

Ulukitelt proovide võtmine ja laborisse saatmine keeritsusside (*Trichinella* spp.) suhtes uurimiseks

ANALÜÜSIMEETODID

Analüüs	Meetod	Metoodika	Osakond
Keeritsussi (<i>Trichinella</i>) vastsete määramine lihas tehisseedemetodil	parasitoloogiline	EVS-EN ISO 18743:2015	Bakterioloogia-patoloogia Tallinna VTL Saaremaa VTL Toidumikrobioloogia osakonna Rakvere üksus

[Teavitamiskohustuslik zoonootiline haigustekitaja, leiu korral teavitatakse pädevat asutust vastavalt põllumajandusministri 18.02.2000 määrusele nr 5](#)

Keeritsussianalüüsideks volitatud laborid on kohustatud positiivse või kahtlase uurimistulemus korral saatma proovid kinnitavaks uuringuks riiklikku referentlaboratooriumisse - Veterinaar- ja Toidulaboratooriumisse, kus määratakse morfoloogia alusel kogutud vastsete kuuluvus keeritsusside (*Trichinella*) perekonda. Vajadusel kasutatakse keeritsusside leiu kinnitamiseks reaalaaja PCR meetodit. Keeritsusside esinemisel määratakse keeritsussi liik.

Referenttegevus

Analüüs	Meetod	Metoodika	Osakond
Keeritsusside (<i>Trichinella</i>) määramine (volitatud laborite tulemuste kinnitamine)	Parasitoloogiline	EVS-EN ISO 18743:2015	Bakterioloogia-patoloogia
<i>Trichinella</i> spp. määramine	Real-time PCR	5MA-TJ-74*	Molekulaaranalüüs
<i>Trichinella</i> vastsete liigi määramine	Konventsionaalne multiplex PCR	5MA-TJ-24*	
Nematoodide määramine COI ja SSU geenide sekveneerimise teel	Sekveneerimine	5MA-TJ-86*	

* akrediteerimata meetod

ANALÜÜSE TEOSTAVAD LABORATOORIUMID

Kõik eelpool loetletud meetodid – VTL Tartu labor Kreutzwaldi 30, Tartu
EVS-EN ISO 18743:2015

- Tallinna Veterinaar- ja Toidulaboratoorium - Väike-Paala 3, Tallinn
- Saaremaa Veterinaar- ja Toidulaboratoorium - Kohtu 16, Kuressaare, Saaremaa
- VTL Toidumikrobioloogia Rakvere üksus - Neffi 2, Piira, Vinni vald, Lääne-Virumaa

PROOVIDE VÕTMINE, SÄILITAMINE JA SAATMINE

Proovid võtab tegevusloaga loomaarst või vastava koolituse läbinud isik.

Proovi võtmisel järgitakse ohutusnõudeid, kuna keeritsussid on zoonoossed haigustekitajad.

Mitme proovi järjestikusel võtmisel kasutatakse erinevaid proovivõtuvahendeid või puhastatakse need korralikult, et vältida ristasaastumist.

Proovid võetakse eelislhastest, kus vastsete esinemine on kõige tõenäolisem.

Metssiga	Vahelihas diafragma sääre lihase ja kõõluse üleminekukohast Esijala lihased lihase ja kõõluse üleminekupiirkonnast Keelelihased - eelistatud on keelejuure piirkond
Karu, ilves, mäger	Vahelihas Mälurlihas Keelelihased (keelejuure piirkond)
Kobras	Vahelihas (taga)jala lihased
Hallhüljes	Vahelihas Roietevahelised lihased Keelelihased (keelejuure piirkond)

- Eksootilistelt loomadelt proovi võtmisel küsi infot laborist.
- Laborisse saadetakse igalt loomalt **vähemalt 150 g, soovitavalt 200 g lihaste proovi**.
- Kui proov sisaldab palju rasv- ja sidekudet, saadetakse laborisse vastavalt suurem proov, et oleks tagatud piisav kogus lihaseid analüüsimiseks ja vajadusel täiendavaks testimiseks (positiivse koondproovi puhul individuaalproovi tuvastamiseks).
- Proov ja rümp märgistatakse nii, et keeritsussileiu korral on võimalik nakatunud rümpa identifitseerida.

Individuaalproovina (üksikproovina) uuritakse 50 g ühe looma lihaskoost, mis on puhastatud kõõlustest, kelmetest ja rasvast.

Koondproov on mitme looma proovidest (osaproovidest) koosnev proov, mida analüüsitakse kas 50 või 100 grammise proovina.

Koondproov koostatakse laboris vastavalt kaaskirjas märgitud tellimusele, võttes arvesse:

- ühe kaaskirjaga laborisse saabunud erinevate loomaliikide proovid uuritakse eraldi proovidenäidena;
- iga looma eelalihastest uuritakse vähemalt 10 grammi lihaskude, nt. 50-grammise koondproovina saab uurida kõige enam 5 looma proove;
- positiivse tulemuse korral tehakse täiendavad uuringud, et selgitada välja nakatunud loom;
- täiendavad uuringud on maksimaalselt 2-tasandilised – näiteks keeritsussivastsete leiu korral 10 looma koondproovist tehakse kaks 5-looma koondproovi analüüsi, positiivsest 5 looma koondproovist analüüsitakse 5 individuaalproovi.

Proovide pakkimine ja märgistus

- Proovid pakitakse lekkekindlalt
- Iga looma proovid pakitakse eraldi.
- Kui proov võetakse ka **keelelihastest**, pakitakse see kõigepealt eraldi ning alles seejärel võib muude sama looma proovidega kokku pakkida.
- **Märgistus proovipakendil** on üheselt mõistetav ja vastab kaaskirjas olevale märgistusele.
- Proovid jahutatakse 2-8°C. **NB! Vältida proovide külmumist!**
- Kui saadetud proovi kogus on ebapiisav, siis on laboril õigus proov tagasi lükata.
- **NB! Metssigadel ei ole mälurlihased EVS-EN ISO 18743:2015 järgi eelalihased.**

Kaaskiri

- Koos proovidega saadetakse laborisse loetavalt täidetud ja piisavalt infot sisaldav kaaskiri. Kaaskirja vormid on leitavad VTL-i kodulehel <https://www.vetlab.ee/et/loomatervis/tellimustevormid>
- Kui soovitakse mitme looma proove uurida koondproovi(de)na, märgitakse see kaaskirjale.
- Koondproovide tellimisel kinnitab proovide saatja, et ta on nõus positiivse tulemuse korral tasuma nakatunud looma identifitseerimisega seotud täiendavate uuringute maksumuse.
- Proovide saatja saab keelduda proovist üle jäänud materjali kasutamisest anonüümselt (isikuandmeteta) teadusuuringute eesmärgil.
- Proovide toomisel laborisse töövälisel ajal (võimalik ainult Tartu laboris) või kulleriga saatmisel märgitakse kaaskirjale kindlasti e-posti aadress, kuhu saadetakse arve (eraisikule teenuse osutamisel ettemaksuarve). Tulemuse väljastamise eelduseks on tasutud arve. Kui arve tasuja on **eraisik**, on vajalik märkida kaaskirjale maksja isikukood.

Proovide säilitamine ja laborisse saatmine

Proove hoitakse laborisse jõudmiseni +4...+6 °C juures. Proovid saadetakse laboratooriumisse esimesel võimalusel.

ANALÜÜSIDE TEOSTAMISE AEG

- Tehisseed meetod - 1-2 tööpäeva
Esmaspäevast neljapäevani enne kella 14:00 ja reedel enne kella 11:00 laborisse jõudnud proovid uuritakse võimalusel samal päeval.
- Leidude kinnitamine vastsete morfoloogia põhjal – 1-2 tööpäeva

Veterinaar- ja Toidulaboratoorium

- Referenttegevuse korras tehtavad molekulaaranalüüsid – kiireloomulisel vajadusel (1-5 tööpäeva) või kogutakse proove pikemaajaliselt. Aruandlusaasta proovid analüüsitakse hiljemalt järgneva aasta aprilliks.

ANALÜÜSIMEETODID

Tehisseede meetod

PCR: reaalaaja polümeraasi ahelreaktsioon

Sekveneerimine

TÄIENDAV INFO JA KONTAKTID

- Bakterioloogia-patoloogia osakond Tartus. Info telefonil 738 6120
- Tallinna Veterinaar- ja Toidulaboratoorium. Info telefonil 5305 2553
- Saaremaa Veterinaar- ja Toidulaboratoorium. Info telefonil 453 1495
- Toidumikrobioloogia osakonna Rakvere üksus. Info telefonil 322 7625
- Molekulaaranalüüsi osakond. Info telefonil 738 6121

Koostanud: Age Kärssin

Koostatud: 22.12.2020