

Sigade enteropaatiate diferentsiaaldagnostika, tõrje ja profülaktika

Uurimisteemat täitsid EMÜ VLI nakkushaiguste osakonna ja morfoloogia osakonna õppejõud ja teadurid.

1. Nakkushaiguste osakonnas tehtud uuringute tulemused

Eesmärgid

Projekti eesmärgiks oli selgitada kaasaegsete uurimismeetoditega *Lawsonia intracellularis*'e esinemine seakarjades ja sigade proliferatiivse enteropaatia (SPE) seos teiste bakteriaal- ja viirusnakkustega ning välja töötada tõrje ja profülaktika meetmed.

Molekulaarbioloogiliseks, mikrobioloogiliseks ja viroloogiliseks uuringuteks koguti materjali 23 farmist, kus esinesid proliferatiivse enteropaatia ja võõrutusjärgse multisüsteemse kurnatuse sündroomi tunnused. Igas farmis korraldati küsitlus loomakasvatuse organiseerimisest, loomade tervislikust seisundist ja raviprotseduuridest.

Põhikarja emiste arv oli erinev (100—9950 emist). Põrsad võõrutati 27.—30. päeval.

Farmides rakendati erinevaid biokaitse meetmeid, suurtes farmides “kõik sisse – kõik välja” süsteemi, väikefarmides voolpoegimist.

SPE ja rotaviiruse uurimiseks koguti roojaproove pärasoolest ja säilitati kuni uurimiseni – 20 °C juures. Hukunud loomadelt võeti kaapeid niudesoole epiteelist.

Kokku uuriti *Lawsonia intracellularis*'e 1462 proovi. Uuritavast materjalist puhastati DNA (QIAamp[®] DNA Mini Kit QIAGEN- Saksamaa) ja amplifitseeriti PCR-kitiga (ADIAVET[®] LAW- Prantsusmaa).

Rotaviiruse antigeeni määramiseks kasutati lateksaglutinatsiooni kiirtesti (Omega -Inglismaa).

Üheksast farmist, kus esines massiliselt põrsaste võõrutusjärgset kurnatust, uuriti kubeme- ja mesenteriaalseid lümfisõlmi sigade tsirkoviirus-2-le (PCV-2). Puhastatud DNA-d (DNA Robot Mag kit, QIAGEN) uuriti PCR-ga, milleks kasutati PCV-2 spetsiifilisi primereid, PCR produkt puhastati (QIAEX II) ja sekveneeriti.

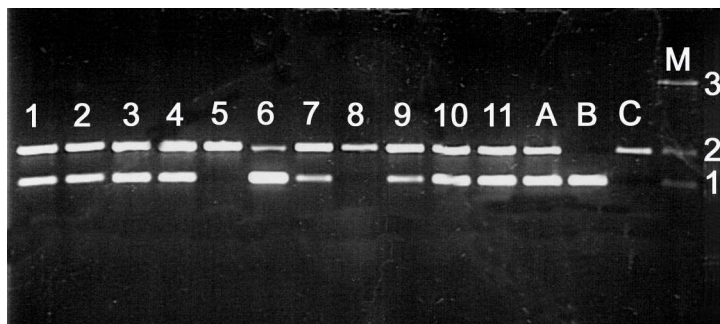
Samaaegselt uuriti hukunud põrsaste siseorganeid bakterioloogiliselt nii aeroobses kui ka anaeroobses kultiveerimisrežiimis (Quinn *et al.*, 1994). Kultiveerimiseks kasutati Mac Conkey ja veriagarit. Viimane valmistati Columbia agari baasil 10% antikoaguleeritud veise vere lisandusel. Isoleeritud bakterite biokeemiliseks identifitseerimiseks kasutati BD BBL Crystal süsteemi.

Tulemused

Käesoleva projekti raames avanes võimalus Eestis esmakordselt diagnoosida *Lawsonia intracellularis*'e ja sigade tsirkoviirus-2 nakkuse esinemise meie seafarmides, kasutades kõige kaasaegsemaid uurimismeetodeid.

Tabel 1. *Lawsonia intracellularis*'ega ja sigade tsirkoviirus-2-ga nakatunud karjade iseloomustus

Farm	Võõrutus (päevades) <i>Weaning (days)</i>	Võõrutuseelne suremus (%) <i>Mortality of sucklings (%)</i>	Võõrutusjärgne suremus (%) <i>post-weaning mortality(%)</i>	Kõik sisse – kõik välja <i>all in-all out</i>	<i>L. intracellularis</i>	PCV-2	Rotaviirus <i>Rota-virus</i>	Mikrobioloogilise uurimise tulemused <i>Results of microbiological investigations</i>
1.	28–29	7	3	+		+		<i>E.coli</i>
2.	28–30	16	0,5	-				<i>P. multocida</i>
3.	28	10	15	-	+	+	+	<i>E. coli, P. multocida, Corynebacterium spp</i>
4.	30	1	0,06	-	+			<i>E. coli, P. multocida</i>
5.	26–30	17	3	+	+		+	<i>E. coli</i>
6.	32	8	2	+	+	+		-
7.	30	9	6–7	-	+		+	<i>Str. agalactiae</i>
8.	28	17	5	-	+			-
9.	30	10	6	+				<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
10.	28	12	14	+		+		
11.	28	9,5	7	+	+			<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
12.	27	0,6	6,5	+		+		<i>E. coli</i>
13.	28	9	5	+				-
14.	30	12	27,6	-	+			<i>E. coli, Brachyspira hyodysenteriae</i>
15.	28–30	10	2	+				<i>Actinobacillus pleuropneumoniae, P. multocida</i>
16.	30	30	5	-			+	<i>E. coli,</i>
17.	28	9	8	-	+			<i>E. coli</i>
18.	30	9	41	+		+		<i>E. coli</i>
19.	30	7	26	+	+	+		<i>E. coli</i>
20.	28		2,3	+	+			-
21.	-	-	2,8	+	+			-
22.	25	10,2	1,7	+	+			-
23.	28	8,5	4,3	+	+			-



Joonis1. *L. intracellularis*'e määramine rooja ja soole limaskesta proovidest PCR-ga (ADIAVET® LAW). Read A, B positiivne kontroll, rida C negatiivne kontroll, read 1–4, 6, 7, 9–11 *L. intracellularis*, read 5 ja 8 negatiivne.

Sigade proliferatiivse enteropaatia tekitajale uuriti 23 farmi, millest 14 diagnoositi *L. intracellularis*.

Enamikul juhtudest diagnoositi põrsastel samaaegselt ka enteriiti ja pneumooniat. Kopsupõletiku põhjustajatest esines sagedamini *P. multocida* ja *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Ägeda enteriidi tekitajaks oli *E. coli*. Kroonilise enteriidi põhjustajatest isoleeriti sagedamini *E. coli* ja üksikjuhtudel *Brachyspira hyodysenteriae*.

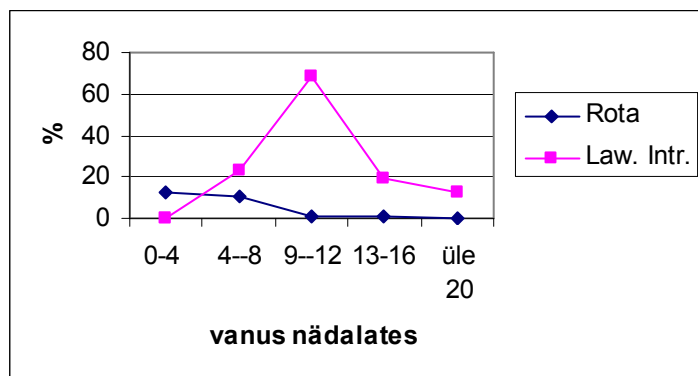
Lawsonia intracellularis'ele uuriti PCR-ga kokku 1462 põrsa rooja ja soole limaskesta proovi, millest 223 (15,25%) osutus positiivseks.

Lawsonia intracellularis'ega nakatunud sigade protsent oli suurem karjades, kus esines samaaegselt PCV-2, *E. coli* ja rotaviiruse segainfektsioon. Erinevaid patogeene diagnoositi sagedamini farmides, kus polnud võimalik rakendada "kõik sisse – kõik välja" süsteemi.

Uuritavad põrsad jaotati nelja vanusegruppi: 4–8-, 9–12-, 13–16-nädalased ja üle 20 nädala vanused (joonis 2.). PE-d diagnoositi pärast võõrutust (23,6%). Tekitaja avastamise protsent kasvas 9-12-nädalastel põrsastel (68,1%), haiguse levimus vähenes alates 13. elunädalast (18,8%) ja langes veelgi üle 20. nädalaste loomade seas (12,2%).

Kõhulahtisust põdevaid põrsaid uuriti ka rotaviiruse antigeeni esinemisele, tulemustest selgus, et sagedamini oli rotaviirus diarröa põhjustajaks kuni kaheksanädalastel põrsastel.

Vanuserühmas kuni neli nädalat 12,8% ja 4–8- nädalastel 10,2%, vanematel põrsastel oli rotaviiruse avastamise protsent madalam (9-12-nädalastel 1,2%).



Joonis 2. *Lawsonia intracellularis*'e ja rotaviiruse esinemine sõltuvalt põrsa vanusest

Kolmes farmis (tabel 2), kus varem diagnoositi PE, alustati põrsaste võõrutuseelset suukaudse vaktsineerimisega Enterisol[®] ileitis elusvaktsiiniga (Boehringer Ingelheim). Tulemustest ilmnes, et vaktsineeritud põrsastel ei tekkinud pärast võõrutust kõhulahtisust ja korduv uuring *L. intracellularis*'ele osutus negatiivseks ning tapajärgsel vaatlusel ei täheldatud sooltes proliferatiivsele enteropaatialle iseloomulikke muutuseid.

Viies varem uuritud farmis raviti loomi erinevate antibiootikumidega (Lincomix Premix 110mg/g, Tiamuliin, Tülosiin, Linco-Spectin 100) ja pärast ravi uuriti loomi proliferatiivse enteropaatia tekitaja suhtes.

Tulemustest selgus et ravimpreparaatide toime oli erinev, näiteks farmis nr.7 Linco-Spectin 100 ei andnud soovitud tulemusi, kuna ravikuur kestis ühe nädala, kuid proliferatiivse enteropaatia korral peab ravi kestma kolm nädalat. Katsesest ilmnes, et efektiivselt toimis Lincomix Premix 110 (farm 1). Farmis 5, kus diagnoositi üheaegselt erinevaid haigustekitajaid, rakendati ravi tülosiiniga ja vaktsineerimist. Selgus, et loomade haigestumine vähenes ja teine uuring *L. intracellularis*'ele andis negatiivse tulemuse.

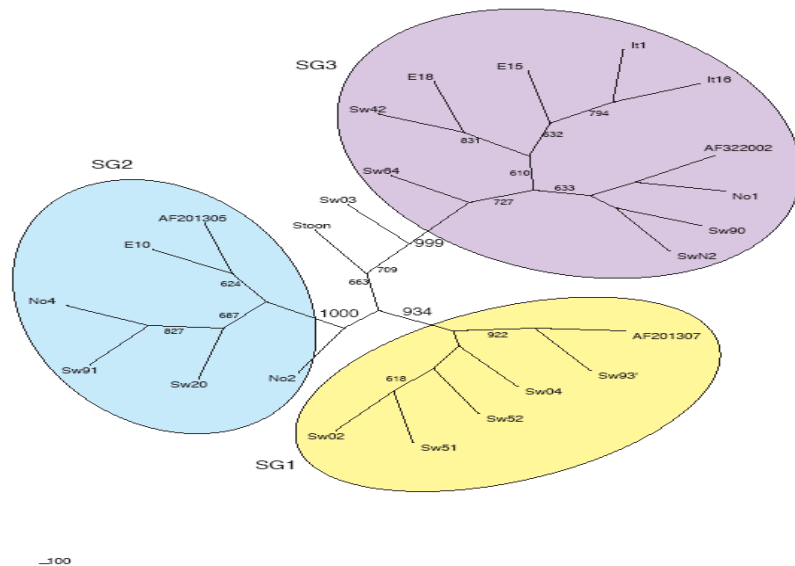
Tabel 2. Vaktsiini ja ravimite kasutamise efektiivsus

farm	Esimene uuring L. intracellularis'ele	Muud patogeenid	Ravi	Vaktsineerimine	Teine uuring L. intracellularis'ele
1.	Positiivne	<i>Str. agalactiae</i> , rotaviirus	Lincomix Premix 110	-	negatiivne
2.	Positiivne	-	-	+	negatiivne
3.	Negatiivne	PCV-2, <i>E. coli</i>	Tiamuliin	-	positiivne
4.	Negatiivne	APP, <i>E. coli</i> , <i>P. multocida</i> ,	Tiamuliin	-	negatiivne
5.	Positiivne	PCV-2, <i>E. coli</i> , <i>P. multocida</i> , <i>Corynebacterium spp</i> , rotaviirus	Tülosiin	+	negatiivne
6.	Positiivne	Rotaviirus, <i>E. coli</i>		+	negatiivne *
7.	Positiivne	<i>E. coli</i> , <i>B. hyodysenteriae</i>	Linco-Spectin 100	-	positiivne

*uuritud proovidest 1 positiivne

Alates 2006.a. detsembrist diagnoositi seitsmes farmis (viimane detsembris 2007) sigade tsirkoviirus-2 nakkus (multisüsteemset võõrutusjärgset kurnatuse sündroomi- MVKS). Neis farmides esines pärast võõrutust põrsaste kurnatus ja kiire kõhnumine. Ühes farmis ulatus võõrutusjärgne suremus 41%-ni.

Sigade tsirkoviirus-2 uuringud teostati koostöös Rootsi Põllumajandusülikooli molekulaarbioloogia osakonna ja Biomeditsiinikeskuse teaduritega. Isoleeritud viirustüvede kapsiidi proteiine analüüsiti sekveneerimise meetodil. Kuuest farmist, kust isoleeriti PCV-2 PCV2/ORF2 genoomi sekvendid jaotati 12 analüüsiks, isolaadid grupeeriti aluseks võttes Rootsis isoleeritud keskmise ja kõrge patogeensusega viirustüvede järgi SG2 või SG 3-ks. Järelikult Eestis isoleeritud viiruste PCV2/ORF genoomi sekvendid kuuluvad SG2 ja SG3 hulka. Hiljem võrreldi Eestis tsirkuleerivad viirustüvesid teise Euroopas levinud PCV-2 tüvedega ja tulemustest selgus, et need on sarnased Rootsis, Austrias, Itaalias ja Norras isoleeritud kõrge ja keskmise patogeensusega tüvedega (joonis 3).



Joonis 3. Sigade tsirkoviirus-2 fülogeneetiline puu.

VMKS-i iseloomustab põrsaste kiire võõrutusjärgne kängumine, kurnatus, düspnoe, lümfadenopaatia, diarröa, naha kahvatus või ikteerilisus. Et haigust iseloomustavad paljud erinevad tunnused, tuleb diagnoosimisel arvestada ka lahanguleidu ja laboratoorsete uurimiste tulemusi. Karja tasandil võib VMKS esineda sporaadiliselt, üksikutel sigadel mööduvate kliiniliste tunnustega, samas võib viirus põhjustada suurt suremust ja pikaajalist laastavat protsessi. Seni pole õnnestunud selgitada haiguse põhjusi ja kaasfaktoreid, mis vallandavad VMKS. Retrospektiivsed uurimised näitavad, et sigade tsirkoviirus-2 on tsirkuleerinud karjades aastakümneid (Walker jt., 2000), kuid haigustunnused ilmsid alles 1995. aastal Kanadas (Harding ja Clark, 1997). Mõni aasta hiljem kirjeldati sama sündroomi esmakordselt Euroopas (Madec jt., 1999). Põhjamaades diagnoositi VMKS esmalt Taanis 2001. aastal. Haigestumine sages ja protsess võttis epideemia mõõtmed 2005. a aprilliks. Edasi levis viirus teistesse Skandinaavia riikidesse.

Arutelu

Uurimistöö eesmärk oli selgitada noorsigade diarröad ja kurnatust põhjustavate nakkuslike patogeenide esinemist Eesti seafarmides.

Sigade proliferaatiivset enteropaatiat esineb paljudes riikides endemiliselt (Chiriboga *et al.*, 1999, Pearce G.P. 1999, Lawson, G, Gebhart C, 2000, Zhang *et al.*, 2000, Stege *et al.* 2001, Suh *et al.*, 2001, Moreno *et al.* 2002, Jacobson *et al.*, 2003, Plawinska *et al.* 2004).

Tüüpilistel juhtudel esineb SPE krooniliselt või subkliiniliselt. Raskemat kroonilist kulgu iseloomustab lisaks kõhulahtisusele ka märkimisväärselt suur hulk kängunud põrsaid (Mc Orist, 2004).

Farmides, kus esines põrsaste kurnatust, seedetrakti ja hingamiselundite kahjustusi, isoleeriti erinevaid patogeene. Võõrutatud põrsastel põhjustasid kõhulahtisust *E. coli*, *L. intracellularis* ja rotaviirus, hingamiselunditest isoleeriti samaaegselt *P. multocida* ja *Actinobacillus pleuropneumoniae*. SPE esineb Eesti farmides segainfektsioonina.

Võrreldes põrsaste haigestumise vanust rotaviirusnakkusesse ja SPE-sse, selgus, et rotaviiruse antigeeni avastati sagedamini esimesel elukuul, alates teisest elukuust hakkas rotaviiruse osa kahanema ja diagnoositi esimesi *L. intracellularis* juhtumeid. Martella jt (2001) uuringutest ilmnes, et rotaviirusnakkus esineb peamiselt imikpõrsastel ja põhjustab 5—8% põrsaste hukkumise.

Lawson ja Gebharti (2000) ning Suh ja Songi (2005) uurimistulemustest selgus, et *L. intracellularis* esineb segainfektsioonina koos teiste seedetrakti patogeenidega, sagedamad neist on *Brachyspira hyodysenteriae* ja *Salmonella spp.*

Sigade proliferatiivse enteropaatia raviks kasutatakse erinevaid antibiootikume, sagedamini tiamulini, tylosini, lincomix'i ja linco-spectini. Nende preparaatide raviefektiivsus on hea, kui peetakse kinni ravi skeemist. Meie katsest ilmnes, et linco-spectini lühiajaline (7 päeva) manustamine ei ole efektiivne ja ei hävita haigustekitajaid.

Vaktsineerimise katsetest selgus, et Enterisol[®] Ileitisi -ega vaktsineeritud põrsad ei haigestunud ja nende roojaproovidest ei tuvastatud *L. intracellularis* 't ja tapajärgselt ei esinenud SPE-le iseloomulikke muutusi.

Euroopas on heaks kiidetud *L. intracellularis*'e vastu vaktsineerimine. Paljudes riikides vaktsineeritakse ka aretuskarju. Saksamaal tehtud uuringutest selgus, et majanduslik efekt oli 4-5 eurot ühe vaktsineeritud tapasea kohta (Hardge et al., 2004).

Seitsmes farmis esines võõrutusjärgne multisüsteemne kurnatuse sündroom, mis koos teiste haigustekitajatega põhjustas põrsaste massilist haigestumist ja suurt suremust. Sigade tsirkoviirus-2 hakkas Euroopas ulatuslikumalt levima alates 1999. a. (Hassing et al., 2002, 2003, Kennedy et al., 1998, Labarque et al., 2000, Segales et al., 2005).

Eestis alates 2006. a isoleeritud viiruse tüved põhjustasid võõrutusjärgset kurnatust. VMKS iseseisva haigusena esineb harva, sageli lisanduvad kaasinfektsioonid. J. Ellise ja kaasautorite (2000, 2004) uurimistulemustest selgus, et sigade tsirkoviirusega samaaegselt on diagnoositud sigade parvoviirust, sigade arteriviirust, *Mycoplasma hyopneumoniae*'d ja teisi sigade respiratoorhaiguste kompleksi patogeene. Meie uurimistulemustest selgus, et koos PCV-2-ga diagnoositi hingamisteede patogeenidest *P. multocida* ja *Actinobacillus pleuropneumoniae* ning sooletrakti patogeenidest *E. coli* ja *L. intracellularis*.

Sigade tsirkoviirus-2 nakkust diagnoositi esmakordselt 2006.a.. 2007.a detsembriks oli haigus kindlaks tehtud seitsmes farmis. Geneetilise analüüsi põhjal võib väita, et Eestis isoleeritud viirustüved on sarnased Euroopas tsirkuleerivatele kõrgelt ja keskmiselt patogeensetele viirustüvedele.

Sigade proliferatiivset enteropaatiat ja sigade tsirkoviiruse-2 nakkust käsitlevate ettekannetega on esinetud:

Koobioloogia konverents, stendiettekanne: Järveots T, Suuroja T, Lepp E, Aunapuu M, Tartu (Estonia). The pathomorphology of porcine proliferative enteropathy (International Conference Tissue Biology VI, Tartu 23—24 September, 2005. Poster: Järveots T, Suuroja T, Lepp E, Aunapuu M, Tartu (Estonia). The pathomorphology of porcine proliferative enteropathy)

JKK korraldatud seminaril 9-10. nov. 2006.a. Pärnus „Tarkusi seakasvatatajatele“ .

EMÜ avatud ülikoolis 2007.a septembris ja 2008. a jaanuaris ja veebruaris.

Järeldused

Uurimisprogramm võimaldas Eestis esmakordselt kaasaegseimate laboratoorsete meetoditega diagnoosida kaht uut sigade nakkushaigust- sigade proliferatiivset enteropaatiat ja sigade tsirkoviirusnakkust. Mõlema haiguse ja nende tekitajate uurimine on väga aktuaalne kogu maailmas.

Meie uurimistulemustest järeldub, et sigade proliferatiivne enteropaatia (*L. intracellularis*) on ulatuslikult levinud Eesti seafarmides ja põhjustab võõrutatud põrsaste massilist haigestumist ja kasvupeetust.

Katsed erinevate ravimpreparaatidega tõestasid, et häid ravitulemusi andis Lincomix Premix 110 ja tülosiin suukaudsel manustamisel.

Farmides, kus varem diagnoositi sigade proliferatiivset enteropaatiat, tehti suukaudse vaksineerimise katseid Enterisol[®] Ileitis -ega, Uurimistulemustest selgus, et vaksineeritud loomad ei haigestunud proliferatiivsesse enteropaatiasse ja laboratoorne uuring *L. intracellularis*'e suhtes andis negatiivse tulemuse. Saadud tulemuste põhjal võib farmeritele soovitada raviskeeme ja vaksineerimist vastavalt epizootoloogilisele situatsioonile.

Sigade proliferatiivse enteropaatia ulatusliku leviku tõkestamiseks on soovitatav põrsaid enne võõrutamist vaksineerida.

Kliiniliste tunnuste ilmnemisel ja *L. intracellularis*'e diagnoosimise järgselt võib alustada ravi antibiootikumidega vastavalt skeemile kuni kolm nädalat.

Euroopas hakkas sigade tsirkoviirus ulatuslikult levima 90-ndatel, Eestis diagnoositi nakkus esmakordselt 2006.a. detsembris. Käesolevaks hetkeks on viirus kindlaks tehtud seitsmes farmis, kus esines võõrutatud põrsaste massiline haigestumine ja suur suremus. Viiruse genoomi uurimisel selgus, et Eestis isoleeritud viirusetüved sarnanevad Euroopas levivate kõrge ja keskmise patogeensusega viirusetüvedega.

Kuna sigade tsirkoviirus-2 ja võõrutusjärgset kurnatuse sündroomi esinemist Eestis on veel vähe käsitletud, siis see teema väga aktuaalne ja vajab tulevikus põhjalikku uurimist.

Soovitused

1. Kui farmis on diagnoositud sigade proliferatiivse enteropaatia tekitaja ja esineb ka noorsigade haigestumine, siis vastavalt epizootoloogilisele olukorrale tuleb alustada ravi.
2. Raviskeemi koostamisel tuleb tähelepanu pöörata ravikuuri pikkusele. Näiteks proliferatiivse enteropaatia ravi linco-specitiniga peab vältama kolm nädalat. Lühem ravikuur ei ole efektiivne.
3. Sigade proliferatiivse enteropaatia immunoprofülaktikas on oluliseks abimeetmeks suukaudne vaksineerimine Enterisol[®] Ileitis-ega.
4. Kui farmis tekib massiline põrsaste võõrutusjärgne kurnatus ja suremuse tõus, siis teha uuringud PCV-2 suhtes.

2. Morfoloogia osakonnas tehtud uuringute tulemused

Morfoloogiline uurimine

Lõpnud ja uurimise eesmärgil hukatud sigade lahing ning patomorfoloogiline uurimine. Hukunud ja tapasigade peen- ja jämesoole patohistoloogiline (värvingud hematoksüliin-eosiin ja Warthin-Starry hõbedavärving) uurimine. Immunohistokeemiliste meetodite, polümeraas ahelreaktsiooni (PCR) rakendamine haigustekitaja väljaselgitamiseks.

Elektronmikroskoopilised uuringud

2. Materjal ja meetodika

Materjaliks kasutati 122 ühe nädala kuni nelja kuu vanuseid lõpnud või teadustöö eesmärgil hukatud sigu. Sead pärinesid majanditest, kus varem neil oli diagnoositud enteropaatiad. Patohistoloogiliseks uurimiseks võeti materjali 64 sealt s. t. sellistel juhtudel kus esinesid uuritavale haigusele iseloomulikud makroskoopilised muutused. (tühisool, niudesool, umb- ja käärsool ning parenhüümehunditest maks, neerud, kopsud ja süda)

Uurimismaterjal fikseeriti 10%-lises neutraalse formaldehüüdi vesilahuses ja Rossmann'i fiksaatoris. Histoloogilised lõigud värviti hematoksüliin-eosiiniga ja Warthin-Starry hõbetamismeetodil. Transmissiivse elektronmikroskoopia (TEM) uuringuteks võeti niudesoole limaskesta tükikesed, mis fikseeriti glutaaraldehüüdi 2, 5 %-lises lahuses (0,1 M Na kakodilaatpuhveris, pH 7, 4). Pärast järelfikseerimist 2%-lises OsO₄ vesilahuses dehüdreeriti uuritav materjal etüülalkoholi tõusva kontsentratsiooniga lahustes ja sisestati EPON812. Ultralõigud monteeriti alusvõrkudele ja kontrasteeriti Pb-tsitraadi vesilahuses. TEM uuringud teostati elektronmikroskoobil Philips Tecnai-10.

Uurimise tulemused

Makroskoopiline leid (tabel 1).

Vanusgrupp 1-7 p (28 juhtu)

Täheldati ägedat katarraalset niudesoole põletikku. Tabandunud soolkanali limaskest oli difuusselt erepunane, turseline, marmorjas, täpjate või juttverevalumitega kaetud (eriti limaskesta kurdude tipus). Soole limaskest oli mõõdukalt kuni tugevasti piki ja risti kurrustunud. Kogu soolesein oli paksenenud limaskesta imbunud seroosse vedeliku tõttu, soolesisu suuremal või vähemal määral verrega segatud. Kuuel juhul täheldati ägedat katarraalset põletikku peale niudesoole ka umb-, ja käärsoole proksimaalses osas. Maksas ja neerudes täheldati kergekujulist düstroofiat. Düstrofeerunud elundid olid suurenenud, pundunud, rabeda konsistentsiga ja normaalsest heledama värvusega, ebakindlapiirilisel laigulised. Nende elundite lõikepinnad kummusid välja, olid tuhmid ning kokku asetamisel ei ühtinud omavahel. Kopsudes täheldati liigveresust. Südamelihase oli patoloogilise makroskoopilise leiuta.

Vanusgrupp 7p-1 kuu (26 juhtu)

Selle vanusgrupi sigadel täheldati ägedat katarraalset niudesoole põletikku ning verist ja haavanduvat niudesoole põletikku 12 juhul. Seitsmel juhul täheldati alaägedat katarraalset põletikku alates tühisooles lõpposast umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas. Esines ka kergekujulist düstroofiat maksas, neerudes, südamelihases (12 juhtu). Ägedat katarraalset kopsupõletikku esines (8 juhul) ning alaägedat serofibrinooset kopsupõletikku kahel juhul.

Vanusgrupp 1-2 kuud (21 juhtu)

Alates tühisooles täheldati kogu peensoole ulatuses krupooset või difteriitset põletikku (5 juhtu) Jämesooles (umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas) täheldati krupooset või difteriitset põletikku 6 juhul. Krupoosne põletik oli eriti ilmekalt väljendunud niudesooles Peyeri naastude tasandil. Fibrinoosne eksudaat oli hüübinud limaskesta pinnale ja moodustas seal hägus-valkjashalli või hägus-rohekashalli pseudomembraani. Viimase eemaldamisel

nähtus hallikaspunane, turses ja sültjas limaskest. Soolesisuses leidis mitmesuguse suurusega ebakile tükke. Krupoosse katu tõttu oli soolevalendik märgatavalt ahenenud.

Serooskestaaluste veresoonte liigtäitumisest tingituna oli serooskest intensiivselt punane. Difteriitse põletiku korral esines niudesooles, umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas fibriiniladestusi. Fibriinimasside valkjashallid kuni pruunid ladestused olid limaskestast kõrgemad ning kleepusid tugevasti allolevatele kudedele. Nende eemaldamisel jäid defektid limaskestale, paljudel juhtudel ulatus fibrinoosne eksudaat soole seina sügavusse. Jämesoole limaskest oli kohati kaetud paksude hallikaskollaste korpadega või esinesid kärbunud solitaarfolliikulite asemel ümardunud, kõrgema valliga ümbritsetud koorikud, mille keskosas esinesid nekrootilised massid. Neljal seal täheldati jämesooles salmonelloosile iseloomulikke ümmargusi limaskesta kõrgendeid. Tühisoole distaalse osa, niude- ja umbsoole ning käärsoole proksimaalne osa soolevalendik oli oluliselt ahenenud. Limaskesta pind oli niiske, kuid mitte limane. Muutunud sooleosade alas paiknevad mesenteriaalsed lümfisõlmed olid turselised valkjashalli kuni hallikaspunase lõikepinnaga, mesenteerium läbipaistmatu ja paksenenud. Kopsudes täheldati ägedat katarraalset kopsupõletikku või alaägedat kuni kroonilist serofibrinooset kopsupõletikku. Düstroofilisi muutusi maksas esines 19 seal ja atroofilist tsirroosi maksas kahel seal. Neerudes täheldati liigveresust, südamelihhas oli patoloogilise makroskoopilise leiuta.

Vanusgrupp 2-3 kuud (29 juhtu)

4 juhul, alates tühisoole algusosast ja edasi kogu peensoole ulatuses täheldati alaägedat kuni kroonilist katarraalset põletikku. 15 seal esines niudesooles, umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas difteriitne või krupoosne põletik. Difteriitse põletiku korral oli katt kõvasti kinni, ulatudes limaskesta aluskihti või isegi lihaskestasse. Täheldati lümfoidkoe hüperplaasiat. Seitsmel juhul oli limaskestas näha pilutaolisi fissuure. Mõnedel juhtudel (5) leiti jämesoole limaskestas abstsesse ja haavandite patoloogilise reparatsiooni tagajärjel tekkinud rohkeid granulatsioonikoe vohandeid (pseudopolüüpe). Maksas täheldati enamasti düstroofilisi muutusi ning kahel juhul atroofilist maksatsirroosi. Viiel seal diagnoositi serofibrinoosne liiteline kopsupõletik ning serofibrinoosne perikardiit. Neerudes täheldati liigveresust ja kergekujulist düstroofiat. Kõikidel juhtudel oli südamelihhas makroskoopilise leiuta.

Vanusgrupp 4 kuud (18 juhtu)

Tühisoole, niudesoole, umbsoole ja käärsoole proksimaalse osa soolevalendik oli tunduvalt ahenenud sooleseina paksenemise tagajärjel ning soolkanali avamisel rebenes see sooleseina osa kergesti. Tühisoole ja niudesoole limaskestal oli hallikaskollane või räpasvärvuline pindmine (krupoosne) katt (18 juhtu) Umb- ja käärsooles limaskestas esines pilu- või lõhetaolisi fissuure, abstsesse ning haavandeid (9 juhtu). Maksas ja neerudes täheldati kerge- kuni raskekujulisi düstroofilisi muutusi, südamelihases kergekujulisi düstroofilisi muutusi ning viiel seal alaägedat kuni kroonilist kopsupõletikku.

Patohistoloogilise uurimise tulemused

Akuutse tühi-, niude- ja umbsoole põletiku korral täheldati limaskestal eksudaati, mis koosnes limast, irdunud epiteelirakkudest ja veresoontest väljarännanud granulotsüütidest. Lisaks täheldati limaskestas vereringehäireid: staasi kapillaarides, hüpereemiat, leukotsüütide ääreseisu ja leukodiapedeesi, väikeseid diapedeesseid verevalumeid ning massilist makrofaagide invasiooni soolekrüptidesse. Äge põletikuline reaktsioon esines soole limaskestas ja limaskesta aluses kihis. Pikaldase soolepõletiku korral olid vereringehäired ja eksudatsioon nõrgalt väljendunud. Esiplaanil olid proliferatiivsed muutused nagu sidekoe teke soolenäärmete vahele, millest tingituna esines soolenäärmete kõhetumine. Kõikjal esines ümarrakuline rakkinfiltratsioon (kas hajusalt või koldeliselt paiknevad lümfotsüüdid ja plasmarakud). Soolehattude ja soolekrüptide epiteel oli asendunud proliferatiivsete,

ebaküpsete epiteelirakkudega, mille tulemusel oli niude- ja tühisoole sein märgatavalt paksenenud. Hatud olid deformeerunud, mis oli tingitud eelkõige näärmete pikenemisest ja hargnemisest. (joonis 3,4) Kahjustatud näärmeid voorderdasid ebaküpsed epiteelirakud, karikrakkude hulk oli kas vähenenud või puudusid nad täielikult. Prooprias esines sageli lümfoidkoe hüperplaasia; kahjustatud krüptides puudusid karikrakud (joonis 4,6), limaskestas leidis arvukalt eosinofiile, makrofaage ja neutrofiilseid leukotsüüte. Hattude epiteel oli paiguti nekrotiseerunud, hatud ise olid lühikesed, irregulaarsed. Kõikides vanusgruppides ilmnes krüptide epiteelirakkude proliferatsioon, krüptide pikenemine ja hattude lühenemine. Sageli avanesid krüptid otse limaskesta pinnale. Limaskesta katvad epiteelirakud olid ebaküpse välimusega ja suure ovaalse hüperkromaatilise tuumaga. Krüptide valendikus leidis rohkesti degenereerunud leukotsüüte. Enamikel sigadel esines limaskesta nekroos suures ulatuses, haarates ulatusliku osa tühi-, niude-, umb- ja käärsoole proksimaalse osa limaskestast. 9 seal täheldati *L. intracellularis*'ele iseloomulikke põletikulisi muutusi alates tühisoolest ja edasi kogu peensoole ulatuses (joonis 1, 2), lisaks ka umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas.

Neerudes ja maksas täheldati enamikel juhtudel kergekujulist valkdüstroofiat, mille puhul neeru vääntorukete epiteelirakud olid pundunud ja torukete valendik sageli osaliselt või täielikult sulgunud. Vääntorukete epiteelirakkude piirjooned olid sageli ebaselged ja vääntorukete valendikes leidis peeneteralist massi. Maksarakkude tsütoplasma oli teraline, maksarakkude piirjooned ebaselged. 15 sea maksas täheldati parenhümatosset rasvdüstroofiat. Maksa tsentraalveeni ümber esinesid maksa rakkude tsütoplasmas väikesed rasvatilgad. Paljudes maksa rakkudes olid viimased aga laadunud üheks suureks rasvatilgaks (nendes rakkudes olid rakutuomad kas püknootilised või lüüsunud). Südamelihases täheldati kergekujulist granulaarset väärastust, mille puhul oli lihaskiudude vöötsus paiguti halvasti tajutav, müotsüütide tuomad olid enamasti selged.

Nelja sea maksas täheldati atroofilisele tsirroosile iseloomulikke muutusi: sidekoe vohamine sagarike ümber, tsentraalveenid halvasti nähtavad, parenhüüm rakkudes granulaarne või rasvdüstroofia, paiguti maksa rakkude tuomad lüüsunud, vohanud noores sidekoes rikkalikult lümfotsüüte ja histiotsüüte. Sapijuhade reaktiivse vohamise tagajärjel oli tekkinud arvukaid umbseid ja hargnevaid sapijuhakesi..

Ägeda katarralse bronhopneumoonia korral leiti bronhides ja bronhiolides leukotsütaarset eksudaati; alveoolide vahelised vaheseinad olid paksenenud sinna kogunenud põletikulise infiltraadi tõttu. Kroonilise katarralse kopsupõletiku korral täheldati peribronhiaalset ja perivaskulaarset sidekoe vohamist ja ümarrakulist põletikulist infiltratsiooni. Alveoolides esines eksudaadi organiseerimisest tingitud karnifikatsioon ja karikrakkude arvu rohkenemine limaskesta epiteelis ning ühekihilise ripsepiteeli metaplaasia mitmekihiliseks epiteeliks.

Serofibrinoosse kopsupõletiku korral täheldati tabandunud kopsuosades põletikulist hüpereemiat; alveoolides neutrofiilseid leukotsüüte ja irdunud epiteelirakke.

Kopsualveoolides esines fibriniiniitidest võrgustikku, milles leidis rohkesti erütrotsüüte ja leukotsüüte. Patoloogilised muutused sarnanesid krupoosse kopsupõletiku puhul esinevate stadiaalsete (liigveresuse või punase maksnemise staadium) muutustega. Neljal seal täheldati interstitsiaalset kopsupõletikku, mille puhul interalveolaarsed vaheseinad olid paksenenud ja infiltreeritud peamiselt mononukleaarsete (histiotsüüdid, lümfotsüüdid) rakkudega. Samuti täheldati perbronhiaalset lümfoidkoe hüperplasiat. Inter-alveolaarsete vaheseinte paksenemisest ja bronhiolide ahenemisest tingituna esinesid ulatuslikud atelektaatilised alad. Sellistel juhtudel isoleeriti kopsudest *A. pleuropneumoniae* ja *E. coli*.

TEM-i uuringutel täheldati sageli laienenud hulgaliselt mitteküpseid epiteelirakke sisaldavaid soolekrüpte. Sageli puudusid sellistes krüptides karikrakud. Osades niudesoole epiteelirakkudes leiti rakusiseseid bakteritaolisi moodustusi (joonis 8). Loomkatsetest (N. MacIntyre et al., 2003) on selgunud, et 14. nakkusjärgsel päeval lokaliseeruvad bakterid

niudesoole lõpposas ning käärsoole proksimaalse osa krüptide epiteelirakkudes. Väljaarenenud kliiniliste haigustunnustega sigadelt võetud materjalid leiti niudesoole epiteelis rohkesti väikese elektrontihedusega nõ. "pundunud", epiteelipinnast väljaulatuvaid, aga ka kitsaid, kokkusurutud degenerereerunud rakuorganoididega rakke. Rohkesti esines apoptootilisi moodustusi nii epiteelirakkudes kui ka makrofaagides. Epiteelirakkude pinnal puudusid enamasti mikrohatud ja nad sisaldasid rakuksiseid baktereid. Viimased paiknesid näärmeepiteeli rakkude apikaalsetes osades. Huvitav on märkida, et osadel sellistel tabandunud rakkudel olid tuumad, mitokondrid, endoplasmaatilise retiikulumi membraanid ja Golgi kompleksid normaalse ultrastruktuuriga, teistel seevastu aga degenerereerunud. TEM-i uuringute põhjal võib arvata, et rakuksised bakterid põhjustavad niudesoole epiteelirakkude normaalse kasvu, diferentseerimise ja apoptoosi häireid. Poolpaksude lõikude uurimisel leiti krüptide epiteelirakkudes eelkõige hüperplastilisi muutusi.

Arutelu

Soole proliferatiivne *L. intracellularis*'e poolt põhjustatud põletik iseloomustub just oma lokaliseerimise ja morfoloogilise leiuga. Iseloomulik soolepõletik esineb enamasti tühisooles lõpposas ja niudesooles, kuid põletikulised muutused võivad esineda peale tühisooles lõpposa ja niudesooles ka umbsooles ning käärsoole proksimaalses osas. Sarnaseid patomorfoloogilisi muutusi kirjeldatakse paljudes teadustöös. (Joens et al., 1997; MacIntyre et al., 2003; Gebhart et al., 1994; Lawson et al., 1993; McOrist et al., 1995; Yeh et al., 2006; Lomax LG, Glock RD 1982). Jensen et al., 2006 tööst järeldub aga, et *L. intracellularis* lokaliseerub peamiselt käärsooles, põhjustades seal proliferatiivseid muutusi. Lawson jt. (1993), McOrist et al. (1995) ja Gebhart et al. (1994) andmetel lokaliseerub *L. intracellularis* eelistatult tühisooles lõpposa ja niudesooles soolekrüptide kahjustatud enterotsüütides. N. MacIntyre et al., 2003 andmetel omavad enterotsüütide mikrohatud olulist kaitsvat funktsiooni mikroobide soole epiteeli tungimise vastu. N. MacIntyre et al., 2003 arvates on mittevälminud enterotsüüdid krüpti baasil väheste väljakujunenud mikrohatudega. Et niudesooles ja proksimaalses koolonis mittevälminud enterotsüütidel mikrohatud puuduvad (kas osaliselt või täielikult) siis võib järeldada, et *L. intracellularis* lokaliseerub just nende sooleosades enterotsüütides s. t. niudesooles ja proksimaalses koolonis.

J. Tehver et al., (2007) järgi on soolehattude epiteelil tähtis funktsionaalne osa.

Diferentseerumata enterotsüüdid erinevad diferentseerunud silindrilistest äärisrakkudest mikrohatude väiksema arvu ja nõrgalt arenenud granulaarse tsütoplasmaatilise retiikulumiga. Soolehatte katvad silinderrakud-äärisrakud on spetsialiseerunud resorptiivsele talitlusele (rakkude vabal pinnal on mikrohatud). Mikrohatte katab glükokalüks (limataoline aine). Viimane takistab bakterite tungimist sooleseina. Enterotsüüdid on omavahel seondunud niihästi sulgevõtmekete, sulgeliidete kui ka desmosoomide abil, tõkestades sellega koevedeliku pääsemise soole valendikku ning sulgedes tee organismi sisekeskkonda võõrastele antigeensetele ainetele ja bakteritele.

TEM-i uuringute põhjal võib meie uurimistööst järeldada, et rakuksised bakterid põhjustavad tabandunud niudesoole epiteelirakkudes normaalse kasvu, diferentseerumise ja apoptoosi häireid. Sageli täheldati laiunenud soolekrüpte, mis sisaldasid hulgaliselt mitteküpseid epiteelirakke, ka puudusid sellistes krüptides karikrakud. Osades niudesoole epiteelirakkudes leiti rakuksiseid baktereid (joonis 8). Epiteelirakud moodustasid sageli mitmesuguse kujuga soolevalendikku väljakummuvaid väikese elektrontihedusega (heledaid) protrusioone. Viimaste pinnal puudusid enamasti mikrohatud ja nad sisaldasid rakuksiseid baktereid, mis paiknesid epiteelirakkude apikaalses osas. Põhjused, miks *L. intracellularis* lokaliseerub eelistatult niudesooles ja proksimaalses koolonis osas krüptide epiteelirakkudes (MacIntyre et al., 2003; McOrist et al., 1996) on ebaselged, kuid arvatakse, et mikroobide tungimise eelduseks mittevälminud enterotsüütidesse krüptide põhjas on puudulikult arenenud või

täielikult puuduvad mikrohatud. Puuduvad andmed bakterite võimaliku tungimise kohta läbi käärsoole epiteeli krüptide sügavusse (McIntyre et al., 2003).

Meie uurimismaterjalidest selgub, et *L. intracellularis* 'ele iseloomulikke makroskoopilisi ja mikroskoopilisi patoloogilisi muutusi võib leida juba alates tühisooles algusosast. Selliseid muutusi täheldati üheksal seal, kuid lõplike järelduste tegemiseks on selline materjalihulk siiski vähene.

Võttes arvesse meie poolt saadud tulemusi on tõenäoline, et sigade niudesooles epiteelirakkude kahjustumine *L. intracellularis* poolt on seotud tabandunud kudede hüperplastilise proliferatsiooniga. McOrist'i (1995) uurimised näitasid, et bakterite puudumine sooleepiteeli vigastuskolletes on seotud soole epiteelirakkudes toimuvate normaalsete apoptootiliste protsesside jätkumise ja limaskestast apoptoosijärgse normaalse struktuuri taastumisega. Sooltes esinevaid põletikke (difteriitne ja krupoosne) ei saa alati seostada *L. intracellularis* 'e poolt põhjustatud muutustega, sest paljudel juhtudel isoleeriti ka teisi haigustekitajaid nagu *Salmonella cholerae suis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* jt. Parenhümaatoossetes elundites esinevad raskekujulised patomorfoloogilised muutused olid tingitud eelkõige patoloogilistest muutustest soolkanalis ja kopsudes.

Kokkuvõte

L. intracellularis 'e esinemisel sigade seedetraktis leiti SPE-le iseloomulikke patoloogilisi muutusi kas ainult tühisooles lõpposas, niudesooles kuid enamasti ka umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas. Üheksal kuni viienädalasel seal täheldati *L. intracellularis* 'ele iseloomulikke makroskoopilisi patoloogilisi muutusi alates tühisooles proksimaalsest osast kuni käärsoole algusosani.

Noorematel 1-4 nädalastel sigadel esinesid põletikulised muutused soole limaskestas pindmiselt ja need väljendusid ägedas katarraalses või verises põletikus. Tabandunud sooleosa limaskestas esinesid jämenenud risti, piki ja põikikurrud; sooleosade sein oli tunduvalt paksenenud ja soolevalendik märgatavalt ahenenud.

Vanematel sigadel 1-4 kuud olid põletikulised muutused soolkanalis raskemakujulised. Tühi- ja niudesooles limaskestal oli hallikas, hallikaskollane või räpasvärvuselise pindmine (krupoosne) katt. Jämesooles osas (umb- ja käärsooles) oli põletikust haaratud limaskest, selle aluskiht ja vahel isegi lihaskestast tsirkulaarne kiht. Nii oli tühisooles distaalse osa ja niudesooles valendik ahenenud sooleseina paksenemise tõttu ning sageli soolesein rebenes soole avamisel. Sigade patohistoloogilistel ja transmissioonielektronmikroskoopilistel uuringutel leiti rakusisene bakter *L. intracellularis*, mis tekitas noorematel sigadel nii ägedat katarraalset kui ka verist tühi- ja niude-, aga ka umb- ja käärsoole põletikku. Vanematel sigadel oli soolkanalis ülekaalus proliferatiivsed põletikulised protsessid. Enamasti täheldati neil krupoosset või difteriitset soolepõletikku ning tüsistustest esinesid sügavad haavandid, abstsessid, pilutaolised fissuurid ja nekroproliferatiivne enteriit.

TEM-i uuringute põhjal võib järeldada, et rakusisesed bakterid põhjustavad tabandunud niudesooles epiteelirakkude normaalse kasvu, diferentseerumise ja apoptoosi häireid.

Tabel 1. Makroskoopilise uurimise tulemused

Juhtude arv	Soolkanal		Siseelundid			
	Peensool	Jämesool	Maks	Neerud	Südamelihas	Kopsud
28 1—7 p	Äge katarraalne põletik (16 juhtu) Verine põletik (6)	Äge katarraalne põletik (6 juhtu)	Kergekujuline düstroofia (9 juhtu)	Kergekujuline düstroofia (7 juhtu)	Makroskoopilise patoloogilise leiuta	Liigveresus (12 juhtu)
26 7 p—1 k	Äge katarraalne põletik (7) Verine haavanduv niudesoole põletik (12) Alaäge katarraalne niudesoole põletik (12)	Alaäge katarraalne põletik (12)	Kergekujuline düstroofia (12)	Kergekujuline düstroofia (12)	Kergekujuline düstroofia (12)	Alaäge serofibrinoosne põletik (2) Äge katarraalne põletik (8)
21 1—2 k	Tühisoole algusest kogu peensooles krupoosne või difteriitne põletik (5)	Difteriitne v. krupoosne põletik (6)	Kergekujuline düstroofia (15) Raskekujuline düstroofia (4) Atroofiline tsirroos (2)	Hüperemia ja düstroofia (8)	Maks patoloogilise leiuta	Serofibrinoosne põletik (8) Äge katarraalne põletik (5)
29 2—3 k	Tühisoole algosast kogu peensooles alaäge katarraalne põletik (4) Difteriitne põletik (15)	Umbsooles, käärsoole proksimaalses osas difteriitne v. krupoosne põletik (15) Abstsessid ja haavandid (5)	Kergekujuline düstroofia (20) Raskekujuline düstroofia (2) Tsiirroos (2)	Liigveresus (8) ja düstroofia	Makroskoopilise patoloogilise leiuta	Serofibrinoosne põletik (5)
18 4 k	Krooniline katarraalne Põletik tühisoole lõpposas, niudesooles (18)	Krooniline katarraalne põletik umbsooles ja käärsoole proksimaalses osas (9)	Kerge- kuni raskekujuline düstroofia (9)	Kergekujuline düstroofia (8)	Mõõdukas düstroofia (5)	Alaäge kuni krooniline katarraalne põletik (5)

Summary

The aim of this study was to elucidate the prevalence of *Lawsonia intracellularis*, porcine circovirus-2 (PCV-2) and other intestinal pathogens in Estonian swine farms using PCR, histopathological, microbiological methods and electronmicroscopical studies.

The research was carried out from 2003 to 2007.

Porcine post-weaning wasting, weight loss and increased mortality are caused by different factors, mainly by bacterial and viral agents.

Porcine proliferative enteropathy (PPE), also known as proliferative ileitis, is a common infectious diseases that affects weaned pigs of various ages. The disease occurs worldwide and produces variable clinical manifestation including chronic form and acute form (haemorrhagic form). The chronic form is common to pigs between 6-20 weeks old and results in poor growth, uneven weight gain and transient diarrhoea. PPE is difficult to diagnose because the clinical signs are non-specific or even lacking.

The clinical signs of porcine circovirus-2 disease (PCVD) include growth retardation and wasting, dyspnoe, lymphadenopathy, diarrhoea and pallor or icterus.

This project enabled to diagnose the porcine proliferative enteropathy and porcine circovirus-2 disease for the first time in Estonia using modern diagnostic methods.

Pathological materials were collected from 23 surveyed farms demonstrated clinical symptoms for porcine proliferative enteropathy (PPE) and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS).

The results indicated that 14 swine farms were infected with *L. intracellularis* and 7 with porcine circovirus-2.

From the 1462 swine were collected samples for finding *L. intracellularis*, results were positive in 223 cases (15,25%).

In most cases enteritis and pneumonia was diagnosed simultaneously with PPE and PMWS. *E. coli* was isolated in the cases of the acute and subacute enteritis. The main agents of the pneumonia were *P. multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

The pigs under examination were divided into four groups according to their ages: 4–8, 9–12, 13–16 weeks and over 20 weeks old. The beginning of PE infection was found in 4–8 weeks old group (23.6%). The prevalence of the infected pigs was relatively higher in the 9–12 weeks old group (68.1%). The number of diseased pigs decreased after 13 weeks.

The piglets (3 weeks old) from the three farms infected with *L. intracellularis*, vaccinated (Enterisol[®] Ileitis) and five months later investigated again by PCR to occur of the *L. intracellularis*. All tested samples were negative to *L. intracellularis*.

Enterisol[®] Ileitis is approved for the active immunization of pigs against *Lawsonia intracellularis* throughout the European Union. All grow/finish pigs, breeding sows and gilts are licensed to be vaccinated with Enterisol[®] Ileitis.

The strength of this innovative modified live vaccine is its economic impact for the farmer. In pre-approval trials in Germany investigating the economic efficiency of Enterisol[®] Ileitis vaccination vs. control, it has been shown that the financial benefit for the farmer can be as high as €4-5 per slaughtered pig.

Animals in three farms treated using different antibiotics as Tiamulin, Lincomix Premix 110mg/g and Linco-Spectin 100. The results indicated that more effective were Tiamulin, Tylosin and Lincomix Premix 110.

In Estonia, porcine circovirus-2 was not associated to clinical disease until recently, December 2006, when PMWS was diagnosed on a number of farms. The clinical symptoms of PCVD in Estonian cases were comparatively severe and the mortality (including runts) was 11–50%. Sequence analysis of the PCV2/ORF2 genome determined for 12 samples obtained

from 6 different PMWS-affected farms revealed that these isolates grouped into SG2 or SG3 (high and medium pathogenic viruses).

Thus, PCV2/ORF2 genome sequences belonging to both SG2 and SG3 were identified in samples from pigs with PMWS in Estonian farms.

The tissue samples were fixed in 10% neutral buffered formalin and in a fixator of Rossmann. Histological specimens were stained with haematoxylin and eosin and by Warthin-Starry silver staining. For transmission electron microscopy (TEM) there were samples of the mucosa of ileum prepared and they were fixed in glutaraldehyde 2,5% (0,1 M Na in cacodylate buffer, pH 7,4) and post-fixated in 2% aqueous OsO₄, sections were dehydrated through an ethanol series. Material for TEM was embedded in an EPON812 (SERVA). Ultra-thin sections were mounted to ground nets and they were contrasted in the water solution of Pb-citrate. Ultra-thin sections were examined in a Philips Tecnai-10 electron microscope. At the pathoanatomic studies of the alimentary tract of the swine there were found characteristic macroscopic changes to PE which were mainly localised in the rear part of jejunum and in the ileum. The affected mucosa is thrown into deep folds, longitudinal and transverse. Pigs of 4 to 16 weeks old had the most complicated festering changes in the canal of the gut. The distal part of the jejunum, ileum and the upper third of proximal colon and caecum wall had thickened visibly and the gut lumen had narrowed. Hyperplasy of lymphoid derma and, in many cases, croupous or diphtherial inflammations were found.

L. intracellularis was found in young pigs at the pathohistological investigation of their digestive tracts which caused acute inflammations of jejunum, ileum, caecum and colon. Histopathological findings were the affected intestinal mucosa often had severe necrosis and granulomatous inflammation, often had focal areas of hemorrhage in the lamina propria. The affected crypts were often located over aggregated lymphoid nodules. Goblet cells were absent from these crypts which were surrounded by large numbers of eosinophils, neutrophils and macrophages in adjacent lamina propria. However, there was often continued proliferation of immature epithelial cells which resulted in marked elongation, enlargement and branching of crypts.

L. intracellularis was found by transmission electronmicroscopic (TEM) investigation of their digestive tracts which caused acute inflammations of jejunum, ileum, caecum and colon. Most of the examined pigs also had a necrosis of mucosa. Intracellular bacteria was found at TEM investigation in the affected epithelium cells of the ileum. There were conclusions drawn on the basis of TEM investigation that the intracellular bacteria cause disturbances of normal growth, differentiation and apophosis of the epithelial cells of ileum.