

	Kokku	Kulude jagunemine aastate kaupa	
		2003	2004
Töötasud	748037	335342	412695
Sotsiaalmaks	246852	110663	136189
Töötuskindlustusmaks	3739	1676	2063
Üldkulud max 30 %	244072	142374	101698
18% käibemaks	122034	122034	
Lähetuskulud	1210		1210
Materjalid, tarvikud	30529		30529
Masinad, seadmed	100779	31009	69770
Muud kulud	102748	56902	45846
Kokku	1600000	800000	800000

2004.a. kulude põhjendus:

Põhiline kuluartikkel oli töötasu, milleks kulutati 412695 krooni. Üldkulude arvelt maksti labori ventilatsiooni rekonstrueerimisprojekti kulude katteks 28000 krooni. Materjalide osas osteti mikrobioloogilisi söötmeid ja adjutante 30529 krooni eest. Seadmete arvelt hangiti laborile II klassi laminaarboks 59579 krooni.

9. PROJEKTI ARUANNE (läbiviidud tööd, saadud uued teadmised ja tulemused jne.):

I. Lehmade mastiidi vastase farmispetsiifilise polüvalentse bakteriini valmistamise tehnoloogia väljatöötamine. Bakteriini efektiivsuse selgitamine Eesti piimafarmides

Kavandatud uurimistöö eesmärgiks oli lehmade mastiidi vastase polübakteriini efektiivsuse selgitamine. Seoses sellega vajasid teostamist järgmised tööd:

1. Farmispetsiifiliste polübakteriinide valmistamiseks sobivate mastiiditekitajate isoleerimine, identifitseerimine ja selekteerimine.
2. Polübakteriini partiide valmistamine ja nende kvaliteedi kontrollimine.
3. Polübakteriini ohutuse ja efektiivsuse selgitamine erinevates piimafarmides

Polübakteriin

Polübakteriini koostises on viis bakteriliiki: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium renale* ja *Arcanobacterium pyogenes*. Valmistati viis polübakteriini partiid. Iga partii sisaldas ainult konkreetsest farmist isoleeritud ülalmainitud mastiiditekitajaid. Polübakteriinid valmistati Vorbuse, Melliste, Laatre, Põlva ja Estonia piimafarmidele. Polübakteriinis sisalduv bakterite suspensioon on surmatud formaliiniga ja konserveeritud fenooliga, vastavalt 0,3% ja 0,1% mahuprotsenti toote üldmahule arvatuna. Adjuvandiks on lisatud alumiiniumhüdrosiid-geeladjuvanti (Brenntag Biosector, Denmark) 20% üldmahust. Bakteriin ei sisalda antibiootikume, seega ei kaasne lakteerivatele lehmadele manustamisel piima kasutamiseks keeluaega. Kõik viis polübakteriini partiid kontrolliti vastavalt kehtestatud kvaliteedi kontrolli eeskirjadele Eesti Agrobiokeskuse vaktsiinide laboratooriumis. Partiide ohutuse kontrollimine teostati Vorbuse piimafarmis. Iga partii bakteriini süstiti 10-le lehmale vastavalt kasutuse juhendile 2x 2-e nädalase intervalliga. Esimene süstendoos 10ml ja teine 15ml. Süstiti kaelalihastesse. Kõik bakteriinipartiid olid ohutud. Loomadel ei tekkinud manustamise järgselt mingeid kõrvalnähte.

Tabel 1. Somaatiliste rakkude arv (SRA x 1000) vaktsineeritud ja vaktsineerimata lehmadel enne katse algust ja 2 kuud hiljem

SRA arv	Enne vaktsineerimist (juuli 2004)				Pärast vaktsineerimist (sept. 2004)			
	vaktsi- neeritud lehmade arv	%	kontroll lehmade arv	%	vaktsi- neeritud lehmade arv	%	kontroll lehmade arv	%
kuni 200	12	26,1	11	39,3	9	19,6	6	21,4
201-500	7	15,2	3	10,7	9	19,6	6	21,4
501-700	6	13	2	7,2	2	4,3	2	7,1
701-1 milj.	8	17,4	3	10,7	4	8,7	1	3,6
üle 1 milj.	13	28,3	9	32,1	22	47,8	13	46,4
Kokku lehmi	46		28		46			28

Antikehade tiitri määramine

Vaktsineerimisjärgsete antikehade dünaamika selgitamiseks valmistati Vorbuse farmi bakterite tüvedest eraldi somaatilised antigeenid. 24 h veriagaritel kasvatatud bakterite kolooniast valmistati füsioloogilise lahusega pH 7,2 tihedad bakterisuspensioonid, millele lisati tilkhaaval 96%-list etüülalkoholi lõppmahuna 1:1. Järgnes 20 h inkubeerimine termostaadis 37°C. Saadud antigeeni säilitati tihedalt suletuna +4°C juures. Tiitrimiseks kasutatav antigeeni töölahus saadi kontsentraadi lahjendamisel füsioloogilise lahusega. Tiitriti plastik tiitrimisplaatidel. Tiitriti 0,5 ml seerumi mahtusid kahekordsete lahjendusastmete ridadena. Uuritavaid seerumeid inaktiveeriti 30 min 56°C juures vesivannil. Vereproovid lehmadel võeti kägiveenist 7 ml vaakumvereklaasidesse Vacutainer (Becton Dickinson).

Tabel 2. Kliiniliste mastiitide esinemine laktatsiooni perioodil vaktsineeritud lehmadel Vorbuse farmis (august-oktoober 2004)

Bakterioloogiline leid	Vaktsineeritud lehmad (n = 46)	Kontroll lehmad n= 28
S. aureus	-	1
KNS	1	2
Str. agalactiae	-	2
Str. uberis	-	-
Arc. pyogenes	1	2
C. renale	-	-
Koliform	2	1
Str. spp	2	1
Corynebacterium spp	-	-
Bakteriol. leiuta	-	-
Kokku mastiite	6 (13,0%)	9 (32,1%)

Tabel 3. Subkliiniliste mastiitide (SRA üle 1 milj.) esinemine laktatsiooni perioodil vaksineeritud lehmadel Vorbuse farmis Vorbuse farmis (august - oktoober 2004)

Bakterioloogiline leid	Vaksineeritud lehmad (n=46)	Kontroll lehmad (n= 28)
S. aureus	–	4
KNS	8	2
Str. agalactiae	6	4
Str. uberis	1	3
Arc. pyogenes	2	1
C. renale	–	–
Koliform	2	–
Str. spp.	6	7
Corynebacterium spp.	7	4
Bakteriol. leiuta	27	12
Uuritud proove	59	37
Kokku mastiite	32 (54,2 %)	25 (67,6 %)

KNS - koagulaasnegatiivsed stafülokokid

Tabel 4. Poegimisjärgsed mastiidid kinnis perioodil vaksineeritud lehmadel Vorbuse farmis (august- oktoober 2004)

Bakterioloogiline leid	Vaksineeritud lehmad (n = 42)	Kontroll lehmad (n = 38)
S. aureus	–	2
KNS	2	1
S. agalactiae	–	3
Str. uberis	–	–
Arc. pyogenes	–	2
C. renale	–	–
Koliform	3	1
Str. spp.	4	2
Kokku mastiite	9 (21,4 %)	11 (28,9 %)

Loomkatsed

Aruande esitamise tähtajaks teostati polübakteriini kliinilised katsed AS Tartu Agro Vorbuse ja OÜ Melmilk Poka piimafarmides ning saadud läbitöötatud andmed esitatakse käesolevas aruandes. OÜ Estonia ja OÜ Põlva kavandatud uurimistöö ei käivitunud tähtaegselt meist olenemata põhjustel ning lõplikud uurimistulemused selguvad hiljem. Mõlemas uuritud farmis peetakse holstein tõugu karja. Lüpsmine toimus kaks korda päevas torulüpsisüsteemiga Alfa Laval. Viimaste aastate piimatoodang on olnud 7000-8000 kg lehma kohta.

Tabel 5. Kliiniliste mastiitide esinemine laktatsiooni perioodil vaksineeritud lehmadel Poka farmis (august - oktoober 2004)

Bakterioloogiline leid	Vaksineeritud lehmad (n = 63)	Kontroll lehmad (n = 46)
S. aureus	–	2
KNS	2	1
S. agalactiae	–	1
Str. uberis	1	–
Arc. pyogenes	–	2
C. renale	–	–
Koliform	3	1
Str. spp.	2	3
Kokku mastiite	8 (12,7 %)	10 (21,7 %)

Lehmi peeti lõastatult v. a. Vorbuse piimafarmis, kus kogu kari aeti septembri lõpus uude vabapidamislautu, kus lüpsmine toimus lüpsiplatsil. Katse- ja kontrollrühma lehmad valiti juulikuus ühe sektsiooni lehmade hulgast. Valiku aluseks oli loomade normaalne tervislik seisund ja kliinilise mastiidi puudumine. Nisade lüpsijärgset desinfitseerimist teostati Poka farmis. Vorbusel ei teostatud. Allapanuks oli saepuru. Lehmi karjatati Poka farmis. Vorbuse katserühma ei karjatatud. Katseperiood algas 2004. a. juulis ja lõppes oktoobris. Lehmai vaksineeriti kaks korda 14 päevase intervalliga. Bakteriini süstiti kaela lihastesse, esimene süstendoos oli 10 ml ja teine 15 ml. Süstekohad desinfitseeriti eelnevalt 70% alkoholiga. Kontroll-lehmadele platsebot ei süstitud. Kogu katseperioodi vältel jälgiti lehmi praktiliselt iga päev. Piimaproovid võeti kõigi kliiniliste mastiitide korral. Vorbuse katserühmas teostati piimaproovide bakterioloogilised uuringud augustis ja septembris ka kõrge soomaatiliste rakkude arvuga (SRA üle 1miljoni) lehmadel, et selgitada subkliiniliste mastiitide olemasolu. Piimaproovid bakterioloogiliseks uurimiseks võeti lüpsi järgselt. Piimaproovide võtmisel kasutati lüpsjate abi. Sellega vähendati proovide sekundaarset saastumist. Oluline oli ka lüpsjate suur kogemus sekretsioonihäirete varajasel avastamisel. Proovikatsutid asetati koheselt jahedasse termokonteinerisse. Väljakülvid piimaproovidest tehti 2-4 h möödumisel. Polübakteriini kasutamise efektiivsuse hindamisel võrreldi vaatlusperioodi jooksul nii vaksineeritud kui ka vaksineerimata lehmadel mastiitide esinemist. Haigestumise korral teostati piimaproovide bakterioloogiline uuring. Samuti võrreldi soomaatiliste rakkude arvu dünaamikat. SRA andmed saadi Jõudluskontrolli Kesklaborist.

Tulemused

Kirjanduse andmetel esineb lehmadel mastiite enamasti poegimisjärgselt 2 kuu jooksul ja laktatsiooniperioodi lõpukuudel. Üldtuntud on ka fakt, et bakteriinide kasutamisel tekkiva immunsuse kestuseks on enamasti 2-4 kuud. Neid asjaolusid arvestades kavandati lakteerivate lehmade vaksineerimine kolmandale ja neljandale laktatsioonikuule. Kinnislehmi vaksineeriti 2x 5-ndal ja 3-ndal nädalal enne loodetavat poegimist.

46 lakteerivat lehma Vorbuse farmis vaksineeriti ja kontrolliks jäeti 28 lehma. Kolmekuulise jälgimisperioodi jooksul esines kliinilist mastiiti 6-el (13%), kusjuures ainult ühel lehmal oli

mastiidi tekitajaks *Arc. pyogenes* (tabel 2). Viie lehma mastiidid olid põhjustatud teistest mastiidi tekitajatest, mille vastu lehma ei vaksineeritud. Kontrollrühma lehmadel esines kliinilist mastiiti 9-l lehmal (32,1%), kusjuures 5-e lehma mastiite põhjustasid need bakterid, mis esinesid polübakteriinis (*S. aureus*, *Str. agalactiae* ja *Arc. pyogenes*) Poka farmis vaksineeriti 63 lakteerivat lehma (tabel 5).

Neist põdesid mastiiti 8 (12,7%) lehma, kusjuures ainult ühel lehmal oli haiguse põhjustajaks *Str. uberis*, st. bakter, mille vastu lehm oli vaksineeritud. Kontrollrühma lehma oli katses 46. Neist põdesid mastiiti 10 (21,7%). Neist 5-l lehmal olid haiguse põhjustajateks *S. aureus* (2), *Str. agalactiae* (1) ja *Arc. pyogenes* (2).

Tabel 6. Antikehade tiitri võrdlev dünaamika vaksineeritud ja kontrollrühma lehmadel Vorbuse farmis

Antigeen	Keskmised tiitrid ja uurimise aeg							
	Enne vaksineerimist		14 päev		30 päev		60 päev	
	Vaktsin. lehmad n=6	Kontroll lehmad n=6	Vaktsin. lehmad n=6	Kontroll lehmad n=6	Vaktsin. lehmad n=6	Kontroll lehmad n=6	Vaktsin. lehmad n=6	Kontroll lehmad n=6
<i>S. aureus</i>	1:35	1:18	1:346	1:13	1:533	1:31	1:560	1:25
<i>S. agalactiae</i>	1:20	1:20	1:80	1:25	1:113	1:35	1:100	1:25
<i>Str. uberis</i>	1:15	1:22	1:200	1:23	1:216	1:63	1:213	1:63
<i>Arc. pyogenes</i>	1:23	1:20	1:186	1:25	1:266	1:63	1:200	1:66
<i>C. renale</i>	1:20	1:13	1:87	1:16	1:200	1:46	1:133	1:36

Võrreldes vaksineeritud ja kontrollrühma lehmade SRA näitusid tabelis 1 selgub, et kaks kuud pärast vaksineerimist teostatud SRA näitajad osutusid vaksineeritud lehmadel halvemaks kui kontrollrühmal. Kui enne vaksineerimisi oli katserühmas üle 1 milj. SRA lehma 13 (28,3%), siis kaks kuud hiljem oli neid 22 (47,8%) Kontrollrühma näitajad olid vastavalt 9 (32,1%) ja 13 (46,4%). Selle seose kohta me tõestusmaterjali kahjuks ei leidnud.

Teostanud neil lehmadel piimaproovide bakterioloogilisi uurimisi, mis on toodud tabelis 3 selgus, et vaksineeritud lehmadel esines subkliinilisi mastiite 32-l (54,2%), kontrollrühmas 25-l (67,6%). Vaksineeritud lehmadel kuulusid mastiiditekitajad 9-l (15,3%) juhul neisse liikidesse, mille vastu lehmad olid vaksineeritud. Kontrollrühma lehmadel olid vastavad näitajad 12 (32,4%). Need tulemused on vaksineerimise positiivse efekti tõestajaks.

Poegimisjärgsete mastiitide esinemise kohta Vorbuse farmis kinnisperioodil vaksineeritud lehmadel annab ülevaate tabel 4. Tulemustest selgub, et 42-st vaksineeritud lehmast esines kliinilist mastiiti 9 (21,4%) lehmal, kuid mastiitide tekitajateks olid bakteriinis mitteesindatud bakterite liigid. Kontrollrühmas esine mastiite 11-l (28,9) lehmal. Neil olid haiguse tekitajateks 7-el juhul need bakterid, mille vastu katserühma lehmad olid vaksineeritud.

Vaksineerimise järgsest antikehade dünaamikast annab ülevaate tabel 6. Võrreldes vaksineerimata lehmadega tekkis vaksineeritud lehmadel selgelt väljendunud antikehade tiitri tõus praktiliselt kõikide polübakteriinis sisalduvate antigeenide suhtes. Enne vaksineerimist lehmade veres täheldatud antikehade tase seletub lehmade loomuliku kontaktiga farmis tsirkuleerivate patogeenide suhtes. Antikehade tiitri märgatav tõus juba esimese vaksineerimise järgselt seondub immunoloogias tuntud võimendusefektiga (booster). See tekib tavaliselt sensibiliseeritud organismis teistkordse ja suurema antigeense ärrituse tagajärjel. Meie katses teine vaksineerimine antikehade tiitrit enam oluliselt ei kergitanud.

Kokkuvõte

Kahe farmispetsiifilise mastiidi vastase polübakteriini partii katsetamise tulemused nii lakteerivate kui ka kinnislehmade vaksineerimisel näitasid, et vaksineeritud lehmad olid paremini kaitstud bakteriini koostisse kuulunud kontagioosetest bakteriliikidest põhjustatud kliiniliste ja subkliiniliste mastiitide vastu enim ohustatud perioodil. Seega farmids, kus mastiitide esinemissagedus on kõrge, osutub otstarbekaks lehma vaksineerida farmispetsiifilise vaktsiiniga, mis vähendab oluliselt mastiitide levikut farmis.

II. Kodu- ja metsloomade mükobakteriooside epidemioloogiline monitooring ning mükobakteriaalse infektsiooni kontrollmeetmete tõhustamine Eestis

Rakendatud jõupingutustele vaatamata on tuberkuloosi aktuaalsus maailmas jätkuvalt kõrge. Inimeste nakkushaigustest tingitud surmajuhtumite põhjusena jagab ta 1...2 kohta AIDS-iga, kusjuures reaalseid tulemusi selle zoonoosiga võitlemisel on võimalik saavutada ainult pideva epidemioloogilise situatsiooni kontrolli puhul nii inimestel kui loomadel. Püsivalt kasvab ka NTM infektsioonide osakaal, eriti immuunpuudulikkusega inimestel. Mükobakteriooside epidemioloogia, molekulaardiagnostika ja infektsiooni transmissiooni teede uurimine on antud projekti põhilisteks eesmärkideks.

Uuringu tulemused

Eesti on käesoleval ajal vaba veiste tuberkuloosist, kuid arvestades multiravimresistentse tuberkuloosi laialdase levikuga inimestel, eksisteerib reaalne oht infektsiooni vastastikuseks ülekandumiseks inimeste ja loomade vahel. Seda tõestasid antud projekti raames saadud bakterioloogiliste ja molekulaarsete uuringute tulemused, nimelt, Tallinna Loomaia hundi haigestumise juhtum (2003), mille põhjuseks osutus inimeste tuberkuloosi tekitaja – *M. tuberculosis*. Hunt vanusega 10 aastat oli krooniliselt haige (hingeldamine, köha, loidus, kahheksia), ravi antibiootikumidega ei andnud positiivset tulemust ning hundile tehti eutanaasia. Hundi perikardist isoleeriti aeglaselt kasvav mitte-kromogeenne mükobakterite kultuur.

M. tuberculosis'e tuvastamisel PCR meetodil amplifitseeriti 185 bp pikkune lõik ja *M. bovis*'e puhul – 270 bp lõik. *M. tuberculosis*'e määramiseks kasutati primereid oxy RTB-2.1 ja oxy RMT-1, *M. bovis*'e identifitseerimiseks kasutati primereid oxy RTB-2.1 ja oxy RMB-1. Uuritav kultuur osutus PCR-identifitseerimisel *M. tuberculosis* ja GenProbe alusel – *M. tuberculosis* complex.

Isoleeritud kultuur oli madala virulentsusega eksperimentaalselt nakatatud küülikutele: intravenoossel nakatamisel doosiga 1 mg/ml ühel küülikul patoloogilisi muutusi organites ei olnud ja teisel leiti kaks miliaarset sõlmekest maksas. Merisigadele oli katsetatav kultuur kõrge virulentsusega: nahaalne nakatamine doosiga 1 mg/ml kutsus esile generaliseeritud tuberkuloosi arenemise hulgaliste tuberkulite esinemisega maksas ja põrnas kõigil neljal nakatatud loomal. Seega tõestasid biotesti tulemused kultuuri kuuluvust *M. tuberculosis* liiki.

Peab märkima, et loomade tuberkuloosi ei ole Eestis registreeritud juba 18 aastat (peale veiste *M. bovis*-tuberkuloosi sporaadilist esinemist 1986. aastal). Kirjeldatud juhtumi olulisus ja epidemioloogiline eripära seisneb ka selles, et haigestumise põhjustajaks oli inimeste tuberkuloosi tekitaja, mis veelikord tõestas tuberkuloosi zoonootilist iseloomu. Kirjanduses on suhteliselt palju informatsiooni *M. tuberculosis*'e poolt põhjustatud tuberkuloosist koertel ja *M. bovis* - tuberkuloosist huntidel, kuid hundi spontaanne nakatumine *M. tuberculosis*'ega on kahtlemata harvaesinev juhtum (Weitzman, Johnson, 1980; Green, 1984; Copeland, 2002).

Kuna loomaiaa töötajate hulgas ei ole tuberkuloosi haigestumise juhtumeid registreeritud, võib

oletada, et hundi nakatumise tõenäoliselt allikaks olid loomaaria külastajad. Vastavalt TÜ Kliinikumi Ühendlabori Mükobakterioloogia osakonna poolt läbiviidud uurimuse tulemustele (dr. Tiina Kummik) oli hundilt isoleeritud kultuur tundlik põhirea tuberkuloosivastaste antibiootikumide suhtes (streptomütsiin, isoniasiid, rifampitsiin, etambutool).

Koduloomadest on sead kõige vastuvõtlikum liik atüüpiliste mükobakterite suhtes. Võrreldes veistega, kellel mükobakterioos väljendub peamiselt ülitundlikkuses tuberkuliinile ja makroskoopilised muutused lümfisõlmedes esinevad tavaliselt vaid vasikatel, kaasnevad sigade mükobakterioosiga tuberkuloosilaadsed muutused seedetrakti lümfisõlmedes.

Sigade mükobakterioosi levikut uuriti 2004. aastal Valga lihakombinaadis ja Vastse-Kuuste tapatsehhis mesenteriaalsete lümfisõlmede ekspertiisi teel. Kokku on patomorfoloogiliselt uuritud 1451 sealihakeha 9 maakonna 22 majandist (tabel 7).

Tuberkuloosilaadseid (kaseooseid või petrifitseeritud) muutusi avastati mesenteriaallümfisõlmedes 128 seal (8,8%). Nagu ka 2003. aastal, täheldati kõige suuremat muutuste sagedust Estonia OÜ sigadel (Järvamaa) - 42,9%. Kõrge muutuste protsent oli samuti OÜ Laiuse sigadel (Jõgevamaa) - 28,6%, OÜ Liseronia (Valgamaa) – 28% ja SF OÜ Pandivere (34,3 %). Bakterioloogiliseks uurimiseks võeti kokku 158 proovi.

Tabel 7. Sigade patomorfoloogilise uurimuse tulemused Valga lihakombinaadis ja Vastse-Kuuste tapatsehhis 2004. aastal

Majand	Maakond	Sigade arv	TBC muutused*		Bakteriol. proovide arv
			arv	%	
Ontika talu, Kohtla vald	Ida-Virumaa	27	0	0	-
Sadala Agro, Teevere	Jõgevamaa	50	3	6,0	3
Palamuse Invest	Jõgevamaa	90	0	0	-
Laiuse OÜ, Jõgeva vald	Jõgevamaa	70	20	28,6	20
Estpig OÜ (Estonia)	Järvamaa	198	85	42,9	85
Uha OÜ, Kanepi vald	Põlvamaa	21	0	0	2
Carmex Invest AS	Põlvamaa	222	0	0	9
Carmex Invest AS	Tartumaa	70	0	-	0
Carmex Invest AS	Jõgevamaa	95	0	-	1
Raiküla OÜ	Raplamaa	60	0	0	-
Kehtna mõis	Raplamaa	75	0	0	3
Topster, Rannu mõis	Tartumaa	25	0	0	-
Liseronia OÜ, Laatre	Valgamaa	25	7	28,0	7
Päidla OÜ, Palupera vald	Valgamaa	28	0	0	-
Alle AS	Viljandimaa	90	0	0	5
Saimre talu, Paistu vald	Viljandimaa	30	1	3,3	1
Markilo OÜ	L.-Virumaa	100	0	-	1
Pihlaku Farm OÜ	Harjumaa	15	0	-	0
SF OÜ, Pandivere	L.-Virumaa	35	12	34,3	12
Põlva Seakasvatus OÜ	Põlvamaa	25	0	-	3
Vitsijärve peekon OÜ	Jõgevamaa	30	0	-	3
Tartu Agro AS (VK)	Tartumaa	70	0		3
Kokku		1451	128	8,8	158

TBC muutused* - tuberkuloosilaadsed muutused mesenteriaalsetes lümfisõlmedes

2004. aastal saadud sigade tabanduvuse protsent (8,8) oli 2,2 korda kõrgem kui 2003. aastal saadud tulemused (4%). 2003-2004. aastal on uuritud kokku 2073 siga, kellel tuberkuloosilaadseid muutuseid täheldati 153-l (7,4 %). Saadud tulemused tõestavad, et vaatamata üldise epidemioloogilise situatsiooni rahuldavale olukorrale Eestis, on sigade mükobakterioos laialt levinud paljudes majandites ning selle diagnoosimisele ja profülaktikale tuleb pöörata suuremat tähelepanu.

Tabel 8. Nakkusliku materjali uurimine bakterioloogiliste ja molekulaarsete meetoditega 2003.-2004. aastal

Uuritud materjal	Proovide arv	Materjali päritolu	Isoleeritud mükobakterite kultuur	PCR identifitseerimie: <i>M. tuberculosis complex</i> , <i>M. avium complex</i> , <i>M. paratuberculosis</i>
Hunt	1	Tln. Loomaaed	1	<i>M. tuberculosis</i>
Buhhaara hirv	1	Tln Loomaaed	1	<i>M. avium</i>
Kurg	4	Tln. Loomaaed	4	negatiivne
Turvas (allapanu)	1	Tln.Loomaaed	1	negatiivne
Veise lümfisõlm	2	Hummuli	2	negatiivne
Veise rooja proov	1*	Läti	1	<i>M. paratuberculosis</i>
Veise rooja proov	1*	OÜ Kõpu, Viljandimaa	1	<i>M. avium</i>
Lehmapiim	123	Tartu maakond	45	<i>M. avium</i> - 21 kultuuri
Kana	1*	Vinni vald	1	negatiivne
Jaanalind	2	Omanik Aivar Vuks	0	-
Tuvi	2	Reola	0	-
Kobras	10	Koosa vald	0	-
Metskits	16	Vara ja Peipsi vallad	0	-
Metssiga	2	Vara vald	uurimisel	
Kodukits	1	Audru vald	1	negatiivne
Sea lümfisõlm	208		80	<i>M. avium</i> - 59 kultuuri
Inimene	9 **	TÜ Kliinik	9	<i>M. avium</i> – 3 kultuuri
Inimene	15***	Tallinna Kivimäe haigla	15	<i>M. avium</i> – 8 kultuuri
Kokku inimesed	24		24	<i>M. avium</i> –11 kultuuri
Kokku	412		186	158 <i>M. avium</i> kultuuri

* – Tartu Veterinaar- ja Toidulabori kultuurid

** – TÜ Kliinikumi Tuberkuloosi referentslaborist saadud kultuurid

*** – Tallinna Kivimäe haigla laboratooriumist saadud kultuurid

Tuberkuloosi kontrolli ja mükobakteriooside monitooringu üldtunnustatud meetodiks on bakterioloogiline uurimine ja sellele järgnev mükobakterite indentifitseerimine. Bakterioloogiliselt uuriti tuberkuliinile reageerivatelt ning tuberkuloosi, paratuberkuloosi ja

mükobakterioosi kahtlusega kodu- ja metsloomadelt saadud patoloogilist materjali, keskkonna ning lehmapiima proove. Pärast materjalide töötlemist tehti kolm paralleelkülvi Löwenstein-Jensen söötmele (Löwenstein-Jensen Medium Base, Becton-Dickinson). Kuna viimastel aastatel on maailmas järjest aktuaalsemaks muutunud haigused, mis on põhjustatud *M. paratuberculosis*'e poolt (paratuberkuloos mäletsejalistel, Krooni haigus inimestel), külvati paratuberkuloosi tekitaja detekteerimiseks osa lehmapiima proovidest ka mükobaktiini sisaldavatele Herroldi söötmetele.

2003.-2004. a. on bakterioloogiliselt uuritud kokku 412 proovi, sh. saadeti meile molekulaarseks identifitseerimiseks kaks veiselt, üks kanalt ja 6 sigadelt isoleeritud mükobakterite kultuuri Tartu Veterinaar- ja Toidulaboratooriumi poolt. 143 piimaproovi pärinesid kolmest majandist (53 - Rannust, 45 - Igaverest ja 45 - AS Terrax) ja 24 kultuuri olid isoleeritud mükobakterioosihagetelt inimestelt, sh. 9 kultuuri TÜ Kliinikumi Tuberkuloosi referentslaboris (dr. T. Kummik) ja 15 kultuuri - Põhja-Eesti Regionaalhaigla SA Tuberkuloosiravi Keskuse (Kivimäe korpus) laboris (dr K. Levina).

Bakterioloogilisel uurimisel isoleeriti kokku 186 mükobakterite kultuuri (tabel 8). Nendest osutusid PCR-identifitseerimisel *M. avium*'iks 21 piimaproovi, 59 sigade patoloogilisest materjalist isoleeritud kultuuri, üks hirvelt ja üks veise rooja proovist isoleeritud kultuur ja 11 inimeste NTM (*nontuberculous mycobacteria*) kultuuri.

Mittetuberkuloossetest mükobakteritest väärib erilist tähelepanu *M. avium*-infektsiooni diagnoos Tallinna Loomaaia hirvel, kuna see on juba kolmas hirve mükobakterioosi juhtum Eestis (eelmised kaks juhtumit on diagnoositud meie poolt 1999. aastal).

Suurt huvi pakub ka paratuberkuloosi tekitaja (*M. paratuberculosis* e. *M. avium* subsp. *paratuberculosis*) avastamine Lätist ekspertiisiks saadetud veise rooja proovist. Peab märkima, et viimastel aastatel pööratakse paljudes arenenud riikides suuremat tähelepanu paratuberkuloosi uurimise vastu. Veiste paratuberkuloos on enzootilise levikuga Inglismaal, Prantsusmaal, Taanis, USA-s, Austraalias jt. On andmeid, et *M. paratuberculosis* omab tähtsat rolli mitte ainult loomade vaid ka inimeste patoloogias ja Krooni haiguse (*Crohn's disease*) ning ultseratiivse koliidi (UC) haiguste etioloogilise põhjustajana. Del Perto jt. (1998, Italy) andmetel avastati paratuberkuloosi tekitaja 46,8% Krooni haigusega patsientidel ja 33,3% UC-ga haigetel. Meie andmetel ei ole Eestis paratuberkuloosi bakterioloogiliselt diagnoositud üle 20 aasta.

2004. aastal viidi läbi katse merisigadel inimestelt isoleeritud 7 mittetuberkuloosse mükobakteri tüvega (MAC), mille käigus selgitati nende virulentsuse aste merisigadele. Viis kultuuri seitsmest kutsusid esile abstsesside moodustumise süstekohal subkutaansel nakatamisel doosiga 1,0 mg/ml ja kultuuriga M298 nakatatud meriseal esinesid ka maksas hallid granulematoossed muutused, mis on *M. avium*'i puhul kõrge virulentsuse tunnus.

Spetsialistide hinnangul kasvab HIV-nakatunud inimestel tuberkuloosi haigestumise tõenäosus enam kui 30 korda ning mitmekordselt suureneb ka NTM-infektsiooni, eeskätt MAC-i (*M. avium complex*) poolt esilekutsutud haigusjuhtude arv. Kuna tuberkuloosi ja mükobakterioosi tekitajad on ühised nii loomadel kui ka inimestel (zoonoosid), võib mükobakteriaalse infektsiooni vastastikune ülekandumine mängida olulist rolli nimetatud haiguste epidemioloogias. Arvestades HIV-nakatamise kiiret kasvu Eestis, võib negatiivse tagajärjena prognoosida ka MAC-infektsioonidest põhjustatud haigestumisjuhtude arvu tõusu.

Kokkuvõtte ja järeldused

Projekti raames on saadud põhjalik ülevaade loomade tuberkuloosi ja mükobakterioosi epidemioloogilisest situatsioonist Eestis. On lahendatud kõik aruandeperioodil tekkinud praktilise diagnostika küsimused, mis on efektiivse infektsiooni kontrolli aluseks.

Uuringu tulemuste alusel võib teha järgmisi järeldusi:

1. 2003. aastal diagnoositi esmakordselt tuberkuloos Tallinna Loomaaija hundil, mille põhjuseks osutus inimeste tuberkuloosi tekitaja - *M. tuberculosis*. Loomade tuberkuloosi ei ole Eestis registreeritud alates 1986. aastast.
2. Üks veise proovist (materjal Lätist) isoleeritud kultuur oli *M. paratuberculosis*.
3. Loomade NTM-mükobakteriooside epidemioloogilised uuringud 2003.-2004. a. kinnitasid infektsiooni olulist leviku ulatust Eestis: 1451st lihakombinaatidesse toodud seast täheldati lümfisõlmede tuberkuloosilaadseid muutusi 128-l (8,8 %).
4. Sagedaimaks mükobakterioosi tekitajaks Eestis on kanade tuberkuloositekitaja.
5. PCR identifitseerimise alusel 80 sealt isoleeritud tüvedest 59 (73,8%) olid *M. avium*.
6. 123 lehmapiima proovi bakterioloogilise uuringu tulemusena isoleeriti 21 *M. avium* kultuuri (17 %).
7. Inimestelt isoleeritud 24 mükobakterite kultuuri PCR identifitseerimise tulemusena osutusid 11 kultuuri (45,8%) *M. avium*.
8. *M. avium* isoleerimine sigade lümfisõlmedest ja lehmapiima proovidest viitab potentsiaalsele võimalusele NTM-infektsiooni transmissiooniks loomadelt inimestele toiduainete kaudu.

Soovitus

Arvestades sigade mükobakterioosi laialdase levikuga Eestis, peame infektsiooni kontrolli tõhustamiseks otstarbekaks rakendada Eestis kohustuslikku lümfisõlmede (eeskätt mesenteriaallümfisõlmede) ekspertiisi lihakombinaatides ja tapapunktides.

10. SUMMARY (kokkuvõtte inglise keeles kuni 2 lk.):

This project is handling mastities of the dairy cows, epidemiological monitoring of mycobacterioses and elaborating more effective methods for controlling mycobacterial infections. Adequate microbial strains are isolated and identified from milk of mastitic cows. Their virulence and drug resistance is explained and cultivation conditions for preparing vaccines are optimized. The technology for preparing of the farmspecific inactivated polyvaccines is elaborated and field trials are carried out for evaluating of vaccine effectivity in 2 dairy farms.

We proceeded epidemiological studies of mycobacterioses in different domestic and wild animal species, including the main objectives as distribution of NTM infection and possible routes of transmission. The examinations were carried out during 2000-2003 in four different meat plants and tuberculosis-like lesions in lymph nodes were detected in 128 out of 1451 pigs (8,8%), indicating the dissemination rate, worth of attention, in Estonia.

412 samples of pathological material from humans, cattle, swine, roe deer, domestic goat and other animal species have been examined bacteriologically together with 123 cow milk samples. Altogether 186 cultures of mycobacteria were isolated, incl. 185 cultures of NTM-mycobacteria. 85% of NTM cases were caused by *M. avium* (MAC) complex species, which is the main causative pathogen of animal mycobacterioses in Estonia.

According to PCR analysis results 59 cultures from swine, 1 from cattle and 11 from humans were identified as *M. avium*; culture isolated from Bukhara deer was *M. avium* as well.

Detection of *M. avium* by PCR in 17% of analysed cow milk samples demonstrates a possibility of foodborne transmission of mycobacterioses from animals to humans. One culture isolated

from cattle (sample material was from Latvia) was identified as *M. paratuberculosis*. In 2003 we have diagnosed the first case of tuberculosis infection in wolf in the Tallinn Zoo, caused by *M. tuberculosis* – pathogen of tuberculosis in humans. No cases of animal tuberculosis have been registered in Estonia since 1986.

We have elaborated the recommendations concerning the diagnostics of mycobacterioses (mandatory expertise of mesenterial lymph nodes) and raising an effectiveness of the control of NTM infection in meat plants and slaughterhouses in Estonia.

11. PROJEKTIGA HAAKUVAD TEADUSTEEMAD, GRANDID, DOKTORI- JA MAGISTRITÖÖD, JÄRELDOKTORITE TEEMAD, LEPINGUD:

Grandid:

1. Sihtfinantseerimise leping nr 0081470s00, "Mittetuberkuloosse etioloogiaga mükobakteriooside molekulaarepidemioloogia ning *Mycobacterium avium*'i sekretoorsete antigeenide immuunregulatoorse ja protektiivse toime uurimine". Täitjad M. Sudakov, J. Kumar, S. Kokassaar.
2. ETF grant nr. 6002, "Mükobakteriooside etioloogia ja leviku ökoloogilised aspektid ning NTM ülekandumise tegurite uurimine". Täitjad M. Sudakov, S. Kokassaar, S. Sütt

Doktori ja magistritööd:

1. TÜ doktorandi Merle Kuuse teema "*Pasteurella multocida* ja *Mannheimia haemolytica* epidemioloogilise situatsiooni selgitamine veistel ning tekitajate molekulaarepidemioloogiline analüüs". Juhendajad biol. kand J. Kumar, dots. R. Lindjärv ja prof. A. Heinaru
2. TÜ doktorandi Kelli Lomperi teema "Loomadelt ja inimestelt isoleeritud atüüpiliste mükobakterite geneetilised iseärasused ja epidemioloogiline roll". Juhendajad vet. kand. M. Sudakov ja prof. A. Heinaru.
3. Sirje Kokassaar magistritöö tema "PCR-meetodi kasutamine mükobakterite identifitseerimiseks lehmapiimas" Juhendajad biol. kand J. Kumar ja vet. kand. M. Sudakov.

12. RAHVUSVAHELINE KOOSTÖÖ (lepingud, konverentside korraldamine, töötamine välisriikides jne):

Teaduskontaktid on loodud Taani Riikliku Veterinaaria Instituudiga (DVL, Kopenhaagen), kelle eestvedamisel Mükobakterioosi labor osales assotsieerunud partnerina EL 5. Raamprogrammi "Elu kvaliteet ja eluressursside korraldus" uurimisprojektis "Validation and standardization of diagnostic Polymerase Chain Reaction for detection of foodborne pathogens" (2000-2003), mis käsitles zoonootiliste patogeenide PCR-diagnostikat (koordinaator - prof. Jeffrey Hoorfar, osales 46 laborid 20st Europa riigist).

Teduslikud kontaktid on loodud Biomeditsiiniliste preparaatide Kontrollinstituudiga (Moskva), med. dr. Diana Levi; Ülevenemaalise Eksperimentaalveterinaaria Instituudiga, prof. Nikolai Ovdienko, vet. dr. Ali Naimanov; Kurski Põllumajandusülikooliga, prof. Anatoli Evglevski; Ateena Põllumajandusülikooliga (prof. Ioannhs Ikonomopoulos, D.V.M. Irimi Fragiadaki) on kavandatud uuringud mükobakterite identifitseerimise osas.

Koostööd tehakse Sassari Ülikooli prof. Leonardo Sechi'ga (University of Sassari, Sardinia, Italy), kes oli koordinatoriks 2004. aastal FP6 esitatud ühisprojekti taotluse koostamisel "Improvement of prevention, diagnosis and epidemiology of mycobacterioses in HIV and non HIV infected patients by molecular methods".

13. TEEMA RAAMES ILMUNUD PUBLIKATSIOONID:

Sudakov M., Kumar J., Kokassaar S., Häkkinen L. Mittetuberkuloosete mükobakterite (NTM) poolt põhjustatud infektsioonide epidemioloogiast kodu- ja metsloomadel Eestis. – Agraarteadus, 2003, 5, 303-311.

Sudakov M., Kumar J., Kokassaar S., Häkkinen L. Lindude tuberkuloosi epidemioloogia Eestis: 1995-2003.– Veterinaarmeditsiin 2003, Tartu, 2003, 81-89.

R. Lindjärv, T. Schattschneider, J. Kumar, T. Saar, E. Klaassen, M. Kuus. Staphylococcus aureus'e kasvutiheduse ja alfa-hemolüsiini moodustumise optimeerimine komplekssootmes. 7lk Vastu võetud avaldamiseks ajakirjas Agraarteadus.

Sudakov M., Kokassaar S., Lomper K., Häkkinen L. Case of a tuberculosis in wolf in the Tallinn Zoo.– 24th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology: Final Program and Abstracts, June 29 – July 02, 2003, Tartu, Estonia, p. 95.

Sudakov M. 2004. Veterinaarimmunoloogia. Tartu, OÜ Halo Kirjastus, 157 lk.

Lindjärv R., Schattschneider T., Kumar J., Kuus M., Saar T., Klaassen E. Staphylococcus aureus'e alfa- ja beetatoksoid bakteriini kasutamisest lakteerivatel lehmadel. Ettevalmistamisel esitamiseks Agraarteadusele.

Sudakov M., Kokassaar S., Sütt, S. Cattle mycobacterioses and the results of bacteriological examination of a cow milk.– 24th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology: Final Program and Abstracts, June 29 – July 02, 2003, Tartu, Estonia, p. 94.

14. Teema juht (nimi): Jüri Kumar	Allkiri:	Kuupäev: 29.11.04
Tellijä esindaja kinnitus aruande vastuvõetavuse kohta (nimi): Mihhail Sudakov	Allkiri:	Kuupäev: 29.11.04

Täidab Põllumajandusteaduste Nõukogu

Nõukogu esimees:	Allkiri:	Kuupäev:
-------------------------	-----------------	-----------------

Põllumajandusteaduste Nõukogu hinnang tehtud tööle: