



EESTI MAAÜLIKOOL
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

Kendra Anniste

**ALUMISTE HINGAMISTEEDE BAKTERID JA SEOS
KLIINILISE HAIGUSEGA PIIMAVEISE VASIKATEL**

LOWER RESPIRATORY TRACT BACTERIA AND
ASSOCIATION WITH CLINICAL DISEASE IN DAIRY CALVES

Lõputöö

Veterinaarmeditsiini õppekava

Juhendajad: kaasprofessor Kerli Mõtus
professor Toomas Orro

Tartu 2024

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, 51014, Tartu		Lõputöö lühikokkuvõte	
Autor: Kendra Anniste		Õppekava: Veterinaarmeditsiin	
Pealkiri: Alumiste hingamisteede bakterid ja seos kliinilise haigusega piimaveise vasikatel			
Lehekülgi: 50	Jooniseid: 1	Tabeleid: 8	Lisasid: 1
<p>Õppetool: kliinilise veterinaarmeditsiini õppetool ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: 3. Terviseuringud, 3.2. Veterinaarmeditsiin B750 Veterinaarmeditsiin, kirurgia, füsioloogia, patoloogia, kliinilised uuringud Juhendaja(d): Kerli Mõtus, Toomas Orro Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu 2024</p>			
<p>Veiste hingamisteede haigus (ingl <i>bovine respiratory disease</i> - BRD) on üldine termin, mis hõlmab mitme eri etioloogia ja lokalisatsiooniga hingamisteede haigusi. Haigust võivad põhjustada mitmed tegurid, sealhulgas stressist tingitud vastupanuvõime vähenemine, viiruslikud ja bakteriaalsed patogeenid ning immuunvastusest sõltuvad tegurid. BRD diagnoosimine on produktiivloomadel suur väljakutse, kuna puudub üks kindel kuldstandard. Lõputöö eesmärkideks oli uurida, milliseid baktereid leidub Eesti piimaveisekarjade vasikate alumistes hingamisteedes ning analüüsida nende seost kliinilise haiguse esinemisega. Uuringusse kaasati 150 piimaveise vasikat 15 karjast, kellelt koguti trahhea-bronhiaal lavaaži proovid ning hinnati hingamisteede haiguse kliiniliste tunnuste esinemist. Kogutud proovidele teostati bakterioloogiline uuring ja <i>Mycoplasma</i> tuvastamiseks kasutati polümeraasi ahelreaktsiooni meetodit. Vähemalt üks bakter tuvastati 59,3% vasikatel. Kõige sagedamini tuvastatud alumiste hingamisteede bakterid olid <i>Pasteurella multocida</i> (34,7%), <i>Mycoplasma bovis</i> (13,3%), <i>Mannheimia</i> spp. (7,3%), <i>Streptococcus</i> spp. (8,7%) ja <i>Gallibacterium anatis</i> (6,0%). California hindamissüsteemi järgi oli kliiniliselt haigeid vasikaid 21%. Alumistest hingamisteedest isoleeritud bakterite seost kliinilise haiguse esinemise osas analüüsiti logistilise regressioonanalüüsi mudelitega. <i>Gallibacterium anatis</i> esinemine seostus vasikatel kliinilise haiguse esinemisega (ŠS = 6,6, 95% UV 0,1–11,2). Trendi näitav seos kliinilise haigusega tuvastati ka <i>Trueperella pyogenes</i> 'e puhul (ŠS = 3,6, 95% UV 0,7–18,7). Lõputöö tulemustest saab järeldada, et kliinilise hingamisteede haigusega seonduvad eelkõige sekundaarsed bakterid, mistõttu üksnes kliiniliste haigustunnuste hindamisega tuvastatakse haigestunud vasikad haiguse hilisemas faasis.</p>			
Märksõnad: vasikas, veiste hingamisteede haigus, bakterid, kliinilised tunnused			

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, 51014, Tartu Estonia		Abstract of Final Thesis	
Author: Kendra Anniste		Curriculum: Veterinary Medicine	
Title: Lower respiratory tract bacteria and association with clinical disease in dairy calves			
Pages: 50	Figures: 1	Tables: 8	Appendixes: 1
Chair: Chair of Clinical Veterinary Medicine Field of research and (CERC S) code: 3. Health, 3.2. Veterinary Medicine B750 Veterinary medicine, surgery, physiology, pathology, clinical studies Supervisor(s): Kerli Mõtus, Toomas Orro Place and year: Tartu 2024			
<p>Bovine respiratory disease (BRD) is a general term that encompasses several respiratory disorders with various aetiologies and localizations. The disease can be caused by multiple factors, including decreased resistance due to stress, viral and bacterial pathogens, and immune response-dependent factors. Diagnosing BRD in productive animals is a significant challenge as there is no single gold standard. This thesis aimed to investigate the bacteria found in the lower respiratory tracts of calves in Estonian dairy herds and to analyse their association with the occurrence of clinical disease. The study included 150 dairy calves from 15 herds, from which tracheobronchial lavage samples were collected, and the presence of clinical respiratory disease signs was assessed. A bacteriological examination was performed on the collected samples, and the polymerase chain reaction method was used to detect <i>Mycoplasma bovis</i>. At least one bacterium was identified in 59.3% of the calves. The most identified bacteria in lower respiratory tract were <i>Pasteurella multocida</i> (34.7%), <i>Mycoplasma bovis</i> (13.3%), <i>Mannheimia</i> spp. (7.3%), <i>Streptococcus</i> spp. (8.7%), and <i>Gallibacterium anatis</i> (6.0%). According to the California scoring system, 21% of the calves were clinically diseased. Logistic regression analysis models were used to analyze the association between bacteria isolated from the lower respiratory tract and the presence of clinical disease. The presence of <i>Gallibacterium anatis</i> was associated with the occurrence of clinical disease in calves (OR = 6.6, 95% CI 0.1–11.2). A trend indicating an association with the presence of a clinical disease was also identified for <i>Trueperella pyogenes</i> (OR = 3.6, 95% CI 0.7–18.7). The results of the thesis indicate that secondary bacteria were primarily associated with clinical respiratory disease, therefore only by assessing clinical signs of disease can affected calves be identified in the later stages of the disease.</p>			
Keywords: calf, bovine respiratory disease, bacteria, clinical signs			

SISUKORD

LÜHENDID.....	6
SISSEJUHATUS.....	7
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	8
1.1. Veiste hingamisteede haiguse definitsioon.....	8
1.2. Veiste hingamisteede haiguse epidemioloogia	8
1.3. Veiste hingamisteede haiguse riskitegurid.....	9
1.3.1. Veiste hingamisteede haiguse karjapõhised riskitegurid.....	10
1.3.2. Veiste hingamisteede haiguse loomapõhised riskitegurid.....	11
1.4. Veiste hingamisteede haiguse patogeenid.....	13
1.4.1. Primaarsed patogeenid.....	14
1.4.2. Sekundaarsed patogeenid	16
1.5. Veiste hingamisteede haiguse kliinilised tunnused	18
1.5.1. Hingamisteede haiguse kliiniliste tunnuste seos patogeenidega	19
1.6. Veiste hingamisteede haiguse diagnoosimine.....	19
1.6.1. Diagnoosimine praktikas	20
1.6.2. Proovivõtumeetodid hingamisteede haiguse diagnostikas	22
1.6.3. Diagnostikameetodid hingamisteede haiguse diagnostikas.....	24
2. LÕPUTÖÖ EESMÄRGID.....	26
3. MATERJAL JA METOODIKA	27
3.1. Karjad ja loomad	27
3.2. Proovide kogumine.....	27
3.3. Proovide käsitlemine ja analüüsimine.....	28
3.4. Andmete statistiline analüüs	28
3.5. Eetiliste kaalutluste deklaratsioon	29

4. TULEMUSED.....	30
4.1. Valimi iseloomustus.....	30
4.2. Kliinilised tunnused.....	30
4.3. Alumistes hingamisteedes tuvastatud bakterid.....	32
4.4. Kliiniliste haigustunnuste seos alumiste hingamisteede bakteritega.....	33
5. ARUTELU	35
JÄRELDUSED	39
TÄNUAVALDUSED.....	40
KASUTATUD KIRJANDUS.....	41
LISAD	49
Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta	50

LÜHENDID

BAL	bronhoalveolaar lavaaž
BCV	veiste koroonaviirus (<i>bovine coronavirus</i>)
BRD	veiste hingamisteede haigus (<i>bovine respiratory disease</i>)
BRSV	veiste respiratoor-süntsütsiaalviirus (<i>bovine respiratory syncytial virus</i>)
BHV-1	veiste herpesviirus 1 (<i>bovine herpesvirus 1</i>)
BVDV	veiste viirusdiarröa viirus (<i>bovine viral diarrhoea virus</i>)
CA	California
DNS	süvaneeluproov (<i>deep nasopharyngeal swab</i>)
Ig	immuunglobuliin
LABRIS	Riigi Laboriuuringute ja Riskihindamise keskus
MALDI-TOF	ingl <i>matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry</i>
NS	nina tampooniproov (<i>nasal swab</i>)
PCR	polümeraasi ahelreaktsioon (<i>polymerase chain reaction</i>)
PI3V	paragripp 3 viirus (<i>parainfluenza 3 virus</i>)
PI	püsivalt infitseeritud
ŠS	šansside suhe
TBL	trahhea-bronhiaal lavaaž
TTW	transtrahheaalne loputus (<i>transtracheal wash</i>)
UV	usaldusvahemik
WI	Wisconsin

SISSEJUHATUS

Veiste hingamisteede haigus (ingl *bovine respiratory disease* - BRD) hõlmab erineva etioloogiaga hingamisteede haigusi, mis pär�ivad veiste heaolu ning põhjustavad veisekasvatases märkimisväärsel majanduslikku kahju. Haiguste kompleksi mõjutavad keskkonnast tingitud tegurid, stress ja immuunsus, lisaks on haiguse patogeneesi kaasatud ka mitmed nakkused, sealhulgas viiruslikud ja bakteriaalsed patogeened (Padalino jt, 2021). Vaatama sellele, et vaktsiinide ja antimikroobsete ainete kättesaadavus on hea, on BRD endiselt üks peamine haigestumuse ja suremuse põhjus noorveistel (McGill ja Sacco, 2020).

Hetkel puudub selge ülevaade, millised bakterid leiduvad Eesti piimaveise vasikate alumistes hingamisteedes. Teadlikkus sellest, millised bakteriliigid põhjustavad Eesti karjades haigestumust, võib kaasa aidata nakkuste ennetamisele ning tagada paremaid ravivalikuid. Loomaarstid otsustavad suuresti BRD tunnustega vasikate ravi ja antibiootikumi vajalikkuse üle ainuüksi kliiniliste haigustunnuste põhjal. Kliiniliste haigustunnuste põhjal raviotsuste tegemiseks on oluline analüüsida nende seost alumistes hingamisteedes esinevate bakteritega. Üksnes kliinilistele tunnustele toetumisel ei ole võimalik selgelt eristada viirusliku infektsiooni bakteriaalsest ega tuvastada põletiku asukohta. Puudub kindel kuldstandard, kuidas teha neil patogeenedel vahet ja millised kliinilised tunnused on määravaks antibakteriaalse ravi kasutamisel.

Antud uurimistöo eesmärgiks oli uurida Eesti piimavesisekarjades peetavate piimaperioodi vasikate trahhea-bronhiaal lavaaži (TBL) proovides esinevaid baktereid. Samuti oli eesmärk analüüsida seost vasikatel esineva kliinilise hingamisteede haiguse ja TBL proovidest tuvastatud bakterite vahel.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Veiste hingamisteede haiguse definitsioon

BRD on üldine termin, mis hõlmab mitmesuguseid ülemiste ja alumiste hingamisteede haigusi, sealhulgas bakteriaalseid ning viiruslikke infektsioone, aga ka mittenakkuslikke haigusi. BRD võib vallanduda loomade pidamise ja keskkonnaga seotud tegurite ning erinevate patogeenide koosmõjul (Peel, 2020).

Rohkem kui viiskümmend aastat tagasi võeti BRD esmakordselt terminina kasutusele. Peamine eesmärk oli koondada selle termini alla hingamisteede infektsioonide, keskkonna ja peremeesorganismiga seotud riskitegurite koostoimet, mis päädib looma haigestumisega. Sellist hingamisteede haiguste laialdast määratlust, mis hõlmab nakkuslikke ja mittenakkavaid haigusi sõltumata põletiku asukohast (ülemiste ja alumiste hingamisteede põletikud), kasutatakse ainult produktiivloomade puhul. Humaanmeditsiinis ja teiste loomaliikide puhul sellist üldistust ei tehta. Hingamisteede haiguse üldise diagnoosi kasutamine on ohtlik ja liiglightsustatud, eriti kui määratlus on seotud antimikroobsete ravimite kasutamisega. Arvestades ülemaailmset survet antibiootikumide kasutamise vähendamiseks ja ratsionaliseerimiseks, ei aita BRD termini kasutamine seda eesmärki täita (Buczinski ja Pardon, 2020).

1.2. Veiste hingamisteede haiguse epidemioloogia

Erinevates uuringutes tuvastatud BRD esinemissagedus piimaveise vasikatel on kokkuvõtlikult välja toodud tabelis 1. Tabel loob ettekujutuse, milline võib olla BRD esinemissagedus vasikate seas. Andmed erinevatest uuringutest näitavad, et BRD esinemissagedus võib oluliselt erineda sõltuvalt geograafilisest asukohast. Samuti varieeruvad uuringutesse kaasatud vanuserühmad, mis teeb keeruliseks uuringute omavahelise võrdlemise. Rootsis läbiviidud uuringus leiti, et kuni 90 päeva vanustel vasikatel oli BRD esinemissagedus 7,0% (Svensson jt, 2003), samas kui Iirimaal tehtud uuringus oli 1–3. elukuul esinemissagedus 0,6% (Todd jt, 2018). Iirimaal läbi viidud uuringus selgus, et kõrgeim esinemissagedus oli esimesel elukuul (3,1%) ja see vähenes vanusega (Todd jt, 2018), kuid vastupidine seos leiti Kanadas ja USA-s tehtud uuringus, kus BRD esinemissagedus hoopiski suurenes vanusega (Windeyer jt, 2014).

Tabel 1. BRD esinemissagedus piimaveise vasikatel erinevates riikides

Riik	Karjade arv	Loomade arv	Vanusegrupp	Esinemissagedus	Allikas
Iirimaa	55	1733	1. elukuu	3,1%	Todd jt, 2018
			1–3. elukuu	0,6 %	
			3–6. elukuu	0,04%	
Norra	135	6668	Kuni 180 elupäeva	4,1%	Gulliksen jt, 2009a
Rootsi	122	3081	Kuni 90 elupäeva	7,0%	Svensson jt, 2003
USA	104	2545	Võõrutuseelne periood	11,3%	Urie jt, 2018
Ontario (Kanada) ja Minnesota (USA)	19	2874	2. elunädal	7,7%	Windeyer jt, 2014
			2–5. elunädal	8,0 %	
			5. elunädal–3 elukuud	9,5%	

Eesti osas puuduvad andmed selle kohta, milline on BRD haigestumus vasikate seas, kuid on uuritud Eesti piimaveiste suremust ja surma põhjuseid. Eesti piimakarjades peetavate noorloomade sagedaseim surma põhjus oli hiljuti avaldatud uuringu kohaselt kõhulahtisus (43,2% kõigist surma põhjustest), sellele järgnesid hingamisteede haigused (26,8% kõigist surma põhjustest) (Reimus jt, 2017).

1.3. Veiste hingamisteede haiguse riskitegurid

BRD on veisekasvatuse jaoks probleem juba aastakümneid. On hästi teada, et puudujäägid karja juhtimises mängivad BRD esinemissageduses ja tõsiduses rolli, kuid BRD võib olla probleem isegi heade loomapidamistingimustega farmides (Guzmán-Brambila jt, 2012). BRD-l on palju põhjuseid, näiteks stressist tingitud vastupanuvõime vähenemine, mitmed viirused ja bakteriaalsed patogeenid ning peremeesorganismi immuunvastusest sõltuvad tegurid. BRD-sse haigestumise üks peamisi põhjuseid on stress, mida võib jagada psühholoogiliseks, füsioloogiliseks ja/või toitumuslikuks. Seetõttu võib stress tuleneda nii võõrutamisest, veterinaarsetest protseduuridest, grupeerimisest, söödaratsiooni muutusest kui ka transportimisest (McGill ja Sacco, 2020). BRD-d nimetatakse sageli ka seetõttu transpordipalavikuks, sest paljud neist stressiteguritest on seotud üleminekuga üksiksulust grupisulgu või ühest lauda(osa)st teise (Peel, 2020). BRD riskitegureid saab jagada karja- ja loomapõhisteks. Haiguse arengus võib iga riskiteguri osakaalu olla raske kvantifitseerida ja paljudes haiguspuhangutes võib tegemist olla rohkem kui ühe teguriga, mis võivad olla korruga nii karja- kui ka loomapõhised (McGill ja Sacco, 2020).

1.3.1. Veiste hingamisteede haiguse karjapõhised riskitegurid

Loomade arv aedikus mängib olulist rolli BRD tekkes. Seda kinnitavad ühe uuringu tulemused, kus leiti, et loomade arvu vähendamine rühmas oli seotud BRD riski vähenemisega (Svensson ja Liberg, 2006). Karjapõhiseks riskiteguriks on vasikate sulu bakterite arv. Leiti, et mida suurem on suluõhu bakterite arv, seda kõrgem oli ka vasikate hingamisteede haiguse levimus farmis. Sulu kõrge bakterite arvukus võib tuleneda kehvast või puudulikust ventilatsioonist, mille tulemusel õhuvahetus ja -kvaliteet halvenevad. Seetõttu on riskiteguriks samuti puudulik ventilatsioon farmis (Lago jt, 2006). Californias läbiviidud uuringus leiti seos poegimissulu allapanu vahetamise sageduse ja BRD riski vahel. Leiti, et mida vanem ja määrdunum oli allapanu, seda kõrgem oli BRD haigestumise risk (Dubrovsky jt, 2019). Riskitegurite alla kuuluvad ka ühise õhuruumi jagamine vanemate mullikatega ning vasikate pidamine lehmadega samas loomapidamishoones. Uuringus leiti, et esimesel elunädalal vasikate pidamine lehmadega ühises loomapidamishoones suurendas BRD-sse haigestumise riski. Samuti oli haigestumise riskiteguriks see, kui vasikad jäeti pärast sündi lehmade juurde kauemaks kui 24 tunniks (Gulliksen jt, 2009b). Tuvastati ka, et samas rühmas peetavate vasikate vanusevahe vähendamine on BRD osas kaitsev tegur (Gulliksen jt, 2009b; Medrano-Galarza jt, 2018). Erinevate uuringute tuvastatud karjapõhised BRD riskitegurid on koondatud tabelisse 2.

Tabel 2. Karjapõhised BRD riskitegurid vasikatel

Riskitegur	Karjade arv	Loomade arv	Riik	Allikas
Suurem loomade arv aedikus	9	892	Rootsi	Svensson ja Liberg, 2006
Sulu kõrge bakterite arv	13	225	USA	Lago jt, 2006
Puudulik ventilatsioon	13	225	USA	Lago jt, 2006
Poegimissulu määrdunud allapanu	6	11 470	California, USA	Dubrovsky jt, 2019
Vasikate pidamine vanemate noorloomadega samas õhuruumis	17	1488	Kanada	Medrano-Galarza jt, 2018
Vasikate pidamine lehmadega samas loomapidamishoones	125	5101	Norra	Gulliksen jt, 2009b
Samas grupisulus peetavate vasikate suurem vanusevahe	125	5101	Norra	Gulliksen jt, 2009b
Vasikate ema juures pidamine enam kui 24 elutundi	125	5101	Norra	Gulliksen jt, 2009b

Karjapõhised riskitegurid tulenevad suuresti farmi tingimustest ning juhtimissüsteemist. Üks olulisemaid BRD riskitegureid on loomade paigutus, mis on aga suuresti mõjutatud sellest, millised on võimalused farmis. Näiteks kas noorloomalaut on eraldi täiskasvanud lehmadest või on üks ühine hoone. Ühise hoone jagamine suurendab BRD riski vasikatel, sest vanemad loomad võivad olla nooremate vasikate jaoks patogeenide reservuaariks (Gulliksen jt, 2009b). Määrdunud poegimissulu allapanust tulenev risk on seotud sellega, et patogeenide kontsentratsioon suureneb ajaga ning poegimisel puutuvad vasikad nende patogeenidega kokku (Dubrovsky jt, 2019).

1.3.2. Veiste hingamisteede haiguse loomapõhised riskitegurid

BRD loomapõhised riskitegurid on seotud üksiku looma ja tema omadustega. Varasemates uuringutes tuvastatud loomapõhised riskitegurid on koondatud tabelisse 3.

Tabel 3. Loomapõhised BRD riskitegurid vasikatel

Riskitegur	Karjade arv	Loomade arv	Riik	Allikas
Kõrgem vanus	19	2874	USA ja Kanada	Windeyer jt, 2014
Emane sugu	NA	1716	California, USA	Aly jt, 2021
Ebapiisav passiivne immuunsus	55	1733	Iirimaa	Todd jt, 2018
Talvel sündimine	19	2874	USA ja Kanada	Windeyer jt, 2014
Eelnevalt esinenud kõhulahtisus	125	5101	Norra	Gulliksen jt, 2009b

Vasikad sünnivad ilma immuunglobuliinideta (Ig) ning nende omastamiseks on vasika jaoks oluline ternespiima saamine. Ternespiimaga saadud Ig-de imendumist vasika verre nimetatakse passiivse immuunsuse ülekandumiseks. Vasikate passiivse immuunsuse määramiseks mõõdetakse seerumi või plasma Ig või seerumi üldvalgu sisaldust esimese seitsme elupäeva jooksul. Nõrk passiivne immuunsus on BRD tekke üks peamisi riskitegureid. Furman-Fratczak jt (2011) leidsid, et vasikate seerumi Ig G sisaldus kõrgem kui 15 g/l võib aidata vasikatel hingamisteede haigusi ennetada. Todd jt (2018) täheldasid, et vasikatel, kelle seerumi Ig kontsentratsioon ületas 10 g/l, põdesid haigust harvem ja kergemalt. Vasikatel, kelle seerumi Ig kontsentratsioon jäi alla 10 g/l, oli BRD tekkerisk, teiste haiguste põdemise või ebapiisava juurdekasvu tõenäosus suurem kui kõrgemate Ig kontsentratsiooniga vasikatel.

Vanust peetakse üheks oluliseks BRD esinemissageduse riskiteguriks vasikatel. Windeyer jt (2014) ja Aly jt (2021) on oma uuringutes täheldanud, et BRD esinemissagedus suureneb vanuse suurenemisega. See võib tuleneda asjaolust, et maternaalne immuunsus vanusega väheneb, pidevalt puututakse kokku patogeenidega ja vasikaid mõjutavad elukeskkonnaga seotud muutused. Siiski on oluline märkida, et näiteks Todd jt (2018) on leidnud vastupidiseid tulemusi, näidates, et vanuse suurenemisega BRD esinemissagedus hoopis väheneb.

Eelnevalt mainitud Windeyer jt (2014) uuringus leiti veel, et talvel sündinud vasikatel oli 2,6 korda suurem tõenäosus, et nad haigestuvad BRD-sse, kui suvel sündinud vasikatel ja 1,6 korda suurem tõenäosus, kui sügisel sündinud vasikatel. Leitud on ka, et sugu on üks BRD riskiteguritest - Aly jt (2021) uuringus selgus, et lehmvasikatel oli 1,34 korda suurem tõenäosus haigestuda BRD-sse kui pullvasikatel. Uuringus leiti, et lehmvasikate seas oli passiivse

immuunsuse ülekandumise ebaõnnestumine suurem võrreldes pullvasikatega, mis võib ka põhjendada, miks leiti antud uuringus seos vasika soo ja BRD esinemise vahel (Aly jt, 2021). Vasikatel, kes põdesid esimese elukuu jooksul kõhulahtisust, oli oluliselt kõrgem risk haigestuda BRD-sse kui vasikatel, kellel eelnevalt kõhulahtisust ei esinenud. See võib olla tingitud ühistest soodustavatest teguritest, haigustekitajate immuunsupressiivsest toimest ning kõhulahtisuse tõttu tekkinud toite- ja elektrolüütide tasakaaluhäirest (Gulliksen jt, 2009b).

1.4. Veiste hingamisteede haiguse patogeenid

BRD kompleksis osalevad mitmed viiruslikud ja bakteriaalsed patogeenid, sealhulgas veiste viirusdiarröa viirus (ingl *bovine viral diarrhoea virus* - BVDV), veiste koroonaviirus (ingl *bovine coronavirus* - BCV), veiste respiratoor-süntsütsiaalviirus (ingl *bovine respiratory syncytial virus* - BRSV), veiste herpesviirus-1 (ingl *bovine herpesvirus 1* - BHV-1), veiste paragripp 3 viirus (ingl *parainfluenza 3 virus* - PI3V) ja teised. Kõige sagedasemad bakterid, mis on seotud BRD kompleksiga on *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*), *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) ja *Histophilus somni* (*H. somni*). Nimetatud bakterid on ka tervete vasikate ülemistes hingamisteedes kommensaalid. Kõiki neid patogeene, mida tavaliselt isoleeritakse vasikate hingamisteede proovidest, võib liigitada primaarseteks, sekundaarseteks või apatogeenseteks (Pardon ja Buczinski, 2020).

Primaarne patogeen, mida tuntakse ka obligatoorse patogeenina, kahjustab hingamisteid ja põhjustab põletikureaktsiooni. See, kas infektsioon viib kliinilise haigestumiseni või mitte, sõltub patogeeni kogusest ja peremeesorganismi immuunsusest. Lisaks vähendab primaarne patogeen hingamisteede loomuliku kaitsevõimet, mis lihtsustab sekundaarse patogeeni jaoks superinfektsiooni põhjustamist. Sekundaarne ehk oportunistlik patogeen on enamjaolt osa normaalsest hingamisteede mikroobioomist. Enne kui oportunistlik patogeen tungib kudedesse ja põhjustab põletikku, peab esmalt kaasasündinud immuunsus olema kahjustatud mõne teise patogeeni või mittenakkusliku teguri poolt. Arvestades, et sekundaarsed patogeenid võivad eksisteerida tervetel loomadel, raskendab nende proovides tuvastamine tulemuste tõlgendamist. Seetõttu ei saa ainuüksi oportunistliku patogeeni olemasolu tõlgendada haiguse põhjusena (Pardon ja Buczinski, 2020).

Väljakujunenud seisukoha järgi peetakse viiruseid primaarseteks ja baktereid sekundaarseteks patogeenideks (Pardon jt, 2020). Usutakse, et viirusnakkused soodustavad bakteriaalsete infektsioonide tekkimist. Hingamisteede viirusinfektsioonid põhjustavad põletikku,

kahjustavad kopsuparenhüümi ja häirivad hingamisteede puhastumist. Seega annab see võimaluse ülemiste hingamisteede bakteritel siirduda kahjustunud kopsu ja põhjustada seal omakorda põletikku. Lisaks häirivad viirused immuunsüsteemi võimet reageerida bakteriaalsetele infektsioonidele (Taylor jt, 2010).

Socha jt (2022) poolt Poolas läbi viidud uuringu tulemuste põhjal selgus, et BCV (levimus 10,5%) oli kõige levinum viiruslik patogeen testitud populatsioonis, mis hõlmas 296 vasikat 51 erinevast karjast. Uuringus koguti loomadelt nina tampooniproovid, mida testiti polümeraasi ahelreaktsiooni (ingl *polymerase chain reaction* - PCR) meetodil ning võeti vereproovid, mille seerumist määrati antikehi immunoensüümmeetodi abil. Esinemissageduses järgnesid BCV-le BVDV ja BHV-1 levimusega vastavalt 2,7% ja 1,0%.

Belgias viidi aastatel 2016–2018 läbi 128 karjaga läbilõikeuuring, kus mitteendoskoopilise bronho-alveolaar lavaaži (BAL) proove analüüsiti koondproovidena PCR meetodil. BCV oli kõige sagedamini tuvastatud viirus (38,4%), millele järgnesid BRSV (29,4%), PI3V (8,1%) ning bakteriaalsetest patogeenidest olid kõige suurema esinemissagedusega *P. multocida* (89,1%), *M. haemolytica* (41,2%), *H. somni* (36,4%) ja *M. bovis* (33,3%) (Pardon jt, 2020). BCV oli esinemissageduselt esimesel kohal (22,9%) ka Iirimaal tehtud uuringus, millesse kaasati 1364 vasikat ning kus kasutati proovide võtmiseks nina tampooniproove ning nende testimiseks PCR-i. Teised tuvastatud patogeenid olid BRSV (11,6%), PI3V (7,0%), BHV-1 (6,1%) ja BVD (5,0%) (O'Neill jt, 2014).

Aly jt (2021) viisid läbi 1716 vasikaga juhtkontrolluuringu, kus vasikatelt koguti ninaõõne tampooniproovid ning neid analüüsiti PCR meetodil ja mikrobioloogiliste meetoditega. Kõige sagedamini tuvastatud patogeenideks olid BRSV (13,7%) ning BCV (8,7%), *Mycoplasma* spp. (62,7%), *P. multocida* (30,9%), *M. haemolytica* (16,9%) ja *H. somni* (1,1%).

1.4.1. Primaarsed patogeenid

BCV on *Coronaviridae* sugukonda kuuluv RNA-viirus. Kuna nende genoomi iseloomustab suur mutatsioonide arv, on nad võimelised kiiresti kohanema uute peremeesorganismide ja ökosüsteemidega. BCV on seotud vastsündinud vasikate kõhulahtisuse, täiskasvanud veistel esineva talvedüsenteeria ja igas vanuses veiste hingamisteede infektsioonidega (Socha jt, 2022). Viirust on tuvastatud ka kliiniliselt tervetel vasikatel. BCV roll BRD primaarse patogeeninena on endiselt vastuoluline. BCV-l on oluline roll hingamisteede haiguse korral ainult

koosmõjus teiste mikroorganismidega (Studer jt, 2021). BCV kliinilised tunnused ei erine teiste patogeenide poolt põhjustatud BRD sümptomitest (Fulton, 2009).

PI3V kuulub *Paramyxoviridae* sugukonda (Fulton, 2009). PI3V on primaarne patogeen, mis kahjustab veiste hingamisteid ning soodustab seeläbi sekundaarsete haigustekitajate põhjustatud infektsioone. Esmalt tekitab PI3V põletikku hingetoru, bronhide ja alveoolide epiteelirakkudes, põhjustades ripsepiteeli nekroosi. Selle tulemusena kogunevad hingamisteedesse nõred, surnud rakud ning tolmu, sest limaskestast puhastumismehhanism on häiritud. PI3V viirusinfektsioonid on veistel seotud väheste või puuduvate kliiniliste sümptomitega. Kliinilised tunnused, mida võib nakkuse korral tuvastada on palavik, köha, nina- ja silmanõre ning auskulteerimisel kopsupõletikule viitavad helid. Kliinilise haiguse teket seostatakse stressi ja teiste viirus- või bakterinakkuste koosinimisega (Griffin jt, 2010).

BHV-1 kuulub *Herpesviridae* sugukonda. BHV-1 võib põhjustada hingamisteede ja suguelundite haigusi, konjunktiviiti, aborti, entsefaliiti ja vastsündinutel generaliseerunud haigust (Fulton, 2009). Esmalt nakatuvad ülemiste hingamisteede epiteelirakud, misjärel võib BHV-1 levida edasi alumistesse hingamisteedesse (Griffin jt, 2010). Siiski piirdub BHV-1 infektsioon tavaliselt ninaõõne, neelu ja hingetoriga (Pardon ja Buczinski, 2020). BHV-1 võib põhjustada epiteelirakkude nekroosi, mille tulemuseks on mukotsiliaarse puhastumise halvenemine ja kahjustused ülemiste hingamisteede limaskestas. See omakorda süvendab sekundaarsete infektsioonide tekke tõenäosust (Griffin jt, 2010). Hingamisteede haiguse raskusaste võib ulatuda kergest kuni raskeni. Mõned sagedamini esinevad kliinilised tunnused on palavik, riniit, konjunktiviit, isutus ja raskendatud hingamine. Ka üksiku haigustekitajana võib see põhjustada suurt kahju looma tervisele, haigestumus võib ulatuda kuni 100%-ni ja suremus ligikaudu 10%-ni (Fulton, 2009).

BRSV kuulub *Paramyxoviridae* sugukonda ja on sage hingamisteede haiguse põhjustaja, eriti noortel vasikatel (Guzman ja Taylor, 2015). BRSV nakatab nii ülemisi kui ka alumisi hingamisteid. See võib esineda ainsa haigustekitajana, kuid sageli kaasub infektsiooniga ka sekundaarne bakteriaalne infektsioon (Fulton, 2009). Vähenenud limaskestast puhastumine põhjustab nõrede ja rakujääkide kogunemise hingamisteedesse ning alveoolidesse, mis loob ideaalsed tingimused bakterite koloniseerumiseks (Griffin jt, 2010). BRSV poolt esile kutsutud kliiniline pilt algab palaviku, köha ja sageli limase nina- ja silmanõrega (Guzman ja Taylor, 2015). Raskemalt haigestunud vasikatel võib tekkida kopsuturse, mis viib hingamisraskusteni (Fulton, 2009).

BVDV on *Flavivirus* sugukonna liige, millel on immuunsupressiivsed omadused. BVDV on seotud mitmete haigustega, sealhulgas nii BRD kui ka enteriidiga (Larson, 2015). Haigestunud loomadel on BVDV isoleeritud nii üksiku patogeeni kui ka kombinatsioonis teistega. Antud viirus toimib sünergiliselt koos teiste hingamisteede patogeenidega, hõlbustades alumistes hingamisteedes bakterite koloniseerimist, mis võib põhjustada fibrinonekrootilist bronhopneumooniat. Põhiline viiruse karjas püsimise mehhanism on püsivalt infitseeritud (PI) veised. Ühe uuringu kohaselt oli vasikatel, kes puutusid kokku PI loomaga, 43% suurem tõenäosus, et neid ravitakse hingamisteede haiguse tõttu kui vasikatel, kellel kokkupuude puudus. Esmastest BRD juhtudest olid 15,9% tingitud kokkupuutest PI loomaga (Loneragan jt, 2005).

M. bovis, eelneva nimetusega *Mycoplasma bovis*, on mükoplasma. Selle rakuseina asemel on kolmekihiline plasmamembraan (Griffin, 2010), mis on muutnud antud patogeeni resistentseks penitsilliinide ja tsefalosporiinid suhtes. Seetõttu iseloomustab *M. bovis* infektsioone krooniline kulg ja kesine tervistumine ravi korral (Dudek jt, 2020). *M. bovis* põhjustab veistel peamiselt hingamisteede haigusi ja mastiiti, kuid lisaks veel artriiti, keskkõrvapõletikku ja suguelundite haigusi (Maunsell jt, 2011). Haigustekitaja peamine roll veiste bakteriaalses kopsupõletikus on vastuoluline, kuid siiski peetakse seda pigem primaarseks patogeeniks (Pardon ja Buczinski, 2020). *M. bovis*'e põhjustatud haigust esineb sageli just nendel loomadel, kes on varem nakatunud mõne teise bakteriaalse või viirusliku patogeeni (Perez-Casal, 2020). *M. bovis* võib ainsa patogeeni põhjustada kliinilist haigust, kuid sama hästi võib see esineda ja levida karjas ka subkliiniliselt. Arvatakse, et asümptomaatiliselt nakatunud loomade karja toomine on peamine viis, kuidas *M. bovis* karja satub (Maunsell jt, 2011). *M. bovis*'e diagnoositud hingamisteede haiguse kliiniline pilt ei ole enamasti iseloomulik ega erine teiste patogeenide poolt põhjustatud kliinilistest tunnustest. *M. bovis*'e puhul võib esineda adhesioon peremeesrakkudega, mis aitab vigastada kudesid ja hoiduda kõrvale immuunvastusest. *M. bovis* on üks kolmeteistkümnest veistel diagnoositud mükoplasma liigist, kuid mitte kõik neist ei põhjusta tõsist haigestumist (Dudek jt, 2020). Näiteks esineb *Mycoplasma dispar* tervete loomade ülemistes hingamisteedes ja on tõenäoliselt apatogeenne. Samuti on apatogeenne ka *Mycoplasma bovirhinis* (Pardon ja Buczinski, 2020).

1.4.2. Sekundaarsed patogeenid

M. haemolytica on gramnegatiivne fakultatiivne anaeroob ja kokobatsill, mis kuulub sugukonda *Pasteurellaceae*. *M. haemolytica* persisterib tervete veiste ülemistes hingamisteedes, kust see

võib kopsudesse sattudes põhjustada kopsupõletikku. Kommensaalsed bakterid esinevad peremeesorganismides sageli biokiledena, mis pakuvad bakterirakkudele kaitset peremeesorganismi immuunvastuse ja antibiootikumide eest (Snyder ja Credille, 2020). Kokkupuude külmade keskkonnatemperatuuridega suurendab bakteri koloniseerimist ninas (Caswell, 2014). Üldiselt põhjustab antud bakter kliinilist haigestumist stressi, immuunsupressiooni ja viirusinfektsiooni kombinatsioonina, mis viib alumistes hingamisteedes bakterite ülekasvuni (Snyder ja Credille, 2020). Nakatunud loomadel võivad esineda esmalt üldised kliinilised tunnused nagu palavik ja isu vähenemine, samuti köha ja ninanõre. *M. haemolytica* võib põhjustada samuti ägedat fibrinooset pleuropneumooniat, mis omakorda võib tekitada bronhiolides ja alveoolides obstruktsiooni fibrinise eksudaadi kogunemise tõttu (Gaudino jt, 2022).

P. multocida on gramnegatiivne fakultatiivne anaeroob, mis kuulub sugukonda *Pasteurellaceae* (Snyder ja Credille, 2020). *P. multocida* on tavaline veiste ninaneelus esinev bakter (Dabo jt, 2007). Seda tuvastatakse sagedamini noorematel veistel, eriti just hiljuti võõrutatud väga stressis vasikatel. Antud patogeen võib põhjustada vastsündinutel ensootilist kopsupõletikku (Griffin, 2010). *P. multocida* kopsupõletiku tekkeks on vaja täiendavaid soodustavaid tegureid. Näiteks seostatakse selle patogeeni poolt põhjustatud kopsupõletiku teket enamasti erinevate keskkonna- ja stressiteguritega (Dabo jt, 2007). *P. multocida* infektsioon võib põhjustada erinevat tüüpi bronhopneumooniat, alates alaägedast kuni kroonilise fibrinmädase põletikuni (Gaudino jt, 2022).

Nagu paljud teisedki BRD-ga seotud bakterid, on ka *H. somni* (varasem nimetus *Haemophilus somnus*) vasikatel kommensaal, mis elab ninaneelu piirkonnas (Griffin, 2010). *H. somni* üheks virulentsusfaktoriks on peremeesorganismi immuunvastusest kõrvalehoidmine. Lisaks hingamisteede haigusele on *H. somni* seotud trombootilise meningoentsefaliidi, septitseemia, müokardiidi, artriidi ja sigimisprobleemidega. *H. somni* infektsiooniga seotud BRD põhjustab pleuropneumooniat. Kliiniliselt on antud bakteri põhjustatud kopsupõletik eristamatu teiste bakteriaalsete patogeenide põhjustatud põletikust. Kliiniliste tunnuste hulka kuuluvad düspnoe, püsiv palavik ja paljudel juhtudel ka surm (Griffin jt, 2010).

Sageli esineb BRD kompleksis ka *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*), mis on *Actinomycetaceae* sugukonda kuuluv grampositiivne bakter. *T. pyogenes*'t peetakse loomade ülemiste hingamisteede, kuse- ja suguelundite, seedetrakti, naha ja limaskestade loomulikuks asukaks. Tegemist on olulise oportunistliku patogeeniga. See võib põhjustada nakkust

primaarse tekitajana, kuid sagedamini on antud bakter seotud polümikrobiaalsete haigustega ja seda peetakse siiski pigem sekundaarseks. *T. pyogenes* põhjustab mitmesuguseid mädase põletikuga ja tihti krooniliselt kulgevaid infektsioone, näiteks metriiti, mastiiti, kopsupõletikku ja abstsesse (Rzewuska jt, 2019).

Bibersteinia trehalosi (*B. trehalosi*) on gramnegatiivne *Pasteurellaceae* sugukonda kuuluv bakter. Kuigi *B. trehalosi* nakkused veistel on pigem harvaesinevad, on siiski bakterit tuvastatud veiste kopsudest. Antud bakteri kliinilisi tunnuseid seostatakse ennekõike raske kopsupatoloogiaga ning ravimiresistentsusega. Oletatakse, et *B. trehalosi* võib olla omandanud suurenenud patogeensuse teistelt bakteritelt. *B. trehalosi* peetakse pigem sekundaarseks ja oportunistlikuks patogeeniks (Hanthorn jt, 2014).

Gallibacterium anatis (*G. anatis*) on *Pasteurellaceae* sugukonnast pärit gramnegatiivne kokobatsill. Ennekõike on seda peetud linnukasvanduses oportunistlikuks patogeeniks, mida on isoleeritud peamiselt lindude ülemistest hingamisteedest ja alumistest suguelunditest (van Driessche jt, 2020). *G. anatis* kujutab endast potentsiaalset ohtu piimavasikatele, olles seotud nii gastroenteriidi, kopsupõletiku kui ka sepitseemiaga. Samuti on leitud, et antud bakteril on võime moodustada biokilet (Bzdil jt, 2024). *G. anatis* toimib suure tõenäosusega sekundaarse bakterina, nakatades juba varasemalt kahjustunud hingamisteid nagu on täheldatud kodulindude puhul. Paistab ka, et *G. anatis* võib kanda mitmesuguseid omandatud antimikroobse resistentsuse geene. Need resistentsusgeenid võivad levida patogeensematele hingamisteede bakteritele (näiteks *M. haemolytica*, *P. multocida* või *H. somni*), mis võib viia nakkusliku bronhopneumoonia ravi ebaõnnestumiseni (van Driessche jt, 2020).

1.5. Veiste hingamisteede haiguse kliinilised tunnused

BRD korral põhjustab infektsioon sageli muutusi kopsudes, näiteks tekib bronhiolaarse ja alveolaarse õhuruumi turse ning neutrofiilide ja fibriini kogunemine, takistades korrapärast gaasivahetust ja ventilatsiooni. Põletikumediaatorid võivad põhjustada ventilatsiooni-perfusioonihäireid, bronhokonstriksiooni, tursed ja leukotsüütide infiltratsiooni hingamisteede seintes. Need organismis tekkinud muutused põhjustavad seejärel kopsufunktsiooni häireid, hingeldamist ja hingamisteede distressi (Bassel jt, 2020).

Igal vasikal tekib erinev vastureaktsioon pulmonaarsele ja süsteemsele infektsioonile, mis on ka põhjuseks, miks kliinilised tunnused ja haiguse kestus on isendite vahel nii varieeruv (Bassel

jt, 2020). Seetõttu erineb tugevalt ka BRD kliiniliste tunnuste raskusaste. Alguses põhjustavad haigustekitajad mittespetsiifilisi haigusnähte, näiteks palavikku, depressiooni, karjakaaslastest eraldumist ja isutust. Sealt edasi võib näha spetsiifilisemaid hingamisteede haigusega seotud kliinilisi tunnuseid nagu hingamissageduse suurenemine, ebanormaalsed hingamismustrid, ninanõre või köha esinemine (Buczinski ja Pardon, 2020).

1.5.1. Hingamisteede haiguse kliiniliste tunnuste seos patogeenidega

BRD kliinilised tunnused võivad olla eksitavad, sest nad ei aita eristada bakteriaalset infektsiooni viiruslikust (Buczinski jt, 2018a). Erinevate patogeenide puhul kirjeldatakse sarnaseid kliinilisi tunnuseid ning reaalses olukorras oleks patogeenide eristamine kliinilise pildi põhjal praktiliselt võimatu. Griffin (2010) täheldas erinevate kopsubakterite, sealhulgas *P. multocida*, *M. bovis*, *H. somni* ja *M. haemolytica* kopsupõletike puhul sarnaseid kliinilisi tunnuseid nagu loidus, isutus, kehatemperatuuri tõus ja muutused hingamissageduses. Seega ei ole need kliinilised tunnused patognoomilised ega aita eristada patogeene üksteisest.

Soomes viidi läbi uuring, kus analüüsiti seoseid *P. multocida* ja hingamissageduse suurenemise, kõrgeenenud kehatemperatuuri, rägisevate hingamishelide ja ninanõre vahel. Antud uuringusse kaasati 84 vasikat, kellest 90,5% tuvastati TBL proovides *P. multocida*. *Mycoplasma* spp. ja *M. dispar* isoleeriti rohkem kui 90% vasikatel, kuid sellele vaatamata ei tuvastatud seost mükoplasmade ja kliiniliste tunnuste vahel (Nikunen jt, 2007). França Dias de Oliveira jt (2016) uurisid seost vasikate TBL proovidest isoleeritud bakterite ja kliiniliste tunnuste vahel. Uuringus oli 96 looma vanuses 1 kuni 24 elukuud ning *M. dispar*'i seostati kopsu auskulteerimisel ilmnenuid vilinate ja jämedate räginatega, kuid niisamuti seostati neid ka *P. multocida*'ga. Viimast seostati veel köha, limas-mädase ninanõre ja peenete räginatega. *M. bovis*'e puudumist seostati puhaste hingamishelidega rindkere auskulteerimisel. Läbiviidud uuringus tuli esile, et ainult *P. multocida* puhul esines köha ja limas-mädast ninanõret ning *M. dispar*'i nakkuse puhul esines vilisevat hingamisheli. Olenemata tuvastatud seostest, esines kliiniliste tunnuste vahel ka kattuvust, mis näitab, et praktikas võib olla keeruline eristada patogeene üksteisest vaid kliiniliste tunnuste alusel.

1.6. Veiste hingamisteede haiguse diagnoosimine

BRD diagnoosimine pakub veterinaarias suurt väljakutset, eriti kuna puudub kuldstandard ning BRD hõlmab endas erinevaid haigusi. Samas on surve kasutada diagnostikat, mis aitaks

tuvastada patogeeni, sest see aitaks vähendada antibiootikumide kasutamist. Tuleb ka silmas pidada veiste hingamisteede bakterite varieeruvat resistentsust antibiootikumidele (Buczinski ja Pardon, 2020). Kuna baktereid isoleeritakse rohkem nendel vasikatel, kellel esinevad kliinilised tunnused, siis on saanud ravi esmavalikuks just antibiootikumid, millega tahetakse vältida haiguse progresseerumist raskekujuliseks bronhopneumooniaks (Ramezani Gardaloud jt, 2022).

Farmis on BRD diagnostika keeruline ning raskendab ka seetõttu efektiivse raviplaani läbiviimist. Kohapeal läbi viidavate diagnoosimismeetodite puhul on loomakasvatajal ootused, et need on taskukohased ja vähe aeganõudvad. Kriitilise tähtsusega aspekt diagnostiliste testide puhul on tulemuste kiire saamine, et saaks toetuda neile otsuste tegemisel just haiguspuhangu algul. Tulemuste abil saaks teha paremaid ravivalikuid ning luua spetsiifilisi bioohutusmeetmeid või vaksineerimiskavasid (Lowie jt, 2021). Praegu on antud valdkonnas kõige sagedamini kasutatavad ja parimad meetodid ninaneelu tampooniproov ja mitteendoskoopiline TBL, vähem kasutatakse transtrahheaalset loputust (ingl *transtracheal wash* - TTW) või aspiratsiooni (Pardon ja Buczinski, 2020).

1.6.1. Diagnoosimine praktikas

BRD õigeaegne diagnoosimine on piimavasikate puhul märkimisväärne väljakutse (Aly jt, 2014). Eriti suureks väljakutseks on haiguse varajane või subkliinilises faasis avastamine. Hilinenud diagnoosimine võib viia pikaaegsele antibiootikumide kasutamisele, püsivate tervisekahjustusteni, sekundaarsete nakkusteni või ka retsidiivideni (McGuirk, 2008). BRD diagnoos põhineb tavaliselt visuaalsetel haigustunnustel nagu isutus, depressioon, nina- ja silmanõre esinemine ja köha. Ka loomaarstid kasutavad igapäevaselt diagnoosi panekuks enamasti kliinilisi tunnuseid ning tihti viivad teatud tunnused, näiteks palavik, köha või hingeldamine, antibiootikumide kasutamiseni (Buczinski jt, 2016).

Farmis on üheks fundamentaalseks osaks hinnata hingamiselundkonna tervislikku seisundit auskulteerimisega. Kopsupõletiku korral tekivad ebanormaalsed või kõrvalised hingamishelid, mida saab arvesse võtta diagnoosi panekul ja haiguse raskusastme hindamisel (Buczinski jt, 2014). Buczinski jt (2016) viisid läbi uuringu, kus leidsid, et auskulteerimise tundlikkus bronhopneumoonia tuvastamisel oli 72,9% ja spetsiifilisus 53,3%.

Lisavõimaluseks on teha ka rindkere ultraheli, mis on osutunud usaldusväärseks vahendiks kopsukoe konsolideerumise ja vasikate kopsukahjustuste ulatuse hindamisel. Van Leenen jt (2019) viisid läbi uuringu 352 vasikaga, kus nad uurisid kopsupõletiku esinemist kliiniliste tunnuste, ultraheli kui ka BALi abil. Oma uuringus leidsid nad ultraheliga, et 42,2% vasikatel esines kopsukoe konsolideerumine, kuigi ühelgi vasikal ei ilmnenu kliinilisi tunnuseid, mille põhjal võib järeldada, et paljud vasikad põevad kopsupõletikku subkliiniliselt ning seetõttu võib ultraheli olla suureks abivahendiks diagnoosi panekul. Raskendav asjaolu on see, et konsolideerumine ei ole seotud üksnes infektsioonidega, vaid see võib esineda ka infarkti või atelektaaside korral (Buczinski jt, 2014). Cuevas-Gómez jt (2021) leidsid oma uuringus, et ultraheliga hinnatud kopsukahjustused ilmnemiseks keskmiselt 10,5 päeva enne BRD kliiniliste tunnuste ilmnemist. Bronhopneumoonia avastamiseks on ultraheli tundlikkuseks hinnatud 76,5% ja spetsiifilisuseks 92,9% (Buczinski jt, 2016). Ultraheli teostamine aga nõuab kallist aparatuuri ning lisaks on selle teostamiseks vaja ka kogemusi ja spetsiifilisi oskusi (Aly jt, 2021).

Selleks, et oleks võimalik farmis hinnata üksikute loomade puhul ravi vajalikkust on loodud mitmeid erinevaid BRD hindamissüsteeme, sealhulgas Wisconsin (WI) ja California (CA) süsteemid. Ennekõike on mõeldud, et neid süsteeme kasutaksid töötajad, kellel puudub veterinaarharidus. Süsteemid põhinevad sarnaselt mitmete hingamisteede haigusega seotud kliiniliste tunnuste kombineeritud raskusastmel. Hindamissüsteemide nõrgad kohad hõlmavad kliiniliste tunnuste raskusastmete subjektiivset hindamist, ka ei ole nende kasutamisel võimalik tuvastada subkliiniliselt haigeid vasikaid (McGuirk, 2008).

WI hindamissüsteemis hinnatakse viite kliinilist tunnust, sealhulgas silmanõre, ninanõre, indutseeritud või spontaanse köha esinemist, rektaalset kehatemperatuuri ning kõrvade asendit või pea hoiakut. Lisaks on need kliinilised tunnused jagatud nelja erinevasse raskusastmesse (McGuirk, 2008). Buczinski jt (2014) hindasid vasikaid kopsude konsolideerumise suhtes ultraheliga, mis oli ka antud uuringus kuldstandardiks. Hiljem hindasid nad samu vasikaid WI hindamissüsteemiga ning said selle tundlikkuseks 55,4% ja spetsiifilisuseks 58,0%. CA hindamissüsteem hõlmab lisaks eelnevalt mainitud tunnustele ka hingamissagedust. CA hindamissüsteem põhineb suuresti kliinilise tunnuse puudumisel või olemasolul, näiteks kas esineb või ei esine köhimist. Kui CA süsteemi puhul tuleb punktisumma ≥ 5 , siis seda loetakse BRD juhtumiks (Love jt, 2014). Love jt (2016) viisid läbi uuringu, et hinnata farmis kasutatavate hindamissüsteemide tundlikkust ja spetsiifilisust tuvastada BRD kompleksi

piimavasikatel. Uuringus kasutati võrdlusstandardina rindkere ultraheli ja auskulteerimist. CA süsteemi diagnostiliseks tundlikkuseks saadi 72,6% ja spetsiifilisuseks 87,4% ning WI süsteemi puhul vastavalt 71,1% ja 91,2%. Love jt (2016) tõlgendasid kahe hindamissüsteemi spetsiifilisuse erinevust sellega, et WI süsteem jagab iga kliinilise tunnuse raskusastmeteks, kuid CA süsteem seisneb suuresti tunnuse esinemisel või mitteesinemisel. Seega järeldasid nad, et WI süsteem vähendab suurema tõenäosusega valepositiivseid tulemusi vasikatel, kellel on ainult kerged kliinilised tunnused. WI süsteemi puhul kasutatakse kõhimise esilekutsumist, kuid CA süsteemi puhul ei ole see ette nähtud, mistõttu on viimase puhul vähem vasika käsitlemist. Samas on leitud, et WI ja CA hindamissüsteemid annavad sarnaseid tulemusi ning nende omavaheline kokkulangevus on väga hea (Aly jt, 2014).

1.6.2. Proovivõtumeetodid hingamisteede haiguse diagnostikas

Vasikate hingamisteede haiguse patogeenide tuvastamisel on kasutusel mitmed erinevad proovivõtumeetodid oma plusside ja miinustega. Ideaalis peaks kasutatav tehnika olema kiire ja lihtne ning põhjustama vasikatele võimalikult vähe stressi (Godinho jt, 2007). Üheks lihtsamaks meetodiks peetakse nina tampooniproovi (ingl *nasal swab* - NS) võtmist, mille korral võetakse tampooniga sekreeti ninaõõnest. Sellise meetodi puhul on proovi saastumise risk väga suur ning suureks probleemiks on ka polümikroobsete proovide kõrge esinemissagedus (üle 80%), mis võib raskendada oluliselt kliinilist tõlgendust. Seetõttu peetakse seda nakkuste diagnostika mõistes üldiselt piiratud väärtusega proovivõtumeetodiks. Süvaneeluprooviga (ingl *deep nasopharyngeal swab* - DNS) on võimalik võtta tampooniproov hingamisteedest ja sellega seotud lümfoidepiteelilt. Seega võib olla sellel suurem väärtus diagnostikas kui NS-il, kuid siiski ei anna ka see infot alumiste hingamisteede tabandumise kohta. Meetodite eeliseks on see, et tampooniproovid võimaldavad suhteliselt lühikese ajaga võtta proove paljudelt loomadelt (Pardon ja Buczinski, 2020).

Proovi saastumise vältimiseks ülemiste hingamisteede infektsioonidega on välja töötatud transtrahheaalsed proovivõtumeetodid, mis põhinevad hingetoru perforatsioonil nõela või kateetriga pärast naha kirurgilist ettevalmistamist. Transtrahheaalseid meetodeid on kaks: aspiratsioon ja loputus. Aspiratsioon hõlmab ainult hingamisteedes oleva lima aspireerimist. TTW nõuab aga vedeliku manustamist ja selle kohest aspireerimist. Praktikas on kasutusel rohkem teine meetod. Proovivõtukoht on hingetoru bifurkatsioon (Pardon ja Buczinski, 2020). TTW võimaldab vältida kokkupuudet ninaneelu normaalse mikroflooraga ning vähendada sellega proovi saastumise riski ja koguda proov alumistest hingamisteedest (Doyle jt, 2017).

Samas võib positiivne kultuur samavõrra tähendada bakteriaalset trahheiti, ebaolulist kolonisatsiooni või saastumist, mille tõttu võib tulla valepositiivne diagnoos (Pardon ja Buczinski, 2020). Lisaks on tegemist suhteliselt invasiivse ja aeganõudva meetodiga (Doyle jt, 2017).

Farmis saab veel kasutada ka BAL proovivõtumeetodit. Humaanmeditsiinis viiakse BAL-i läbi endoskoobiga, kuid farmi tingimustes oleks see meetod liiga kallis ja lisaks oleks raskendatud seadme turvalisuse tagamine. Seetõttu on veiste puhul võetud kasutusele pimetechnika. Selle puhul viiakse kateeter pimesi ninast, neelust ja trahheast läbi kuni jõutakse bronhideni. Pärast seda süstitakse kateetri kaudu steriilset lahust, mis aspireeritakse koheselt. Steriilse lahuse maht võib varieeruda vahemikus 30–250 ml ning keskmiselt saab aspireerida 33,5% süstitud lahusest (Pardon ja Buczinski, 2020). Loomaarstid eelistavad loomade heaolu kaalutlustel kasutada süstelahuse väikest mahtu nagu 30 ml (van Leenen jt, 2019). Antud meetodi puhul võib esineda ülemiste hingamisteede kommensaalidega saastumise oht (Doyle jt, 2017). Tegemist on siiski parima praktilise meetodiga, kui on vaja tuvastada viiruseid ja baktereid (Pardon ja Buczinski, 2020).

Doyle jt (2017) viisid Californias läbi uuringu, et hinnata TTW-d ja NS-i, DNS-i ja BAL-i tulemuste ühtivust viiruslike ja bakteriaalsete patogeenide tuvastamiseks BRD-ga piimavasikatel. Uuringus osalenud 100 pullvasika keskmine vanus oli 49 päeva. Kõigilt uuringus osalenud vasikatelt võeti NS, DNS, TTW ja seejärel BAL. Antud uuringus pandi TTW tulemus võrdlusstandardiks. Uuringu tulemused viitasid sellele, et NS, DNS, TTW ja BAL on kõik võimelised tuvastama *M. haemolytica*, *P. multocida* ja *M. bovis* infektsioone ägeda BRD haigestumise korral piimavasikatel. Viiruslike patogeenide puhul sellist sarnasust meetodite vahel ei leitud. BCV puhul andsid NS ja DNS mõlemad TTW-ga võrreldes oluliselt suurema osa positiivseid tulemusi - kui TTW korral oli BCV esinumus 6,6%, siis NS puhul 15,6% ja DNS 20,9%. Parem kokkulangevus viiruste puhul leiti BAL-i ja TTW vahel.

Võrdlemaks BAL-i ja DNS-i viidi läbi uuring 184 võõrutatud vasikaga, kellest 144 põdesid BRD-d ja 39 olid terved ehk neid kasutati kontrollgrupina. Igalt vasikalt võeti nii DNS kui ka BAL proov, et hinnata bakterikultuuri tulemusi kui ka kommensaalide ülekasvu. Peamine fookus oli *M. bovis*'e ja perekond *Pasteurellaceae* tuvastamisel. BAL proovid olid vähem polümikroobsed ja andsid puhtamaid kultuure. BAL proovidest tehtud kultuuridest olid 20,8% polümikroobsed, samal ajal kui DNS-i puhul oli see 68,8%. Kliiniliselt olulise tõlgendatava tulemuse andis BAL 79,2% ning DNS 31,2% juhtudel (van Driessche jt, 2017).

1.6.3. Diagnostikameetodid hingamisteede haiguse diagnostikas

Tihti tahetakse läbi viia diagnostilisi teste, et saaks tulemusi kasutada raviotsuste tegemisel. Väga oluline aspekt diagnoosimise juures on lühike aeg proovide võtmise ja testitulemuste kättesaamise vahel (Pardon ja Buczinski, 2020).

Mikroobikultuuri teostamise aeg varieerub 24 tunnist kuni kolme päevani *Pasteurellaceae* korral, kuid mükoplasmade korral võib see olla isegi üle viie päeva. Mikroobikultuure kasutatakse kõige enam just bakterite tuvastamiseks. Antud meetodi puhul saab tuvastada elusaid baktereid. Mikroobikultuuri eelised on selle odav hind, elusa patogeeni tuvastamine, võimalus kvantifitseerida bakteri esinemist proovis ja ka võimalus teha antibiogramm. Puudusteks on meetodi madal tundlikkus, samuti on kultiveerimine aeganõudev. Teatud patogeenide puhul (näiteks *H. somni*) võib esineda kergesti ülekasvu, mis võib viia valenegatiivsete tulemusteni (Pardon ja Buczinski, 2020).

PCR meetod on muutunud veisemeditsiinis aina populaarsemaks peamiselt seetõttu, et see võimaldab tuvastada mitut bakterit ja viirust ühe testimisega, pakkudes loomaarstile laialdasemat ülevaadet kaasatud patogeenidest. PCR meetod põhineb patogeeni geneetilise materjali tuvastamisel ning vastuste saamine võtab tavaliselt kuni 24 tundi. PCR-i nõrkuseks võib olla see, et vaja on spetsiifilisi praimereid ja huvipakkuv patogeen tuleb eelnevalt valida. Sel moel on diagnostika potentsiaalselt kallutatud ja võib viia valenegatiivsete tulemusteni. Üldiselt ei ole PCR ka odav, kuid on võimalus teha koondproove, mille puhul ühendatakse viie looma proovid. PCR-i suurimaks puuduseks on tulemuste keeruline tõlgendamine, sest antud meetod suudab tuvastada oma kõrge tundlikkuse tõttu ka surnuid ja oportunistlikke patogeene. Positiivne tulemus ei pruugi alati tähendada, et leitud patogeen on infektsiooni põhjustaja. PCR-iga on võimalus saada ka kvantitatiivseid tulemusi (Pardon ja Buczinski, 2020).

Seroloogia põhineb antikehade tuvastamisel ning selle teostamise aeg võib ulatuda 24 tunnist kuni 1 nädalani olenevalt labori rutiinidest; paarisserumite korral isegi kauem, tulenevalt sellest, et proovid tuleb võtta kolme nädalase vahega. Paaris-seroloogia võib osutada kasulikuks vaktsineerimisprogrammi tõhususe hindamisel. Seroloogiaga saadud tulemus ei ole väga kasulik, kui tahta tulemusi kasutada raviotsuste tegemiseks, sest see peegeldab üksnes kokkupuudet patogeeninga. Positiivseid tulemusi võivad anda ka maternaalsed antikehad või varasema infektsioonide läbipõdemisel tekkinud antikehad. Seroloogia ei suuda eristada

vaktsiini indutseeritud antikehi infektsiooni läbipõdemisel tekkinud antikehadest, erandiks on markervaktsiinid (Pardon ja Buczinski, 2020).

2. LÕPUTÖÖ EESMÄRGID

Lõputöö eesmärk oli uurida Eesti piimaveisekarjades peetavate piimaperioodi vasikate TBL proovides esinevaid baktereid ning analüüsida nende seoseid vasikatel esinevate hingamisteede haiguse kliiniliste tunnustega.

3. MATERJAL JA METOODIKA

3.1. Karjad ja loomad

Uuring toimus perioodil november 2021 kuni märts 2022 ning selles osales 15 Eesti piimaveisefarmi, milles peeti vähemalt 400 lüpsilehma. Karja suuruse kriteeriumile vastavate farmide nimekiri saadi Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS-ist. Karjade valik toimus juhuslikkuse alusel (genereeriti juhuslikud 15 numbrit, mille alusel tehti valik 70 karja hulgast).

Kõikide farmis viibivate võõrutamata vasikate raviandmed märgiti üles ning uuringusse valiti vasikad, keda ei olnud eelnevalt hingamisteede haiguse vastu ravitud, sest eesmärk oli tuvastada esmane haigestumine ehk vältida kroonilisi või korduvaid infektsioone. Igas farmis valiti proovide võtmiseks viis vasikat, kellel esinesid hingamisteede kliinilised haigustunnused, ja viis vasikat, keda peeti terveks. Kõikidel võõrutamata vasikatel hinnati järgmiste kliiniliste haigustunnuste esinemist: rektaalne temperatuur (°C), hingamissagedus (hingetõmbeid/minutis), nina- ja silmanõre esinemine ("esineb" ülemäärase koguse ja/või nõre ebanormaalse värvuse/konsistentsi korral ning "puudub", kui nõre ei täheldatud), spontaanne köha, nabapõletik, kõhulahtisus ja käitumine (ergas/mõõdukalt loid/depressiivne). Kuna uuringusse sooviti kaasata nii terveid kui haigeid vasikaid, klassifitseeriti selles etapis vasikad terveteks, kui teha kehatemperatuur oli $\leq 39,5^{\circ}\text{C}$ ja hingamissagedus oli väiksem kui 40 korda minutis. Hingamisteede haigust kahtlustati vasikal, kellel oli kehatemperatuur $>39,5^{\circ}\text{C}$ ja/või suurenenud hingamissagedus (≥ 40 hingetõmme/min).

Eelnevalt vaktsineeritud vasikaid välditi uuringusse kaasamisest. Siiski, kui farmis ei olnud piisavalt vasikaid valimi moodustamiseks, kaasati ka eelnevalt vaktsineeritud loomi. Lõpuks kaasati uuringusse 19 vasikat, kes olid eelnevalt vaktsineeritud intranasaalse BRSV vastu. Farmides koguti ka andmeid nudistamise kohta. Kõikidest vasikatest 56 olid eelnevalt nudistatud, vahemikus 1–55 päeva tagasi.

3.2. Proovide kogumine

Kõigilt uuringusse kaasatud vasikatelt võeti TBL proovid vastavalt Härtel jt (2004) kirjeldatud meetodile. Proovide kogumiseks kasutati steriilset välimist (pikkus 30 cm, välisläbimõõt 6 mm, Medsuyun) ja sisemist kateetrit (pikkus 125 cm, välisläbimõõt 2,7 mm, Pennine). Enne kateetri

sisestamist puhastati ninasõõrmed steriilsete tampoonidega. Vasika pea ja nina fikseeriti suunaga ülespoole, et kateeter pimesi nina kaudu hingetorusse viia. Väliskateeter juhiti läbi kõri hingetorusse ning sisemine kateeter viidi sisse kuni ilmnes vastupanu selle liikumisel. Hindamaks, et kateeter on juhitud õigesse kohta, jälgiti samaaegselt vasika köha- ja keele sirutusrefleksi. Kateetri paigaldamise järel süstiti sisemisse kateetrisse 40 ml isotoonilist steriilset füsioloogilist lahust, mis aspireeriti koheselt. Kogutud TBL proove hoiti transportimise ajal jää peal, seejärel säilitati temperatuuril 4°C ning saadeti samal päeval edasi Riigi Laboriuuringute ja Riskihindamise keskusesse (LABRIS).

3.3. Proovide käsitlemine ja analüüsimine

Vasikate TBL proovide bakterioloogiline uuring viidi läbi vastavalt standardsetele protokollidele (OIE, 2022) LABRIS-es. Kultiveerimiseks inokuleeriti ja hajutati üks tilk (50 µl) lahjendamata TBL proovi MacConkey agarile (Oxoid™, Thermo Scientific) ja veriagarile (Bioline, Itaalia), mis oli rikastatud lamba vere lisandiga (Thermo Scientific) ning paigutati süsihappegaasiga rikastunud keskkonda. Petri taldrikuid inkubeeriti 37°C juures 18–24 tundi ja hiljem kontrolliti kasvu ning kolooniaid moodustuvate ühikute arvu (CFU/ml). Esinduslikud kolooniad subkultiveeriti ning liikide identifitseerimisel kasutati maatriksi assisteeritud laserdesorptsioon-ionsisatsioon lennuaja massispektromeetria (ingl *matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry* - MALDI-TOF) vastavalt tootja juhiste (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Saksamaa). TBL proove analüüsiti *M. bovis*'e suhtes kasutades PCR meetodit. Bakteriaalne DNA ekstraheeriti Qiacube automatiseeritud ekstraheerimisüsteemi (Qiagen, CA) ja Indispin Pathogen Mini komplekti (Indical Bioscience, Saksamaa) kasutades. Primerid, mida kirjeldas Sachse jt (2010) kasutati *M. bovis*'e esineva oppD 71 aluspaari pikkuse fragmendi amplifitseerimiseks. Lisaks kasutati primereid, mida kirjeldas Hoffmann jt (2006), Intype DNA-s esineva rekombinantse plasmidi pGEM-EGFP 177 aluspaari amplikoni genereerimiseks.

3.4. Andmete statistiline analüüs

Andmete analüüsiks kasutati Microsoft Excelit. Rühmitavaid tunnuseid kirjeldati sageduste ja protsentidega. Pidevate arvtunnuste kirjeldamiseks kasutati mediaani, kvartiile ning miinimumi ja maksimumi.

Määratlemaks vasikad, kellel oli kliiniliste tunnuste põhjal hingamisteede haigus, kasutati Love jt (2014) poolt loodud CA hindamissüsteemi. Hindamissüsteemis kasutatakse järgnevaid tunnuseid ja punktisummasid: spontaanne köha (2 punkti), ninanõre (4 punkti), silmanõre (2 punkti), lontis kõrvad või peakalle (5 punkti), kehatemperatuur $\geq 39,2^{\circ}\text{C}$ (2 punkti) ja kiirenenud või raskendatud hingamine (2 punkti). Vasikad defineeritakse antud süsteemi põhjal haigeteks kui nende kliinilise hindamise punktisumma on ≥ 5 .

Tuvastamiseks, millised TBL proovides tuvastatud bakterid seostuvad kliinilise haigestumisega, tehti esmalt patogeenide skriinimiseks ühekaupa analüüsid logistilist regressioonianalüüsi kasutades. Sõltuvaks muutujaks oli haiguse esinemine/mitte-esinemine vasikal CA punktisumma alusel ja sõltumatuks muutujaks tuvastatud patogeeni esinemine/mitte-esinemine proovis. Mudelis kontrolliti vasika vanust, tõugu, sugu, vaktsineerimist intranasaalsete elusvaktsiinidega, pidamistüüpi (individuaalne vs grupis), kõhulahtisuse esinemist ning nudistamise aega (ei ole nudistatud/kuni 14 päeva tagasi nudistatud/ >14 päeva tagasi nudistatud) võtmaks arvesse nende segavat mõju. Farmi mõju kontrolliti mudelis juhusliku tegurina.

Patogeenid, mille seos kliinilise haigestumisega oli ühekaupa analüüsis p-väärtusega alla 0,20, lisati mitme muutujaga logistilise regressioonanalüüsi mudelisse. Mudel sisaldas samu tegureid, mis eelmises faasis (vanust, tõugu, sugu, vaktsineerimist intranasaalsete elusvaktsiinidega, pidamistüüpi, kõhulahtisuse esinemist ning nudistamise aega) ning farmi juhusliku tegurina. Statistiliselt mitteolulised muutujaid (kuna sooviti ka tuvastada trendi näitavad seosed, valiti piirväärtuseks $p < 0,20$) eemaldati lõplikust mudelist. Andmeanalüüs tehti statistikaprogrammiga Stata MP14.2 (StataCorp, Texas, USA) kasutades.

3.5. Eetiliste kaalutluste deklaratsioon

Uuringu teostamiseks taotleti loomkatseluba Maaeluministeriumist (luba nr 190, kuupäev 01.04.2021). Loomade ja karjade andmeid kasutati farmiomaniku/juhataja kirjalikul loal anonüümselt. Uurimistööd finantseeris Eesti Teadusagentuur (personaalse uurimistoetuse grant PSG268) ja Eesti Maaülikool (baasfinantseerimistoetus P220165VLKM). Huvide konflikti ei esine.

4. TULEMUSED

4.1. Valimi iseloomustus

Uuringusse kaasati kokku 150 vasikat 15 karjast. Farmide lõikes oli keskmine lehmade arv 734, ulatudes vahemikku 458–1822 lehma. Karjade keskmine 305 laktatsioonipäeva piimatoodang lehma kohta oli 10 761 kg, ulatudes vahemikku 9268–12 345 kg. Uuringusse kaasatud vasikate vanus jäi vahemikku 2–86 päeva, keskmine vanus oli 28,3 päeva. Kokku oli katses 134 eesti holsteini tõugu vasikat, 14 eesti punast tõugu vasikat ja kaks ristandit. Uuritud vasikatest 125 olid lehmvasikad ja 25 pullvasikad.

Uuringus osalenud vasikatest peeti individuaalboksis 64, ülejäänud 86 vasikat olid paigutatud grupisulgu. Grupisulgude keskmine suurus oli 14,8 vasikat, varieerudes vahemikus 2–43 vasikat grupi kohta. Uuringus osalenud vasikatest 41 peeti eraldi vanematest loomadest, 48 vasikat elasid samas õhuruumis kuni 6-kuu vanuste vasikatega, 29 vasikat peeti koos kuni 6-kuuste vasikate, mullikate või täiskasvanud loomadega ning 32 vasikat elasid koos kõigi vanusegruppidega ühes õhuruumis.

4.2. Kliinilised tunnused

Hingamisteede haigusele viitavaid kliinilisi tunnuseid (sealhulgas palavik) esines 95 (63,3%) vasikal. Ülejäänud 55 vasikal (36,7%), kellel hingamisteede haigusele viitavaid kliinilisi tunnuseid ei esinenud, neist 31 vasikal ei esinenud ühtegi hinnatud kliinilist haigustunnust ning 24 vasikal esines kõhulahtisus. Vasikaid, kellel oli palavik ($>39,5^{\circ}\text{C}$), oli kokku 43 (28,7%). Kõigi uuringusse kaasatud vasikate rektaalse temperatuuri mediaan oli $38,9^{\circ}\text{C}$ (tabel 4). Hingamissagedus ≥ 40 x/min oli 55-l (36,7%) vasikal. Palavik ja kiirenenud hingamissagedus olid ka kõige sagedamini esinenud kliinilised tunnused.

Tabel 4. Vasikate kliiniliste tunnuste pidevad arvtunnused ja nende iseloomustus (n = 150 vasikat 15 farmist)

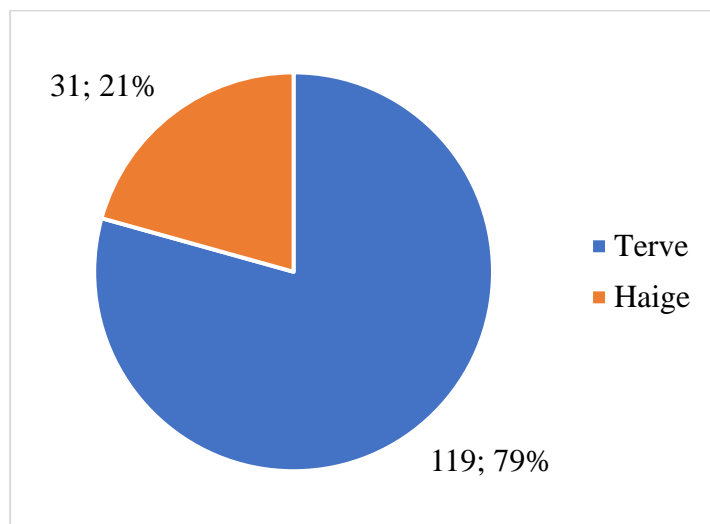
Tunnus	Mediaan	Kvartiilid	Vahemik (min; max)
Rektaalne temperatuur ($^{\circ}\text{C}$)	38,9	38,6; 39,7	37,1; 41,5
Hingamissagedus (hingetõmmet/min)	32	28; 44	18; 120

Kvalitatiivsetest kliinilistest tunnustest, mis viitaks hingamisteede haigusele, olid kõige sagedasemad ninanõre (23,3%), köha (16,7%) ja silmanõre (12,0%) (tabel 5). Bilateraalselt esines ninanõre 18-l vasikal 35-st. Esines nii seroosset, limas-mädast, limast kui ka mädast ninanõre. Kokku 25 (16,7%) vasikal esines spontaanne köha. Bilateraalne silmanõre esines 6-l vasikal 18-st.

Tabel 5. Vasikate kliiniliste tunnuste kvalitatiivsed muutujad ja nende esinemissagedus (n = 150 vasikat 15 farmist)

Tunnus	Kategooria	Esinemissagedus n (%)
Ninanõre	Esines	35 (23,3)
	Ei esinenud	115 (76,7)
Köha	Esines	25 (16,7)
	Ei esinenud	125 (83,3)
Silmanõre	Esines	18 (12,0)
	Ei esinenud	132 (88,0)
Käitumine/olek	Ergas	140 (93,3)
	Mõõdukalt loid	5 (3,3)
	Depressiivne	5 (3,3)
Kõhulahtisus	Esines	76 (50,7)
	Ei esinenud	74 (49,3)
Nabapõletik	Esines	8 (5,3)
	Ei esinenud	142 (94,7)

CA hindamissüsteemi alusel oli haigeid vasikaid kokku 31 ja terveid 119 (joonis 1).



Joonis 1. California hindamissüsteemi alusel tervete ja haigete vasikate osakaal (n = 150 vasikat 15 farmist).

4.3. Alumistes hingamisteedes tuvastatud bakterid

Kõikide vasikate hulgast tuvastati vähemalt üks bakter 89-1 (59,3%) vasikal ja ülejäänud 61 (40,7%) vasika TBL proovidest ei tuvastatud ühtegi bakterit. Kaheksal vasikal, kes hinnati kliiniliselt haigeiks CA hindamissüsteemi alusel, ei leitud alumistest hingamisteedest ühtegi bakterit.

Tabel 6. Vasikate alumistest hingamisteedest tuvastatud bakterid ja nende esinemissagedus (n = 150 vasikat 15st farmist)

Bakterid	Kategooria	Esinemissagedus n (%)
<i>Pasteurella multocida</i>	Positiivne	52 (34,7)
	Negatiivne	98 (65,3)
<i>Mycoplasma bovis</i>	Positiivne	20 (13,3)
	Negatiivne	130 (86,7)
<i>Mannheimia</i> spp. ^a	Positiivne	11 (7,3)
	Negatiivne	139 (92,7)
<i>Mannheimia caviae</i>	Positiivne	5 (3,3)
	Negatiivne	145 (96,7)
<i>Streptococcus</i> spp. ^b	Positiivne	13 (8,7)
	Negatiivne	137 (91,3)
<i>Gallibacterium anatis</i>	Positiivne	9 (6,0)
	Negatiivne	141 (94,0)
<i>Trueperella pyogenes</i>	Positiivne	7 (4,7)
	Negatiivne	143 (95,3)
<i>Histophilus somni</i>	Positiivne	3 (2,0)
	Negatiivne	147 (98,0)
<i>P. multocida</i> + <i>M. bovis</i>	Positiivne	5 (3,3)
<i>P. multocida</i> + <i>G. anatis</i>	Positiivne	3 (2,0)
<i>P. multocida</i> + <i>S. gallolyticus/bovis</i>	Positiivne	2 (1,3)

^a *Mannheimia* spp., *M. haemolytica*

^b *S. suis*, *S. gallolyticus/bovis*, *S. pluranimalium*, *S. dysgalactiae*

Kõige sagedamini tuvastatud alumiste hingamisteede bakterid TBL proovides olid *P. multocida* (34,7%), *M. bovis* (13,3%), *Mannheimia* spp. (7,3%), *Streptococcus* spp. (8,7%) ja *G. anatis* (6,0%) (tabel 6). Peamiselt tuvastatud *Mannheimia* perekonna liigid olid *M. caviae* (n = 6) ja *M. haemolytica* (n = 3). *Streptococcus* spp. hulgas tuvastati *S. suis* (n = 6), *S. gallolyticus/bovis* (n = 4), *S. pluranimalium* (n = 2) ja *S. dysgalactiae* (n = 1). Üksikult esines *Streptococcus* spp. 6 vasikal. Kõige sagedasemad bakterite kombinatsioonid olid *P. multocida* ja *M. bovis* (3,3%), *P. multocida* ja *G. anatis* subsp. *haemolytica* (2,0%) ning *P. multocida* ja *S. gallolyticus/bovis* (1,3%). *P. multocida* oli enim kombinatsioonis teiste bakteritega, seda kokku 16 juhul.

4.4. Kliiniliste haigustunnuste seos alumiste hingamisteede bakteritega

California hindamissüsteemi alusel esines 31 kliiniliselt haiget vasikat, kellel tuvastatud kliinilised tunnused viitasid hingamisteede haiguse juhule. Antud tulemuste alusel sai hinnata bakterite individuaalset seost kliinilise haigestumisega (tabel 7). Bakterite ühekaupa analüüsis selgus, et vasikal, kellel tuvastati TBL proovis *G. anatis*, oli kõige suurem tõenäosus (šansside suhe (ŠS) = 6,6, 95% usaldusvahemik (UV) 1,3–33,2) kliinilise haiguse tekkeks CA hindamissüsteemi alusel ($p = 0,023$). Kõrgema šansside suhtega olid ka patogeendid *T. pyogenes* (ŠS = 3,6, 95% UV 0,7–18,7) ja *M. bovis* (ŠS = 2,2, 95% UV 0,7–7,0). Välja toodud kolm patogeeni lisati ka mitme muutujaga logistilise regressioonanalüüsi mudelisse, kuna nende seos kliinilise haigestumisega oli p-väärtusega alla 0,20.

Tabel 7. Alumistest hingamisteedest isoleeritud bakterite individuaalne seos kliinilise haiguse esinemisega California hindamissüsteemi alusel logistilise regressioonanalüüsi mudelites (n = 150 vasikat 15st farmist)

Bakter	Kategooria	n (%)	ŠS	95% UV	P-väärtus
<i>M. bovis</i>	Positiivne	20 (13,3)	2,2	0,7; 7,0	0,178
<i>Streptococcus</i> spp.	Positiivne	13 (8,7)	0,7	0,1; 3,6	0,671
<i>T. pyogenes</i>	Positiivne	7 (4,7)	3,6	0,7; 18,7	0,127
<i>G. anatis</i>	Positiivne	9 (6,0)	6,6	1,3; 33,2	0,023
<i>M. caviae</i>	Positiivne	5 (3,3)	1,1	0,1; 11,2	0,915
<i>Mannheimia</i> spp.	Positiivne	11 (7,3)	1,02	0,2; 5,2	0,984
<i>P. multocida</i>	Positiivne	52 (34,7)	1,4	0,5; 3,5	0,533

Mudelis on hinnatud korraga ühe patogeeni esinemise seost kliinilise haigusega kontrollides vasika vanust, tõugu, sugu, vaksineerimist intranasaalsete elusvaktsiinidega, pidamistüüpi (individuaalne vs grupis), kõhulahtisuse esinemist ning nudistamise aega (ei ole nudistatud/ kuni 14 p tagasi nudistatud/ >14 päeva tagasi nudistatud). Farmi mõju on kontrollitud juhusliku tegurina

Tabel 8. Alumistest hingamisteedest isoleeritud bakterite seos kliinilise haiguse esinemisega California hindamissüsteemi alusel mitme muutujaga logistilise regressioonanalüüsi mudelis (n = 150 vasikat 15st farmist)

Bakter	Kategooria	n (%)	ŠS	95% UV	P-väärtus
<i>T. pyogenes</i>	Positiivne	7 (4,7)	3,1	0,6; 16,1	0,180
<i>G. anatis</i>	Positiivne	9 (6,0)	6,1	1,3; 28,7	0,023
Vanus (päevades)	-	150 (100)	1,01	0,99; 1,04	0,273
Nudistamine*	Ei ole nudistatud	94 (62,7)	1	-	-
	<14 p enne proovi võtmist	34 (22,7)	2,9	1,0; 8,0	0,044
	≥14 enne proovi võtmist	22 (14,6)	1,9	0,5; 7,7	0,358

*nudistamine Wald testis p = 0,131

Mitme muutujaga logistilises regressioonanalüüsis selgus (tabel 8), et *G. anatis*'e esinemine alumistes hingamisteedes suurendab kliinilise haiguse esinemise tõenäosust keskmiselt 6,1 korda (p = 0,023). Samuti *T. pyogenes*'e esinemisel tundub olevat suurem tõenäosus kliinilise hingamisteede haiguse ilmnemiseks (ŠS = 3,1, 95% UV 0,6–16,1). Vähem kui 14 päeva tagasi nudistatud vasikatel oli 2,9 korda suurem tõenäosus kliinilise haiguse esinemiseks (tabel 8).

5. ARUTELU

Lõputöö eesmärgiks oli uurida Eesti piimaveisekarjades peetavate piimaperioodi vasikate TBL proovides esinevaid baktereid ning analüüsida nende seost vasikatel hingamisteede haiguse esinemisega. Uuringusse oli kaasatud kokku 150 vasikat 15 karjast. Valimisse valiti karjad, kus oli üle 400 lehma ehk kõik vasikad olid pärit suurtest tootmisfarmidest.

TBL proovidest tuvastati vähemalt üks bakter 59,3% vasikatel. Enim tuvastatud alumiste hingamisteede bakterid TBL proovidest antud uuringus olid: *P. multocida* (34,7%), *M. bovis* (13,3%), *Mannheimia* spp. (10,6%), *Streptococcus* spp. (8,7%) ja *G. anatis* (6,0%). Antud leid on kooskõlas sellega, et kõige sagedasemad bakterid, mida seostatakse BRD kompleksiga on *M. haemolytica*, *M. bovis* ja *P. multocida*, lisaks *H. somni* (Härtel jt, 2004; Griffin jt, 2010; Pardon jt, 2020; Pardon ja Buczinski, 2020). *H. somni* oli antud uuringus tunduvalt vähem esindatud (2%), sarnast tulemust näitas ka Aly jt (2021) uuring, kus *H. somni* esines 1,1% vasikatel. Kuigi *H. somni* esinemissagedus vasikatel oli madal, tuleb siiski arvestada, et see bakter kasvab kergesti teiste bakterite poolt üle (Pardon ja Buczinski, 2020). Seetõttu võivad esineda valenegatiivsed tulemused, mis varjasid bakteri tegelikku esinemist, ning ei saa välistada võimalust, et madal esinemissagedus võiski tuleneda just sellest asjaolust. Aly jt (2021) läbi viidud uuringusse olid kaasatud piimaveise vasikad vanuses 26–86 päeva. CA hindamissüsteemi põhjal valiti uuringusse 50% haigeid ja 50% terveid vasikaid. Kõige enam tuvastasid nad oma uuringus kõikide vasikate hulgast *Mycoplasma* spp. (62,7%), seejärel *P. multocida* (30,9%) ja *M. haemolytica* (16,9%). Kolm kõige enam esinevat bakterit nii käesolevas kui ka Aly jt (2021) uuringus olid *P. multocida*, *Mycoplasma* spp. ja *Mannheimia* spp. Käesolevas uurimistöös tuleb arvestada bakterite levimuse hindamisel, et proovid võeti nii kliiniliselt tervetelt kui ka haigetelt vasikatelt.

Hingamisteede haiguse avastamine käib enamasti visuaalsete haigustunnuste ja söömuse hindamise alusel. Antud uurimistöös esines 63,3% vasikatel hingamisteede haigusele viitavaid tunnuseid (sealhulgas palavik). Kõige enam esines kliinilistest tunnustest hingamissageduse suurenemist (36,7%), palavikku (28,7%), ninanõre (23,3%) ja köha (16,7%). Selleks, et oleks võimalik farmis koheselt hinnata üksikute loomade puhul ravi vajalikkust, on loodud erinevaid hindamissüsteeme - WI ja CA hindamissüsteemid. Hindamissüsteemid on kohandatud selliselt, et ka veterinaarhariduseta farmitöötaja saaks selle alusel haigust diagnoosida ja teha raviotsuseid (McGuirk, 2008). Antud töös hinnati vasikate tervises seisundit CA

hindamissüsteemi alusel ning selle põhjal oli uuringus 21% kliinilist hingamisteede haigusega vasikat. Arvestada tuleb aga asjaolugu, et hindamissüsteemidel on piiratud võimekus tuvastada kergekujuliselt haigeid või subkliiniliselt haigeid vasikaid (McQuirk, 2008). Lisaks ei suuda need eristada ülemiste ja alumiste hingamisteede haigusi ega viiruslikku infektsiooni bakteriaalsest (Buczinski ja Pardon, 2020).

Antud uurimistöös ilmnes, et bakteril *G. anatis* oli kõige tugevam individuaalne seos kliinilise hingamisteede haiguse ilmnemisega. Trendi kliinilise haiguse olemasolule näitasid ka *T. pyogenes* ja *M. bovis*. Mitme muutujaga logistilise regressioonianalüüsi mudelis selgus samuti, et *G. anatis*'e esinemine alumistes hingamisteedes suurendab kliinilise haiguse tekkimise tõenäosust kõige enam, keskmiselt 6,1 korda. Ka *T. pyogenes*'e infektsioon paistab suurendavat tõenäosust kliinilise haiguse ilmnemiseks, kuigi p-väärtuse põhjal ($p = 0,180$) ei saa väita, et seos oleks statistiliselt oluline. Nii *T. pyogenes* (Rzewuska jt, 2019) kui ka *G. anatis* (van Driessche jt, 2020) on oportunistlikud patogeenid, mis põhjustavad sekundaarseid infektsioone juba varasemalt kahjustunud hingamisteedes. Sama käib ka *M. bovis*'e kohta, mis küll on ennekõike primaarne haigustekitaja, kuid tihti põhjustab kliinilist haigust nendel loomad, kes on varasemalt mõne teise patogeeni nakatunud (Perez-Casal, 2020). Oluline on märkida, et positiivsete proovide arv oli antud uuringus suhteliselt väike, mistõttu oleks vajalik antud seost täiendavalt uurida.

Kuna antud uurimistöös tuli välja, et nende eeskätt sekundaarsete bakterite tuvastamine alumistest hingamisteedest seostub kliinilise haiguse ilmnemisega, on tõenäoline, et kliiniliste haigustunnuste alusel tuvastatakse haiged vasikad alles siis, kui neil on tekkinud juba sekundaarne infektsioon või ulatuslikum kahjustus. Cuevas-Gómez jt (2021) viisid läbi uuringu 53 piimaveise pullvasikaga, keda hindasid BRD suhtes nii WI hindamissüsteemi kui ka ultraheli abil ning leidsid, et 61% kliinilise BRD-ga vasikatest olid kopsukahjustused tekkinud tunduvalt enne kliiniliste tunnuste avaldumist.

Buczinski jt (2018b) hindasid CA hindamissüsteemi täpsust BRD diagnoosimisel ning määrasid iga kliinilise tunnuse suhtelise kaalu lõplikus punktisummas, eesmärgiga kohandada hindamissüsteemi, et see suudaks tuvastada alumiste hingamisteede aktiivset infektsiooni. Nende uuringus leiti mitmeid erinevusi kliiniliste tunnuste suhtelises kaalus võrreldes CA hindamissüsteemiga. Nad avastasid, et hingeldamise ja kõha kaal olid nende uuringus suurema tähtsusega (vastavalt 28,6% ja 22,8% punktide koguarvust) kui algse CA hindamissüsteemi (Love jt, 2014) puhul (mõlemal tunnusel suhteline kaal 11,8%). Seevastu silmanõre kaal oli

Buczinski jt (2018b) uuringus märgatavalt väiksem (1,4%) võrreldes Love jt (2014) uuringuga, kus see moodustas 11,8% kogu punktisummast. Lisaks on CA hindamissüsteemil kõige suurema kaaluga peakalde/lontis kõrvade ning ninanõre esinemine, mida aga tihti seostatakse ennekõike ülemiste hingamisteede haigusega (Love jt, 2014). See kinnitab seda, et hindamissüsteemides kasutatavad kliiniliste tunnuste punktisummad ei ole kohandatud selliselt, et need aitaksid tõhusalt tuvastada alumiste hingamisteede haigusi.

Kopsupõletiku varajane avastamine on märkimisväärne probleem, kuna tihtilugu tüüpilisi kliinilisi tunnuseid ei ilmne ning haigus kulgeb subkliiniliselt (McGuirk, 2008). Subkliinilise kopsupõletiku puhul ei esine vasikal kliinilisi tunnuseid, kuid esinevad kopsukahjustused (Buczinski, jt 2018b). Mitmes uuringus on viiteid subkliinilise kopsupõletiku esinemisest vasikatel. Näiteks Buczinski jt (2014) viisid läbi uuringu, milles osales 106 vasikat (keskmine vanus 36 päeva) ning kokku 56 vasikal tuvastati kopsukahjustus, seejuures vaid 41,1% nendest tuvastati kliiniline haigus. Sarnased järeldused tegid Cuevas-Gómez jt (2021) oma uuringus, et ainuüksi kliiniliste hingamisteede haiguse tunnuste hindamisel ei suudeta tuvastada subkliinilisi kopsupõletiku juhtumeid. Autorid tuvastasid, et uuringusse kaasatud vasikate hulgas põdesid subkliinilist kopsupõletikku 28% loomadest, mida nad suutsid avastada üksnes ultraheli kasutades. Seetõttu soovitavad nad kliinilisi hingamisteede tunnuseid kombineerida rindkere ultraheli uuringuga, et eristada erinevaid hingamisteede haigusi: ülemiste hingamisteede haigust, kliinilist ja subkliinilist kopsupõletikku. Järelkult ei ole vasika tervisliku seisundi hindamine kliiniliste haigustunnuste alusel kõige usaldusväärsem meetod ega võimalda varakult tuvastada alumiste hingamisteede bakteriaalset põletikku, sest tihti ilmnevad klassikalised hingamisteede haiguse kliinilised tunnused haiguse hilisemas staadiumis (Schaefer jt, 2007). See rõhutab vajadust kasutada täiendavaid diagnostilisi vahendeid, et parandada haigete vasikate varajast avastamist, ravi asjakohasust ja tõhusust.

Uuringus selgus, et nudistamine avaldab kõige rohkem mõju kliiniliste tunnuste ilmnemisele siis, kui seda on tehtud vähem kui 14 päeva proovi kogumisest. Nudistamisest tulenev mõju on seotud stressi ja otsese koekahjustusega. Stress mõjutab vasikate tervist ja vastupanuvõimet patogeenidele, kuna põhjustab immuunvastuse nõrgenemist. Lisaks põhjustab nudistamine koekahjustust, mis omakorda tekitab lokaalse põletiku, mis võib mõjutada palaviku teket (McGill ja Sacco, 2020). Oma mudelis uurisime ka vasika vanuse mõju kliinilisele haigestumisele. Varasemalt on Windeyer jt (2014) leidnud, et hingamisteede haigus esineb sagedamini vanematel vasikatel - näiteks enne teist elunädalat oli selle esinemissagedus 7,7%

ning viienda ja kolmanda elukuu vahel juba 9,5%. Samas leidsid Todd jt (2018), et BRD esinemissagedus hoopiski vähenes vanusega, olles esimesel elukuul 3,1% ja 3-6. elukuul 0,04%. Käesolevas uuringus aga ei tuvastatud vanuse olulist mõju kliinilise haiguse esinemisele, mis võib teatud määral olla tingitud vasikate vanuse suhteliselt vähesest varieeruvusest võrreldes ülaltoodud uuringutega.

Antud uurimistöös esines mitmeid limiteerivaid tegureid. Üheks teguriks oli asjaolu, et uuringus ei määratud hingamisteede viirusi TBL-proovides, mis võivad samuti tingida hingamisteede haigusele viitavate kliiniliste tunnuste teket. Kuna kõigilt vasikatelt, kes CA hindamissüsteemi järgi määrati kliiniliselt haigeks, ei tuvastatud alumistest hingamisteedest baktereid, siis on tõenäoline, et nendel vasikatel võis kliiniline haigus tuleneda hoopiski viirusinfektsioonist. Uurimistöös tüübiks oli läbilõikeuuring ehk uuringusse kaasatud vasikad sai valitud ühel ajahetkel, mistõttu ei ole teada vasika nakatumise aeg ega saa teha järeldusi, millises infektsiooni faasis uuritud vasikad olid.

Uuringusse valiti ainult suured tootmisfarmid, seega ei saa antud uurimistöös tulemusi laiendada väiksematele karjadele, kus loomade pidamistingimused ning ka haigustekitajad võivad olla erinevad. Kaasatud valim oli suhteliselt väike ning ka bakterite esinemissagedus oli madal. Seega, täpsemate järelduste tegemiseks oleks vajalik uuringut korrata kaasates suurem arv vasikaid, samuti uurida proovidest lisaks bakteritele ka viirusinfektsioonide esinemist. Selgitamaks koekahjustuse asukohta (ülemised vs alumised hingamisteed), millises haiguse staadiumis tekivad kliinilised haigustunnused ja milline on erinevate bakterite roll kopsupõletike tekkes sõltuvalt haiguse faasist ja kaasuvatest nakkustest, oleks vajalik läbi viia longitudinaalne uuring vasikate järjepidevaks uurimiseks, kaasates ka ultraheliuuringud.

JÄRELDUSED

Käesolevas uurimistöös selgus, et Eesti suurtes piimaveisekarjades peetavate piimaperioodi vasikate alumistes hingamisteedes esinesid kõige sagedamini *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia* spp., *Streptococcus* spp. ja *Gallibacterium anatis*. Seega esinevad Eesti piimavasikate alumistes hingamisteedes ka mujal riikides tehtud uuringutes tuvastatud BRD-ga seostuvad bakterid.

Uuringus leiti, et bakteril *G. anatis* on oluline seos hingamisteede kliinilise haiguse esinemisega. Samuti tuvastati *T. pyogenes*'e puhul, et see võib mõjutada kliinilise haiguse esinemist. Kuna tegemist on oportunistlike ja enamasti sekundaarsete bakteritega, võib järeldada, et primaarse patogeeni tuvastamine kliiniliste haigustunnuste alusel ei ole tõenäoliselt tõhus ja vasikate ravimine kliiniliste haigustunnuste alusel võib hilineda. Bakteriaalse kopsukahjustuse varajaseks avastamiseks sobivad tõenäoliselt paremini teised meetodid kui kliiniliste tunnuste hindamine, näiteks rindkere ultraheliuuring.

Igas karjas oleks vajalik uurida aegajalt vasikate TBL-proove, et olla teadlik millised patogeenid vasikatel esinevad ja milline on nende antibiootikumide tundlikkus. Lisaks bakteritele on vajalik tuvastada ka viiruslikke patogeene, mis samuti võivad mõjutada kliinilise haiguse väljendumist. Haiguse ennetuses on olulisel kohal lisaks patogeenipõhistele tõrjemeetmetele ka vasikate keskkonna ja pidamistingimuste parendamine, samuti stressi tekitavate tegurite (näiteks nudistamine) ajastamine.

TÄNUAVALDUSED

Sügav kummardus hindamatu abi eest oma lõputöö juhendajale kaasprofessor Kerli Mõtusele, kelle toetus, pühendumus ja põhjalikud nõuanded aitasid mind kogu selle protsessi jooksul. Suur aitäh!

Suur tänu ka professor Toomas Orrole, kes oli alati valmis aitama kõikide küsimuste osas, mis lõputööga seoses tekkisid.

Oleme väga tänulikud kõigile projektis osalenud farmide juhtidele ning loomaarstidele. Täname Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli ASi uuringuks vajalike andmete edastamise eest! Aitäh kõigile proovide kogumisel abiks olnud inimestele - Maria Loch, Elisabeth Dorbek-Sundström, Dagni-Alice Viidu ja Rohish Kaura. Täname Riigi Laboriuuringute ja Riskihindamise Keskuse meeskonda bakterioloogiliste analüüside teostamise eest!

Tänamata ei saa jätta ka kõiki lähedasi, kes on olnud nõuks ja jõuks kogu nende kuue aasta jooksul!

KASUTATUD KIRJANDUS

Aly, S.S., Love, W.J., Williams, D.R., Lehenbauer, T.W., Van Eenennaam, A., Drake, C., Kass, P.H. ja Farver, T.B. (2014). Agreement between bovine respiratory disease scoring systems for pre-weaned dairy calves. *Animal Health Research Reviews*, 15(2), 148-150.

Aly, S.S., Love, W.J., Blanchard, P.C., Crossley, B., Van Eenennaam, A.L. ja Lehenbauer, T.W. (2021). Etiology and risk factors for bovine respiratory disease in pre-weaned calves on California dairies and calf ranches. *Preventive Veterinary Medicine*, 197, 105506.

Bassel, L.L., Tabatabaei, S. ja Caswell, J.L. (2020). Host tolerance to infection with the bacteria that cause bovine respiratory disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 349-359.

Bzdil, J., Šlosárková, S., Fleischer, P., Zouharová, M. ja Matiašovic, J. (2024). Characterization of *Gallibacterium anatis* isolated from pathological processes in domestic mammals and birds in the Czech Republic. *Pathogens*, 13(3), 237.

Buczinski, S., Forté, G., Francoz, D. ja Bélanger, A.M. (2014). Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(1), 234-242.

Buczinski, S., Ménard, J. ja Timsit, E. (2016). Incremental value (Bayesian framework) of thoracic ultrasonography over thoracic auscultation for diagnosis of bronchopneumonia in preweaned dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4), 1396-1401.

Buczinski, S., Borris, M.E. ja Dubuc, J. (2018a). Herd-level prevalence of the ultrasonographic lung lesions associated with bovine respiratory disease and related environmental risk factors. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2423-2432.

Buczinski, S., Fecteau, G., Dubuc, J. ja Francoz, D. (2018b). Validation of a clinical scoring system for bovine respiratory disease complex diagnosis in preweaned dairy calves using a Bayesian framework. *Preventive Veterinary Medicine*, 156, 102-112.

Buczinski, S. ja Pardon, B. (2020). Bovine respiratory disease diagnosis: what progress has been made in clinical diagnosis?. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 399-423.

Caswell, J.L. (2014). Failure of respiratory defenses in the pathogenesis of bacterial pneumonia of cattle. *Veterinary Pathology*, 51(2), 393-409.

Cuevas-Gómez, I., McGee, M., Sánchez, J.M., O’Riordan, E., Byrne, N., McDanel, T. ja Earley, B. (2021). Association between clinical respiratory signs, lung lesions detected by thoracic ultrasonography and growth performance in pre-weaned dairy calves. *Irish Veterinary Journal*, 74(1), 7.

Dabo, S.M., Taylor, J.D. ja Confer, A.W. (2007). *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 129-150.

Delano, M.L., Mischler, S.A. ja Underwood, W.J. (2002). Biology and diseases of ruminants: sheep, goats, and cattle. *Laboratory Animal Medicine*, 519-614

Doyle, D., Credille, B., Lehenbauer, T.W., Berghaus, R., Aly, S.S., Champagne, J., Blanchard, P., Crossley, B., Berghaus, L., Cochran, S. ja Woolums, A. (2017). Agreement among 4 sampling methods to identify respiratory pathogens in dairy calves with acute bovine respiratory disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(3), 954-959.

Dubrovsky, S.A., Van Eenennaam, A.L., Karle, B.M., Rossitto, P.V., Lehenbauer, T.W. ja Aly, S.S. (2019). Bovine respiratory disease (BRD) cause-specific and overall mortality in preweaned calves on California dairies: The BRD 10K study. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 7320-7328.

Dudek, K., Nicholas, R.A., Szacawa, E. ja Bednarek, D. (2020). *Mycoplasma bovis* infections—occurrence, diagnosis and control. *Pathogens*, 9(8), 640.

França Dias de Oliveira, B.A., Carrillo Gaeta, N., Mendonça Ribeiro, B.L., Reyes Alemán, M.A., Miranda Marques, L., Timenetsky, J., Melville, P.A., Avansi Marques, J., Marvulle, V. ja Gregory, L. (2016). Determination of bacterial aetiologic factor on tracheobronchial lavage in relation to clinical signs of bovine respiratory disease. *Journal of Medical Microbiology*, 65(10), 1137-1142.

- Fulton, R.W. (2009). Viral diseases of the bovine respiratory tract. *Food Animal Practice*, 171.
- Furman-Fratczak, K., Rzasa, A. ja Stefaniak, T. (2011). The influence of colostral immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5536-5543.
- Gaudino, M., Nagamine, B., Ducatez, M.F. ja Meyer, G. (2022). Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence. *Veterinary Research*, 53(1), 70.
- Godinho, K.S., Sarasola, P., Renoult, E., Tilt, N., Keane, S., Windsor, G.D., Rowan, T.G. ja Sunderland, S.J. (2007). Use of deep nasopharyngeal swabs as a predictive diagnostic method for natural respiratory infections in calves. *The Veterinary Record*, 160(1), 22.
- Griffin, D. (2010). Bovine pasteurellosis and other bacterial infections of the respiratory tract. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26(1), 57-71.
- Griffin, D., Chengappa, M.M., Kuszak, J. ja McVey, D.S. (2010). Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26(2), 381-394.
- Gulliksen, S.M., Lie, K.I. ja Østerås, O. (2009a). Calf health monitoring in Norwegian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1660-1669.
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Løken, T., Åkerstedt, J. ja Østerås, O. (2009b). Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 5139-5146.
- Guzmán-Brambila, C., Rojas-Mayorquín, A.E., Flores-Samaniego, B. ja Ortuño-Sahagún, D. (2012). Two outer membrane lipoproteins from *Histophilus somni* are immunogenic in rabbits and sheep and induce protection against bacterial challenge in mice. *Clinical and Vaccine Immunology*, 19(11), 1826-1832.
- Guzman, E. ja Taylor, G. (2015). Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves. *Molecular Immunology*, 66(1), 48-56.

Hanthorn, C.J., Dewell, R.D., Cooper, V.L., Frana, T.S., Plummer, P.J., Wang, C. ja Dewell, G.A. (2014). Randomized clinical trial to evaluate the pathogenicity of *Bibersteinia trehalosi* in respiratory disease among calves. *BMC Veterinary Research*, 10, 89.

Hoffmann, B., Depner, K., Schirrmeier, H. ja Beer, M. (2006). A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. *Journal of Virological Methods*, 136(1-2), 200-209.

Härtel, H., Nikunen, S., Neuvonen, E., Tanskanen, R., Kivelä, S.L., Aho, P., Soveri, T. ja Saloniemi, H. (2004). Viral and bacterial pathogens in bovine respiratory disease in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45(4), 193-200.

Lago, A., McGuirk, S.M., Bennett, T.B., Cook, N.B. ja Nordlund, K.V. (2006). Calf respiratory disease and pen microenvironments in naturally ventilated calf barns in winter. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4014-4025.

Larson, R.L. (2015). Bovine viral diarrhea virus–associated disease in feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 31(3), 367-380.

Loneragan, G.H., Thomson, D.U., Montgomery, D.L., Mason, G.L. ja Larson, R.L. (2005). Prevalence, outcome, and health consequences associated with persistent infection with bovine viral diarrhea virus in feedlot cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(4), 595-601.

Love, W. J., Lehenbauer, T. W., Kass, P. H., Van Eenennaam, A. L. ja Aly, S. S. (2014). Development of a novel clinical scoring system for on-farm diagnosis of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *PeerJ*, 2, 238.

Love, W.J., Lehenbauer, T.W., Van Eenennaam, A.L., Drake, C.M., Kass, P.H., Farver, T.B. ja Aly, S.S. (2016). Sensitivity and specificity of on-farm scoring systems and nasal culture to detect bovine respiratory disease complex in preweaned dairy calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(2), 119-128.

Lowie, T., Callens, J., Maris, J., Ribbens, S. ja Pardon, B. (2021). Decision tree analysis for pathogen identification based on circumstantial factors in outbreaks of bovine respiratory disease in calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 196, 105469.

Maunsell, F.P., Woolums, A.R., Francoz, D., Rosenbusch, R.F., Step, D.L., Wilson, D.J. ja Janzen, E.D. (2011). *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 772-783.

McGill, J.L. ja Sacco, R.E. (2020). The immunology of bovine respiratory disease: recent advancements. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 333-348.

McGuirk, S.M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 139-153.

Medrano-Galarza, C., LeBlanc, S.J., Jones-Bitton, A., DeVries, T.J., Rushen, J., de Passillé, A.M., Endres, M.I. ja Haley, D.B. (2018). Associations between management practices and within-pen prevalence of calf diarrhea and respiratory disease on dairy farms using automated milk feeders. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2293-2308.

Nikunen, S., Härtel, H., Orro, T., Neuvonen, E., Tanskanen, R., Kivelä, S.L., Sankari, S., Aho, P., Pyörälä, S., Saloniemi, H. ja Soveri, T. (2007). Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 30(3), 143-151.

O'Neill, R., Mooney, J., Connaghan, E., Furphy, C. ja Graham, D.A. (2014). Patterns of detection of respiratory viruses in nasal swabs from calves in Ireland: a retrospective study. *Veterinary Record*, 175(14), 351-351.

Padalino, B., Cirone, F., Zappaterra, M., Tullio, D., Ficco, G., Giustino, A., Ndiana, L.A. ja Pratelli, A. (2021). Factors affecting the development of bovine respiratory disease: a cross-sectional study in beef steers shipped from France to Italy. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 672.

Pardon, B. ja Buczinski, S. (2020). Bovine respiratory disease diagnosis: what progress has been made in infectious diagnosis? *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 425-444.

Pardon, B., Callens, J., Maris, J., Allais, L., Van Praet, W., Deprez, P. ja Ribbens, S. (2020). Pathogen-specific risk factors in acute outbreaks of respiratory disease in calves. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2556-2566.

Peel, D.S. (2020). The effect of market forces on bovine respiratory disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 497-508.

Perez-Casal, J. (2020). Pathogenesis and virulence of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 269-278.

Ramezani Gardaloud, N., Guse, C., Lidauer, L., Steininger, A., Kickingner, F., Öhlschuster, M., Auer, W., Iwersen, M., Drillich, M. ja Klein-Jöbstl, D. (2022). Early detection of respiratory diseases in calves by use of an ear-attached accelerometer. *Animals*, 12(9), 1093.

Reimus, K., Orro, T., Emanuelson, U., Viltrop, A. ja Mõtus, K. (2017). Reasons and risk factors for on-farm mortality in Estonian dairy herds. *Livestock Science*, 198, 1-9.

Rzewuska, M., Kwiecień, E., Chrobak-Chmiel, D., Kizerwetter-Świda, M., Stefańska, I. ja Gieryńska, M. (2019). Pathogenicity and virulence of *Trueperella pyogenes*: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 2737.

Sachse, K., Salam, H.S., Diller, R., Schubert, E., Hoffmann, B. ja Hotzel, H. (2010). Use of a novel real-time PCR technique to monitor and quantitate *Mycoplasma bovis* infection in cattle herds with mastitis and respiratory disease. *The Veterinary Journal*, 186(3), 299-303.

Schaefer, A. L., Cook, N. J., Church, J. S., Basarab, J., Perry, B., Miller, C. ja Tong, A. K. W. (2007). The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Research in Veterinary Science*, 83(3), 376-384.

Snyder, E. ja Credille, B. (2020). *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in bovine respiratory disease: how are they changing in response to efforts to control them? *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(2), 253-268.

Socha, W., Larska, M., Rola, J. ja Bednarek, D. (2022). Occurrence of bovine coronavirus and other major respiratory viruses in cattle in Poland. *Journal of Veterinary Research*, 66(4), 479-486.

Studer, E., Schönecker, L., Meylan, M., Stucki, D., Dijkman, R., Holwerda, M., Glaus, A. ja Becker, J. (2021). Prevalence of BRD-related viral pathogens in the upper respiratory tract of Swiss veal calves. *Animals*, 11(7), 1940.

Svensson, C., Lundborg, K., Emanuelson, U. ja Olsson, S.O. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 58(3-4), 179-197.

Svensson, C. ja Liberg, P. (2006). The effect of group size on health and growth rate of Swedish dairy calves housed in pens with automatic milk-feeders. *Preventive Veterinary Medicine*, 73(1), 43-53.

Taylor, J.D., Fulton, R.W., Lehenbauer, T.W., Step, D.L. ja Confer, A.W. (2010). The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for predisposing factors? *The Canadian Veterinary Journal*, 51(10), 1095.

Todd, C.G., McGee, M., Tiernan, K., Crosson, P., O'Riordan, E., McClure, J., Lorenz, I. ja Earley, B. (2018). An observational study on passive immunity in Irish suckler beef and dairy calves: tests for failure of passive transfer of immunity and associations with health and performance. *Preventive Veterinary Medicine*, 159, 182-195.

Urie, N.J., Lombard, J.E., Shivley, C.B., Koprak, C.A., Adams, A.E., Earleywine, T.J., Olson, J.D. ja Garry, F.B. (2018). Preweaned heifer management on US dairy operations: Part V. Factors associated with morbidity and mortality in preweaned dairy heifer calves. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 9229-9244.

van Driessche, L., Valgaeren, B.R., Gille, L., Boyen, F., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., Deprez, P. ja Pardon, B. (2017). A deep nasopharyngeal swab versus nonendoscopic bronchoalveolar lavage for isolation of bacterial pathogens from preweaned calves with respiratory disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(3), 946-953.

van Driessche, L., Vanneste, K., Bogaerts, B., De Keersmaecker, S.C., Roosens, N.H., Haesebrouck, F., De Cremer, L., Deprez, P., Pardon, B. ja Boyen, F. (2020). Isolation of drug-resistant *Gallibacterium anatis* from calves with unresponsive bronchopneumonia, Belgium. *Emerging Infectious Diseases*, 26(4), 721.

van Leenen, K., van Driessche, L., De Cremer, L., Gille, L., Masmeijer, C., Boyen, F., Deprez, P. ja Pardon, B. (2019). Factors associated with lung cytology as obtained by non-endoscopic broncho-alveolar lavage in group-housed calves. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 167.

Windeyer, M.C., Leslie, K.E., Godden, S.M., Hodgins, D.C., Lissemore, K.D. ja LeBlanc, S.J. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine*, 113(2), 231-240.

LISAD

Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, **Kendra Anniste,**
sünniaeg 21.12.1998,

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö „**Alumiste hingamisteede bakterid ja seos hingamisteede haiguse kliiniliste tunnustega piimaveise vasikatel**“,

mille juhendajad on Kerli Mõtus ja Toomas Orro,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
2. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor Kendra Anniste
/allkirjastatud digitaalselt/

Tartu, 09.05.2024

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

Kerli Mõtus
/allkirjastatud digitaalselt/

09.05.2024

Toomas Orro
/allkirjastatud digitaalselt/

09.05.2024