



Maaelu arengu Euroopa  
Põllumajandusfond:  
Euroopa investeeringud  
maapiirkondadesse



[www.emu.ee](http://www.emu.ee)  
**Eesti Maaülikool**  
Estonian University of Life Sciences

**EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut**

# TERVE LOOM



Konverentsi “Terve loom ja tervislik toit 2012” kogumik

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

# TERVE LOOM

Kaane kujundus ja küljendus Imre Heero  
Trükk Pajoprint  
©Eesti Maaülikool

ISBN 978-9949-484-26-3

Konverentsi  
"Terve loom ja tervislik toit 2012"  
kogumik

Tartu 2012

## Saateks

Teie käes olev kogumik annab ülevaate Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudis viimase aasta jooksul tehtud rakendusuringutest. Kindlasti ei suuda kogumik kajastada kogu tehtud tööd, sest paljudki uurimisteemad on veel algusjärgus. Loodame, et leiata siit uusi teadmisi, mida oma töös kas kohe praegu või tulevikus kasutada ja võib-olla paneb mõnigi kirjutis alguse tootja ja teadlase vahelisele tihedamale kontaktile.

Eesti ülikoolidel on keeruline aeg. Ees seisab mitmeid reforme, mis peaksid kõrgharidus- ja teadusmaastikku korrastama ja ülikoolihariduse ja teaduse kvaliteeti tõstma. Kõrgharidusreformi problemaatika on meedia vahendusel küllap ka põllumeheni jõudnud, Eesti teaduse rahastamise ümberkorraldused pole veel nii suurt avalikkuse tähelepanu pälvinud, jäädes põhiliselt teadlaste arutusobjektiks. Pole kahtlust, et loomaarstide, loomakasvatavate, kalakasvatavate ning toidutehnoloogide koolitamine jätkub Eesti Maaülikoolis ka edaspidi. Üha rohkem inimesi eelistab eestimaist puhast toitu mitte ainult sõnades, vaid ka supermarketis oste tehes. Kuidas siis veel, kui mitte ise vastavate valdkondade spetsialiste koolitades, suudaksime Eestimaa põllumajanduse ja toiduainetetööstuse arengut ja rahva toidujulgeolekut tagada. Teaduse rahastamise ümberkorraldamine on kahtlemata samuti riigile mõõdapääsmatu, kuid sunnib kahtlema põllumajandusliku uurimistöö senises mahus jätkumise võimalikkuses. Tootjale ja töötajale võib tunduda veidi kurioossena, et Eestis hinnatakse teadustöö kvaliteeti põhiliselt rahvusvahelistes teadusajakirjades avaldatud ja väliskolleegide poolt laialdast tsiteerimist leidnud artiklite hulga põhjal. Põllumajandusteadlane, kes teeb küll Eestile vajalikke uuringuid ja jagab oma kogemusi ja töö tulemusi, peab oskama neid esitada ka rahvusvaheliselt nii, et need uuringud teiste hulgas silma paistaksid. Maaülikoolis on kümneid edukaid teadlasi, kes seda suudavad, kuid tugevate teadustöörühmade säilimiseks põllumajandusega seotud valdkondades oleks neid veelgi rohkem vaja. Seega on noorte õppejõudude ja teadurite kasvatamine üks meie prioriteete.

Meile on ka oluline, et õppe- ja teadustöö ei lähtuks ainult rahvusvahelistest mõõdikutest, vaid vastaks Eesti tootja ja töötaja vajadustele. Kontaktid ettevõtete ja riigiasutustega, meie lõpetajate tööandjatega, on aidanud meil nii mõndagi kitsaskohta oma töös märgata. Teadusalane koostöö ettevõtetega on võiks siiski olla märksa aktiivsem. Ehkki on tõsi, et Eesti tootjal napib vahendeid investeerimaks teadusuuringutesse, on limiteerivaks teguriks ka uudsete ideede nappus. Oleme liiga kinni igapäevastes probleemides ja see võib saada piduriks edasisele arengule. Innovatiivse idee puhul on alati võimalik leida lahendus ja vahendid selle ellu viimiseks. Majandusedu alustalaks on avatus uuendustele, uutele tehnoloogiatele. Ettevõtete ja ülikoolide koostöö suudab uuele kõige kiiremini aluse panna. Olgem avatumad!

*Ülle Jaakma,  
teadusdirektor  
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Eesti Maaülikool*

## Sisukord

- 7-10** Veise katseklaasiembrüote populaarsus maailmas kasvab  
*Ülle Jaakma*
- 11-14** Veise embrüod kasvavad edukalt katseklaasis  
*Monika Nõmm, Pille Pärn, Ülle Jaakma, Sulev Kõks*
- 15-17** Eesti holsteini tõugu lehma ja pulli genoomi esmakordne sekveneerimine Eestis  
*Rutt Lilleoja, Ülle Jaakma, Sulev Kõks*
- 18-20** Holsteini pullide suguselekteeritud sperma kvaliteedinäitajad ja nende seos seemendustulemustega  
*Triin Hallap, Jevgeni Kurõkin, Anders Johannisson, Mihkel Jalakas, Ülle Jaakma*
- 21-33** Loomade mikroobide antibiootikumiresistentsuse monitooringaastatel 2005–2009  
*Piret Kalmus, Birgit Aasmäe*
- 34-39** Eimerioos küülikufarmis  
*Toivo Järvis, Erika Mägi, Brian Lassen*
- 40-47** Infrapunakaamera kasutusvõimalusi piimakarja tervise hindamiseks vabapidamisel  
*Väino Poikalainen, Jaan Praks, Imbi Veermäe, Eugen Kokin*
- 48-55** Surveandurite maatriksmati kasutamine lehmade kõnnimustri analüüsiks  
*Eugen Kokin, Jaan Praks, Imbi Veermäe, Väino Poikalainen*
- 56-63** Väärarendid veistel  
*Esta Nahkur, Mihkel Jalakas, Eha Järv*
- 64-65** Rakulise struktuuri muutused karpkalade (*Cyprinus carpio L*) epidermaalse hüperplaasia tervenemisel  
*Priit Päck, Piret Hussar, Tõnu Järveots, Tiit Paaver*
- 66-72** Ülevaade sigade heaolu hindamismetoodikatest  
*Kristi Kerner*

- 73-79** Lüpsijärjekorra automaatne jälgimine vabapidamisega suurlaudast  
*Annemari Polikarpus, Tanel Kaart, Eugen Kokin, Imbi Veermäe, Väino Poikalainen*
- 80-85** Poegimisjägsete emakapõletike erinevate ravimethodikate kasutamise  
*Kalle Kask, Julia Jeremejeva, Toomas Orro*
- 86-93** Soovitusi inna avastamiseks ALPRO tehnoloogia abil  
*Gret-Kristel Mällo, Andres Valdmann*
- 94- 95** Climate Change and the Welfare and Management of Farm Animals in Northern Europe  
*David Arney*
- 96-106** Veiste herpesviirus 1 nakkuse dünaamika tõrjeta ja tõrjeprogrammi rakendavates Eesti piimaveise karjades  
*Kerli Raaperi, Annely Aleksejev, Toomas Orro, Arvo Viltrop*
- 107-112** In vitro embrüote kasvatamine: in vitro viljastatud, kloonitud ja trangeenselt kloonitud embrüote blastotsüstide saagis  
*Pille Pärn, Mario Plaas, Ülle Jaakma, Sulev Kõks*
- 113- 122** Lehmade emakapõletiku diagnoosimisviis võimaldab prognoosida tiinestumist  
*Merle Valdmann, Andres Valdmann*

## VEISE KATSEKLAASIEMBRÜOTE POPULAARSUS MAAILMAS KASVAB

Ülle Jaakma

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, sigimisbioloogia osakond

### Sissejuhatus

Embrüosiirdamine on loomakasvatuse praktikas kasutusel juba üle 30 aasta. Aretustöös on embrüote saamiseks seni valdavalt kasutatud superovuleeritud doonorlehmade emakaloputust. Viimastel aastatel areneb selle kõrval intensiivselt embrüote katseklaasis ehk *in vitro* tootmine. Käesolev kirjutis annab embrüote tootmise valdkonna arengutest lühikese ülevaate.

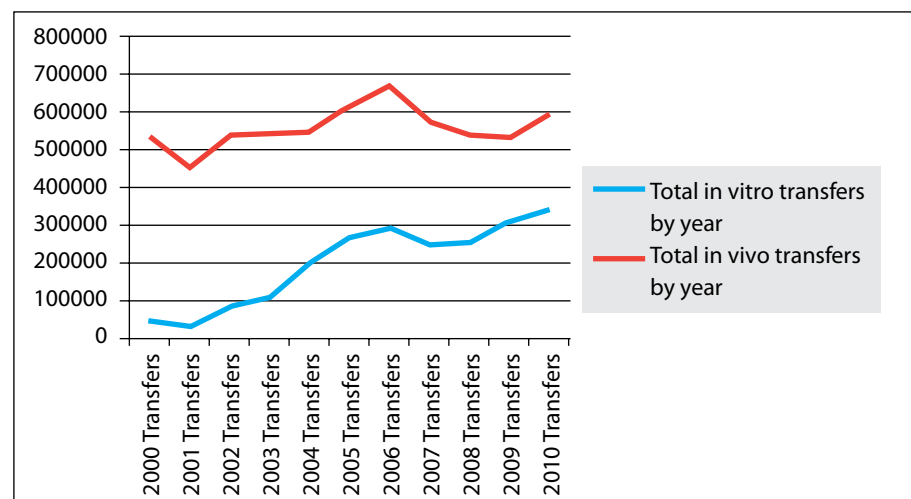
### Embrüote saamine *in vivo*

Embrüote saamiseks stimuleeritakse doonorlehmadel hormoonide abil folliikulite kasvu munasarjades, mis võimaldab mitme munaraku üheaegset küpsemist ja nädal pärast seemendust mitme embrüo emakast väljaloputamist. Embrüod siiratakse asendusemadele, kelleks on tavaliselt mullikad. Embrüosiirdamine võimaldab pulliemadelt aretustöökoks vajalike pullvasikate saamist, suurendab karja tippelhmade järglaste arvu, võimaldab soovitud tõugu loomade kiiret paljundamist, haruldaste tõugude säilitamist ja lihtsustab tõumaterjali eksporti/importi. Maailmas oli Rahvusvahelise Embrüosiirdamise Ühingu andmeil 2010.aastal kokku 104651 lehma-embrüodoonorit, neist ligi pooled Põhja-Ameerikas. Saadi 702358 kvaliteetset embrüot, millest 534100 siirati. Euroopas tehakse kõige rohkem embrüosiirdamisi Prantsusmaal, Hollandis ja Saksamaal. Ka meie põhjanaabrid Soomes kasutavad embrüosiirdamist aretustöös intensiivselt – seal teostati 486 embrüodoonori emakaloputus ja siirati 3809 embrüot (IETS Newsletter, December 2011, <http://www.iets>).

org/pdf/Newsletter/Dec11\_IETS\_Newsletter.pdf ). Intensiivse aretustööga riikides on embrüodonoriteks tavaliselt 1-1,5% lehmadest, kellelt igaiühelt saadakse aastas 5-10 vasikat. Suurem osa embrüotest siiratakse riigis, kus nad toodeti, vaid 5-10 % eksporditakse.

### Embrüote tootmine *in vitro*

Viimaste aastate embrüostatistika näitab, et traditsioonilise doonorlehmadel embrüote saamise kõrvale tõuseb järjest kindlamalt embrüote laboris kasvatamise populaarsus. 2010.aastal siirati maailmas üle 300 000 *in vitro* ehk laboris toodetud embrüo (Joonis 1). Aastane juurdekasv IVP-embrüote tootmises oli 26% ja siirdamises 11%. Kõige rohkem toodetakse IVP-embrüoid Brasiilias, Jaapanis, Koreas ja USA-s. Euroopas toodeti IVP-embrüoid 2010. aastal seitsmes riigis, kõige enam Hollandis, Saksamaal ja Prantsusmaal (IETS, 2011).



**Joonis 1.** Veiste *in vivo* ja *in vitro* embrüote siirdamine maailmas 2000-2010. IETS Newsletter, December 2011.

Maailma esimesed vasikad munarakkude laboris küpsemise, viljastamise ja kasvatamise järel sündisid juba 1988.aastal (Lu et al, 1988). Kui alguses kasvatati veise embrüoid elusate küülikute või lammaste munajuhas või munajuha epiteelirakkude pinnal petri tassis, siis hiljem töötati välja munarakkude küpsemist, viljastamist ja embrüote kasvu toetavad spetsiaalsed lahused. Siiski olid IVP-embrüote siirdamistulemused pikka aega kehvemad kui doonorlehmade emakast väljaloputatud embrüotel ja nad ei talunud külmutamist. See piiras IVP-embrüote kasutamist maailma loomakasvatuse praktikas. Viimase viie-kuue aasta jooksul on olukord aga muutunud. Tugeva tõuke veise embrüote laboris kasvatamise meetodite arendamise ja kommertsialiseerimisesse andsid Brasiilia loomakasvatavad. Nimelt on seal riigis *Bos tauruse* piima- ja lihatõugude kõrval olulisel kohal seebulehmad (*Bos indicus*), kelle puhul *in vivo* embrüote saamine doonorlehmadel väga efektiivne ei ole. Teiseks, ka kaasaegselt kõrgetoodanguliselt piimalehmalt, näiteks holsteini lehmalt, on raske pärast poegimist saada häid siirdamiseks kõlblikke embrüoid. Kõrge toodanguga kaasnev negatiivne energiabilanss mõjutab munasarjade aktiivsuse taastumist pärast poegimist ja munarakkude ning embrüote kvaliteeti. Seetõttu paljudelt aretustööks väljavalitud lehmadel siirdamiseks kõlblikke embrüoid ei saa või saab neid väga vähe. Munarakkude katseklaasis viljastamine ja laboris kasvatamine võimaldab saada embrüoid suuremalt osalt lehmadest ja ainevahetusest ning ebasobivast emakakeskkonnast tingitud embrüote arenguhäireid vältida. Kaasaegsed kasvulahused toetavad hästi embrüote arengut ja IVP-embrüote siirdamisel on tiinestumine ligilähedane *in vivo* embrüote puhul saadavale tulemusele.

Hiljutisel rahvusvahelise embrüosiirdamisühingu konverentsil jagasid oma IVP-embrüote tootmise kogemusi Hollandi aretusfirma CRV kolleegid. Munarakke kogutakse valitud emasloomadelt poegimisest alates iga kahe nädala tagant kuni neljanda tiinuskuni. Munarakkude aspireerimine folliikulitest toimub ultraheli kontrolli all läbi tupeseina munasarja viidava nõela abil. Ühel ja samal päeval kogutakse 8-10 looma munarakud ja pannakse küpsemiseks 39°C juurde transportinkubaatorisse. Erinevatest farmidest tuuakse munarakud kesklaborisse, kus nad viljastatakse järgmisel päeval geneetiliselt väärtuslike pullide spermidega. Seejärel kasvatatakse embrüoid seitse päeva kuni nad arenevad siirdamiseks sobiva blastotsüsti arenguastmeni. Suurem osa IVP-embrüotest siiratakse värskelt, vastavalt farmerite tellimusele, ülejäänud embrüod külmutatakse ning siiratakse hiljem.

# VEISE EMBRÜOD KASVAVAD EDUKALT KATSEKLAASIS

Monika Nõmm, Pille Pärn, Ülle Jaakma, Sulev Kõks

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut,  
sigimisbioloogia osakond

Ameerika Ühendriikides, Kanadas, Brasiilias ja mujal maailmas on mitmeid biotehnoloogiafirmasid, mis toodavad IVP-embrüoid – Ovitra, AgTech Inc, Trans Ova Genetics, OvaTech, In Vitro Brazil. Viimane on ilmselt maailma suurim veise IVP-embrüoid tootev ettevõtte - 2008.aastal toodeti seal üle 60 000 embrüo (vt lähemalt <http://invitrobrasil.com/english/index.asp>). Eriti suur edu saadab suguselekteeritud spermidega viljastamise abil saadud piimatõugude emasembrüote ja lihatõugude isasembrüote müüki. Embrüote laboris tootmisega on võimalik ühendada ka nende geneetiline testimine, võimaldades järglase geneetilist väärtust ette prognoosida.

Eestis sündis esimene *in vitro* viljastamise teel saadud vasikas Eesti Loomakasvatuse ja Veterinaaria Teadusliku Uurimistöö Instituudis läbiviidud uurimistöö tulemusena 1994.aastal. Seni ongi Eestis IVP-embrüoid toodetud uurimistöö eesmärgil. Praegu tehakse seda tapamajadest toodud munasarjadest aspireeritud munarakkude viljastamise baasil Maaülikooli sigimisbioloogia osakonnas, kultiveerides 50-100 embrüot koos ühes grupis (tulemused esitatud M. Nõmm'e artiklis käesolevas kogumikus). Lähitulevikus kavandame munarakkude aspireerimist elusloomadelt ja *in vitro* viljastuse etappide optimeerimist erinevate doonorite embrüote eraldi kasvatamiseks.

## Kokkuvõte

Embrüote *in vitro* tootmise tehnoloogia areng maailmas võimaldab geneetiliselt väärtuslike lehmade ja kalli pullisperma (sh suguselekteeritud sperma) efektiivsemat kasutamist aretustöös. Arvestades EMÜ sigimisbioloogia osakonna uurimistöö tulemusi veise embrüote IVP valdkonnas, võiks selle tehnoloogia praktikas kasutamisel olla hea perspektiiv ka Eestis.

## Kasutatud kirjandus

IETS Newsletter, December 2011,  
[http://www.iets.org/pdf/Newsletter/Dec11\\_IETS\\_Newsletter.pdf](http://www.iets.org/pdf/Newsletter/Dec11_IETS_Newsletter.pdf)

Lu, K. H., I. Gordon, H. B. Chen, M. Gallagher, and H. McGovern. 1988. Birth of twins after transfer of cattle embryos produced by *in vitro* techniques. *Vet. Rec.* 122:539.

## Sissejuhatus

*In vitro* ehk kehavälisel viljastamisel saadud embrüod võivad mängida väga olulist rolli veiste tõuaretuses, võimaldades optimeerida geneetilist seleksiooni. Maailmas saadud kogemused näitavad, et *in vitro* viljastamist kasutades on võimalik karjades, kus on sigimisprobleeme parandada ka tiinestumist. Samuti on võimalik *in vitro* viljastamisel suguselekteeritud spermaga saada soovitud sugupoolega embrüoid, kusjuures ühe spermadoosiga viljastatakse tunduvalt rohkem munarakke, kui kunstlikul seemendamisel (Hansen, 2006).

Ka *in vitro* viljastamisel saadud embrüote uurimisel saadud teadusinfo olulisus suureneb järjest, kuna katsetes laboriembrüotega on võimalik uurida sigimatuse põhjuseid. Näiteks on võimalik uurida, millist mõju omavad kuumastress, munaraku küpsemise ja viljastumise häired ning leida embrüonaalse surevuse põhjuseid. Selleks, et *in vitro* viljastamisel saadud embrüote siirdamisel oleks tulemuseks hea tiinestumine, peab embrüote kasvukeskkond laboris olema võimalikult sarnane tingimustele emaslooma organismis (Hansen, 2006).

Erinevate embrüote kasvulahuste optimeerimisel kasutatakse ainete kombinatsioone, mis koosmõjus toetavad embrüo arengut. Kasvulahused koosnevad tavaliselt energiat andvatest ainetest ehk substraatidest, erinevatest sooladest ja aminohapetest.

Energiasubstraatidest on embrüo arengu toetamisel olulisemad glükoos, laktaat ja püruvaat. Viimased kaks on tähtsad energiaallikad embrüo arengul

kuni blastotsüsti arenguastmeni. Blastotsüsti arenguastmest edasi on aga glükoos üheks põhiliseks energiaallikaks embrüorakkudes (Hugentobler *et al*, 2008).

Aminohapete lisamine kasvulahustesse parandab rakkude kasvu, toetab embrüote arengut ning suurendab rakkude arvu blastotsüstis. Samuti on ka aminohapped embrüole oluliseks energiaallikaks. Nad aitavad kaasa keskkonnas õige osmootse rõhu tagamisele ning aitavad organismist väljutada raskemetalle (Hugentobler *et al*, 2007).

Kasvulahuste koostisse kuuluvad ka erinevate soolade katioonid ja anioonid. Katioonidest tähtsamad on Na<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ja Ca<sup>2+</sup> ning anioonidest on olulisemad Cl<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Need ioonid tagavad ka eluslooma munajuhades ja emakas oleva vedeliku normaalse pH ja osmoose rõhu (Hugentobler *et al*, 2007).

### Embrüote kasvatamise tulemused EMÜ sigimisbioloogia osakonna embrüolaboris

Munasarjad transporditi tapamajast laborisse 0,9% NaCl lahuses 32-36°C juures. Munarakud aspireeriti nõela ja vaakumpumba abil 2-8 mm läbimõõduga folliikulitest. *In vitro* viljastuseks valiti munarakud, kus follikulaarrakkude kiht (vähemalt kolme rakukihi paksune) oli ühtlane ja tsütoplasma tume ja kompaktn. Munarakke pesti HEPES puhvriga pesulahuses kolm korda ning inkubeeriti 50-80 rakulistes gruppides TCM-199 lahuses (500µl) 4-kannulistes tassides. Munarakkude küpsemine toimus 22-24 tundi 38,5°C juures 5% CO<sub>2</sub> ja 95% õhuniiskusega keskkonnas.

Pärast küpsemist tõsteti munarakud *in vitro* viljastamise lahusesse. Munarakkude viljastamiseks kasutati puhverlahuses pestud pullisperme kontsentratsioonis 1 miljon spermi / 500µl IVF- söötmele. Munarakke ning sperme inkubeeriti koos 18-19 tundi 38,5°C juures 5% CO<sub>2</sub> ja 95% õhuniiskusega keskkonnas.

Peale viljastamist eemaldati munarakkudel vorteksi abil follikulaarrakud ning sügoote kultiveeriti 50-80 rakulistes gruppides kasvulahuses 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> ja 90 % N<sub>2</sub> keskkonnas, 38,5°C ja maksimaalse õhuniiskuse juures 7 päeva.

Kasutati kolme erinevat kasvulahust: kommertsiaalset kasvulahus firmalt Minitüb, isevalmistatud lahust SOFaaci ja kommertsiaalset kasvulahus BBH7. SOFaaci ja Minitübi lahused koosnevad erinevatest embrüo arenguks vajalikest soolade ioonidest, ainuke erinevus on see, et Minitübi lahusesse tuleb ise juurde lisada erinevaid energiasubstraate ja aminohappeid, mis on SOFaaci lahuses juba olemas. BBH7 näol on tegemist kasvulahusega, kuhu ei ole lisatud loomset valku ja embrüo arengut toetavad seal hoopis erinevad kasvufaktorid. Kahe esimese lahuse puhul toimus embrüote kultiveerimine 500µl lahuse mahus, BBH7 puhul aga 50µl söötme tilgas.

Nagu Tabelis 1 esitatud tulemustest selgub, on blastotsüstide saagise poolest SOFaaci ja BBH7 lahused peaaegu võrdväärsed. Blastotsüstide head kvaliteeti näitab lisaks morfoloogilistele tunnustele ka koorumisvõime. Minitübi lahuse puhul embrüod ei koorunud, mis viitab sellele, et selle lahuse tingimused pole arenguks piisavalt optimaalsed.

**Tabel 1.** Erinevate kultiveerimise lahuste mõju embrüote arengule

Kultiveerimise lahus	Munarakkude arv (n)	Blastotsüstide arv (%)	Koorunud blastotsüstide arv (%)
Minitüb	313	20 (6,39)	0
SOFaaci	1672	222 (13,28)	34 (2,03)
BBH7	210	30 (14,29)	5 (2,38)

Isevalmistatud kultiveerimislahus SOFaaci ja kommertsiaalne valmislahus BBH7 seevastu toetasid embrüote arengut hästi ja ligi viiendiku blastotsüstide koorumine kasvulahuses andis tunnistust nende heast eluvõimest.

## Kokkuvõte

*In vitro* viljastamisel saadud embrüod võivad tulevikus olla väga olulisel kohal tõuaretusel ning ka loomade sigimisega seotud probleemide lahendamisel. On oluline, et embrüote kasvulahused ja kasvutingimused laboris sarnaneksid emasorganismile niipalju kui võimalik, et tagada embrüote normaalne areng ja eluvõime hea tiinestumise ning tervete järglaste saamiseks.

Erinevate kasvulahuste optimeerimisel ei ole seni olnud võimalik täpselt jäljendada emasorganismi muutuvat keskkonda, kuid siiski püüame embrüote kasvulahuseid laboris optimeerida nii, et need maksimaalselt toetaksid embrüote arengut.

## Kasutatud kirjandus

Hansen P.J. 2006. Realizing the promise of IVF incattle—an overview. *Theriogenology* 65: 119–125.

Hugentobler S.A., Diskin M.G., Leese H.J., Humpherson P.G., Watson T., Sreenan J.M., Morris D.G. 2007. Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma during the estrous cycle in the bovine. *Molecular reproduction and development* 74: 445-454.

Hugentobler S.A., Morris D.G., Sreenan J.M., Diskin M.G. 2007. *Theriogenology* 68: 538-548.

Hugentobler S.A., Humpherson P.G., Leese H.J., Sreenan J.M., Morris D.G. 2008. Energy substrates in bovine oviduct and uterine fluid and blood plasma during the oestrous cycle. *Molecular reproduction and development* 75: 496-503.

# EESTI HOLSTEINI TÕUGU LEHMA JA PULLI GENOOMI ESMAKORDNE SEKVENEERIMINE EESTIS

Rutt Lilleoja<sup>1</sup>, Ülle Jaakma<sup>1</sup>, Sulev Kõks<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse Instituut, sigimisbioloogia osakond  
<sup>2</sup> TÜ arstiteaduskond, füsioloogia instituut

## Sissejuhatus

Seitse aastat pärast inimese genoomi sekveneerimist avaldati maailmas esimene veise genoomi järjestus. Kogu veise genoomi esmakordne sekveneerimine oli keeruline ülesanne. Veise referentsgenoomi loomisel osales üle 300 teadlase 25st riigist, protsess võttis aega 6 aastat ning kogumaksumus ületas 53 miljonit dollarit (Pärna jt, 2010). Töö tulemusena avaldati 2009. aastal Herefordi tõugu lehma (lihavede) kogu genoomi järjestus. Võrdlusgenoomi loomisel kasutati emaslooma, seega puudub andmebaasis Y kromosoomi referentsjärjestus.

Veise genoom on ligikaudu sama suur kui inimese genoom, koosnedes umbes 3 miljardist aluspaarist, mis jaotuvad 30-le kromosoomile. Veise genoomis on 22 000 geeni, mis sarnanevad umbes 80 % ulatuses inimese geenidega (Elsik et al, 2009).

Tänapäeval on kogu genoomi sekveneerimises toimunud suur edasimineku, oluliselt on paranenud geenianalüüsi tehnoloogia ja kiirenenud andmete analüüs. Tänu sellele on sekveneerimine muutunud palju odavamaks ning kättesaadavamaks. Eesti Maaülikooli sigimisbioloogia laboris on kasutusel uue põlvkonna sekveneerimissüsteem SOLiD™, mis muudab kogu genoomi sekveneerimise võimalikuks Tartus kohapeal.



## Uurimistöö eesmärgid ja tulemused

Uurimistöö eesmärgiks seati eesti holsteini (EHF) tõugu lehma ja pulli genoomide järjestamine. Põhjuseid selleks on mitmeid:

- Andmebaasides kättesaadav referentsgenoom kuulub herefordi tõugu lehmale, kuid sigimisbioloogia töögrupp uurib põhiliselt eesti holsteini tõu sigimisega seotud probleeme ning kasutab uurimistöös selle tõu rakumaterjali. Herefordi ja holsteini geneetiline varieeruvus võib olla väga suur, seega ei ole lihaveise genoomijärjestus antud töös võrdlusmaterjalina päris õige ja vaja on luua piimaveise võrdlusgenoom.
- Herefordi referentsgenoomis puudub Y kromosoomi järjestus, seega on oluline infokild veise kogu genoomi järjestusest teadmata ja me püüame omaltpoolt Y kromosoomi järjestuse määramisele kaasa aidata
- Eesti holsteini tõu kogu genoomi järjestuse olemasolu võimaldab genoomiandmeid tulevikus kasutada areustöös.

EHF lehma sekveneerimisel saavutati genoomi 35,2x kattuvus, leiti 5 472 870 ühe nukleotiidi polümorfismi (SNP), millest vaid 889 901 olid varem kirjeldatud. Pulli genoomi sekveneerimisel oli tulemuseks 55,5x kattuvus, leiti 5 664 557 SNP-d, millest varem oli kirjeldatud vaid 903 415 SNP. Mõlemal juhul leiti üle 4 miljoni uue SNP võrdluses lihaveise referentsgenoomiga, mis näitab holsteini ja herefordi tõugude genoomide suurt erinevust.

Genoomiandmete analüüs on tohutult andme- ja ajamahukas, seetõttu on suur osa tööst veel ees – nii öelda algmaterjal DNA järjestuse näol on olemas, kuid selle analüüsimine ja tõlgendamine alles algab.

## Kokkuvõte

Erinevate tõugude DNA erinevuste kaardistamine annab meile võimaluse leida uuringute tulemusena majanduslikult oluliste omadustega (lihakvaliteet, piimatoodang, sigimine, tervis) seotud geenid. See omakorda annab tõuaretusele uued võimalused geenianalüüsi kasutamiseks, et suunata karja omadusi vastavalt aretuse eesmärkidele .

Hetkel on teadmised veise genoomi kohta veel suhteliselt limiteeritud. Ehkki tänase päeva seisuga on sekveneeritud mitmete erinevate veisetõugude genoomid, kuid referentsgenoomina on saadaval veel siiski ainult herefordi veise DNA järjestus.

Seega on Eesti Maaülikooli teadlastel võimalik ja oluline anda oma panus erinevate veisetõugude referentsgenoomide loomisesse ning detailsema analüüsi teostamisse.

*Käesolevat uurimust on finantseerinud Eesti Teadusfond (grant GARFS7479), haridus- ja teadusministeerium (sihtfinantseeritav teema SF1080045s07), Eesti Maaülikool (baasfinantseeritav teema P8001) ja EAS (grantid EU30200 ja EU29023).*

## Kasutatud kirjandus

“The Genome Sequence of Taurine Cattle: A window to ruminant biology and evolution” The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium,\* Christine G. Elsik, Ross L. Tellam, and Kim C. Worley; Science. 2009 April 24; 324(5926): 522–528.

“Rakendusgeneetika maailmakongress Leipzigs” E. Pärna, O. Saveli, S. Värvi; Tõuloomakasvatus 13, 3/2010

# HOLSTEINI PULLIDE SUGUSELEKTEERITUD SPERMA KVALITEEDINÄITAJAD JA NENDE SEOS SEEMENDUSTULEMUSTEGA.

Triin Hallap<sup>1</sup>, Jevgeni Kurökin<sup>1</sup>, Anders Johannisson<sup>2</sup>, Mihkel Jalakas<sup>1</sup>, Ülle Jaakma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, sigimisbioloogia osakond  
<sup>2</sup>Rootsi Põllumajandusteaduste Ülikool, anatoomia, füsioloogia ja biokeemia osakond

## Sissejuhatus

Spermide voolutsütomeetiline soo järgi selekteerimine sai võimalikuks juba 1988a (Morrell et al. 1988) Tänapäevani on see ainuke meetod, mis võimaldab piisavalt suure efektiivsuse ja kuni 95% täpsusega tööstuslikult toota suguselekteeritud seemendusdoose. Tehnoloogia keerukusest tulenevalt (spermide X- või Y-kromosoomi kandvus määratakse igas rakus eraldi) on sel moel soo järgi eraldatud seemendusdoosi hind aga kallis ning samuti varieeruvad tiinestumise tulemused suurel määral ulatudes enamasti vaid 60-80%-ni võrreldes sorteerimata spermaga saavutatud tulemustega (DeJarnette et al. 2008; Schenk et al. 2009). Madalama tiinestumise põhjusteks loetakse mehhaanilisi ja keemilisi kahjustusi, mida seemnerakud sorteerimise protsessi käigus saavad (Schenk ja Seidel 2006). Kirjanduse andmetel ei ole suguselekteeritud spermaga võimalik saavutada tavaspermale omast tiinestumist isegi siis kui tõsta spermide arvu seemendusdoosis viis korda (DeJarnette et al. 2010, 2011). Antud töö eesmärgiks oli suguselekteeritud seemnerakkude kvaliteediparameetrite hindamine ning nende võrdlemine samade pullide tavasperma kvaliteediga. Samuti sooritati testseemendused mõlema spermide fraktsiooniga, selgitamaks välja erinevused tiinestumises ning mõõdetud kvaliteediparameetrite seosed *in vivo* viljakusega.

## Materjal ja meetodid

Viie Holsteini pulli suguselekteeritud ja tavaspermas määrati spermide liikuvus subjektiivselt ja kompuuteranalüüsil, morfoloogiliste defektide esinemine valgusmikroskoobis, plasmamembraani terviklikkus hüpo-osmootsel testil ja DNA terviklikkus voolutsütomeetriselt. Hindamiseks kvaliteediparameetrite seoseid sperma viljakusega, sooritati testseemendused kokku 823 mullikal (434 tava- ja 389 suguselekteeritud spermaga). Tiinus diagnoositi 45-60 päeval peale seemendust rektaalse emaka palpatsiooni abil.

## Tulemused ja arutelu

Suguselekteeritud ja tavasperma omavahelises võrdluses osutusid mitmed tavasperma funktsionaalsed kvaliteediparameetrid oluliselt paremateks võrreldes suguselekteeritud spermaga. Nii oli tavaspermas rakumembraanide terviklikkus oluliselt kõrgem kui suguselekteeritud spermaga (52,6% vs. 13,7%,  $p=0,01$ ). Teiseks oluliseks erinevuseks oli tavasperma kõrgem subjektiivselt hinnatud liikuvus (72,3%) võrreldes suguselekteeritud spermaga 43,5% ( $p < 0,05$ ). Kõrgem oli ka lineaarselt liikuvate spermide osakaal tavaspermas (51,7%) võrreldes 27,6% suguselekteeritud spermaga ( $p=0,09$ ). Samas esines tavaspermas oluliselt sagedamini spermi keskosa defekte kui suguselekteeritud spermaga (3,6% vs. 0,2%,  $p=0,05$ ). Tendentsi statistiliselt olulisele erinevusele näitas ka defektsete akrosoomide sagedasem esinemine tavaspermas (1,6%) võrreldes 0,6% suguselekteeritud spermaga ( $p=0,09$ ). Sperma laboranalüüse toetasid ka testseemenduste tulemused, mille kohaselt oli tavasperma kasutamisel tiinestumine 14,6% kõrgem kui suguselekteeritud sperma puhul (58,8 vs 44,2%,  $p < 0,05$ ).

Laboris mõõdetud kvaliteediparameetritest korreleerusid pullide viljakusega vaid suguselekteeritud sperma kvaliteedinäitajad: subjektiivselt hinnatud liikuvus ( $p < 0,05$ ), kompuuteranalüüsil hinnatud otseliikuvate ja mitteliikuvate spermide osakaal ( $p < 0,01$ ) ning akrosoomi defektide esinemine ( $p < 0,05$ ).

## Järeldused ja kokkuvõte

Töö tulemusena leidis kinnitust suguselekteeritud sperma madalam viljastusvõime võrreldes tavaspermaga. Samuti selgusid seda põhjustavad muutused spermide funktsionaalsetes omadustes - rakumembraanide terviklikkuse ja liikuvuse madalam tase. Saadud tulemust toetab ka fakt, et just need kvaliteetiparameetrid omasid statistiliselt olulist seost pullide *in vivo* viljakusega.

## Kasutatud kirjandus

Morrell J.M., Keeler K.D., Noakes D.E., Mackenzie N.M., Dresser D.W. 1988: Sexing of sperm by flow cytometry. *Veterinary Record*, 122 (14), 322-324.

DeJarnette JM, Nebel RL, Marshall CE, Moreno JF, McCleary CR, Lenz RW, 2008: Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rate in Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci* 91, 1778–1789.

DeJarnette JM, McCleary CR, Leach MA, Moreno JF, Nebel RL, Marshall CE, 2010: Effects of 2.1 and 3.5x10<sup>6</sup> sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. *J Dairy Sci* 93, 4079–4085.

DeJarnette JM, Leach MA, Nebel RL, Marshall CE, McCleary CR, Moreno JF, 2011: Effect of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? *J Dairy Sci* 94, 3477–3483.

Schenk JL, Seidel GE, Jr, 2006: Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed spermatozoa: effect of laser intensity, staining conditions and catalase. *Reproduction in Domestic Ruminants. Proc. of the 7th International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants*, Wellington, New Zealand, 2006: 64, 165–177.

Schenk JL, Cran DG, Everett RW, Seidel GE, Jr, 2009: Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm number per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology* 71, 717–728.

# LOOMADE MIKROOBIDE ANTIBIOOTIKUMIRESISTENTSUSE MONITOOING AASTATEL 2005-2009

Piret Kalmus, Birgit Aasmäe

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

## Sissejuhatus

Eesti Maaülikool alustas Põllumajandusministeeriumi rakendusürituste toel ning koostöös Tartu Veterinaar- ja Toidulaboratooriumiga loomade mikroobide resistentsusealaste uuringutega 2000. aastal. Alates 2006. aastast toimub regulaarne monitooring, milles süstemaatilise juhuvalimina uuritakse igal aastal teatud mikroobiliikide resistentsuse arenemist ning monitooringus kasutatakse MIC-metoodikat (VetMIC™, Swedish National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden). Minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooni piirmäärasid erinevate tekitajate ja antibiootikumide suhtes muudeti kasutatavates testides 2008. aastal. Alltoodud hinnangud tuginevad 2008 aastal välja antud piirmääradele.

Monitooringus on kasutatud EFSA (European Food Safety Authority) poolt aksepteeritud piirmäärasid ning SVARM (Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring) hinnanguid.

Eestis kasutusel olev resistentsuse monitooringuprogramm ühtib suurel määral Euroopa erinevate riikide samalaadsete programmidega.

## Monitooringu meetodika

Mikroobitüved isoleeriti ja nende antibiootikumiresistentsus määrati Tartu Veterinaar- ja Toidulaboratooriumis. Kliiniliselt haigetelt loomadelt pärinevad *S.typhimurium*, *E. coli* ja *S.intermedius* isoleeriti laborisse tavadiagnostika käigus toodud proovidest. Mastiidipatogeeneid ja indikaatorbaktereid isoleeriti Eesti eri farmidest laborisse toodud proovidest.

Uuritud proovid saab jagada kolme gruppi.

1. Kliiniliselt haiged loomad:

- kliinilise mastiidi korral isoleeritud *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)
- Echerichia coli* (*E.coli*) sigadelt võetud patoloogilisest materjalist;
- väikeloomade naha- ja kõrvapõletike korral isoleeritud *S.aureus* ja *S.intermedius*

2. Soolestiku normaalmikrofloora ehk indikaatorbakterid kliiniliselt tervete sigade ja veiste roojaproovidest:

- E.coli*;
- Enterococcus faecalis/faecium*.

3. Zoonoossed haigustekitajad:

*Salmonella typhimurium* patoloogilisest materjalist.

Antibiootikumiresistentsuse määramiseks uuriti proove 2005. aastal disk-diffusiooni meetodil, alates 2006. aastast kasutatakse MIC meetodikat (VetMIC™ GN-mo( version4)).

## Tulemused

### 1. Kliiniliselt haiged loomad

#### 1.1. *E.coli* isoleerituna kliiniliselt haigete sigade elunditest.

Patoloogilisest materjalist isoleeritud *E. coli* resistentsust iseloomustab järgmine tabel.

**Tabel 1.** Patoloogilisest materjalist isoleeritud *E.coli* antibiootikumiresistentsus aastatel 2006-2009.

Antibiootikum	Piirväärtus µg/ ml*	2005 % ( n=22)	2006 % (n=25 )	2007 % (n=18 )	2008 % (n=21)	2009 % (n=30)
Ampitsilliin	≥ 8	36	64	16	50	53
Tsiprofloksatsiin	≥0,06	0	8	61	33	0
Nalidiksiinhape	≥16	23	16	22	33	50
Gentamütsiin	≥2	14	12	5	5	3,3
Tseftiofur	≥1	0	0	0	0	0
Streptomütsiin	≥16	63	56	56	62	37
Tetratsükliin	≥8	59	64	50	62	53
Floorfenikool	≥16	*	4	0	5	0
Kanamütsiin	≥8	*	24	5	19	7
Sulfametoksasool	≥256	73	72	83	62	70
Trimetoprim	≥2	86	72	22	58	66
Klooramfenikool	≥16	14	36	0	14	23
Tsefotaksiim	≥0,25	0	0	0	0	3,3

Resistentsuse üldine dünaamika näitab, et gentamütsiini suhtes on resistentsus aasta-aastalt vähenenud, seevastu tsiprofloksatsiini suhtes on see kuni 2008 aastani suurenenud. Viie aasta jooksul on mikroobide resistentsus säilinud statistiliselt muutumatuna streptomütsiini, tetratsükliinide, sulfoonamiidide ja trimetoprimi suhtes. Multiresistentsete tüvede (MR) arv on jäänud kõikidel aastatel 60-73% vahele. MR tüved olid kõige sagedamini samaaegselt resistentsed sulfoonamiidide, trimetoprimi, ampitsilliini ja streptomütsiini suhtes. 84% proovidest, mis olid resistentsed trimetoprimile, olid resistentsed ka ampitsilliinile. See viitab asjaolule, et ampitsilliini ja trimetoprim-sulfoonamiidi kombinatsiooni suhtes resistentsust kodeerivad geenid on omavahel seotud (SVARM, 2008). Multiresistentsete mikroobide antibiootikumiresistentsus väljendus suurel määral samaaegse resistentsusena ampitsilliini, streptomütsiini ja sulfoonamiid/trimetoprimi suhtes.

2007. aasta MR vähenemine ilmneb resistentsuse vähenemisena ampitsilliini ja sulfoonamiidide suhtes, samas trimetoprimi suhtes ei ole toimunud mingeid muutusi. 2008. aastal on lisandunud resistentsus multiresistentsete bakterite hulgas nalidiksiinhappele. Seda tendentsi tuleb järgnevatel aastatel kindlasti jälgida, otsest põhjust nalidiksiinhappe suhtes resistentete bakterite tekkeks ei ole hetkel teada.

2009 aastal leiti üks *E.coli* tüvi, mis oli resistentne 3.pölvakonna tsefalosporiinidele.

### 1.2. *Salmonella typhimurium* kliiniliselt haigete veiste siseorganitest või roojast.

Mikroobide antibiootikumiresistentsuse monitooringu programmi maht näeb ette vähemalt 25 isolaati igal aastal. Selle mahu saavutamine on osutunud problemaatiliseks, sest laboratooriumitesse ei tooda sellisel hulgal proove kliiniliselt haigestunud loomadelt. Seega võetakse uuringusse kõik kliiniliselt haigetelt loomadelt isoleeritud salmonella juhud. 2005. aastal isoleeriti 9 *S.typhimurium*´i ja 6 *S.dublin*´i juhtu, 2006. aastal oli monitooringus 14 juhtu ning 2007. aastal 16 juhtu, 2008. aastal 6 juhtu. Võib väita, et salmonella probleem on Eestis aladiagnoositud, põhjuseks probleemi vähene teadvustamine, mistõttu ei tooda laboruuringuteks piisavalt matejali.

### 1.3. *S.aureus* isoleerituna kliinilise mastiidi proovidest.

Laborist on võetud monitooringusse süstemaatiline juhuvalim.

Aastatel 2005-2007 kasutati diskdiffusiooni meetodit, 2008- 2009 MIC meetodikat.

Test: VetMIC™ GP-mo (version 2).

**Tabel 2.** Kliinilise mastiidi korral isoleeritud *S. aureus*´e resistentsus aastatel 2005-2009.

Antibiootikum	Piirväärtus µg/ml*	2005 % (n=39)	2006 % (n=50)	2007 % (n=21)	2008 % (n=25)	2009 % (n=50)
Penitsilliin *	≥ 0,125	64	58	85	80	76
Tsefalotiin **	≥1	0	0	0	8	8
Oksatsilliin+2% NaCl **	≥2	5	4	0	0	0
Erütromütsiin *	≥1	0	0	0	4	0
Klooramfenikool *	≥16	0	0	0	4	0
Klindamütsiin	≥0,25	2	0	0	0	30
Tetratsükliin*	≥0,25	5	4	0	0	6
Fusidiinhape **	≥ 1	x	x	0	0	22
Gentamütsiin *	≥2	0	2	0	4	2
Kanamütsiin **	≥8	0	0	0	0	4
Tsiprofloksatsiin *	≥1	0	0	0	0	0
Trimetoprim *	≥4	0	0	0	0	0

Piirväärtused:

\* EFSA

\*\* SVARM 2007 hinnang (Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring ISSN 1650-6332 Uppsala. www.sva.se)

Monitooringusse on võetud kliinilist mastiiti põhjustanud *S.aureus*´e isolaadid. Resistentsus penitsilliini suhtes on viie aasta jooksul suurenenud 64%lt 85%ni. *S.aureus*´e resistentsuse hüppelisele kasvule tuleb järgnevate uuringutega selgitus leida. 2008-2009 leiti resistentsust ka tsefalosporiinide suhtes, mis kinnitab hüpoteesi, et loomaarstide esmaseks valikuks kliiniliste mastiitide ravimisel on väga sageli tsefalosporiinid. Need bakteritüved, mis olid resistentsed tsefalosporiinidele, olid seda 100%lt ka penitsilliinile. Sama kehtib ka gentamütsiini resistentsuse kohta, kuigi *S.aureus*´e põhjustatud mastiidi ravi gentamütsiiniga ei ole näidustatud.

Et *S.aureus* on väga resistentne penitsilliinide suhtes, on praktikas rutiinseks ravivalikuks linkosamiidid. Resistentsus linkosamiidide suhtes on 2009. aastaks tõusnud 30%ni, mis näitab väga kiiret resistentsuse arengut.

#### 1.4. Stafülokoid isoleerituna koera kõrvanõrest.

Koerte kõrvanõre uuringut alustati 2006. aastal, uuringusse lisati ka 2005. aastal isoleeritud tüved.

*S.aureus*'e (S.a) ja *S.intermedius*'e korral on kasutusel erinevad MIC piirmäärad, mida on arvestatud käesoleva uuringu juures.

Oksatsilliini suhtes on resistentne *S.intermedius*.

Test: VetMIC™ GP-mo (version2).

**Tabel 3.** Koera kõrvanõrest isoleeritud stafülokokkide resistentsus aastatel 2006-2009.

Antibiootikum	Piirväärtus µg/ml*	2006 %(n=21)	2007 %(n=17)	2008 %(n=16)	2009 %(n=8)
Penitsilliin *	≥ 0,25 CNS ≥ 0,125 S.a	71	71	75	62
Tsefalotiin	≥2 CNS ≥1 S.a	0	0	31	0
Oksatsilliin+2% NaCl **	≥1 CNS ≥2 S.a	0	30	31	0
Erütromütsiin *	≥4 CNS ≥1 S.a	24	30	44	12
Klooramfenikool *	≥16	24	12	19	12
Klindamütsiin**	≥4 CNS ≥ 0,25 S.a	24	12	44	12
Tetratsükliin*	≥8 CNS ≥1 S.a	24	41	19	25
Fusidiinhape **	≥ 4 CNS ≥ 0,5 S.a	14	X	X	12
Gentamütsiin *	≥4 CNS ≥4 S.a	0	12	31	12
Kanamütsiin **	≥32 CNS ≥8 S.a	0	0	0	25
Tsiprofloksatsiin *	≥1	0	0	37	12
Trimetoprim *	≥2 CNS ≥4 S.a	0	24	37	38

Kasutatud piirmäärad:

\* EFSA

\*\* SVARM 2007 hinnang (Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring ISSN 1650-6332 Uppsala. www.sva.se).

Koerte nahapõletikku põhjustavad bakterid on resistentsed seitsme antibiootikumi suhtes. Penitsilliiniresistentsus on nelja aasta jooksul jäänud muutu- matuks. Samas on resistentsus klindamütsiini, erütromütsiini ja gentamütsiini suhtes kahekordistunud. See on seletatav makroliidide väga sagedase kasu- tamisega väikeloomade nahahaiguste ravis. Fluorokinolonide kasutusele- võtmine on mõjutanud tsiprofloksatsiini resistentsuse tekkimist. 2008. aastal võeti koerte nahapõletike ravis kasutusele marbofloksatsiin, samuti kasuta- takse koerte raviks väga laialdaselt tsiprofloksatsiini, mis on humaanmedit- siini preparaat.

Multiresistentsete tüvede arv on aasta-aastalt suurenenud, olles 2006. aastal 20%, 2007. aastal 30%, 2008. aastal 46% ja 2009. aastal 48%.

Samaaegne resistentsus erütromütsiini, klindamütsiini, kanamütsiini ja streptomütsiini suhtes oli üle 90%. *S. pseudointermedius*'e makroliidide resi- tentsus on tavaliselt indutseeritud *erm*-geenide poolt. Kui need geenid on pidevalt stimuleeritud, kujuneb bakteritel resistentsus ka linkosamiidide ning streptogramiin-B suhtes. Suure multiresistentse bakteripopulatsiooni olemas- olul selekteeruvad jätkuva linkosamiidravi (näit. klindamütsiin) korral välja resistentsed tüved ka erütromütsiinile, streptomütsiinile ja tetratsükliinile, vaatamata sellele, et kaht viimast toimeainet kasutatakse nahahaiguste ravis väga harva.

## 2. Indikaatorbakterid

Tervete loomade soolemikrofloora omandatud antibiootikumiresistentsus viitab antibiootikumide kasutamistendentsidele populatsioonis. Indikaatorbakterite uurimisega regulaarsete intervallide järel saab jälgida antibiootikumide kasutamise muutustest tingitud resistentsustendentside muutusi nendel bakteritel.

Indikaatorbakterite monitooringusse kuuluvad kliiniliselt tervete veiste ja sigade roojast isoleeritud *E.coli* ning soolestiku enterokokid (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*).

Bakteri resistentsus rohkem kui ühe antibiootikumi suhtes (kaasresistentsus) viitab sellele, et resistentsuse geenid paiknevad samas geneetilises elemendis. Resistentsuse „mustri“ e komponentide, näiteks fenotüüpide, uurimine annab ülevaate resistentsuse kujunemisest, sest ühe antibiootikumi kasutamine võib kujundada resistentsuse ka teise, esimesega üldse mitte seotud antibiootikumi suhtes (kaasvaliktsioon), ning üksainus ülekannet võib retsipientbakterile edasi anda resistentsuse info mitme antibiootikumi suhtes (kaasülekannet). Kuigi enamik seedetrakti normaalmikrofloorast ei muutu kunagi haigustekitajateks, võivad nad kujutada endast resistentsuse geenide reservuaari ning vastavat infot edasi anda bakteritele, mis on haigustekitajad nii loomadel kui inimestel. Resistentsete bakterite olemasolu loomsetes toiduainetes viitab ilmselgelt, et ka inimesed puutuvad kokku nn „resistentsete bakterite reservuaariga“.

Indikaatorbakterite resistentsuse uuringut alustati 2006. aastal. Indikaatorbakterite resistentsuse piirmäärasid muudeti 2008 aastal. Käesolevas monitooringus on kõikide aastate resistentsuse hindamisel arvestatud 2008. aastal kasutuselevõetud piirmäärasid.

Test: VetMIC™ GN-mo (version4).

**Tabel 4.** Tervete sigade ja veiste roojast isoleeritud *E.coli* resistentsus antibiootikumidesuhtes aastatel 2006-2009.

Antibiootikum	Piirväärtus µg/ ml*	2006 %(n= 34)	2007 %(n=45 )	2008 %( n=20)	2009 %(n=40)
Ampitsilliin	≥ 8	9	18	10	10
Tsiprofloksatsiin	≥0,06	0	0	0	2,5
Nalidiksiinhape	≥16	3	0	0	2,5
Gentamütsiin	≥2	12	9	0	0
Tseftiofur	≥1	6	2	0	1
Streptomütsiin	≥16	26	31	20	15
Tetratsükliin	≥8	6	27	15	12,5
Floorfenikool	≥16	0	0	0	0
Kanamütsiin	≥8	9	13	5	0
Sulfametoksasool	≥256	6	25	10	12,5
Trimetoprim	≥2	0	20	10	5
Klooramfenikool	≥16	3	9	0	2,5
Tsefotaksiim	≥0,25	0	0	0	2,5

*E.coli* piirmäärad:

SVARM 2007 hinnang (Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring ISSN 1650-6332 Uppsala. www.sva.se)

*E.coli* kui soolestiku normaalmikrofloora hulka kuuluva bakteri antibiootikumiresistentsus on viie aasta jooksul peamiselt vähenenud.

Kõige kõrgem resistentsus on aastate jooksul püsinud streptomütsiini ja tetratsükliini suhtes.

Multiresistentsete bakterite osakaal on mõnevõrra suurenenud, olles 2006 aastal 8% , 2007 aastal 10%, 2008 aastal 15% ning 2009 aastal 10%. 2009 aastal leiti üks 3.põlvkonna tsefalosporiinidele resistentne bakteritüvi.

Soole mikrofloora resistentsus klooramfenikooli suhtes on langenud ilmselt seetõttu, et amfenikoolid ei ole Eestis veterinaarmeditsiinis kasutusel enam kui 10 aastat.

Test: VetMIC™ E-cocci (version3).

**Tabel 5.** Tervete sigade ja veiste roojast isoleeritud *Enterococcus faecium*'i ja *enterococcus faecalis*'e antibiootikumiresistentsus aastatel 2006- 2009.

Antibiootikum	Piirväärtus µg/ ml*	2006 %(n=10 )	2007 %(n=11 )	2008 %( n=25)	2009 % (n=17)
Ampitsilliin *	≥ 4	0	0	0	0
Erütromütsiin*	≥4	40	18	44	43
Virginiamütsiin**	≥32	0	9	4	0
Gentamütsiin*	≥32	4	0	4	6
Streptomütsiin*	≥512	50	0	32	18
Kanamütsiin**	≥1024	40	18	28	6
Tetratsükliin*	≥2	40	36	44	29
Klooramfenikool**	≥32	0	9	12	0
Vankomütsiin*	≥4	0	27	8	0
Narasiin**	≥2	0	0	16	0
Batsitratsiin**	≥32	10	9	8	0
Linesoliid*	≥4	0	0	4	0

E. faecium; E. faecalis piirmäärad:

\* EFSA 2008 hinnang

\*\* SVARM 2007 hinnang (Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring ISSN 1650-6332 Uppsala. www.sva.se )

Võrreldes *E.coli*'ga on soolestiku enterokokkidel arenenud väga tugev resistentsus mitmete antibiootikumide suhtes. Resistentsus ei ole muutunud erütromütsiini, tetratsükliini, streptomütsiini ega kanamütsiini suhtes. Antibiootikumide suhtes, mida kasutatakse sigade ja veiste rühmaraviks hingamiselundite haiguste korral, on arenenud ka kõige suurem resistentsus. Tetratsükliinide resistentsus on seletatav doksütsükliini ning makroliidide resistentsus tüloosiini kasutamisega loomade suukaudses rühmaravis.

Vankomütsiiniresistentsete enterokokkide (VRE) osakaal on väga suur, mis võib mõjutada vankomütsiiniresistentsete bakterite levikut inimestele. Samuti alandab enterokokkide vankomütsiiniresistentsus erütromütsiini ja narasiini toimet loomadel. VRE on kogu maailmas üks põhilisemaid haiglainfektsioonide põhjustajaid. Euroopas on selleks peamiselt vanA geeni kandev *E. faecium* ning spetsiaalselt haiglates adapteerunud klonalkompleksi 17 kuuluvad VRE. Väga vajalik on järgnevalt uurida sigadelt ja veistel isoleeritud VRE vanA ja vanB geeni suhtes, et kinnitada hüpoteesi loomadelt pärit resistentsuse ülekande kohta inimestele.

Multiresistentsete tüvede hulk on aastatel 2006-2009 püsinud 30% ümber. Multiresistentsus on tugev kanamütsiini, streptomütsiini ja tetratsükliini suhtes. Järgnevatel aastatel tuleb suurendada indikaatorbakterite osakaalu monitooringus, et välja selgitada täpsemad resistentsuse arengud normaal-mikrofloora hulgas, sest see seostub ilmselgelt ka inimeste mikroobide resistentsusega.



## Kokkuvõte

Eestis on loomade mikroobide antibiootikumiresistentsus ning multiresistentsete tüvede, eriti resistentsete indikaatorbakterite arv murettekitavalt kõrge ning resistentsuse kujunemine näitab tõusvat tendentsi. Väga oluline on nii resistentsuse monitooringu pidev jätkumine kui antibiootikumipoliitika soovitude kaasajastamine vastavalt uuringutulemustele. Resistentsuse hetkeolukord ning aastast aastasse jätkuv suurenemine viitab tõsiasjale, et juba mõne aasta pärast ei pruugi veterinaarmeditsiinis leida enamlevinud infektsioonide ravimiseks sobivaid antibiootikume. Mikroobid, kes on omandanud ja endas salvestanud resistentsuse informatsiooni, on võimelised selle edasi andma ühelt bakterilt teisele. Samuti toimub resistentsuse info edasikanne bakteripõlvkondade ja ka erinevate bakteriliikide vahel. Lisaks on tänaseks paljude uuringutega tõestatud resistentsete bakterite või nende geenide ülekandumine loomalt inimesele ja vastupidi. Antibiootikumiravi efektiivsus ja tagajärjed ei sõltu ainult sellest, kes teeb raviotsuse, vaid ka otsuse sisust, ehk siis milline toimeaine millise infektsiooni ravimiseks valitakse. Toimeaine valik saab põhineda ainult teadmisel, milline mikroob infektsiooni põhjustab ja milline on tema tundlikkus/resistentsus antibiootikumide suhtes. Selle info saame, kui võtame patoloogilisest materjalist proovi ja saadame laborisse uurimiseks. Ravimite hulgimüügifirmadest välja müüdnud veterinaarravimite koguse (Ravimiameti statistika) järgi väikesi arvutusi tehes võib ütelda, et iga inimestoitudes kasvatatav veis, siga ja lind Eestis saab aastas vähemalt ühe ravikuuri jagu antibiootikume. Kui vaadata veterinaarlaboratooriumisse aasta jooksul mikrobioloogiliseks uuringuks toodud proovide arvu ja võrrelda ravi saanud loomade arvuga, siis korrektse bakteriaalse diagnoosi on saanud umbes 1/10 ravitud loomadest. See tähendab üheksal juhul kümnest on antibiootikume manustatud huupi. On teadmata, kas kõigil juhtudel antibiootikumiravi oli üldse näidustatud. Kui näiteks reeglina penitsilliiniravile alluvate streptokokkiinfektsioonide puhul manustatakse laia toimespektriga või kogunisti gramnegatiivset mikrofloorat mõjutavaid antibiootikume, on ravi ainsaks tulemuseks mikroobide resistentsus. Kui E. coli infektsiooni korral kasutatakse bakteriaalset diagnoosi ja tekitaja tundlikkust teadmata igaks juhuks erinevaid antibiootikume, on tulemuseks jälle ainult resistentsuse areng. Lisame siia ravimifirmade tõhusa töö uute ja tegelikult juba algselt reservpreparaatideks mõeldud antibiootikumide propageerimisel, saamegi loomade mikroo-

bide resistentsuse sellise taseme, millest edasi muutub positiivse ravitulemuse saamine keeruliseks.

## Kasutatud kirjandus

Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring, Report 2008; 2010.

Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway, Report 2006, 2008, 2009.

Dutch monitoring programme on antimicrobial usage in animals and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin and from animals, Report 2007, 2008, 2009.

Veterinaarravimite statistika 2006-2009. Ravimiamet

# EIMERIOOS KÜÜLIKUFARMIS

Toivo Järvis, Erika Mägi, Brian Lassen

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, nakkushaiguste osakond

## Sissejuhatus

Küülikute eimerioos on *Eimeria* prk. kuuluvate ainuraksete parasiitide põhjustatav enamasti ägedalt kulgev küülikupoegade (eriti vanuses kolmest nädalast kuni kahe kuuni) haigus, mis iseloomustub haiguse maksavormi korral maksa suurenemise, limaskestade kollasuse ja suure surevusega, soolevormi korral aga kõhulahtisuse ja kõhnumisega. Sageli esineb ka eimerioosi segavormi. Eimeeriade ootsüstide (tiheda kestaga kaetud viljastatud munarakud eosloomadel) mõõtmed on keskmiselt 15 – 38 x 13 – 26 mikromeetrit.

Esialgse teave põhjal küülikupoegade suremusest farmis kavandasime uuringud haigusetekitaja(te) väljaselgitamiseks.

## Materjal ja meetodika

Kokku lahati 15 surnud küülikut, hinnates patoloogilisi muutusi eriti seedekulgla ja maksas. Kliiniliselt jälgiti kõhulahtisuse esinemist ja silma sidekesta värvust. Lahatud küülikute soolesisaldisest ja küülikupuuridest võetud proovid (kokku 80) uuriti flotatsioonimeetodil. Eimeeriade liigid määrati ootsüstide morfoloogiliste tunnuste järgi (Baker (toim.), 2007; Taylor jt, 2007; Järvis, 2011).

Ootsüstide esinemist koproproovides (invasiooni intensiivsust) hinnati järgmiselt:

1 – 5 ootsüsti preparaadis – nõrk nakkus (+)

6 – 10 ootsüsti preparaadis – mõõdukas nakkus (++)

11 – 30 ootsüsti preparaadis – rohke nakkus (++++)

31 ja rohkem ootsüsti preparaadis – massiline nakkus (++++)

## Uurimistulemused ja arutelu

Kõik lahatud küülikud olid eimeeriatega nakatunud, kusjuures massiliselt (++++) sisaldas ootsüste 53% proovidest (joonis 1). Küülikupuuridest võetud koproproovidest sisaldas eimeeriade ootsüste 91%, massiliselt oli neid 17% proovides. Noorküülikutest olid eimeeriatest tabandunud 98% , massiliselt sisaldas ootsüste 32% neilt võetud proovidest. Täiskasvanud küülikute invadeeritus oli 74%, neil täheldati vaid mõõdukat (++) ja nõrka (+) nakkusastet. 64% surnud noorküülikutel esines eimeeriade ootsüste massiliselt, aga puuridest võetud koproproovidest olid massiliselt invadeerunud vaid 24%.

Küülikufarmides, kus eimerioos esineb, on harilikult kogu keskkond eimeeriade ootsüstidega saastunud. Peamiseks nakkusallikaks küülikupoegadele on nakatunud täiskasvanud emasküülikud, aga olulised on ka teised vanemad haiged või haiguse läbipõdenud küülikud.

Eimeeriade arenemistsükkel koosneb arengust nii väliskeskkonnas kui ka peremeesorganismis. Väliskeskkonnas ootsüstid sporuleeruvad ehk saavutavad nakkusvõime enamasti 3 – 5 päevaga. Küülikud nakatuvad suu kaudu kas ootsüstidega nakatunud sööda või joogiveega. Organismis ootsüsti kest laguneb, vabanenud sporosoidid tungivad soole või sapiteede limaskesta epiteelirakkudesse ja alustavad endogeense arengu esimest perioodi ehk skisogooniat, mille jooksul toimub sugutu hulgijagunemine (moodustuvad skisondid). Skisondid jagunevad omakorda paljudeks käävjateks merosoidideks, mis tungivad üha uutesse epiteelirakkudesse. Selline parasiitide paljunemine võib toimuda mitme põlvkonna vältel. Viimase põlvkonna merosoidid

alustavad parasiidi organismisese arengu teist perioodi ehk gametogooniat, mille korral parasiit sigib suguliselt. Arenevad mikrogameedid viljastavad makrogameete, edasi moodustuvad ootsüstid, mis epiteelirakkudest vabanevutena soolesisaldisse satuvad ja väljaheidetega väliskeskkonda eritatakse (joonis 2).

Küülikute nakatumisest kuni ootsüstide ilmnemiseni väljaheites kulub haiguse maksavormi tekitajal *Eimeria stiedae* 16 – 17 päeva, teistel eimeerialiikidel 6 – 10 päeva.

Üheks oluliseks teguriks, mis nõrgestab küülikupoegade vastupanuvõimet patogeenide, sh eimeeriatega, on sööda koostis ja selle järsk muutmine. Küüliku mao anatoomilise eripära tõttu on sissesöödav koresööt peamiseks söödamasside edasilükkajaks peensoole. Kui söötmine toimub ainult või väga suures osas graanulitega, ei liigu sööt maost edasi. Koos enamtõvestavate (virulentsete) eimeerialiikide intensiivse nakkusega on lõpptulemuseks sageli küülikupoegade surm.

Haiguse inkubatsioonistaadiumi (4 – 12 päeva) järgselt küülikupoegade üldseisund halveneb, loomad on väheliikuvad ja isutud. Sagedane sümptom on meteorism. Nähtavad limaskestad muutuvad aneemilisteks, intensiivse maksatabanduse korral ikteerilisteks. Haiguse jätkudes kõhulahtisus sageli süveneb, väljaheide muutub vesiseks. Loetletud haigustunnused on selgemalt väljendunud eimerioosi ägeda kulu korral. Kroonilise kulu puhul, mis esineb tavaliselt vanematel küülikutel, on nn. püsitunnusteks aeglane juurdekasv, kõhnumine ning karvkatte sakrumine ja tuhmumine.

Käesolevas uuringus oli küülikutel sageli kõhulahtisus (tagakeha vedela roojamassiga määratud), kõht oli suurenenud, silma sidekest oli kahvatu (valkjast). Põhilise ja sageli esineva patoloogiana tehti uuringus kindlaks äge katarraalne (vahel verine) soolepõletik (nii peensoole kui ka jämesoole osas) ja sellega seotud soole limaskesta kahjustus. Sageli olid magu ja käärsool sööda(rooja)massidega täitunud, palju gaasi oli peensoole osas. Maks oli tihti liigverene, mõnel korral mõõtmel suurenenud, täheldati maksaväärastust ning maksa pinnal üksikuid valkjaid täppe ja triipe (eimeeriatega kogumid).

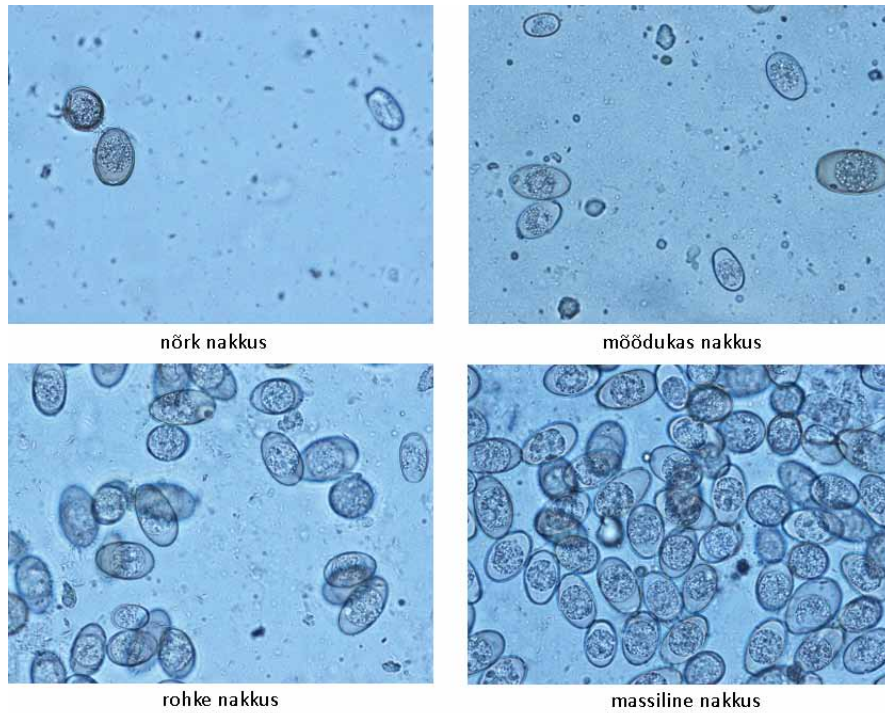
Kokku määrati küülikutel 11 *Eimeria* prk. liiki, nende hulgas ka *E.stiedae*.

## Kokkuvõte

1. Kõik hukkunud küülikud olid eimeeriatega nakatunud, ootsüste oli massiliselt 53% uuritud proovides.
2. Küülikupuuridest võetud koproproovidest sisaldas eimeeriatega ootsüste 91%, massiliselt oli neid 17% proovides.
3. Noorküülikutest oli eimeeriatega tabandunud 98%, massiliselt leidis ootsüste 32% proovidest.
4. Täiskasvanud küülikutest oli nakatunud 74%, neil täheldati vaid nõrka ja mõõdukat nakkust.
5. 64% hukkunud noorküülikutel esines eimeeriaid massiliselt.
6. Noorküülikute puuridest võetud koproproovidest oli massiliselt invadeerunud 24%.
7. Kliinilistest haigustunnustest täheldati sageli kõhulahtisust, kõhu suurenemist ja silma sidekesta aneemilisust.
8. Sagedane lahanguleid oli äge katarraalne soolepõletik ja maksa hüperemia.
9. Kõige sagedamini olid küülikud nakatunud üheaegselt nelja *Eimeria* prk. liigiga.
10. Virulentseid eimeerialiike esines 70% uuritud proovides.

## Järeldused ja soovitused

1. Farmis on küülikutel eimerioos, mille tõttu on noorküülikute suremus suur.
2. Kiiresti on vaja rakendada kõiki haigusetõrje meetmeid: ravi, metafülaktikat (ravimite manustamist nakatumisohus olevatele või nakatunud, aga veel kliiniliselt tervetele loomadele) ja profülaktikat.
3. Eimerioosi raviks kasutada sulfoonamiide ja toltrasuriili, metafülaktikaks toltrasuriili.
4. Profülaktikameetmetest pöörata peatähelepanu küülikupuuride regulaarsele põhjalikule puhastamisele ja desinfitseerimisele.
5. Oluline on küülikute ratsiooni suur kuivainesisaldus.



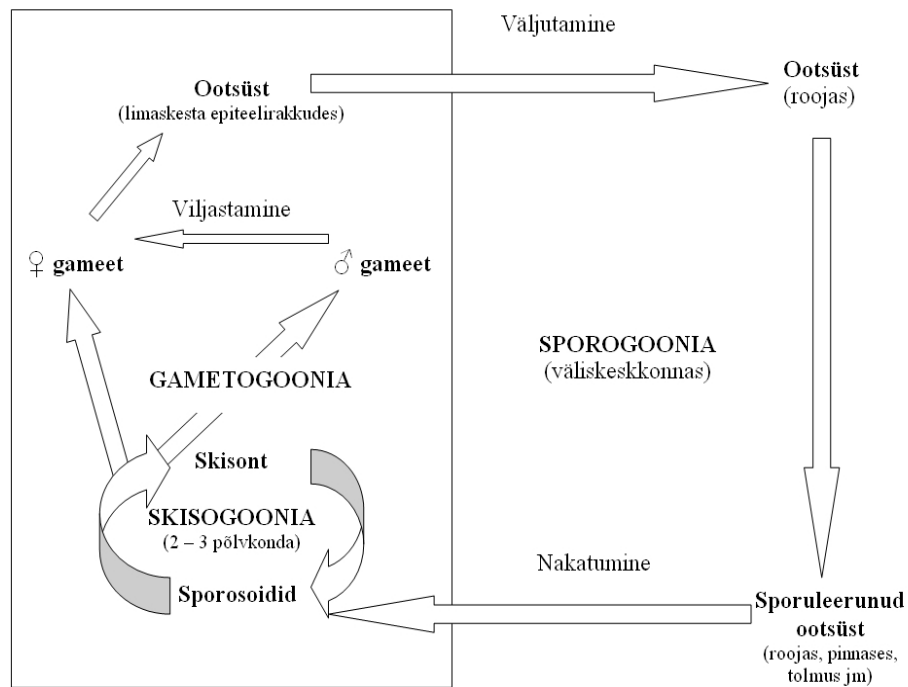
**Joonis 1.** Farmi küülikute nakatatus eimeeriade ootsüstidega

### Kasutatud kirjandus

Flynn's Parasites of Laboratory Animals / Ed. **D.G.Baker.** – Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2007. – 813p.

**Järvis, T.** Veterinaarparasitoloogia 3: Algloomtõved. – Tartu Ülikooli Kirjastus, 2011. – 77lk.

**Taylor, M., Coop, B., Wall, R.** Veterinary Parasitology. – Oxford: Blackwell Publishing, 2007. – 874p.



**Joonis 2.** Eimeeriade arenemistsükkel

# INFRAPUNAKAAMERA KASUTUSVÕIMALUSI PIIMAKARJA TERVISE HINDAMISEKS VABAPIDAMISEL

Väino Poikalainen, Jaan Praks, Imbi Veermäe, Eugen Kokin

Eesti Maaülikool

## Sissejuhatus

Temperatuur on oluline lehmade haiguste diagnoosimisel ja füsioloogilise seisundi hindamisel. Seetõttu on tähtis ka selle kiire ja täpne määramine. Tavapärasele termodünaamilise temperatuuri määramisele lisaks on hakatud üha enam rakendama kiirgustemperatuuride mõõtmist, mis põhineb keha poolt keskkonda kiiratava energia registreerimisel. Mingil lainepikkusel on keha kiirgusvõimsus arvutatav valemiga:

$$P = \varepsilon \cdot \sigma \cdot A \cdot T^4,$$

kus  $\varepsilon$  on adsorptsioonikoefitsient, mis näitab keha kiirgust võrreldes absoluutselt musta kehaga kiirgusega samal lainepikkusel,  $\sigma$  – Stefan-Boltzmanni konstant,  $A$  – kehaosa pindala, millelt lähtuvat kiirgust registreeritakse,  $T$  – kehapinna absoluutne temperatuur

Suurim kiirgusenergia hulk (loomadel 40 – 60%) kandub seejuures edasi infrapunase kiirgusena vahemikus 7 – 14  $\mu\text{m}$ , mistõttu soojuskiirgust nimetatakse sageli ka infrapunaseks kiirguseks ja vastavat mõõtmist infrapunatermograafiaks (IPT). Infrapunane kiirgus lähtub mõõdetava objekti pinnalt ja kajastab seega eelkõige selle pinnatemperatuuri. Pinna kiirgustemperatuuri määramist võimaldavatest seadmetest on praeguseks enamlevinud ja odavamad sellised, mis registreerivad infrapunase kiirguse intensiivsust mingis kindlas punktis.

Funktsionaalselt märgatavalt avaramaid rakenduslikke võimalusi omavad seadmed, mis salvestavad temperatuurijaotust (termogrammi) mingi pinna

ulatuses. Varem kasutati selleks eranditult termovisiooni tehnikat, mis termogrammi registreerimiseks skaneerib teatud pindala punkthaaval. Kalli hinna tõttu leidsid sellised seadmed vaid piiratud rakendamist. Nüüdseks on aga välja töötatud uus ja odavam põhimõte, kus pinnatemperatuuride jaotus salvestatakse nagu tavalises digitaalses fotoaparaadis, projitseerides vähendatud termopildi tervikuna infrapunast kiirgust murdvate eriläätsete abil fototundlikule andurmaatriksile. Moodsate seadmetega on kaasas ka termogramme töötamise tarkvara. Sellist aparatuuri on mõistlik kasutada loomade termiliste kujundite e termogrammide saamiseks ka veterinaarmeditsiinis ja loomakasvatuses, kuna kasutamine on lihtne, ohutu, informatiivne ja väheste piirangutega (vältida tuleb vaid objektide paiknemist otsese päikesekiirguse ja tuuletõmbuse käes).

Veiste juures on infrapunatermograafiat (IPT) katsetatud esmajoones diagnostilistel eesmärkidel, aga samuti loomade heaolu ja isegi söödakasutuse efektiivsuse hindamisel. IPT on katsetatud lootustandvate tulemustega piimalehmade mastiidi varajaseks diagnoosimiseks udarapinna temperatuuri muutuste põhjal (Berry jt, 2003; Colak jt, 2008). Polat jt (2010) samastavad IPT tundlikkust määramisel traditsioonilise Kalifornia mastiiditesti tundlikkusega. Esialgseid positiivseid tulemusi on saadud erinevate laminiidi- ja sõranahapõletike vormide varajasel diagnoosimisel (Nikkah jt, 2005). Erinevate kehapiirkondade infrapunase kiirguse monitooringuga on püütud otsustada söödakasutuse efektiivsuse (Montanholi jt, 2010) ja stressi intensiivsuse üle (Stewart jt, 2005). IPT-d on katsetatud ka lüpsitehnika sobivuse ja lüpsi-protsessi uurimisel (Kunc jt, 2007).

Tänu odavametele moodsatele seadmetele, lihtsustunud kasutusmetoodikale ja andmetöötlusele on IPT kasutusvõimalused märgatavalt avardunud veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse erinevates valdkondades. Samas on vastavad rakenduslikud uuringud alles algusjärgus. Seoses sellega püstitati käesolevas töös järgmised eesmärgid:

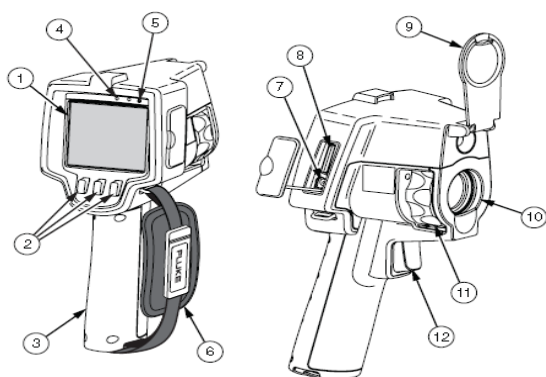
- selgitada lehmade termovälja informatiivsust ja registreerimise võimalusi;
- selgitada udara termogrammide registreerimise võimalusi lüpsiplatsil;

- selgitada termogrammide kasutamise võimalusi lüpsi hügieeni hindamiseks;
- selgitada jalgade vigastuste avastamise võimalusi termogrammide abil.

### Kasutatud seade ja tarkvara, katsekorraldus

Käesolevas uurimuses kasutati termokaamerat Fluke TiS, mille mõõtediapasoon on kalibreeritav vahemikku  $-25.0^{\circ}$  kuni  $105.0^{\circ}\text{C}$ . Seade võimaldab salvestada objektide kiirgustemperatuuri 0,7-20 m kauguselt resolutsiooniga  $0,1^{\circ}\text{C}$ . Digitaalne kujutis tekib kaameras 640 x 480 punktise termoväljana. Termovälja töötamiseks arvutis kasutati tarkvarapaketti SmartView 3.1. Kaamera funktsionaalsed osad on esitatud joonisel 1.

Joonis 1.



Termokaamera Fluke TiS osad: 1 – näiduaken, 2 – häälestusklahvid, 3 – toiteakude konteiner ja käepide, 4 – kõlar, 5 – näiduakna valgustusandur, 6 – hoiderihm, 7 – akude laadimisotsik, 8 – mälukaart termopiltide salvestamiseks, 9 – lätsekaitse, 10 – termokaamera lääts, 11 – fokuseerimisketas, 12 – salvestuspäästik

Püstitatud eesmärkide lahendamiseks viidi läbi mõõtmised Eesti Maaülikooli Märja katselaudas 56 lüpsilehmaga. Mõõtmiste piirkonnas oli laudaõhu temperatuur  $+9^{\circ}\text{C}$ . Lehmade kehapiinna termogrammid registreeriti lüpsiplatsi vahikäigus, udara, kandluu-, kann- ja põia- piirkonna ning esijala distaalse osa termogrammid lüpsiplatsil.

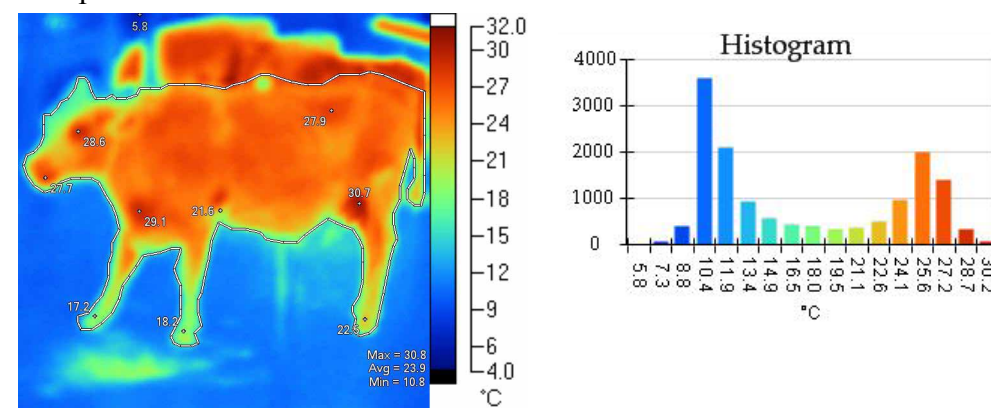
Udara termogrammid registreeriti vahetult enne ja pärast lüpsi, jalgade termogrammid lüpsi ajal. Lüpsiplatsi konstruktsioonist tingitud piirangute tõttu oli mõõtmisteks kättesaadav ainult udara tagumiste veerandite alumise

osa kaudaalne pind. Sellist valikut õigustas asjaolu, et udara tagumistes veerandites esineb mastiiti kõige sagedamini (Berry and Meaney, 2006) ning selle piirkonna termogrammide registreerimist on võimalik tulevikus automatiseerida.

Registreeritud udara termogrammidel analüüsiti termokaamera tarkvara abil põhjalikumalt temperatuuri piimaurke kohal (kontuuriga eraldatud alal). Kontuuristatud alas määrati keskmine, maksimum- ja miinimumtemperatuur. Enne termogrammide registreerimist hinnati udarapinna puhtust 5-astmelise skaala järgi: 1 – puhas, 2 – vähem kui 10% udarapinnast määrdunud, 3 – 10-20% määrdunud, 4 – 20-50% määrdunud, 5 – rohkem kui 50% määrdunud.

### Tulemused

Joonisel 1 on näitena toodud lehma vasaku külje termogramm ning kogu termopildi temperatuuride jaotuse histogramm. Histogrammi saab kasutada keskkonna temperatuuri sobivuse hindamiseks. Lehma kehapiinna temperatuurijaotuse hindamiseks eraldati see termogrammil taustast piirjoonega, millesse jäänud termoväljas arvutati keskmine, maksimaalne ja minimaalne temperatuur ning temperatuurinäidud huvipakkuvate kehapiirkondade kohta. Joonisel esitatud näites oli kontuuri keskmine temperatuur  $23,9^{\circ}\text{C}$ , miinimum- ja maksimumtemperatuur vastavalt  $10,8^{\circ}\text{C}$  ja  $30,8^{\circ}\text{C}$ , standardhälve 3,62. Kõrgema temperatuuriga piirkonnad olid silm ja udar, madalama temperatuuriga jalgade distaalsed osad. Vastavad numbrilised väärtused mõne kehapiirkonna kohta on toodud tabelis 1.

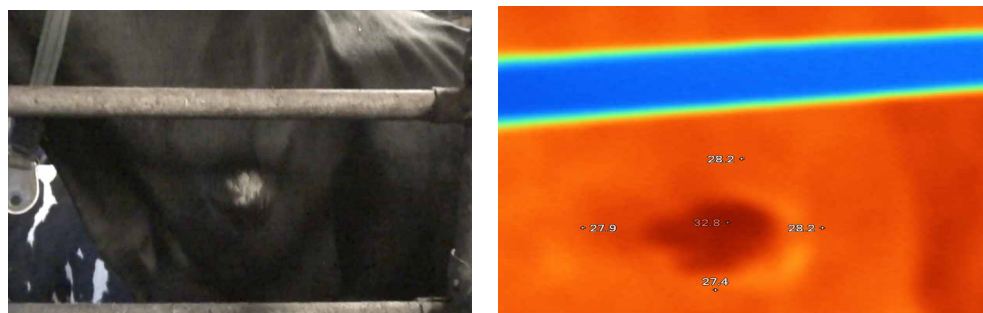


Joonis 1. Kontuuriga ümbritsetud lehma kujutise termogramm ja termopildi infrapunase kiirguse histogramm

**Tabel 1.** Temperatuuride numbrilised väärtused lehma kujutise termogrammil

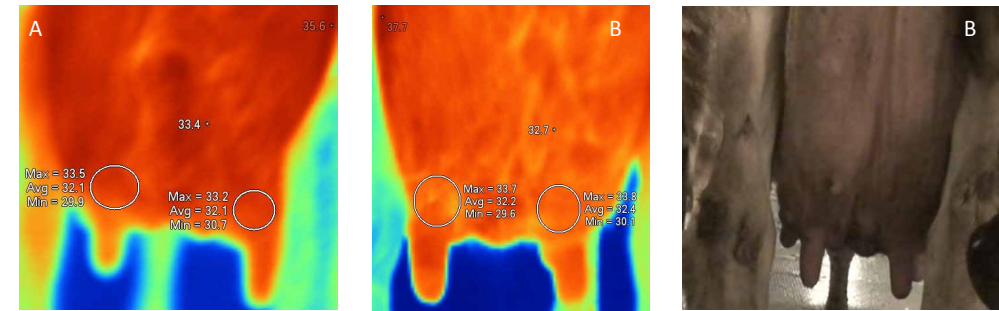
Piirkond	Temperatuur, °C
Kube	30,7
Silm	28,6
Nahavigastus õlaliigesepiirkonnas	29,1
Vasaku esijala sõrapiirkond	18,2
Parema esijala sõrapiirkond	22,5
Vasaku tagajala sõrapiirkond	17,2
Tühemik	27,9
Nina-mokaapeegel	27,7

IP kujutistel on võimalik avastada erinevaid vigastusi. Joonisel 2 on toodud foto ja IP kujutis õlaliigesepiirkonna vigastusest. Vigastus on selgesti eristatav tunduvalt kõrgema temperatuuri põhjal (vigastatud ala temperatuur 32,8°C, ümbritseva naha temperatuur vahemikus 27,4-28,2°C). Terve lehma kehapiinna IP termogrammid võimaldavad koostada kõigi anatoomiliste piirkondade normaalsed temperatuurijaotused, mida saab kasutada esinevate vigastuste avastamiseks.



**Joonis 2.** Tavafoto (vasakul) ja IR kujund (paremal) õlavarrepiirkonna vigastusest

Udara tagumiste veerandite IP kujutiste näide koos tavafotoga on toodud joonisel 3. Udarauuringu koondandmed on esitatud tabelis 2.



**Joonis 3.** IR kujutised ning foto udara tagumistest veeranditest (A – enne lüpsi, B – pärast lüpsi)

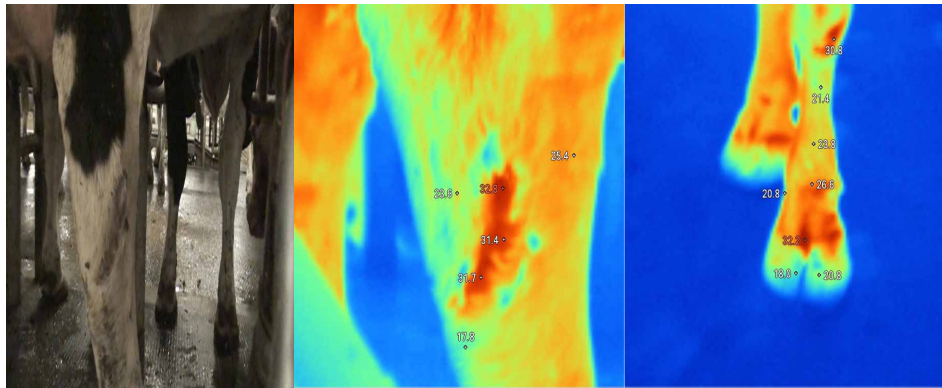
Saadud tulemusi võrreldi Student t-testiga, Usutavad erinevused vasaku ja parema udaraveerandi vahel puudusid nii enne kui pärast lüpsi, ( $p>0,05$ ). Seega, udara temperatuuri lüps eriti ei mõjuta ning seega võib andmeid udara kiirgustemperatuuride kohta koguda ka lüpside vaheajal.

Udarapiinna puhtus mõjutab märgatavalt IP temperatuuri, eriti selle kesk-väärtust. Korrelatsioonikoeffitsient puhtuse/maksimumtemperatuuri vahel oli -0,29, puhtuse/keskmise temperatuuri vahel -0,42 ja puhtuse/minimumtemperatuuri vahel -0,22,

**Tabel 2.** Udara tagumiste veerandite puhtus ja IP temperatuurid (°C) enne ja pärast lüpsi

Mõõtmise aeg	Veerand	Näitaja	Keskmine	Standard-hälve	Min	Maks
Enne lüpsi	Vasak	Maks	34,4	1,17	31,8	36,1
		Keskmine	32,4	1,11	29,9	34,2
		Min	28,7	2,40	23,8	31,8
	Parem	Puhtus	2,4	1,11	1,0	4,0
		Maks	33,9	1,23	30,3	35,6
		Keskmine	32,4	1,01	29,2	33,7
Pärast lüpsi	Vasak	Min	29,3	2,28	23,2	32,5
		Puhtus	2,3	1,16	1,0	5,0
		Maks	34,5	0,94	32,4	35,9
	Parem	Keskmine	32,9	1,76	31,2	38,6
		Min	28,9	3,49	19,4	32,3
		Puhtus	2,1	1,02	1,0	4,0
	Parem	Maks	34,6	0,78	33,4	36,3
		Keskmine	33,2	0,98	31,4	35,1
		Min	30,2	2,37	25,3	33,4
Puhtus	2,3	1,19	1,0	5,0		

Lüpsiplatsil on lihtne registreerida termogramme ka kandluu-, kann- ja põia- piirkonna ülemisest osast ning esijalgade alumisest osast. Kannapiirkonnas esineb lehmadel sageli vigastusi. Joonisel 4 on toodud tavafoto ja IP kujutis vigastusest kann- ja põia- piirkonnas ning esijala alumise osa IP kujutis. IP kujutisel on vigastus kergesti märgatav (pinnatemperatuur 31,4 – 32,8 °C)



**Joonis 4,** Foto ja IP kujutis kann- ja põia- piirkonnast ning esijala alumisest osast

Esijala alaosa on iseloomulik suhteliselt ebaühtlane temperatuurijaotus: kõige jahedam on sõrapiirkond (18 – 20,8 °C), piirdepiirkonna temperatuur on 32,2 °C, kamberpiirkonnal 21,4 – 26,6 °C,

## Järeldused

Esialgne uuring näitab, et kaasaegsed termokaamerad, mis on ohutud ja lihtsad käsitleda, ei häiri loomi ja on varustatud spetsiaalse tarkvaraga, on perspektiivsed vahendid veterinaarmeditsiini- ja loomakasvatusalastes uurin- gutes. Nad võivad leida rakendust udarapõletike, laminiitide ja mitmesuguste nahavigastuste varajases diagnostikas, lüpsihügieeni hindamisel ning tempe- ratuuri seire automatiseerimisel.

Käesolev uuring viidi läbi ETF-i grandiprojekti „Lüpsilehmade kõnnimustri automaatse analüüsi uurimine jalahaiguste varajaseks diagnoosimiseks“ (G7518) toel.

## Kasutatud kirjandus

Berry R. J., Kennedy A. D., Scott S. L., Kyle B. L., Schaefer A. L., 2003. Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared ther- mography: Potential for mastitis detection, *Can. J. Anim. Sci.*, **83**, 687-693.

Berry D. P. & Meaney W. J., 2006. Interdependence and distribution of subclinical mastitis and intramammary infection among udder quarters in dairy cattle, *Preven- tive Veterinary Medicine*, **75**, 81-91.

Colak A., Polat B., Okumus Z., Kaya M., Yanmaz L. E., Hayirli A., 2008. Short communication: early detection of mastitis using infrared thermography in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, **91** (11), 4244-8.

Kunc P., Knižková I., Přikryl M., Maloun J., 2007. Infrared thermography as a tool to study the milking process: a review, *Agricultura Tropica et Subtropica*, **40** (1), 29-32.

Monthanoli Y. R., Swanson K. C., Palme R., Schenkel F. S., McBride B. W., Lu D., Miller S. P., 2010. Assessing efficiency in beef steers through feeding behaviour, infrared thermography and glucocorticoids, *Animal*, **4:5**, 692-701.

Nikkhah A., Plaizier J. C., Einarson M. S., Berry R. J., Scott S. L., Kennedy A. D., 2005. Short communication: infrared thermography and visual examination of hooves of dairy cows in two stages of lactation, *J. Dairy Sci.*, **88** (8), 2749-2753.

Polat B., Colak A., Cengiz M., Yanmaz L. E., Oral H., Bastan A., Kaya S., Hayirly A., 2010. Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subcli- nical mastitis in dairy cows, *J. Dairy Sci.* **93**, 3525 – 3532.

Stewart M., Webster J. R., Schaefer A. L., Cook N. J., Scott S. L., 2005. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare, *Animal Welfare*, **14**, 319-325.



# SURVEANDURITE MAATRIKSMATI KASUTAMINE LEHMADE KÖNNIMUSTRI ANALÜÜSIKS

Eugen Kokin, Jaan Praks, Imbi Veermäe, Väino Poikalainen

Eesti Maaülikool

## Sissejuhatus

Suurte vabapidamislautade kasutuselevõtuga on lehmade jalahaiguste osa haiguste panoraamis tunduvalt suurenenud, kuid visuaalne jalahaiguste varajane avastamine on raskendatud. See on loonud vajaduse jalavigastuste automaatseks monitooringuks ning intensiivistanud sellesuunalisi uuringuid.

Automaatseks monitooringuks katsetatud meetodid võib jagada kahte rühma:

- seisva looma jalgade koormusjaotuse analüüs, kasutades spetsiaalseid platvormkaale või surveandureid;
- kõnni kinemaatiline analüüs, registreerides erinevaid ajalis-ruumilisi parameetreid.

Lootustandvaid tulemusi on saadud jalgade koormusjaotuse mõõtmisega lüpsirobotites või söödaboksid, kus loomad automaatselt identifitseeritakse ning liikumisvõimalused on oluliselt piiratud (Pastell *et al.*, 2006, 2008, 2010; Poikalainen *et al.*, 2011).

Kõnni kinemaatiliseks analüüsiks on katsetatud erinevaid meetodeid (ülekäigukaalud, videosalvestus, aktseleeromeetrised süsteemid, surveandurmatid jne) ja nende kombinatsioone, mille puhul on registreeritud liikumiskiirust, sammu pikkust, kõnnitsükli kestust, toe- ja hoofaasi kestust, kõnni sümmeetrilisust, jala survejõudu, seljakumerust, pea liigutusi jne.

Ülekäigukaalud, mis registreerivad iga jala puute ajalis-ruumilised näitajad, ja analüüsi tarkvara on kättesaadavad kaubanduslikult. Positiivseid tulemusi

on saadud kõnni videosalvestiste analüüsiga. Aktseleeromeetrised süsteemid, mis analüüsivad liikumise aktiivsust, on andnud väiksema diagnostilise täpsusega tulemusi (Rajkondawar *et al.*, 2006, Maertens *et al.*, 2007, Song *et al.*, 2008, Pluk *et al.*, 2009, Poursaberi *et al.*, 2010). Chapinal *et al.*, 2011).

Viimasel ajal on kõnnimustri uurimisel hakatud katsetama surveandurite maatriksmatte, millel iga looma ja mati vahelise kontakti puhul registreeritakse selle survetugevus ning ajalis-ruumilised näitajad. Töötluseks on kasutusel spetsiaalsed programmid (Maertens *et al.*, 2007, Maertens *et al.*, 2011).

Käesolevale uuringule püstitati järgmised eesmärgid:

- selgitada välja surveandurite maatriksmati kasutusvõimalused lehmade kõnnimustri analüüsiks vabapidamisel;
- selgitada välja informatiivsemad parameetrid lonke automaatseks avastamiseks.

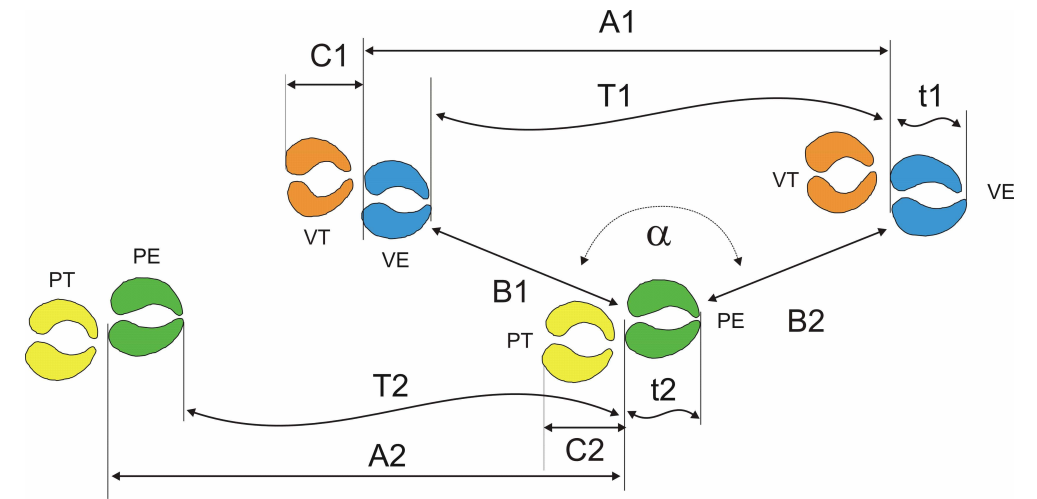
## Metoodika

Kõnnimustrite automaatregistreerimiseks kasutati Märja katselaudas kõnnistendile paigutatud USA firma Tekscan surveandurite maatriksit WalkWay. Andurmati mõõtmed olid 0,8\*1,8 m. Kõnnistend paiknes lüpsiplatsilt söömis-puhkealale viivas käigus. Katses kasutati 52 lehma. Lehmad liikusid üle kõnnistendi pärast lühiajalist viibimist automaatkaalu boksis (joonis 1, 2). Automaatkaaluga registreeriti eelnevalt matile liikuva lehma mass 1 kg täpsusega. Kehamassi kasutati tuginäitajana kõnni parameetrite hilisemal määramisel. Visuaalselt hinnati loomade kõndi 5-pallise süsteemiga (Sprecher jt, 1997). Analüüsiks valiti 11 normaalse kõnniga (hinne 1-2) looma andmed.

Mõõtematt sisaldas 3536 surve- (jõu-) tundlikku elementi, mis paiknesid 34 veerus ja 104 reas. Salvestatavad signaalid võimaldasid määrata iga jala poolt matile avaldatud survet, selle dünaamikat ja asukohta. Nende näitajate põhjal leiti analüüsitarkvara Tekscan Walkway Research v. 7.0 StepMatrix paketi abil looma kõnni kinemaatilised näitajad. Mõned spetsiifilised kõnniparameetrid arvutati jalgade puutejäljenditelt (tabel 1, joonised 3 ja 4). Lehmade kõnni videosalvestusi kasutati jalgade jäljendite eristamise kontrolliks.



Joonis 1. Katse sooritajate töökoht koos automaatkaaluga



Joonis 3. Analüüsitud kõnniparameetrid: A1, A2 – kõnni pikkus, B1, B2 – sammu pikkus, T1, T2 – hoofaas, t1, t2 – toefaasi kestus, VE – vasak esijalg, VT – vasak tagajalg, PE – parem esijalg, PT – parem tagajalg,  $\alpha$  – sammu nurk, C1 – kattumine



Joonis 2. A – Tekscani surveandurid B – kaitsematiga kaetud surveandurid

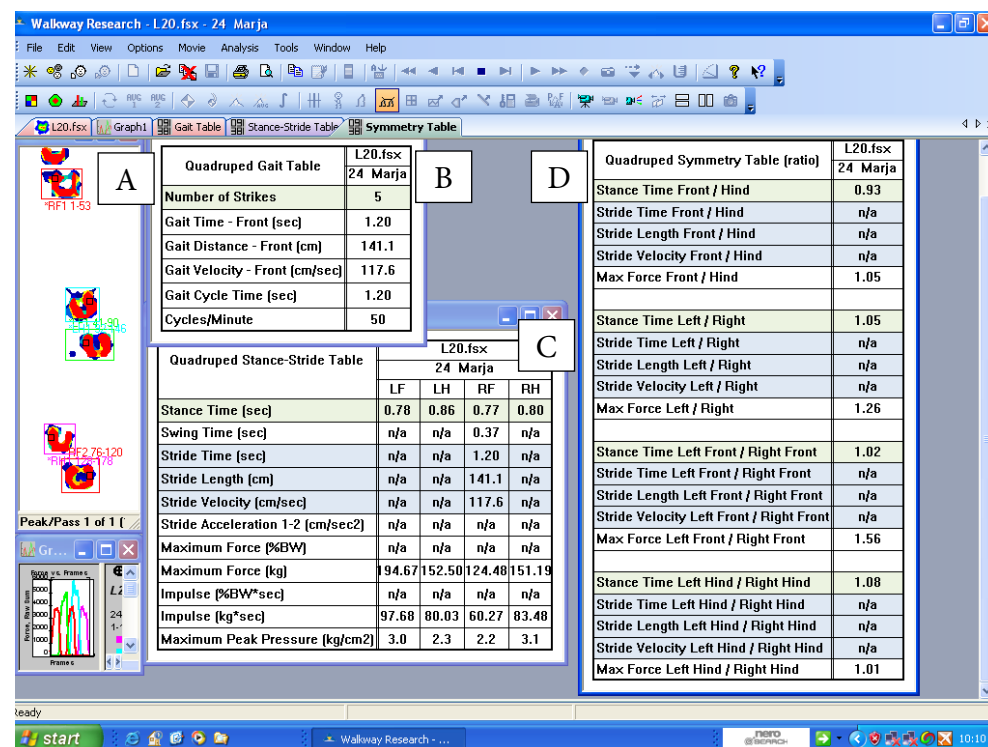
## Tulemused

Tabelis 1 ja joonisel 4 esitatakse lehmade kõnniandmete analüüsi tulemused.

**Tabel 1.** Lehma kõnni põhiparameetrid (nelja jala keskmine)

Loomadele ette nähtud tarkvarapaketi abil saadud näitajad	Tähis (joonis 3)	Mõõtetulemus, keskmine ja standardhälve	Kirjeldus
Kõnni pikkus, cm	A	126,1 ± 29,0	Vahemaa sama jala kahe järjestikuse jäljendi vahel
Toefaasi kestus, s	t	1,2-1,3 ± 0,3-0,4	Aeg, mille jooksul jalg toetub mõõtematile
Hoofaasi kestus, s	T	0,4-0,6 ± 0,03-0,05	Aeg, mille jooksul jalg ei puutu mõõtematti
Kõnni kestus, s	T+t	1,7-2,0 ± 0,4-0,6	Aeg jala puutest kuni sama jala järgmise puuteni matiga
Esijalgade toefaasi asümmeetria	t1/t2	1,00 ± 0,17	Suhtarv, mis saadakse vasaku esijala toefaasi kestuse jagamisel parema esijala toefaasi kestusega
Tagajalgade toefaasi asümmeetria	t3/t4	0,99 ± 0,21	Suhtarv, mis saadakse vasaku tagajala toefaasi kestuse jagamisel parema tagajala toefaasi kestusega
<b>Jalajälgede mõõtmisel saadud näitajad</b>			
Sammu pikkus, cm	B	69,5-73,0 ± 8,5-10,0	Vahemaa kahe järjestikuse vasaku-parema tagajala vahel ja vasaku-parema esijala vahel
Sammu nurk, °	α	138-150 ± 11,8-12,5	Nurk sirgete vahel, mis ühendavad kolme järjestikust tagajala jäljendit ning kolme järjestikust esijala jäljendit
Sammu asümmeetria, cm	B1-B2	10,7-12,5 ± 4,7-10,0	Kahe järjestikuse sammude pikkuse vahe absoluutväärtus
Kattumine, cm	C1	19,1-21 ± 10,6-15,3	Esijala jäljendi ja sama külje tagajala jäljendi vahemaa arvvaartus, mõõdetud jäljendi jõukeskpunktist. Kirjeldab tagajala positsiooni sama külje esijala suhtes. Kui tagajala jäljend on eespool esijala jäljendit, on arvvaartus negatiivne.
Maksimumsurve positsioon, cm ja °		3,5-3,9 ± 0,7-1,2 Vasak külj 109-140 ° ± 76-88 ° Parem külj 218-249 ° ± 55-99 °	Kaugus ja nurk võrreldes jõukeskpunktiga jalajäljendil looma liikudes vasakult paremale. Maksimumsurve nurga väärtus 0-180 ° vasaku külje jalajäljenditel näitab selle lateraalset positsiooni, 181-360 ° mediaalset positsiooni, parema külje jalajäljenditel vastavalt 0-180 ° mediaalset ja 181-360 ° lateraalset positsiooni.

Märkus: mati tarkvara poolt leitud näitajate täielik nimekiri esitatakse joonisel 4



**Joonis 4.** Walkway Research tarkvara aktiivne aken lehma kõnni analüüsi näitudega. A – visualiseeritud jalgade jäljendid matil (suunaga ülalt alla). Jäljendid näitavad jalgade paiknemist matil, nende värvimosaiik jalasurve jaotust anduritel. B – kõnni üldandmete tabel; C – kõnniandmed; D – sümmeetria andmed

Paljud näitajad, mis saadakse survemati tarkvarapaketi abil, sõltuvad mati pikkusest ja jala esimese kokkupuutekohta kaugusest mati äärest. Paremaid tulemusi on võimalik saada, kui matil on vähemalt 12 kokkupuudet jalaga, st kaks kõnnitsüklit iga jala kohta. Meie katses oli jalapuudete arv matiga keskmiselt 5,8 korda, seega osa parameetreid ei olnud võimalik arvutada.

Et saada täiendavat informatsiooni lehma kõnni kohta, arvutasime lisaks viis näitajat jalajäljenditelt. Sammu nurk iseloomustab sammude laiust (distanti vasaku ja parema esijala- ning vasaku ja parema tagajalajäljendite paralleeljoonte vahel). Suur nurk iseloomustab minimaalset lateraalset paiknemist liikumisel.

Maksimumjõu positsiooni hindamiseks jalajäljenditel me kasutasime lisaks kaugusele jõukeskkohast ka nurganäitu (nurk looma liikumise suunda iseloomustava sirgjoone ja jalajäljendil jõu keskpunkti ning maksimumjõudu tähistavate markerite ühendusjoone vahel).

Nurganäit annab täpset informatsiooni maksimumjõu asukohast jäljendil. Tavaliselt on sõra lateraalne külg rohkem koormatud. Maksimumjõu asukoha lokaliseerimine annab väärtuslikku informatsiooni mitmete jalahaiguste kohta nagu tallahaavandid, valgeviiru haigused jne. Kõiki tabelis toodud näitajaid võib kasutada jalahaigustest põhjustatud kõnnimustri muutuste avastamiseks.

## Järeldused

Pilootkatse Walkway 5400D double 'Hugemat' surveandurite maatriksmatiga andis väärtuslikke kogemusi katse korraldamiseks ning kõnnimustri hindamise võimaluste väljaselgitamiseks. Tundub, et nimetatud matt on sobiv vahend lehma kõnnimustrite süvauuringuteks ja tundlike ning spetsiifiliste parameetrite selgitamiseks lehmade jalahaiguste varajaseks avastamiseks.

Käesolev uuring viidi läbi ETF-i grandiprojekti „Lüpsilehmade kõnnimustri automaatse analüüsi uurimine jalahaiguste varajaseks diagnoosimiseks“ (G7518) toel.

## Kasutatud kirjandus

- Chapinal, N., De Passille, A., Pastell, M., Hänninen, L., Munksgaard, L., Rushen, J., 2011. Measurement of acceleration while walking as an automated method for gait assessment in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **94** (6), 2895–2901
- Maertens, W., Baert, J., Vangayte, J., Vranken, E., Berckmans, D., Sonck, B. 2007. Acquisition techniques for Dairy Cow Gait Analysis. In: Cox, S. (ed.) *Precision Livestock Farming '07*. Wageningen Academic Publishers, pp. 133–140.
- Maertens, W., Vangeyte, J., Baert, J., Jantuan, A., Mertens, K.C., De Campeneere, S., Pluk, A., Opsomer, G., Van Weyenberg, S., Van Nuffel, A. 2011. Development of a real time cow gait tracking and analysing tool to assess lameness using a pressure sensitive walkway: the GAITWISE system. *Biosystem Engineering* **110**, 29-39.
- Pastell, M., Takko, H.; Grohn, H.; Hautala, M., Poikalainen, V., Praks, J., Veermae, I., Kujula, M., Ahokas, J. 2006. Assessing cows' welfare: weighing the cow in a milking robot. *Biosystems Engineering* **93** (1), 81-87.
- Pastell, M., Hautala M., Poikalainen, V., Praks J., Veermäe, I., Kujula, M., Ahokas, J. 2008. Automatic observation of cow leg health using load sensors. *Computers and Electronics in Agriculture* **62**, 48-53.
- Pastell, M., Hänninen, L., De Passille, A.M., Rushed, J. 2010. Measures of weight distribution of dairy cows to detect lameness and the presence of hoof lesions. *Journal of Dairy Science* **93**(3), 964-960.
- Pluk, A., Bahr, C., Maernets, W., Veermäe, I., Kokin, E., Praks, J., Poikalainen, V., Pastell, M., Ahokas, J., van Nuffel, A., Vangeyte, J., Snock, B. and Berckmans, D. 2009. Approach to model based motion scoring for lameness detection in dairy cattle. In: Lokhorst, C. and Groot Koerkamp P.W.G (eds): *Precision livestock farming '09*. Wageningen Academic Publishers, pp. 357–362.
- Poikalainen, V., Praks, J., Veermäe, I., Aland, A. Vallas, M. 2011. Automatic lameness detection of dairy cows at the feed station by leg weight distribution. In: Köfer, J. and Schobesberger, H. (eds): *Animal Hygiene and Sustainable Livestock Production. Proceedings of the XV ISAH Congress 2011* 3–7 July, Vienna, Austria. pp. 317–319.
- Poursaberi, A., Bahr, C., Pluk, A., Van Nuffel, A. and Berckmans, D. 2010. Real-time automatic lameness detection based on back posture extraction in dairy cattle: Shape analysis of cow with image processing techniques. *Computers and Electronics in Agriculture* **74**, 110–119.
- Rajkondawar, P., Liu, M., Dyer, R., Neerchal, N., Tasch, U., Lefcourt, A., Erez, B., Varner M. 2006. Comparison of Models to Identify Lame Cows Based on Gait and Lesion Scores, and Limb Movement Variables. *Journal of Dairy Science* **89**, 4267–4275.
- Song, X., Leroy, T., Vranken, E., Maertens, W.; Sonck, B., Berckmans, D. 2008. Automatic detection of lameness in dairy cattle – Vision-based trackway analysis in cow's locomotion. *Computers and electronics in agriculture* **64**, 39-44.
- Sprecher, D.J., Hostelter D.E., Kaneene, J.B. 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* **47**, 1179-1187.

# VÄÄRARENDID VEISTEL

Esta Nahkur<sup>1</sup>, Mihkel Jalakas<sup>2</sup>, Eha Järv<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, morfoloogia osakond

<sup>2</sup> EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, sigimisbioloogia osakond

## Sissejuhatus

Väärarendeid esineb veistel harva – 0,25-3% sünnitustest (humaanmeditsiinis 3-5%). Anomaaliast tingitult võib loode surra, põhjustada aborti, pikenenud tiinust ja rasket sünnitust. Rasket sünnitust, 0,5% sünnituste arvust, põhjustab see juhtudel, kui loote väliskuju on muutunud ja ei vasta emalooma sünnitus- teede.

Enamus defektidest on seotud jäsemetega, selgrooga, sagedamini on leitud ka nabasongasid ning soolestiku osade puudumist. Üsna tihti kaasneb nendega allantokoorioni turse (58%-l anomaaliatega tiinustest).

Väärarendite nimetuste ja kirjelduste osas on erinevaid seisukohti, kuid valdavalt jagatakse nad üksik- ja kaksikväärarenditeks; viimased võivad olla nii ühe- kui kahemunakaksikud. Kaksikväärarendid võib lisaks jaotada lahk- ja liitkaksikuteks, kes on vastavalt kas teineteisest eraldi või omavahel liitunud. Mõlemad kaksikute rühmad võivad omakorda olla sümmeetrilised, st võrdselt arenenud või asümmeetrilised – üks on vähearenenud. Enamasti on neil ühine allantokoorion. Liitkaksik-väärarendi korral on tema suurte mõõtmete tõttu sünnitus alati raske.

Üksikväärarenditest sünnib veistel kõige enam avatud kõhuõõnega looteid (*schistosoma*), mis põhjustavad samuti tavaliselt tüsistustega sünnitust. Asümmeetriliste lahkaksikute (0,003% tiinustest) puhul kaasneb normaalse lootega sagedamini puudusüdalaste (*Acardius*) e täispuudusüdalaste (*Holoacardius*) e lootemoolide hulka kuuluv keravärdjas – *amorphus globosus*. Nad arenevad ka kloonitud looteid kandvatel lehmadel, kusjuures normaalne isend võib olla väiksema kehakaaluga.

Keravärdjas on tavaliselt elujõulise loote platsentaga nabaväädi abil seotud ja võib jääda märkamatuks. Ta on ümbritsetud õhukese amnionilaadse kilega, kaetud hästiarenenud pigmenteerunud naha ja tõule omase karvastikuga ning tuvastamatu kehavormiga. Keravärdjas on struktuuritu, koosnedes peamiselt side- ja rasvkoest, teistel täispuudusüdalastel esineb ka kõhr- ja luukoest alasid. Keravärdjal pole mingit märki siseelunditest ega kesknärvisüsteemist, kuid mõnel *holoacardius* 'el on näha puudulikult arenenud elundite osasid. Värddjad väljutatakse enamasti koos päramistega pärast normaalset loodet ning tavaliselt ei põhjusta nad tüsistusi kuna on väikese massi ja diameetriga (30-4000g; läbimõõt 10-30 cm).

Nende tekkepõhjuseks võivad olla embrüonaalse arengu häired: nt ebaõnnestunud südame formeerumine mesodermi puuduvate elementide tõttu, nabaväädi veresoonte anastomoos või vere häirunud tagasivool platsentast. Et pole arenenud kesknärvisüsteemi ega südame algeid, oletatakse, et kahjustus tekib juba esimesel tiinuskul.

Jäsemetel esinevatest anomaaliatest on veistel sagedasem *Arthrogryposis multiplex congenita* – kaasasündinud kõverjalgsus e lihaste kontraktuur ja liigesejäikus e artrogrüpoos (moodustab 65% jäsemete väärarengutest). Selle all mõistetakse vastsündinul ühe või mitme liigese fibroosset jäikust, millega kaasneb tihti ankülooset liigest liigutavate lihaste ning neid lihaseid innerveerivate närvide puudulik areng.

Haigus võib olla tingitud ajuripatsi aplaasiast või hüpoplaasiast, medikamentidest, mürgistest söödataimedest (nt lupiini söötmine tiinuse 40.-70. päeval), viirusnakkusest (nt Akabane haigus), loote ebanormaalsest kasvust või neuromuskulaarsetest haigustest, mis takistavad loote normaalset liigutamist emakas. Arvatakse, et mida varem algab ja pikemat aega liigutamise piirangud kestavad, seda enam kontraktuure on loote jäsemetel sünnimomendiks. Seejuures võivad liigesed ise olla normaalselt arenenud, kuid tihti on probleemiks täiendava sidekoe moodustumine liigeste ümber. Kasutamata tõttu võtavad liigesepinnad lamedama kuju. Kui kõigil jäsemetel esinevad sarnased sümmeetrilised kontraktuurid, võib haigus mõningate uurijate arvates olla pärilik. On veisetõuge, nt anguse ja šarolee lihavedid, kellel on artrogrüpoos geneetilise haigusena ka diagnoositud. Sel juhul on juba emaloomal tiinuse hilisemas järgus hüdramnioni tõttu kõhupiirkond ebanormaalselt suurenenud.

Kõverjäikjalgsusega võib kaasnedä suulaelõhe, lihaste düspläasia, kõverkaelsus, vääändunud selgroog, selgrookanali puudulik sulgumine, tagakeha halvatus, rooja- ja uriinipidamatus ning emaloomal pikenenud tiinus. Tugevalt muundunud looted sünnivad juba surnutena ning väiksema lihasmassi tõttu tunduvad kergematena. Esineda võib taolist vääarendit samuti lammastel, kitsedel, hobustel, kiskjatel ja sigadel; jäsemete kontraktuure esineb sagedasti ka kloonitud vasikatel.

### Uurimismaterjal ja meetodid

Materjaliks oli koos normaalsete ja õigeaegsete loodetega sünninud 7 keravärdjat ja 2 täispuudusüdalast ning EP tõugu kahepäevane vääarendenud lehmvasikas. Nendest tehti fotod, seejärel röntgenografeeriti ning prepareeriti. Vaagna ja ristluu täiendavaks puhastamiseks pehmetest kudetest kasutati keemilist matsratsiooni.

### Tulemused

Kõige suurem keravärdjas (kaal 3,6 kg, diameeter 31 cm) oli ovaalne, kaetud naha ja karvadega. Välispinnal leidis mitu karvadeta madalat auku, mida ei saanud seostada ühegi loomuliku kehaavaga. Sisemuses oli ühtlane side- ja rasvkoest mass. Nabaväädi kaudu ühines keravärdjas teise loote lootekestadega (joonis 1, vasakul).

Kaks täispuudusüdalast, keskmise kaaluga 3,8 kg ja pikima diameetriga 36 cm, koosnesid osaliselt pigmenteerunud karvade ja paksu nahaga kaetud ovaalsemast osast ning sellega seotud ilmselt kõhukelmega ümbritsetud siseelundeid meenutavast kogumist. Karvadega kaetud alal võis eristada mokaade, ninapeegli, suuõõne, lõikehammaste, keele ja neelu osi. Viimane lõppes umbselt veresooni sisaldavasse pehmesse massi. „Näo“ piirkonnas sidekoes oli fragmente koljuluudest. Siseelunditest oli äratuntav osa ülenevast käärsuolest ning eesmaost (joonis 2 ja 3).

Kaas sünninud tagajäsemete kõverjäikjalgsusega (*Arthrogryposis membrorum pelvinorum congenita*) vasikal (sünnikaal 38 kg) olid mõlemad tagajäsemed

kannaliigesest kere küljele vääändunud, jalad pöördusid dorsaalses suunas ning olid sirutatud varbaliigestega. Eesjäsemed olid normaalse painde ja asetusega. Jäsemete pikkuses ja proportsioonides kõrvalekaldeid ei esinenud (joonis 4).

Ristluupiirkonnas esines vasikal avatud lüüisambalõhestumus (*Spina bifida aperta s. dysraphismus*) – piklik nahatu ja leemendav kõrgend kinnikasvama selgrookanali ja seljaajunärvide harudega. Ristluu oli viltuse asetusega ja tema lülide ning viimase nimmelüli lülikaared polnud selgmiselt liitunud. Esimeste sabalülide kohal selgrookanal taastus ning närvikiud sisenesid kanalisse (joonis 5). Vaagna luude konfiguratsioon oli võrreldes normaalse vasika vastava piirkonnaga asümmeetriline ning puusanapad deformeerunud ja lamenenud.

Keravärdjaid ja teisi täispuudusüdalasi esineb harva ka kitsel, lambal ja hobusel. Mära puhul tuleb keravärdjat eristada loote lubjastunud rebupõiest. Viimane on ümar, õhukeseseinaline mulgustunud kõhreline kera 5-7 cm läbimõõduga ning limaskestast ja želatiinitaolise massiga kaetud (joonis 6).

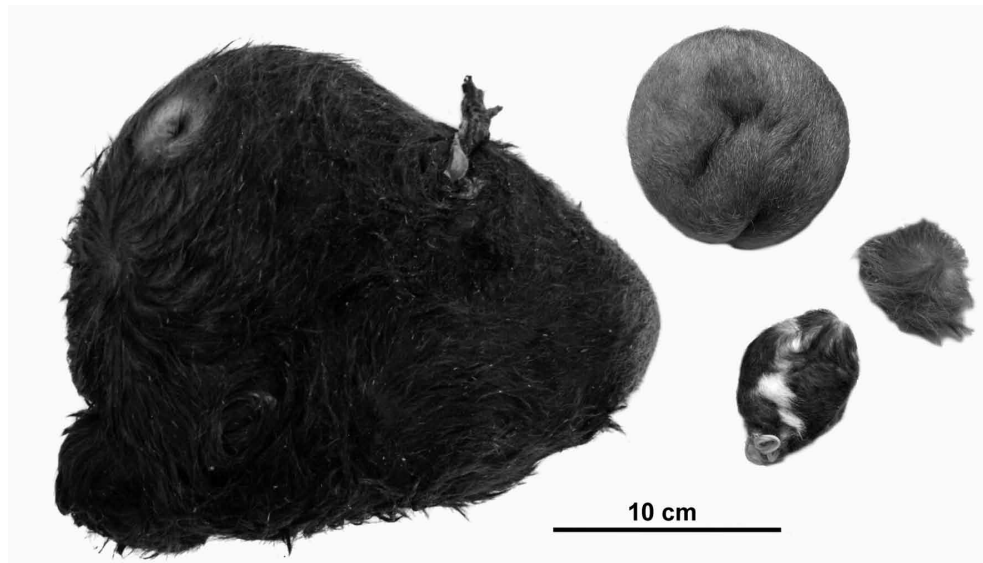
### Kokkuvõtteks

Kaas sünninud anomaaliat tekkepõhjused on seotud nii pärikkuse kui ka keskkonnaga, kus loode areneb – kui nende haavatavuse piir ületatakse ning loote kompensatoorsed mehhanismid ei tule enam toime, kujunebki defektiga isend. Seetõttu on põhjuste ja patogeneesini jõudmine mõnikord väga raske ning nõuab mitme spetsialisti koostööd. Nt humaanmeditsiinis jäävad ligikaudu 65%-l vääarendite juhtudest nende tekkepõhjused selgusetuks. Neile tuleks siiski tähelepanu pöörata, alustades vääarendi kirjeldamisest ja seejärel uurida emalooma, karja episotoloogilist olukorda, söötasid jne kuni vajadusel molekulaarse tasemeni ja loomudelite kasutamiseni.

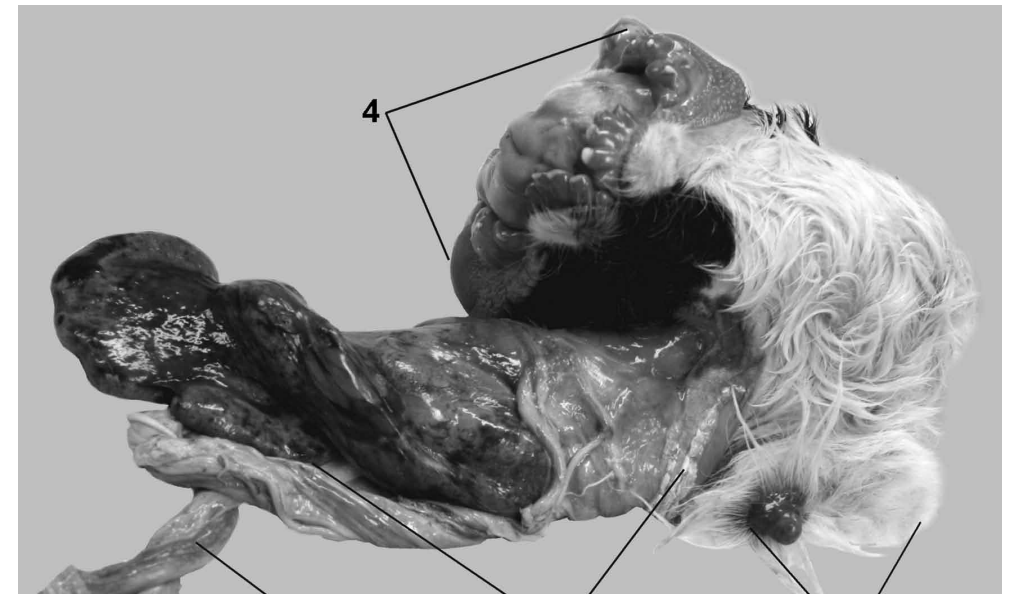
*Holoacardius* 'te avastamisel peaks jälgima ka normaalselt arenenud vasikat. Kui viimane on lehmik, kuid vääarendi sugu pole määratav või on see isane, tuleks lehmikule teha toruproov, et välistada friimartini üleskasvatamist. Ka kaksikust pullikul võib esineda kromosoomide kimäärsust ning neid ei jäeta seetõttu suguloomadeks. Vääarendiga ühiste lootekestadega korral võib

normaalsena näiv loode sündida surnuna või surra vahetult pärast sündi (surevus keskmiselt 50%).

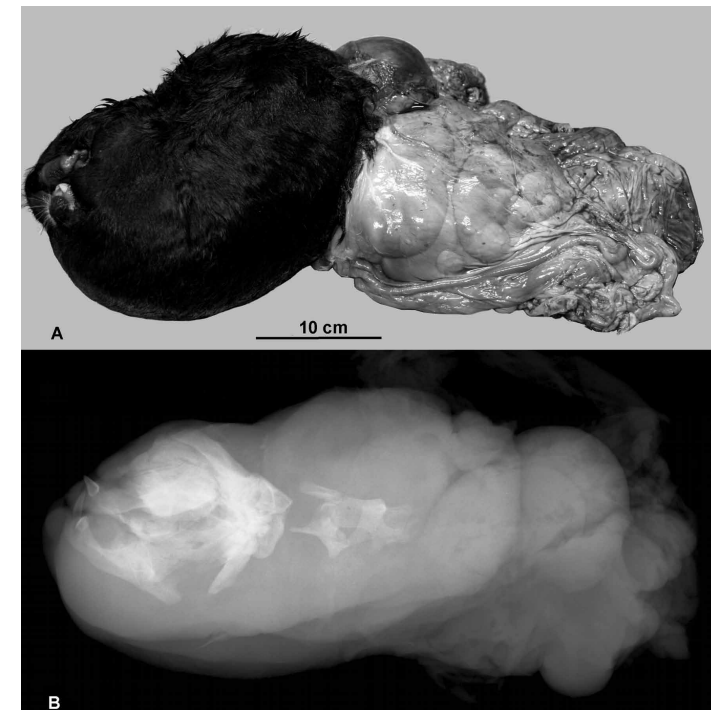
Kaasasündinud anomaaliaid esineb harva ning nende kliiniline pilt on väga varieeruv. Kuid sarnaste juhtumite korduv ilmumine võib anda märku negatiivses suunas muutunud keskkonnatingimustest, ebakvaliteetsetest sööta-dest, ainevahetushäiretest, nakkushaigustest või pärilikest muutustest.



Joonis 1. Keravärdjad.



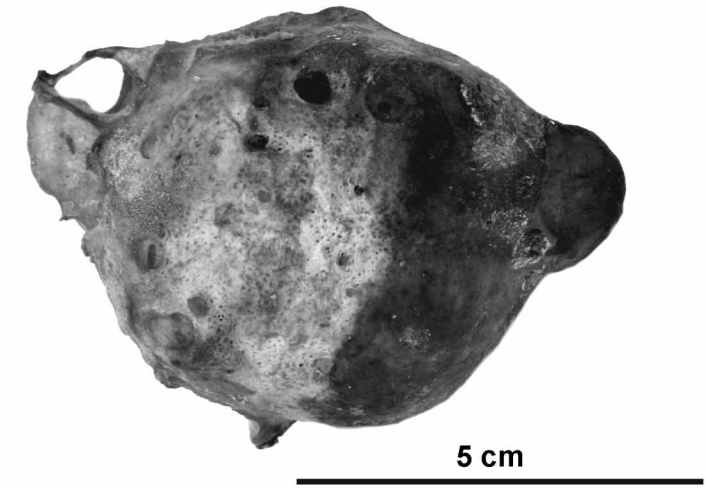
Joonis 2. Täispuudusüdalane: 1 – nabaväät, 2 – siseelundeid meenutav kogum, 3 – puudulikult arenenud peenis ja munandikott, 4 – väärarenenud lõualuud.



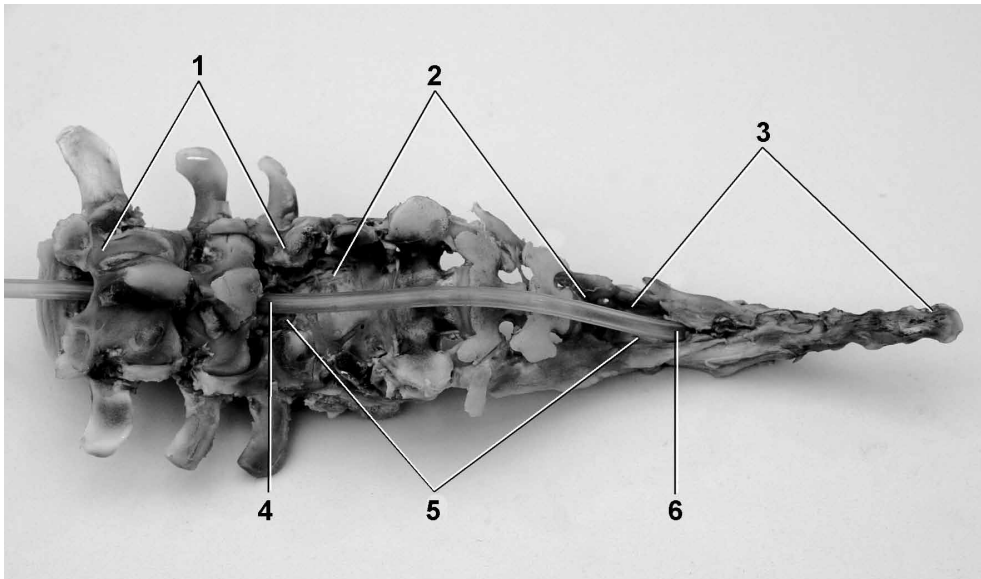
Joonis 3. Täispuudusüdalane (A, B). Röntgenogrammil (B) on eristatavad üksikud puudulikult arenenud luud.



**Joonis 4.** Kaasasündinud kõverjäikjalgsus vasikal.



**Joonis 6.** Mära loote lubjastunud rebupõis.



**Joonis 5.** Avatud lülisambalõhestumus vasikal: 1 – 4...6. nimmelüli, 2 – ristluulüli, 3 – sabalüli, 4 – dorsaalselt avatud selgrookanal, 5 – liitumata lülikaartega nimmelüli ja ristluulüli, 6 – seljaaju (asendatud voolikuga) siseneb uuesti selgrookanalisse.



# RAKULISE STRUKTUURI MUUTUSED KARPKALADE (*CYRINIUS CARPIO L*) EPIDERMAALSE HÜPERPLAASIA TERVENEMISEL

Priit Päck<sup>1</sup>, Piret Hussar<sup>2</sup>, Tõnu Järveots<sup>1</sup>, Tiit Paaver<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

<sup>2</sup>TÜ arstiteaduskond, anatoomia instituut

Paljudel kalaliikidel paiknevad epidermise ogakihis suured, ühe või kahetuumalised eosinofiilsed nuirakud, millede mõõtmed ulatuvad 40 µm. Ajalooliselt on neid rakke kutsutud „*Schreckstoffzellen*“ e alarmrakkudeks. Uuringute põhjal on kirjeldatud, et need rakud aktiveeruvad pärast epidermise kahjustusi, on fagotsütoosivõimelised kuid ei oma kontakti

väliskeskkonnaga nagu see on limarakkudel. Arusaamine nende rakkude funktsioonist on aja jooksul muutunud, mis algas ca 70 aastat tagasi alarm-, lõppedes täna immuunfunktsiooniga. Nuirakkude funktsioone pole tänaseni siiski täpselt kirjeldatud. Viimased uuringud näitavad, et nuirakkudel võib olla teatud roll epidermise struktuuri ennistumisel ja tervenemisel pärast vigastusi ning nad omavad teatud mõju sellesse tunginud välisparasiitidesse.

Valkjasroosasid sügisesi kasveid karpkalade kehapinnal ja uimedel on kirjeldatud alates 16. saj. kui karpkalade rõugeid „*Karpfenpocke*“ (ik *carp pox*, *candle wax disease*), hiljem naha papillomatoosina (ik *epithelioma papillosum*, *epizootic cutaneous papillomatosis*). See ajalooliselt kõige esimesena kirjeldatud kalade haigus (*Historiae Animalium Liber III*, Zurich: Tiguri. 1558) on tänapäeval probleemiks peamiselt dekoratiivkalakasvatuses, sporaadiliselt ka karpkalakasvatuses, sest patoloogia sümptomid vahendavad oluliselt just kalade kaubanduslikku välimust. Haiguse tekitajaks peetakse CyHV-1 (*Cyprinide herpesvirus 1*).

Põhjapiirkondades ilmuvad haigusnähud 2-3 mm diameetriga nähtavate ja palpeeritavate kõrgenditena sügisel (veetemperatuuri langedes alla 14 °C), mis ekstreemsetel juhtudel võivad laotuda ja katta kogu kehapinna. Kevadel kui veetemperatuur tõuseb, kasved kaovad ja epidermis arvatavasti terveneb. Käesoleva töö eesmärk oli uurida rakulise struktuuri muutusi kasvaja taandumisel soojas vees, selgitamaks varem mittekirjeldatud epidermise funktsionaalse struktuuri ennistumise mehhanisme. Karpkalade rõugeid pole enne käesolevat uuringut Eestis kasvatavatel karpkaladel diagnoositud.

Valkjasroosad palpeeritavad kõrgendid ja laotunud vohandid tiigis peetud koi karpkalade kehal ning sabauimedel ilmnesid septembris, kui veetemperatuur pärast väga kuumat augustit järsult langes (Joonis 1, postril). Veetemperatuuril 10 °C võetud koetükid näitasid epidermaalset hüperplaasiat (papillomatoos, karpkalade rõuged). Kuna selle haiguse taandumise käigus toimuvad rakulise struktuuri muutusi tabandunud koes ja soojas vees pole varem kirjeldatud, püüti haigustunnustega kalad kinni ja paigutati pärast aklimatiseerimist sisebasseinidesse. Kogu katse ajal vett filtreeriti, aereeriti ja kalu söödeti karpkalade kommertssöödaga *ad libitum*. Pärast veetemperatuuri tõstmist võetud proovides nähti 62. päeval ulatuslikku nuirakkude proliferatsiooni (Joonis 4, postril) ja 78. päeval pärast kasve pindmise kihi irdumist ennistunud (funktsioneerivat) epidermist (Joonis 6, postril).

Katse tulemus näitab, et nuirakud täidavad olulist rolli epidermise tervenemisel ja seda, et nuirakud asendavad ogakihis välispinnal avanenud limarikke. Selgelt on nähtav ka nuirakkude, varem mittekirjeldatud avanemine keha välispinnale.

# ÜLEVAADE SIGADE HEAOLU HINDAMISMETOODIKATEST

Kristi Kerner

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakond

Loomade heaolu mõiste võeti kasutusele selleks, et rõhutada inimese eetilisi kohustusi loomade ees ning muuta loomakasvatust ökonoomsemaks. Mahatma Gandhi on öelnud: „Rahvuse suuruse ja moraalse progressi üle saab otsustada selle järgi, kuidas see käitub loomadega.“

Loomade heaolu on üldine omadus toidu kvaliteedi kontseptsioonis ning tarbijad eeldavad, et loomne toit on toodetud austusega loomade vastu. Hiljutised Euroopa Komitee poolt läbi viidud uuring ning Loomade Heaolu projekt kinnitavad, et loomade heaolu on Euroopa tarbijate jaoks märgatava tähtsusega, kuna tarbijatele on oluline, et kasutatavad tooted pärinevad tervetelt, heades pidamistingimustes peetud loomadelt. Viimaste aastatega on suurenenud huvi farmiloomade heaolu vastu, toimunud suundumine loomasõbralikematele pidamissüsteemidele (vabapidamissüsteemid, piimalehmade sügavallapanuga laudad, tiinete emiste grupis pidamine jne). Loomasõbralikes pidamissüsteemides toodetud liha ja teised loomsed tooted on vastavalt märgistatud ja müüakse kallimalt võrreldes traditsiooniliste toodetega. Selleks, et tagada tarbijate ja valitsuse usaldus, on vajalik teatud heaolutaseme kontroll.

Heaolu on seisund, milles kajastuvad organismi püüdlused kohaneda ümbritseva keskkonnaga, st säilitada homöostaasi ehk organismi sisekeskkonna stabiilsust (Broom, 1986). Kui organism on homöostaasi säilitamiseks liialt koormatud, kaasneb stress, mis vähendab looma heaolutaset. Heaolu on laiema tähendusega kui tervis, kuna see hõlmab ka looma bioloogilisi- ja käitumisvajadusi ning nende rakendamise võimalusi, mis omakorda tagavad harmoonia organismi ja keskkonna vahel.

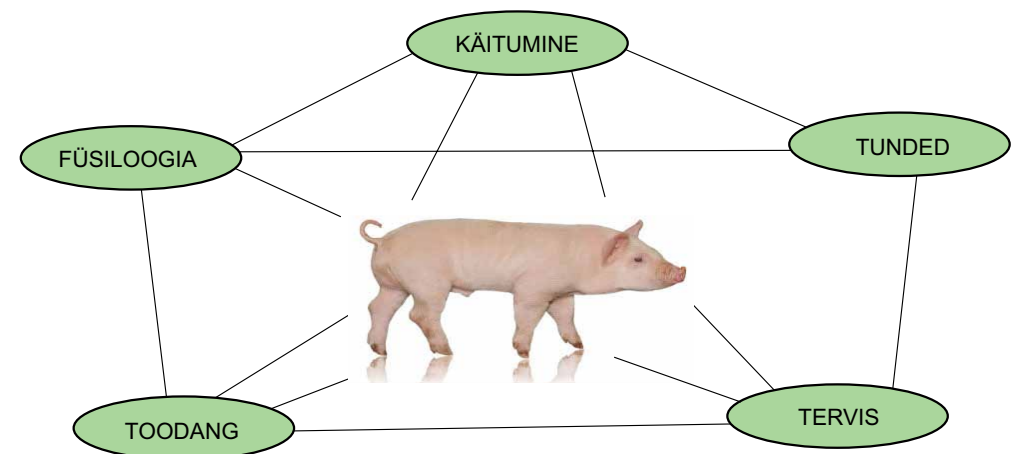
Üldist tunnustamist on leidnud Farmiloomade Heaolu Nõukogu (FAWC) poolt defineeritud nn viis vabadust, mida tuleb loomapidamisel järgida (*Farm Animal Welfare Council, 1979*).

Need on:

- Vabadus mitte taluda nälga, janu, alatoitumist;
- Vabadus ebamugavustundest;
- Vabadus valust, vigastusest ja haigusest;
- Vabadus mitte tunda hirmu, ängi, vaimset kurnatust;
- Vabadus loomupäraselt käituda.

Küllaldasel tasemel oleva heaolu tunnusteks on looma rahuldav kasv, paljunemine, normaalsed füsioloogilised protsessid, käitumishäirete puudumine, pikaelasticus, bioloogiline kohasus.

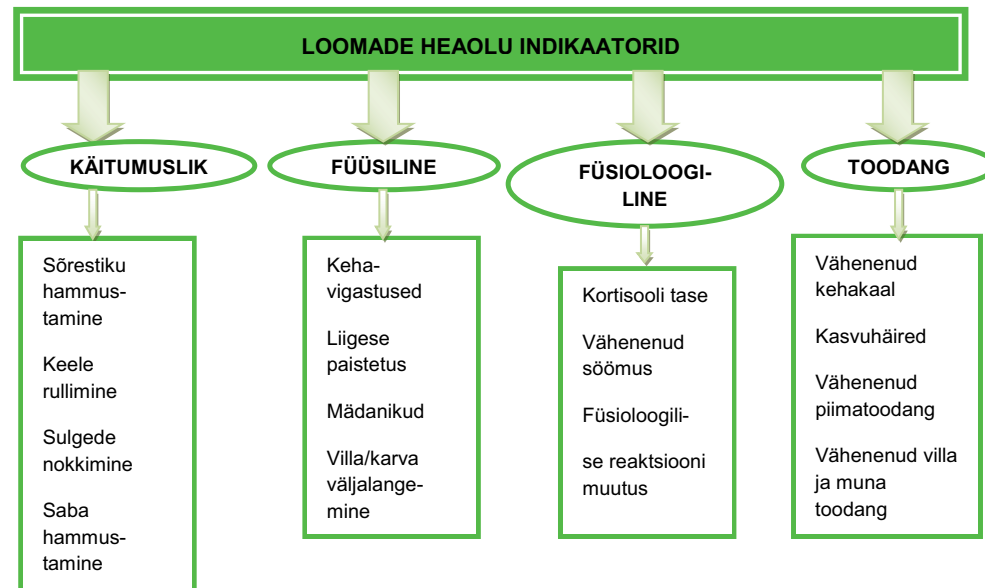
Joonis 1 näitab üldist loomade heaolu kontseptsiooni, hõlmates normaalse füsioloogia ja käitumise kohandumisi, mille lõpptulemuseks on hea tervis, mis omakorda suurendab tootlikkust.



Joonis 1. Loomade heaolu üldine kontseptsioon (Sejian *et al.*, 2010)

Heaolutaset on võimalik välja selgitada üsnagi täpselt, kasutades erinevaid uuringuid, mis hõlmavad endas organismi kasvu, arengu, haiguste ja vigastuste kindlakstegemist, käitumishälvete registreerimist.

Loomade heaolualased teaduslikud uuringud on kiirelt arenenud viimase 15 aastaga. Kontseptsioone ning meetodite valikut on täiustatud. Mõningad loomade heaolu mõõtmised hõlmavad halvenenud tervisenäitajate hindamist (vigastused, haigused ja alatoitumus). Teised mõõtmised annavad teavet loomade vajaduste ja afektiivse seisundi kohta nagu nälg, valu ja hirm, mõõtes loomade eelistusi, motivatsioone ja vastumeelsust. Kolmandad hindavad jälle füsioloogilisi, käitumuslikke ja immunoloogilisi muutusi või mõju, mida loomad välja näitavad vastuseks erinevatele väljakutsetele (Sejian, 2007b; Sejian *et al.*, 2010 a,b). Sellised mõõtmised viivad kriteeriumite ja indkaatoriteni, mis aitavad hinnata, kuidas erinevad loomade pidamismeetodid mõjutavad nende heaolu. Joonis 2 kirjeldab erinevat tüüpi loomi iseloomustavaid heaolu indikaatoreid.



**Joonis 2.** Erinevad farmides peetavate loomade heaolu indikaatorid (Sejian, 2007a; Sejian *et al.*, 2008, 2010 a,b)

Üha enam suureneb arusaam, et heaolu peaks määrama looma tasemel, kuna pidamistingimused ja toodangunäitajad on vaid kaudsed indikaatorid. Võtmeelementideks on füsioloogia, käitumine ja haigestumised (Bristol Welfare Assurance Program, Welfare Quality).

2004. a käivitati Euroopa Liidus loomade heaolu kvaliteedi projekt (*The Welfare Quality® project*), mille eesmärkideks seati:

- välja töötada praktilised strateegiad ja meetmed loomade heaolu parandamiseks;
- luua loomade heaolu hindamise Euroopa standard,
- luua Euroopa loomade heaolualase informatsiooni standard mille alusel saaks määratleda farme ja tapamajasid heaolu kategooriatesse.

Kuna loomade heaolu hinnang on seotud eetiliste otsustega, kaasati metoodika väljatöötamise eksperdid, loomateadlased, sotsiaalteadlased ja huvi-grupid ning hindamismetoodikat kohandati vastavalt nende arvamustele. Praeguseks on välja töötatud protokollid piimalehmade, lihavesi- ja vasikate, emiste, nuumsigade, munakanade ja broilerite heaolu hindamiseks.

Heaolu on iseloomulik individuaalsele loomale, seega on *Welfare Quality* võtnud aluseks heaolu hindamisel loomapõhised näitajad (tervis, käitumine). Kui loomapõhiste näitajate kasutamine ei ole võimalik ega piisavalt usutav, kasutatakse allika- ja pidamis- ja aretusstrateegiaid) kontrollimaks, et antud heaolu kriteerium on täidetud.

Heaolu kvaliteedi hindamissüsteem baseerub neljal loomade heaolu tagamise printsiibil: hea pidamine, hea söötmine, hea tervis ja loomupärane käitumine (farmis, transpordil ja tapamajas).

Hindamisel määratakse kindlaks neli peamist heaolu printsiipi, need liigendatakse kaheteistkümneks iseseisvaks heaolu kriteeriumiks (vt tabel 1). Lõpuks valitakse meetmed, kuidas neid kriteeriume hinnata. Üldiselt on valitud printsiibid ja kriteeriumid asjakohased heaolu hindamiseks erinevatele loomaliikidele kogu eluea jooksul.

Farmides kogutud andmeid kasutatakse 12-le heaolu kriteeriumile vastavuse kontrollimiseks. Kriteeriumi tasandil saadud tulemusi kõrvutatakse võrdle-

valt hindamaks farmide vastavust neljale heaolu printsiibile. Lõpuks kasutatakse printsiipide tulemusi üldise heaoluhinde andmiseks. Farmi vastavust iga heaolu kriteeriumi suhtes kontrollitakse ühe või mitme mõõtmisega.

**Tabel 1.** Heaolu hindamisprintsiibid ja -kriteeriumid (Assessment..., 2009)

PRINTSIIBID	KRITEERIUMID
1. Hea söötmine	1. Loomad ei tohi kannatada pikaajalist nälga. Neil peab olema piisav ja kohane sööt. 2. Loomad ei tohi kannatada pikaajalist janu, s.o. vesi peab olema kättesaadav piisavas koguses.
2. Hea pidamine	3. Loomade puhkamine peab olema mugav. 4. Loomadele tuleb tagada termokomfort, s.o. neil ei tohi olla ei liiga külma ega palav. 5. Loomadel peab olema piisavalt ruumi vabalt liikuda.
3. Hea tervis	6. Loomadel tuleb vältida füüsilisi vigastusi. 7. Loomad peavad olema vabad haigustest, selleks peavad loomapidajad tagama kohase hügieeni ja hoolduse. 8. Loomad ei tohi kannatada valu, mida põhjustavad mittekohane pidamine, kohtlemine, tapmine või kirurgiline protseduur.
4. Loomupärane (liigispetsiifiline) käitumine	9. Loomadel peab olema võimalus normaalseks sotsiaalseks käitumiseks. 10. Loomadel peab olema võimalik käituda liigispetsiifiliselt. 11. Loomi peab kohtlema hästi kõigis olukordades. 12. Vältida tuleb negatiivseid emotsioone nagu hirm, äng, vaimne kurnatus ja apaatia.

Sigade heaolu hindamise protokoll on keskendunud tootmise „võtmeloomadele” – emised, põrsad ja nuumsead. Vaadeldakse kolme põhilist perioodi: reproduktsiooni ja nuumaperiood (emised ja tapaküpsed sead) ning sigade tapaeelne käitlemine. Hindamisprotokoll on rakendatav nii ekstensiivse kui intensiivse pidamise puhul.

Emiste ja põrsaste heaolu hindamiseks kasutatakse järgmisi näitajaid:

**Hea söötmine:** kehakonditsioon; võõrutusvanus; veega varustatus.

**Hea pidamine:** bursiidid (liigeste paunapõletik), sõnniku puudumine kehal, hingeldamine, piisav liikumisruum, poegimissulud.

**Hea tervis:** lonkamine, haavad kehal, häbeme kahjustused, surevus, köhimine, aevastamine, päraku väljalangemine, kõhulahtisus, kõhukinnisus, metriit (emaka bakteriaalne infektsioon), mastiit (udarapõletik), emaka väljalangemine, naha seisund, rebendid ja songad, lokaalsed infektsioonid, neuroloogilised haigused, tagajalgade osaline halvatus, nina rõngastamine ja kärpimine, kastreerimine, hammaste eemaldamine.

**Loomupärane käitumine:** sotsiaalne käitumine, stereotüübid, uuriv käitumine, hirm inimeste ees, kvalitatiivne käitumise hindamine.

Nuumsigade heaolu hindamiseks kogutakse farmis järgmised näitajad:

**Hea söötmine:** kehakonditsioon, veega varustatus.

**Hea pidamine:** bursiidid, sõnniku puudumine kehal, värisemine, hingeldamine, piisavalt ruumi liikumiseks.

**Hea tervis:** lonkamine, haavad kehal, saba närimine, surevus, köhimine, aevastamine, raskendatud hingamine, kõverdunud kärss (atroofilise reniidi üks tunnus), päraku väljalangemine, kõhulahtisus, naha seisund, rebendid ja songad, kastreerimine, saba kärpimine.

**Loomupärane käitumine:** sotsiaalne käitumine, uuriv käitumine, hirm inimeste ees, kvalitatiivne käitumise hindamine.

Tulemuste töötlemiseks on välja töötatud spetsiaalne tarkvara. Iga kriteeriumi kohta saadud andmed muudetakse heaolu väärtuse tulemuseks skaalal 0-100, kus tulemus 0 vastab halvimalle olukorrale, 100 ideaalsele ja 50 – ei hea ega halb.

Viimastel aastatel on kasvanud inimeste mure loomade heaolu pärast. Selle tulemusena peab paranema ka põllumajandustootjate suhtumine loomadesse, kuna inimtegevus läbi seadusandluse, avalikkuse teavitamise ja spetsialistide koolitamisega saab parandada loomade heaolutingimusi. Sobivates pidamistingimustes hästi koheldud loomad annavad ka rohkem ja paremat toodangut.

Tervis ja heaolutase sõltub sigade regulaarsest kontrollist. Loomapidajad peaksid loomi pidevalt vaatlema, et leida märke haigestunud sigadest ning tagama viis vabadust kindlustamiseks neile stressivaba keskkond. Kõige selle tulemuseks on loomade heaolu paranemine ning inimeste teadlikkuse kasv.

### Kasutatud kirjandus:

**Welfare quality. Assessment protocol for pigs**, 2009, lk 21-27

**Botreau, R., Veissier, I., & Perny, P.**, 2009. Overall assessment of animal welfare: strategy adopted in Welfare Quality. *Animal Welfare*, 18, 363-370

**Seijan, V., Lakritz, J., Ezeji, T., & Lai, R.**, 2001. Assessment Methods and Indicators of Animal Welfare. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6, 301-315

## LÜPSIJÄRJEKORRA AUTOMAATNE JÄLGIMINE SUURES VABAPIDAMISLAUDAS

Annemari Polikarpus, Tanel Kaart, Eugen Kokin, Imbi Veermäe, Väino Poikalainen

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

### Sissejuhatus

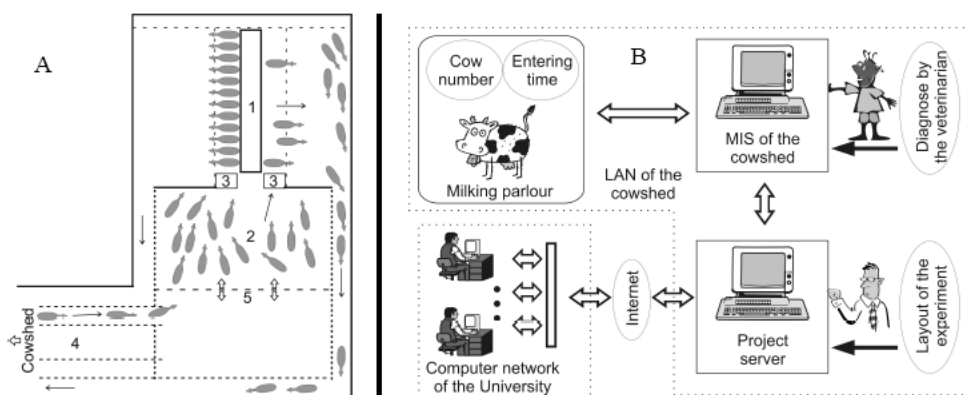
Eestis ja kogu Euroopas farmide arv väheneb [1] samal ajal kui lehmade arv karjas suureneb, seetõttu terviseprobleemide avastamine lehmadel muutub raskemaks. Suurfarmides saavutatakse kulude kokkuhoid tihti loomade heaolu arvelt, kuid see võib omakorda vähendada looma produktiivsust [5]. Loomade täppispidamine on juba üsna laialt levinud ka piimatootmisfarmides. See võimaldab teiste lahenduste kõrval arendada ka loomade automaatseid jälgimissüsteeme, mis aitaksid kaasa loomade tervise ja heaolu tagamisele [7].

On täheldatud, et lehmade lüpsiplatsile sisenemise järjekord on üsnagi püsiv [3]. Selle teadmise põhjal võime oletada, et suuremad muutused lüpsijärjekorras (näiteks lehm on lüpsijärjekorras jäänud tunduvalt tahapoole) viitavad looma terviseprobleemidele [6] ja sellisel juhul võiks seda kasutada indikaatorina mis annab märku, et loom tuleks haigestumise võimalikkuse kontrollimiseks üle vaadata.

Antud uuringu eesmärgiks oli analüüsida vabapidamislaua lehmade lüpsijärjekorda, et kindlaks teha, kas automaatset jälgimissüsteemi on võimalik kasutada loomade terviseprobleemide väljaselgitamiseks.

## Materjalid ja meetodid

Uurimisbaasiks oli 700 lehmaga suurfarm, kus lüpsilehmad olid jagatud seitsmesse söötmissüsteemi, igas grupis 60-80 lehma. Lehmi lüpsiti kolm korda päevas DeLvali 2x12 tandem tüüpi lüpsiplatsil. Lüpsiplatsile jõudmiseks tuli lehmadel olenevalt grupi asetusest laudas läbida 50-300 meetrit. Enne lüpsi oli kogu grupp liikuva ajamisväravaga varustatud ootealal, mille suuruseks on 171,5 m<sup>2</sup> (joonis 1, A). Lehmade sisenemisel lüpsiplatsile toimus looma automaatne identifitseerimine, lehma number koos platsile sisenemise aja ja lüpsitud piima kogusega salvestati lüpsiplatsi infosüsteemi, kust see kanti üle lauda juhtimissüsteemi (Alpro). Lehmade tervisliku seisundi kohta sisestati andmed arvutisse loomaarsti poolt. Andmed lauda infosüsteemist kopeeriti projekti serverisse kust need olid interneti vahendusel kättesaadavad Eesti Maaülikooli arvutivõrgus edasiseks analüüsimiseks (joonis 1, B).



**Joonis 1.** A – lehmade liikumine lüpsiplatsil: 1 - lüpsiplats, 2 – ooteala, 3 – värav identifitseerimissüsteemiga, 4 – kõnnikoridor, 5 – ajamisvärav; B – andmevahetuse skeem.

Analüüsiti jaanuarist kuni juulini 2006 kogutud lüpsiplatsi andmeid, kokku 692 lehma 81550 lüpsi. Loomade haigestumisjuhud antud perioodil olid samuti registreeritud.

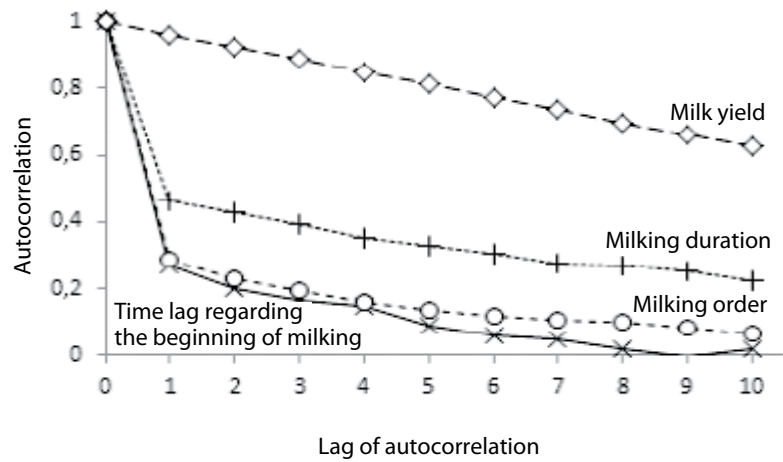
Automaatselt registreeritud lüpsilemineku kellaegade alusel määrati iga lehma iga lüpsi järjekorranumber ja ajanihe võrreldes oma grupi esimese

loomaga. Uurimaks lüpsijärjekorra ja lüpsile mineku aja stabiilsust järjestikustel päevadel, arvutati igale lehmale hommikuste, lõunaste ja õhtuste lüpside vastavate näitajate 1.- 10. järku autokorrelatsioonikordajad. Analoogselt töödeldi ka ööpäeva kolme lüpsi keskmisi andmeid. Sama päeva kolme lüpsi järjekorra stabiilsust uuriti Spearmani astakorrelatsioonanalüüsi abil, seejuures teostati korrelatsioonanalüüs nii üksikute päevade andmetele tuginedes kui ka igale lehmale tema kõigi vastavate lüpside arvutatud keskmiste alusel. Andmetöötlus viidi läbi tabelarvutussüsteemi MS Excel ja statistika-paketi SAS 9.1 abil.

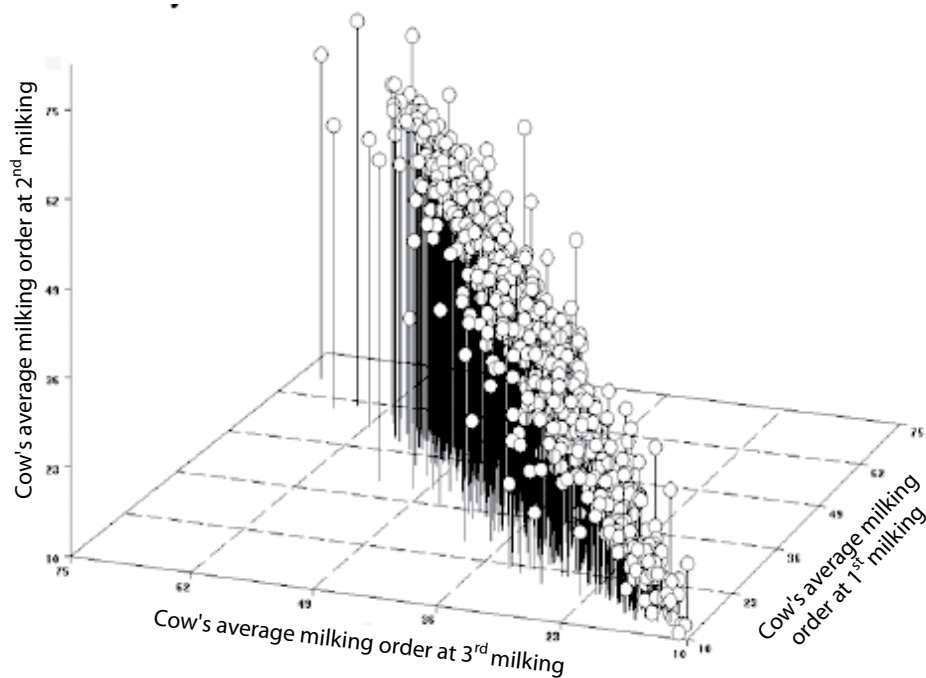
Lüpsile mineku järjekorra ja aja stabiilsus järjestikustel päevadel oli suhteliselt madal - keskmised hommikuse, lõunase ja õhtuse lüpsi esimest järku autokorrelatsioonikordajad olid lüpsijärjekorra puhul 0,14 - 0,16 ja lüpsiaja puhul 0,16 - 0,24. Ka sarnasus sama päeva hommikuste, lõunaste ja õhtuste lüpside vahel oli keskmise tugevusega, korrelatsioonid eri lüpsidel mõõdetud lüpsijärjekorranumbrite ja lüpsile mineku aegade vahel olid 0,45 - 0,82.

Märgatavalt stabiilsemad olid ööpäeva keskmised lüpsijärjestused ja lüpsile mineku ajad autokorrelatsioonikordajad vastavalt 0,29 ja 0,27. Võrreldes ööpäeva kolme lüpsi keskmise kestuse ja piimatoodanguga on lüpsile mineku aja ja järjekorra stabiilsus muidugi madal (joonis 2). Samas näitavad positiivsed autokorrelatsioonikordajate väärtused, et teatud välja kujunenud hierarhia lüpsile minekul siiski eksisteerib.

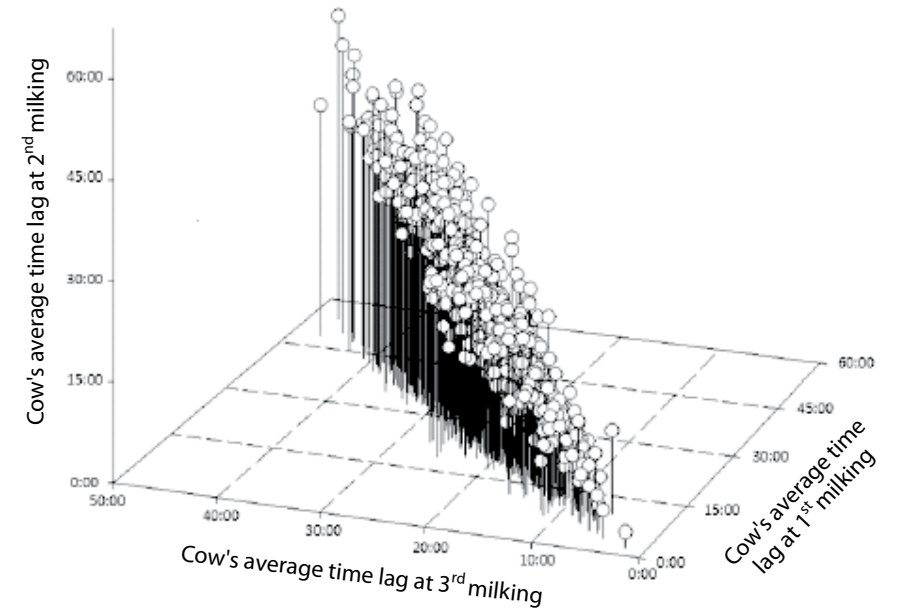
Vaadeldud perioodi kõigi hommikuste, lõunaste ja õhtuste lüpside keskmiste järjestuste ja ajanihete vahel ilmnis tugev positiivne korrelatsioon, erinevate lüpside vahelised korrelatsioonikordajad jäid vahemikku 0,86 - 0,97 (joonis 3). Esialgsed analüüsid näitasid ka, et lüpsijärjekorra seos looma vanuse ja piimatoodanguga puudub. Gruppi juurde toodud lehmad läksid esimestel päevadel lüpsma pisut eespool ning haiged lehmad pigem tagapool.



**Joonis 2.** Autokorrelatsiooni diagramm: ööpäeva kolme lüpsi keskmiste lüpsijärjestuste ja lüpsile mineku aegade korrelatsioonikordajad. Võrdluseks on toodud päevade keskmised lüpsi kestuse ja piima toodangu korrelatsioonikordajad.



**Joonis 3.** Lehmade keskmine lüpsijärjestus esimesel, teisel ja kolmandal lüpsil. Iga punkt märgib ühte lehma.



**Joonis 4.** Lehmade keskmine lüpsile mineku viivitus esimesel, teisel ja kolmandal lüpsil. Iga punkt märgib ühte lehma.

### Arutelu

Uurimusest selgub, et lehmad sisenevad lüpsiplatsile teatud järjekorras. Selline käitumine tuleneb piimakarja sotsiaalsest struktuurist [6, 3]. Reinhard [6] on leidnud, et lüpsijärjekord on positiivses korrelatsioonis lehmade sotsiaalse positsiooniga karjas. Rathore [5] uuringust selgus, et kõrgetoodangulised lehmad läksid lüpsile varem võrreldes madalatoodanguliste lehmadega, mis lubab oletada, et lehmale mõjub hüvena ka see, et lüpsi käigus vabaneb ta udaras olevast piimast, mis põhjustab ebamugavust. Grasso ja teised [3] leidsid oma uuringus, et väike (0,22) positiivne korrelatsioon esines esimese laktatsiooni lehmade lüpsijärjekorra ja piimatoodangu vahel. Meie analüüsides selgus, et lehmade lüpsijärjekord ei sõltu piimatoodangust ja looma vanusest. Lehmad kes lisati gruppi olid lüpsijärjekorras tagapool ilmselt sellepärast, et grupis kehtis vana sotsiaalne hierarhia. Mõne aja pärast kui uued lehmad on leidsid oma koha karjas, stabiliseerus ka uus järjekord [4]. Terviseprobleemidega lehmad jäävad lüpsiplatsil tahapoole ilmselt sellepärast, et nad võivad olla teistest aeglasemad ja kardavad, et võivad lüpsiajal haiget saada [2].

## Järeldused

Käesolevas uuringus leiti, et karjas eksisteerib pidev lüpsijärjekord. Üksikute lüpside lõikes oli lüpsijärjekord üsna varieeruv, kuid pikema ajavahemiku jooksul ilmnes gruppides stabiilne järjekord. Esialsed analüüsid näitasid, et terviseprobleemidega lehmad jäid lüpsijärjekorras tahapoole, mis lubab oletada, et lüpsijärjekorra automaatne jälgimine võib olla hea ja odav viis viitamaks võimalikele haigustele, mida oleks tänu sellele võimalik varajases staadiumis avastada kuid vastava süsteemi väljatöötamiseks on antud valdkonnas vaja teha rohkem uuringuid.

## Kokkuvõte

Uuringu eesmärgiks oli uurida lehmade lüpsijärjekorda suures vabapidamislaudas, kus on kasutusel lehmade automaatne identifitseerimissüsteem. Analüüsiiti 692 lehma lüpsijärjekorda kuue kuu jooksul. Tulemustest selgus, et lehmade lüpsile minekul eksisteerib üsna kindel lüpsijärjekord. Gruppi lisatud lehmad ja need lehmad, kellel esines terviseprobleeme, jäid lüpsijärjekorras tahapoole. Samas lehmade lüpsijärjekorra, vanuse ja piimatoodangu vahel seos puudus. Muutused lehmade lüpsijärjekorras võivad viidata terviseprobleemidele ning tänu sellele oleks võimalik haigusi varem avastada.

## Kasutatud kirjandus

ALAND, A. (2003): Health monitoring model for a herd of milking cows and its application for health evaluation and improvement (PhD Thesis). Estonian University of Life Sciences, 179p.

FLOWER, F.C.; SANDERSON, D.J.; WEARY D.M. (2006): Effects of milking on dairy cow gait. *J. Dairy Sci.* 89, 2084-2089.

GRASSO, F.; DE ROSA, G.; NAPOLITANO, F.; DI FRANZIA, A.; BORDI, A. (2007): Entrance order and side preference of dairy cows in the milking parlour. *Ital. J. Anim. Sci.* 6, 187-194.

LAMB, R.C. (1975): Relationship Between cow behaviour patterns and managementsystems to reduce stress. *J. Dairy Sci.* 59 (9), 1630-1636.

RATHORE, A.K. (1982): Order of cow entry at milking and its relationships with milkyield and consistency of the order. *Appl. Anim. Ethol.* 8, 45-52.

REINHARDT, V. (1973): Beitr age zur sozialen Rangordnung und Melkordnung bei Kuhen. *Z. Tierpsych.* 32, 281-292.

WATHES, C.M.; KRISTENSEN, H.H.; AERTS, J.-M.; BERKCMANS, D. (2008): Isprecision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall? *Computers and Electronics in Agriculture* 64, 2-10.



# POEGIMISJÄRGSETE EMAKAPÕLETIKE ERINEVATE RAVIMETOODIKATE KASUTAMISE UURINGUD LÜPSILEHMADDEL

Kalle Kask<sup>1</sup>, Julia Jeremejeva<sup>1</sup>, Toomas Orro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, teraapia osakond

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut,  
loomatervise- ja keskkonna osakond

## Sissejuhatus

Poegimisjärgsed emakapõletikud (metriit ja endometriit) on enimlevinud lehmade viljatuse põhjused, mille tulemiks on oluline majanduslikku kahju. Tänu emakapõletikele lükkub edasi emakainvolutsioon, pikeneb vahemik poegimisest esimese innani, suureneb seemendusindeks ja poegimisvahemik. Vastavalt kirjanduses toodud numbritele on metriidi kui ka endometriidi esinemissagedus vahemikus 10 – 35% erinevate maade lõikes. Eesti karjades on esinemise sagedus väga suurtes piirides kõikuv. Meil on karju kus esinemise sagedus on igati aktsepteeritav ( $\leq 20\%$ ), kuid on ka karju kus esinemissagedus on 100% kõigist poeginud lehmadest. On välja arvestatud et emakapõletike poolt tekitatud kogukahju võib olla isegi kuni 300 € ühe juhu kohta. Siia on kokku võetud nii ravikulud kui ka kulud, mis tulenevad mitteoptimaalsest taastinestamisest ja saamata jäänud toodangust.

Kuna poegimisjärgsete emakapõletike esinemine tundub olevat Eesti karjades küllalt sage, siis juhul kui ei õnnestu neid vältida, on vajalik rakendada ravimeetodeid, mis annaksid hea efektiivsuse väiksema kuluga. Lisaks on küllaltki palju karju kus poegimisjärgsete emakapõletike raviskeemid on kaootilised või puuduvad üldse. Kaootiline ravi teostamine ei anna reeglina head efekti ja pole seega majanduslikult otstarbekas.

Arvestades eelpooltoodud fakte algatati EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudis 2007 aastal uurimisprojekt, mis puudutab poegimisjärgsete emakapõletike ravivõimalusi ning nende ravimetoodikate võimalikke kontrollimehhanismide rakendamist. Projektile taotleti finantseerimist Eesti Vabariigi Põllumajandusministeeriumist (põllumajanduslike rakendusuuringute ja arendustegevuse programmi raames). Meie poolt esitatud projekt leidis heakskiidu ja finantseeringu aastatel 2007 – 2010.

## Uuringu eesmärgid:

1. Sobivate ja efektiivsete poegimisjärgsete emakapõletike raviskeemide väljatöötamine;
2. Nende skeemide hindamine kasutades kliinilisi, mikrobioloogilisi ja hormonaalseid uuringuid ning taastinestumise andmeid;
3. Akuutse faasi proteiinide rolli selgitamine sigimisfunktsioonis ja nende määramise kaudu ravi edukuse hindamine.

## Püstitatud hüpoteesid:

1. Erinevad emakapõletike ravimeetodid avaldavad erinevat mõju looma üldseisundile, bakterite elimineerimisele emakast ja munasarjafunktsiooni poegimisjärgsele taastumisele;
2. Akuutse faasi proteiinid (APP) aitavad emakapõletiku diagnoosida ja võimaldavad hinnata ravitulemuste efektiivsust.

## Uuringu raames teostatud katsed ja katsemetoodika:

1. Esimene katse viidi läbi lõaspidamisega laudas ja testiti raviefektiivsust põramiste peetuse tagajärjel tekkinud ägeda toksilise metriidi korral. Uuringusse võeti 21 lõpptiinet looma. Kõikidel loomadest indutseeriti poegimine 2 nädalat enne loodetavat poegimist prostaglandiinipreparaati kasutades. Selline metoodika annab tulemuseks põramiste peetuse 90% juhtudest. Meie poolses katses peetusid põramised kõigil 21 lehmal.

Lehmad jagati poegimisjärgselt juhusliku printsiibi järgi kolme katserühma:

A rühm (loomade arv 7) keda raviti antud laudas kasutusel oleva raviskeemi järgi (oktsütotsiini analoog carbetocin 3 päeva kestel poegimisest ja intrauteriinne cephapirini manustamine 15 – 17 poegimisjärgse päeva vahel).

B rühm (loomade arv 7) keda raviti järgmise skeemi järgi: alates 3 poegimisjärgsest päevast 5 järjestikusel päeval parenteraalne ceftiofur, millele lisandus kahekordne PGF2a manustamine 8 poegimisjärgsel päeval intervalliga 12 tundi.

C rühm (loomade arv 7) kontrollrühm kellel ravi ei teostatud

2. Teine katse viidi läbi vabapidamislaudas ja katsesse võeti 68 lõpstiinet lehma. Lehmad selekteeriti rühmadesse emakapõletiku esinemise järgi (äge toksiline metriit ja kliiniline metriit) ja vere fribrinogeeni tasemetele vältimaks liiga suurt varieeruvust rühmade vahel. Kokku moodustati 5 katserühma.

A rühm (loomade arv 15) kolmandal poegimisjärgsel päeval diagnoositud emakapõletikuga loomad keda raviti järgmise skeemi järgi: alates 3 poegimisjärgsest päevast 5 järjestikusel päeval parenteraalne ceftiofur, millele lisandus kolmel esimesel päeval koos antibiootikumiga ka NSAID'i (Flunixin) manustamine.

B rühm (loomade arv 15) kolmandal poegimisjärgsel päeval diagnoositud emakapõletikuga loomad keda raviti järgmist skeemi kasutades: alates 3 poegimisjärgsest päevast 5 järjestikusel päeval parenteraalne ceftiofur, millele lisandus kahekordne PGF2a manustamine 8 poegimisjärgsel päeval intervalliga 12 tundi.

C rühm (loomade arv 10) positiivne kontrollrühm, mis koosnes kolmandal poegimisjärgsel päeval diagnoositud emakapõletikuga loomadest kellel ravi ei teostatud.

D rühm (loomade arv 11) negatiivne kontrollrühm, mis koosnes tervetest lehmadest, kellel ravi ei teostatud.

E rühm (loomade arv 17) lisa negatiivne kontrollrühm, mis koosnes tervetest loomadest ja keda kasutati akuutse faasi proteiinide tasemete testimiseks farmis olevatel tervetel loomadel.

3. Kolmas katse viidi läbi samuti vabapidamislaudas ja katsesse võeti 69 lõpstiinet lehma. Katsesse võeti kliinilise endometriidiga lehmad ja seleksioon rühmadesse toimus analoogselt eelmise katsega. Kokku moodustati 4 katserühma.

A rühm (loomade arv 18) viiendal poegimisjärgsel päeval diagnoositud emakapõletikuga loomad keda raviti järgmist skeemi kasutades: alates 5 poegimisjärgsest päevast 5 järjestikusel päeval parenteraalne ceftiofur, millele lisandus kahekordne PGF2a manustamine 10 poegimisjärgsel päeval intervalliga 12 tundi.

B rühm (loomade arv 27) loomad kellel oli diagnoositud kliiniline metriit 5'ndal poegimisjärgsel päeval ja kelle diagnoos sai kinnitust põletiku püsimsusele 28'ndal poegimisjärgsel päeval ja keda raviti järgmist skeemi kasutades: alates 30'ndast poegimisjärgsest päevast 5 järjestikusel päeval parenteraalne ceftiofur, millele lisandus kahekordne PGF2a manustamine 35 poegimisjärgsel päeval intervalliga 12 tundi.

C rühm (loomade arv 9) positiivne kontrollrühm

D rühm (loomade arv 12) negatiivne kontrollrühm

Selles katses teostati emakabiopsiate võtmine histoloogiliseks uuringuks kõikidelt loomadelt vahemikus 42 – 45 päeva poegimisest hindamaks emaka endomeetriumi seisundit. Esimeses ja teises katsetes osalenud loomade emakaseisundi hindamiseks kasutati mikrobioloogilisi uuringuid (endomeetriumi biopsiad) ning lisaks sellele esimeses katses ka ultraheli (UH) uuringut.

Kõikidel kolmes katses osalenud loomadel teostati kliinilised uuringud (looma üldine seisund, kehatemperatuur, vaginaalnõre hindamine, toitumushinde määramine), biokeemilised uuringud (akuutse faasi proteiinide määramine) ning progesterooni taseme uuringud.

## Katsete tulemused ja järeldused

1. Esimese katse tulemused olid vasturääkivad. Kõige kiirem temperatuuri langus normaaltasapinnale oli näha A rühmas, võrreldes mitteravitud rühmaga. APP' de kontsentratsioon oli sama kõrge kõikides rühmades 3 nädala jooksul peale poegimist, näidates füsioloogilist vastust poegimisele. Bakterioloogilise kasvu intensiivsuse vähenemine emaka biopsiatest oli kõige aeglasem B rühma loomadel, võrrelduna ravimata kontrollrühmaga. Me ei leidnud vahet vaginaalnõre muutuses ajas, munasarjafunktsiooni taastumises, ega esimese luteaalfaasi pikkuses. Baseerudes UH uuringu tulemustel emaka involutsioon mõlemas ravirühmas oli kiirem, kui kontrollrühma loomadel.

Kokkuvõtteks võib öelda, et vaatamata sellele, et B rühma (parenteraalse antibiootikumiga ja PGF2a ravitud loomad) loomadel esines ägedam põletiku protsess esimeste nädalate jooksul peale poegimist, oli nende emakainvolutsioon sama kiire kui teise skeemi järgi ravitud loomadel ning palju parem kui ravimata loomadel.

2. Teises katses näitasid loomad keda raviti PGF2a kasutades kõrgemat kehatemperatuuri kui terved loomad. Sama rühma loomade haptoglobiini tase oli kõrgem kahe esimese poegimisjärgse nädala kestel, võrreldes teiste rühmadega. Mäda kadumise kiirus vaginaalnõres, seerum amüloid-A ja fibrinogeeni kontsentratsioonid, bakteriaalse kasvu intensiivsus ja selle muutus ning munasarja funktsiooni taastumise algus ei erinenud rühmade vahel. Kuid uuslõpsijärgu pikkus oli pikkem NSAID'ga ravitud loomadel võrreldes rühmadega B ja D. Tiinestumise protsent kahest esimesest seemendusest oli parem rühmades B (PGF2a ravitud loomad) ja tervetel loomadel kui rühmades A ja C. Kõige parem seemendusindeks oli B rühma loomadel, võrrelduna ravimata loomadega.

Kokkuvõtteks võib öelda, et vaatamata sellele, et parenteraalse antibiootikumiga ja PGF2a ravitud loomadel olid kõrgemad põletikunäitajad võrreldes teiste loomadega, olid nende tiinestumisnäitajad sama head kui tervetel ja kontrollrühmade loomadel.

3. Kolmas katse, mis uuris kliinilise metriidi võimaliku optimaalset ravimise aega (kas koheselt poegimisjärgselt või hiljem, juhul kui metriit on läinud üle

krooniliseks endometriidiks) ei leitud rühmade vahel vahet kliinilistes, ega biokeemilistes parameetrites. Vaatamata sellele, et hiljem ravitud loomade histoloogilised näitajad olid paremad kui teiste rühmade omad (0.48%, 0.8%, 0.75% ja 0.73% rühmades B, A, C ja D, vastavalt), see vahe ei olnud statistiliselt oluline. Tiinestumisnäitajad varakult ravitud loomadel olid isegi paremad, kui tervetel loomadel, kuid see vahe ei olnud samuti statistiliselt oluline.

Kokkuvõtteks võib öelda, et vaatamata sellele, et endometriidi esinemise protsent 43 - 45 poegimisjärgsel päeval (histoloogiline uuring) varakult ravitud loomadel oli sama kõrge kui ravimata kontrollrühmal, olid nende tiinestumisnäitajad kõige paremad. Kuid seoses sellega, et statistiliselt olulist vahet võis mitte esineda ebapiisava loomade valimi tõttu on lõplikute järelduste tegemisteks veel vajalik teostada uuringu võimsuse analüüs (sellega hinnatakse negatiivsete tulemuste usaldusväärsust seoses katses kasutatud loomade arvuga).

## Kokkuvõte

Uuringute esmased tulemused näitavad, et vaatamata sellele, et PGF2a kasutamine teisel poegimisjärgsel nädalal koos süsteemse antibiootikumide manustamisega esimesel nädalal poegimisjärgsete emakapõletike raviks ei paranda loomade üldseisundit, kuid kompenseerivad haiguse tagajärgi (parandavad tiinestumisnäitajaid).

# SOOVITUSI INNA AVASTAMISEKS ALPRO TEHNOLOOGIA ABIL

Gret-Kristel Mällo, Andres Valdmann

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, sigimisbioloogia osakond

## Uuringute taust

Inna avastamine on väga töömahukas ja spetsiifilisi oskusi nõudev valdkond lehmade sigimise majandamisel. Avastamata jäänud ind põhjustab tootjale kahju seemendamata jäänud või valel ajal seemendatud loomadele tehtud kulutustega. Seemendamata jäänud loomadel pikeneb poegimisvahemik. Seemendamisega innavälisel ajal raisatakse seemendamisele kuluvat aega ja spermat ning saadakse eksitavat infot järgmise oletatava inna toimumise aja kohta. Tiinete loomade seemendamisega kaasneb tiinuse katkemise oht. Kirjanduse andmetel on avastamata jäänud ind mastiiti haigestumise järel teiseks piimatootmise efektiivsust vähendavaks teguriks (Maatje 1997).

Avastamata jäänud inna põhjuseid on mitmeid. Lehmade geneetilise selektiooniga suuremale piimatoodangule on kaasnenud käitumuslike innatunnuste vähenenud avaldumine, samuti on lühenenud innatunnuste avaldumise aeg. Näiteks on viimase 50 aastaga paigalseisu refleksi, kui ainsat primaarset innatunnust, väljendavate lehmade osatähtsus langenud 80% -lt 50% -le ning paigalseisu refleksi avaldumise aeg on langenud 15 tunnilt 5-le. Seoses suuremate farmidega on farmitöötajate töökoormus suurem, mille tõttu jääb indlevate lehmade avastamiseks järjest vähem aega. Samuti on üha raskem leida kvalifitseeritud tööjõudu. Käitumuslike innatunnuste väljendumist mõjutavad veel söötmise ja lüpsi aeg, libe pinnas ja looma tervislik seisund. Näiteks tugevalt lonkavatel lehmadel väheneb pealehüppamiste arv >2 korra, võrreldes tervete lehmadega (Walker jt.,2005).

Inna efektiivsemaks avastamiseks ja tööjõukulude vähendamiseks on välja töötatud mitmeid erinevaid inna avastamise tehnoloogiaid. Juba rohkem kui 50 aastat tagasi avastati, et indlevad lehmad on aktiivsemad kui mitte-

indlevad lehmad (Farris 1954). Sellele teadmisele tuginedes on mitmed firmad välja töötanud erinevaid aktiivsuse mõõtmisel põhinevaid inna avastamise tehnoloogiaid. Saadaval on sammude arvu loendavad pedomeetrid (AfiTag®), kolmedimensionaalselt aktiivsust registreerivad seadmed kaelarihmadel (ALPRO®, Heatime®) ja jalale kinnitatavad 3D-aktseleeromeetrid, mis registreerivad looma seismise ja lamamise aja, sammude arvu ning aktiivsuse (IceTag3D®). Loomade paigalseisurefleksi registreerimiseks on välja töötatud nii mehaanilisi (innadetektor Kamar®, plaaster Estrotect®) kui ka elektroonilisi vahendeid (Heatwatch®). Paigalseisurefleksi avastamiseks registreeritakse teise looma pealehüppamine kas surveanduriga või mehaanilisele survele reageeriva ja värvi muutva plaastriga.

Kuna paigalseisu refleksi väljendavate kõrgetoodanguliste lehmade osatähtsus on ainult 50-60%, siis paigalseisu refleksi registreerivate inna avastamise vahendite tundlikkus inna avastamisel ei saa olla suurem kui 50-60%. Teoreetiliselt võiks looma aktiivsuse registreerimisel põhinevad inna avastamise süsteemid olla tundlikumad, võrreldes paigalseisu refleksi registreerivate vahenditega. Maailma teaduskirjanduses avaldatud andmed aktiivsuse määramisel põhinevate tehnoloogiate tundlikkuse kohta on väga vasturääkivad, ulatudes 30%-st peaaegu 100%-ni.

Eestis on enamkasutatavaks aktiivsuse määramisel põhinevaks inna avastamist võimaldavaks farmitehnoloogiaks ALPRO (ALPRO; DeLaval International AB, Tumba, Rootsi). ALPRO tehnoloogia eripäraks, võrreldes teiste aktiivsuse mõõtmisel põhinevate inna avastamise tehnoloogiatega on aktiivsusandmete edastamine, analüüsimine ja salvestamine ühetunniste intervallide järel. Aktiivsusandmete peaaegu reaalajas laekumine aitab kaasa indlevate loomade võimalikult kiirele tuvastamisele. Samuti on ALPRO tehnoloogia oluliseks eripäraks kõrgeenenud aktiivsuse mõõtmine ja esitamine kolmel erineval tasemel (aktiivsuse märguanded üks, kaks ja kolm plussi). Erinevad aktiivsuse märguanded aitavad hinnata looma aktiivsuse suurenemist kasvavas järjestuses.

Arvame, et suurele osale Eesti piimatootjatest võiks huvi pakkuda andmed ALPRO inna avastamise tehnoloogia usaldusväärsuse kohta, ehk teisiti öeldes, kui tundlik ja täpne on ALPRO tehnoloogia indade avastamisel. Lisaks indlevate lehmade leidmisele võiks aktiivsuse määramine omada praktilist

väärtust ka munasarjafunktsiooni taastumise ehk poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni aja kindlakstegemisel. Uuringutega on näidatud, et lehmadel, kellel esimene poegimisjärgne ovulatsioon toimub poegimisjärgselt lühema aja jooksul, on tiinestumine parem, võrreldes lehmadega, kellel esineb pikk anöstrus. Selliseid loomi saaks ka varem seemendada hakata. Meie varasemad uuringud on näidanud, et kuni 20% poegimisjärgsetest esimestest seemendamistest tehakse anöstruses. Seega, anöstruses lehmade leidmine võimaldaks vältida anöstruses tehtavaid seemendamisi ja planeerida poegimisjärgselt esimese seemendamise aega.

Rahvusvahelises kirjanduses puuduvad andmed uuringute kohta, kus aktiivsuse määramisel põhinevaid inna avastamise süsteeme oleks alates poegimisest kuni tiinestumiseni võrreldud progesteroniprofiilide abil kindlaks tehtud indadega. Põhjuseks võib olla pikk ja töömahukas uurimisperiood ja kulukas hormoonanalüüs.

## Eesmärgid

Tänu Eesti Põllumajandusministeeriumi poolt rahastatud rakendusuuringu „Lüpsilehmade sigimishäirete diagnostika ja sigivuse parandamise meetodid“ oli meil võimalik läbi viia ALPRO innaavastamise tehnoloogiat käsitlev uuring.

Uuringu eesmärkideks seadsime:

- 1) teha kindlaks ALPRO tehnoloogia tundlikkus ja täpsus inna avastamisel;
- 2) võrrelda ALPRO tehnoloogia inna avastamise tundlikkust inna visuaalse avastamise tundlikkusega;
- 3) selgitada, kas ALPRO tehnoloogia võimaldab leida poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni aega ja anöstruses lehma.

## Läbiviidud uuringud

Uuringud viisime läbi 1100 lüpsilehmaga tootmisfarmis, kus oli olemas funktsioneeriv ALPRO inna avastamise tehnoloogia ning lüpsitehnoloogia, mis võimaldas suure hulga piimaproovide kogumist. Uuringus oli kokku 145 lehma. Katseperiood kestis lehma poegimisest kuni tiinuse rektaalse diagnoosimiseni (8 nädalat pärast seemendamist) või karjast prakeerimiseni, ehk maksimaalselt kuni 390 päeva. ALPRO tehnoloogia uurimiseks varundati kõikide katselehmade ALPRO poolt registreeritud aktiivsusandmed. Piimaproove koguti kaks korda nädalas katseperioodi kestel. Piimaproovidest määrati EIA meetodiga (Waldmann, 1999) kollakehahormooni ehk progesterooni sisaldus. Iga lehma jaoks koostati individuaalne progesteroniprofiil, mille abil määrati esimese ovulatsiooni/inna aeg, tehti kindlaks innatsükli faasid, ovulatsioon/ind, tiinestumine ja tiinuse katkemine. ALPRO varundusfailidest saadud aktiivsusandmeid kõrvutati iga konkreetse katselehma progesteroniprofiiliga. Aktiivsusandmete ja progesteroniprofiilide kõrvutamisel tehti kindlaks ALPRO tundlikkus ja täpsus. Tundlikkus näitab kui palju indasid leidis ALPRO tehnoloogia aktiivsuse märguannete abil üles. Täpsus näitab kui palju aktiivsuse märguandeid langes tegelikult kokku indadega. Samuti huvitas meid kui palju aktiivsuse märguannetest esines mõnes muus reproduktsioonitsükli faasis (anöstruses, diöstruses või tiinuse ajal).

Inda avastati visuaalselt kolm korda päevas a 30 minutit Van Eerdenburgi jt. (1996) meetodit kasutades. Inna visuaalse avastamise tundlikkus tehti kindlaks visuaalselt registreeritud indade kõrvutamisel progesteroniprofiilide abil kindlaks tehtud indadega.

## Tulemused

Kahekümne seitsme lehma andmeid (19%) ei analüüsitud kas karjast liiga varase prakeerimise või aktiivsusandmete puudumise (aktiivsusemõõtja lakkas töötamast) tõttu. Saja kaheksateistkümmel lehm registreeris ALPRO 1239 kõrgeenenud aktiivsuse märguannet kolmel erineval aktiivsuse tasemel. Progesteroniprofiilide abil (progesteroonisisaldust analüüsiti 7502 piimaproovist) tuvastati 562 inda.

## ALPRO tehnoloogia inna avastamise tundlikkus

ALPRO tehnoloogia inna avastamise tundlikkus oli 70%, mis tähendab, et ALPRO tehnoloogia avastas 70% kõigist esinenud indadest ning avastamata jäi 30% kõikidest indadest. Inna avastamise tundlikkus sõltus inna ajal registreeritud maksimaalsest aktiivsuse tasemest. Maksimaalse aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm plussi avastati vastavalt 20, 10 ja 40% esinenud indadest (Tabel 1).

Tabel 1. ALPRO aktiivsusemõõtja inna avastamise tundlikkus

Aktiivsuse tase (plussid)	Progesteroniprofiilide abil avastatud indade arv	%	ALPRO tundlikkus
0 (aktiivsuse tõuspuudus)	168	30	Avastamata innad
1	116*	20	Avastatud innad
2	56*	10	
3	222*	40	
Kokku	562	100	

\*registreeritud maksimaalne aktiivsuse tase inna ajal

## ALPRO tehnoloogia inna avastamise täpsus

Progesteroniprofiilide abil kindlaks tehtud indadega langes kokku 59% kõigist ALPRO aktiivsuse märguannetest. Aktiivsuse märguannete tasemetel üks, kaks ja kolm plussi oli ALPRO täpsus vastavalt 47, 65 ja 87%. ALPRO aktiivsuse märguannetest langes 41% väljapoole inna aega (Tabel 2).

Tabel 2. ALPRO aktiivsuse märguannete jaotumine erinevate reproduktsioonitsükli faaside vahel

Aktiivsuse tase (plussid)	Reproduktsioonitsükli faas									
	Aktiivsuse märguanded		Anöstrus		Diöstrus		Ind (östrus)		Tiinus (65 päeva)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	738	60	118	16	155	21	345	47	120	16
2	246	20	29	12	38	15	160	65	19	8
3	255	21	16	6	12	5	222	87	5	2
Kokku	1239	100	163	13	205	17	727	59	144	12

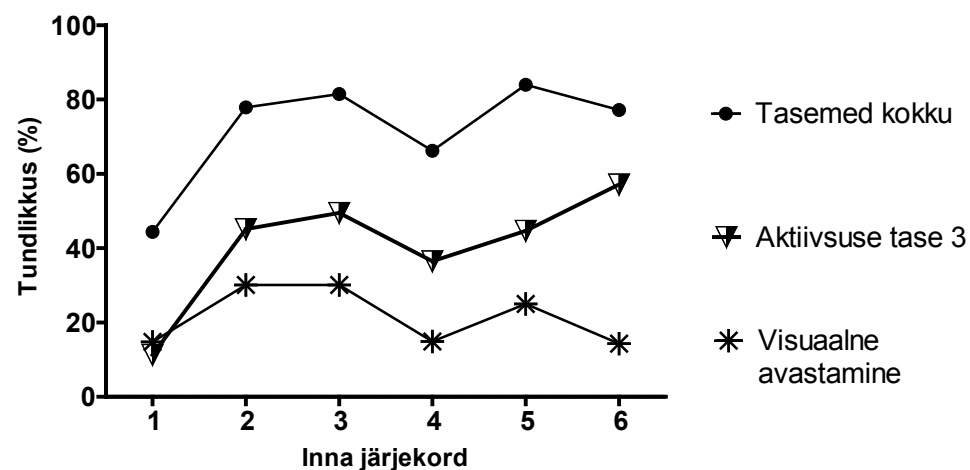
Anöstruse ajale langes 13%, diöstruse ajale 17% ja tiinuse ajale 12% kõikidest ALPRO aktiivsuse märguannetest. Praktikas hakatakse lehma poegimisjärgselt seemendama alates 50.- 60.-st poegimisjärgsest päevast. Kui analüüsist jäeti välja 60 esimest poegimisjärgset päeva, tõusis ALPRO inna avastamise täpsus aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm plussi vastavalt 48, 73 ja 94%-ni (Tabel 3). Jättes analüüsist välja nii esimese 60-ne poegimisjärgse päeva jooksul esinenud aktiivsuse märguanded kui ka tiinuseaegsed aktiivsuse märguanded, oli ALPRO inna avastamise täpsus aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm plussi vastavalt 65, 83 ja 97%.

Tabel 3. ALPRO aktiivsuse märguannete jaotumine erinevate reproduktsioonitsükli faaside vahel. Analüüsist on jäetud välja esimese 60 poegimisjärgse päeva jooksul esinenud aktiivsuse märguanded.

Aktiivsuse tase (plussid)	Reproduktsioonitsükli faas (> 60 päeva poegimisest)									
	Aktiivsuse märguanded		Anöstrus		Diöstrus		Ind (östrus)		Tiinus (65 päeva)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
1	460	58	20	4	98	21	222	48	120	26
2	152	20	2	1	20	13	111	73	19	13
3	172	22	2	1	3	2	162	94	5	3
Kokku	784	100	24	3	121	15	495	63	144	18

## Inna visuaalse avastamise tundlikkus

Inna visuaalse avastamise tundlikkus oli oluliselt madalam, võrreldes ALPRO kõikide aktiivsuse tasemetega abil avastatud indadega (keskmine inna avastamise tundlikkus 21,5% vs. 70%). Samuti oli inna visuaalse avastamise tundlikkus oluliselt madalam võrreldes ALPRO maksimaalse aktiivsuse tasemega kolm plussi avastatud indadega (keskmine inna avastamise tundlikkus 21,5% vs. 40%). Inna visuaalse avastamise tundlikkus korreleerus indade toimimise järjekorra alusel ALPRO tehnoloogia inna avastamise tundlikkusega (Joonis 1).



**Joonis 1.** ALPRO tehnoloogia tundlikkus ja inna visuaalse avastamise tundlikkus sõltuvalt inna toimumise järjekorrast.

### Inna avastamise tundlikkuse sõltuvus inna järjekorrast

Inna avastamise tundlikkus sõltus inna järjekorrast. Nii inna visuaalse avastamise tundlikkus kui ka ALPRO tehnoloogia inna avastamise tundlikkus oli poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni/inna avastamisel oluliselt madalam, võrreldes kõikide järgnevatel indadega, vastavalt 15% ja 24% ning 44% ja 77%.

### Poegimisjärgselt esimese aktiivsuse tõusu seos esimese inna ajaga

Poegimisjärgselt esimene aktiivsuse tõus ei korreleerunud poegimisjärgselt esimese inna toimumise ajaga ( $r=0,035$ ;  $P=0,716$ ).

### Kokkuvõte ja praktilised soovitused

ALPRO tehnoloogia võimaldas avastada rohkem indasid, võrreldes inna visuaalse avastamisega (21,5% vs 70%). Aktiivsuse tase kolm plussi osutus kõige tundlikumaks ja täpsemaks inna avastamise kõrge aktiivsuse tasemeks. Neljakümne protsendi kõikide indadega kaasnes kõrge aktiivsuse tase kolm plussi. Kõrge aktiivsuse taseme kolm plussi korral oli inna avastamise täpsus 94-97%. Anöstrus ja tiinus vähendasid ALPRO tehnoloogia inna avastamise täpsust.

ALPRO inna avastamise tehnoloogia ei sobi poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni/inna avastamise madala tundlikkuse ja suure arvu aktiivsusmärke anöstruse aegse esinemise tõttu anöstruses lehmade leidmiseks ja poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni/inna avastamiseks.

ALPRO tehnoloogia oskusliku kasutamisega on võimalik selle tehnoloogia täpsust tõsta. Vältida tuleks anöstruses esinevaid ja tiinusaegseid aktiivsuse märke. Kuuekümnendaks poegimisjärgseks päevaks on enamusele lehmadest anöstruse periood möödunud. Kuna 13% kõikidest aktiivsuse märke langes anöstruse perioodile, siis on otstarbekas hakata aktiivsuse märke abil inda avastama alates 60.-st poegimisjärgsest päevast.

Seemendatud lehmade tiinus tuleks võimalikult varakult kinnitada, sest esimese 65 tiinuspäeva ajal esines 12% kõikidest aktiivsuse märke. Tiinuse varane diagnoosimine võimaldab vältida tiinuse ajal esinevaid aktiivsuse märke.

Kui poegimisest on möödunud 60 päeva ja lehma seemendatakse poegimisjärgselt esmakordselt, on lehma indlemise tõenäosus ALPRO aktiivsuse tasemel kolm plussi 97%.

# CLIMATE CHANGE AND THE WELFARE AND MANAGEMENT OF FARM ANIMALS IN NORTHERN EUROPE

David Arney

Estonian University of Life Sciences,  
Department of Nutrition and Animal Products Quality, EMÜ

This presentation discusses possible effects of climate change on the welfare of farm animals in Northern Europe. Expectations are that in Northern Europe temperatures will increase, particularly in the winter, and that precipitation will also increase, at least in winter. The effect of temperature change itself is unlikely to be a significant source of stress to animals, although the increase in precipitation may cause chilling in animals kept outdoors (Ekesbo, 2009). The temperature change is likely to result in an increase in the area suitable for crops, the northward expansion of such areas, and continued intensification of agriculture in the area as a whole. There is likely to be more area for grain cultivation, and less area in use for less profitable forage crops (Olesen and Bindi, 2004). Livestock are likely therefore to have less access to pasture than currently. In addition, increased winter precipitation will probably lead to an increase in poaching of the grazed land that remains, reinforcing the benefits to producers of keeping them indoors. In addition, an increase in the snow cover in the winter would make outdoor practices at this time more hazardous to the animal. Attempts by regulatory authorities to impede the progress of climate change might focus, in animal production, on the greenhouse gases contributed by livestock; although the figure of 18% for livestock-derived greenhouse gases as a total of anthropogenic greenhouse gases may be too simplistically derived (Pitesky et al., 2009). Management practices might, as a result, change to the detriment of the welfare of the animals; including more controlled indoor environments with restrictions on freedom of movement. In pig production, slatted floors that allow the rapid removal of dung and urine may be preferred over other more welfare-oriented flooring types (Metz, 1999). Likewise, poultry litter may be selected on the basis of its ability to

neutralise ammonial excrement, rather than its suitability for the overall needs of the chickens, and free range systems may be discouraged. Possible effects of climate change on the range and malevolence of pests and diseases and on the nutrition of livestock, in addition to changes in management practices, will be presented.



# VEISTE HERPESVIIRUS 1 NAKKUSE DÜNAAMIKA TÕRJETA JA TÕRJEPROGRAMMI RAKENDAVATES EESTI PIIMAVEISE KARJADES

Kerli Raaperi, Annely Aleksejev, Toomas Orro, Arvo Viltrop

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

## Sissejuhatus

Veiste herpesviirus 1 (VHV-1) on patogeen, mis põhjustab veistel hingamisteede haigust, sigimishäireid ning vasikate suurenenud suremust. 22% Eesti piimaveise karjadest on VHV-1ga nakatunud, kusjuures suured karjad on haigusest enam tabandunud. Viiruse tõrje tulemusena paraneks nendes karjades loomade tervis, millega kaasneb majaduslik tulu farmerile. Eestis ei rakendata VHV-1 suhtes üleriigilist tõrjeprogrammi. Vaid sperma kogumiseks kasutatavad pullid peavad olema enne seemendusjaama toomist viiruse suhtes testitud ja iga-aastases uuringus negatiivsed. Mitmed Euroopa riigid nagu Soome, Rootsi, Norra, Taani, Šveits ja Austria on ametlikult VHV-1 vabad ning mõned Kesk-Euroopa riigid nagu Saksamaa ja Holland rakendavad kohustuslikku tõrjeprogrammi. Riikidest, mis ei ole VHV-1 vabad ei ole võimalik nimetatud riikidesse veiseid eksportida. Viirusevaba staatus tähendaks suure ekspordituru avanemist Eestile, mis oleks majanduslikult kasulik kogu veisekasvatusele.

Seropositiivsete loomade praakimine on senini osutunud kõige kiiremaks ja tõhusamaks VHV-1 tõrje meetodiks. Viiruse suure levimusega karjades on aga majanduslikult ainuvõimalikuks strateegiaks loomade vaksineerimine gE markervaktsiiniga kombineerides seda nakatunud loomade järkjärgulise väljaviimisega karjast. Markervaktsiinid võimaldavad eristada nakatunud loomi vaksineeritustest ning vähendavad latentselt nakatunud loomadel viiruse eritumist. Kogu karja vaksineerimise tulemusena viiruse tsirkulat-

sioon karjas peetub ning järeltulevad põlvkonnad jäävad viirusega nakatumata. Nii asendatakse loomuliku väljavahetumise käigus põhikari viirusevabade loomadega. Kui viiruse levimus on karjas piisavalt madal, viiakse tõrje kiirendamiseks viimased nakatunud loomad karjast välja ja lõpetatakse vaksineerimine.

Eelnevad uuringud on näidanud, et veisekarjad on VHV-1 nakkusest vabanenud ka teadliku sekkumiseta. Et toimuks karja isevabanemine viirusest, peavad põhikarja tulevad loomad olema viirusega nakatumata. Meie varasemad uuringud on näidanud, et Eestis on enam kui kolmandikus VHV-1 nakatunud piimaveise karjades noorkari viirusest tabandumata. Kuna VHV-1 reaktiveerumine on suhteliselt harv nähtus, võib karjade isevabanemine nakkusest olla võimalik.

Käesoleva uuringu esimene eesmärk oli selgitada Eesti piimaveise karjades rakendatud vaksineerimisprogrammide efektiivsust. Kõikides vaatlusalustes karjades kasutati inaktiveeritud markervaktsiini vastavalt vaksineeritaja juhistele. Meie uuringu teine eesmärk oli jälgida VHV-1 nakkuse dünaamikat nendes karjades, kus tõrjeprogramme ei rakendata, kuid kus noorkari on viirusega nakatumata.

## Materjal ja meetodid

### *Uuringute plaan*

Pärast 2006-2008. aastal toimunud VHV-1 levimusuuringut koostati seitsmele piimaveise karjale VHV-1 tõrjeprogramm. Tegemist on peamiselt suurte kõrge piimatoodanguga karjadega, kus lehma peetakse vabalt külm-lautades. Nendes farmides on tavaliselt mitu loomapidamishoonet ning noorkarja peetakse täiskasvanud loomadest eraldi üksuses ning grupeeritakse tihti ümber. Neisse karjadesse ostetakse sageli loomi teistest karjadest. Loomaarst ja seemendaja on sageli farmide palgalised töötajad. Nendes karjades levib enamasti ka veiste viirusdiarröa viirus (VVDV) ning VHV-1 levimus lehmade hulgas on kõrge.

Vaktsineerimisskeem nägi ette kõigi vähemalt 3-kuu vanuste loomade vaktsineerimise inaktiveeritud gE markervaktsiiniga. Skeemis nähti ette, et karja loomi vaktsineeritakse nii kaua kui viiruse levimus langeb alla 10%, misjärel karja kõik loomad testitakse VHV-1 gE antikehade suhtes avastamiseks viimased viirusekandjad loomad ning need viiakse karjast välja.

Vaktsineerimise efektiivsuse monitooringuks jälgiti muutusi viiruse levimuses. Selleks uuriti perioodiliselt seerumi proove VHV-1 gE antikehade suhtes noorloomadelt, kes on vanemad kui 6 kuud ja sündinud pärast esimest vaktsineerimist. Antud vanuses loomad on kaotanud ternespiimaga saadud immuunsuse ning on seetõttu sobivaks uurimisrühmaks viiruse leviku tuvastamiseks karjas. Kui kari on vaktsineerimise tõttu hästi kaitstud ja viiruse levik peatunud, ei tohiks nimetatud vanuserühma loomad olla viirusega kokku puutunud (on uurimisel gE-negatiivsed). Esimene uurimine (efektiivsus I) viidi läbi üks aasta ning teine (efektiivsus II) kaks aastat pärast esmakordset vaktsineerimist (Tabel 1). Viiruse levimuse muutuse jälgimiseks tehti 1,5 aastat pärast esimest vaktsineerimist esinduslikust valimist läbilõikeuuring kahes vanuserühmas: lehmadel ja üle 6 kuu vanustel mullikatel (levimus II).

Viiruse leviku jälgimiseks tõrjeprogrammi mittekasutatavates karjades valiti viis VHV-1 positiivset karja, kus noorkari oli nakatumata või nakatunud väga vähesel määral (kuni 5%). Valitud karjad olid keskmise suuruse ja erineva piimatoodanguga karjad. Antud karjades peeti lehma valdavalt soojades lautades ning rakendati ka karjatamist. Loomi peeti mitmes üksuses ning noorkarja grupeeriti ümber vähemalt korra aastas. Loomaarst ning seemendaja ei olnud neis farmides tavaliselt palgatöötajad. VVDV nakkust esines kahes karjas. VHV-1 levimus lehmade hulgas oli mõõdukas. Levimuse muutuse hindamiseks neis karjades lehmade ja mullikate seas viidi läbi kaks läbilõikeuuringut (levimus II ja III - Tabel 2). Kolme uuringu ajaline vahe oli umbes 1 aasta. Viiruse aktiivse leviku kindlakstegemiseks igal uuringukorral leiti VHV-1 levimus vasikatel, kes olid sündinud pärast esimest uuringut (levimus I) ning kes olid proovide kogumise ajal vähemalt 6 kuud vanad (vasikad  $\geq$  6 kuud levimus II ja III - Tabel 2).

### *Proovide analüüsimine*

Vaktsineeritud karjadest kogutud proove uuriti VHV-1 gE antikehadele kommertsiaalse VHV-1 gE ELISA testiga (HerdChek®, IDEXX, USA). Mittevaktsineerivatest karjadest võetud proove uuriti kommertsiaalse VHV-1 gB ELISA testiga (HerdChek®, IDEXX, Šveits). Karja VVDV alase olukorra määratlemiseks uuriti viiruse antikehade suhtes kümne mullika seerumi proove (Houe et al., 2006) kasutades kommertsiaalset PrioCHECK® BVDV Ab ELISA testi (Prionics AG, Šveits).

### *Andmete analüüs*

VHV-1 gE antikehade levimus vaktsineerivates karjades ning gB antikehade levimus mittevaktsineerivates karjades arvutati eraldi kolmele vanusegrupile: lehmad, mullikad vanuses 6 kuud kuni poegimiseni ning üle 6-kuu vanused vasikad, kes on sündinud pärast esimest vaktsineerimist (vaktsineerivad karjad) või pärast esimest uuringut (mittevaktsineerivad karjad).

Levimuse muutuse hindamiseks ühes karjas ja vaktsineerivates või mittevaktsineerivates karjades kokku kasutati binomiaalset lineaarset mudelit. Statistiliseks andmeanalüüsiks kasutati R-tarkvara versiooni 2.13.0.

## **Tulemused ja arutelu**

### *VHV-1 levimuse muutused vaktsineerivates karjades*

Viiruse tõrjeks kasutatav vaktsiin peab efektiivselt peatama viiruse tsirkulatsiooni karjas vähendades viiruse eritamist latentselt nakatunud loomadel ning vähendades loomade vastuvõtlikkust nakkusele. Vaktsineerimise efekti näeme seetõttu kõige ilmekamalt vaadeldes muutusi viiruse levimuses noorkarja hulgas. Seitsme uuringukarja keskmine VHV-1 levimus mullikate hulgas vähenes 1,5 aastaga 55%lt (95% CI 51-58) 6%ni (95% CI 4-9). VHV-1 gE seropositiivsete mullikate proportsioon alanes statistiliselt oluliselt viies uuritud karjas 1,5 aastat pärast vaktsineerimise algust (levimus II), kuid levimuse vähenemise trendi võis täheldada kõigis vaktsineerivates karjades (Tabel 1).

Aasta pärast vaksineerimisprogrammiga alustamist olid 6-12 kuused vasikad (efektiivsus I) kõikides karjades VHV-1 gE antikehadele negatiivsed. Teisel testimisel 2 aastat pärast esimest vaksineerimist (efektiivsus II) oli sama vanuserühm endiselt negatiivne karjades kuues karjas seitsmest. Vaid karjas I osutusid neli 10-kuu vanust looma viiruse antikehadele positiivseteks, (levimus 7.4%). Antud juhul oli tegemist farmeri teadliku otsusega muuta vaksineerimisskeemi. Nimelt otsustati kulude kokkuhoiu eesmärgil hakata loomi vaksineerima alates 6. elukuust ettenähtud 3. elukuu asemel. Tavaliselt annavad maternaalsed antikehad vasikale kaitse esimesteks elukuudeks ning vaksineerimisega alustatakse 3. elukuust, kui maternaalne kaitse ei ole enam täielik. Lükates aga esimest vaksineerimist edasi, tekib nakkusele vastuvõtlik populatsioon, mis võimaldab viirusel karjas levida.

Enne vaksineerimisprogrammi algust oli seitsme uuritud karja keskmine VHV-1 levimus lehmade seas 90% (95% CI 88-92) ning see vähenes 1,5 aastaga pärast vaksineerimisprogrammi alustamist 76%-ni (95% CI 72-80). Statistiliselt olulist levimuse alanemist võis täheldada kolmes karjas (karjad IV, V and VII), teistes karjades ei olnud muutused levimuses statistiliselt olulised (Tabel 1). Vanemad loomad on tavaliselt enam nakatunud, mistõttu levimus lehmade hulgas võib jääda vaatamata vaksineerimisele veel mõneks ajaks kõrgeks. Lehmade hulgas hakkab viiruse levimus alanema siis, kui viirus-negatiivsed mullikad tulevad põhikarja ning asendavad vanemaid viirusega nakatunud loomi. Vaatamata vaksineerimisele võib viiruse levik teatud määral karjas jätkuda ka vaksineerimisprogrammi ajal, kusjuures selle tõenäosus on suurem lehmade hulgas. Meie uuringukarjades oli põhikarja väljavahetamise määr 25-30% aastas. See tähendab, et lehmade populatsioon vahetub karjas välja umbes 4 aastaga. Siiski jääb alati karja teatud hulk vanu loomi, kes on suure tõenäosusega viiruse kandjad, mistõttu haigusest vabanemiseks kulub lisaks veel paar aastat.

Viiruse leviku ohjamiseks on lisaks vaksineerimisele VHV-1 tõrjeprogrammis olulisel kohal ka teatud pidamisvõtete järgimine, s.t. tõrjeprogrammi rakendava karja loomadel ei tohi olla kontakte loomadega, kes ei ole VHV-1 vabad, ning rakendada tuleb kõiki muid asjakohaseid bioturvalisuse võtteid, et vältida viiruse karja toomist. Lisaks peab toimuma VHV-1 nakatunud loomade kiirendatud praakimine.

Kõik meie uuringus osalenud vaksineerimist rakendavad karjad olid suured karjad, kus on enam kui 400 lehma ning kõrge piimatoodang (üle 7000 kg lehma kohta aastas). Suurtes karjades on VHV-1 levik soodustatud teatud pidamisega seotud faktorite olemasolu tõttu. Meie eelnevad uuringud on näidanud, et karjatasandi riskitegurid nagu loomaarsti ja seemendaja olemasolu farmi töötajana ja VVDV olemasolu farmis on seotud suurema VHV-1 karjasisesega levimusega ning sellega, et noorkari on nakatunud. Vastavalt varasematele uuringutele peaks viiruse reaktiveerumise ärahoidmiseks ja tõrje edukuse tagamiseks vältima farmis üleasustust, rakendama karjasiseseid bioturvalisuse võtteid ning ohjama teisi immuunsupressiivseid haigusi.

Vaksineerimine üksi ei pruugi viia viiruse elimineerumiseni karjast kui ei rakendata karjatervise meetmeid, mis vähendaksid viiruse levikut.

#### *VHV-1 levimuse muutused mittevaksineerivates karjades*

Karjad, kus noorkari on juba algselt nakatumata on võrreldavas situatsioonis karjadega, kes vaksineerivad oma loomi eesmärgiga hoida järeltulev põlvkond viiruse vaba ning asendada sellega põhikari.

Karjades IX ja XI oli viiruse levimus lehmade hulgas vähenenud igaks uuringukorraks, kusjuures statistiliselt oluline vähenemine oli toimunud 2 aastat pärast esimest uuringut ( $p < 0.05$ ). Karjas X suurenes viiruse antikehade levimus lehmade hulgas 1 ja 2 aastat pärast esimest uuringut. Karjas XII jäi levimus teisel uuringukorral samaks ning kolmandal korral osutusid kõik uuritud lehmad viiruse suhtes negatiivseteks. Kahe aastaga vähenes keskmine levimus mittevaksineerivate karjade lehmade seas 55%lt (95% CI 49-61) 42%-ni (95% CI 36-48) ( $p < 0.05$ ). Uuringu tulemused näitavad, et viiruse levimus lehmade seas vähenes aeglaselt enamikus karjades. Kui võrrelda mittevaksineerivaid karju vaksineerivatega, siis ilmneb, et lehmade risk nakatuda on palju väiksem vaksineerivates karjades. Sellele viitab väiksem šansside suhte (OR) väärtus ning selle kitsam usaldusvahemik vaksineerivates karjades (Tabel 1 ja 2). OR kõrge väärtus mittevaksineerivates karjades on suuresti mõjutatud karja X poolt, kus uuringuperioodi ajal toimus viiruse aktiivne levik.

Levimus mullikate seas jäi alla 5% karjades VIII, IX, XI ja XII. Karjas X suurenes viirusevastaste antikehadega mullikate proportsioon oluliselt iga uuringu korraga, olles kolmandas uuringus 68% (95% CI = 53–80). Kahe aastaga suurenes keskmine VHV-1 levimus mullikate hulgas 2%lt (95% CI 0.4-4) 14%ni (95% CI 10-19), ( $p < 0.001$ ) (Tabel 2).

Viirusevastaste antikehade olemasolu vasikatel, kes on sündinud pärast esimest uuringut ja on uuringu läbiviimise ajal vähemalt 6 kuud vanad, näitab, et viirus on karjas hiljuti tsirkuleerinud. Meie uuringus osutusid selle vanuserühma loomad antikehade suhtes negatiivseks kolmes karjas mõlemas järeluuringus. Karjas X oli VHV-1 antikehade levimus 21% (95% CI 5-51) (teine uuring) ja 68% (95% CI 53-80) (kolmas uuring). Karjas XI osutus üks loom antud vanuserühmast teises uuringus VHV-1 antikehade suhtes kahtlaseks (Tabel 2). Viimasel juhul oli tegemist 9-kuu vanuse vasikaga, kelle puhul võib oletada, et test avastas ternespiimaga saadud jäänukantikehad.

Kuna varasemates uuringutes on kirjeldatud karjade isevabanemist VHV-1st, oli meie eesmärk vaadelda, kas see on võimalik ka meie karjades. Eelduseks nakkusest isevabanemisele on see, et latentselt nakatunud looma(de)l viirus ei reaktiveeru ning uusi nakkusi ei teki. Üldiselt on reaktiveerumine harv nähtus ning nakatunud lehmade asendamine viirusest vabade mullikatega on tinginud karjade isevabanemise viirusest. Reaktiveerumise puudumist võib oletada neljas uuringukarjas, kus viiruse levimus lehmade hulgas vähenes ning noorkari jäi nakkusvabaks. Isevanemine on võimalik siis, kui loomade stressitase on madal vältides viiruse reaktiveerumist latentselt nakatunud loomadel. Meie uuritud karjades võib täheldada mitmeid tunnuseid, mis on tõenäoliselt tinginud olukorra, kus viiruse levikut ei ole mõnda aega toimunud. Esiteks on tegemist keskmise suurusega karjadega. Uuringud on näidanud, et väikestes karjades on isevabanemine tõenäolisem kui suurtes karjades. Teiseks ei ole nendes karjades loomaarst ega seemendaja farmi palgalised töölised, millega tõenäoliselt väheneb viiruse iatrogenne levik. Kolmandaks on need enamasti karjad, kus lehmad on soojas laudas lõaspidamisel ning lehmi karjatatakse. Neljandaks, nendes karjades hoitakse noorkarja eraldi loomapidamishoones ja loomi grupeeritakse ümber vaid kaks korda: esimest korda pärast ternesperiоди lõppu ning teine kord enne poegimist. Samuti ostavad need karjad vaid üksikuid loomi ja on tihti VVDV negatiivsed (Tabel 1).

## Järeldused ja kokkuvõte

Meie uuringu tulemused kinnitavad, et vaksineerimine inaktiveeritud VHV-1 markervaktsiiniga on efektiivne meetod karjas viiruse leviku peatamiseks juhul kui järgitakse täpselt vaksineerimisprotokolli. Samas võib mõnedes karjades viiruse tsirkulatsioon peatuda pikemaks perioodiks ka iseeneslikult, mille tulemuseks võib olla karja isevabanemine viirusest. Siiski ei saa soovitada karjades, kus on viirusele negatiivsed mullikad ja kus on sooviks kari viirusest vabastada loota vaid isevabanemisele. Nakkuse levikuga seonduvad arengud sellises karjas on ettearvamatud, viiruse reaktiveerumine ühel loomal võib põhjustada karjas haiguspuhangu, kui viirus jõuab karja vastuvõtlike loomadeni.

## Tänuavaldused

Täname kõiki uuringuga seotud loomapidajaid ja farmide loomaarste koostöö ja abi eest proovide kogumisel samuti Veterinaar- ja Toidulaboratooriumit vaksineeritud loomade seroloogiliste uuringute läbiviimise eest. Uuringut rahastas Põllumajandusministeerium (leping 34-23 2006-2008) ning Haridus- ja Teadusministeerium (baasfinantseerimise projekt 8-2/P9001).

**Tabel 1.** Veiste herpesviirus 1 (VHV-1) gE antikehade levimus ja usaldusvahemik (95%) vaktsineerivates karjades ja looma šanss olla VHV-1 antikehade suhtes positiivne teises levimusuuringus võrreldes esimese uuringuga (levimus I) seitsmes uuringu karjas kokku (väljendatud šansside suhtena- OR)

Vanusegrupp ja uuringu aeg	Karjad						n posit./kõik	OR (95% CI)
	I	II	III	IV	V	VI		
Lehmad								
Levimus I	90 (79-96)	84 (77-91)	89 (79-96)	95 (90-97)	97 (88-100)	98 (94-100)	67 (54-78)	90 (88-92)
	54/60	98/116	58/65	172/182	58/60	120/122	42/63	602/668
Levimus II	98 (91-100)	86 (76-94)	78 (67-88)	75 (63-85)**	75 (64-85)*	98 (91-100)	22 (12-34)**	76 (72-80)
	61/62	57/66	51/65	51/68	55/73	59/60	13/60	347/454
Mullikad								
Levimus I	38 (24-57)	24 (16-34)	91 (81-97)	89 (84-93)	60 (47-72)	44 (32-57)	2 (0-6)	55 (51-58)
	22/58	24/98	59/65	211/237	36/60	31/70	2/117	385/705
Levimus II	1 (0-7)**	13 (6-23)**	1 (0-7)**	13 (7-22)**	4 (1-9)**	9 (5-16)**	0 (0-6*)	6 (4-9)
	1/73	9/70	1/80	12/90	4/110	11/120	0/60	38/603
≥6 kuused vasikad								
Efektiivsus I	0 (0-7 <sup>a</sup> )	0 (0-18 <sup>a</sup> )	0 (0-8 <sup>a</sup> )	0 (0-14 <sup>a</sup> )	0 (0-6 <sup>a</sup> )	0 (0-7 <sup>a</sup> )	0 (0-9 <sup>a</sup> )	0 (0-1 <sup>a</sup> )
(6-12 kuud)	0/48	0/19	0/45	0/25	0/58	0/52	0/41	0/288
Efektiivsus II	7 (2-18)	0 (0-5 <sup>a</sup> )	0 (0-7 <sup>a</sup> )	0 (0-6 <sup>a</sup> )	0 (0-5 <sup>a</sup> )	0 (0-4 <sup>a</sup> )	0 (0-7 <sup>a</sup> )	1 (0.2-2)
(6-24 kuud)	4/54	0/70	0/52	0/60	0/76	0/83	0/51	4/446

Levimusuuringud on tehtud 1,5 aastase intervalliga, efektiivsus on hinnatud üheaastase intervalliga

\* p<0.05 võrreldes eelmise levimuse hinnanguga samas kategoorias

\*\* p<0.001 võrreldes eelmise levimuse hinnanguga samas kategoorias

<sup>a</sup> ühepoolne, 97.5% usaldusvahemik

**Tabel 2.** Veiste herpesviirus 1 (VHV-1) gE antikehade levimus ja usaldusvahemik (95%) mittevaktsineerivates karjades ja looma šanss olla VHV-1 antikehade suhtes positiivne võrreldes esimese levimusuuringuga (levimus I) viies uuringukarjas kokku (väljendatud šansside suhtena- OR).

Vanusegrupp ja uuringu aeg	Karjad					n posit./kõik	OR (95% CI)
	VIII	IX	X	XI	XII		
Lehmad							
Levimus I	71 (58-82)	48 (38-59)	58 (43-72)	57 (43-70)	24 (7-50)	55 (49-61)	1
	41/58	44/91	29/50	32/56	4/17	150/272	
Levimus II	53 (39-66)	34 (20-50)	86 (73-95)*	41 (29-55)	24 (13-38)	47 (41-53)	0.8 (0.5-1.1)
	31/59	15/44	38/44	24/58	12/50	120/255	
Levimus III	64 (51-76)	21 (10-35) <sup>a</sup>	98 (87-100) <sup>a</sup>	34 (22-47) <sup>a</sup>	0 (0-8 <sup>a</sup> )	42 (36-48)	0.6 (0.4-0.9) <sup>a</sup>
	38/59	10/48	39/40	20/59	0/50	107/256	
Mullikad							
Levimus I	3 (0-10)	0 (0-14 <sup>c</sup> )	4 (0-14)	0 (0-6 <sup>c</sup> )	0 (0-10 <sup>c</sup> )	2 (0.4-4)	1
	2/69	0/27	2/52	0/62	0/38	4/248	
Levimus II	2 (0-9)	2 (0-12)	24 (13-38)*	5 (1-14)	4 (1-15)	7 (4-11)	6.6 (2.1-20.6) <sup>a</sup>
	1/60	1/43	12/50	3/60	2/45	19/258	
Levimus III	0 (0-7 <sup>c</sup> )	0 (0-8 <sup>c</sup> )	68 (53-80)** <sup>ab</sup>	0 (0-9 <sup>c</sup> )	0 (0-8 <sup>c</sup> )	14 (10-19)	17.2 (5.6-52.8)** <sup>a</sup>
	0/60	0/43	34/50	0/40	0/50	34/243	
≥6 kuused vasikad							
Levimus II	0 (0-71 <sup>c</sup> )	0 (0-26 <sup>c</sup> )	21 (5-51)	14 (0.4-58)	0 (0-16 <sup>c</sup> )	7 (2-17)	
(6-12 kuud)	0/3	0/12	3/14	1/7	0/21	4/57	
Levimus III	0 (0-11 <sup>c</sup> )	0 (0-10 <sup>c</sup> )	68 (53-80)	0 (0-13 <sup>c</sup> )	0 (0-8 <sup>c</sup> )	18 (13-24)	
(6-24 kuud)	0/33	0/34	34/50	0/27	0/45	34/189	

Levimusuuringud on tehtud ühe aastase intervalliga

\* p<0.05 võrreldes eelmise levimuse hinnanguga samas kategoorias

\*\* p<0.001 võrreldes eelmise levimuse hinnanguga samas kategoorias

<sup>a</sup> erinevus esimese ja kolmanda uuringu vahel

<sup>b</sup> erinevus teise ja kolmanda uuringu vahel

<sup>c</sup> ühepoolne, 97.5% usaldusvahemik

## Kasutatud kirjandus

- Ackermann, M., Engels, M., 2006. Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology* 113, 293-302.
- Bosch, J.C., De Jong, M.C.M., Franken, P., Franken, K., Hage, J.J., Kaashoek, M.J., Maris-Veldhuis, M.A., Noordhuizen, J.P.T.M., Van der Poel, W.H.M., Verhoeff, J., Weerdmeester, K., Zimmer, G.M., Van Oirschot, J.T., 1998. An inactivated gE-negative marker vaccine and an experimental gD-subunit vaccine reduce the incidence of bovine herpesvirus 1 infections in the field. *Vaccine* 16, 265-271.
- de Koeijer, A.A., Diekmann O., de Jong, M.C.M., 2008. Calculating the time to extinction of a reactivating virus, in particular bovine herpes virus. *Mathematical Bioscience* 212, 111-131.
- Hage, J.J., Schukken, Y.H., Barkema, H.W., Benedictus, G., Rijsewijk, F.A.M., Wentink, G.H., 1996. Population dynamics of bovine herpesvirus 1 infection in a dairy herd. *Veterinary Microbiology* 53, 169-180.
- Hage, J.J., Schukken, Y.H., Schols, H., Maris-Veldhuis, M.A., Rijsewijk, F.A.M., Klaassen, C.H.L., 2003. Transmission of bovine herpesvirus 1 within and between herds on an island with a BHV-1 control programme. *Epidemiology and Infection* 130, 541-552.
- Kampa, J., Ståhl, K., Moreno-López, J., Chanlun, A., Aiumlamai, S., Alenius, S., 2004. BVDV and BHV-1 Infections in Dairy Herds in Northern and Northeastern Thailand. *Acta Veterinaria Scandinavica* 45, 181-192.
- Kampa, J., Alenius, S., Emanuelson, U., Chanlun, A., Aiumlamai, S., 2009. Bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in dairy herds: Self clearance and the detection of seroconversions against a new atypical pestivirus. *Veterinary Journal* 182, 223-230.
- Keeling, M., Rohani, P., 2008. Modeling Infectious Diseases in Humans and Animals. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Makoschey, B., Zehle, H.-H., Bussacchini, M., Valla, G., Palfi, V., Foeldi, J., 2007. Efficacy of a live bovine herpesvirus type 1 marker vaccine under field conditions in three countries. *Veterinary Record* 161, 295-298.
- Patel, J.R., 2005. Relative efficacy of inactivated bovine herpesvirus-1 (BHV-1) vaccines. *Vaccine* 23, 4054-4061.
- Raaperi, K., Nurmoja, I., Orro, T., Viltrop, A., 2010. Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds. *Preventive Veterinary Medicine* 96, 74-81.
- Van Schaik, G., Schukken, Y.H., Nielen, M., Dijkhuizen, A.A., Huirne, R.B.M., 1999. Application of survival analysis to identify management factors related to the rate of BHV-1 seroconversions in a retrospective study of Dutch dairy farms. *Livestock Production Science* 60, 371-382.
- Woodbine, K.A., Medley, G.F., Moore, S.J., Ramirez-Villaescusa, A.M., Manson, S., Green, L.E., 2009. A four year longitudinal sero-epidemiological study of bovine herpesvirus type-I (BHV-1) in adult cattle in 107 unvaccinated herds in south west England. *BMC Veterinary Research* 5:5.

## IN VITRO EMBRÜOTE KASVATAMINE: IN VITRO VILJASTATUD, KLOONITUD JA TRANGEENSELT KLOONITUD EMBRÜOTE BLASTOTSÜSTIDE SAAGIS.

Pille Pärn<sup>1</sup>, Mario Plaas<sup>1,2</sup>, Ülle Jaakma<sup>1</sup>, Sulev Kõks<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, sigimisbioloogia osakond

<sup>2</sup> TÜTI transgeense tehnoloogia labor

<sup>3</sup> TÜ arstiteaduskond, füsioloogia instituut

Biotehnoloogia kiire areng 20 sajandi lõpus on teinud võimalikuks veise embrüoid kavatada väljaspool organismi kuni blastotsüsti staadiumini tehnilikes laboritingimustes nn katseklaasis.

Veiste munarakkude viljastamine ja embrüote kasvatamine in vitro ehk nn katseklaasis töötati välja juba 1980- tel aastatel. Eestis sündis esimene nn katseklaasi viljastatud lehm 1994-dal aastal. In vitro embrüote kasvatamine on leidnud laialdast kasutust nii teaduslikes uurimistööstest kui ka põllumajanduses, nt in vivo embrüote külmutamine, embrüo soo määramine, suguselekteritud sperma kasutamine ja ka farmaatsiatööstuses, nt kloonimine.

Kloonimise tehnoloogia põhineb avastusel, et diferentseerunud keharaku süstimisel munarakku ning rakku „ümberrprogrammeerimine“ munaraku tsütoplasmas võib anda aluse uue elujõulise organismi arengule. Esimene kloonitud suurloom- lammas Dolly sündis 1997 aastal, paar aastat hiljem klooniti esimene lehm, kits, siga, hobune. Kloonimise tehnoloogiast loodeti suurt kasu eelkõige biomeditsiinile. Kloonitud suurloomi loodeti kasutada rekombinantsete valkude tootmiseks, mida oleks võimalik kasutada inimeste ravimiseks, samuti ksenotransplantatsiooniks, mille eesmärk on kasvatada inimesele siirdamiseks sobivaid organeid ning ka baasuuringutes, mis võimaldaks kasutada kloonitud suurloomi kui inimeste haiguste mudeleid. Kloonimisest loodeti otsest kasu ka põllumajandusloomade aretuses: haigustele

vastupidavamad, parem lihaste arengu ja parema piima koostisega lehmatõud. Vaatamata esimestele edukatele katsetele ja paljude teadus- ja biotehnoloogia firmade jõupingutustele on kloonimine siiski ebaefektiivne meetod. Kloonitud embrüote siirdamine on alati seotud suure riskiga. Enamik kloonitiinuseid katkeb varajases arengujärgus (-keskmine tiinuse kestvus vähem kui 3 kuud), kloonitud loodetel on leitud väga palju erinevaid väärarenguid, väga tihti sünnivad kloonlooted surnult või surevad peale sündi. Kõiki ebanormaalse tiinusega seotud probleeme seostatakse embrüote kasvatamisega tehnilistes tingimustes, mis ei vasta siiski päris täpselt looma emakas olevale kasvukeskkonnale ning lisaks on kloonembrüote puhul probleemiks eelkõige sobiva doonorakuliini valik. Suurloomade kloonimiseks on kasutatud palju erinevaid somaatilisi rakke, kuid mitte ükski rakutüüp ei ole osutunud väga sobivaks. Erinevates laborites on saadud erinevate rakuliinidega väga erinevaid tulemusi. Siiski kõige sobivamaks on siiani osutunud 2-4 kuuste loodete naharakkudest kasvatatud primaarsed fibroblasti rakuliinid. Naha fibroblastid on osutunud kõige sobivamaks, kuna naha rakud on kiire paljunemisvõimega, neid on lihtne laboris koekultuuritingimustes kasvatada. Naharakkudesse võõr-DNA sisseviimine on lihtne ja efektiivne meetod transgeensete rakuliinide saamiseks. Samas on aga iga kloonimisel efektiivne fibroblasti rakuliin osutunud nii hinnaliseks, et mitte ükski teaduslabor ega biotehnoloogia firma ei ole nõus kloonimiseks sobivaid rakuliine müüma. Seetõttu tuleb igal laboril ise isoleerida ja testida kloonimiseks sobivad rakuliinid.

Eesti Maaülikooli laboris käivitus 2009 aastal projekt, mille eesmärk on töötada välja veiste transgeensete embrüote tootmise tehnoloogia, eesmärgiga toota lehma piimas erinevaid valke, mida on võimalik kasutada inimeste ravis.

## Materjal ja meetodika

### Munarakkude saamine

Veise munasarjad koguti Valga ja Rakvere tapamajades 39 °C füsioloogilist lahust sisaldavatesse termostesse ja transporditi laborisse vähemalt nelja tunni jooksul. Munasarjadest aspireeriti munarakud vaakumkatsutisse 2-7 mm suurustest folliikulitest kasutades spetsiaalset hästi madala võimsu-

sega vaakumpumpa. Otse munarakudest aspireeritud munarakud ei ole aga veel viljastamisvõimelised ning seetõttu tuleb munarakke hoida üks ööpäev ehk 24 tundi koekultuuri inkubaatorites spetsiaalsetes lahustes, millele on lisatud folliikuleid stimuleerivat hormooni ning luteiniseerivat hormooni, mis aitavad munarakudel saavutada viljastamiseks või kloonimiseks sobiva küpsusastme.

### Munarakkude viljastamine

Veise munarakkude in vitro ehk nn katseklaasis viljastamiseks kasutati ETKÜ Kehtna seemendusjaamast ostetud spermat. Munarakkude viljastamiseks sobiva pulli sperma väljavalimiseks testiti kuue erineva pulli spermat hinnates spermatoosidide otseliikuvust kompuuteralalüüsi abil. Katseklaasi viljastamiseks valisime ainult nende pullide sperma, kelle spermas vähemalt 50% spermatoosididest olid otseliikuvad. Munarakkude viljastamiseks kasutati viljastamislahust, mis koosneb erinevatest naatriumi, kaaliumi, magneesiumi ja kaltsiumi sooladest ning veise seerum albumiini lahusest ja bioaktiivsetest ainetest (penitsillamiin, hüpotauriin, epinefriin, hepariin). Viljastumise toimumiseks tuleb viljastamislahuses olevad munarakud ja sperma asetada tagasi koekultuuri inkubaatoritesse (39 °C temperatuur, 5.5% CO<sub>2</sub>, 80 % õhuniiskus) 18 tunniks.

### Kloonimine

Sobiva küpsusastme saavutanud munarakke on võimalik kasutada ka kloonimiseks. Kasutades imepeenikest nõela imetakse polaarkeha koos munaraku tuumaga munarakust välja. Ilma tuumata munarakku süstitakse veise naharakust pärit fibroblast või transgeenne fibroblast. Fibroblasti ja munaraku tsütoplasma ühinemiseks kasutatakse nõrka elektrivoolu ( 65 V 2 usec), mis lastakse läbi pisikesest kambrist, kus kahe peenikese metallist traadi vahele asetatakse munarakud. Selleks, et fibroblasti tuum oleks aga võimeline arenema embrüoks on vaja kasutada ka kaltsium-ionofoori lahust, mis koos 6- DMAP lahusega aitab kaasa embrüo varajasele arengule.

### Veiste embrüote in vitro ehk katseklaasis kasvatamine

Viljastatud või kloonitud embrüoid kasvatati laboris seitse päeva spetsiaalsetes koekultuuri inkubaatorites (39 °C temperatuur, 5.5% CO<sub>2</sub>, 5,5% O<sub>2</sub>,

80 % õhuniiskus) ning spetsiaalsetes embrüo kasvu lahustes. Embrüo kasvu lahuseid segati kokku naatriumi, kaaliumi, magneesiumi ja kaltsiumi sooladest, veise seerumist, aminohapetest ja mõningatest teistest kemikaalidest, mis pakuvad embrüole arenguks vajalikke toiteaineid nii nagu see toimub organismi seeski.

#### Veise naharakuliini saamine

Kloonimiseks sobiva doonorakuliini saamiseks kasutati Valga tapamajast saadud 2-4 kuu vanuste loodete nahast lõigatud 1x1 cm suuruseid nahatükke. Nahatükk lõigati 1x1 mm suurusteks tükkideks, mis pandi kasvama koekultuuri tassidele spetsiaalsesse kommertsiaalsesse kasvulahusesse. Seitme päeva jooksul läksid naharakud jagunema ja kasvasid koekultuuri tassil üksikute rakkudena. Primaarsed rakuliinid külmutati kümutussöötmes edaspidiseks manipulatsiooniks.

#### Transgeensete rakuliinide saamine

Transgeensete rakkuliinide saamiseks kasvatati rakud üles koekultuuri tassidel. Rakud eemaldati tassilt, suspendeeriti üles transfektsiooni lahuses ning segati kokku võõr- DNAGA. Kasutades elektrivoolu tekitati rakkude membraanidesse augud, läbi mille pääsesid DNA-molekulid rakkudesse. Transgeenseid rakuliine testiti PCR meetodiga. Võõr-DNAd sisaldavaid veise naharakuliine kasutati transgeenseks kloonimiseks.

### **Tulemused ja arutelu**

Eesti Maaülikooli Veterinaar- ja loomakasvatuse instituudi sigimisbioloogia osakonna transgeense tehnoloogia laboris alustati in vitro embrüote tootmise tehnoloogia arendamisega 2009 aastal. Selleks, et testida erinevaid embrüo kasvulahuseid kasutasime embrüote in vitro tootmise ehk embrüote katseklaasi viljastamise meetodit. Mis võimaldas meil testida erinevaid lahuseid ja söötmeid, mida hiljem kasutada kloon- ning transgeensete kloonembrüote toomiseks.

Katseklaasis viljastatud ning kloonitud embrüote blastotsüstide saagis on esitatud tabelis 1. Tabelis on esitatud 2011 sügisel katseklaasi viljastamisel saadud tulemused. Kokku tehti 20 katseklaasi viljastamise katset. Kloonimise tehnoloogia arendamisega alustati 13.01.2009, kokku teostatud 39 katset. Transgeensete fibroblastide kloonimise tehnoloogiaga alustati alates 25.01.2011, teostatud on kokku 15 katset.

**Tabel 1.** Katseklaasis viljastatud ning kloonitud embrüote blastotsüstide saagis.

Katse	Munarakkude arv	Blastotsüstide arv	Blastotsüstide saagis
Katseklaasi viljastamine	1985	242	12,19 %
Kloonimine	1172	139	11,86 %
Transgeenne kloonimine	538	62	11,52 %

Veise embrüote in vitro ehk nn katseklaasis kasvatamisel saadi spermaga viljastamisel 1985 embrüo kasvatamisel 242 blastotsüsti. 1172 embrüo kloonidest arenes blastotsüsti tasemeni 139 embrüot. Transgeensest 538-st embrüost arenes blastotsüsti tasemeni 62 embrüot. Blastotsüstide saagist hinnati seitsmendal päeval. Tabelist olevate andmete põhjal võib väita, et blastotsüstide saagis oli sama suur kõigis kolmes katsegruppi, vastavalt 12.19%, 11.86% ja 11.53%. Suurim erinevus oli seotud blastotsüstide morfoloogiaga. Katseklaasi viljastamisel saadud embrüote läbimõõt oli suurem, osad blastotsüstid olid peale koorumist ümber kaks korda suuremad kui kloonblastotsüstid ja transgeensed kloonblastotsüstid. Lisaks ei olnud kloonblastotsüstid ja transgeensed kloonblastotsüstid võimelised iseseisvalt kooruma, erinevalt katseklaasivi viljastatud blastotsüstidest. Kloonblastotsüstide ja transgeensete kloonblastotsüstide arengus, suuruses ja iseseisvas koorumisvõimes erinevusi ei olnud.



## Järeldused ja kokkuvõte

Meie katsed näitavad, et kloonimise tehnoloogiaga on võimalik sama efektiivselt embrüoid blastotsüsti staadiumini kasvatada kui nn katseklaasi viljastamisega. Sammuti ei vähenenud blastotsüstide saagis kui kasutati kloonimiseks transgeenseid rakuliine. Järelikult oleme suutnud isoleerida kloonimiseks sobiva rakuliini. Meie edaspidised uuringud on seotud in vitro viljastatud embrüote, kloonembrüote ja transgeensete kloonembrüote geeniekspressiooni muustride tuvastamisega.

## Kasutatud kirjandus

Iguma L. T et al (2005). Development of bovine embryos reconstructed by nuclear transfer of transfected and non-transfected adult fibroblast cells. *Genetics and Molecular research* 4 (1): 55-66.

Hansen P. J. (2006). Realizing the promise of IVF in cattle- an overview. *Theriogenology* 64 (1): 119-125.

# LEHMADE EMAKAPÕLETIKU DIAGNOOSIMISVIIS VÕIMALDAB PROGNOOSIDA TIINESTUMIST

Merle Valdmann<sup>1</sup>, Andres Valdmann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, teraapia osakond  
<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, sigimisbioloogia osakond

Käesolevas artiklis antakse lühiülevaade lehmade emakapõletike kaasaegsetest klassifitseerimisprintsipiidest, mille korral põletikku iseloomustavaid tunnuseid seostatakse looma tervisega, eelkõige edaspidise tiinestumisega. Ühtlasi tutvustatakse lugejale tsütoloogiliselt diagnoositud emakapõletike alaseid uuringuid Eestis.

Kõige olulisemad piima tootmise tasuvust piiravad tegurid on haiguste ja sigimatuse tõttu pealesunnitud karjast prakeerimine ja pikk poegimisvahemik (Inchaisri jt., 2010). Poegimisjärgsed emakapõletikud takistavad lehmade õigeaegset tiinestumist, olles ühtlasi ka karjast sundprakeerimise riskiteguriks. Põletikust tingitud muutused võivad emakas olla pöördumatud, mille tagajärjel loom enam ei tiinestu ning ta prakeeritakse karjast.

Tiinuse ajal on lehma emakavalendik steriilne. Poegimise ajal emakakael avaneb ning jääb avatuks paljude sünnitusjärgsete päevade jooksul. Sel ajal saastub bakteritega üle 95% lehmade emakatest (Sheldon jt., 2002). Bakteriaalseid patogeene e. haigustekitajad klassifitseeritakse 3 kategooriasse:

1) emaka tuntud patogeene; 2) emaka potentsiaalsed patogeene ja 3) emakat saastavad oportunistlikud bakterid. Selline klassifikatsioon on mõnevõrra subjektiivne, kuid põhineb bakterite võimel kutsuda esile emakapõletikke, sealhulgas kliinilist põletikku. Emaka tuntud patogeene on *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli*, *Prevotella. melaninogenicus* ja *Fusobacterium necrophorum* (Sheldon jt., 2006). Lehma emakas olevad bakterid tuvastatakse vastavate retseptorite abil. Immuunsüsteemi rakkude Tolli-laadsete retseptorite (TLR) rühma kuuluvad retseptorid toimivad ohuretseptoritena,

andes organismile signaali immuunsüsteemi aktiveerumiseks. Näiteks TLR - 4 tunneb ära Gram-negatiivsete bakterite, sealhulgas *E.coli* väliskesta lipopolüsahhariide. Pärast organismile ohtlike bakterite „äratundmist“ vallandub emaka endomeetriumi (emaka sisemine kiht) hulk erinevaid keemilisi ühendeid, mis aktiveerivad immuunvastuse. Siinjuures on kohane märkida, et immunoloogid Bruce A. Beutler ja Jules A. Hoffmann said Tolliladsete retseptorite organismi immuunsüsteemi aktiveeriva funktsiooni avastamise eest 2011. aastal Nobeli meditsiinipreemia. Vastuseks immuunsüsteemi aktiveerumisele migreeruvad leukotsüüdid, peamiselt neutrofiilid, infektsioonikoldesse, kus nad sulundavad ja hävitavad baktereid. Leukotsüütide migreerumine emakasse kujutab endast organi immuunkaitse olulist osa. Aja möödudes emaka bakteritega saastatus väheneb ja emaka involutsiooniga paralleelselt väheneb tavaliselt ka põletikule iseloomulike rakkude arv.

Vaatamata sellele, et valdavalt on lehmade emakad poegimisjärgselt bakterite poolt saastunud, ei teki kõikidel lehmadel emakapõletikku. Viivitamatu ja adekvaatne immuunvastus võimaldab kontrollida bakterite ülemäärast paljunemist. Kui bakterite kasv ületab immuunvastuse suutlikkuse, tekib kliiniline emakapõletik. Pikale veninud põletik ja infektsioon halvendavad tiinestumist.

Emakapõletike iseloomustamiseks kasutatakse termineid **metriit** ja **endometriit**. Sageli aetakse need terminid segamini ja kasutatakse kui sünonüüme, mis teeb erinevate uuringutega saadud tulemuste võrdlemise raskeks, kui isegi mitte võimatuks.

2006. aastal pakkusid vastava valdkonna juhtivad uurijad (Sheldon jt. 2006) välja **metriidi** ja **endometriidi standardiseeritud definitsioonid**. Need definitsioonid ei pruugi olla absoluutselt tõesed, kuid nad toetuvad käesolevatele teadmistele ja arusaamadele ning neid järgitakse kaasaegses teaduskirjanduses.

Piimalehmade **poegimisjärgset metriiti** (puerperaalmetriiti) defineeriti kui emaka bakteriaalse infektsiooniga kaasnevat akuutset süsteemset haigust, mis esineb 21 poegimisjärgse päeva jooksul. Metriiti iseloomustavad ebanormaalselt suurenenud emakas, haisev vesine punakaspruun vaginaalnõre, palavik  $>39,5^{\circ}\text{C}$  ja süsteemse haiguse tunnused (vähenenud piimatoodang ja söömus, loidus, dehüdratatsioon või teised tokseemia tunnused). Süsteemsete haigus-

nähtudeta loomad, kellel esineb esimese 21 poegimisjärgse päeva jooksul ebanormaalselt suurenenud emakas koos mädase vaginaalnõrega klassifitseeriti **kliinilist metriiti** põdevateks.

Terminid **kliiniline endometriit** kasutatakse süsteemsete haigustunnusteta lehmade puhul, kelle tupest leiti 21. või hilisemal poegimisjärgsel päeval mädast või pärast 26. poegimisjärgset päeva limasmädast nõret.

**Subkliinilise endometriidi** korral puuduvad lehmadel endometriidile viitavad kliinilised tunnused (mädase nõre puudumine tupes). Tsütoloogiliseks diagnoosimiseks pakutud künnis on 21.-33. poegimisjärgsel päeval  $\geq 18\%$  ja 34.-47. poegimisjärgsel päeval  $\geq 10\%$  põletikule iseloomulikke rakke.

**Püomeetrat** e. **mädaemakat** iseloomustab mäda kogunemine suletud emakaelaga emakasse ja kollakeha olemasolu.

Viimasel ajal peetakse emakapõletike defineerimisel oluliseks leidude seostumist haiguse raskusastme ja lehmade hilisema tiinestumisega või ravi tulemuslikkusega.

2009. aastal täpsustati definitsioone. Nii pakkusid Sheldon jt. (2009) välja **metriitide** jaotamise astmetesse, sõltuvalt looma tervislikust seisundist:

- 1) esimese astme metriidi korral on tegemist ebanormaalselt suure emakaga koos mädase nõrega, kuid ilma looma süsteemsete haigusnähtudeta;
- 2) teise astme metriidi korral lisanduvad süsteemse haiguse tunnused, nagu vähenenud piimatoodang, loidus, ja kehatemperatuur  $> 39,5^{\circ}\text{C}$ ;
- 3) kolmanda astme metriidiga on tegemist siis, kui loomal esinevad tokseemia tunnused nagu isutus, külmad jäsemed, depressioon ja/või kollabeerumine. Kolmanda astme metriidi prognoos on halb.

**Kliiniliste endometriitide** klassifitseerimiseks pakkusid Sheldon jt. (2009) välja tupenõre iseloomul põhinev neljaastmeline skaala

0 - selge või poolläbipaistev lima; 1- lima, mis sisaldab valgeid või koltunud-valgeid mädahelbeid; 2 – eksudaat, mis sisaldab alla 50% valget või

koltunud-valget limas-mädast materjali; 3 – eksudaat, mis sisaldab  $\geq 50$  % mädast materjali, mis tavaliselt on valge või kollane, kuid mõnikord verine. Nõre iseloomule vastav skaala aste korreleerub patogeensete bakterite arvuga emakas (Williams jt 2005), samuti ravi edukusega (Sheldon ja Noakes, 1998). Näiteks, nõre iseloomu järgi klassifitseeritud 2. ja 3. astme endometriidiga loomadel oli patogeensete bakterite arv emakas oluliselt kõrgem, võrreldes 0 ja 1. astme loomadega, ravi edukus oli 0 astme puhul  $> 95\%$ , 1. astme puhul  $75\%$ , 2. astme puhul  $60\%$  ja 3. astme korral  $40\%$ .

**Subkliinilist endometriiti** iseloomustab endometriidi kliiniliste tunnusteta endomeetriumi põletik, mille tagajärjel sigivus oluliselt langeb. Subkliinilist endometriiti tehakse kindlaks emaka loputusvedelikust või emakast tsütoharjaga võetud polümorfuumsete rakkude protsendi alusel.

Uus termin **tsütoloogiline endometriit** (tsütoloogiliselt diagnoositud endometriit) tähistab põletikku, mille korral emakast tsütoharjaga võetud või emaka loputusvedelikust saadud proovist leitakse emakaepiteelirakkude kõrval rohkesti leukotsüüte, eelkõige neutrofiile, seda nii subkliinilise kui ka kliinilise endometriidi korral. Lehmade poegimisjärgse endometriidi tsütoloogilise diagnoosimise kriteeriumiks võetakse selline põletikule iseloomulike rakkude arv, millel on oluline seos lehma edaspidise tiinestumisega.

Lähtuvalt sellest, et endomeetriumi tsütouuring võimaldab nii kliiniliste kui ka subkliiniliste endometriitide diagnoosimist, peetakse nimetatud uuringut käesoleval ajal endometriidi referentstestiks (Barlund jt., 2008; Gilbert jt., 2005; Kasimanickam jt., 2004).

Dubuc jt. (2010) võrdlesid endometriidi täpsema määratlemise ja diagnoosimise eesmärgil lehmadel poegimisjärgselt võetud endomeetriumi tsütoloogilisi proove ja tupenõret. Tsütoloogilise ja kliinilise endometriidi diagnostilised kriteeriumid seostati leidude mõjuga sigisminäitajatele. Tulemuste alusel rühmitati lehmad järgnevalt: 1. ainult tsütoloogilise endometriidiga

loomad; 2. ainult kliinilise endometriidiga loomad; 3. nii tsütoloogilise kui ka kliinilise endometriidiga loomad. Huvipakkuv on asjaolu, et kliinilise endometriidiga loomadel esines olenevalt poegimisjärgse uuringu ajast ainult  $38\%$  ( $35 \pm 3$  päeva) ja  $36\%$  ( $56 \pm 3$  päeva) tsütoloogilist endometriiti. Püstitati hüpotees, et kliinilist endometriiti ja tsütoloogilist endometriiti võivad põhjustada sigimiselundite erinevate osade (emakakael, tupp) põletikud. Uuringu tulemustest lähtuvalt tuleks autorite arvates edaspidi mõiste kliiniline endometriit asendada mõistega mädane tupenõre. Emakapõletikke võiks edaspidi klassifitseerida vastavalt emaka seisundile järgmiselt: ainult mädane tupenõre, ainult tsütoloogiline endometriit, mädane tupenõre koos tsütoloogilise endometriidiga. Saadud tulemused on huvitavad, kuid käesoleva artikli autorite arvates on tsütoloogilise endometriidi esinemus mädase tupenõrega lehmadel mingil põhjusel aladiagnoositud. Selles valdkonnas on kindlasti vajalikud edaspidised uuringud.

### Tsütoloogiliselt diagnoositud emakapõletike alased uuringud Eesti Maaülikoolis

Eesti Põllumajandusministeeriumi poolt rahastatud rakendusuuringu „Lüpsilehmadel sagedamini esinevate haiguste ja tervist peegeldavate parameetrite riskihinnangud, nende mõju loomade karjas püsimise edukusele, prakeerimispõhjustele ja tiinestumisele. Kompleksuur“ üheks eesmärgiks on tsütoloogiliselt diagnoositud endometriitide esinemuse ja mõju selgitamine lüpsilehmade sigivusele ja karjas püsimisele.

Käesolevas artiklis esitame seni läbiviidud uuringute tulemusi.

## Läbiviidud uuringud

Käesoleva artikli autorite poolt väljatöötatud riistastiku abil võeti 119 multi-paarse lehma emakast 40.-ndal poegimisjärgsel päeval tsütomaterjal. Igast tsütoproovist valmistati 4 äiet, millest 2 värviti May-Grünwald-Giemsa järgi ja 2 säilitati immunotsütokeemilisteks uuringuteks. Tsütopreparaate uuriti mikroskopeerimise abil. Igas preparaadis leiti polümorftuumsete neutrofiilide protsent 100 kokkuloetud raku kohta. Neutrofiilide osakaalu ja 120. poegimisjärgse päeva tiinestumisandmete suhteliste töökarakteristikute (receiver operator characteristic - ROC) kõvera analüüsil leiti põletiku klassifitseerimise optimaalne kriteerium. Optimaalseks kriteeriumiks loeti väärtus, mis andis ROC kõvera analüüsil tundlikkuse ja spetsiifilisuse maksimaalse summa. Eeltoodust tulenevalt klassifitseeriti lehmad, kelle endomeetriumis leiti 40. poegimisjärgsel päeval üle 8% neutrofiile, endometriiti põdevateks. Leitud kriteerium oli statistiliselt usutavalt seotud lehmade tiinestumisega. Kõikidel katselehmadel registreeriti poegimisaegsed ja -järgsed terviseprobleemid ja haigused (abistamist vajav poegimine, kaksikud, päramiste peetus, metriit, hüpokaltseemia mädane tupenõre, mastiit, tugev longe). Tervisprobleemidega ja haigetest loomadest moodustati kliiniliselt haigete lehmade rühm.

## Tulemused

Tuvastati, et 40.-ndal poegimisjärgsel päeval esines tsütoloogiliselt diagnoositud endometriite 30%-l uuritud lehmadest (36/119). Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriit avaldas negatiivset mõju sigivusele ja karjas püsimisele. Jooniselt 1 on näha, et kliiniliselt tervetel lehmadel, kellel tsütoloogilist endometriiti ei esinenud kulus tiinestumiseks kõige vähem aega. Nii kliiniliste haiguste kui ka tsütoloogilise endometriidi esinemine mõjusid lehmade tiinestumisele negatiivselt. Kliiniliselt haigetel, kuid tsütoloogilise endometriidita lehmadel oli mediaan ajavahemik poegimisest tiinestumiseni 20 päeva võrra pikem ( $P = 0,06$ ), võrreldes kliiniliselt tervete lehmadega. Samas oli kliiniliselt tervetel, kuid tsütoloogilise endometriidi diagnoosiga lehmadel mediaan ajavahemik poegimisest tiinestumiseni kliiniliselt tervete lehmadega võrreldes 91 päeva võrra pikem ( $P = 0,003$ ). Kui tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga kaasnes ka mõni kliiniline haigus, pikenes mediaan aja-

vahemik poegimisest tiinestumiseni veelgi, olles 111 päeva võrra pikem ( $P < 0,0001$ ), võrreldes kliiniliselt ja tsütoloogiliselt tervete lehmadega.

Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidi ja kliiniliste haiguste mõju tiinestumisele esimesest seemendamisest ja karjast prakeerimisele on esitatud Tabelis 1. Tsütoloogilise endometriidi diagnoosiga kaasnes tiinestumise langus esimesest seemendamisest ja kasvas lehma karjast prakeerimise risk. Kui tsütoloogilise endometriidi diagnoosiga kaasnes ka mõni kliiniline haigus, vähenes tiinestumine esimesest seemendamisest ja kasvas karjast prakeerimise risk veelgi, võrreldes kliiniliselt ja tsütoloogiliselt tervete lehmadega. Saadud tulemustele toetudes saame väita, et tiinestumist ja karjast prakeerimist mõjutab kõige enam tsütoloogiliselt diagnoositud endometriit kui selle diagnoosiga kaasnes ka mõni kliiniline haigus. Tsütoloogilise endometriidi diagnoosiga lehmadel, kes olid ka kliiniliselt haiged, vähenes tiinestumise risk esimesest seemendamisest 7,27 korda ( $P=0,003$ ) ja kasvas karjast prakeerimise risk 7,14 korda ( $P=0,037$ ), võrreldes kliiniliselt ja tsütoloogiliselt tervete lehmadega.

## Kokkuvõte

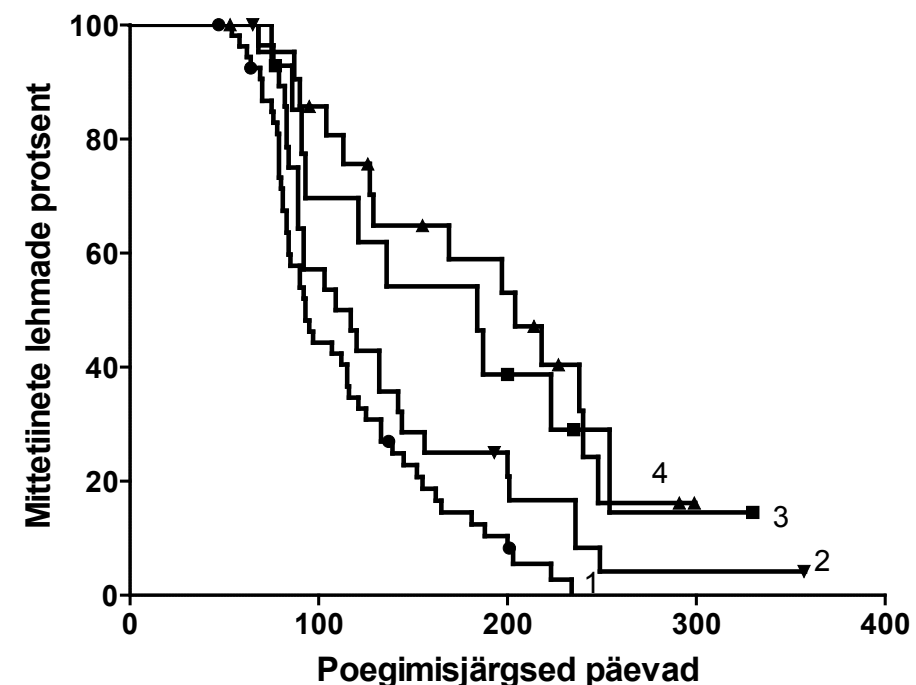
Tsütoloogiline diagnoosimine on käesoleval ajal piimalehmade poegimisjärgsete emakapõletike kõige täpsem diagnoosimismeetod.

Tsütoloogilise endometriidi diagnoosimise kõige tugevamaks küljeks võib pidada asjaolu, et lehmade tunnistamine tsütoleiu alusel terveteks ja endometriidiga loomadeks põhineb uurimistulemuste seostamisel poegimisjärgse tiinestumisega.

Tiinestumist ja karjast prakeerimist mõjutab kõige enam tsütoloogiliselt diagnoositud endometriit kui selle diagnoosiga kaasnes kliiniline haigus.

Lähtudes meie poolt läbiviidud uuringu tulemustest, et tsütoloogiline endometriit avaldab olulist negatiivset mõju lehmade sigivusele ja karjas püsimisele, on sigimisprobleemidega karjades õigustatud endometriidi tsütoloogiline seire.

Käesolevas artiklis esitatud tulemuste saamiseks vajaliku uurimismaterjali kogumisest võtsid osa Jevgeni Kurõkin, Gret-Kristel Mällo, Kadri Soidra Merle Valdmann ja Andres Valdmann.



- 1 ● Kliniliselt terved PMN < 8%    2 ▲ Kliniliselt haiged PMN < 8%  
3 ■ Kliniliselt terved PMN > 8%    4 ▲ Kliniliselt haiged PMN > 8%

**Joonis 1.** Kaplani-Meieri hinnang tiinestunud lehmade proportsioonile sõltuvalt poegimisjärgsetest päevadest: 1 tsütoloogiliselt diagnoositud tervetel (neutrofiile  $\leq 8\%$ ) ja kliiniliselt tervetel; 2 tsütoloogiliselt diagnoositud tervetel (neutrofiile  $\leq 8\%$ ) ja kliiniliselt haigetel; 3 tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga (neutrofiile  $> 8\%$ ) kliiniliselt tervetel ja 4 tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga (neutrofiile  $> 8\%$ ) kliiniliselt haigetel lehmadel. Keskmise (mediaan) ajavahemik poegimisest tiinestumiseni oli tsütoloogiliselt diagnoositud tervetel ja kliiniliselt tervetel lehmadel 93 päeva, tsütoloogiliselt diagnoositud tervetel ja kliiniliselt haigetel lehmadel 113 päeva; tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga ja kliiniliselt tervetel lehmadel 184 päeva ning tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga ja kliiniliselt haigetel lehmadel 204 päeva. Mustad märgid kõveratel tähistavad karjast prakeeritud lehmi.

## Kasutatud kirjandus

Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. (2008) A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, **69**, 714-723.

Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. (2010) Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **93**, 5225-5233.

Gilbert RO, Shin ST, Guard CI, Erb HN, Frajblat M. (2005) Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, **64**, 1879-1888.

Inchaisri C, Jorritsma R, Vos PL, van der Weijden GC, Hogeveen H. (2010) Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology*, **74**, 835-846.

Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. (2004) Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, **62**, 9-23.

Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. (2009) Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod.* 2009, **81**,1025-1032.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, **65**, 1516-1530.

Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. (2002) Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, **123**, 837-845.

Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. (2005) Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, **63**,102-117.



**TERVE  
LOOM**