

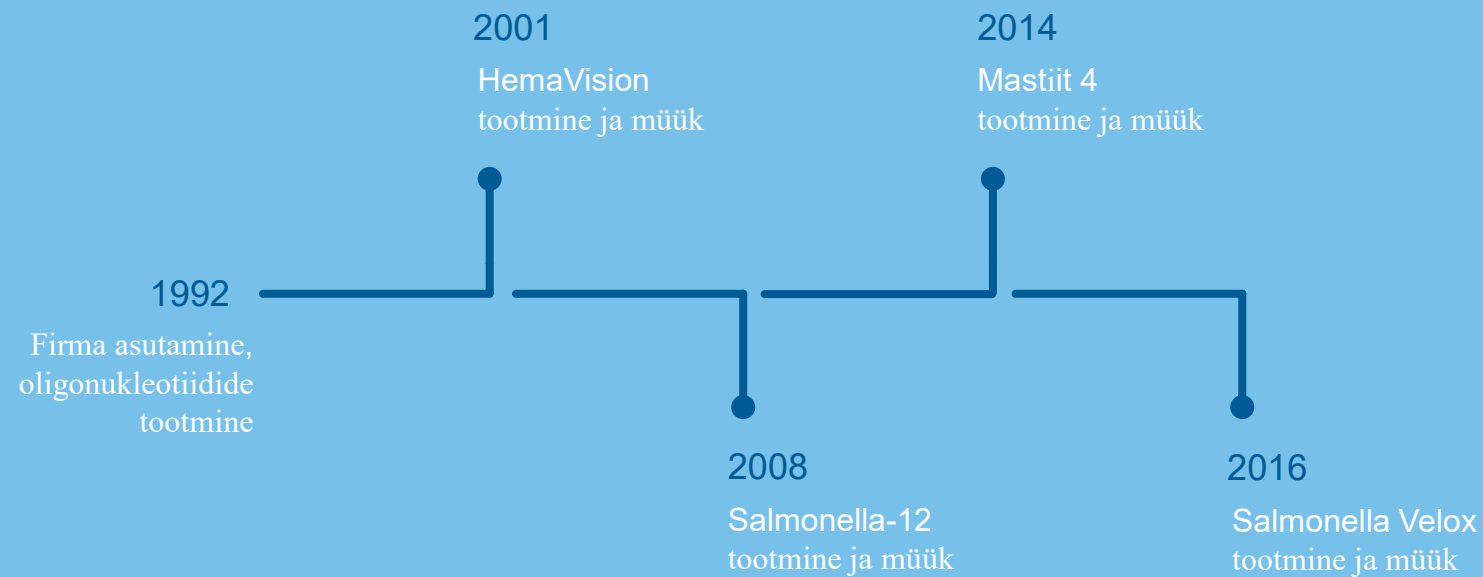
DNA
DIAGNOSTIC

Seminar - Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS

Eesti, 3.-4. oktoober 2017

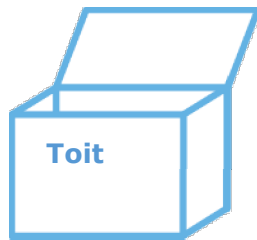
J. Katholm

Firma areng ajas



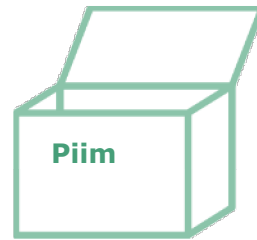
DNA
DIAGNOSTIC

Mida me teeme



Salmonella Velox

PCR-testi komplektid salmonella
tuvastamiseks toores looma- ja
linnulihas, kalas ning mereandides

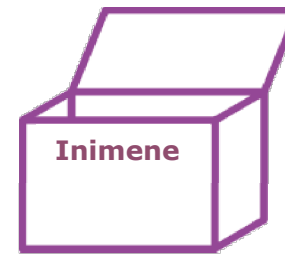


Mastiit 4

PCR-testi komplektid
mastiidibakterite tuvastamiseks
piimas

Uus!! TBC 4

PCR-testi komplektid bakterite
üldarvu hindamiseks piimas



HemaVision

IVD-testi komplektid leukeemiale viitavate
kromosomaalsete translokatsioonide
tuvastamiseks

DNA
DIAGNOSTIC

Minu nimi on Jørgen Katholm

Veterinaararst 1980

Erapraksis 1984 – 2007

Taani Piimanduskoda 2007 – 2014

Mastiidinõustaja kogu Taanis
Streptococcus agalactiae kontroll
Tankipiima seire PCR-testiga

DNA Diagnostic 2014
Turuarenduse juht



jk@dna-diagnostic.com



28. september 2017 E. Koeleman „Eesti piimanduse ambitsioonikad plaanid“

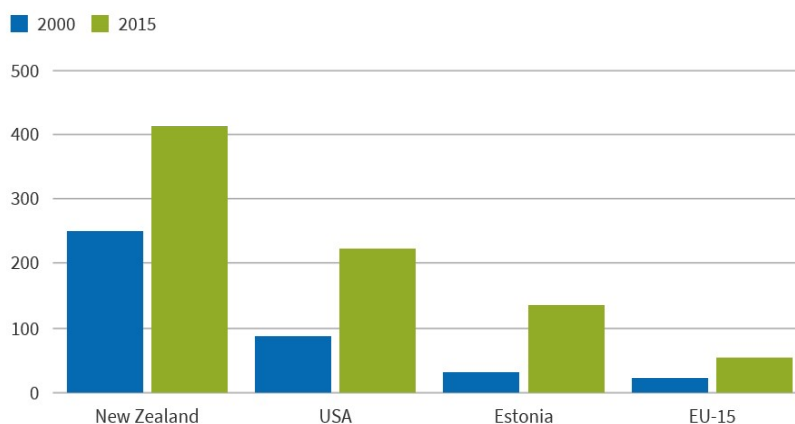


DAIRY GLOBAL

Põllumajandusel on Eestis pikaajalised traditsioonid, kuid väiksed piimafarmid on hakanud ruumi tegema suurtele piimatootjatele. Varustatud mitme eelisega, nagu näiteks mõistliku hinnaga maa, on sellel Balti riigil potentsiaali varsti saada EL-i kõige kulutõhusamaks piimatootjaks.

Joonis 1. Keskmise farmi suurus (lehmade arv) erinevates piirkondades

Figure 1 - Average farm size (cows per farm) in different regions around the world.



By Dairy Global Created with LocalFocus

Currently, this puts Estonia in second place, after Denmark with an average farm size of 152 cows per farm. On a global level, New Zealand tops the list with 413 animals on average per farm. "From experience we

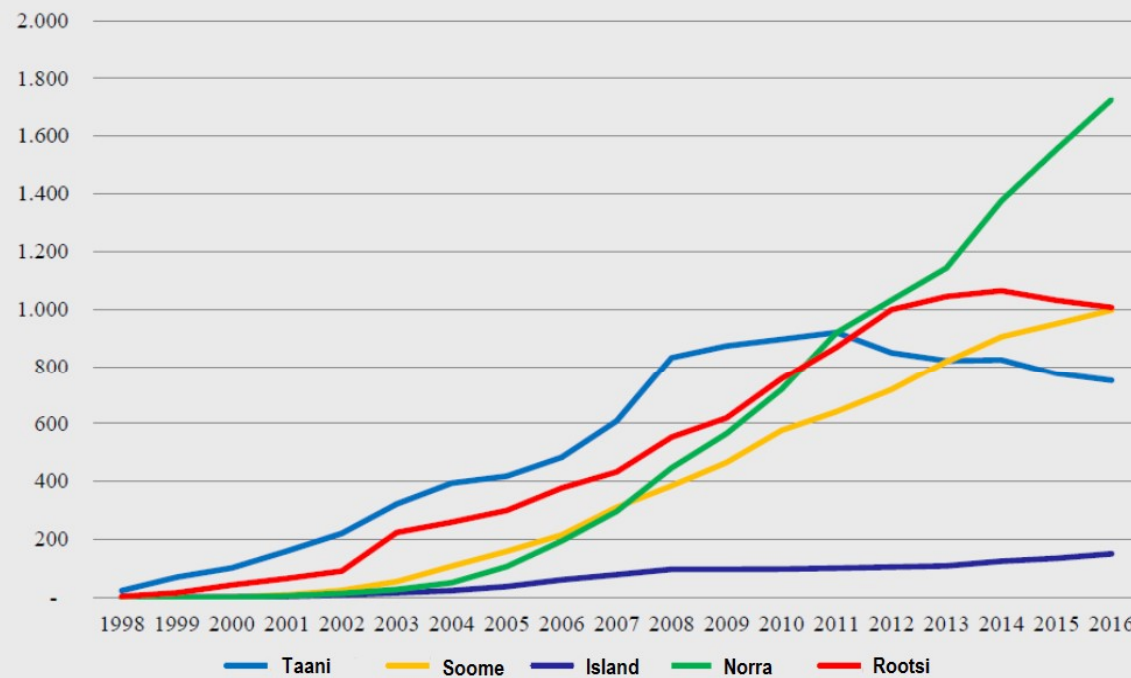








Lüpsirobotiga farmid Põhjamaades alates 1998













Taani ja nakkushaigused

Vaba

Suu- ja sõrataudist

Tb-st

Brutselloosist

IBR-ist

BVD-st

Salmonellast (2018)

Paratuberkuloosist ?

Suhtumise muutumine

Farmerid on **uhked** toidutootjad

Fookuses on toiduohutus – piim ei ole saastunud

Fookuses on ennetustöö – viie punkti plaan + puhtad lehmad

Fookuses on kõrgem toodang

Fookuses on bioturvalisus

Suhtumise muutumine

Farmerid on **uhked** toidutootjad

Fookuses on toiduohutus – piim ei ole saastunud

Fookuses on ennetustöö – viie punkti plaan + puhtad lehmad

Fookuses on kõrgem toodang

Fookuses on bioturvalisus

Parem piima kvaliteet

EU – ja piima kvaliteet

Nr 853/2004, 29 aprill 2004 EU nõuded toorpiima kvaliteedile

Piim saadakse loomadelt, kellel ei ole nakkushaigusi, mis võivad piimaga inimesele üle kanduda;

tervetelt loomadelt, kellel ei esine suguelundite haigustest tingitud eritisi, kõhulahtisusega enteriiti (soolepõletik) ega mastiiti.

Bakterite üldarv TBC < 100 000 bakterit/ml

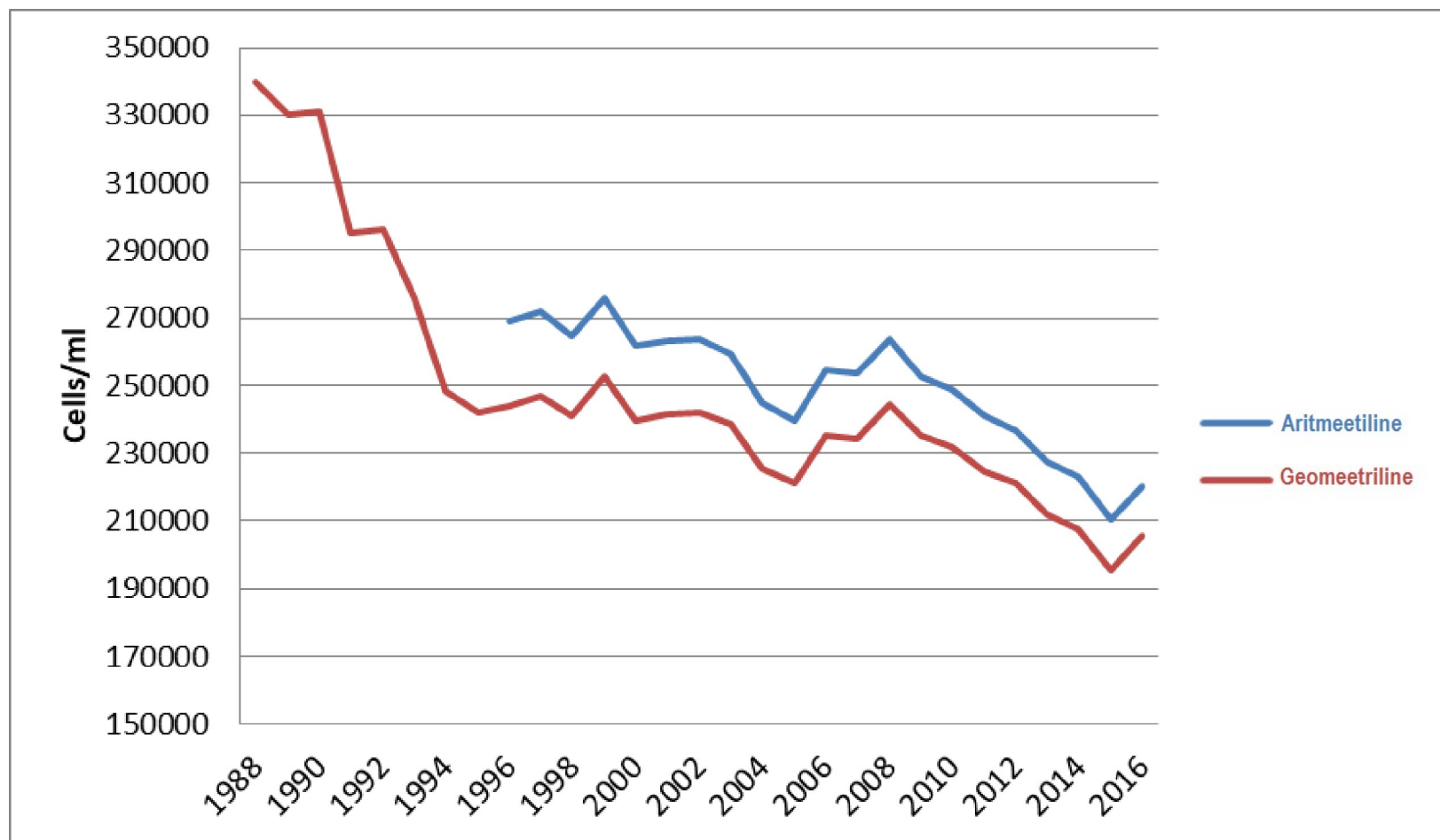
Kahe kuu geomeetriline keskmine

Vähemalt 2 proovi kuus

Somaatiliste rakkude arv SRA < 400 000 rakku/ml

Kolme kuu geomeetriline keskmine, vähemalt üks proov kuus

Tankipiima SRA Taanis 1988 - 2016

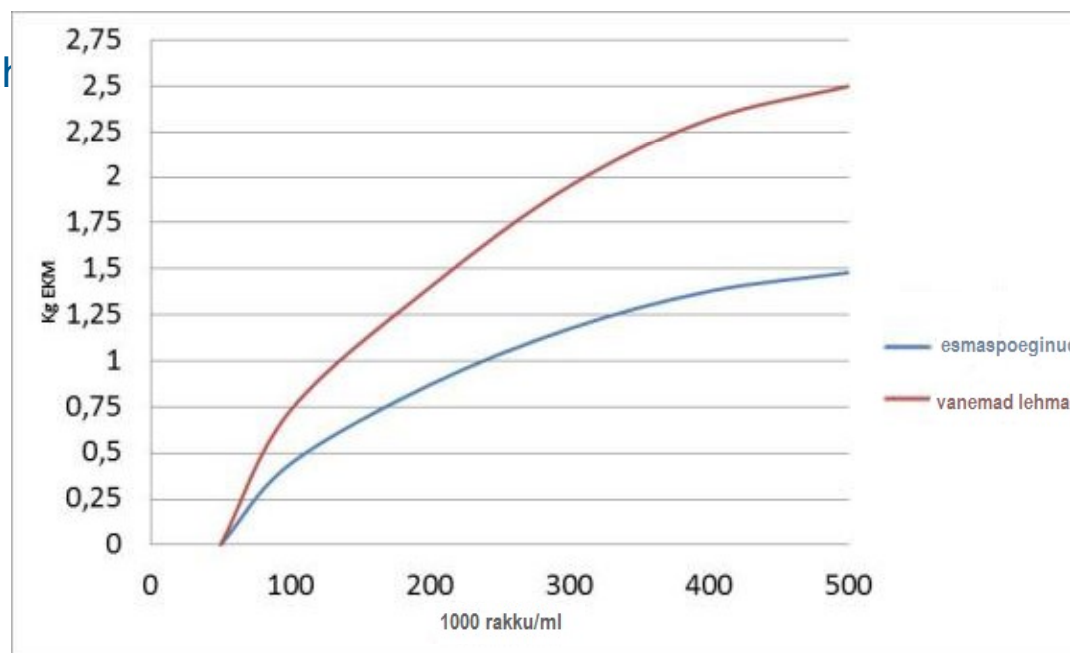


SRA

Kvaliteetse piima SRA alla 150 000

Võidelda suhtumisega, et ka napilt kvaliteediklassist väiksem SRA (400 000 rakku/ml) on OK

SRA vähendamine ei tähenda alati rakku



Tankipiima bakterite üldarv Taanis 1996 - 2016



Kõrgem piima kvaliteet – tankipiim

Kontrollib - Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS

Somaatiliste rakkude arv SRA

Bakterite üldarv TBC (*Total Bacteria Count*)

Aga mida teha siis, kui karja SRA või bakterite üldarv on tõusnud?

DNA – Diagnostic'u PCR-test annab vastuse

Probleemid:

SRA-ga

TBC-ga (bakterite üldarv)

Kasutatav test:

Mastiit 4

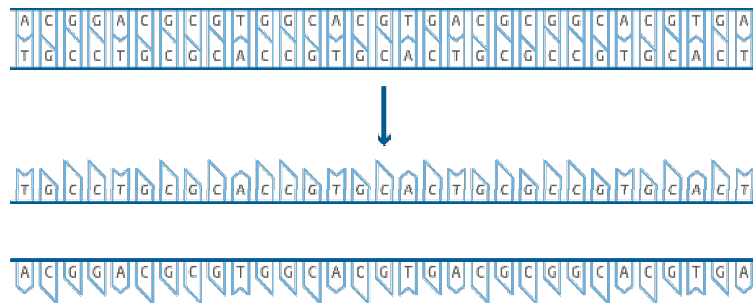
TBC 4

DNA
DIAGNOSTIC

Mastiit 4 ja TBC 4

PCR-test mastiidi- ja bakterite üldarvu
probleemide korral

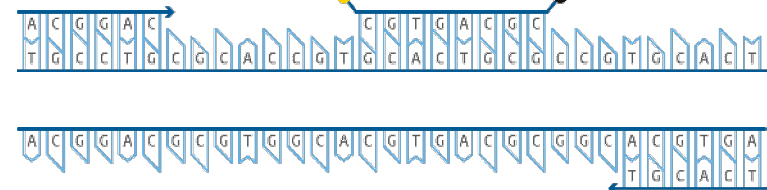
PCR-testide põhimõte



1. samm

DNA-ahelate lahutamine

Edaspidine praimer

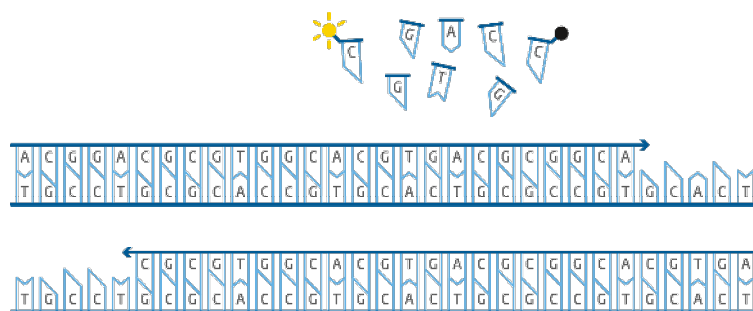


2. samm

Praimerid ja proov

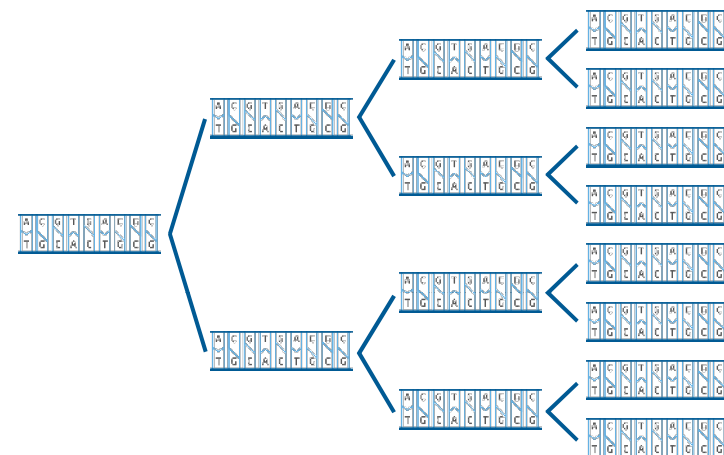
DNA
DIAGNOSTIC

PCR-testide põhimõte



3. samm

Polümeraas



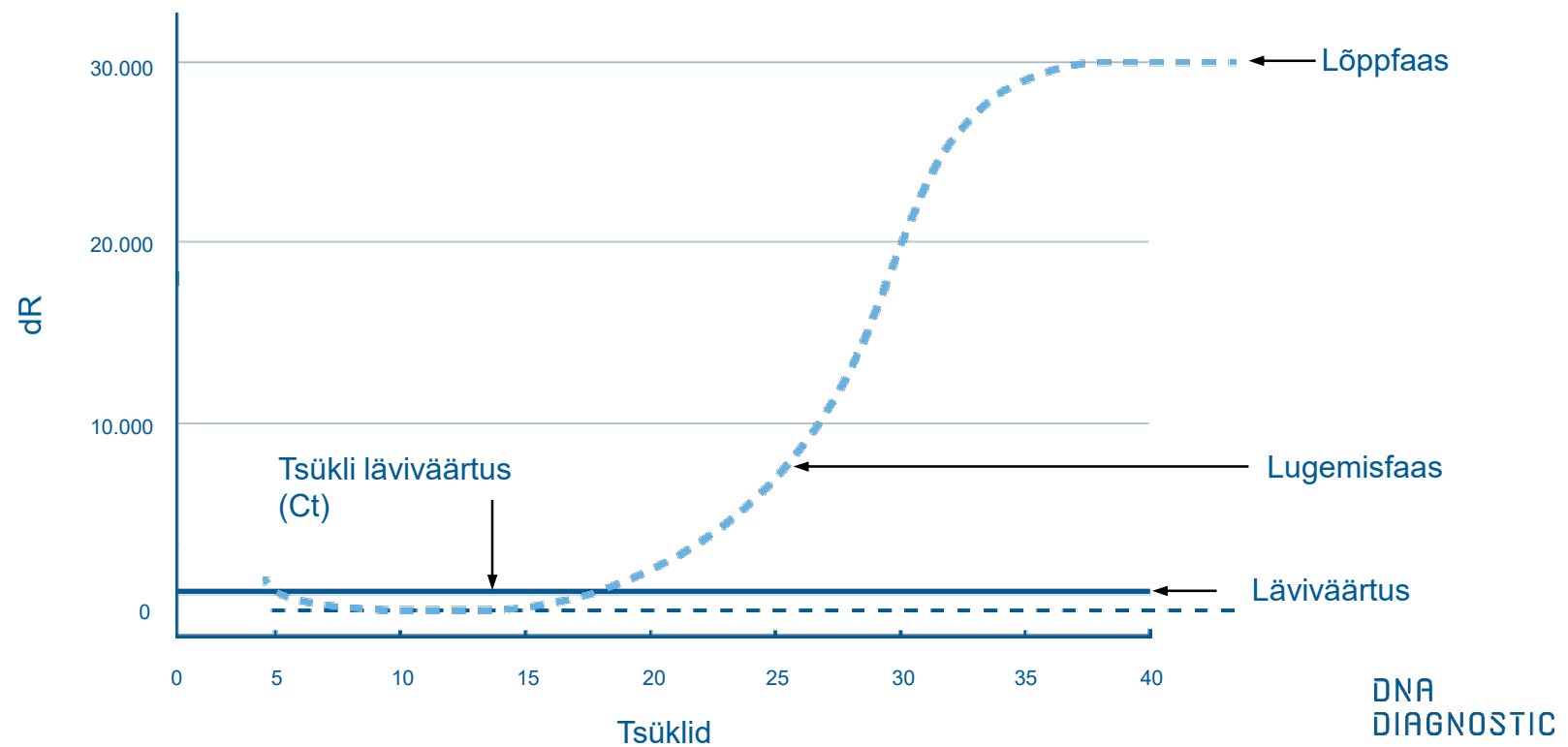
4. samm

Paljundamine

40 tsüklit tulemusega 1×10^{12} paljundust

DNA
DIAGNOSTIC

PCR paljundamise graafik



Mastiidiennetuse programm

Regulaarne tankipiima kontroll PCR-testiga

Mycoplasma bovis, *Staphylococcus aureus* ja *Streptococcus agalactiae*

Andmete registreerimine

Ravi

Tekitajad – lehma PCR-testi tulemused

Jõudluskontroll (JK) – individuaalsed lehma SRA ja PCR-testi tulemused

Farmi jälgimine

Lüpsirutiini jälgimine ja lüpsiseadmete regulaarne kontroll/hooldus

Keskkonna hindamine

Ennetus

Viie punkti plaan

Puhtad lehmad

Mastiit 4 – PCR test

Tankipiima analüüs

Nakkuslike haigustekitajate seire

Valik karjadest, kus tehakse valikulist kinnislehmade ravi

Jõudluskontrolli proovid

Värskeltpoeginud lehmad – et ei oleks nakkuslike haigustekitajaid (*Mycoplasma/Staph. a./Strep. B*)

Kõrge SRA-ga lehmad – nakkusliku mastiidi levik karjas

Valikuline kinnislehmade ravi

Ravi – vale ajastus haigustekitaja/keskkondliku mõju seisukohast

Steriilsed udaraveerandite proovid

Nakkuslikud tekitajad – elimineerimisprogramm, kogu karja testimine ja edasised tegevused

Infektsioonide ravi

Kõrge SRA – Mastiit 4 pakub probleemile lahenduse

Staphylococcus aureus

Coagulase Negative Staphylococcus (CNS) – koagulaasnegatiivsed stafülokokid

Streptococcus agalactiae

Streptococcus uberis

Streptococcus dysgalactiae

Mycoplasma bovis

Mycoplasma species

beetalaktamaasgeen

Prototheca

Klebsiella

E. coli

Enterococcus/Lactococcus lactis

Mastiit 4

Nakkuslike tekitajate kontroll tankipiimas

DNA
DIAGNOSTIC

Fast detection
of **mastitis
bacteria**
in milk

Mastit 4

PCR test is the answer...

- **Fast**
Results in 3 hours
- **Easy to handle**
Very few handling steps
- **High sensitivity**
Higher than other commercial qPCR tests
- **Cost efficient**
Low costs for both kit and hands-on time
- **4, 8, or 12 mastitis bacteria**
Detected in one analysis
- **Mycoplasma detection**
Included in results

Mastit 4

Identifies the main
mastitis-causing bacteria in
bovine milk samples, without
the need for any bacterial
culturing steps.

Kõrge bakterite üldarv – TBC 4 pakub probleemile lahenduse

Pseudomonas

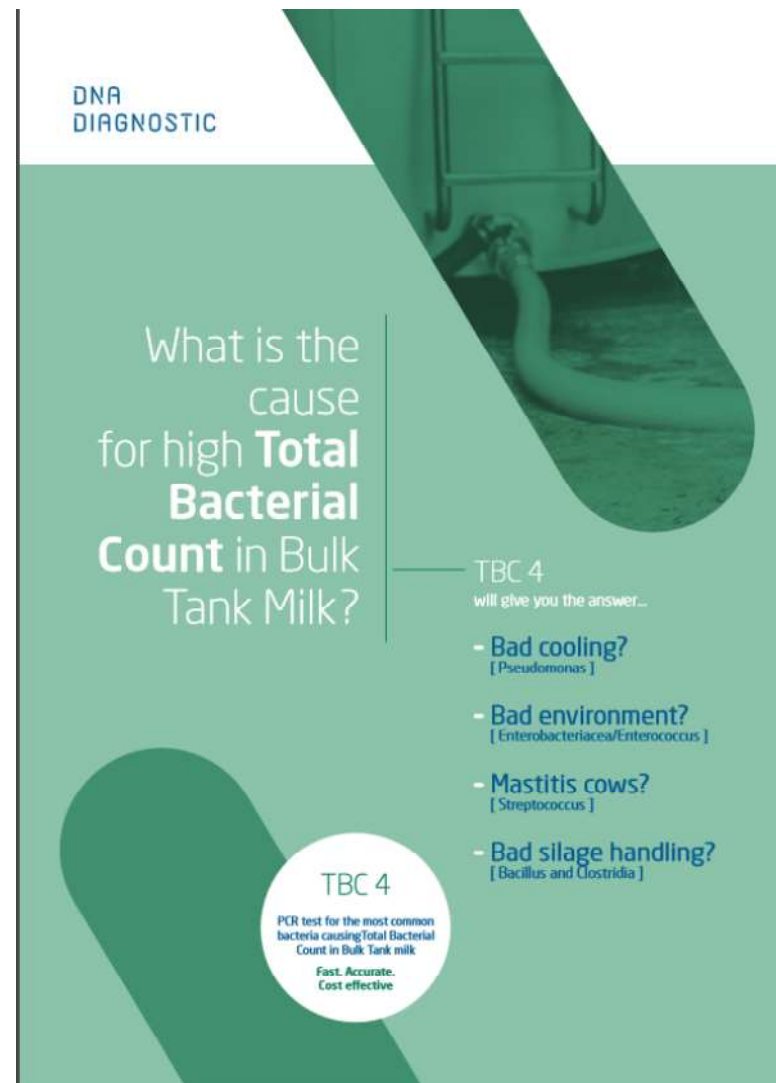
Streptococcie

Enterobacteriaceae/Enterococcus

Bacillus/Clostridia

Uus PCR-test kõrge bakterite üldarvu korral

– TBC 4



DNA
DIAGNOSTIC

What is the
cause
for high **Total
Bacterial
Count** in Bulk
Tank Milk?

TBC 4
will give you the answer...

- **Bad cooling?**
[Pseudomonas]
- **Bad environment?**
[Enterobacteriaceae/Enterococcus]
- **Mastitis cows?**
[Streptococcus]
- **Bad silage handling?**
[Bacillus and Clostridia]

TBC 4
PCR test for the most common
bacteria causing Total Bacterial
Count in Bulk Tank milk
Fast. Accurate.
Cost effective

The poster features a green background with a white circle containing the TBC 4 logo and a list of potential causes for high bacterial counts. A photograph of a milking machine is visible in the top right corner.

Streptococcie



Pseudomonas



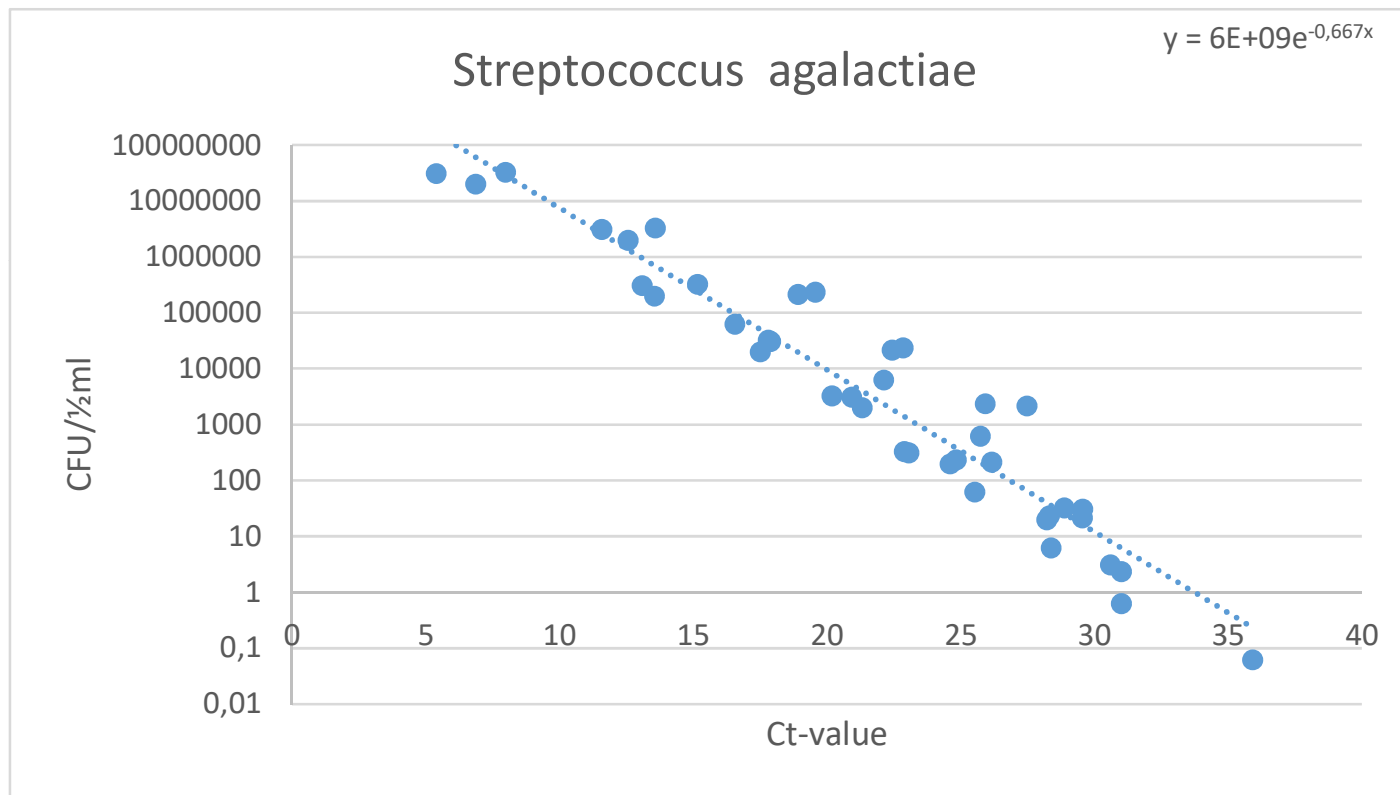
Enterobacteriaceae/Enterococcus



Bacillus/Clostridia



Korrelatsioonikõver Mastiit 4 – Ct väärtus ja CFU (bakterite arv) *Streptococcus agalactiae* – 6 isolaati



Soovitused farmerile pärast tankipiima PCR-testi tulemuste saamist

Mycoplasma bovis

Kliiniliste tunnustega loomade eraldamine, testimine ja praakimine

Staphylococcus aureus ja *Streptococcus agalactiae*

5 punkti plaan, õige lüpsirutiin, lüpsijärgne nisadeso, kinnislehmade ravi, uute haigusjuhtude kiire ravi, praakimine, lüpsil kinnaste kasutamine

Streptococcus uberis, *Enterococcus*, *E. coli*, *Klebsiella*

Puhtad lehmad, vaht enne lüpsi, värske sööt lüpsilt tulnud loomadele, puhas allapanu, sügavallapanul rohkem ruumi

Streptococcus dysgalactiae

Nisade naha parem seisukord, palsam lüpsijärgse nisade desovahendi koostises, nisade viirusnakkused

DNA
DIAGNOSTIC



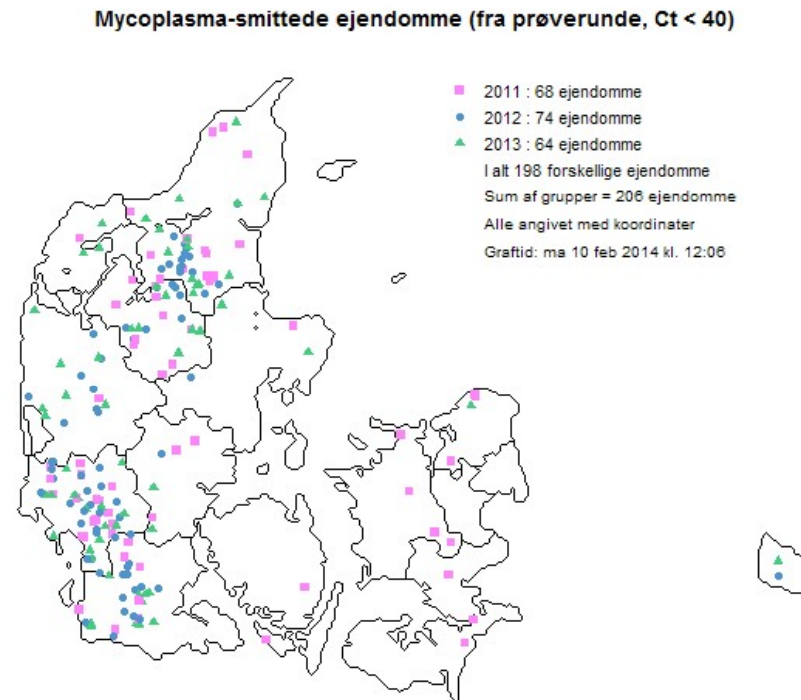


Vasikad – sümptomid



Mycoplasma bovis-positivne tankipiima PCR

2011 - 2013



Mycoplasma bovis'e põhjustatud udarapõletiku levik karjas ning seos udaratermise, piimatoodangu ja koostise vahel

(Anri A. Timonen et al. 2017)

Tekitaja	Piimatoodang	P
<i>Mycoplasma bovis</i> negatiivne	0	
<i>Mycoplasma bovis</i> positiivne	- 3.0	0.007
<i>Staphylococcus</i> negatiivne	0	
<i>Staphylococcus</i> positiivne	0.8	0.5
<i>Streptococcus agalactiae</i> negatiivne	0	
<i>Streptococcus agalactiae</i> positiivne	- 4.0	<0.001

Mycoplasma bovis'e põhjustatud udarapõletiku levik
karjas ning seos udara tervise, piimatoodangu ja koostise
vahel (Anri A. Timonen et al. 2017)

Tekitaja	SRA	
P		
<i>Mycoplasma bovis</i> negatiivne	0	
<i>Mycoplasma bovis</i> positiivne	0.8	<0.001
<i>Staphylococcus</i> negatiivne	0	
<i>Staphylococcus</i> positiivne	0.9	<0.001
<i>Streptococcus agalactiae</i> negatiivne	0	
<i>Streptococcus agalactiae</i> positiivne	0.6	<0.001

Staphylococcus aureus-positiivsete lehmade SRA

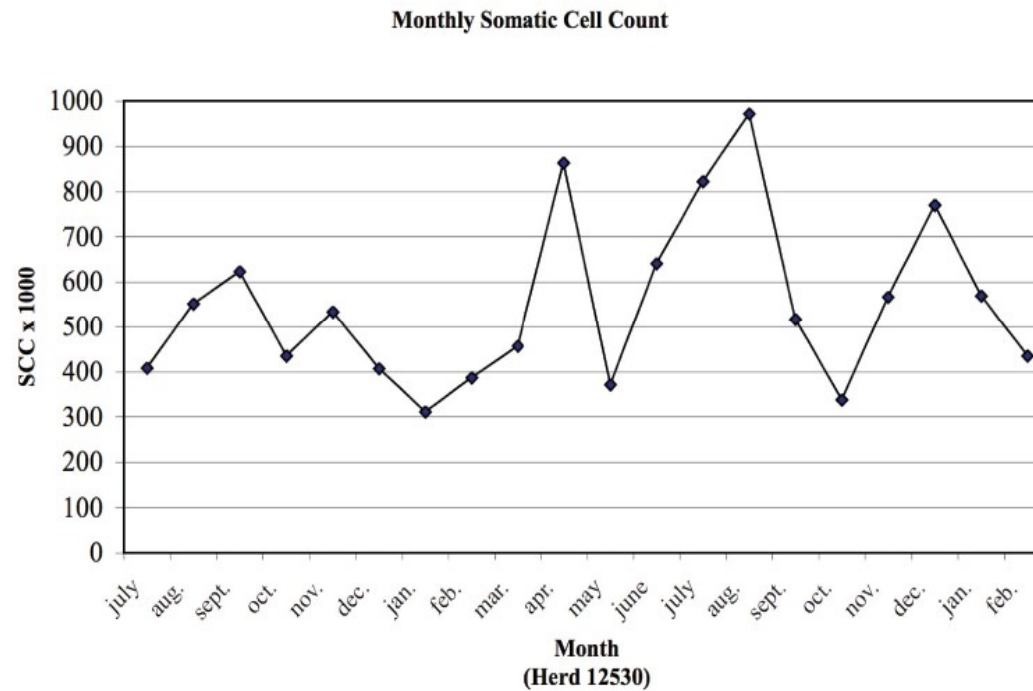
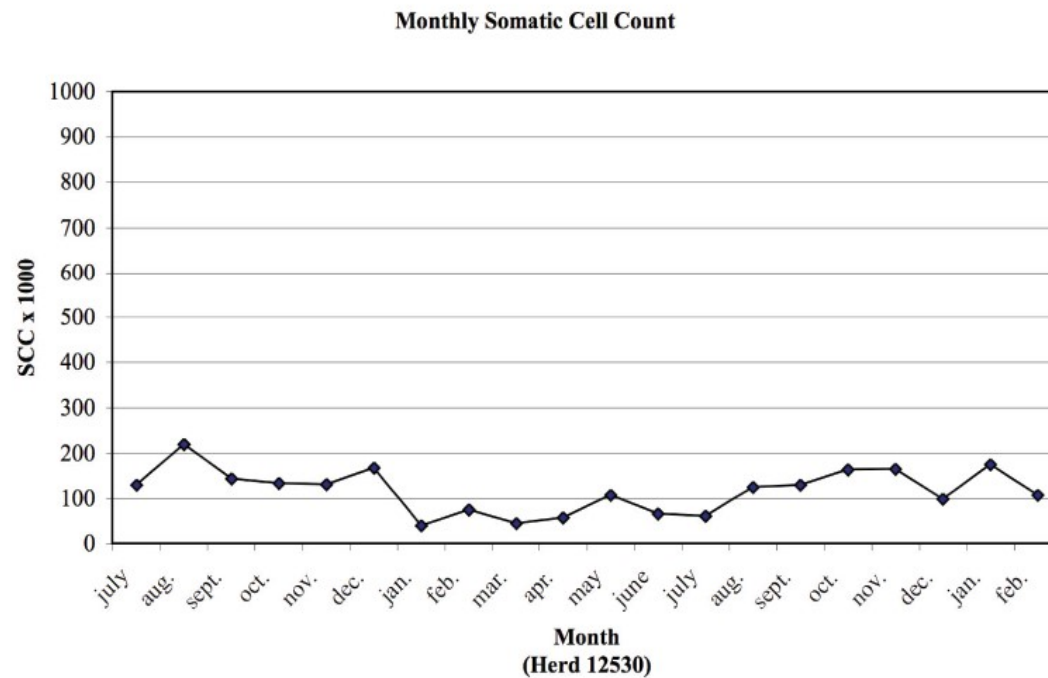


Figure 6. SCC of cows positive for *Staphylococcus aureus* in herd 12530

E. Bouchard et al 2006

Staphylococcus aureus-negatiivsete lehmade SRA



E. Bouchard et al 2006

Figure 5. SCC of cows negative at culture in herd 12530

Tühjaltlüks ja lüpsijärgne nisadeso

Ettevalmistusaeg

60 - 90 sek (3 x 90–120 sek)

Lüpsiseadme eemaldamine

400 – 500 ml/min

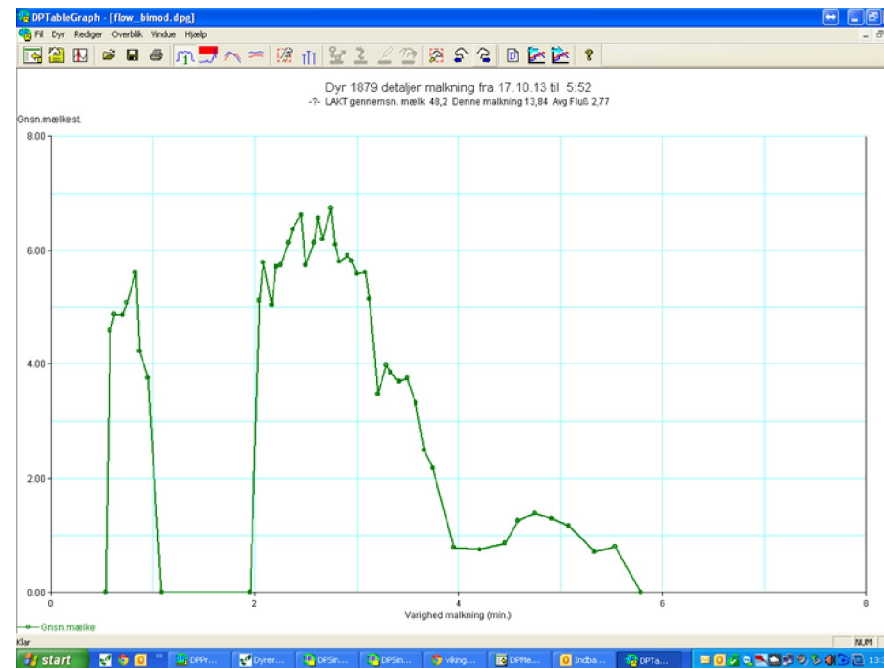
3 x lüpsil 600 ml/min

Lüpsijärgne nisade deso

0,5 - 1% joodipreparaat ja palsam



Bimodaalsus – BAD



Hea ettevalmistus

**2 X lüpsil
3 X**

**60 sek pärast esimest puudutust
90 – 120 sek**



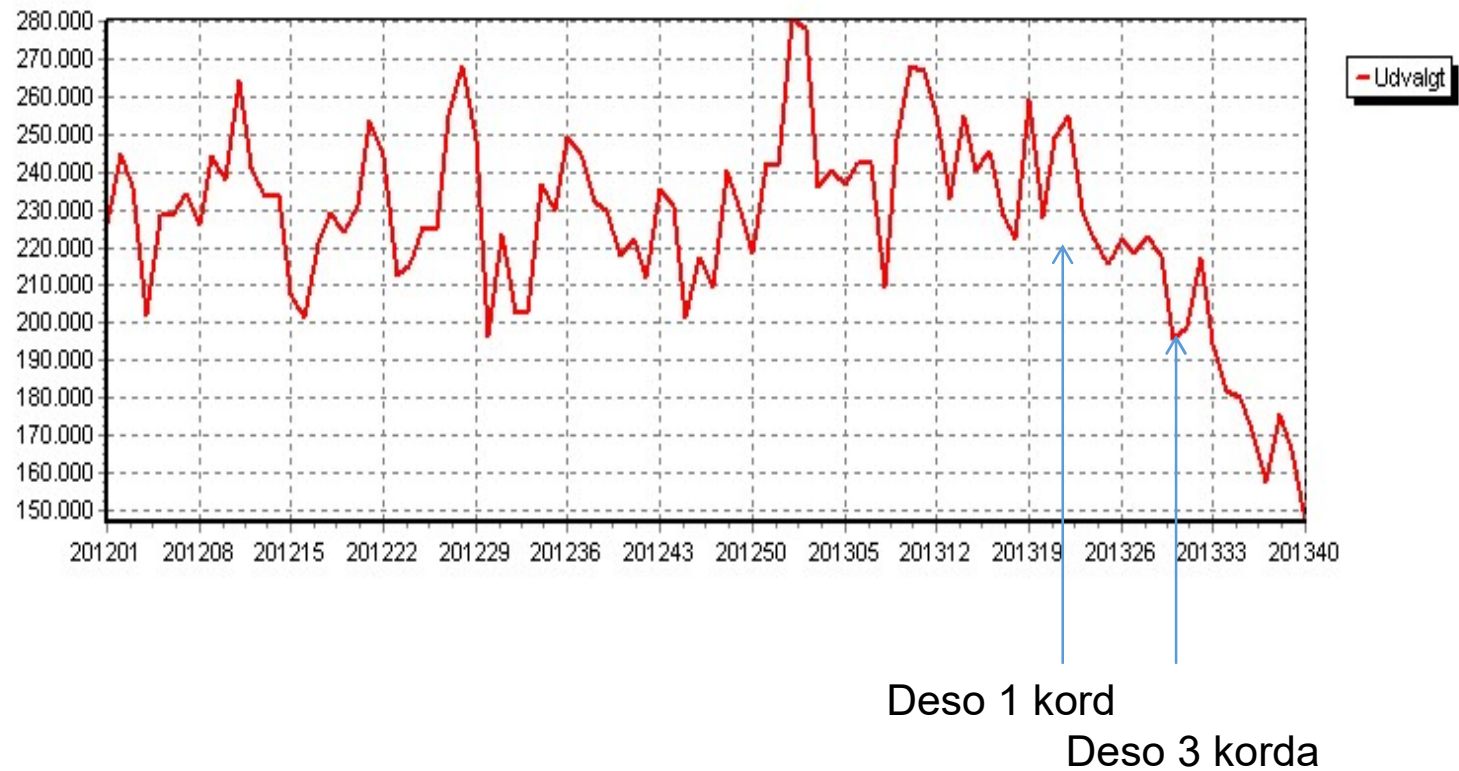






Kuidas saada kontrolli alla krooniline *Staphylococcus aureus*

Lüpsijärgne nisadeso



Viie punkti plaan

Mycoplasma bovis, *Staphylococcus aureus* ja *Strep. agalactiae*

Lüpsiseadmed ja lüpsirutiin

Lüpsil kasuta kindaid

Lüpsijärgne nisadeso

Kinnislehmade ravi

Uute haigusjuhtude varajane ravi

Eraldamine, praakimine

Nakatunud loomad eraldi grupis, esmaspoegijad eraldi grupis, madala SRAga loomad eraldi grupis



Rohkem kui 50%
piimast esimese kahe
lüpsiminutiga??
Väldi tühjaltlupsi







Streptococcus agalactiae likvideerimine

400-pealise karja testimine

306 lehma testiti 3. aprillil 2013 – 89 positiivset (jõudluskontrolliproovid)

Tankipiima SRA



29 lehma praakimine 12. aprillil

19 lehma praakimine 19. aprillil

test ja eraldamine

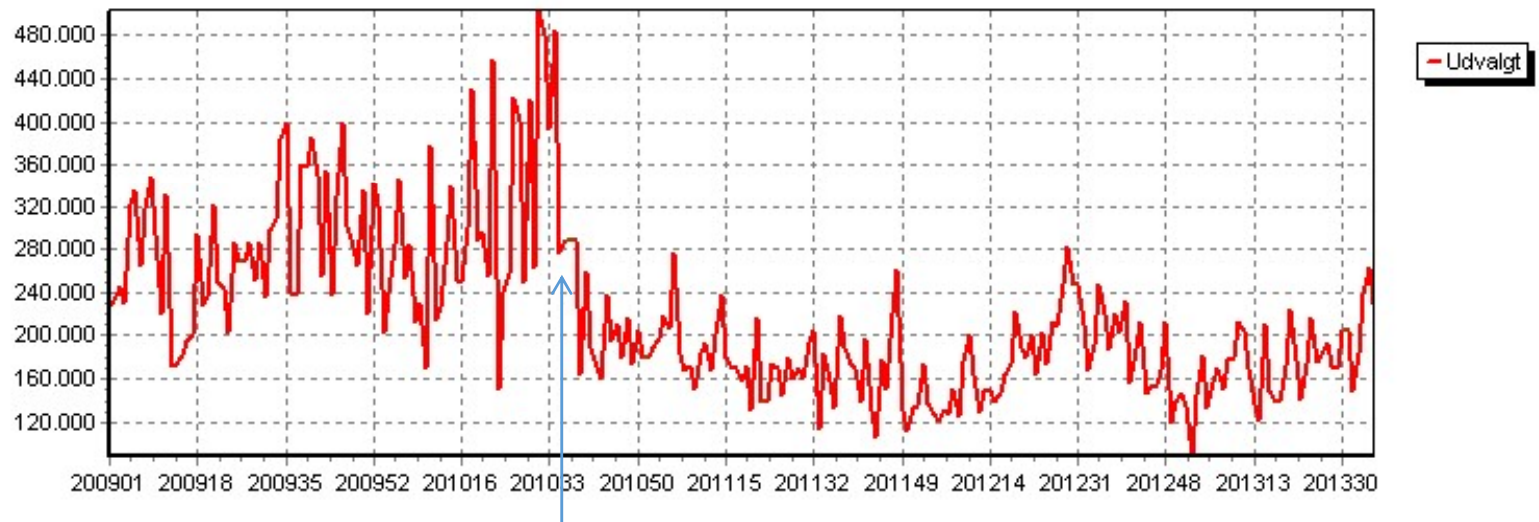
46 lehma kordustestiti, 7 positiivset, 13 praakimist 30. aprillil

30/7 kõigist lehmadest koondtestiti, üks positiivne Ct 29

Kõigi lehmade ravi - 85% nakatunud *Strep. agalactiae*'ga

105 lehma

Tankipiima SRA



Aastad 2009 -2013

Piima kvaliteet – tankipiima somaatiliste rakkude arv (SRA)

Besætningsgruppe: CHRnr

Periode: Uge 01, 2016 - uge 39, 2017

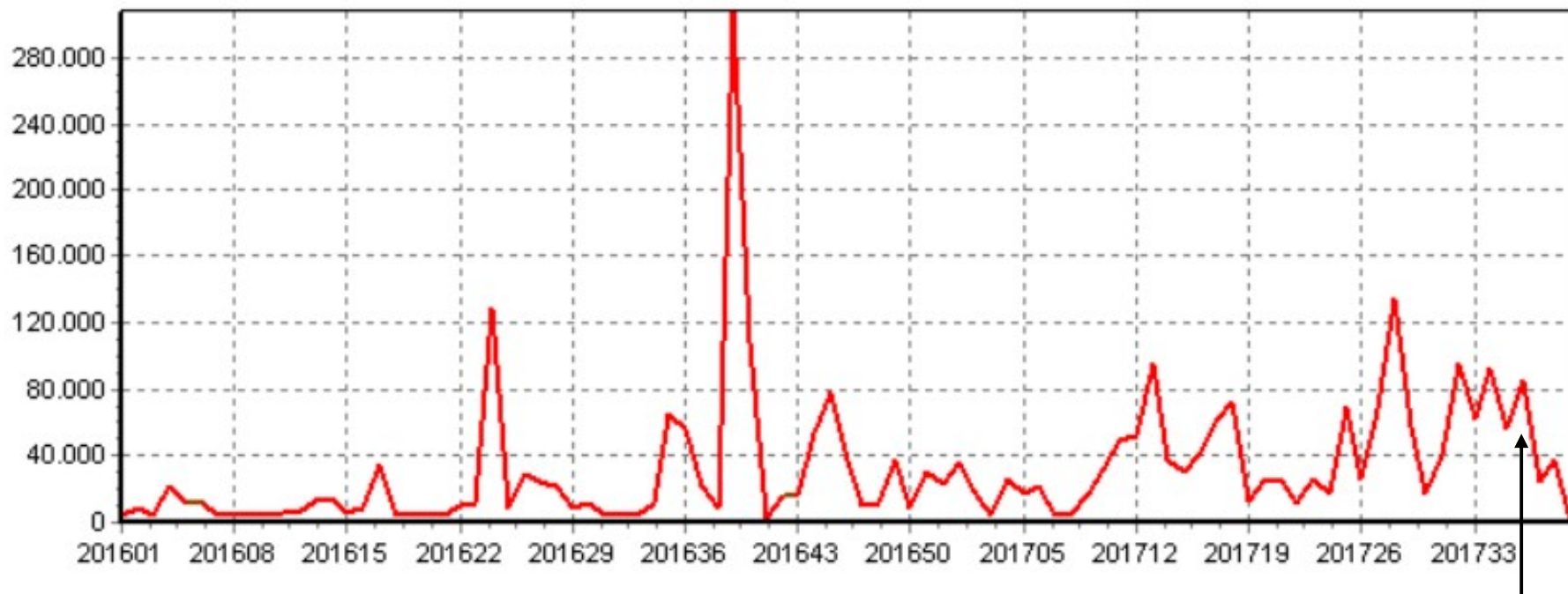


28 *Strep. agalactiae*-positiivset lehma praagitud/ravitud

Piima kvaliteet – tankipiima kogubakterite üldarv (TBC)

Besætningsgruppe: CHRnr

Periode: Uge 01, 2016 - uge 39, 2017



28 *Strep. agalactiae*-positiivset lehma
praagitud/ravitud





Toodang ja lehma SRA enne eraldamist

1. märts – 25. oktoober 2013

SRA	Päevatoodang	Lehma
Terved lehmad	36 liitrit	144 000
<i>Strep agalactiae</i> 'ga lehmad < Ct 40	- 4 liitrit	217 000
<i>Staph. aureus</i> 'ga lehmad < Ct 37	- 3,5 liitrit	349 000
Mõlemaga nakatunud: <i>Strep. ag.</i> + <i>Staph. aureus</i> - 5 liitrit		451 000









Mastiit ning udara- ja jalahügieen

Udarahügieeni tase	nakkus	keskkond
1	2,8 %	9,7 %
2	4,7	9,6
3	5,1	12,1
4	7,4	13,8

Keskkondlik mastiit

Puhtad lehmad

Korralikud asemed – lehma asukoht/asend seistes ja lamades

Vaht enne lüpsmist

Kinnislehmade ravi – nisa korkimine

Uute haigusjuhtude kiire ravi

Värske sööt pärast lüpsi – lehm seisab $\frac{1}{2}$ -1 tundi

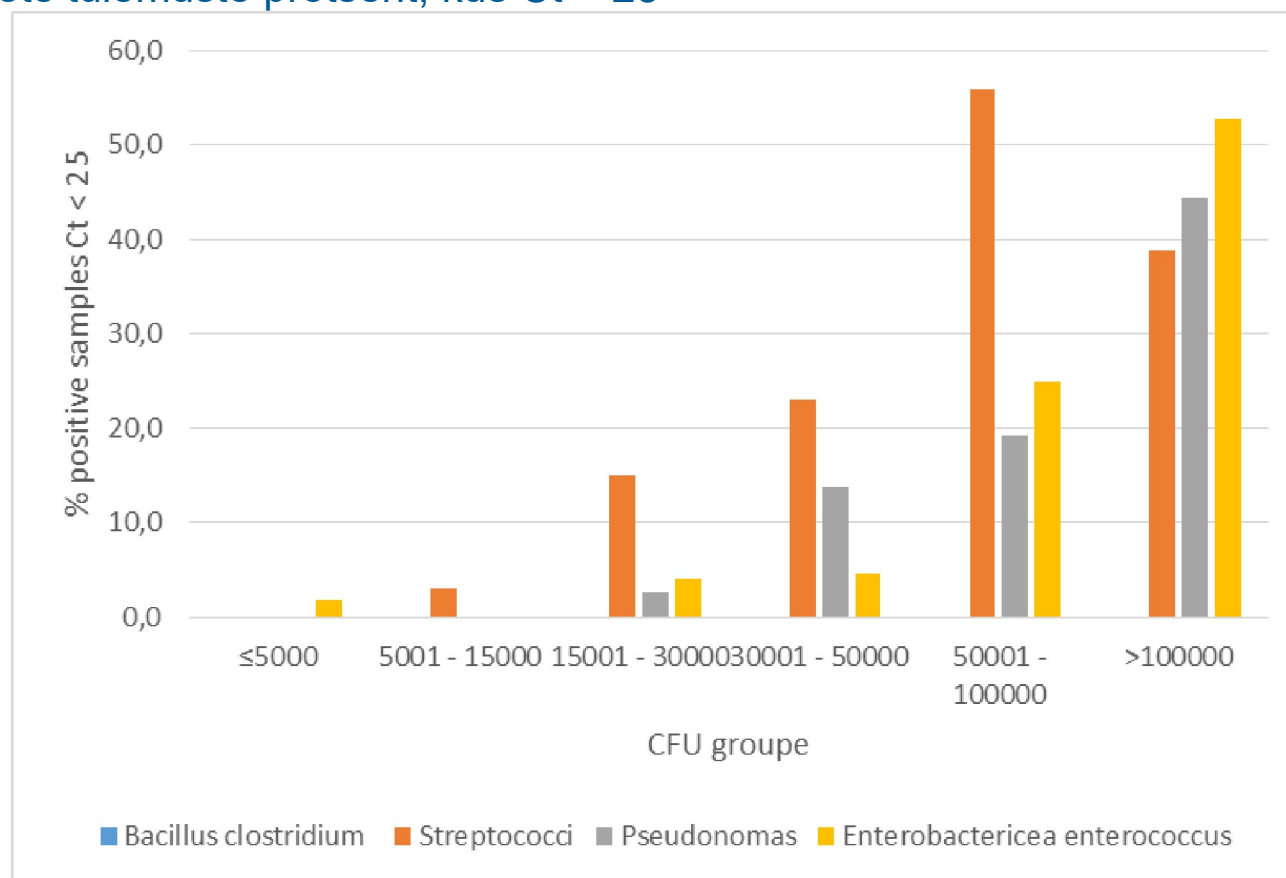
Puhas jalutusala

Allapanu 500g lehma kohta päevas – saepuru või liiv

Sügavallapanu $> 7\text{m}^2$ / lehma kohta

346 tankipiima proovi testitud TBC 4-ga

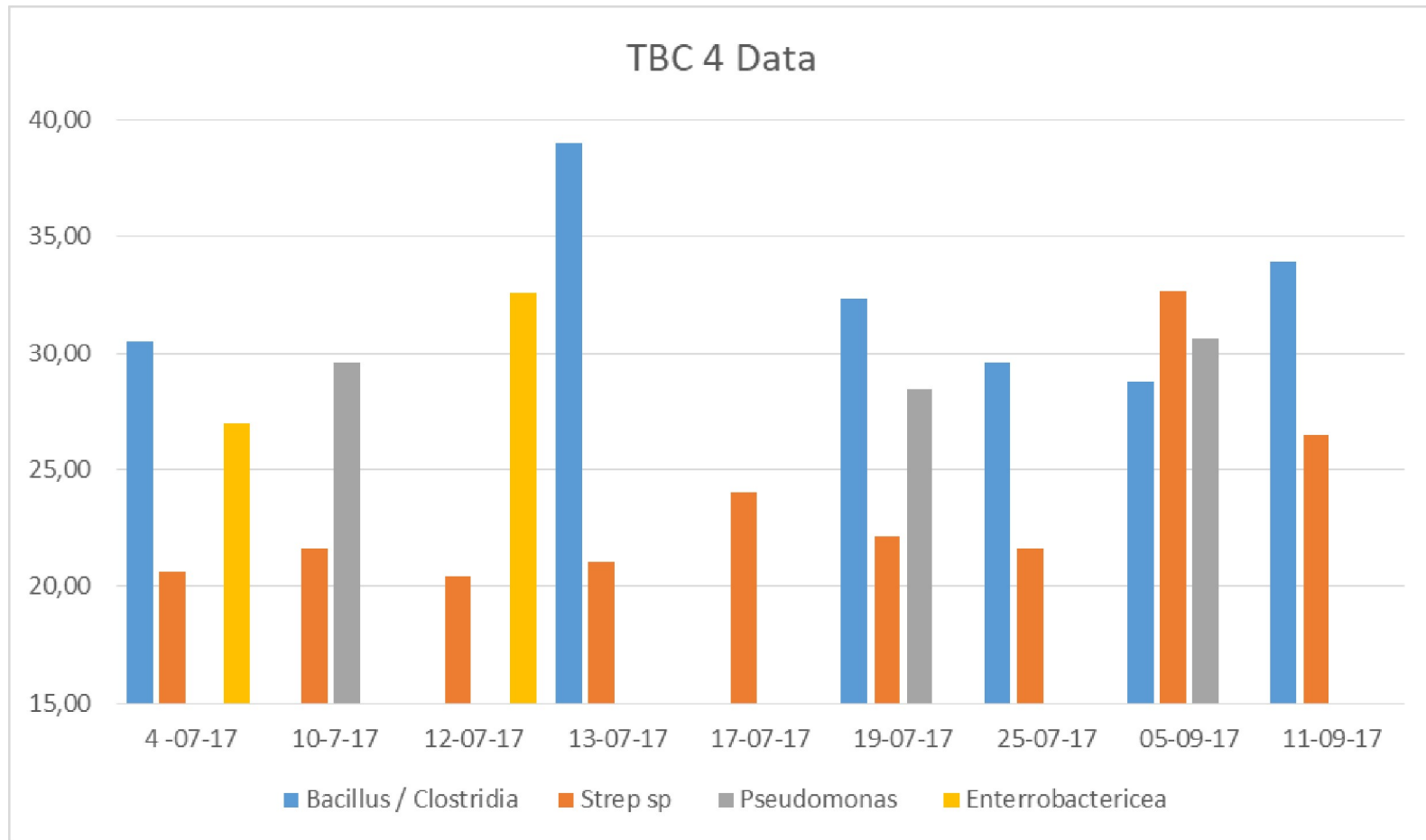
Positiivsete tulemuste protsent, kus Ct < 25



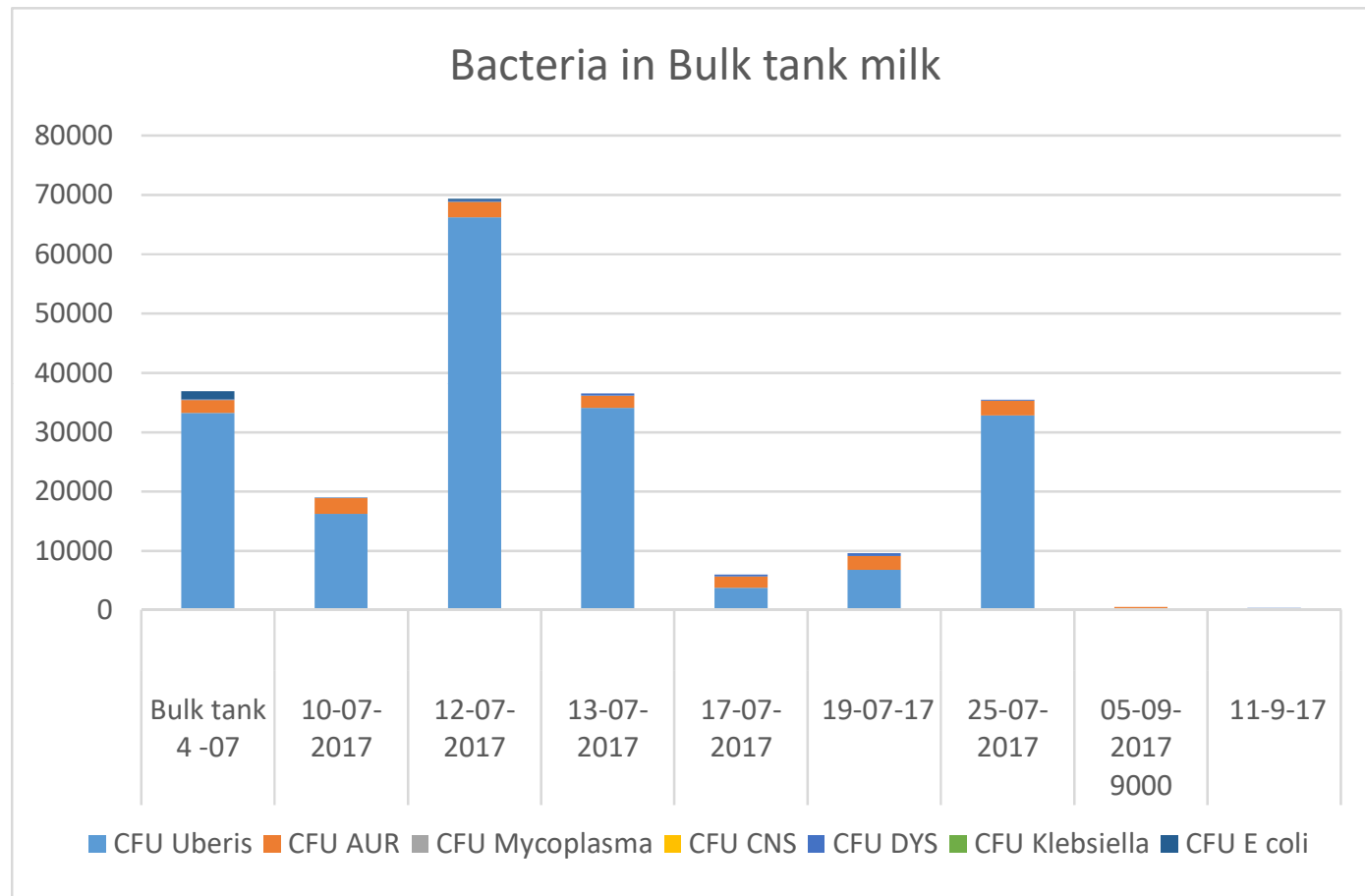




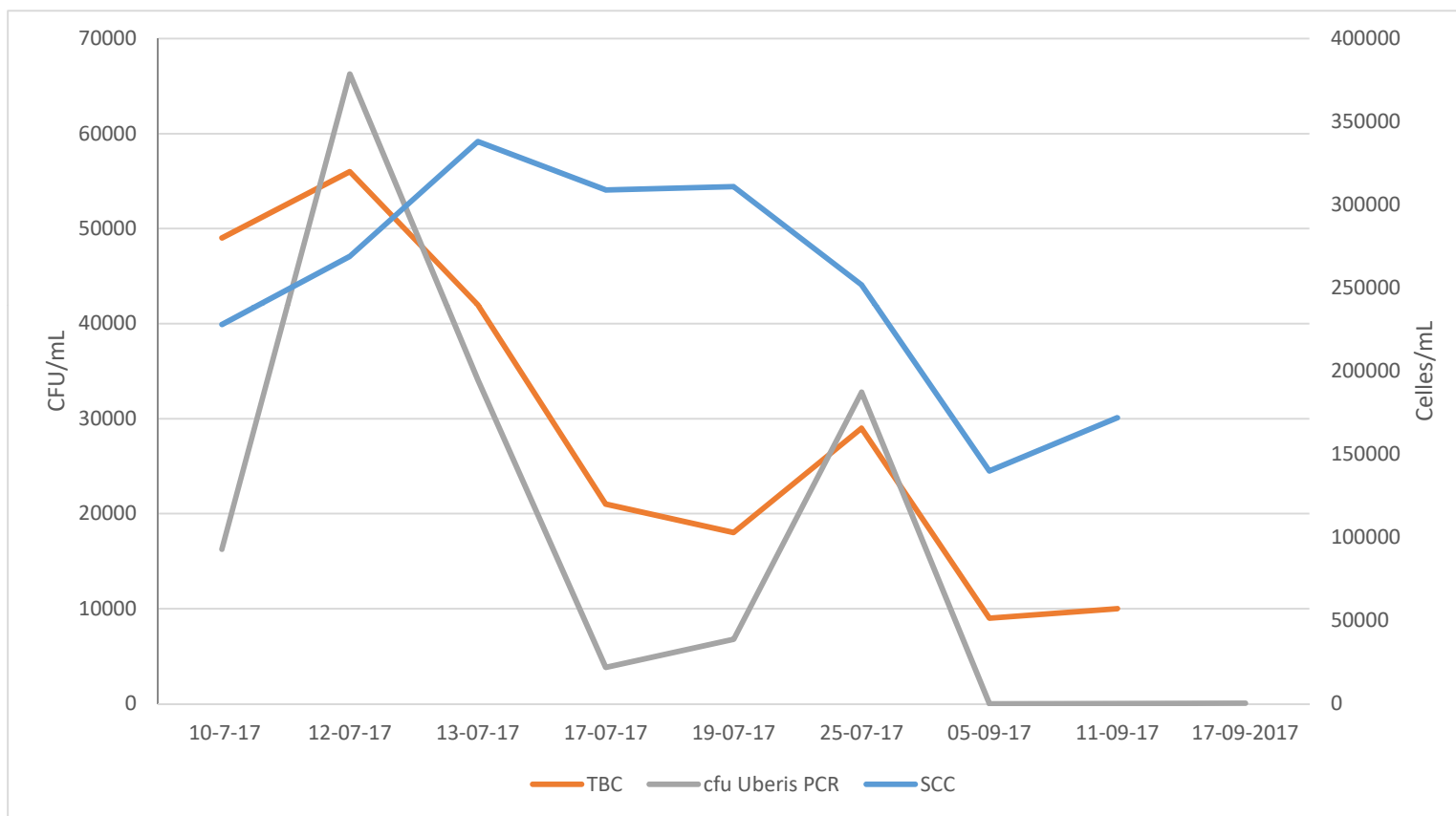
TBC 4 andmed



Bakterid tankipiimas



Korrelatsioon SRA, TBC ja CFU (PCR) vahel



Koliformsete bakterite arvu ja E. coli (PCR) korrelatsioon

