas buvo patvirtintas RT-nPCR metodu ir Sanger sekoskaita (štamai A-LT-G300), yra ypač įdomus. Šioje bandoje, kurioje buvo 27 ožkos, serologiškai ištirta 15 gyvūnų (1 patinas ir 14 patelių), ir tik patinas buvo teigiamas. Žinoma, tai galėjo būti klaidingai teigiamas rezultatas, tačiau bandos savininkas sutiko atlikti pakartotinį tyrimą RT-nPCR metodu, ir galiausiai paaiškėjo, kad šis ožys buvo užsikrėtęs SALV A genotipo virusu, gana artimu

A1 potipiui (80 proc. tapatumas). Tai buvo vienintelis gyvūnas, kuris galėjo būti užsikrėtęs A1 potipio virusu, todėl šis ožys išsiskiria iš kitų šiame tyrime aptiktų užsikrėtusių gyvūnų.

Žinoma, kad A1 potapis cirkuliuoja šioje Europos dalyje (71–73), todėl nėra neįmanoma, kad šis ožys iš tiesų buvo užsikrėtęs būtent šiuo SALV potipiu. Be to, ožiai laikomi svarbiu SALV infekcijos šaltiniu ir efektyviu perdavimo veiksniu, nes jie dažnai keičiami tarp bandų siekiant išlaikyti genetinę įvairovę natūralaus veisimo metu (69; 74). Todėl nėra neįmanoma, kad šis užsikrėtęs ožys buvo neseniai atvežtas į šią bandą, ir mes, galbūt, užfiksavome OAE viruso patekimo momentą į imlią (neužkrėstą) bandą. Deja, jokios informacijos apie šio ožio kilmę neturime, todėl tai lieka tik nepatvirtinta prielaida.

Kita vertus, SALV štamų priskyrimas konkrečiam potipiui yra sudėtingas procesas, kurio patikimumas labai priklauso nuo sekvenuotos ir sulygintos viruso genomo dalies. Mūsų tyrime buvo naudotos provirusinės DNR LTR srities sekos, kurios buvo gana trumpos (apie 200–250 bp), palyginti su dviem ilgais gag ir pol genų fragmentais (atitinkamai 1,2 kb ir 1,8 kb), kuriais remiasi dabartinė SALV klasifikacija (75). Nors trumpos LTR sekos, kaip įrodyta, leidžia priskirti štamus genotipams ir potipiams (76; 77), šio tyrimo filogenetinei analizei pasirinkome tik tas referencines sekas, kurių viso genomo sekos buvo prieinamos „GenBank“ duomenų bazėje. Be to, štamai A-LT-G300 iš tiesų neatitiko griežto kriterijaus – daugiau kaip 85 proc. tapatumo su prototipiniu bet kurio potipio štamu (75). Todėl šio štamo priskyrimas A1 potipiui turėtų būti vertinamas atsargiai, nes yra tikimybė, kad jis iš tiesų priklauso kitam A genotipo potipiui, kurio viso genomo seka dar nėra pateikta „GenBank“. Kita galima mažesnio panašumo priežastis gali būti Sanger sekoskaitos klaidos, nes ši provirusinės DNR seka buvo trumpiausia (203 bp) iš visų šiame tyrime gautų sekų.

Vienas mėginys iš 10 seropozityvių bandų, kurių savininkai sutiko atlikti pakartotinį tyrimą, RT-nPCR metodu buvo neigiamas. Tai yra silpnas įrodymas, kad ši banda nėra užsikrėtusi SALV, nes RT-nPCR metodo jautrumas yra santykinai žemas (SeI – 76 proc., pagal (59)). Iš 27 ožkų, tirtų RT-nPCR metodu, 22 (81 proc.) buvo teigiamos, o tai gana gerai atitinka nurodytą šio RT-nPCR ir kitų SALV realaus laiko PGR metodų jautrumą (78). Klaidingai neigiami rezultatai galėjo būti susiję su mažu provirusinės DNR kiekiu tirtuose mėginiuose, nes SALV infekuoti monocitai ožkų kraujyje aptinkami retai, arba dėl nepakankamai sėkmingo provirusinės DNR išskyrimo (5). Abu šie veiksniai gali būti laikomi tam tikrais molekulinės diagnostikos metodo techniniais trūkumais. Mažiau tikėtina, kad šiuos rezultatus galėjo paveikti SALV štamų genetinė įvairovė Lietuvoje, nes tyrimas rodo, kad cirkuliuojantys virusai priklauso gana klasikiniams genetiniams potipiams.

Vienoje ožkų bandoje (#18) nustatyta dviejų skirtingų SALV genotipų koinfekcija nėra netikėtas reiškinys. Šalyse, kuriose ožkininkystė nėra svarbus žemės ūkio sektorius, ožkų bandos dažniausiai formuojamos palaipsniui perkant gyvulius iš įvairių šaltinių, o naujai įsigytos ožkos dėl menko ūkininkų sąmoningumo, didelių laboratorinių tyrimų (įskaitant veterinarines paslaugas) kainų ir mažos individualios ožkos ekonominės vertės labai retai tiriamos dėl OAE prieš jas įleidžiant į ūkį su kitais gyvūnais (79). Lietuva, kaip ir dauguma Vidurio bei Rytų Europos šalių, priklauso būtent tokioms valstybėms.

Kadangi apie 50 proc. ožkų yra užsikrėtusios SALV ir infekcija pasiskirsčiusi maždaug vienodai tarp A ir B genotipų, tikimybė įsigyti užsikrėtusias ožkas iš dviejų skirtingų šaltinių ir tokiu būdu į bandą įnešti du skirtingus SALV potipius nėra maža.

Šių molekulinį duomenų reikšmė nacionalinėms OAE kontrolės programoms yra reikšminga, nes patvirtinamas kelių SALV genogrūpių (A ir B) cirkuliavimas, rodantis sudėtingesnę infekcijos epidemiologinę struktūrą. Tai reiškia, kad kontrolės strategijos turi apimti ne tik seropozityvių gyvūnų identifikavimą, bet ir gyvūnų judėjimo tarp ūkių kontrolės stiprinimą, importo rizikos vertinimą bei nuolatinę viruso genetinės įvairovės stebėseną.

Kalbant apie diagnostiką, SALV genetinė įvairovė, įskaitant A1 potipį ir B genotipą, gali turėti įtakos komercinių serologinių testų jautrumui ir specifiškumui. Serologiniuose testuose skirtingi viruso genotipai pasižymi antigeniniais skirtumais, todėl naudojami diagnostiniai antigenai gali nevienodai atpažinti visus cirkuliuojančius viruso genotipus ir potipius. Tai gali lemti sumažėjusį jautrumą (neaptikti dalies infekuotų gyvūnų) arba retesniais atvejais sumažėjusį specifiškumą dėl kryžminių reakcijų tarp skirtingų viruso variantų.

Nėra stebėtina ir tai, kad nenustatytas reikšmingas ryšys tarp kontakto su avimis ir A ar B genotipo buvimo bandoje. Daugelis tyrimų rodo, kad skirtingų genetinių SALV tipų ir potipių tarprūšinis perdavimas yra dažnas reiškinys, todėl šiuo metu tiek A, tiek B genotipai yra paplitę ožkų populiacijose įvairiose šalyse nepriklausomai nuo kontakto su avimis (71; 76; 80; 81). Todėl labai sudėtinga vien remiantis molekulinį tyrimų rezultatais daryti išvadas apie galimą SALV infekcijos šaltinį Lietuvos ožkų populiacijoje. Labiausiai tikėtina, kad SALV buvo įvežtas kartu su avimis ir (arba) ožkomis iš Vakarų Europos šalių, kaip tai buvo nustatyta Lenkijoje (69). Filogenetinė analizė, parodžiusi klasikinių A2 ir B1 potipių buvimą, rodo, kad SALV cirkuliacija iki šiol nebuvo itin intensyvi, tikėtina dėl ekstensyvaus ožkininkystės pobūdžio Lietuvoje.

Literatūroje pateikiami prieštaringi duomenys apie lyties įtaką ožkų artrito-encefalito sergamumui, tačiau dauguma tyrimų rodo, kad patelės (ožkos)

ir patinai (ožiai) nėra reikšmingai skirtingai imlūs infekcijai, o serologinį paplitimą labiau lemia valdymo ir epidemiologiniai veiksniai, tokie kaip bandos dydis, gyvulių judėjimas ir kontaktavimas (4; 26). Vis dėlto, ožiai gali turėti svarbesnę epidemiologinę reikšmę kaip infekcijos platintojai, nes jie dažnai naudojami veisimo tikslais ir keliauja tarp bandų, taip sudarydami sąlygas viruso plitimui (5; 69). SALV perdavimas daugiausia vyksta horizontaliai per glaudų kontaktą ir sekretus, o viruso perdavimas lytiniu būdu laikomas galimu, tačiau ne pagrindiniu infekcijos keliu (4; 5). Kadangi infekcija trunka visą gyvenimą, o klinikiniai simptomai pasireiškia tik daliai gyvūnų, virusas gali efektyviai cirkuliuoti populiacijoje nepriklausomai nuo lyties. Todėl SALV epidemiologijoje svarbiausi veiksniai yra ne biologiniai skirtumai tarp patinų ir patelių, o ūkininkavimo metodai, ypač gyvulių judėjimas ir biosaugos priemonių laikymasis.

Naujausiuose moksliniuose tyrimuose nuosekliai pabrėžiama amžiaus reikšmė ožkų artrito-encefalito infekcijos paplitimui, t.y. serologinio paplitimo dažnis didėja didėjant gyvulio amžiui, o tai daugiausia siejama su visą gyvenimą truncančia infekcija bei laipsniškai didėjančiu užsikrėtimo pavojumi dėl ilgesnio kontakto su užsikrėtusiais gyvūnais. Ilgalaikiai Europos bandų tyrimai rodo, kad vyresnės ožkos dažniau yra serologiškai teigiamos nei jaunikliai, nes per laiką didėja kumuliacinė užsikrėtimo rizika, ypač intensyvesnėse bandose, kur virusas cirkuliuoja endemiškai (70). Taip pat nustatyta, kad jauni gyvūnai dažniausiai užsikrečia ankstyvame amžiuje per pieną ar artimą kontaktą su užsikrėtusiomis ožkomis, tačiau serokonversija ir aptinkamas antikūnų atsakas gali pasireikšti vėliau, todėl jaunesnėse amžiaus grupėse infekcija gali būti nepakankamai įvertinama (12). Naujesni molekuliniai ir seroepidemiologiniai tyrimai patvirtina, kad amžius yra vienas stabiliausių SALV infekcijos rizikos veiksnių, nepriklausomai nuo geografinio regiono ar bandos struktūros, o jo poveikis labiausiai atspindi ilgalaikį kumuliacinį infekcijos poveikį, o ne padidėjusį biologinį jautrumą (5; 11; 82).

Ištyrus toksoplazmozės serologinį paplitimą tarp ožkų, nustatyta, kad 38,9 proc. ožkų buvo teigiamos *Toxoplasma gondii*, o tai rodo, kad šis parazitas plačiai cirkuliuoja bandose. Panašus paplitimas buvo nustatytas Šveicarijoje (50,5 proc.) ir Ispanijoje (48 proc.) (83; 84). Taip pat, neseniai atliktas tyrimas ožkų populiacijose pabrėžė, kad *Toxoplasma gondii* išlieka viena iš labiausiai paplitusių patogenų pasaulyje, o serologinis paplitimas panašus į mūsų tyrime stebėtą (5). 2022 m. atlikta metaanalizė nurodė, kad pasaulyje yra 31,8 proc. seroteigiamų ožkų, o Europos šalyse šis rodiklis svyruoja nuo 28 proc. iki 70 proc. Pavyzdžiui, 2018 m. Lenkijoje serologinis paplitimas viršijo 36,8 proc. o Graikijoje – apie 28 proc. (32; 85–87). Mūsų nustatyti beveik 39 proc. serologinio paplitimo rezultatai parodo didelį infekcijos paplitimą tiek individualių gyvulių, tiek bandos lygiu.

Toksoplazmozė laikoma endemine Lietuvos ožkų populiacijoje – seropozityvūs gyvuliai buvo fiksuoti dar prieš daugiau nei 20 metų, kai kuriose bandose serologinio paplitimo rodikliai viršijo 50 proc., o kai kur – net 80 proc. Šie duomenys pabrėžia poreikį toliau analizuoti infekcijos plitimo kelius ir įgyvendinti veiksmingas kontrolės priemones ūkiuose (43).

Lietuvos ožkų populiacijoje nustatytas labai žemas hypodermozės serologinis paplitimas (3,8 proc.) rodo, kad infekcija šalyje yra pavienė ir neturi endeminio pobūdžio. Tai ryškiai kontrastuoja su duomenimis iš endeminių regionų, kur *Hypoderma* spp. sukelta hypodermozė ožkose dažnai pasižymi vidutiniu ar aukštu paplitimu, siekiančiu 20–60 proc. ar net daugiau, ypač Pietų Europoje, Šiaurės Afrikoje ir kai kuriose Azijos šalyse. Tokie skirtumai gali būti siejami su klimato sąlygomis, gyvulininkystės sistemomis ir taikomomis parazitų kontrolės priemonėmis (88). Nors ši liga Lietuvoje nėra plačiai paplitusi, o individualių gyvulių seroteigiamumas yra žemas, pavieniai atvejai rodo patogeno išgyvenamumą ir galimą ligos atvejų augimą ateityje.

Remiantis sisteminėmis apžvalgomis ir meta-analizėmis, nustatyta, kad neosporozės serologinis paplitimas ožkose pasauliniu mastu yra vidutiniškai apie 5,99 proc. (95 proc. PI: 4,38–7,83 proc.) (89). Mūsų atlikto tyrimo rezultatai neosporozės atžvilgiu (0,5 proc.) yra gerokai žemesni už pasaulinį vidurkį, tačiau tai patvirtina, kad infekcija vis dar egzistuoja Lietuvos ožkų populiacijoje, nors ir pavieniais atvejais. Kitas regioninis tyrimas Turkijoje atskleidė apie 4,89 proc. seroteigiamumą tarp 184 ožkų ir parodė koreliaciją su reprodukciniais sutrikimais, nors skirtumas tarp abortavusių ir neabortavusių grupių nebuvo statistiškai reikšmingas (87). Žemas *N. caninum* infekcijos paplitimas Lietuvoje gali būti susijęs su ribotu šunų ir bandų kontaktu bei intensyvesnėmis biosaugos priemonėmis, tuo tarpu Turkijoje šios infekcijos plitimą tikriausiai lemia tradicinė ožkų ganymo praktika su aviganių šunimis ir didesnis infekcijos šaltinių paplitimas aplinkoje. Vis dėlto, atsižvelgiant į palyginti plačias PI rodiklio ribas, reikalingi tolesni tyrimai su didesniais mėginių dydžiais, kad tiksliau nustatyti infekcijos paplitimą platesnėje ožkų populiacijoje.

Mikoplazmozės serologinio paplitimo rezultatai (0,3 proc.) gali atspindėti žemą šios bakterinės infekcijos paplitimą, tačiau tai nereiškia, kad tai neturi klinikinės reikšmės. *Mycoplasma agalactiae* sukelia mastitą, artritą, kvėpavimo sutrikimus, keratokonjunktyvitą ir net reprodukcijos problemas. Ši infekcija ožkose dažnai pasireiškia nespecifiniais simptomais, ypač ankstyvose ar lengvose stadijose. Žemas serologinis paplitimas bandose nereiškia, kad infekcijos nėra – ligos nešiotojai gali nerodyti klinikinių požymių, o tiriami jų kraujo serumo mėginiai – neturėti stipraus antikūnų atsako (90). Net vieno teigiamo mėginio nustatymas pabrėžia nuolatinės epidemiologinės stebėsenos

(ypač mišrioje bandose) ir prevencinių priemonių poreikį, siekiant apriboti ligos plitimą.

Tyrimo metu pasienio liga ir Q karštinė nenustatyti nė viename mėginyje. Tai gali būti efektyvių biosaugos priemonių rezultatas arba žemas infekcijos paplitimas regione. Tačiau, atsižvelgiant į Q karštinės zoonozinę riziką, nuolatinė stebėseną ir griežtas reprodukcijos sutrikimų stebėjimas išlieka svarbūs (91; 92). Gauti rezultatai atitinka kitų Baltijos šalių tyrimus (pvz., Latvija, Estija) – Q karštinė ožkoms beveik nediagnozuojama, o pasienio ligos atvejai tapo itin reti. Be to, neseniai Q karštinė buvo nustatyta kaimyninėje Lenkijoje, pabrėžiant nuolatinės stebėsenos poreikį regione (93).

Porinis statistinis tyrimas (Z-testas, Fisher testas ir χ^2 sąsajų analizė) atskleidė keletą svarbių modelių tarp tirtų ožkų ligų. *Toxoplasma gondii* pasižymėjo didesniu paplitimo rodikliu nei visos kitos ligos. Ožkų artritas-encefalitas buvo antras pagal dažnumą. OAE taip pat parodė reikšmingą sąsają su *T. gondii*, o tai rodo galimybę atsirasti koinfekcijoms. *Hypoderma* spp. paplitimas buvo gana žemas, bet vis tiek parodė statistiškai reikšmingus skirtumus lyginant su plačiai paplitusiomis ligomis. Hipodermozė silpnai susijusi su *T. gondii* tarp mišrių infekcijų. *Neospora caninum* ir *Mycoplasma agalactiae* buvo labai retos, nustatyti tik 2 ir 1 teigiami mėginiai, todėl statistinė interpretacija sudėtinga. Nors lyginant su kitomis ligomis jų santykio tikimybės rodikliai buvo dideli, Fisher ir χ^2 testų *p* reikšmės nebuvo reikšmingos, todėl nėra patikimų įrodymų apie sąsają. Q karštinė ir pasienio liga nediagnozuotos, dėl to daugelyje porinių palyginimų testų statistiniai duomenys nebuvo nurodomi. Dauguma statistiškai reikšmingų rezultatų ($p < 0,05$) buvo dėl palyginimų, įtraukiant plačiai paplitusias ligas, tokias kaip *T. gondii* ir OAE, su retomis arba nenustatytomis ligomis. Nors Fisher testas buvo mažiau jautrus dėl nedidelių imčių, jis vis tiek buvo naudingas atliekant palyginimus su mažu dažnio duomenimis.

Serologinių tyrimų metu nustatyta, kad kai kurios ožkos buvo užsikrėtusios keliomis infekcijomis. Iš viso 171 mėginys (iš visų tirtų) buvo teigiamas bent vienai ligai. Iš jų 116 mėginių buvo seroteigiami tik *T. gondii* atžvilgiu (iš 368 ištirtų). Be to, 28 mėginiai buvo serologiškai teigiami prieš dvi ligas, o iš jų 19 mėginių buvo *T. gondii* ir OAE viruso sukeltos infekcijos (ištirta 368 ir 380 ožkų). Nustatyta, kad tik 1 mėginys buvo serologiskai teigiamas prieš tris patogenus – *T. gondii*, *N. caninum* ir OAEV.

Tiriant mišrias infekcijas, serologiškai teigiami mėginiai sudarė 7,9 proc. visų tirtų mėginių. *T. gondii* ir OAE ypač dažnai aptikta kartu, o tai rodo galimą ryšį tarp aplinkos užterštumo, gyvūno imuniteto būklės ir infekcijos perdavimo mechanizmų. Panašūs rezultatai gauti ir kituose tyrimuose. Pavyzdžiui, Ekvadoro ūkiuose 7,7 proc. mėginių buvo seroteigiami prieš tris ligas (*T. gondii*, *N. caninum* ir *Cryptosporidium* spp.) (94). Kitas tyrimas parodė,

kad sąlytis su dviem ar daugiau patogenų gali būti susijęs su aplinkos ir regioniniais veiksniais (95).

Nors specifinių duomenų apie *T. gondii* ir *N. caninum* mišrią infekciją Lietuvos ožkose vis dar nėra, kaimyninės Lenkijos tyrimai rodo, kad ožkose dažnai nustatomi abu patogenai vienu metu (pvz., *T. gondii* seroprevalentiškumas bandos lygiu siekė 100 proc., o *N. caninum* – apie 9 proc.). Atsižvelgiant į panašias aplinkos sąlygas, Lietuvoje taip pat gali pasitaikyti mišrios pirmuonių infekcijos (86).

Tyrime toksoplazmozė sudarė 67,8 proc. visų vienos ligos atvejų (116/171) ir buvo įtraukta į beveik visas mišrias infekcijų kombinacijas. Tai atitinka literatūros duomenis, nes *T. gondii* išlieka viena iš labiausiai paplitusių parazitinių zoonozų ožkose ir gali sąveikauti su kitomis infekcijomis (96).

Serologiškai teigiami mėginiai prieš tris patogenus – *T. gondii*, *N. caninum* ir OAE – gali reikšti sudėtingą infekciją. Mišrios infekcijos gali reikšmingai paveikti reprodukcinę sistemą, imunitetą ir bendrą gyvūnų sveikatingumą. Tyrimai rodo, kad tokie atvejai intensyvaus ūkininkavimo sąlygomis nėra reti (97).

Analizė, tiriant OAE ligos pasiskirstymą skirtingo dydžio bandose, parodė, kad statistiškai APH nebuvo statistiškai reikšmingai susijęs su bandos dydžiu ($p = 0,902$). Deja, bet mažesnis ligos paplitimas mažose bandose nėra garantuotas. Kai kurie tyrimai rodo, kad bendras OAE viruso paplitimas mažose bandose yra žemesnis, tuo tarpu kitų duomenimis, seroteigiamų gyvūnų dalis gali būti labai didelė, todėl infekcija gali išlikti reikšminga net ir nedidelėse bandose (98; 99).

Analizė, vertinant seroteigiamus mėginius, neatskleidė statistiškai reikšmingo ryšio tarp bandos dydžio ir teigiamų hipodermozės, toksoplazmozės, neosporozės ar mikoplazmozės atvejų ($p > 0,05$). Skirtumai paplitime tarp skirtingo dydžio bandų greičiausiai atsirado dėl atsitiktinių variacijų, o ne dėl tiesioginės bandos dydžio įtakos. Be to, seroteigiamų ir seroneigiamų gyvulių pasiskirstymas mažose, vidutinėse ir didelėse bandose nėra pakankamai skirtingas, kad būtų galima teigti apie tiesioginį ryšį tarp bandos dydžio ir infekcijos rizikos. Mažas teigiamų atvejų skaičius taip pat riboja statistinę galimybę nustatyti tikrus skirtumus.

Analizuojant toksoplazmozės tyrimo rezultatus, galima pastebėti tendenciją, kad serologinis paplitimas mažėja didėjant bandos dydžiui, tačiau tai ne visuomet pasireiškia, nes reikšmės gali turėti ir kiti veiksniai – ūkio valdymo sistema, gyvulių amžius bei kačių buvimas aplinkoje. Kai kuriuose tyrimuose didesnė infekcijos rizika nustatyta intensyvesniuose ūkiuose arba didesnėse bandose dėl gyvulių tankio, tuo tarpu kituose šaltiniuose didesnė seroteigiamų gyvulių dalis nustatyta mažesnėse ar ekstensyviose auginimo sistemose (100–102).

Literatūros duomenimis, bandos dydis gali turėti įtakos ligų serologiniam paplitimui ožkose, tačiau šis ryšys yra sudėtingas ir priklauso nuo kitų veiksnių. Kai kurie tyrimai rodo, kad hipodermozės paplitimas didesnėse bandose gali būti didesnis, tikėtina dėl intensyvesnio auginimo sąlygų ar didesnio gyvulių tankio (44). Pavyzdžiui, tyrimas Brazilijoje parodė, kad bandose, kuriose buvo 51–100 ožkų, *Mycoplasma agalactiae* infekcijos tikimybė buvo žymiai didesnė nei mažesnėse bandose (≤ 50 ožkų), o tikimybės santykis siekė 7,1 (95 proc. PI: 2,4–20,6) (103). Tai gali būti susiję su didesniu gyvulių judėjimu, dažnesniu naujų gyvulių patekimu į bandą bei sudėtingesniu bio-saugos taisyklių laikymusi didesnėse bandose.

Tyrimai rodo, kad neosporozės rizika didėja didesnėse bandose, tačiau mažesnės bandos taip pat gali turėti įtakos, ypač jei ūkyje laikoma daug šunų (104; 105).

Pasienio ligos ir Q karštinės paplitimas pagal bandos dydį nebuvo vertintas, nes tirtuose mėginiuose nebuvo nustatyta teigiamų atvejų. Tyrimai rodo, kad didesnėse bandose rizika užsikrėsti Q karštine didėja, nes didėja galimybės patogenui patekti ir plisti. Tuo tarpu bandos dydžio įtaka pasienio ligos paplitimui nėra tokia aiški, nes priklauso nuo įvairių veiksnių. Viena atliktame tyrime tyrėjai nenustatė reikšmingos sąsajos su bandos dydžiu, tačiau atkreipė dėmesį, kad ūkyje laikomi galvijai didina infekcijos riziką (106; 107).

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

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

Atliktos ūkininkų apklausos duomenys leidžia teigti, kad ūkininkams ši liga ir jos plitimo ypatumai yra mažai žinomi, nes, prieš Lietuvoje atliekant tyrimus, tik 4 ūkiuose iš 30 buvo tirtas ir diagnozuotas ožkų artritas-encefalitas, o ligos kontrolės ir prevencijos priemonės mažai žinomos. Deja, bet galimi šios ligos simptomai klaidingai priskiriami įvairioms kitoms ligoms. Dėl to taikomos neefektyvios gydymo ir prevencijos priemonės. Pagal anketoje pateiktus klausimus, nustatyta, kad pagrindiniai pastebimi simptomai yra

kvėpavimo sistemos sutrikimai, tešmens bei sąnarių pažeidimai. Neurologiniai simptomai buvo pastebėti tik viename ūkyje.

Klinikiniai ožkų artrito-encefalito infekcijos požymiai literatūroje aprašomi kaip retai pasireiškiantys ir tik nedidelei užsikrėtusių gyvulių daliai būdingi, nes dauguma infekcijų išlieka subklinikinės visą gyvūno gyvenimą. Naujesni epidemiologiniai tyrimai rodo, kad nors serologinis paplitimas ožkų populiacijose gali būti didelis, klinikinių simptomų (artrito, encefalito, mastito) pasireiškimas nustatomas tik pavieniais atvejais, dažniausiai vyresnio amžiaus grupėse arba esant intensyviai viruso cirkuliacijai bandoje (4). SALV infekcijos apžvalgoje pabrėžiama, kad klinikinė ligos forma sudaro tik „ledkalnio viršūnę“, o didžioji dalis infekuotų gyvulių neturi aiškių klinikinių simptomų, tačiau išlieka infekcijos šaltiniu (4; 5). Europos bandų tyrimai taip pat patvirtina, kad klinikiniai atvejai paprastai yra pavieniai, o populiacijose dominuoja besimptomė infekcija, palaikanti nuolatinę viruso cirkuliaciją (70). Dėl šios priežasties SALV diagnostika remiasi ne klinikiniu vertinimu, o serologiniais ir molekuliniais tyrimais, nes vien klinikiniai požymiai reikšmingai neįvertina tikrojo infekcijos paplitimo.

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

Apibendrinant ožkų artrito-encefalito serologinių ir molekulinį tyrimų rezultatus, galima teigti, kad tai pirmasis tyrimas, aiškiai parodantis, kad Lietuvos ožkų populiacijoje smulkių atrajotojų lentivirusų infekcija yra plačiai paplitusi tiek klasikiniais SALV genotipais A (ožkų potipis), tiek ir B genotipu (avių potipis). Tai reiškia, kad OAE greičiausiai taps didele ožkų sveikatos ir gerovės problema, ypač tuose ūkiuose, kurie bandys intensyvuoti pienininkystę ir produkcijos gamybą.

IŠVADOS

1. Specifiniai antikūnai prieš OAE virusus nustatyti 75 iš 380 ožkų (19,7 proc.; 95 proc. PI 15,61–23,82 proc.), o bent vienas serologiškai teigiamas mėginys nustatytas 17 iš 30 ūkių (56,7 proc.; 95 proc. PI 37,43–74,54 proc.); serologinis paplitimas tarp ūkių reikšmingai skyrėsi.
2. Lietuvos ožkų populiacijoje nustatyti A ir B SRLV genotipai, genetiškai artimi kitose Europos šalyse cirkuliuojančioms padermėms. Vilniaus apskrityje identifikuota Lietuvai nebūdinga A1 potipiui artima padermė, A2 nustatyta Vakarų Lietuvoje, o B1 ir B1/A2 – Vidurio ir Rytų Lietuvoje.
3. *CAE-RAPID* testas pasižymėjo pakankamu jautrumu kraujo (83,4 proc.) ir pieno mėginiuose (88,1 proc.) bei aukštu specifiškumu (95,1–100 proc.) ir pakartojamumu (97,7–98,6 proc.), todėl gali būti taikomas atrankinei diagnostikai.
4. Toksoplazmozė nustatyta 38,9 proc. ožkų ir 96,6 proc. ūkių; hipodermozės, neosporozės ir mikoplazmozės paplitimas buvo mažas, o antikūnų prieš Q karštinę ir pasienio ligą nenustatyta. Mišrios infekcijos sudarė 7,9 proc. mėginių, dažniausiai susiję su toksoplazmoze ir OAE. Reikšmingos sąsajos nustatytos tik tarp toksoplazmozės, OAE ir hipodermozės.

REKOMENDACIJOS

Remiantis atliktu tyrimu, kuriame vertintas OAE paplitimas Lietuvos ožkų populiacijoje naudojant serologinius (ELISA) ir molekulinis tyrimus bei viruso genotipų (A ir B) identifikavimą ir filogenetinę analizę, rekomenduojama diegti nuoseklią nacionalinę SALV kontrolės programą, paremtą reguliariu serologiniu ūkių monitoringumu ir užkrėstų gyvūnų atskyrimu ar eliminavimu, siekiant mažinti infekcijos plitimą. Taip pat, būtina stiprinti biosaugos priemones ūkiuose, ypač valdant užkrato perdavimą per krekenas ir pieną (pvz., taikant pieno pasterizaciją), taikyti karantiną ir testavimą gyvūnams, kurie neseniai pateko į ūkį, užtikrinti ankstyvą infekuotų gyvūnų aptikimą taikant periodinius ELISA tyrimus. Papildomai rekomenduojama tęsti SALV genotipų molekulinę stebėseną Lietuvoje, siekiant sekti viruso evoliuciją ir galimą naujų virusų variantų atsiradimą bei geriau suprasti infekcijos epidemiologiją.

Rezultatai, gauti tiriant OAE ir kitų ligų, būdingų ožkų populiacijai, paplitimą, pabrėžia tikslinės stebėsenos ir kontrolės priemonių svarbą, ypač siekiant valdyti labiausiai paplitusias ir epidemiologiškai reikšmingas ligas, mažinti jų plitimo riziką ir užtikrinti bandos sveikatą. Rekomenduojamos strategijos apima diagnostinių metodų derinimą (pvz., ELISA testavimą keliems patogenams vienu metu), biosaugos stiprinimą, pašaro užterštumo kontrolę, kontakto su kitais gyvūnais (katėmis, šunimis) ribojimą bei mišrių infekcijų reguliarią stebėseną ūkių sveikatos programose.

SUMMARY

INTRODUCTION

Goat farming in Lithuania plays an important role in the livestock sector, particularly in smaller farms where it is often considered an alternative to dairy or beef cattle production. Goats are valued for their adaptability to various housing conditions and relatively low maintenance costs. However, goat producers face significant animal health challenges, particularly infectious diseases. Infectious diseases can spread through direct contact as well as via contaminated environments, feed, milk, or even insect vectors. Due to insufficient disease control, certain pathogens may persist in herds for long periods, causing chronic infections that do not always present clear clinical signs. This complicates early disease detection and effective herd management, posing a threat to animal health and productivity, leading to economic losses, and affecting animal welfare and, in some cases, human health. Infectious diseases reduce milk yield, impair reproductive performance, increase mortality risk, and raise veterinary costs. Despite the demand for goat milk and its products, limited veterinary care and diagnostic resources restrict research on goat health (1; 2).

One of the major infectious diseases is caprine arthritis-encephalitis (CAE), caused by small ruminant lentiviruses (SRLVs). Caprine arthritis-encephalitis is a chronic, slowly progressive lifelong viral disease that primarily affects the joints, lungs, mammary gland, and central nervous system. Clinical signs can be severe. However, many infections remain subclinical for long periods, gradually reducing productivity and animal welfare even in the absence of obvious clinical symptoms. The CAE virus is mainly transmitted via infected colostrum and milk, particularly when newborn goat kids are fed directly by infected goats. Horizontal transmission may also occur through close contact and respiratory secretions. Small ruminant lentiviruses are widely distributed in goat populations, and infection may lead to arthritis, mastitis, interstitial pneumonia, and encephalomyelitis in goat kids. Although seropositivity indicating infection may be common, only a proportion of infected animals (approximately 20–30%) develop clinical signs (3).

Serological antibody detection methods are most commonly used for CAE diagnosis, allowing identification of infected animals at various stages of infection. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) are characterized by high sensitivity and specificity and are widely used for both individual animal and herd-level screening. These tests enable the identification of seropositive animals even in the absence of clinical signs during subclinical infection. Molecular methods such as PCR complement serological testing

by detecting viral genetic material in the early stages of infection, when antibody levels are not yet sufficient for serological detection. PCR methods are particularly useful in testing young animals or individuals with suspected recent infection (4; 5).

Currently, there is no licensed vaccine or specific treatment for CAE. Therefore, the main focus is placed on disease prevention and effective herd management. CAE control relies on continuous animal monitoring, regular laboratory testing, and strict biosecurity measures. Control strategies include the identification and culling or isolation of seropositive animals; quarantine and testing of newly introduced goats before herd entry; thermal treatment of colostrum and milk before feeding kids; and separation of newborns from infected goats to prevent early infection. Additional recommendations include maintaining good hygiene practices, disinfecting equipment, and avoiding shared use of needles or other veterinary instruments between animals (3; 4; 5).

In addition to CAE, goats in Lithuania may be affected by other infectious diseases, including toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*), mycoplasmosis (*Mycoplasma* spp.), neosporosis (*Neospora caninum*), hypodermosis (*Hypoderma* spp.), Q fever (*Coxiella burnetii*), and border disease (pestiviruses). These infections have been detected at lower seroprevalence levels but may still collectively impact animal health and productivity. They may cause reproductive disorders, abortions, respiratory system lesions, reduced productivity, and decreased kid survival. Some of these diseases also have zoonotic potential, posing risks not only to animals but also to human health. The possibility of mixed infections, involving multiple pathogens simultaneously, complicates disease diagnosis and increases economic losses on farms. However, most of these diseases have not been extensively studied in the Lithuanian goat population, and their prevalence and risk factors remain unknown. Data on transmission routes, regional distribution, and the influence of different husbandry conditions are also lacking. The limited number of epidemiological studies hinders accurate assessment of their importance to the Lithuanian goat sector and the development of effective control measures. Due to insufficient surveillance, some infections may remain undetected for long periods and spread between farms. Therefore, continuous monitoring, proper implementation of biosecurity measures, and farmer education are essential to reduce infection risks and protect animal welfare and productivity. Regular serological testing, early diagnosis, and farmer awareness of key risk factors could help reduce the spread of infectious diseases. Furthermore, effective veterinary care and biosecurity implementation would contribute to healthier herds, higher productivity, and reduced economic losses (6; 7; 8).

Aim of the study

To perform epidemiological studies of caprine arthritis-encephalitis (CAE) and other infectious diseases in Lithuanian goat farms in order to assess the current situation and identify potential relationships between these infections.

Objectives of the study:

1. To investigate the seroprevalence and epidemiological characteristics of caprine arthritis-encephalitis (CAE) in the Lithuanian goat population.
2. To identify the genotypes of small ruminant lentiviruses (SRLVs) circulating in Lithuania and to characterize these viruses at the molecular level.
3. To perform a comparative evaluation of diagnostic methods and assess the diagnostic performance of a newly developed rapid non-invasive test for the detection of CAE.
4. To determine the seroprevalence of other infectious diseases, including toxoplasmosis, hypodermosis, neosporosis, mycoplasmosis, Q fever, and pestiviral infection (border disease), in the Lithuanian goat population and to evaluate their potential association with SRLV infection.

Scientific novelty of the study

This study assessed goat health status in Lithuanian goat farms and determined the seroprevalence and epidemiological characteristics of caprine arthritis-encephalitis virus in the goat population. Very limited research on CAE prevalence has been conducted in Lithuania to date. The circulating CAE virus strains were identified and their genotypes characterized in the Lithuanian goat population, which had not been previously described.

CAE antibody detection was also evaluated in goat farms using a non-invasive milk sample-based rapid test for CAE antibodies. The results were compared with standard laboratory methods at the Veterinary Academy, Department of Veterinary Pathobiology, and partner laboratories abroad. The application of this newly developed diagnostic method enables rapid identification of infected animals, allowing timely implementation of disease prevention, control, and eradication measures. This rapid test was developed and applied for the first time for CAE diagnosis.

Additionally, for the first time, the seroprevalence of major infectious diseases, including toxoplasmosis, hypodermosis, neosporosis, mycoplasmosis, Q fever, and pestiviral infection, as well as their coinfection patterns with CAE, were comprehensively investigated in the Lithuanian goat population. The current situation was assessed and potential relationships between these infections were identified.

1. MATERIALS AND METHODS

1.1. Selection of farmers and farm grouping

Data collection began in May 2021 from goat farms across ten Lithuanian counties using publicly available contacts, breeder associations, and social media groups. A total of 30 farms (≥ 10 goats per farm) agreed to participate.

The required sample size was calculated assuming 50% expected prevalence, $\pm 20\%$ precision, 95% confidence level, and herd-level sensitivity/specificity of 96%/94%. The minimum required number of farms was 28, with simple random sampling applied to detect infection at $\geq 20\%$ within-herd prevalence.

Within each herd, all adult males and a representative number of adult females (≥ 1 year) were sampled (8–17 animals per herd), assuming that one positive animal was sufficient to classify a herd as infected.

1.2. Farmer survey

A questionnaire was developed and administered to farmers during the study and it consisted of 26 questions. The survey covered several areas, including herd management information (number of goats, housing and feeding systems, breeding practices, animal grouping, etc.) and herd health data (farm status with regard to infectious diseases, occurrence and frequency of diseases within the herd, the most common clinical signs observed in goats where health problems had been reported), and preventive measures applied on the farm, including vaccination and biosecurity measures.

1.3. Blood sample collection and testing methodology

Goats were selected randomly or based on clinical signs. From each farm, 10–15 blood samples were collected from the jugular vein into clot-activator tubes. Serum was separated after centrifugation and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until ELISA testing.

For molecular analysis, EDTA blood samples were processed to isolate peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) using Ficoll-Paque density gradient centrifugation. The PBMC fraction was collected, washed, and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis.

In total, 30 goat herds and 380 blood samples were included. Ethical approval was obtained (12 March 2024, No. 2024-BEC3-T-008). Serological and molecular analyses were performed at the Lithuanian University of Health Sciences and the Warsaw University of Life Sciences, respectively.

1.4. Detection of CAE antibodies

Collected blood samples were tested using a commercial indirect ELISA (ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening Test, IDvet, France) designed to detect antibodies against small ruminant lentiviruses (SRLV), including caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) and Maedi-Visna virus (MVV). The assay is based on synthetic peptides of structural viral proteins and can be used for serum, plasma, or milk samples from sheep and goats.

The ELISA was performed according to the manufacturer's instructions. Optical density (OD) was measured at 450 nm using an Epoch microplate spectrophotometer (BioTek, USA). Samples with an S/P% value of $\geq 50\%$ were considered positive. At this cut-off, the individual-level diagnostic sensitivity was 91.7% (95% CI: 85.0–95.6%) and specificity was 98.9% (95% CI: 96.2–99.7%) (55). Samples with OD values above 4.0 were recorded as S/P% $> 500\%$.

1.5. Molecular (PCR) analysis

DNA was extracted using the Qiagen DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany). The genetic relationship of small ruminant lentiviruses was analysed using a 200 bp fragment of the viral LTR-gag genomic region.

Nested real-time polymerase chain reaction (PCR) was used to improve analytical sensitivity and specificity by reducing non-specific DNA amplification. The assay was performed in two consecutive amplification steps. The first round consisted of conventional qualitative PCR using HotStarTaq Master Mix (Qiagen), specific primers, and extracted DNA. Amplification was monitored in real time by fluorescence signals proportional to the amount of amplified DNA.

1.5.1. SRLV gene sequencing

Seropositive herds were revisited and additional blood samples were collected from selected seropositive goats for molecular analysis. DNA was extracted from leukocytes and tested by two-step nested real-time PCR (RT-nPCR) to detect proviral DNA of SRLV genotypes A and B.

One positive sample representing each detected genotype from each RT-nPCR-positive herd was selected for Sanger sequencing. Sequencing was performed by a commercial laboratory (Genomed, Warsaw, Poland), and the obtained sequences were deposited in GenBank (accession numbers PP855635–PP855644).

Genetic relationships among SRLV strains were analysed based on a 200 bp fragment of the LTR-gag region. Sequence alignment and phylogenetic analysis were performed using MEGA software, and strains were assigned to subtypes according to nucleotide sequence similarity with reference strains (Table 1).

Table 1. Primers used in the nested real-time PCR (nRT-PCR) for detection of proviral DNA of small ruminant lentivirus (SRLV) and discrimination between genotype A and B (59)

Nested Real-Time PCR (nRT-PCR)		Oligonucleotide	Primer sequence	Position in the SRLV genome
First step	Outer primers	SRLV-F1	5'-CGCAGGTGGCGCCCAG-3'	158-173
		SRLV-F2	5'-CGCAGSTGGCGCCCAA-3'	158-173
		SRLV-R1	5'-CCTTCTGTCAGGCGCTCCCC-3'	622-642
		SRLV-R2	5'-CCTTCCGTCAAGGTCTCC-TTCC-3'	621-642
		SRLV-R3	5'-CCTTCTGTCAAGGTCTCC-TTCCC-3'	620-642
		SRLV-R4	5'-CCTTCTGTCAAGTGCTCCCC-TCT-3'	620-642
		SRLV-R5	5'-CCTTCTGTCAGGTGCTCCCC-TCT-3'	620-642
Second step	Genotype A-specific RT-PCR	RT-A-LTRgag-F	5'-GGGGACGCCTGAAGTRAGG-TAA-3'	287-308
		RT-A-LTRgag-R	5'-YTTGAGCTCRGGGTAYCCCTT-3'	517-537
		RT-A-LTRgag-P	5'-FAM-CTTTGAGCCTTGCKTCGC-CATGTCT-TAMRA-3'	486-510
	Genotype B-specific RT-PCR	RT-B-LTRgag-F	5'-CTGRAGGAGTAMGGTAAG-TRACTCTGC-3'	324-350
		RT-B-LTRgag-R	5'-TTGATRCATTTKTCSAKCTCAG-GATAA-3'	565-591
		RT-B-LTRgag-P	5'-FAM-CCGGAGACTTGCCCTCGC-CATGTC-TAMRA-3'	530-552

1.6. Evaluation of the CAE-RAPID test

A rapid diagnostic test (CAE-RAPID) was developed within the international research project “Development and evaluation of a rapid diagnostic test for caprine arthritis-encephalitis (CAE)” to provide a practical alternative for frequent herd screening.

Prototype tests, developed in collaboration with the Warsaw University of Life Sciences, were based on transmembrane antigens of small ruminant lentivirus genotypes A and B. Test performance was assessed by evaluating sensitivity and specificity according to the appearance of specific lines on the test cassette 10–40 minutes after sample application.

In the first stage, 92 ELISA-positive and 46 ELISA-negative blood samples were tested at the Lithuanian University of Health Sciences and the Warsaw University of Life Sciences. In the second stage, 217 serum samples and 217 corresponding milk samples were analysed, including 143 confirmed positive and 74 confirmed negative samples based on ELISA and PCR results. Diagnostic sensitivity and specificity of the rapid test were calculated using ELISA as the reference method.

1.7. Other goat disease diagnostic methods

1.7.1. Toxoplasmosis

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection was determined using a commercial indirect ELISA (ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species, IDvet, France) for detection of specific IgG antibodies. Serum samples were prepared and analysed according to the manufacturer's instructions using antigen-coated microplates. After incubation, washing, and addition of an HRP-labelled secondary antibody, colour development was achieved using TMB substrate and measured at 450 nm. Based on predefined cut-off values, samples were classified as positive, negative, or doubtful. The method is widely used in veterinary epidemiology for detecting exposure to *T. gondii* and assessing infection prevalence in livestock populations.

1.7.2. Hypodermosis

Seroprevalence of *Hypoderma* spp. infection was determined using a commercial ELISA (ID Screen® Hypodermosis Indirect, IDvet, France), which detects IgG antibodies and allows identification of early or latent infection. Serum samples were processed according to the manufacturer's instructions and analysed using antigen-coated ELISA plates. After incubation, washing, and addition of an enzyme-labelled secondary antibody, a chromogenic substrate (TMB) was used for detection. Optical density at 450 nm was measured and samples were classified as positive, negative, or doubtful based on cut-off values. Positive results indicate prior exposure to *Hypoderma* larvae, often before clinical signs appear.

1.7.3. Neosporosis

Seroprevalence of *Neospora caninum* was assessed using a commercial indirect ELISA (ID Screen® *Neospora caninum*, IDvet, France) for detection of IgG antibodies. Serum samples were prepared and analysed according to the manufacturer's protocol using antigen-coated plates. Following incubation, washing, and addition of an HRP-labelled secondary antibody, colour development with TMB substrate was measured at 450 nm. Results were interpreted as positive, negative, or doubtful. The method is widely used for detecting latent infections and evaluating reproductive disease risk.

1.7.4. Mycoplasmosis

Serological detection of *Mycoplasma agalactiae* was performed using an indirect ELISA (ID Screen® *Mycoplasma agalactiae*, Innovative Diagnostics, France) to detect specific IgG antibodies. Serum samples were processed according to standard ELISA procedures, including incubation on antigen-coated plates, washing, and reaction with HRP-labelled secondary antibody. Colour development with TMB was measured at 450 nm and interpreted using manufacturer-defined cut-off values. Results were classified as positive, negative, or doubtful, indicating exposure and immune response to infection.

1.7.5. Border disease

Exposure to border disease virus (BDV) was evaluated using a competitive ELISA (ID Screen® BVD p80 Antibody, Innovative Diagnostics, France), based on detection of pestivirus antibodies targeting the conserved p80 protein. Serum samples were analysed following standard protocols. In this competitive format, higher antibody levels result in reduced signal intensity. Optical density was measured at 450 nm, and results were classified as positive, negative, or doubtful.

1.7.6. Q fever

Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection was assessed using an indirect ELISA (ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species, IDvet, France) for detection of IgG antibodies. Serum samples were processed according to the manufacturer's protocol using antigen-coated plates, HRP-conjugated secondary antibody, and TMB substrate. Optical density at 450 nm was used for result interpretation. Samples were classified as positive, negative, or doubtful, indicating exposure to *C. burnetii*.

2. RESULTS

2.1. Caprine arthritis-encephalitis

2.1.1. Serological results

A total of 380 goat serum samples were tested. Antibodies against CAE virus were detected in 75 samples (19.7%; 95% CI: 15.61–23.82). Seroprevalence varied significantly between farms. At least one seropositive animal was identified in 17 out of 30 farms (56.7%; 95% CI: 37.43–74.54).

Goat herd sizes ranged from 10 to 500 adult animals, with a median of 22 (IQR: 12–38). In 77% of herds, 1–4 males were kept (median = 1). Half of the herds (50%) were very small (≤ 20 adults), 40% were small (21–50), and only 10% had more than 50 adult goats (Figure 1).

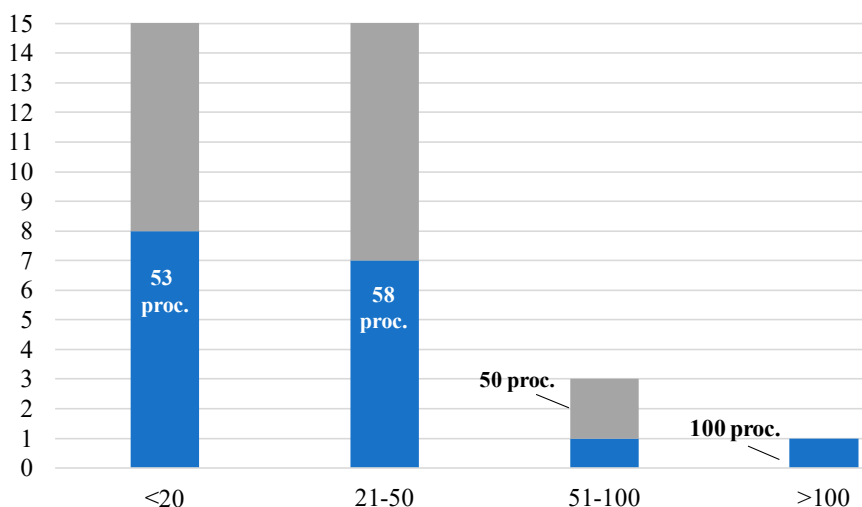


Fig. 1. Proportion of herds seropositive for small ruminant lentivirus (SRLV) infection in four herd size categories (66)

Blue color- seropositive farms, grey color- seronegative farms.

The herds were distributed across all 10 counties of Lithuania; however, 8 herds (27%) were located in Vilnius County, while only one or two herds were present in four other counties (Table 2).

Table 2. *Geographical distribution of herds serologically tested for the infection with small ruminant lentivirus (SRLV)*

County of Lithuania	Number of herds tested serologically	Number of seropositive herds	Number of seropositive herds tested using the nRT-PCR	Genetic subtypes of SRLV identified using the nRT-PCR and Sanger sequencing (symbols of strains in parentheses)
Vilnius	8	4	3	B1 (B-LT-I244), A1 (A-LT-G300), A2 (A-LT-H152)
Kaunas	4	3	2	B1 (B-LT-C30), A2&B1 (A-LT-B208 & B-LT-B210)
Utena	4	2	1	B1 (B-LT-J87)
Alytus	3	3	1	B1 (B-LT-E69)
Telšiai	3	2	1	A2 (A-LT-F347)
Šiauliai	3	1	0	-
Tauragė	2	1	0	-
Klaipėda	1	1	1	A2 (A-LT-D317)
Marijampolė	1	0	-	-
Panevėžys	1	0	-	-

14 of the 30 herds (47%) kept goats together with sheep during sampling or within the previous 5 years. Between 4 and 32 goats per herd were tested (median: 12; IQR: 10–15), representing a median sampling coverage of 58% of adult animals per herd. In 19 herds (63%), the planned sample size was achieved, while in 11 herds fewer animals were tested (1–7; median: 3). In total, 380 adult goats were tested (39 males, 341 females).

At least one seropositive animal was detected in 17 herds (57% herd-level apparent prevalence; 95% CI: 39–73%). Seropositive herds were evenly distributed across the country, with only two counties containing entirely negative herds. Herd-level prevalence was not associated with herd size, sheep contact, or sampling completeness. True herd prevalence was estimated at 56% (95% credible interval: 36–76%).

Overall, 75 of 380 goats (19.7%) were seropositive (15.4% males, 20.2% females; no significant difference, $p = 0.459$). Positive animals were detected in 17 herds, ranging from 1 to 11 positives per herd (median: 3; IQR: 2–7), corresponding to 7–100% of tested animals within herds (median: 26%). In three herds, only a single positive animal was detected.

Complete herd sampling was performed in four herds; three of these showed multiple positive animals, while one herd was fully negative. S/P ratios of positive samples ranged from 56.8% to >500% (median: 316%; IQR: 203%–>500%), with no significant difference between males and females.

2.1.2. Molecular results

Twenty-seven seropositive goats from 10 seropositive herds were tested using nRT-PCR. Overall, 22/27 goats (81%) from 9 herds were positive for SRLV. Genotype A was detected in 8 goats from 4 herds, while genotype B was detected in 14 goats from 4 herds. One herd showed mixed infection with both A and B genotypes. Ct values were significantly lower in genotype B than in genotype A ($p = 0.029$), indicating a higher viral load in genotype B.

Four of the nine PCR-positive herds had contact with sheep, with no clear association between contact status and genotype distribution. Ten PCR-positive samples were sequenced using Sanger sequencing and used for phylogenetic analysis (Figure 2).

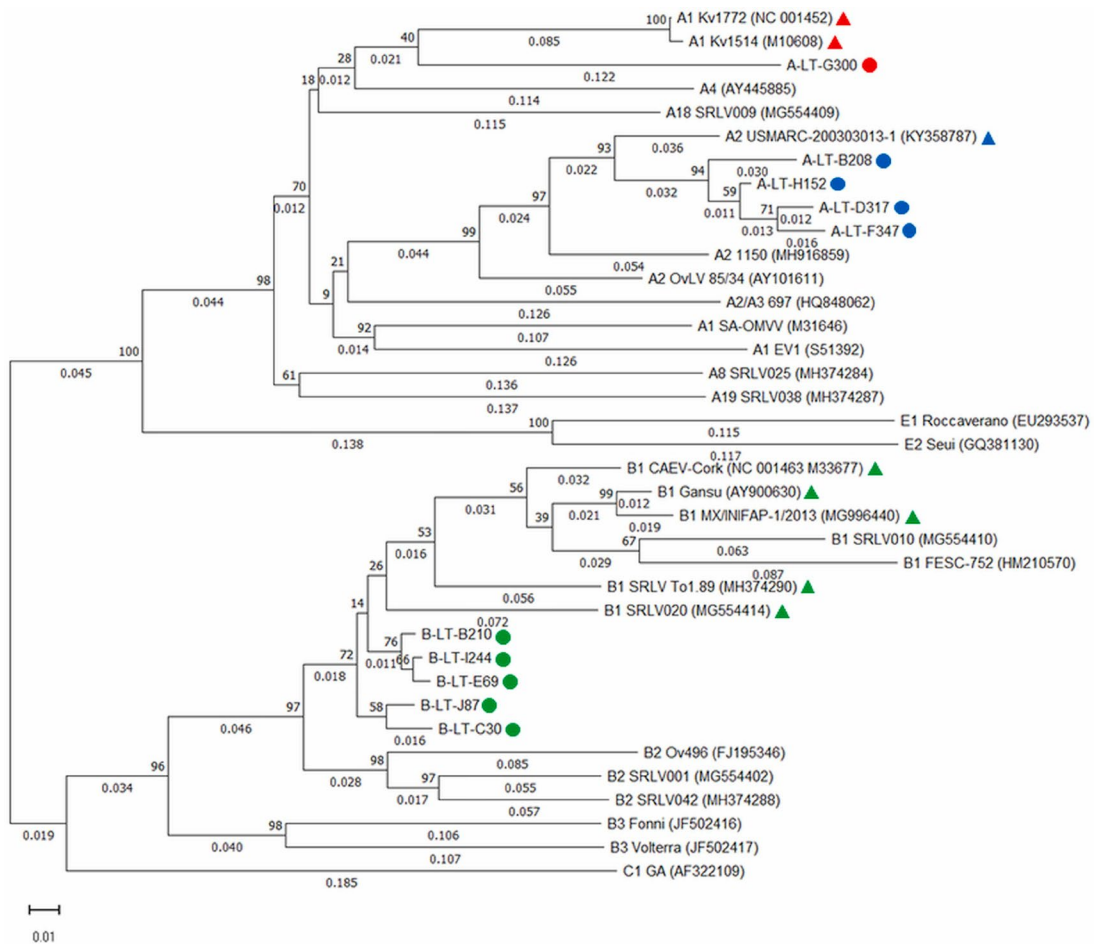


Fig. 2. Phylogenetic tree of small ruminant lentivirus (SRLV) strains identified in Lithuanian goat herds and reference strains representing different SRLV subtypes

The phylogenetic tree includes 10 SRLV strains obtained from 9 herds that were positive by nested real-time PCR. The identified strains are indicated by colored dots: blue dots represent strains closely related to the A2 subtype, green dots represent the B1 subtype, and red dots represent the presumed A1 subtype. Reference strains representing SRLV subtypes A1, A2/3, A4, A18, A19, B1, B2, B3, C, E1, and E2 are indicated by triangles in corresponding colors. Decimal values along the branches represent the number of nucleotide substitutions per site relative to the root. Bootstrap values (%) shown at the nodes indicate the confidence level of each clade. Reference strains are labeled with the subtype, strain name, and GenBank accession number.

Sequences ranged from 203 to 299 bp (median 248 bp), including LTR fragments (169–207 bp; median 204 bp) and gag fragments (34–95 bp; median 44 bp). Four herds were infected with strains related to the B1 subtype (90.5–90.7% identity), and three herds with strains related to the A2 subtype (89.8–91.9% identity). One herd showed mixed infection with both B1- and A2-related strains. In one herd (#23), a seropositive buck was infected with a strain (A-LT-G300) closest to the A1 subtype but showing relatively low identity (79.7%), indicating strong genetic divergence from other Lithuanian strains (Fig 2).

2.2. Serological testing for other diseases

To assess herd health and differentiate infections with similar clinical signs, serological screening for several pathogens was performed in the Lithuanian goat population. Out of 368 serum samples, antibodies against *Toxoplasma gondii* were detected in 38.9% (95% CI: 33.85–44.05), with 29/30 herds (96.6%) testing positive. *Neospora caninum* antibodies were rare (0.5%; 2/30 herds), as were *Mycoplasma agalactiae* antibodies (0.3%; 1/30 herd). In 184 samples tested for *Hypoderma* spp., 3.8% were positive, with herd-level positivity in 5/16 herds (29.4%). All 368 samples were negative for pestivirus and *Coxiella burnetii* antibodies (Figure 3).

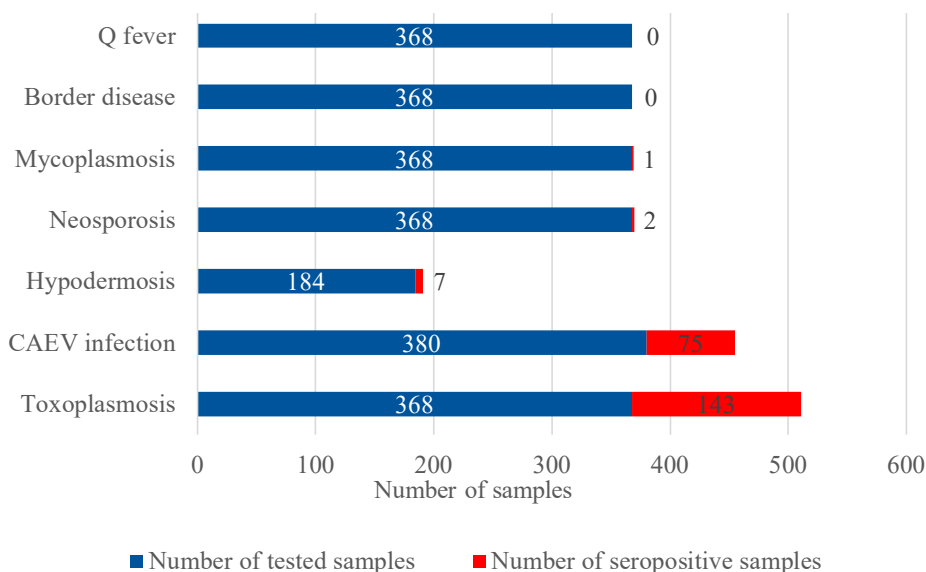


Fig. 3. Seroprevalence of different pathogens in tested goats

X-axis: number of samples; Y-axis: tested disease.

2.3. Mixed infections

Serological testing revealed frequent co-infections in goats. Antibodies to a single pathogen were detected in 171 samples, mainly *Toxoplasma gondii*. Co-infections with two pathogens were found in 28 samples, most commonly *T. gondii* and OAE virus. One sample showed antibodies to three pathogens (*T. gondii*, *Neospora caninum*, and OAE virus). These results highlight the importance of considering mixed infections in herd health management.

2.4. Seroprevalence and association with herd size

Serological testing of Lithuanian goat herds included 368 samples for toxoplasmosis, neosporosis, and mycoplasmosis, and 184 samples for hypodermosis. Hypodermosis seroprevalence was low across all herd sizes (small: 5.3%, medium: 2.0%, large: 4.0%), with no significant association between herd size and infection status ($\chi^2 = 0.805$, $p > 0.05$). Toxoplasmosis seroprevalence was similar in small and medium herds (~41%), and lower in large herds, but differences were not statistically significant ($\chi^2 = 1.431$, $p > 0.05$). Overall, herd size was not significantly associated with seropositivity for the tested infections (Figure 4).

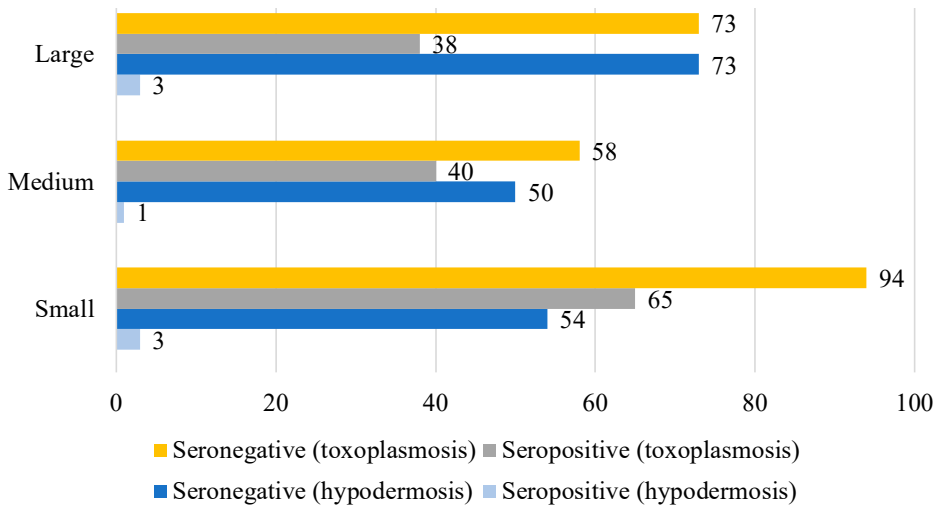


Fig. 4. Influence of herd size on the distribution of serologically positive and negative samples (hypodermosis and toxoplasmosis)

Neosporosis and mycoplasmosis showed very low seroprevalence across herds. The prevalence of seropositive and seronegative samples across herds of different sizes was as follows: small herds—0.6% positive and 99.4%

negative for neosporosis and mycoplasmosis; medium herds—1% positive and 99% negative for neosporosis, and 0% positive and 100% negative for mycoplasmosis; large herds—0% positive and 100% negative for both diseases. Analysis of seropositive sample frequencies revealed no statistically significant association between herd size and seropositivity for neosporosis ($\chi^2 = 1.040$, $df = 2$, $p > 0.05$) and mycoplasmosis ($\chi^2 = 1$, $df = 2$, $p > 0.05$, Figure 5).

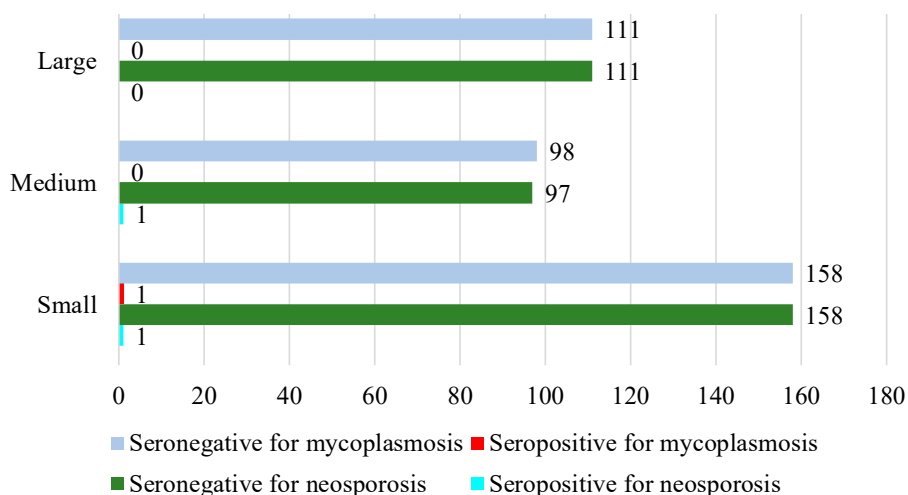


Fig. 5. Influence of herd size on the distribution of serologically positive and negative samples (neosporosis and mycoplasmosis)

2.5. Farmers survey results

In addition to sample collection, 30 goat farmers were surveyed to assess disease-related health and productivity issues in herds. The most commonly reported clinical signs were respiratory disorders (66.6%) and udder lesions (50.0%). Arthritis was reported in 46.6% of farms, while neurological signs were rare, observed in only one farm (3.3%).

2.6. Statistical analysis of clinical signs and herd status

The occurrence of clinical signs in goat herds was compared with herd serological status (seropositive vs. seronegative). A significant difference in the distribution of clinical signs was observed between groups. In seropositive herds, respiratory disease was most common (40%), while in seronegative herds respiratory disorders and udder lesions were equally frequent (26.6% each). Seropositive herds showed slightly more arthritis (+1.3%) and

respiratory signs (+6.5%), whereas udder lesions were more frequent in seronegative herds (+11.4%; $p < 0.001$). The survey also revealed limited farmer awareness of OAE prevention and control. Only 4 of 30 farms had previously been tested for OAE, and no farms applied full preventive measures such as feeding goat kids pasteurized milk. Animal movement between farms was frequent. Regarding herd management, parasite control was inconsistent: only 6 farms both tested and treated animals, 2 did neither, and 22 used only routine treatment without testing. No farm carried out vaccination or routine screening for other infectious diseases. Although 18 farmers reported using quarantine for new animals, it was often inadequate due to limited isolation capacity. Based on the findings, individual recommendations were provided to farmers on disease prevention and biosecurity.

2.7. Evaluation of the *CAE-RAPID* rapid diagnostic test

The first prototype of the *CAE-RAPID* test was evaluated in 2023 using ELISA-confirmed serum samples (92 positive and 46 negative). The test showed 100% specificity but low sensitivity (up to 62%). After optimisation, the 2024 version demonstrated improved performance, with 80% sensitivity and 100% specificity. The test was also applied to milk samples, where sensitivity was higher compared to blood, indicating better diagnostic performance in milk. The test specificity was evaluated using 74 truly healthy, uninfected goats. At all evaluation time points, the test showed identical specificity.

CONCLUSIONS

1. Specific antibodies against CAE virus were detected in 75 out of 380 goats (19.7%; 95% CI: 15.61–23.82%), and at least one seropositive sample was identified in 17 out of 30 farms (56.7%; 95% CI: 37.43–74.54%); the seroprevalence differed significantly among farms.
2. SRLV genotypes A and B were identified in the Lithuanian goat population and were genetically closely related to strains circulating in other European countries. A strain closely related to subtype A1, which is uncommon in Lithuania, was identified in Vilnius County; subtype A2 was detected in Western Lithuania, whereas B1 and B1/A2 were found in Central and Eastern Lithuania.
3. The *CAE-RAPID* test demonstrated adequate sensitivity in both blood (83.4%) and milk samples (88.1%), as well as high specificity (95.1–100%) and repeatability (97.7–98.6%), indicating that it can be used as a screening diagnostic tool.

4. Toxoplasmosis was detected in 38.9% of goats and 96.6% of farms; the prevalence of hypodermosis, neosporosis, and mycoplasmosis was low, while no antibodies against Q fever or border disease were detected. Mixed infections accounted for 7.9% of the samples and were most commonly associated with toxoplasmosis and CAE. Significant associations were found only between toxoplasmosis, CAE, and hypodermosis.

RECOMMENDATIONS

Based on the findings of this study, which evaluated the prevalence of caprine arthritis-encephalitis (CAE) in the Lithuanian goat population using serological (ELISA) and molecular methods, as well as viral genotype (A and B) identification and phylogenetic analysis, it is recommended to implement a comprehensive national SRLV control program based on regular serological monitoring of herds and the segregation or culling of infected animals to reduce the spread of infection. Furthermore, biosecurity measures on farms should be strengthened, particularly regarding the prevention of pathogen transmission through colostrum and milk (e.g., by implementing milk pasteurization), the application of quarantine and testing procedures for newly introduced animals, and the early detection of infected animals through periodic ELISA testing. In addition, continued molecular surveillance of SRLV genotypes in Lithuania is recommended to monitor viral evolution, identify the potential emergence of new variants, and improve the understanding of the epidemiology of the infection.

The results obtained from investigating the prevalence of CAE and other diseases characteristic of the goat population highlight the importance of targeted surveillance and control measures, particularly for managing the most prevalent and epidemiologically significant diseases, reducing the risk of their spread, and ensuring herd health. Recommended strategies include the combined use of diagnostic methods (e.g., simultaneous ELISA testing for multiple pathogens), strengthening biosecurity measures, controlling feed contamination, limiting contact with other animals (such as cats and dogs), and regularly monitoring mixed infections within herd health management programs.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Stadalienė I, Höglund J, Petkevičius S. Seasonal patterns of gastrointestinal nematode infection in goats on two Lithuanian farms. *Acta Vet. Scand.* 2015, 57, 16.
2. Marandykina-Prakienė A, Butkauskas D, Gudiškis N, Juozaitytė-Ngugu E, Bagdonaitė DL, Kirjušina M, et al. *Sarcocystis* species richness in sheep and goats from Lithuania. *Vet. Sci.* 2023, 10, 520. doi:10.3390/vetsci10080520.
3. Lofstedt J, John E. Caprine arthritis and encephalitis. MSD veterinarijos vadovas. Prieiga: [https://www.msdrvetmanual.com/generalized-conditions/caprine-arthritis-and-encephalitis/caprine-arthritis-and-encephalitis](https://www.msdrvetmanual.com/generalized-conditions/caprine-arthritis-and-encephalitis/caprine-arthritis-and-encephalitis/caprine-arthritis-and-encephalitis).
4. Blacklaws BA. Small ruminant lentiviruses: immunopathogenesis of visna-medi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2012;35(3):259–269. doi:10.1016/j.cimid.2011.12.003.
5. Herrmann-Hoesing LM. Diagnostic assays used to control small ruminant lentiviruses. *J Vet Diagn Invest.* 2010 Nov;22(6):843-55. doi: 10.1177/104063871002200602. PMID: 21088167.
6. Abdullah Jesse FF, et al. Seroprevalence of small ruminant caprine arthritis encephalitis lentivirus among goats from selected small ruminant farms in Selangor, Malaysia. *Vet World.* 2018;11(2):172176. doi:10.14202/vetworld.2018.172176.
7. Panneum S, Rukkamsuk T. Diagnosis of Caprine Arthritis Encephalitis Virus infection in dairy goats by ELISA, PCR and viral culture. *Polish Journal of Veterinary Sciences.* 2017;20(2):347–353.
8. Nayeri T, Sarvi S, Moosazadeh M, Daryani A. The Global Prevalence of *Neospora caninum* Infection in Sheep and Goats That Had an Abortion and Aborted Fetuses: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Vet Sci.* 2022 Apr 26;9:870904. doi: 10.3389/fvets.2022.870904. PMID: 35558895; PMCID: PMC9090472.
9. Dubey JP, Murata FHA, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OCH. Public health and economic importance of *Toxoplasma gondii* infections in goats: the last decade. *Res Vet Sci.* 2020;132:292–307. doi:10.1016/j.rvsc.2020.06.014.
10. Agerholm JS. *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals – a critical review. *Acta Vet Scand.* 2013 Feb 18;55(1):13. doi: 10.1186/1751-0147-55-13. PMID: 23419216; PMCID: PMC3577508.
11. de Miguel R, Arrieta M, Rodríguez-Largo A, Echeverría I, Resendiz R, Pérez E, Ruiz H, Pérez M, de Andrés D, Reina R, de Blas I, Luján L. Worldwide Prevalence of Small Ruminant Lentiviruses in Sheep: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Animals (Basel).* 2021 Mar 11;11(3):784. doi: 10.3390/ani11030784. PMID: 33799908; PMCID: PMC8000744.
12. Ramírez H, Reina R, Amorena B, de Andrés D, Martínez HA. Small ruminant lentiviruses: genetic variability, tropism and diagnosis. *Viruses.* 2013 Apr 23;5(4):1175-207. doi: 10.3390/v5041175. PMID: 23611847; PMCID: PMC3705272.
13. Gobbi P, Pavone S, Orso M, Passamonti F, Righi C, Beato MS, Feliziani F, Giammarioli M. Molecular Characterization of Small Ruminant Lentiviruses in Sheep and Goats: A Systematic Review. *Animals (Basel).* 2024 Dec 8 ir p, 14(23):3545. doi: 10.3390/ani14233545. Molecular Characterization of Small Ruminant Lentiviruses in Sheep and Goats: A Systematic Review. *Animals (Basel).* 2024 Dec 8;14(23):3545. doi: 10.3390/ani14233545. PMID: 39682510; PMCID: PMC11640545.
14. Leroux C, Erhouma E, Guiguen F, Chebloune Y, Gauthier D, Mselli Lakhel L, et al. Small ruminant lentivirus proviral sequences from wild ibexes in contact with domestic goats. *J Gen Virol.* 2008;89(6):1478–84. doi:10.1099/vir.0.2008/0003640.

15. Highland MA. Small ruminant lentiviruses: strain variation, viral tropism, and host genetics influence pathogenesis. *Vet Pathol.* 2017 May;54(3):353–354. doi:10.1177/0300985817695517.
16. Quérat G, Vigne R. Caprine arthritis encephalitis virus. In: Granoff A, Webster RG, editors. *Encyclopedia of Virology*. 2nd ed. Elsevier; 1999. p. 223–229. doi:10.1006/rwvi.1999.0044.
17. Leroux C, Cruz JCM, Mornex JF. SRLVs: a genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Curr HIV Res.* 2010;8(1):94–100. doi:10.2174/157016210790416415.
18. Lechner F, Machado J, Bertoni G, Seow HF, Dobbelaere DA, Peterhans E. Caprine arthritis encephalitis virus dysregulates the expression of cytokines in macrophages. *Journal of Virology.* 1997;71(10):7488–97. doi:10.1128/JVI.71.10.748874971997.
19. Crespo H, Bertolotti L, Juganaru M, Glaria I, de Andrés D, Amorena B, Rosati S, Reina R. Small ruminant macrophage polarization may play a pivotal role on lentiviral infection. *Vet Res.* 2013;44(1):83. doi:10.1186/129797164483.
20. Narayan O, Clements JE. Biology and pathogenesis of lentiviruses. *Journal of General Virology.* 1989;70(Pt 7):1617–39. doi:10.1099/002213177071617.
21. Pétursson G, Pálsson PA, Georgsson G. Maedi-visna in sheep: host-virus interactions and utilization as a model. *Intervirology.* 1989;30(Suppl 1):36–44. doi:10.1159/000150122.
22. Enache DA, Baraitareanu S, Danes D. The incidence of SRLVs infection in European countries over the 10year period, 2006 to 2015. *Journal of International Scientific Publications: Agriculture & Food.* 2016;4:518–529.
23. CFSPH, Center for Food Security and Public Health. Our purpose – CFSPH: accurate information on transboundary and zoonotic diseases, resources and training. Iowa State University College of Veterinary Medicine. Prieiga per internetą: <https://www.cfsph.iastate.edu/>.
24. Minguijón E, Reina R, Pérez M, Polledo L, Villoria M, Ramírez H, Leginagoikoa I, Badiola JJ, GarcíaMarín JF, de Andrés D, Luján L, Amorena B, Juste RA. Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Veterinary Microbiology.* 2015;181(12):75–89. doi:10.1016/j.vetmic.2015.08.007.
25. Brotto K, Ramesh K, Smith J, et al. High prevalence of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goat herds: a large-scale serological survey. *Veterinary World.* 2021;14(2):1344–1350. doi:10.xxxx/veterinaryworld.2021.1344.
26. Peterhans E, Greenland T, Badiola J, et al. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet Res.* 2004;35(3):257–274. doi:10.1051/vetres:2004014.
27. Bolea R, Monleón E, Carrasco L, Vargas A, de Andrés D, Amorena B, Badiola JJ, Luján L. Maedi-visna virus infection of ovine mammary epithelial cells. *Vet Res.* 2006;37(1):133–144. doi:10.1051/vetres:2005048.
28. Schultz EB, Santana TEZ, Silva FF, Garcia AO, Oliveira HR, Rodrigues MT, Brito LF. Genetic parameter estimates for caprine arthritis-encephalitis in dairy goats. *Journal of Dairy Science.* 2020;103(7):64076411. doi:10.3168/jds.201917740.
29. Peterson K, Brinkhof J, Houwers DJ, Colenbrander B, Gadella BM. Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. *Theriogenology.* 2008;69(4):433–442. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.10.013.
30. Brotto Rebuli K, Giacobini M, Bertolotti L. Caprine arthritis encephalitis virus disease modelling review. *Animals (Basel).* 2021;11(5):1457. doi:10.3390/ani11051457.
31. Hasegawa MY, Meira EBS, Lara MC C S H, et al. Small ruminant lentivirus variants and related clinical features in goats from southeastern Brazil. *Small Ruminant Res.* 2016;140:32–36.

32. Barrero Domínguez B, Luque I, Maldonado A, Huerta B, Sánchez M, Gomez Laguna J, Astorga R. Seroprevalence and risk factors of exposure to caprine arthritis-encephalitis virus in southern Spain. *Vet Rec.* 2017;180(9):226. doi:10.1136/vr.104014.
33. Shuralev EA, Khammadov NI, Osyanin KA, Elizarova IA, Salmanova GR, Shamaev ND, et al. Initial multi-target approach shows importance of improved caprine arthritis-encephalitis virus control program in Russia for hobbyist goat farms. *Vet World.* 2021;14(7):1718–1726. doi:10.14202/vetworld.2021.1718-1726.
34. Villoria M, Leginagoikoa I, Luján L, Pérez M, Salazar E, Berriatua E, Minguijón E. Detection of small ruminant lentivirus in environmental samples of air and water. *Small Ruminant Research.* 2013;110(23):155–160. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.12.030.
35. Souza KC de, Pinheiro RR, Santos DO, Brito RLL de, Rodrigues AS, Sider LH, et al. Transmission of the caprine arthritis-encephalitis virus through artificial insemination. *Small Ruminant Research.* 2013;109(23):193–198. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.07.031.
36. Houwers DJ. Economic importance, epidemiology and control of Maedi-Visna and related diseases. In: *Maedi-Visna and related diseases.* Massachusetts: Kluwer Academic Publishers; 1990. p. 83–117.
37. Leitner G, Krifucks O, Weisblit L, Lavi Y, Bernstein S, Merin U. The effect of caprine arthritis-encephalitis virus infection on production in goats. *Veterinary Journal.* 2010 Mar;183(3):328–331. doi:10.1016/j.tvjl.2008.12.001.
38. Tu P, Shiao J, Lai F, Yang S, et al. Diagnostic tests for caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) infection. *Journal of Rare Diseases Research & Treatment.* 2017;2:1317.
39. Brinkhof JMA, van Maanen C, Wigger RW, Lievaart-Peterson K, Houwers DJ. Specific detection of small ruminant lentiviral nucleic acid sequences located in the proviral long terminal repeat and leader-gag regions using real-time polymerase chain reaction. *J Virol Methods.* 2008;147(2):338344. doi:10.1016/j.jviromet.2007.10.013.
40. Plaza M, Sánchez A, Corrales JC, De la Fe C, Contreras A. Caprine arthritis-encephalitis virus diagnosed by ELISA in lactating goats using milk samples. *Small Ruminant Research.* 2009;81(2–3):189–192. doi:10.1016/j.smallrumres.2008.09.008.
41. Anastácio S, Ramalho de Sousa S, Saavedra MJ, da Silva GJ. Role of goats in the epidemiology of *Coxiella burnetii*. *Biology (Basel).* 2022;11(12):1703. doi:10.3390/biology11121703.
42. Friesema IH, Waap H, Swart A, Györke A, Le Roux D, Evangelista FM et al. Systematic review and modelling of *Toxoplasma gondii* seroprevalence in humans, Europe, 2000 to 2021. *Euro Surveill.* 2025;30(34):2500069. doi:10.2807/1560-7917.ES.2025.30.34.2500069.
43. Bagdonas J, Stimbirys A, Jokimas J, Nekrošienė N. Seroprevalence of toxoplasmosis and tickborne encephalitis in domestic goats in Kaunas district, Lithuania. *Vet Med Zootech.* 2005;30:14–22.
44. Bagheri A, et al. Prevalence and early detection of hypodermosis in goats using a competitive ELISA system in Lorestan, Iran. *Arch. Razi Inst.* 2021, 76, 69–77. doi:10.22092/ari.2019.125071.1296.
45. Donahoe SL, Lindsay SA, Krockenberger M, Phalen D, Slapeta J. A review of neosporosis and pathological findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2015;4(2):216–238. doi:10.1016/j.ijppaw.2015.03.002.
46. Polveiro RC, Vidigal PMP, de Oliveira Mendes TA, Yamatogi RS, da Silva LS, Fujikura JM et al. Distinguishing the milk microbiota of healthy goats and goats diagnosed with subclinical mastitis, clinical mastitis, and gangrenous mastitis. *Front Microbiol.* 2022 Aug 25;13:918706. doi:10.3389/fmicb.2022.918706. PMID:36090116; PMCID:PMC9453028.

47. Guatteo R, Seegers H, Taurel AF, Joly A, Beaudeau F. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. *Vet Microbiol.* 2011;149(1–2):1–16. doi:10.1016/j.vetmic.2010.10.007.
48. Sailer A, Wallner A, Haidegger M, Dünser M. Pestiviruses in sheep and goats in Austria: options for integration into the bovine viral diarrhoea monitoring program. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2023;165(12):783–791. doi:10.17236/sat00413.
49. Stelzer S, Theis, J.H. *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: Risk factors and economic impact. *Food Waterborne Parasitol.* 2019, 15, e00037. doi:10.1016/j.fawpar.2019.e00037.
50. Mousa W.S, et al. Clinical, histopathological, and molecular characterization of *Mycoplasma* species in sheep and goats in Egypt. *Vet. World* 2021, 14, 2561–2567. doi:10.14202/vetworld.2021.2561-2567.
51. Bezos J, Álvarez J, Romero B, de Juan L, Domínguez L, Casal C, Díez-Guerrier A, et al. Tuberculosis in goats: assessment of current in vivo cell-mediated and antibody-based diagnostic assays. *Vet J.* 2012;191(2):161–165.
52. Chauhan M.S, et al. *Scientific Goat Production*; ICAR–Central Institute for Research on Goats: Makhdoom, India, 2017; pp. 38–40.
53. Robi D.T, Mossie, T. ir Temteme, S. A comprehensive review of the common bacterial infections in dairy calves and advanced strategies for health management. *Vet. Med. Res. Rep.* 2024, 15, 1–14. doi:10.2147/VMRR.S452925.
54. Pritchard K, Wapenaar W, Brennan M.L. Cattle veterinarians' awareness and understanding of biosecurity. *Vet. Rec.* 2015, 176, 546.
55. Kimeli P, et al. Important Diseases of Small Ruminants in Sub-Saharan Africa: A Review with a Focus on Current Strategies for Treatment and Control in Smallholder Systems. *Animals* 2025, 15, 706. <https://doi.org/10.3390/ani15050706>.
56. ŽŪDC, VĮ Žemės ūkio duomenų centras. Lietuvos žemės ūkis: faktai ir skaičiai 2023 m., Nr. 1 (31). Vilnius: VĮ Žemės ūkio duomenų centras; 2023. Prieiga per: https://zudc.lt/wp-content/uploads/2023/09/Faktai-ir-skaiciai_2023-m.-Nr.-1-31_INTERNETUI_geguzes-9-d.pdf (cituota 2026-02-19).
57. Kaba J, Czopowicz M, Kuźmak J, Olech M, Witkowski L, Moroz Fik A, et al. A large scale study on the seroprevalence of small ruminant lentiviral infection in the Polish goat population. *Prev Vet Med.* 2023;213:105885. doi:10.1016/j.prevetmed.2023.105885.
58. Nowicka D, Czopowicz M, Mickiewicz M, Szaluś-Jordanow O, Witkowski L, Bagnicka E, Kaba J. Diagnostic performance of ID Screen® MVV-CAEV indirect screening ELISA test in identifying SRLV-infected goats. *Pol J Vet Sci.* 2014;17:501–506.
59. Schaer J, Cvetnic Z, Sukalic T, Dörig S, Grisiger M, Iscaro C, et al. Evaluation of serological methods and a new real-time nested PCR for small ruminant lentiviruses. *Pathogens.* 2022;11:129.
60. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 1987;4:406–425.
61. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol.* 1993;10:512–526.
62. Zharkikh A, Li WH. Estimation of confidence in phylogeny: the complete-and-partial bootstrap technique. *Mol Phylogenet Evol.* 1995;4:44–63.
63. Bertolotti L, Mazzei M, Puggioni G, Carrozza ML, Dei Giudici S, Muz D, et al. Characterization of new small ruminant lentivirus subtype B3 suggests animal trade within the Mediterranean Basin. *J Gen Virol.* 2011;92:1923–1929.
64. Opsteegh M, Langelaar M, Fonville M, et al. Risk factors related to *Toxoplasma gondii* seroprevalence in indoorhoused Dutch dairy goats. *Prev Vet Med.* 2016;124:4551.

65. Stelzer S, Basso W, Benavides Silván J, OrtegaMora LM, Maksimov P, Gethmann J, Conraths FJ, Schares G. *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: risk factors and economic impact. *Food Waterborne Parasitol.* 2019;15:e00037.
66. Petkevičius S, et al. The herd level prevalence of caprine arthritis-encephalitis and genetic characteristics of small ruminant lentivirus in the Lithuanian goat population. *Prev. Vet. Med.* 2024, 233, 106363. doi:10.1016/j.prevetmed.2024.106363.
67. Rezart P, et al. Serological evidence of Maedi-Visna and caprine arthritis-encephalitis in sheep and goats in the Korça region in Albania. *German Journal of Veterinary Research* 2024, 3, 33–38. <https://doi.org/10.51585/gjvr.2023.4.0065>.
68. Kemeter L. M, et al. Milk transmission of mammalian retroviruses. *Microorganisms.* 2023;11(7):1777. doi:10.3390/microorganisms11071777.
69. Kaba J, Czopowicz M, Ganter M, Nowicki M, Witkowski L, Nowicka D, Szaluś-Jordanow O. Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds. *Res Vet Sci.* 2013;94(2):225-227. doi:10.1016/j.rvsc.2012.09.018.
70. Michiels R, Van Mael E, Quinet C, Welby S, Cay AB, De Regge N. Seroprevalence and risk factors related to small ruminant lentivirus infections in Belgian sheep and goats. *Prev Vet Med.* 2018 Mar 1;151:13-20. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.12.014. Epub 2017 Dec 26. PMID: 29496101.
71. Olech M, Valas S, Kuźmak J. Epidemiological survey in single-species flocks from Poland reveals expanded genetic and antigenic diversity of small ruminant lentiviruses. *PLoS One.* 2018;13(3):e0193892. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193892>.
72. Olech M, Murawski M, Kuźmak J. Molecular analysis of small-ruminant lentiviruses in Polish flocks reveals the existence of a novel subtype in sheep. *Arch Virol.* 2019;164(4):1193–1198. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04161-9>.
73. Olech M. The genetic variability of small-ruminant lentiviruses and its impact on tropism, the development of diagnostic tests and vaccines and the effectiveness of control programmes. *J Vet Res.* 2023;67(4):479–502. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2023-0064>.
74. Nowicka D, Czopowicz M, Szaluś-Jordanow O, Witkowski L, Bagnicka E, Kaba J. Seropositive bucks and within-herd prevalence of small ruminant lentivirus infection. *Cent Eur J Immunol.* 2015;40(3):283–286.
75. Shah C, Böni J, Huder JB, Vogt HR, Mühlemann J, Zanoni R, et al. Shah C, Böni J, Huder JB, Vogt HR, Mühlemann J, Zanoni R, et al.
76. Mendiola W.P.S, Tortora J.L, Martínez H.A, García M.M, Cuevas-Romero S, Cerriteno J.L, Ramirez H. Genotyping based on the LTR region of small ruminant lentiviruses from naturally infected sheep and goats from Mexico. *Biomed Res Int.* 2019;2019:4279573. <https://doi.org/10.1155/2019/4279573>.
77. Olech M, Kuźmak J, Kycko A, Junkuszew A. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses originating from naturally infected sheep and goats from Poland based on the long terminal repeat sequences. *J Vet Res.* 2022;66(4):497–510. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2022-0064>.
78. Kuhar U, Barlič-Maganja D, Grom J. Development and validation of TaqMan probe-based real-time PCR assays for the specific detection of genotype A and B small ruminant lentivirus strains. *BMC Vet Res.* 2013;9:172. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-172>.
79. Kaba J, Bagnicka E. Breeding and use [in Polish]. *Życie Wet.* 2009;84:215–219.
80. Bazzocchi M, Pierini I, Gobbi P, Pirani S, Torresi C, Iscaro C, et al. Genomic epidemiology and heterogeneity of small ruminant lentiviruses in Italy from 1998 to 2019. *Viruses.* 2021;13(12):2338. <https://doi.org/10.3390/v13122338>.

81. Braz GF, Heinemann MB, Reis JKP, Teixeira BM, Cruz JCM, Rajão DS, et al. Genetic and antigenic characterization of Brazilian small ruminant lentivirus strains: natural small ruminant interspecies transmission from mixed herds. *Infect Genet Evol.* 2022;103:105322. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105322>.
82. Larruskain A, Jugo BM. Retroviral infections in sheep and goats: small ruminant lentiviruses and host interaction. *Viruses.* 2013 Aug 19;5(8):2043-61. doi: 10.3390/v5082043. PMID: 23965529; PMCID: PMC3761241.
83. Basso W, Holenweger F, Schares G, Müller N, Campero LM, Ardüser F, Moore-Jones G, Frey CF, Zanolari P. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep and goats in Switzerland: Seroprevalence and occurrence in aborted foetuses. *Food Waterborne Parasitol.* 2022;28:e00176. doi:10.1016/j.fawpar.2022.e00176.
84. Díaz P, Cabanelas E, Díaz-Cao JM, Viña M, Béjar JP, Pérez-Creo A, Prieto A, López CM, Panadero R, Fernández G, Díez-Baños P, Morrondo P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats from north-western Spain. *Ann Agric Environ Med.* 2016;23(4):587-590. doi:10.5604/12321966.1226851.
85. Hajimohammadi B, Ahmadian S, Firoozi Z, Askari M, Mohammadi M, Eslami G, Askari V, Loni E, Barzegar-Bafrouei R, Boozhmehrani MJ. A meta-analysis of the prevalence of toxoplasmosis in livestock and poultry worldwide. *Ecohealth.* 2022;19(1):55-74. doi:10.1007/s10393-022-01575-x.
86. Czopowicz M, Kaba J, SzaluśJordanow O, Nowicki M, Witkowski L, Frymus T. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland. *Vet Parasitol.* 2011;178(34):339341. doi:10.1016/j.vetpar.2011.01.039.
87. Atelge M, Karatepe M, Yıldırım A. Seroprevalence of *Neospora caninum* in goats from Korkuteli District of Antalya. *Turk Parazit Derg.* 2022;46(3):180183. doi:10.4274/tpd.galenos.2022.07269.
88. Ahaduzzaman M. The global and regional prevalence of oestrosis in sheep and goats: a systematic review of articles and meta-analysis. *Parasit Vectors.* 2019 Jul 12;12(1):346. doi: 10.1186/s13071-019-3597-2.
89. Rodrigues AA, Reis SS, Sousa ML, Moraes EDS, Garcia JL, Nascimento TVC, Cunha IALD. A systematic literature review and meta-analysis of risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in goats. *Prev Vet Med.* 2020 Dec;185:105176. doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.105176.
90. Jaý M, Tardy F. Contagious agalactia in sheep and goats: current perspectives. *Vet Med (Auckl).* 2019;10:229–247. doi:10.2147/VMRR.S201847.
91. Oakley RB, Gemechu G, Gebregiorgis A, Alemu A, Zinsstag J, Paris DH, Tschopp R. Seroprevalence and risk factors for Q fever and Rift Valley fever in pastoralists and their livestock in Afar, Ethiopia: a One Health approach. *PLoS Negl Trop Dis.* 2024;18(8):e0012392. doi:10.1371/journal.pntd.0012392.
92. ToledoPerona R, Contreras A, Gomis J, Quereda JJ, GarcíaGalán A, Sánchez A, GómezMartín Á. Controlling *Coxiella burnetii* in naturally infected sheep, goats and cows, and public health implications: a scoping review. *Front Vet Sci.* 2024;11:1321553. doi:10.3389/fvets.2024.1321553.
93. Jodelko A, SzymańskaCzerwińska M, Rola JG, Niemczuk KM. Molecular detection of *Coxiella burnetii* in small ruminants and genotyping of specimens collected from goats in Poland. *BMC Vet Res.* 2021;17:341. doi:10.1186/s12917021030510.
94. Celi K, Guzmán L, ReyValeirón C. Apicomplexans in goat: prevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp. and risk factors in farms from Ecuador. *Animals.* 2022;12(17):2224. doi:10.3390/ani12172224.
95. Alhaji BB, Musa MI. Common diseases of goats, treatment and preventive measures. In: *Goat Science — From Keeping to Precision Production*. London, UK: IntechOpen; 2023. p. [chapter pages]. doi:10.5772/intechopen.1001377.

96. Fereig RM, Wareth G, Abdelbaky HH, Mazeed AM, ElDiasty M, Abdelkhalek A, Mahmoud HYAH, Ali AO, ElTayeb A, Alsayeqh AF, et al. Seroprevalence of specific antibodies to *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Brucella* spp. in sheep and goats in Egypt. *Animals*. 2022;12(21):3327. doi:10.3390/ani12213327.
97. Chiang SH, Huang HH, Chou CC, Chu CS, Shih WL, Lai JM, Lin HC, Yang WC, Lee HH, Tsai YL, et al. Epidemiological survey of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in dairy goats in CentralSouthern Taiwan. *J Vet Med Sci*. 2020;82(10):1537–1544. doi:10.1292/jvms.200116.
98. Alamerew EA, Demis C, Asfaw T, Gemed BA, Asres FA, Yitagesu E, Wondifra Y, Areaya A. Serological evidence of caprine arthritis-encephalitis in North Shewa Zone, Ethiopia: clinical case analysis. *Vet Med (Auckl)*. 2022;13:287–297. doi:10.2147/VMRR.S378605.
99. Gruszecki TM, Olech M, Kuźmak J, Bagnicka E, Szymanowska A, Szczepaniak K, GregułaKania M, Tomczuk K, Bojar W. Prevalence of CAEV infections in goat herds. *Med Wet*. 2018;74:369–374. doi:10.21521/mw.6100.
100. Gazzonis AL, Veronesi F, Di Cerbo AR, Zanzani SA, Molineri G, Moretta I, Moretti A, Fioretti DP, Invernizzi A, Manfredi MT. *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Northern Italy — prevalence and risk factors. *Ann Agric Environ Med*. 2015;22(1):62–68. doi:10.5604/12321966.1141370.
101. HolecGąsior L, Drapała D, DominiakGórski B, Kur J. Epidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection among cattle in Northern Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2013;20(4):653–656.
102. Batista SP, Silva SDS, Sarmento WF, Mota RA, Feitosa TF, Vilela VLR. Seroprevalence and associated factors with *Neospora caninum* infection in sheep and goats slaughtered in the state of Paraíba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2023;32(4):e012423. doi:10.1590/S198429612023068.
103. Matos RAT, Silva Júnior JF, Lima MDA, Silva EJ, Marinho ML, Júnior JWP, Mota RA, Garino F. Occurrence and risk factors associated with *Mycoplasma agalactiae* infection in dairy goat herds of Paraíba State, Brazil. *Pesq Vet Bras*. 2019;39(12):1063–1068. doi:10.1590/16785150PVB6127.
104. Gazzonis AL, Alvarez Garcia G, Zanzani SA, Mora LMO, Invernizzi A, Manfredi MT. *Neospora caninum* infection in sheep and goats from north-eastern Italy and associated risk factors. *Small Rumin Res*. 2016;140:7–12. doi:10.1016/j.smallrumres.2016.05.010.
105. Maia ARA, de Melo RPB, Mota RA, Clementino IJ, Alves CJ, de Sousa Américo Batista Santos C, Fernandes LG, de Azevedo SS. Herd and animal-level prevalences and risk factors for *Neospora caninum* infection in cattle in Paraíba, northeastern Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Rep*. 2023;40:100866. doi:10.1016/j.vprsr.2023.100866.
106. Anastácio S, Tavares N, Carolino N, SidiBoumedine K, da Silva GJ. Serological evidence of exposure to *Coxiella burnetii* in sheep and goats in central Portugal. *Vet Microbiol*. 2013;167(34):500–505. doi:10.1016/j.vetmic.2013.08.004.
107. Tegmeier C, Stryhn H, Uttenthal Å, Kjeldsen AM, Nielsen TK. Seroprevalence of Border Disease in Danish sheep and goat herds. *Acta Vet Scand*. 2000;41(4):339–344. doi:10.1186/BF03549624.
108. Wilson AG, Lapen DR, Provencher JF, Wilson S. The role of species ecology in predicting *Toxoplasma gondii* prevalence in wild and domesticated mammals globally. *PLoS Pathog*. 2024;20:e1011908. doi:10.1371/journal.ppat.1011908.
109. Seasonal patterns of gastrointestinal nematode infection in goats on two Lithuanian farms. *Acta Vet. Scand*. 2015, 57, 16. doi:10.1186/s13028-015-0105-3.

110. Farhab M, Aziz MW, Shaukat A, Cao M-X, Hou Z, Huang S-Y, Li L, Yuan Y-G. Review of toxoplasmosis: what we still need to do. *Vet Sci.* 2025;12(8):772. doi:10.3390/vetsci12080772.
111. Biolabs, Creative Biolabs. Caprine Arthritis Encephalitis Virus Vaccines. Shirley (NY). Prieiga per internetą: <https://www.creative-biolabs.com/vaccine/caprine-arthritis-encephalitis-virus-vaccine.htm>.
112. Olech M, Kuźmak J. Compartmentalization of Subtype A17 of Small Ruminant Lentiviruses between Blood and Colostrum in Infected Goats Is Not Exclusively Associated to the env Gene. *Viruses.* 2019 Mar 18;11(3):270. doi: 10.3390/v11030270. PMID: 30889906; PMCID: PMC6466396.

DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

1. Petkevičius S, **Klibavičė P**, Šalomska A, Kupčinskas T, MorozFik A, Biernacka K, Mickiewicz M, Nowek Z, Ózsvári L, Bárdos K, Stuen S, Abril CE, Bertoni G, Kaba J, Czopowicz M. The herdlevel prevalence of caprine arthritisencephalitis and genetic characteristics of small ruminant lentivirus in the Lithuanian goat population. *Prev Vet Med.* 2024;233:106363. doi:10.1016/j.prevetmed.2024.106363
2. **Klibavičė P**, Kupčinskas T, Petkevičius S, Buitkuvienė J, Šalomska A. Serological insights into infectious agents circulating in Lithuanian goats. *Vet Sci.* 2026;13(1):86. doi:10.3390/vetsci13010086

MOKSLINIŲ KONFERENCIJŲ, SUSIJUSIŲ SU DISERTACIJOS TEMA, SĄRAŠAS

1. “XXI Middle European Buiatrics Congress”, Stare Jabłonki, Poland, 2022 m. gegužės 19-22 d. “Seroprevalence of caprine arthritis-encephalitis virus infection in Lithuania”, P. Klibavičė, J. Raibikis, A. Šalomska, T. Kupčinskas, A. Malakauskas, S. Petkevičius
2. “13th International Conference on Goats”, Eger, Hungary, 2022 m. rugsėjo 19-22 d. “Seroprevalence in Lithuanian goat herds of small ruminant lentivirus infection, the cause of caprine arthritis encephalitis”, Klibavičė P, Raibikis J, Šalomska A, Kupčinskas T, Petkevičius S
3. „10th International Sheep Veterinary Congress 2023“, Seville, Spain, 2023 m. kovo 6-10 d. „First report of the occurrence of SRLV genotypes A and B in Lithuanian goat population“, Klibavičė P, Morok-Fik A, Biernacka K, Mickiewicz M, Nowak Z, Petkevičius S, et al.
4. “*Viruses 2026 – New Horizons in Virology*”, Barcelona, Spain, from 11 to 13 March 2026. Sponsored by MDPI and the open-access journal Viruses, “Prevalence and serological testing of diseases in Lithuanian goat population, Patricija Klibavičė, Algirdas Šalomska, Tomas Kupčinskas, Saulius Petkevičius

PRIEDAI

1 priedas

Iš „GenBank“ gautos smulkiųjų atrajotojų lentiviruso (SALV) viso genomo etaloninės sekos

Geno- type	Subty- pe	Isolate name	GenBank accession number	Reference
A	A1	Kv1514 (Icelandic) (Prototypic A)	M60610	Sonigo et al., 1985; Staskus et al., 1991; Ramirez et al., 2013
A	A1	EV1 (Icelandic)	S51392	Sargan et al., 1991
A	A1	KV1772 (Neurotropic va- riant)	L06906 NC_001452	Andrésson et al., 1993
A	A1	SA-OMVV (South African)	M31646	Querat et al., 1990
A	A2	OvLV 85/34	MT993908	Dickey et al., 2020
A	A2	USMARC-200303013-1 (North American)	KY358787	Workman et al., 2017
A	A2	1150	MH916859	Workman et al., 2017
A	A2/3	697	HQ848062	Glaria et al., 2012
A	A4	-	AY445885	Shah et al., 2004
A	A8	SRLV025	MH374284	Schaer et al., 2022
A	A18	SRLV009	MG554409	Schaer et al., 2022
A	A19	SRLV038	MH374287	Schaer et al., 2022
B	B1	CAEV-Cork (Prototypic B)	NC_001463 M33677	Saltarelli et al., 1990
B	B1	SRLV020	MG554414	Schaer et al., 2022
B	B1	SRLV/B1/Goat/MX /INI- FAP-1/2013	MG996440	Unpublished
B	B1	FESC-752	HM210570	Ramírez et al., 2011
B	B1	SRLV To1.89	MH374290	Schaer et al., 2022
B	B1	SRLV010	MG554410	Schaer et al., 2022
B	B1	Gansu	AY900630	Unpublished
B	B2	Ov496	FJ195346	Glaria et al., 2009
B	B2	SRLV001	MG554402	Schaer et al., 2022
B	B2	SRLV042	MH374288	Schaer et al., 2022
B	B3	Fonni	JF502416	Bertolotti et al., 2011
B	B3	Volterra	JF502417	Bertolotti et al., 2011
C	C1	1GA (Prototypic C)	AF322109	Gjerset et al., 2006
E	E1	Roccamerano (Prototypic E)	EU293537	Grego et al., 2007; Reina et al., 2009
E	E2	Seui (Prototypic E)	GQ381130	Reina et al., 2010

Detailed data of 30 Lithuanian herds included in the study

Herd ID	County	Herd size (number of adult goats)	Herd size category	Required within-herd sample size	Number of goats serologically tested in the herd (highlighted in red if required within-herd sample size not reached)	Number of females serologically tested	Number of males serologically tested	Serological status of the herd	Number of seropositive goats in the herd	Number of seropositive females in the herd	Number of seropositive males in the herd	Proportion of tested goats that turned out to be seropositive	Herds tested using the RT-nPCR
#1	Vilnius	500	Large (>100)	17	10	10	0	SEROPOSITIVE	10	10	0	100%	
#2	Vilnius	50	Small (21-50)	15	10	10	0	seronegative	0	0	0		
#3	Kaunas	32	Small (21-50)	13	32	30	2	SEROPOSITIVE	11	9	2	34%	YES
#4	Kaunas	40	Small (21-50)	14	11	11	0	SEROPOSITIVE	2	2	0	18%	YES
#5	Tauragė	12	Very small (≤ 20)	9	9	9	0	SEROPOSITIVE	1	1	0	11%	
#6	Tauragė	11	Very small (≤ 20)	8	11	9	2	seronegative	0	0	0		
#7	Alytus	32	Small (21-50)	13	11	10	1	SEROPOSITIVE	2	2	0	18%	YES
#8	Alytus	80	Medium (51-100)	15	12	12	0	SEROPOSITIVE	9	9	0	75%	
#9	Utena	40	Small (21-50)	14	11	8	3	SEROPOSITIVE	7	7	0	64%	YES
#10	Utena	23	Small (21-50)	12	11	10	1	seronegative	0	0	0		

2 priedo tęsinys

Herd ID	County	Herd size (number of adult goats)	Herd size category	Required within-herd sample size	Number of goats serologically tested in the herd (highlighted in red if required within-herd sample size not reached)	Number of females serologically tested	Number of males serologically tested	Serological status of the herd	Number of seropositive goats in the herd	Number of seropositive females in the herd	Number of seropositive males in the herd	Proportion of tested goats that turned out to be seropositive	Herds tested using the RT-nPCR
#11	Utena	15	Very small (≤ 20)	11	10	9	1	SEROPOSITIVE	3	2	1	30%	
#12	Kaunas	17	Very small (≤ 20)	10	15	14	1	seronegative	0	0	0		
#13	Vilnius	30	Small (21-50)	13	15	11	4	seronegative	0	0	0		
#14	Telšiai	23	Small (21-50)	12	16	12	4	SEROPOSITIVE	2	1	1	13%	YES
#15	Marijampolė	17	Very small (≤ 20)	10	12	11	1	seronegative	0	0	0		
#16	Utena	40	Small (21-50)	14	16	15	1	seronegative	0	0	0		
#17	Vilnius	94	Medium (51-100)	15	15	15	0	seronegative	0	0	0		
#18	Kaunas	16	Very small (≤ 20)	10	16	15	1	SEROPOSITIVE	5	5	0	31%	YES
#19	Šiauliai	23	Small (21-50)	12	14	12	2	seronegative	0	0	0		
#20	Vilnius	38	Small (21-50)	14	16	15	1	SEROPOSITIVE	8	8	0	50%	YES
#21	Panevėžys	17	Very small (≤ 20)	10	16	16	0	seronegative	0	0	0		

2 priedo tęsinys

Herd ID	County	Herd size (number of adult goats)	Herd size category	Required within-herd sample size	Number of goats serologically tested in the herd (highlighted in red if required within-herd sample size not reached)	Number of females serologically tested	Number of males serologically tested	Serological status of the herd	Number of seropositive goats in the herd	Number of seropositive females in the herd	Number of seropositive males in the herd	Proportion of tested goats that turned out to be seropositive	Herds tested using the RT-nPCR
#22	Šiauliai	12	Very small (≤ 20)	9	12	9	3	SEROPOSITIVE	1	1	0	8%	
#23	Vilnius	27	Small (21-50)	12	15	14	1	SEROPOSITIVE	1	0	1	7%	YES
#24	Klaipėda	20	Very small (≤ 20)	12	19	18	1	SEROPOSITIVE	5	5	0	26%	YES
#25	Alytus	12	Very small (≤ 20)	9	11	7	4	SEROPOSITIVE	2	1	1	18%	
#26	Vilnius	10	Very small (≤ 20)	9	4	3	1	seronegative	0	0	0		
#27	Vilnius	14	Very small (≤ 20)	10	12	11	1	SEROPOSITIVE	2	2	0	17%	YES
#28	Šiauliai	11	Very small (≤ 20)	8	5	4	1	seronegative	0	0	0		
#29	Telšiai	11	Very small (≤ 20)	8	9	8	1	SEROPOSITIVE	3	3	0	33%	
#30	Telšiai	10	Very small (≤ 20)	9	4	3	1	seronegative	0	0	0		

3 priedas

Evoliucinės divergencijos įverčiai tarp 10 Lietuvos SRLV padermių ir 27 etaloninių SRLV genetinių potipių (įtrauktų kaip viso genomo sekos), apskaičiuoti kaip bazių pakaitų skaičius vienai nukleotido vietai tarp SRLV sekų (standartinės paklaidos pateiktos skliausteliuose)

SALV genetinių potipių etaloninės viso genomo sekos

Strains from Lithuanian herds	GenBank accession numbers	Reference whole-genome sequences of the following genetic subtypes of SRLV											
		A1				A2			A2/A3	A4	A8	A18	A19
		EV1	Kv1514	Kv1772	SA-OMVV	OvLV 85/34	USMARC-2003 03013-1	1150	697	AY445885	SRLV025	SRLV009	SRLV038
A-LT-G300	PP855635	0.393 (0.063)	0.217 (0.042)	0.203 (0.040)^a	0.347 (0.062)	0.284 (0.050)	0.360 (0.060)	0.313 (0.052)	0.266 (0.049)	0.229 (0.044)	0.286 (0.052)	0.224 (0.043)	0.313 (0.049)
A-LT-H152	PP855636	0.265 (0.039)	0.235 (0.037)	0.225 (0.036)	0.225 (0.037)	0.157 (0.029)	0.081 (0.019)*	0.103 (0.022)	0.208 (0.035)	0.231 (0.037)	0.240 (0.038)	0.196 (0.033)	0.265 (0.039)
A-LT-F347	PP855637	0.313 (0.042)	0.250 (0.034)	0.241 (0.034)	0.248 (0.036)	0.163 (0.027)	0.102 (0.021)*	0.113 (0.022)	0.245 (0.035)	0.252 (0.035)	0.273 (0.038)	0.206 (0.032)	0.281 (0.037)
A-LT-D317	PP855638	0.301 (0.042)	0.275 (0.041)	0.264 (0.040)	0.233 (0.037)	0.167 (0.031)	0.095 (0.021)*	0.118 (0.024)	0.240 (0.038)	0.246 (0.038)	0.266 (0.040)	0.227 (0.037)	0.298 (0.041)
A-LT-B208	PP855639	0.288 (0.042)	0.264 (0.039)	0.267 (0.041)	0.254 (0.041)	0.199 (0.035)	0.101 (0.022)*	0.139 (0.027)	0.222 (0.036)	0.259 (0.040)	0.237 (0.038)	0.227 (0.038)	0.268 (0.039)
B-LT-B210	PP855640	0.466 (0.065)	0.454 (0.064)	0.430 (0.060)	0.473 (0.065)	0.461 (0.060)	0.490 (0.068)	0.483 (0.067)	0.479 (0.066)	0.453 (0.062)	0.443 (0.062)	0.445 (0.060)	0.507 (0.064)
B-LT-C30	PP855641	0.450 (0.063)	0.427 (0.060)	0.405 (0.056)	0.484 (0.065)	0.462 (0.061)	0.500 (0.070)	0.503 (0.069)	0.508 (0.070)	0.446 (0.062)	0.453 (0.063)	0.438 (0.059)	0.493 (0.062)
B-LT-E69	PP855642	0.487 (0.071)	0.462 (0.069)	0.436 (0.064)	0.473 (0.067)	0.473 (0.065)	0.531 (0.078)	0.524 (0.077)	0.509 (0.073)	0.460 (0.066)	0.470 (0.068)	0.452 (0.063)	0.530 (0.070)
B-LT-I244	PP855643	0.479 (0.071)	0.475 (0.072)	0.447 (0.066)	0.508 (0.073)	0.477 (0.067)	0.528 (0.079)	0.537 (0.077)	0.513 (0.074)	0.466 (0.067)	0.472 (0.069)	0.464 (0.066)	0.543 (0.071)
B-LT-J87	PP855644	0.460 (0.064)	0.427 (0.059)	0.405 (0.056)	0.484 (0.065)	0.444 (0.058)	0.480 (0.066)	0.503 (0.070)	0.489 (0.067)	0.429 (0.059)	0.453 (0.064)	0.421 (0.057)	0.510 (0.064)

3 priedo tęsinys

Strains from Lithuanian herds	GenBank accession numbers	Reference whole-genome sequences of the following genetic subtypes of SRLV														
		B1							B2			B3		C	E1	E2
		CAEV-Cork	SRLV020	SRLV/B1 / Goat/MX / INIFAP-1/ 2013	FESC-752	SRLV To1.89	SRLV010	Gansu	Ov496	SRLV001	SRLV042	Fonni	Volterra	1GA	Rocca-verano	Seui
A-LT-G300	PP855635	0.454 (0.068)	0.472 (0.07)	0.471 (0.069)	0.485 (0.072)	0.462 (0.07)	0.306 (0.049)	0.46 (0.068)	0.485 (0.074)	0.386 (0.057)	0.405 (0.06)	0.542 (0.08)	0.511 (0.071)	0.585 (0.096)	0.387 (0.061)	0.447 (0.069)
A-LT-H152	PP855636	0.453 (0.059)	0.438 (0.059)	0.458 (0.061)	0.354 (0.049)	0.505 (0.067)	0.366 (0.05)	0.467 (0.062)	0.471 (0.063)	0.447 (0.059)	0.455 (0.06)	0.512 (0.065)	0.526 (0.066)	0.481 (0.062)	0.341 (0.051)	0.346 (0.049)
A-LT-F347	PP855637	0.512 (0.064)	0.476 (0.059)	0.508 (0.063)	0.438 (0.055)	0.537 (0.067)	0.43 (0.054)	0.503 (0.062)	0.508 (0.064)	0.492 (0.062)	0.506 (0.063)	0.579 (0.072)	0.563 (0.068)	0.488 (0.059)	0.368 (0.05)	0.356 (0.045)
A-LT-D317	PP855638	0.470 (0.062)	0.464 (0.063)	0.466 (0.063)	0.375 (0.052)	0.524 (0.069)	0.404 (0.056)	0.475 (0.063)	0.508 (0.069)	0.481 (0.065)	0.490 (0.065)	0.523 (0.067)	0.556 (0.071)	0.500 (0.066)	0.345 (0.051)	0.370 (0.052)
A-LT-B208	PP855639	0.467 (0.064)	0.457 (0.062)	0.472 (0.065)	0.354 (0.049)	0.522 (0.072)	0.367 (0.051)	0.481 (0.067)	0.476 (0.064)	0.449 (0.06)	0.458 (0.06)	0.543 (0.070)	0.528 (0.067)	0.458 (0.06)	0.342 (0.052)	0.365 (0.051)
B-LT-B210	PP855640	0.096 (0.021)	0.093 (0.022)*	0.110 (0.023)	0.275 (0.043)	0.091 (0.021)	0.210 (0.033)	0.115 (0.024)	0.156 (0.029)	0.134 (0.025)	0.110 (0.023)	0.213 (0.035)	0.177 (0.031)	0.254 (0.041)	0.509 (0.066)	0.536 (0.07)
B-LT-C30	PP855641	0.096 (0.021)	0.093 (0.021)*	0.120 (0.024)	0.289 (0.044)	0.111 (0.023)	0.235 (0.036)	0.115 (0.024)	0.161 (0.029)	0.156 (0.029)	0.150 (0.028)	0.202 (0.033)	0.189 (0.031)	0.261 (0.041)	0.508 (0.067)	0.542 (0.071)
B-LT-E69	PP855642	0.095 (0.023)	0.094 (0.024)*	0.115 (0.025)	0.300 (0.048)	0.085 (0.022)	0.234 (0.039)	0.120 (0.026)	0.167 (0.032)	0.138 (0.027)	0.121 (0.026)	0.204 (0.035)	0.194 (0.035)	0.273 (0.045)	0.521 (0.072)	0.561 (0.076)
B-LT-I244	PP855643	0.098 (0.023)	0.095 (0.024)*	0.119 (0.026)	0.297 (0.049)	0.083 (0.021)	0.230 (0.039)	0.125 (0.027)	0.155 (0.031)	0.142 (0.028)	0.120 (0.026)	0.205 (0.036)	0.194 (0.035)	0.275 (0.046)	0.523 (0.070)	0.564 (0.076)
B-LT-J87	PP855644	0.096 (0.021)	0.093 (0.022)*	0.120 (0.025)	0.282 (0.043)	0.101 (0.023)	0.222 (0.036)	0.115 (0.024)	0.161 (0.029)	0.146 (0.028)	0.130 (0.026)	0.202 (0.034)	0.200 (0.033)	0.274 (0.044)	0.491 (0.064)	0.523 (0.067)

* mažiausias bazių pakeitimų skaičius, nurodantis SRLV potipį, kuriam buvo priskirta padermė; ^a netenkinamas <15 % skirtumų nuo prototipinės padermės kriterijus.

REKOMENDACIJOS OŽKŲ INFEK CINIO ARTRITO-ENCEFALITO KONTROLEI

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

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

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

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

Rizikos veiksniai:

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

Ligos kontrolė:

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

- Užsikrėtusių ožkų krekenos ir pienas turėtų būti termiškai apdorojamas 56 °C temperatūroje 60 min. arba keičiamas pakaitalais (sveikos ožkos ar karvės pienu, krekenomis);
- Seroteigiamų ožkų naujagimiai turėtų būti atskiriami nuo motinos iš karto po gimimo, kad negautų infekuotų krekenų;
- Seroteigiamos ožkos turi būti atskirtos nuo sveikų, kad tarpusavyje neturėtų kontakto;
- Užkrėstoje bandoje ožkos turėtų būti grupuojamos (pvz.: laikomos atskiruose garduose, mažesnėmis grupėmis arba po vieną);
- Jei banda sveika (atliktas serologinis tyrimas ir nerasta teigiamai reagusių), perkant ožkas iš kitų Lietuvos ar užsienio šalyse esančių ūkių būtina karantinuoti ir atlikti serologinius infekcinio artrito-encefalito tyrimus;
- Kergimui naudoti tik sveikus (seroneigiamus) gyvulius. Kergti tik sveikas ožkas su sveikais ožiais;
- Užsikrėtusias (seroteigiamas) ožkas melžti paskutines;
- Atlikti serologinius ožkų infekcinio artrito-encefalito tyrimus 1–2 kartus per metus, seroteigiamus atskirti ir, jei įmanoma, brokuoti, kol bus likviduoti paskutiniai užsikrėtę (seroteigiami) gyvuliai;
- Laikytis asmens higienos taisyklių, biosaugos reikalavimų (švarūs apyvokos daiktai, vienkartiniai ar sterilizuoti veterinariniai įrankiai ir t.t.);
- Būtina taikyti karantinavimą naujai įsivežtiems gyvūnams.

CURRICULUM VITAE

Name, Surname: Patricija Klibavičė
E-mail: patricija.klibavice@lsmu.lt

Education:

2021–2026 PhD studies in Veterinary Virology, Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary academy, Department of Veterinary Pathobiology
2019–2021 Residency Studies in Veterinary Virology, Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary academy, Department of Veterinary Pathobiology
2013–2019 Master's degree in Veterinary Medicine, Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy

Work experience:

2022–2024 Specialist researcher, Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary academy, Department of Veterinary Pathobiology

Research activities

To date, my scientific work during my PhD studies has resulted in:

- 2 publications in peer-reviewed international journals
- Participation in 4 international conferences
- 2 internships: at Warsaw University of Life Sciences and University of Veterinary Medicine Budapest
- Participation in the international research project *“Development of a rapid screening test for on-site serological diagnostics of caprine arthritis-encephalitis using individual milk samples”*

Creative activities

My creative activities during doctoral studies included:

- Inviting, registering, and educating farmers willing to participate in the study
- Developing an informational leaflet
- Designing and organizing practical research solutions applied in the laboratory and on goat farms

Academic community

- Preparing presentations and conducting educational outreach activities for senior secondary school students in various Lithuanian schools about veterinary medicine studies at the Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy
- Preparing and publishing an informational leaflet and an informational article in *Ūkininko patarėjas*
- Communicating and collaborating with international project partners and colleagues

PADĖKA

Norėčiau padėkoti visiems kolegoms, kurie prisidėjo prie mano doktorantūros studijų rezultatų ir pasiekimų.

Ypatingą padėką noriu išreikšti savo darbo vadovui Prof. Dr. Algirdui Šalomskui už ilgą bendradarbiavimo kelią nuo pat magistrantūros studijų, už palaikymą ir nuraminimą įtemptose situacijose, už vertingus patarimus, supratingumą. Esu dėkinga už paskatinimą eiti šiuo keliu.

Taip pat, noriu padėkoti savo šeimai ir artimiesiems už tikėjimą ir nuoširdų palaikymą.