

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND

GENOOMIKA INSTITUUT
EESTI GEENIVARAMU TEADUSKESKUS

Kassidega levivad zoonootilised siseparasiidid ning meetodid nende tuvastamiseks

Bakalaureusetöö

12 EAP

Ilona Kütt

Juhendajad: PhD Ants Tull

PhD Urmas Saarma

PhD Elin Org

TARTU 2024

INFOLEHT

Kassidega levivad zoonootilised siseparasiidid ning meetodid nende tuvastamiseks

Koduloomad, sealhulgas kassid, on olulised parasiitide levitajad. Suur osa kassi parasiitidest on zoonootilised, mis tähendab, et parasiidid kanduvad loomadelt inimestele ja põhjustavad olulisi terviseprobleeme, mis võivad lõppeda ka surmaga. Eriti ohustatud on immuunpuudulikkusega inimesed. Arvestades kasside suurt arvukust ja sagedasi vahetuid kontakte inimeste ja kasside vahel, on zoonootiliste parasiitide ülekandumise tõenäosus kassilt inimesele kõrge. Seetõttu on kassidel esinevate zoonootiliste parasiitide uuringud ja parasiitide korrektne tuvastamine tähtis. Käesoleva töö eesmärk on anda referatiivne ülevaade peamistest kassidega levivatest zoonootilistest siseparasiitidest ja nende tuvastamiseks kasutatavatest morfoloogilistest ja molekulaarsetest meetoditest ning võrrelda meetodeid omavahel.

Märksõnad: zoonootilised siseparasiidid, *Felis catus*, tuvastamine, meta-triipkoodistamine, metagenoomika

CERCS kood: B240 (Inimeste ja loomade) parasitoloogia

Zoonotic endoparasites in cats and methods for their identification

Domestic animals, including cats, are significant carriers of zoonotic endoparasites. Many feline parasites are zoonotic, meaning that pathogenic parasites can jump from animals to humans and cause serious health problems, including death. Immunocompromised people are especially at risk. Considering the high population of cats and the frequent contact between humans and cats, the likelihood of zoonotic parasite transmission from cats to humans is high. Therefore, it is crucial to study zoonotic parasites in cats and accurately identify them. The purpose of this study is to offer a comprehensive overview of the main zoonotic endoparasites transmitted by cats, the morphological and molecular methods used for their detection, and to compare the methods with each other.

Keywords: zoonotic endoparasites, *Felis catus*, identification, metabarcoding, metagenomics

CERCS code: B240 Parasitology (human and animal)

SISUKORD

INFOLEHT	2
SISUKORD.....	3
KASUTATUD LÜHENDID	4
SISSEJUHATUS.....	5
1. KASSIDE ZOONOOTILISED PARASIIDID	7
1.1. Algloomad	7
1.2. Ümarussid	10
1.3. Paelussid	14
1.4. Imiussid	17
2. PARASITOFAUNA UURIMISE MEETODID.....	21
2.1. Morfoloogilised meetodid	21
2.2. Molekulaarsed meetodid.....	22
2.2.1. Vanema põlvkonna molekulaarsed meetodid	22
2.2.2. Uuema põlvkonna molekulaarsed meetodid.....	24
3. ARUTELU	27
KOKKUVÕTE.....	30
SUMMARY.....	31
KIRJANDUSE LOETELU.....	32
KASUTATUD VEEBIAADRESSID.....	40
LIHTLITSENTS	41

KASUTATUD LÜHENDID

ELISA – ensüüm-immuunsorptsioonmeetod (ingl. k *enzyme-linked immunosorbent assay*)

FEC – munade arv fekaalproovis (ingl. k *faecal egg count*)

HTS – suure läbilaskevõimega sekveneerimine (ingl. k *high-throughput sequencing*)

IBS – soole ärritussündroom (ingl. k *irritable bowel syndrome*)

ITS2 – sisemine transkribeeritav speisser 2 (ingl. k *internal transcribed spacer 2*)

LAMP – silmusvahendatud isotermiline amplifikatsioon (ingl. k *loop-mediated isothermal amplification*)

NGS – järgmise põlvkonna sekveneerimine (ingl. k *next-generation sequencing*)

TGS – kolmanda põlvkonna sekveneerimine (ingl. k *third-generation sequencing*)

SISSEJUHATUS

Zoonoos ehk zoonootiline haigus on nakkushaigus, mis levib inimestele patogeeni kaudu ja võib kanduda loomalt (tavaliselt selgroogsetelt) inimesele ja vastupidi (Wikipedia, 2024). Kokku on teada > 1400 inimesele patogeenset liiki, kuhu kuuluvad viirused, bakterid, parasiidid ja seened (Taylor, 2001). Neist 61% on zoonootilised ja igal aastal nakatub 56 levinumasse zoonoosi umbes 2,5 miljardit inimest ning nakkuse tagajärjel sureb 2,7 miljonit inimest (Taylor, 2001; Gebreyes jt., 2014). Zoonooside levik on piirkonniti erinev, kuid mõned laialdaselt levinud zoonoosid on näiteks marutaud, salmonelloos, toksoplasmoos ja borrelioos. Erinevaid zoonooside ja nende levimisviise on oluline uurida, et saaks paremini kontrollida ja ennetada haigustekitajate levikut.

Koduloomadel, sealhulgas kassidel (*Felis catus*) ja koertel (*Canis familiaris*), on väga oluline roll zoonootiliste parasiitide levitamisel. Kassid võivad nakatuda paljude erinevate parasiitidega, kellest suur osa omavad inimese jaoks terviseriski. Üks oluline rühm zoonootilisi haigustekitajaid on endo- ehk siseparasiidid, kuhu kuuluvad algloomad (*Protozoa*), paelussid (*Cestoda*), ümarussid (*Nematoda*) ja imiussid (*Trematoda*). Nimetatud rühmad kuuluvad kasside parasitofaunasse ja nende esinemissagedus Euroopa kasside seas on vahemikus 20-40%, olles maapiirkondades levinum kui linnades (Beugnet jt., 2014; Tull jt., 2021). Tõvestavad parasiidid kanduvad nakatunud loomadelt tervetele joogivee, söögi või otsese kontakti kaudu ning kujutavad olulist ohtu nii loomadele kui ka inimestele.

Inimese nakatumine toimub kokkupuutel nakatunud loomaga või saastunud keskkonnaga, milles leidub parasiitide mune või tsüste. Kassid ja teised loomad saastavad oma väljaheidetega, mis sisaldavad parasiitide nakkusohtlikke noorvorme, nii avalikke kohti kui ka inimeste kodusid, suurendades sellega nakatumise riski (Overgaauw jt., 2009). Parasiidid kujutavad sagedamini ohtu immuunpuudulikkusega inimestele ja lastele (Al-Yousofi jt., 2022). Samas on avaldatud üha rohkem infot selle kohta, et parasiidid võivad olla ka kommensaalsed ning teraapilise toimega, mida on näidatud haiguste puhul nagu soole ärritussündroom (IBS), II tüüpi diabeet, Crohni tõbi ja artriit (Ianiro jt., 2022). Kasside parasitofauna põhjalikum uurimine on oluline, et aidata paremini mõista kassidega levivaid parasiite ning nende olulisust inimestele ja teistele loomadele. Vähesed inimesed on kursis zoonootiliste parasiitide ja nende

põhjustatud haigustega (Pereira jt., 2016). Saadud teadmised aitavad tõsta inimestes teadlikkust ning paremini kaitsta nii loomade kui ka inimeste tervist ja heaolu.

Töö valmis Tartu Ülikooli loodus- ja täppisteaduste valdkonna kahe instituudi akadeemiliste töötajate juhendamisel: ökoloogia ja maateaduste instituudi zoologia osakonna terioloogia õppetool (A. Tull ja U. Saarma) ning genoomika instituudi Eesti geenivaramu teaduskeskuse mikrobiomi töögrupp (E. Org). Bioloogia ja elustiku kaitse õppekava bakalaureusetöö põhieesmärk oli välja selgitada, millised on peamised kassidega levivad zoonootilised parasiidid ning analüüsida nende tuvastamiseks kasutatavate morfoloogiliste ja molekulaarsete meetodite tugevaid ja nõrku külgi.

1. KASSIDE ZOONOOTILISED PARASIIDID

1.1. Algloomad

Toxoplasma gondii

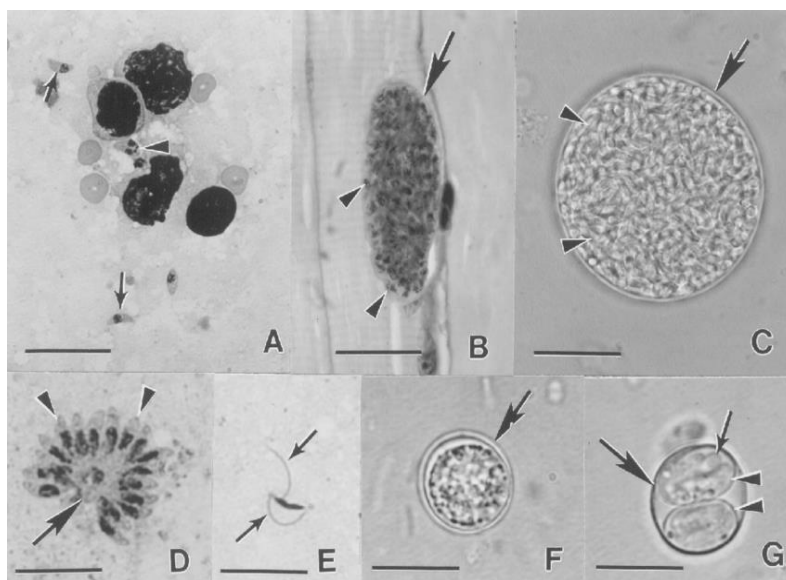
Ülemaailmse levikuga *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) on eosloomade hulka kuuluv tõvestav koktsiid, kes mõjutab kolmandikku inimkonnast ja paljusid imetajate ja linnuliike üle kogu maailma (Montoya ja Liesenfeld, 2004). Parasiit põhjustab toksoplasmoosi ja tema ainsad teadaolevad lõpp-peremehed on kaslased (*Felidae*), sealhulgas kodukass, kelles parasiit moodustab ootsüste, mis erituvad kassi väljaheidetega (Tenter jt., 2000). Ootsüstid on keskkonnas hästi vastupidavad ja levivad edasi vaheperemeestele või teistele kaslastele. Vaheperemehed, sealhulgas inimesed, võivad lisaks keskkonnas sporuleerunud ootsüstidega nakatuda ka tsüste sisaldavate liha ja siseorganite söömisel (Wolf jt., 1939; Järvis, 2011b).

Ootsüstid läbivad väliskeskkonnas sporogoonia, mille tulemusena moodustuvad sporuleerunud ootsüstid (Joonis 1). Need sisaldavad kahte sporotsüsti, igaüks neist omakorda nelja sporosoidi, mis on võimelised nakatama peremeest (Järvis, 2011b). Sporuleerunud ootsüstid on hästi vastupidavad keskkonnatingimustele ja võivad niiskes pinnases säilida nakkusvõimelisena 18 kuud (Tenter jt., 2000). Allaneelatud sporuleerunud ootsüstidest vabanevad sporosoidid, mis kinnituvad lõpp-peremehe peensoole limaskestas epiteelrakkudele, kus toimub skiso- ja gametogoonia. Moodustuvad uuesti ootsüstid, mis väljutatakse või satuvad seedekulgla välistesse elunditesse (Järvis, 2011b).

Sporuleerunud ootsüstidega nakatunud vaheperemeestel tungivad tsüstidest vabanenud sporosoidid veresoonte kaudu siseelundite rakkudesse, kus neist arenevad edasi tahhüsoidid ja bradüsoidid (Joonis 1). Tahhüsoidid ehk merosoidid moodustuvad kaksikpungumise teel ja mõjuvad peremeesrakkudele nekroosselt (Järvis, 2011b). Tahhüsoidid võivad kanduda silma, aju, südamesse, kopsu ja punalibledesse, kus nad moodustavad nekroosikoldeid, mis kahjustavad peremeesorganismi tervist (Montoya ja Liesenfeld, 2004; Järvis, 2011b). Vakuolisesed tahhüsoidide kogumikud on pseudotsüstid, millest edasi arenevad pikalt säilivad tsüstid. Tsüstid on ümbritsetud raku poolt moodustatud kestast ja sisaldavad endas tuhandeid bradüsoide, mis on võimelised säilima aastaid. Erinevalt pseudotsüstidest jätkub tsüstide areng vaheperemeesorganismis pärast nende allaneelamist (Järvis, 2011b).

Enamikul juhtudel kulgeb toksoplasmoosi nakkus subkliiniliselt, kuid nakatunud loomadel ja inimestel võivad esineda gripilaadsed sümptomid nagu palavik, köha, lihasvalud ja -värinad. Tiinetel loomadel ja rasedatel esineb nakatumise tagajärjel loote aborte, surnultsünde ja hälvetega järglasi (Järvis, 2011b; Zeinali jt., 2023). Kassidel võib esineda kõhnumist, kõhulahtisust, suurenenud lümfisõlmi ja halvimal juhul entsefaliiti (Järvis, 2011b). Kodukassidel esineb *T. gondii* vastaseid antikehi erinevas ulatuses, sõltuvalt nende vanusest, toitumisharjumustest ja sellest, kas kassid elavad siseruumides või käivad väljas (Must jt., 2015).

Ülemaailmne hinnanguline *T. gondii* seroprevalents kasside seas on keskmiselt 30–40%, olles kõrgem Euroopas, Austraalias ja Aafrikas (Montazeri jt., 2020). Käesoleva töö raames kasutatud mõiste seroprevalents on loomade või inimeste proportsioon uuritavas valimis, kellel esineb analüüsitavaid antikehi. Eesti kasside populatsioonis on see 61% (Must jt., 2015). Toksoplasmoosi esinemine inimpopulatsioonis varieerub piirkonniti. Hinnanguliselt on Ameerika Ühendriikides ja Ühendkuningriigis toksoplasmoosiga nakatunud 16–40% ning Mandri-Euroopas 50–80% (Hill ja Dubey, 2002). Põhinedes ELISA meetodil saadud tulemustele, on Eesti elanikkonnas *T. gondii* seroprevalents 56% (Lassen jt., 2016).



Joonis 1. *T. gondii* arengujärgud A) tahüsoidid, B) tsüst lihases, C) bradüsoididega tsüst, D) bradüsoididega skisont, E) isasgameet kahe viburiga, F) sporuleerumata ootsüst, G) sporuleerunud ootsüst. Mõõteskaala A)–D)=20 µm, E)–G)=10 µm (Hill ja Dubey, 2002).

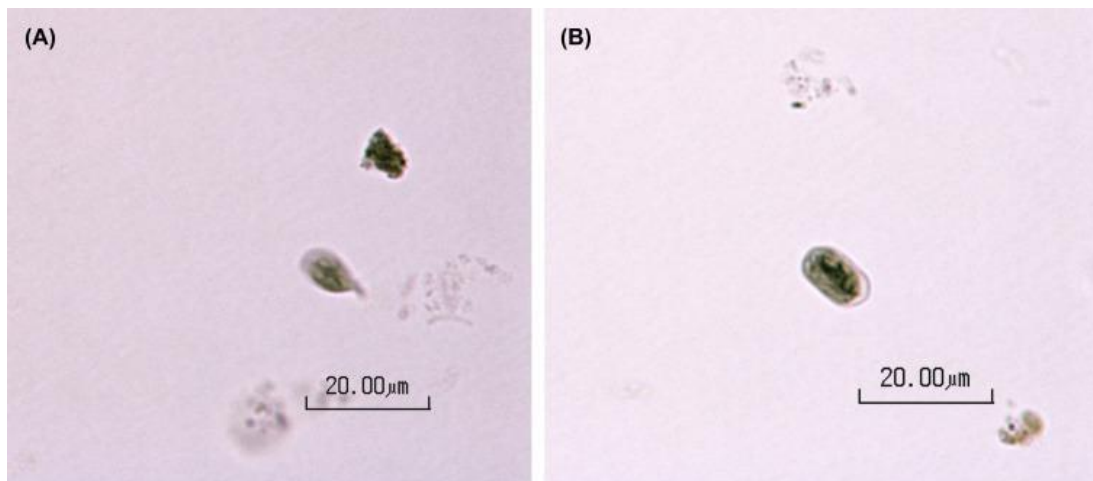
Giardia duodenalis

Algloom *Giardia duodenalis* (sün. *G. lamblia* või *G. intestinalis*) on giardioosi põhjustaja imetajatel, sealhulgas inimestel. Selle haiguse peamised sümptomid on krooniline kõhulahtisus, kõhuvalu ja toitainete imendumishäire soolest, kuid haigus võib kulgeda ka asümptomaatiliselt. Parasiidil on üheperemeheline arenemistsükkel, mis võimaldab tal edukalt paljuneda ja levida peremeeste vaheliselt (Järvis, 2011b).

Parasiidi *Giardia duodenalis* (*G. duodenalis*) kaks eluvormi on trofosoid ja tsüst (Joonis 2). Tsüstid on nelja tuumaga, 10–16 µm x 7–10 µm suured, kahekihilise seinaga, vastupidavad keskkonnamõjudele ja võimelised säilima 4 °C vees nakkusvõimelisena kuni kolm kuud (Järvis, 2011b; Adam, 2021). Tsüstide vastupidavus on peamine põhjus, miks *G. duodenalis* on laialdaselt levinud ja kergesti edasi kanduv fekaal-oraalsel teel. Nakatumine toimub saastunud vee või toidu kaudu, mis sisaldab *G. duodenalis* tsüste. Seejärel arenevad tsüstidest trofosoidid, mis kinnituvad peremehe epiteelrakkude mikrohattudele (Järvis, 2011b).

Trofosoidid on 11–19 µm x 7–10 µm suurused aktiivsed vegetatiivsed vormid, mis paljunevad pikipooldumise teel peremehe peensooles. Trofosoididel on kaks tuuma ja neli paari vibureid, mis võimaldavad neil liikuda ja paljuneda peremehe peensooles. Trofosoidid entsüsteeruvad peremehe niudesooles, tekivad uuesti nakkusvõimelised tsüstid, mis erituvad väljaheidete kaudu keskkonda ja on koheselt nakkusohtlikud (Järvis, 2011b).

Enamik giardioosi puhanguid on seotud saastunud joogivee tarbimisega ja mõjutab kogu maailmas umbes 280 miljonit inimest (Baldursson ja Karanis, 2011; Einarsson jt., 2016). Haiguste Ennetamise ja Tõrje Euroopa Keskuse (ECDC) andmetel oli Eestis laboratoorselt kinnitatud giardioosi juhtumite esinemissagedus aastatel 2007-2016 keskmiselt 18,3 juhtu 100 000 elaniku kohta aastas (ECDC, 2024). Kassidel on *G. duodenalis* infektsioonist teatatud 23 riigis, üldise levimusega 15%. Saksamaa kassidel on *G. duodenalis* molekulaarne esinemissagedus kõige kõrgem (73%), järgnevad Ameerika Ühendriigid (41%) ja Austraalia (21%) ning teistes riikides on see näitaja madalam (Sun jt., 2023). Eesti varjupaiga kassidel leiti *Giardia* sp. esinemissagedus 0,7% (Tull jt., 2021).



Joonis 2. A) *Giardia* sp. trofosoid, B) *Giardia* sp. tsüst. Mõlemad pildid on tehtud 600x suurendusega (Baker, 2019).

1.2. Ümarussid

Ancylostoma ceylanicum

Zoonootiline nematood *Ancylostoma ceylanicum* (*A. ceylanicum*) levib põhiliselt troopilistes ja subtroopilistes piirkondades ning madala sissetulekuga sotsiaal-majanduslikes riikides, kuid levib ka imporditud loomadega ja endeemilistest Aasia riikidest naasvate inimestega (Järvis, 2011d; Traub, 2013; Stracke 2020). Molekulaarsete uuringute põhjal on *Ancylostoma ceylanicum* teine kõige levinum ümarussi liik inimestel, mõjutades hinnanguliselt 100 miljonit inimest, eelkõige Kagu-Aasia riikides (Traub, 2013). *Ancylostoma* perekonna ümarusside tekitatud helmintoosid põhjustavad ankülostomoosi ja parasiteerivad peamiselt karnivooride peensooles, põhjustades peamise sümptomina aneemiat, kuna veretoidulistel ankülostoomidel on suure suukapsli lõikeplaatidel kolm teravatipulist „hammast”, millega imevad peensoole kapillaaridest verd (Järvis, 2011d; Traub, 2013).

Parasiidil on üheperemeheline arenemistsükkel, kus kassid, koerad ning inimesed on parasiidi lõpp-peremehed (Thompson, 2015). Peremeesorganismi roojaga väliskeskkonda sattunud munadest (Joonis 3) arenevad kiiresti vabalt liikuvad L1–L3 staadiumi vastsed, millest L3 ehk kolmandat korda kestunud vastsed on nakkusvõimelised invasioonivastsed. L3 vastsed arenevad optimaalsetel keskkonnatingimustel kahe kuni kaheksa päevaga ja on võimelised soojal temperatuuril ja niiskes liivases mullas ellu jääma kuni 4 nädalat (Yoshida jt., 1974;

Hotez jt., 2004; Järvis, 2011d). Kassid, koerad või inimesed nakatuvad L3 vastsetega suukaudselt või naha kaudu (Yoshida jt., 1974).

Suukaudse nakkuse korral tungivad invasioonivastsed soolestikku, kus toimub nende neljas kestumine (L4). Nakkuse 12. päevaks saavutab parasiit ebaküpse täiskasvanud ussi staadiumi, mis kinnitub soole seinale, põhjustades peremeesorganismil verekaotust (Schwarz jt., 2015). Nakkuse 17. päevaks saavutab *A. ceylanicum* küpse täiskasvanud ussi staadiumi ja hakkab väljutama mune, mis eritatakse peremehe väljaheidetega ning tsükkel jätkub (Schwarz jt., 2015) (Joonis 4). Nahakaudse nakkuse korral tungivad L3 vastsed läbi naha ja põhjustavad nahaalust *larva migrans* sündroomi, mis kahjustab nahka, kuid parasiit ei arene edasi ega sisene vereringesse (McConnaughey, 2007). Nematoodil esineb üheperemeheline elutsükkel ja säilitusperemehi leitud ei ole (Traub, 2013).

Kagu-Aasia koerte ja kasside seas on *A. ceylanicum* levinud parasiit. Nakatumismäär on Tais 53–92%, Malaisias 38–88% ja Laoses 69%. Indoneesias ja Sri Lankal on koduloomade nakatumismäär madalam (24–37%). Inimeste nakatumine *A. ceylanicum* parasiidiga on samuti enam dokumenteeritud Kagu-Aasias, hinnanguline nakatunute arv endeemilistes piirkondades on 6% kuni 23% (Traub, 2013). Parasiit esineb ka mujal maailmas, sealhulgas Austraalias ja Lääne-Aafrikas (Thompson, 2015). Eestis ei ole parasiidi leviku kohta teavet, mis võib olla tingitud sellest, et parasiidi levikut soodustavad tingimused, nagu soe temperatuur ja kõrge niiskus, ei ole Eestile omane. Lisaks on parasiidi morfoloogiline eristamine teistest ümarussidest keeruline, mis raskendab nende spetsiifilist tuvastamist.



Joonis 3. *Ancylostoma ceylanicum* muna 600x suurendusega (Lin jt., 2022).



Joonis 4. *Ancylostoma ceylanicum* 17. päeva küpse täiskasvanud ussi staadium. Mõõteskaala on 1 mm (Schwarz jt., 2015).

Toxocara cati

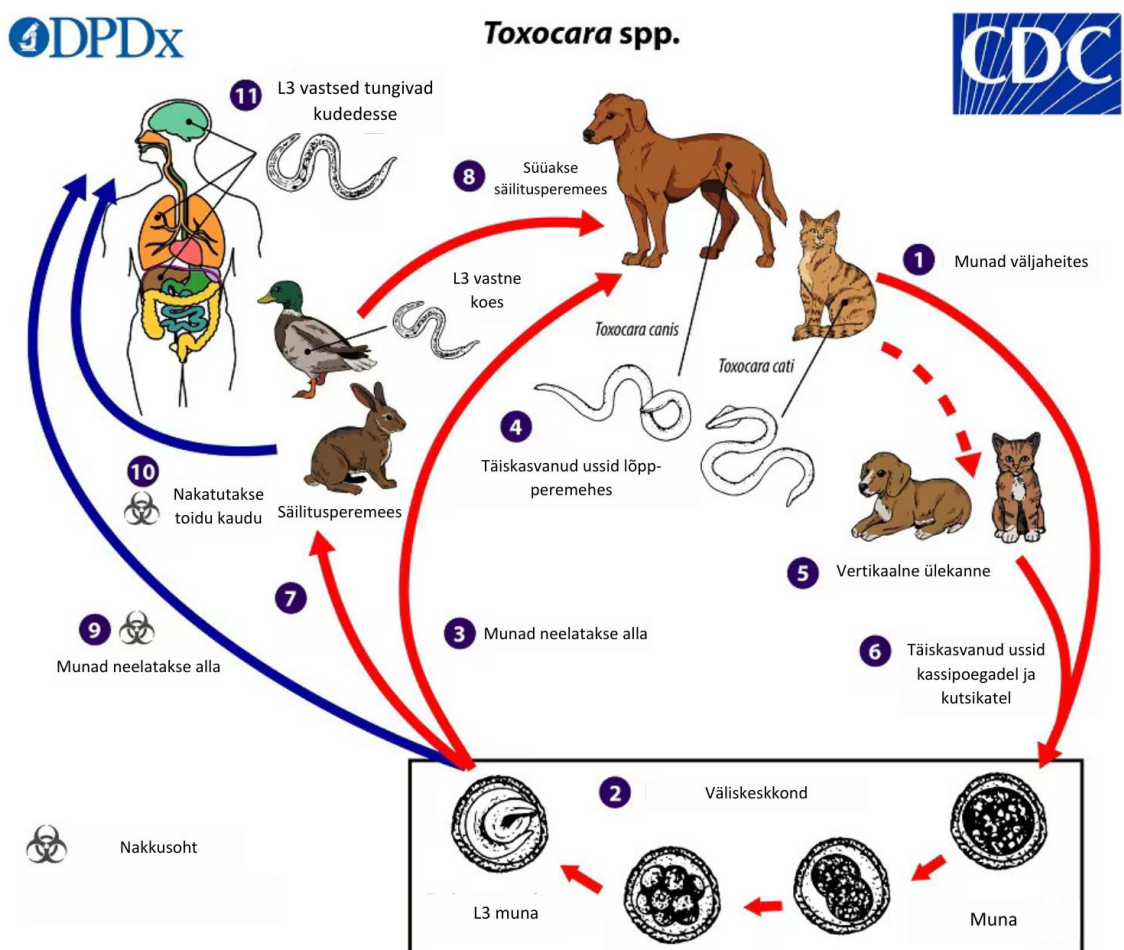
Kassisolge *Toxocara cati* (*T. cati*) kuulub solkmeliste (*Ascardida*) seltsi, *Toxocara* perekonda. *Toxocara* perekonnas on kirjeldatud 26 liiki, kuid ainult kaks neist, *T. canis* ja *T. cati*, on zoonootilised (Ziegler ja Macpherson, 2019). Rohkem on tähelepanu pööratud kutsikasolkmele (*T. canis*) kui kassisolkmele (*T. cati*), kuna on arvatud, et enamik toksokarioosiga nakatumisi pärineb kutsikasolkmelt. Samuti on kutsikasolget kergem diagnoosida, mistõttu võib *T. cati* oht inimestele olla alahinnatud (Maciag jt., 2022).

T. cati peamine lõpp-peremees on kass, kelle soolestikus arenevad parasiidi munad, mis erituvad looma väljaheidetega pinnasesse ja liiva (Maciag jt., 2022). Väliskeskkonda sattunud munadest arenevad 4 nädalaga nakkusvastset (L3), kes nakatavad lõpp-peremehi (kaslasi) ja säilitusperemehi (teisi imetajaid, linde ja vihmauslasi) (Järvis, 2011d; CDC, 2019) (Joonis 5). Kassisolkme *T. cati* täiskasvanud isased solkmed on 3-7 cm ja emased kuni 12 cm pikad (Järvis, 2011d). Kaslased nakatuvad parasiidiga nakatunud säilitusperemehi süües, laktogeense ülekande kaudu või munadega saastunud keskkonna kaudu (Fisher, 2003; Järvis, 2011d). Säilitusperemehed on parasiidi kaudse nakkuse edasikandjad. Nakkusohtliku muna allaneelamisel kooruvad sobivas säilitusperemehes munadest vastsed, kes tungivad peremehe sooleseina ning rändavad erinevatesse kudedesse, kus need entsüsteeruvad. Laktogeense nakkuse korral antakse vastsed edasi kogu laktatsiooniaja vältel, kus solkmed kanduvad kassipoegadele imetamisel. Tugeva laktogeense nakkuse korral kassipojad surevad 2.-3. nädalal või hiljem (Järvis, 2011d).

Erinevalt kutsikasolkmest ei toimu kassidel hepatopulmoeneraalset rännet ehk vastsed ei tungi veeniverrega maksa ja kopsudesse, vaid jäävad mõneks ajaks sooleseina ja soolevalendikku, kus tagasipöördunult saavutavad suguküpsuse (Järvis, 2011d). Vanematel koertel on oluline hepatomegalorbaalne ränne ehk *T. canis* vastsed tungivad kudedesse ja elunditesse, kus entsüsteeruvad ja säilitavad nakatusvõime kuudeks kuni aastateks (Järvis, 2011d; CDC, 2019). Eestis on kassidel ja koertel sagedased toksokarioosid, mis kulgevad sagedamini ja raskemini kuni kuue kuustel loomadel. Toksokarioos sümptomiteks on uimasus, seedehäired, kõhnumine ning isegi surm. Täiskasvanud on sagedased säilitusperemehed (Järvis, 2011d).

Inimene on parasiidi juhuslik peremees, kes nakatub nakkusohtliku muna allaneelamisel või nakatunud toore liha kaudu. Inimeses läbib vastne sooleseina ja kandub läbi vereringe erinevatesse kudedesse, kus põhjustab lokaalset kahju, kuid ei arene edasi (CDC, 2019). Kassisolkme munadega nakatunud loomadel ja inimestel võib parasiit põhjustada naha-, kopsu-, aju- ja silmakahjustusi (Järvis, 2011d).

Ülemaailmselt on toksokarioosi levimus kassidel umbes 17%, mis on hinnanguliselt 118–150 miljonit kassi (Rostami jt., 2020). Kõige kõrgem on nakatumine Aafrika riikides (43%), madalam Lõuna-Ameerika riikides (13%) ning Euroopas on see keskmiselt 18% (Rostami jt., 2020). Eesti varjupaiga kassidel tuvastati *Toxocara cati* munade esinemissagedus flotatsiooni meetodil 36% (Tull jt., 2021). Parasiidi munad võivad levida laste mänguväljakutele, aiamaadele ja teistesse inimeste poolt vaba aja veetmiseks kasutatavatele aladele ning seega ohustada ka inimest (Fisher, 2003). Eesti elanikel leiti *T. canis* antikehade seroprevalents keskmiselt 12% (Lassen jt., 2016). Hinnanguline globaalne *Toxocara* spp. seroprevalents on 19% (Rostami jt., 2019).



Joonis 5. *Toxocara* spp. elutsükkel (CDC, 2019).

1.3. Paelussid

Dipylidium caninum

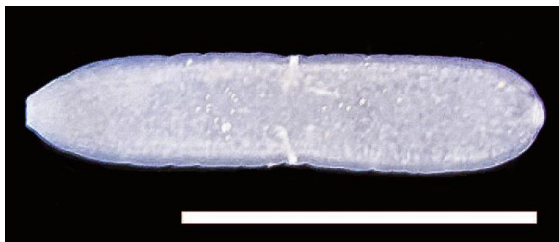
Koeraviik *Dipylidium caninum* (*D. caninum*) on üle maailma levinud paeluss, kes parasiteerib peamiselt karnivooride, sealhulgas koerte, kasside ja mõnikord inimeste peensooles ja põhjustab dipüldioosi (Järvis, 2011c). Parasiidil on kaheperemeheline arenemistsükkel, kus kirbud (*Ctenocephalides* spp., *Pulex irritans*) ning täid (*Trichodectes canis*, *Felicola subrostratus*) täidavad vaheperemehe rolli ja kassid ning koerad lõpp-peremehe rolli (Järvis, 2011c; Rousseau jt., 2022). Nakatumine toimub juhuslikult alla neelatud kirbu või täi muna kaudu, mis sisaldab tsüstitserkoide. Need satuvad kassi peensoolde, kinnituvad peensoole seinale ja arenevad 2-3 nädalaga täiskasvanuks paelussiks (Järvis, 2011c).

Kassid, kes on nakatunud helmintidega, eritavad väljaheidetega keskkonda parasiidi küpseid lüüsid (Joonis 6). Lüüsid on võimelised iseseisvalt liikuma ja saastavad ümbritsevat keskkonda munadega, mida kirbu või täi vastne allaneelab (Joonis 7). Nakatunud vaheperemehes, kas siis kirbus või täis, vabaneb parasiidi onkosfäär, kes tungib vaheperemehe rasvkehasse ja läbib 3-4 nädalaga metamorfoosi ning areneb tsüstiserkoidiks. Täiskasvanud kirbud ja täid satuvad karnivooride karvkattesse, kus toimub parasiidi viimane areng. Kui loom hammustab kirbu või täi hammastega puruks, siis satuvad tsüstitserkoidid tema sülgel ja need neelatakse alla (Järvis, 2011c).

Inimesed nakatuvad juhuslikult, kui nad neelavad alla lemmiklooma kirbu või täi, kes kannab paelussi tsüstitserkoidi ehk parasiidi vahepealset vormi. Kuigi *D. caninum* ei ole tavaliselt loomadele ega inimestele patogeenne, on nakatumise suhtes haavatavaks rühmaks lapsed ning immuunpuudulikkusega inimesed (Portokalidou jt., 2019). Sümptomite avaldumine on tihti mittespetsiifiline, esineb seedehäireid ja kaalulangust. Sageli esineb kaasinfektsioone teiste seedetrakti parasiitidega, mis võivad segada kliiniliste tunnuste põhjalikku mõistmist (Rousseau jt., 2022).

Kõrgem koeraviigi esinemissagedus on maapiirkondades (1,3–13,1%), võrreldes linnapiirkondadega (0,7–5,7%) (Rousseau jt., 2022). Eesti kassidel ja koertel leiti *D. caninum* esinemissagedus 3,4% (Talvik, 1995). Dipüldioos on inimestel harv, kuid selle esinemist on tuvastatud Euroopas, Filipiinidel, Hiinas, Jaapanis, Ladina-Ameerikas ja Ameerika

Ühendriikides, peamiselt laste seas, kellest kolmandik on alla kuue kuu vanused (Cabello jt., 2011).



Joonis 6. *Dipylidium caninum* lüli, mis sisaldab muna kogumikke. Mõõteskaala on 1 cm (Szwaja jt., 2011).



Joonis 7. *Dipylidium caninum* lüli, mis sisaldab 3 muna. Pilt on tehtud 200x suurendusega (Szwaja jt., 2011).

Echinococcus multilocularis

Alveokokk-paeluss (*E. multilocularis*) on ohtlik zoonootiline parasiit, kes põhjustab alveolaarset ehhinokokoosi, mis võib olla ravimata jätmise korral letaalne (Järvis, 2011c; Karamon jt., 2019) (Joonis 8). Parasiit levib põhjapoolkeral, kus esineb selle peamine lõpp-peremees punarebane (*Vulpes vulpes*), kelle maksas parasiit areneb täiskasvanuks ja eritab väljaheidete kaudu keskkonda parasiidi mune (Järvis, 2011c). Lisaks punarebasele on alveokokk-paelussil Euroopas veel kaheksa lõpp-peremeest, sealhulgas kährikud (*Nyctereutes procyonoides*), hundid (*Canis lupus*), šaakalid (*Canis aureus*), polaarrebased (*Vulpes lagopus*), metskassid (*Felis silvestris*), ilvesed (*Lynx lynx*) ning kassid ja koerad (Eckert jt., 2001; Oksanen jt., 2016). Euroopas on täheldatud ehhinokokoosi nakatumise suurenemist, mida võivad põhjustada mitmed tegurid nagu maastiku ja taimestiku muutus, kliimasoojenemine, sobivate vaheperemeeste olemasolu, rebaste urbaniseerumine ning isegi inimeste käitumuslike hoiakute muutumine rebaste suhtes (Davidson jt., 2012; Atkinson jt., 2013).

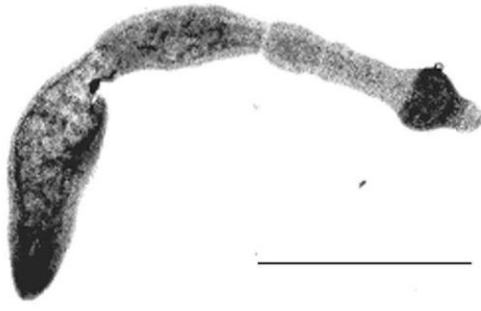
Kassidel on näriliste jahtimise tõttu kõrgem risk nakatuda alveokk-paelussiga kui koertel (Karamon jt., 2019). Hoolimata kõrgemast nakatumisriskist, ei pruugi kassid olla parasiidi levikus nii olulised kui teised lõpp-peremehed. Kassid eritavad parasiidi mune väiksemas koguses ja lühema aja jooksul (Kapel jt., 2006). Lisaks ei jõua parasiit kasside soolestikus sageli täisküpsuseni, mille tulemusena kõik erituvad parasiidi munad ei ole nakkusohtlikud (Kapel jt., 2006). See vähendab kasside olulisust haiguse levikus. Isegi kui kassid ei ole parasiidi peamised

levitajad, võivad koduloomadega lähedases kontaktis olevad inimesed olla ikkagi nakatumise ohus.

Inimesed on parasiidi tupikperemehed, kellele on parasiidi munad nakkusohtlikud. Nakatumine võib toimuda lõpp-peremeeste kaudu või saastunud vee, pinnase ja toidu kaudu (Järvis, 2011c). Peamine vaheperemehe roll on närilistel, kellest olulisemad on ondatra (*Ondatra zibethicus*) ja harilik leethiir (*Myodes glareolus*) (Oksanen jt., 2016). Ehhinokokoos põhjustab tõsiseid haigusnähte parasiidi vaheperemeestel, lõpp-peremees kannab parasiiti tihti subkliiniliselt (Järvis, 2011c).

Pärast munade sattumist vaheperemehe peensoolde, kooruvad neist vastsed, kes sisenevad vereringesse ning liiguvad siseelunditesse. Alveokokk-paelussi larvotsüst areneb peamiselt maksas 1-1,5 kuu jooksul kuni 3 cm läbimõõduga hallikasvalgete poolläbilaskvate põiekeste kobaraks, mis sisaldab nakkusvõimelisi protoskoolekseid. Need parasiidi kobarakad võivad põhjustada maksa- ja kopsutalituse häireid ja surma. Haigustunnuste avaldumine sõltub larvotsüstide koormast. Karnivoorsed lõpp-peremehed nakatuvad invadeerunud vaheperemehi süües ja eritavad mune keskkonda, kus need võivad püsida nakkusvõimelistena ületalve (Järvis, 2011c).

Rebastel on leitud alveokokk-paelussi 21 Euroopa riigis. Kõrge levimusega, üle 10% nakatunud rebastest, on täheldatud kümnes riigis: Tšehhis, Eestis, Prantsusmaal, Saksamaal, Leedus, Lätis, Poolas, Slovakkias, Liechtensteinis ja Šveitsis (Oksanen jt., 2016). Üha enam leidub paelussi ka linnapiirkondades, mis ohustab koduloome ja inimesi. Kõrge endeemsusega piirkonnas Poolas esines paelussi 6% kassidel ja 1,5% koertel (Karamon jt., 2019). Prantsusmaal on qPCR abil leitud *E. multilocularis* positiivseid kasse 7-9%, mis viitab koduloomade olulisusele parasiidi elutsükliks (Knapp jt., 2016; Poulle jt., 2017). Suuremahuline, üle 10 000 proovi hõlmanud, uuring Saksamaal kasutas mittemolekulaarseid meetodeid ja leidis, et alveokokk-paelussi munadega on nakatunud keskmiselt 0,2% kassidest ja 0,23% koertest (Dyachenko jt., 2008). Eestis ei ole *E. multilocularis* nakkust kassidel uuritud, kuid Eesti elanikkonnas leiti *Echinococcus* spp. seroprevalents 3,3%, mis oli laste seas kõrgem (Lassen jt., 2016).



Joonis 8. *Echinococcus multilocularis* täiskasvanud uss. Mõõteskaala on 0,5 mm (Wikipedia, 2020).

1.4. Imiussid

Opisthorhis felineus

Kassi-tagaraiglane (*O. felineus*) on imiuss, kelle lõpp-peremehed, sealhulgas kassid ja inimesed, nakatuvad toore kala söömisel, mis sisaldab metatserkaare (Järvis, 2011c) (Joonis 9). Euroopas ja Aasias, eriti Lääne-Siberis, on see üks tõsisemaid trematood nakkusi. Imiuss parasiteerib lõpp-peremehe maksa sapikäikudes ja põhjustab opistorhoosi (Järvis, 2011c; Fedorova jt., 2020). Maksaparasiidil on keerukas kolme-peremeheline arenemistsükkel, mis hõlmab lõpp-peremeest (karnivoorseid metsloomi, inimesi, kasse, koeri), vaheperemeest (*Bithyniidae* fam. mageveetigu) ja lisaperemeest (*Cyprinidae* fam. karpkalalisi) (Järvis, 2011c; Simakova jt., 2020).

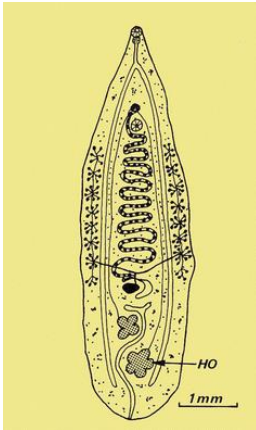
Teadu on 15 erinevat metslooma liiki, keda *O. felineus* kasutab lõpp-peremehena, kellest olulisemad on rebased ja ondatrad (Yurlova jt., 2017; Simakova jt., 2020). Lisaks metsloomadele on maksaparasidi levikus olulised ka koduloomad, eriti kassid. Nakatunud kala söömise tagajärjel arenevad lõpp-peremehes parasiidi suguküpsed vormid 20 kuni 25 päeva jooksul ning satuvad väljaheidete kaudu keskkonda, näiteks mageveekogudesse (Simakova jt., 2020; Ponomareva jt., 2024). Munad püsivad veekogudes elujõulisena 15 kuud ja võivad sattuda *Bithyniidae* perekonna teo soolestikku, kus järgneb parasiidi esimene arengujärk munast tserkaariks, mis kestab 2-2,5 kuud (Simakova jt., 2020) (Joonis 10). Mageveekogudes elavad *Bithyniidae* sugukonna teod nagu *Bithynia leachi* ja *Bithynia troschelii* (Simakova jt., 2020; Ponomareva jt., 2024).

Teo soolestikus eraldub munast miratsiidid, mis läbib metamorfoosi ja areneb sporotsüstideks. Edasi paljunevad ja arenevad reediad, mis rändavad teo maksa, kus need paljunevad partenogeneetiliselt ja moodustuvad liikuvateks tserkaarideks (Järvis, 2011c; Simakova jt., 2020). 24 tunni jooksul võib ühest teost lahkuda kuni 3500 tserkaariat, mis on võimelised ujuma 30–50 tundi. Tserkaarid levivad aastaringselt, kuid on sagedasemad suve keskpaigal (Simakova jt., 2020). Kliimasoojenemine võib kaasa tuua nakatumisrisi suurenemise, sest pikem soojaperiood soodustab parasiidi arengutsükli (Ponomareva jt., 2024).

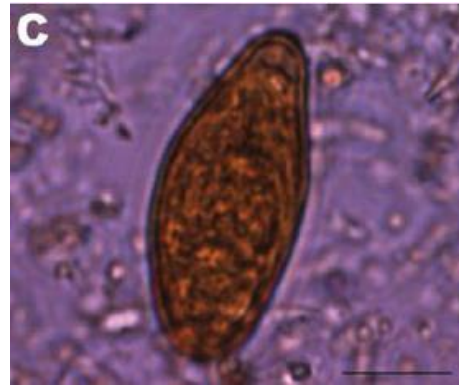
Vabanenud tserkaarid tungivad läbi naha kala lihas- ja sidekoesse, kus entsüsteeruvad ja saavutavad 3–6 nädalaga nakkusvõimelise metatserkaari vormi (Järvis, 2011c; Simakova jt., 2020). Metatserkaarid on 0,23–0,38 mm × 0,18–0,28 mm suurused, hästi vastupidavad, säilides kalades 1–3 aastat. Kassi-tagaraiglase olulised lisaperemehe on säinas, teib ja särg, kuid ka teised karplaste liigid on nakatumisele vastuvõtlikud (Yurlova jt., 2017; Simakova jt., 2020).

Nakkusohtlikud metatserkaarid hävivad kala kuumutamisel (üle 70 °C) ja külmutamisel (5 päeva temperatuuril -10 °C või 3 tundi temperatuuril -28 °C) (Järvis, 2011c). Siiski ohustab *O. felineus* 12,5 miljonit inimest Kasahstanis, Venemaal ja Ukrainas, kus on levinud toore, nõrgalt suitsutatud või soolatud kala tarbimise traditsioon. Tomski oblastis leiti *O. felineuse* nakkuse levimus 60,2% (Fedorova jt., 2020). Hantõ-Mansiiski piirkonnas on parasiidi üldine levimus kassidel 48,2% ja koertel 17,14% (Yurlova jt., 2017; Simakova jt., 2020). Eestis haigustekitaja epidemioloogilist tähtsust ei oma, kuna vaheperemeheks olev tigu (*Bithynia leachi*) ei ole meie veekogudes sagedane. Eestile lähim haiguspiirkond on Nemunase jõgikond Leedus (Kasesalu, 2000).

Kerge opistorhoosi korral kliinilised sümptomid puuduvad. Intensiivsel nakkuse tagajärjel võivad tekkida ikerus, peavalu, kõhulahtisus, oksendamine, kõhnumine ja maksa ning sapieede infektsioonid (Järvis, 2011c). Krooniline opistorhoosi infektsioon võib põhjustada maksafibroosi, mis on võimalik kolangiokartsinoomi põhjustaja (Konver jt., 2019; Fedorova jt., 2020). Kassi-tagaraiglane ja teised trematoodid nagu *Opisthorchis viverrini* ja *Clonorchis sinensis* mõjutavad peremehe soolestiku mikrobiootat (Sokolova jt., 2021; Pakharukova jt., 2023).



Joonis 9. *Opisthorhis felineus* täiskasvanud uss (Mehlhorn, 2016).



Joonis 10. *Opisthorhis felineus* muna. Mõõteskaala on 10 μ m (Armignacco jt., 2009).

Paragonimus kellicotti

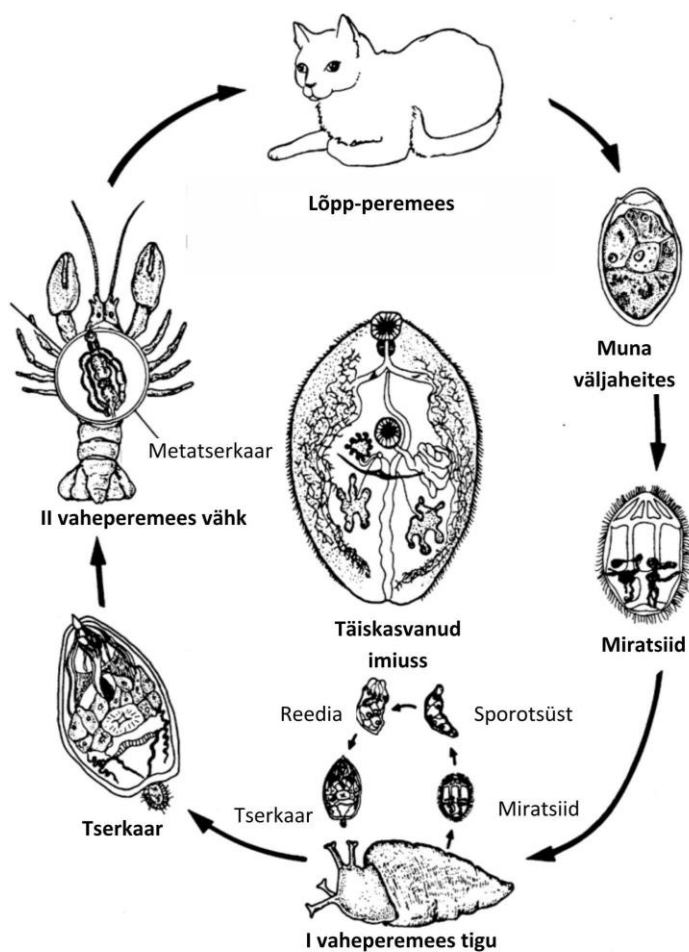
Loomadel ja inimestel parasiteeriv imiuss *Paragonimus kellicotti* (*P. kellicotti*) põhjustab paragonimoosi, ning tema elutsükkel on tihedalt seotud magevee ökosüsteemidega (Joonis 11). Parasiidi peamine lõpp-peremees on naarits (*Mustela lutreola*), kuid nakatuda võivad ka teised karnivoorid (Järvis, 2011c; Dubey, 2023). Inimesed ja kassid on parasiidi lõpp-peremehed. Nakatumine toimub invadeerunud vähkide söömisel. Imiussil on kolme-peremeheline arenemistükk, kaks vaheperemeest ja üks lõpp-peremees. Vaheperemehena kasutab parasiit mageveetigusid (fam. *Hydrobiidae* ja *Pleuroceridae*) ja vähke (*Orconectes* gen. sp.) (Dubey, 2023).

Tigu on paragoonimuse esimene vaheperemees, kus miratsiid areneb umbes kolme kuuga tserkaariks. Järgmisena tungib teost lahkunud tserkaar vähi südamesse, kus ta entsüsteerub metatserkaarina ja saavutab nakkusvõime umbes kahe kuuga. Metatserkaarid säilivad eluvõimelisena umbes aasta, seega võivad kassid ja teised loomad nakatuda aastaringselt (Järvis, 2011c). Lisaks naaritsale on *P. kellicotti* lõpp-peremehed veel teised kärplased (*Mustelidae*), kass, koer, koiott (*Canis latrans*), punarebane, punailves (*Lynx rufus*), pesukaru (*Procyon lotor*), vöötskunk (*Mephitis mephitis*) ja inimesed (Dubey, 2023).

Pärast invadeerunud vähi allaneelamist kanduvad metatserkaarid lõpp-peremehe peensoolest vahelihase kopsudesse, kus parasiit areneb täiskasvanud ussiks. Suurem osa imiussi küpsemisest toimub kopsudes ja kestab umbes 4 nädalat. Lõpp-peremehe kopsuparenhüümis esinevad tsüstid sisaldavad tihti kahte paragoonimust, kes munevad

päevas 1000-2000 muna (Dubey jt., 1978a). Edasi kanduvad *P. kellicotti* munad peremehe hingamisteedesse, kus need köhitakse kurku ja neelatakse alla. Kui munad satuvad vette, arenevad need kahe-kolme nädalaga miratsiidiks ja tsükkel jätkub (Järvis, 2011c).

Paragonimus on levinud Põhja-Ameerikas, Lõuna-Ameerikas ja Lõuna-Aafrikas, kus vaheperemehed looduslikult esinevad (Järvis, 2011c). Hoolimata geograafilistest erinevustest oli Ohios ja Missouris ligikaudu 60% vähkidest nakatunud *P. kellicotti* metatserkaariatega, keskmiselt 2–3 parasiiti vähi kohta (Stromberg jt., 1978; Fischer jt., 2011). Nakatunud lõppperemehed võivad parasiiti kanda asümptomaatiliselt või paragonimoosile iseloomulike sümptomitega nagu köha, oksendamine, kehakaalu langus ja rasketel juhtudel pneumotooraks (Järvis, 2011c; Dubey, 2023).



Joonis 11. *Paragonimus kellicotti* elutsükkel kassidel (Dubey jt., 1978a).

2. PARASITOFFAUNA UURIMISE MEETODID

2.1. Morfoloogilised meetodid

Veterinaarparasitoloogias kasutatakse parasiitide uurimiseks peamiselt koproproove, lisaks ka lihase-, naha-, vere- ja lümfiproove ning eritisi. Optilise mikroskoopia abil saab proovidest tuvastada parasiitide mune ja tsüste. Sõltuvalt eesmärgist, kasutatakse erinevaid mikroskoopilisi meetodeid, nagu natiivpreparaadi meetod, settimis- ja flotatsioonimeetod, koprokultuurid ja väljarändemeetod (Järvis, 2011a). Morfoloogilised meetodid, eriti flotatsioonimeetod, on endiselt väga populaarsed ja moodustavad suure osa praegustest uuringutest parasiitide tuvastamisel (Bonilla-Aldana jt., 2024).

Flotatsioonimeetodi põhimõte seisneb uuritava proovi segamisel vedelikuga, mille erikaal on helmindimunade ja koktsiidide ootsüstide erikaalust suurem. Segu tsentrifuugimisel kogunevad parasiidimunad ja -tsüstid vedeliku pindkilesse, mille leidumist ja liiki saab mikroskoobi abil hinnata. Flotatsioonivedeliku tihedus peab olema piisavalt suur, et munad jääksid vedeliku piirpinnale, kuid mitte liiga suur, et see tooks pinnale palju fekaalseid tahkeid aineid, mis segavad analüüsi. Tavaliselt kasutatakse parasiidimunade tuvastamiseks vedelikku tihedusega 1,18–1,40 g/cm³. Viimane etapp on preparaadi ettevalmistamine ja munade loendamine mikroskoobi abil (Järvis, 2011a).

Karnivooride parasitofauna uurimiseks on flotatsioonimeetod tõhus viis parasiitide munade ja tsüstide tuvastamiseks koproproovis. Sageli uuritakse sel meetodil paelussi ja ümarussi mune, koktsiidide ootsüste ning *Giardia* tsüste. *Giardia* trofosoidide tuvastamine koproproovist on tsüstide tuvastamisest keerulisem, sest trofosoidid on tundlikumad keskkonna muutustele ja võivad kiiresti laguneda. Ka imiussimune on võimalik flotatsioonimeetodil tuvastada, kuid nende efektiivne eraldamine sõltub kasutatava flotatsioonivedeliku tihedusest. Kui proovis on vähe parasiitide tsüste ja mune, siis ei pruugi flotatsioonivedelik neid hästi eraldada (Järvis, 2011a).

Flotatsioonimeetodil on mitmeid erinevaid tehnikaid, millest levinum on McMasteri meetod, mida esmakordselt kirjeldati 1930. aastatel (Gordon ja Whitlock, 1939), ja mida kasutatakse siiani parasiidi munade ja tsüstide arvu määramiseks proovis (FEC). McMasteri meetodil põhinevad näiteks FECPAK ja Mini-FLOTAC (Boelow jt, 2022).

Morfoloogiliste ja koproloogiliste meetodite hea külg on nende laialdane kasutus ja kättesaadavus, kuid munade morfoloogia põhjal parasiidi liigi määramisel ja nakkuse intensiivsuse hindamisel võib ette tulla vigu, mis sõltuvad diagnostiku oskustest ja teadmistest. Munade loendamise täpsus ei ole kunagi 100%, mis tähendab, et loendusprotsessis jääb alati mõni hulk mune tuvastamata (Noel jt., 2017). Mõnede liikide munad on morfoloogiliselt väga sarnased ning liigi tasemel tuvastamine võib olla raske. Probleemiks on samuti vähese parasiitide arvuga proovi madal eraldusvõime ja munade lagunemine (Järvis, 2011a).

2.2. Molekulaarsed meetodid

2.2.1. Vanema põlvkonna molekulaarsed meetodid

Molekulaarsetel meetoditel on mitmed eeliseid morfoloogiliste meetodite ees. Molekulaarsed meetodid on tundlikumad ja spetsiifilisemad kui morfoloogilised ning võimaldavad parasiite tuvastada isegi nende madala arvu korral (Järvis, 2011a). Molekulaarseid meetodeid kasutatakse parasiitide identifitseerimiseks, haiguste diagnoosimiseks ja epidemioloogilistes uuringutes (Järvis, 2011a; Pritt, 2015). Kõrge tundlikkusega meetodid aitavad parasiite tuvastada ka asümptomaatiliste infektsioonide korral. Lisaks võimaldavad molekulaarsed meetodid eristada morfoloogiliselt sarnaseid organisme (Pritt, 2015).

Üks kõige sagedamini kasutatavaid molekulaarseid meetodeid parasiitide identifitseerimiseks on polümeraasi ahelreaktsioon (PCR). PCR on meetod, mida kasutatakse peamiselt ühe kindla märklaud-DNA paljundamiseks. Märklaud-DNA on analüüsiv DNA, mis kuulub uuritavale parasiidile ja peab olema piisavalt spetsiifiline. PCR jaoks on oluline, et uuritavas järjestuses oleks konserveerunud piirkondi, kuhu disainitakse praimerid, mille vahele jäävat ala hakatakse üles paljundama, et aru saada, mis organismiga on tegu (Järvis, 2011a).

PCR põhineb kolmel etapil — kaheaheelalise DNA muutmine üheaheelaliseks, praimerite seondumine ja DNA süntees. Etappe korratakse termotsükleri abil 20-40 korda, et paljundada piisav arv DNA molekule. Selline liigispetsiifilise piirkonna üles paljundamine võimaldab teha 1 koopiast miljoneid koopiaid. Parasiidi tuvastamiseks piisab 10 pikogrammist DNA-st ehk PCR võimaldab paljundada väga vähest algmaterjali. Kuna PCR paljundab ainult ühte kindlat soovitud DNA järjestust, mille jaoks on praimerid loodud, siis ei anna need informatsiooni teiste proovis esineda võivate parasiitide kohta (Järvis, 2011a; Shahzad jt., 2020).

Lisaks molekulaarsetele meetodikatele kasutatakse ka immunoloogilisi analüüse, millest levinum on ELISA (ingl. k *enzyme-linked immunosorbent assay*) ehk ensüümseotud immuunsorptsioonmeetod. ELISA on seroloogiline meetod, mida kasutatakse helmintidele spetsiifiliste antigeenide või antikehade tuvastamiseks, mille esinemine seerumis tõendab parasiidi olemasolu organismis (Järvis, 2011a). Protsess algab mikrotiiterplaadi, tüüpiliselt 96-auguga plaadi, ettevalmistamisega, kus iga augu põhi kaetakse uuritava seerumiga, milles olevad antikehad seonduvad tugevalt plaadi seina külge. Lisatakse märgistatud antigeen, mis seonduv antikehaga spetsiifiliselt. Kõik mitteseondunud antigeenid ja valgud pestakse välja ning tekkinud komplekside hulka saab kindlaks teha värvuse intensiivsuse mõõtmisega tiiterplaadi aukudest (Ali jt., 2023).

ELISA on näidanud kõrget tundlikkust (kuni 100%) lameuss *Fasciola hepatica* ja *Opisthorchis felineus* vastaste antikehade tuvastamisel, kus traditsioonilised kopro-mikroskoopilised meetodid olid 4 korda vähem tundlikumad (Gómez-Morales jt., 2013; Ali jt., 2023). ELISA abil saab diagnoosida varajases staadiumis infektsiooni, mis aitab varem alustada haige raviga ja paremini ennetada haiguse levikut (Ali jt., 2023). Siiski on ELISA meetodi puudus anda ristreaktiivseid antikeha vastuseid, mis võib viia ekslike diagnoosideni. Proovis leiduvad soolad, proteaasid, teised antikehad ja orgaanilised ühendid võivad takistada õige antigeeni tuvastamist ja põhjustada vale-negatiivseid tulemusi (Ubeira jt., 2009). Madala spetsiifilisuse tõttu ei sobi ELISA meetodit kasutada epidemioloogilistes uuringutes ainukese meetodina. Lõuna-Koreas, kus inimesed puutuvad pidevalt kokku parasiidi *C. siensis*'ega, andis ELISA meetod kõrge tundlikkuse (80%), kuid madala spetsiifilisuse (33,3%) (Kim jt., 2010). Võrreldes traditsiooniliste kopro-mikroskoopiliste meetoditega on ELISA meetod kulukam, nõuab spetsiifilisi reaktiive ja kallimaid laboriseadmeid.

2.2.2. Uuema põlvkonna molekulaarsed meetodid

Uuema põlvkonna molekulaarsed meetodid parasiitide tuvastamiseks on näiteks PCR-põhised kvantifitseerimismeetodid (qPCR, multiplex-PCR), LAMP (ingl. k *loop-mediated isothermal amplification*) ja suure läbilaskevõimega sekveneerimise meetodid (meta-triipkoodistamine, metagenoomika). Koduloomade seedetrakti nematoodide identifitseerimiseks on kvantitatiivne polümeraasi ahelreaktsioon (qPCR) laialt kasutatud meetod. qPCR on spetsiifiline, tundlik ja kiire, mille põhimõtte seisneb igale amplifitseeritud DNA produktile fluorestsentsmärgise lisamisega, mis võimaldab tsükli jooksul loodud koopiade arvu reaajas kvantifitseerida ning tulemusi kuvada standardkõveral (von Samson-Himmelstjerna jt., 2002). Kõrge tundlikkus on oluline näiteks bilhartsioosi tuvastamiseks madala infektsiooniga loomadel, kus qPCR võimaldas tuvastada rohkem positiivseid parasiitnakkusi kui koproloogilised meetodid (He jt., 2018). Meetod vajab liigspetsiifiliste praimerite disainimist, mis võib olla keerukas (Nisa jt., 2022). Samuti võivad qPCR kasutamiseks vajaminevad seadmed ja reaktiivid olla kallid.

Multiplex-PCR on samuti kiire meetod, mis võimaldab korraga amplifitseerida mitut DNA lõiku, kasutades mitut praimerit ühes reaktsioonis (Ullah jt., 2020). Korraga rohkem kui ühe liigi tuvastamine muudab meetodi kulutõhusaks ning aitab parasiitide omavahelisi seoseid analüüsida. Näiteks suudetakse multiplex-PCR-ga koproproovist korraga eristada helminte *N. americanus*, *A. lumbricoides* ja *T. trichiura* (Phuphisut jt., 2014). Multiplex-PCR-i saab spetsiifilisemaks ja tundlikumaks muuta fluorestseeruvate värvainete kasutamisel. Meetod vajab reagentide kontsentratsiooni optimeerimist, õiget DNA kokkusulandumise temperatuuri ja praimerite valimist, et ei amplifitseeruks mitte-spetsiifilised sihtmärgid (Nisa jt., 2022).

Lisaks PCR-põhiste meetoditele on helmintide ja algloomade tuvastamiseks kasutust leidnud LAMP. LAMP eelis on vähem vajaminevat laborivarustust ja võimalus kasutada spetsiifilist praimerite komplekti püsival temperatuuril nukleiinhapete järjestuste amplifitseerimiseks. Meetod on kiire, spetsiifiline ning tundlik ja võimaldab tuvastada genoomset DNA-d väga madalatel kontsentratsioonidel. Nematoodide tuvastamine LAMP-iga on 100 korda tundlikum kui tavapärase PCR (Peng jt., 2017). LAMP on efektiivne ka asümptomaatiliste infektsioonide

tuvastamiseks (Ullah jt., 2020). Kasside koproproovidest tuvastati algloomana *Tritrichomonas foetus* positiivseid proove LAMP meetodil rohkem kui qPCR meetodil (Dąbrowska jt. 2022).

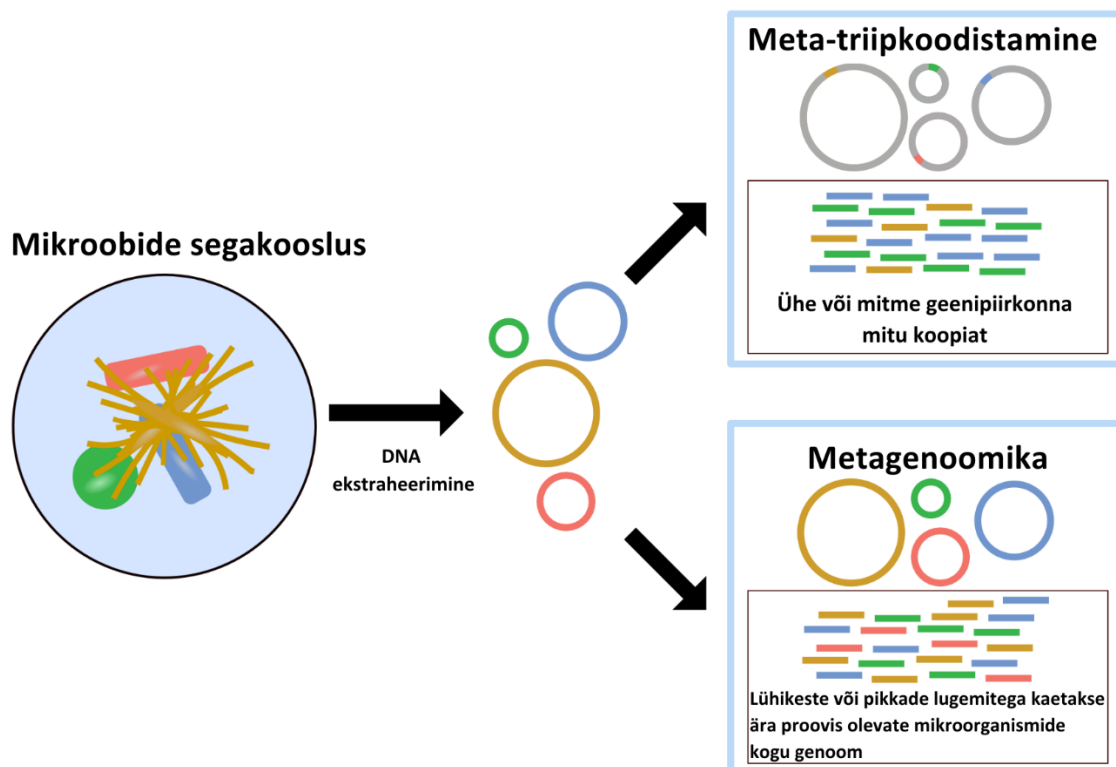
Suure läbilaskevõimega sekveneerimine (HTS, ingl. k *high-throughput sequencing*) on viimase 20 aasta jooksul kiiresti arenenud, mis on muutnud tehnoloogia, nii järgmise põlvkonna sekveneerimistehnoloogia (NGS, ingl. k *next-generation sequencing*) kui ka nn. kolmanda põlvkonna sekveneerimistehnoloogia (TGS, ingl. k *third-generation sequencing*), aja jooksul odavamaks, kättesaadavamaks ja leidnud aina rohkem rakendust ka parasitoloogias. Suure läbilaskevõimega sekveneerimise eelis on võimalus paralleelselt järjestada tuhandeid kuni miljoneid DNA järjestusi, võimaldades ühe eksperimendiga analüüsida palju proove (Sengupta jt., 2022). HTS tehnoloogia abil saab uurida koproproovis leiduvat mikroorganismide kooslust näiteks meta-triipkoodistamise või metagenoomika meetodil (Joonis 12).

Meta-triipkoodistamine kasutab suure läbilaskevõimega amplikonide sekveneerimist, mis sihib spetsiifiliste praimerite abil ühte või mitut välja valitud geenipiirkonda (Grossart jt., 2020). Parasiitide sekveneerimisel on markerina kasutatud näiteks ribosomaalse DNA 18S subühiku geenide piirkondi (18S rDNA) või ITS2-e (ingl. k *internal transcribed spacer 2*) ning samuti mitokondri genoomi markereid tsütokroomoksüdaas 1-e (CO1) või tsütokroom B-d (cytB) (Davey jt., 2021). Parima taksonoomilise eristamise annab pikemate lugemitega järjestuse analüüs. Meta-triipkoodistamine on andnud 3-9% suurema mulla nematoodide mitmekesisuse kui mikroskoopia (Kawanobe jt., 2021). Meetodi edukus sõltub õigete praimerite valimisest, amplikonide raamatukogu ettevalmistamisest ja kõrge läbilaskevõimega DNA järjestamisest (Bruce jt., 2021). Mida laiem on sihtrühm, seda suurem on tõenäosus, et triipkoodi jaoks kavandatud praimerid ei amplifitseeri kõiki proovis leiduvaid sihtrühma taksonid (Papaiakovou jt., 2022). Tõeliselt universaalseid primereid, mille abil saaks amplifitseerida ja tuvastada kõiki parasiite, ei ole veel tuvastatud.

Mikroorganismide kogu genoomi analüüsil ehk metagenoomisel sekveneerimisel saadakse suur hulk lühikesi (150-300 bp pikkusi) või pikki (nt 25 000 bp pikkusi) järjestusi, mis omavahel assambleeritakse, ning millele otsitakse taksonoomiline vaste olemasolevatest andmebaasidest. *Shotgun* metagenoomi analüüsil saadakse lühikesed lugemid, mida võib saada oluliselt vähem võrreldes teiste soolestiku mikroorganismidelt saadud järjestustega (Papaiakovou jt., 2022). Puuduse lahendamiseks tuleks kasutada sügavamat sekveneerimist

või pikemaid lugemeid, et organismidel paremini vahet teha. Praegu saadaval nn. kolmanda põlvkonna sekveneerimisega (TGS) saab teha pikemaid (nt 25 000 bp) lugemeid. Pikemad lugemid annavad võimaluse paremini määrata taksonoomilist kuuluvust, täis-genoomi kokku assambleerida ja nii uusi liike tuvastada. Metagenoomika eelis geneetiliselt kirjeldada kogu soolestiku mikroobikooslust ja nende interaktsioone teiste patogeenidega või peremeesorganismiga, kuid puuduseks on sekveneerimise andmemaht ja analüüsi keerukus (Papaiakovou jt., 2022).

Nii metagenoomika kui meta-triipkoodistamise meetodil on oluline osa andmete bioinformaatilisel ja statistilisel analüüsil, mis on keeruline ja aeganõudev. Taksonoomia määramisel on oluline referentsandmebaaside olemasolu. Loodud on avalikke andmebaase, nagu näiteks *WormBase ParaSite* (WBPS), mis sisaldab 274 helminti genoomi (WBPS19, 2024), kuid referentsgenoomi andmebaaside täiustamine võimaldab oluliselt tõsta liikide tuvastamist. Metagenoomika ja meta-triipkoodistamine ei anna infot iga liigi esindajate absoluutsele arvukusele proovis ja ei näita parasiidi elujõulisust (Davey jt., 2021).



Joonis 12. Meta-triipkoodistamise ja metagenoomika erinevus (Astrobiomike, 2024).

3. ARUTELU

Selles töös kirjeldatakse kassidega levivadi zoonootilisi siseparasiite, kelle hulgas on rohkem ja vähem patogeensemaid parasiite, kes võivad kanduda loomadelt inimestele ja vastupidi. Kassi parasitofaunasse kuuluvad siseparasiidid nagu ümarussid, paelussid, imiussid ja algloomad, kelle regulaarne seire on oluline, et osata tõhusamalt piirata tõvestavate parasiitide levikut ja vähendada patogeenide põhjustatud kahju. Mõned töös kirjeldatud inimestele ohtlikud kasside parasiidid on algloom *Toxoplasma gondii*, ümaruss *Toxocara cati*, imiuss *Opisthorhis felineus* ja paeluss *Echinococcus multilocularis*. Töö autor analüüsis parasitofauna uurimise molekulaarsete ja morfoloogiliste meetodite tugevaid ja nõrku külgi, mille kokkuvõtte on toodud Tabelis 1.

Molekulaarsed meetodid on enamasti spetsiifilisemad ja tundlikumad kui morfoloogilised. Kõrge tundlikkusega molekulaarsed meetodid aitavad infektsiooni tuvastada ka madala parasiitide arvukuse korral, mis on oluline haiguse algfaasis või kerge infektsiooni korral. Kõrge spetsiifilisusega molekulaarsed meetodid võimaldavad identifitseerida morfoloogilise analüüsi käigus tuvastamata jäänud parasiite. Näiteks on mikroskoobi all keeruline eristada *E. multilocularis* mune teistest sarnastest paelussimunadest, mida PCR võimaldab spetsiifiliselt tuvastada (Karamon jt., 2019). Uuemate molekulaarsete meetoditega saab efektiivsemalt kirjeldada parasiitide kooslust.

Autori arvates on suure läbilaskevõimega sekveneerimisel hea perspektiiv tulevikus oluliselt mõjutada parasitoloogilisi uuringuid. Seni on HTS tehnoloogia abil uuritud väheste liikide soolestiku parasiidi kooslust. Enam on uuritud mõningate koduloomade ja metsloomade nemabioomi, kuid kogu parasitoomi taksonoomilise kuuluvuse määramist ei ole veel tehtud. Paljude parasiitide genoomid ei ole veel andmebaasides saadaval, kuid suure läbilaskevõimega sekveneerimine võimaldab liike põhjalikumalt uurida, tuvastada uusi liike ning kirjeldada parasiitide interaktsioone teiste mikroorganismidega või peremeesorganismiga. Uudsed meetodid võimaldavad efektiivsemat tuvastamist ja paremat arusaamist parasiitide funktsioonist peremehes ning dünaamikat teiste liikidega.

Kokkuvõttes järeldus, et nii molekulaarsetel kui morfoloogilistel meetoditel on omad eelised ja piirangud. Autori arvates täiendavad mõlemad meetodid teineteist ning meetodi(te) valik

sõltub uurimisküsimusest ja võimalustest. Globaliseerivas maailmas on oluline uurida parasiite, sealhulgas kasside zoonootilisi parasiite, et kaitsta rahvastiku tervist, loomade heaolu ja keskkonda.

Tabel 1. Parasitofauna uurimise morfoloogiliste ja molekulaarsete meetodite võrdlus

Meetod	Kirjeldus	Eelised	Piirangud
McMaster	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Munade ja tsüstide kvantifitseerimiseks ➤ Morfoloogia kirjeldamiseks 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lihtne ➤ Kättesaadav, ei vaja kallist varustust ➤ Võimaldab määrata parasiidi arengujärku 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Raske eristada üksteisega sarnaseid parasiidi mune teineteisest, nt <i>Taenia</i> spp. ➤ Sõltub diagnostiku oskustest ➤ Keskkonnamuutustele tundlikud parasiidid lagunevad kiiresti ja jäävad tuvastamata ➤ Madal tundlikkus väikese parasiidikoormuse korral
PCR	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Huvipakkuva DNA järjestuse amplifitseerimiseks ➤ Võimaldab eristada morfoloogiliselt sarnaseid organisme 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tundlikum ja spetsiifilisem kui morfoloogiline tuvastus ➤ Tulemused saab sageli kiiresti kätte ja ei nõua eriti kallist aparatuuri 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ei anna infot parasiitide kohta, kelle jaoks praimerid ei loodud ➤ Praimerite disainimine võib olla keeruline ja aeganõudev
ELISA	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Spetsiifiliste, parasiitidele omaste, antigeenide või antikehade tuvastamiseks 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Spetsiifilisem kui morfoloogiline tuvastamine ➤ Tuvastab varajases staadiumis infektsiooni 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Võib tekkida ristreaktiivsus teiste liikidega ➤ Orgaanilised ühendid proovis võivad takistada antigeeni tuvastamist ➤ Kallid seadmed ja kulukad reaktiivid ➤ Ei ole piisavalt tundlik heade epidemioloogiliste uuringute jaoks
qPCR	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Analoogiline tavalise PCR-ga, kuid sünteesitud DNA hulk kvantifitseeritakse geeni koopiaarvuna ➤ Kvantifitseerimiseks kasutatakse fluorestseeruvaid värvaineid 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tundlik ja spetsiifiline ➤ Reaalajaline kvantifitseerimine ➤ Võimalus samaaegselt analüüsida mitmeid proove 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Vajadus liigspetsiifiliste praimerite järgi ➤ Seadmed ja reaktiivid võivad olla kallid
Multiplex-PCR	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mitme praimeri abil erinevate DNA järjestuste samamaegne amplifitseerimine 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tundlik ja spetsiifiline ➤ Saab korraga tuvastada rohkem kui ühe liigi 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Vajadus meetodit optimeerida, mis võib olla keeruline ja ajakulukas

LAMP	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nukleiinhapete amplifikatsioon, mis kasutab spetsiaalseid ensüüme ja praimereid, et amplifitseerida DNA-d konstantsel temperatuuril 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kiire ➤ Tundlik ja spetsiifiline ➤ Lihtne, ei vaja termotsüklerit ➤ Tuvastab varajase/ kerge infektsiooni 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Praimerite komplekti disainimine võib olla keerukas
Meta-triipkoodistamine	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Suure läbilaskevõimega amplikonide sekveneerimine, mis sihib praimerite abil ühte või mitut geenipiirkonda 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Suure läbilaskevõimega mikrobikoosluse tuvastamine ➤ Tundlik ja spetsiifiline ➤ Aja ja kulutõhus 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ei anna infot iga liigi esindajate absoluutsele arvukusele ➤ Ei näita parasiidi elujõulisust ➤ Ei ole leitud universaalseid markereid, mis sihiksid kõiki siseparasiite ➤ Kõik proovis leiduvad taksonid ei pruugi amplifitseerida ➤ Aeganõudev bioinformaatiline ja statistiline analüüs
Metagenoomika	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Suure läbilaskevõimega sekveneerimine, mis järjestab kogu proovis leiduva geneetilise informatsiooni lühikeste või pikkade lugemitena 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Võimaldab kirjeldada tervet soolestiku mikrobikooslust ➤ Võimaldab kirjeldada patogeenide interaktsiooni permeesorganismiga ja teiste mikroorganismidega ➤ Tundlik ja spetsiifiline 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ei anna infot iga liigi esindajate absoluutsele arvukusele ➤ Ei näita parasiidi elujõulisust ➤ Keeruline ja aeganõudev bioinformaatika ja statistiline analüüs

KOKKUVÕTE

Käesoleva töö eesmärk oli välja selgitada, millised on peamised kassidega levivad zoonootilised parasiidid ning analüüsida nende tuvastamiseks kasutatavate morfoloogiliste ja molekulaarsete meetodite tugevaid ja nõrku külgi. Mõned töös kirjeldatud kassidega levivad siseparasiidid olid *Toxoplasma gondii*, *Toxocara cati*, *Opisthorhis felinus*, *Echinococcus multilocularis* ja *Dipylidium caninum*. Need ja paljud teised on kasside ja inimeste ühised nakkushaiguste tekitajad, keda on võimalik nii morfoloogilisel või molekulaarsel meetodil tuvastada.

Parasiitide uurimisobjektiks on enamasti koproproovid, mis sisaldavad parasiitide mune või tsüste, mis on parasiitide üks levikuteid. Kasside parasitofaunasse kuuluvad siseparasiite on võimalik mikroskoobi abil morfoloogiliselt identifitseerida ja loendada või nende nukleiinhapete järjestusi molekulaarselt tuvastada. Morfoloogilistest meetoditest analüüsiti põhjalikumalt flotatsioonimeetodit ning molekulaarsetest meetoditest qPCR-i, multiplex-PCR-i, LAMP-i, meta-triipkoodistamist ja metagenoomikat. Samuti analüüsiti seroloogilistes uuringutes kasutatavat ELISA meetodit.

Morfoloogilised meetodid täiendavad molekulaarseid, kuid töös leiti, et meta-triipkoodistamisel ja metagenoomikal on suur eelis spetsiifiliselt sekveneerida mikroorganismide kooslust. Suure läbilaskevõimega sekveneerimine võimaldab lühikeste või pikkade lugemitega katta ära proovis olevate mikroorganismide kogu genoom või vähemalt suure osa sellest. Uudsed meetodid võimaldavad avastada parasiitide kohta uusi teadmisi, mis võiksid olla olulised ohtlike patogeenide leviku kontrollimiseks.

SUMMARY

Zoonotic endoparasites in cats and methods for their identification

Ilona Kütt

Parasites are among the least researched groups of pathogens, yet they have a profound impact on humans, domestic animals, and wildlife. Zoonotic endoparasites are transmitted between animals and humans, leading to zoonotic diseases (zoonoses) that can cause symptoms such as fatigue, weakness, fever, gastrointestinal problems, muscle pain, and occasionally respiratory distress or death. This study described several feline endoparasites, including *Toxoplasma gondii*, *Toxocara cati*, *Opisthorchis felinus*, *Echinococcus multilocularis*, and *Dipylidium caninum*. These parasites are prevalent in both cats and humans and can be identified through morphological or molecular methods. Research on endoparasites predominantly involves the analysis of coprological samples, which contain parasite eggs or cysts. These larval stages can be characterized by morphology and quantified using microscopy. Samples must be concentrated before microscopic examination, commonly using the McMaster method, which relies on flotation. This method is long-established, widely used, and accessible.

The aim of this study was to describe the zoonotic parasites spread by cats, as well as to analyze and compare morphological and molecular methods for their identification. Both methods complement each other, however it was suggested that high-throughput sequencing technologies, such as metabarcoding and metagenomics, is a more efficient approach for large-scale analysis of feline parasites. Metagenomic sequencing aims to amplify all the accessible DNA of a mixed community while metabarcoding sequences marker-genes (e.g. 18S, ITS2) and uses specific primers that target a specific gene or gene fragment. Large volumes of DNA/RNA sequences enhance our understanding of parasite-host dynamics and helps to discover new insights about parasites, crucial for the prevention and treatment of dangerous diseases.

KIRJANDUSE LOETELU

- Adam, R. D. (2021). *Giardia duodenalis*: Biology and Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 34, e00024-19.
- Ali, B. A., Ali, K. N., Marif, H. F., Ali, O. J., & Mustafa, S. A. (2023). Elisa assays versus coprological detection of *Fasciola hepatica* in horses in Sulaimani Province North Iraq. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 69, 132–144.
- Al-Yousofi, A., Yan, Y., Al_Mekhlafi, A. M., Hezam, K., Abouelnazar, F. A., Al-Rateb, B., Almamary, H., & Abdulwase, R. (2022). Prevalence of Intestinal Parasites among Immunocompromised Patients, Children, and Adults in Sana'a, Yemen. *Journal of Tropical Medicine*, 2022, e5976640.
- Armignacco, O., Caterini, L., Marucci, G., Ferri, F., Bernardini, G., Raponi, G., Ludovisi, A., Bossù, T., Gómez-Morales, M., & Pozio, E. (2009). Human Illnesses Caused by *Opisthorchis felineus* Flukes, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, 14, 1902–1905.
- Atkinson, J.-A. M., Gray, D. J., Clements, A. C. A., Barnes, T. S., McManus, D. P., & Yang, Y. R. (2013). Environmental changes impacting *Echinococcus* transmission: Research to support predictive surveillance and control. *Global Change Biology*, 19, 677–688.
- Baker, D. G. (2019). Chapter 17—Parasitic Diseases. In R. Marini, L. Wachtman, S. Tardif, K. Mansfield, & J. Fox (Eds.), *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* (pp. 289–303). Academic Press.
- Baldursson, S., & Karanis, P. (2011). Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. *Water Research*, 45, 6603–6614.
- Beugnet, F., Bourdeau, P., Chalvet-Monfray, K., ... Rinaldi, L. (2014). Parasites of domestic owned cats in Europe: Co-infestations and risk factors. *Parasites & Vectors*, 7, 291.
- Boelow, H., Krücken, J., Thomas, E., Mirams, G., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2022). Comparison of FECPAKG2, a modified Mini-FLOTAC technique and combined sedimentation and flotation for the coproscopic examination of helminth eggs in horses. *Parasites & Vectors*, 15, 166.
- Bonilla-Aldana, J. L., Espinosa-Nuñez, A. C., Bonilla-Aldana, D. K., & Rodríguez-Morales, A. J. (2024). *Toxocara cati* Infection in Cats (*Felis catus*): A Systematic Review and Meta-Analysis. *Animals*, 14, Article 7.

- Bruce, K., Blackman, R., Bourlat, S. J., ... Deiner, K. (2021). A practical guide to DNA-based methods for biodiversity assessment. *Advanced Books*, 1, e68634.
- Cabello, R. R., Ruiz, A. C., Feregrino, R. R., Romero, L. C., Feregrino, R. R., & Zavala, J. T. (2011). *Dipylidium caninum* infection. *Case Reports*, 2011, bcr0720114510.
- Dąbrowska, J., Karamon, J., Kochanowski, M., Sroka, J., Zdybel, J., & Cencek, T. (2022). Comparison Study of Four Extraction Methods Combined with PCR and LAMP for Feline *Tritrichomonas foetus* Detection in Fecal Samples. *Pathogens*, 11, Article 5.
- Davey, M. L., Utaaker, K. S., & Fossøy, F. (2021). Characterizing parasitic nematode faunas in faeces and soil using DNA metabarcoding. *Parasites & Vectors*, 14, 422.
- Davidson, R. K., Romig, T., Jenkins, E., Tryland, M., & Robertson, L. J. (2012). The impact of globalisation on the distribution of *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology*, 28, 239–247.
- Dubey, J. P. (2023). Endemic *Paragonimus kellicotti* infections in animals and humans in USA and Canada: Review and personal perspective. *Food and Waterborne Parasitology*, 30, e00184.
- Dubey, J. P., Stromberg, P. C., Toussant, M. J., Hoover, E. A., & Pechman, R. D. (1978). Induced paragonimiasis in cats: Clinical signs and diagnosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 173, 734–742.
- Dyachenko, V., Pantchev, N., Gawlowska, S., Vrhovec, M. G., & Bauer, C. (2008). *Echinococcus multilocularis* infections in domestic dogs and cats from Germany and other European countries. *Veterinary Parasitology*, 157, 244–253.
- Einarsson, E., Ma'ayeh, S., & Svärd, S. G. (2016). An up-date on *Giardia* and giardiasis. *Current Opinion in Microbiology*, 34, 47–52.
- Fedorova, O. S., Fedotova, M. M., Zvonareva, O. I., ... Odermatt, P. (2020). *Opisthorchis felinus* infection, risks, and morbidity in rural Western Siberia, Russian Federation. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14, e0008421.
- Fischer, P. U., Curtis, K. C., Marcos, L. A., & Weil, G. J. (2011). Molecular Characterization of the North American Lung Fluke *Paragonimus kellicotti* in Missouri and its Development in Mongolian Gerbils. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84, 1005–1011.
- Fisher, M. (2003). *Toxocara cati*: An underestimated zoonotic agent. *Trends in Parasitology*, 19, 167–170.

- Gebreyes, W. A., Dupouy-Camet, J., Newport, M. J., ... King, L. J. (2014) The Global One Health Paradigm: Challenges and Opportunities for Tackling Infectious Diseases at the Human, Animal, and Environment Interface in Low-Resource Settings. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8, e3257.
- Gómez-Morales, M. A., Ludovisi, A., Amati, M., & Pozio, E. (2013). Validation of an Excretory/Secretory Antigen Based-Elisa for the Diagnosis of *Opisthorchis felineus* Infection in Humans from Low Trematode Endemic Areas. *PLoS ONE*, 8, e62267.
- Gordon, H. M. I., & Whitlock, H. V. (1939). A New Technique for Counting Nematode Eggs in Sheep Faeces. *J. Coun. Sci. Industr. Res, Aust.*, 12, 50–52.
- Grossart, H., Massana, R., McMahon, K. D., & Walsh, D. A. (2020). Linking metagenomics to aquatic microbial ecology and biogeochemical cycles. *Limnology and Oceanography*, 65.
- He, P., Gordon, C. A., Williams, G. M., Li, Y., Wang, Y., Hu, J., Gray, D. J., Ross, A. G., Harn, D., & McManus, D. P. (2018). Real-time PCR diagnosis of *Schistosoma japonicum* in low transmission areas of China. *Infectious Diseases of Poverty*, 07, 25–35.
- Hill, D., & Dubey, J. P. (2002). *Toxoplasma gondii*: Transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infection*, 8, 634–640.
- Hotez Peter J., Brooker Simon, Bethony Jeffrey M., Bottazzi Maria Elena, Loukas Alex, & Xiao Shuhua. (2004). Hookworm Infection. *New England Journal of Medicine*, 351, 799–807.
- Ianiro, G., Iorio, A., Porcari, S., Masucci, L., Sanguinetti, M., Perno, C. F., Gasbarrini, A., Putignani, L., & Cammarota, G. (2022). How the gut parasitome affects human health. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 15, 17562848221091524.
- Järvis, T., 2011a. Veterinaarparasitoloogia 2: diagnoosimine ja tõrje. Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Järvis, T., 2011b. Veterinaarparasitoloogia 3: algloomtõved. Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Järvis, T., 2011c. Veterinaarparasitoloogia 4: lameusstõved. Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Järvis, T., 2011d. Veterinaarparasitoloogia 5: ümarusstõved, kidakärssusstõved, kaanid, keelussid. Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Järvis, T., 2011e. Veterinaarparasitoloogia 6: lest- ja putuktõved. Tartu Ülikooli Kirjastus.

- Kapel, C. M. O., Torgerson, P. R., Thompson, R. C. A., & Deplazes, P. (2006). Reproductive potential of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes, dogs, raccoon dogs and cats. *International Journal for Parasitology*, *36*, 79–86.
- Karamon, J., Sroka, J., Dąbrowska, J., Bilska-Zajac, E., Zdybel, J., Kochanowski, M., Różycki, M., & Cencek, T. (2019). First report of *Echinococcus multilocularis* in cats in Poland: A monitoring study in cats and dogs from a rural area and animal shelter in a highly endemic region. *Parasites & Vectors*, *12*, 313.
- Kawanobe, M., Toyota, K., & Ritz, K. (2021). Development and application of a DNA metabarcoding method for comprehensive analysis of soil nematode communities. *Applied Soil Ecology*, *166*, 103974.
- Kim, Y. J., Lee, S. M., Choi, G. E., Hwang, S. H., Kim, H. H., Lee, E. Y., & Chang, C. L. (2010). Performance of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Clonorchis sinensis* infestation in high- and low-risk groups. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*, 2365–2367.
- Knapp, J., Combes, B., Umhang, G., Aknouche, S., & Millon, L. (2016). Could the domestic cat play a significant role in the transmission of *Echinococcus multilocularis*? A study based on qPCR analysis of cat feces in a rural area in France. *Parasite*, *23*, 42.
- Lassen, B., Janson, M., Viltrop, A., Neare, K., Hütt, P., Golovljova, I., Tummeleht, L., & Jokelainen, P. (2016). Serological Evidence of Exposure to Globally Relevant Zoonotic Parasites in the Estonian Population. *PLOS ONE*, *11*, e0164142.
- Lin, X.-H., Cai, H.-M., Yan, Z.-Q., Liao, S.-Q., Lv, M.-N., Wu, C.-Y., Li, J., Hu, J.-J., Xiao, W.-W., Zhang, J.-F., Qi, N.-S., & Sun, M.-F. (2022). *Ancylostoma ceylanicum* Infection in a Miniature Schnauzer Dog Breed. *Acta Parasitologica*, *67*, 1416–1420.
- Maciag, L., Morgan, E. R., & Holland, C. (2022). *Toxocara*: time to let *cati* ‘out of the bag’. *Trends in Parasitology*, *38*, 280–289.
- McConnaughey, M. (2007). Life Cycle of Parasites. In S. J. Enna & D. B. Bylund (Eds.), *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (pp. 1–15). Elsevier.
- Mehlhorn, H. (2016). *Opisthorchis felineus* (syn. *Tenuicollis*). In H. Mehlhorn (Ed.), *Encyclopedia of Parasitology* (pp. 1–4). Springer.
- Montazeri, M., Mikaeili Galeh, T., Moosazadeh, M., Sarvi, S., Dodangeh, S., Javidnia, J., Sharif, M., & Daryani, A. (2020). The global serological prevalence of *Toxoplasma gondii* in felids during the last five decades (1967–2017): A systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, *13*, 82.

- Montoya, J. G., & Liesenfeld, O. (2004). Toxoplasmosis. *The Lancet*, *363*, 1965–1976.
- Must, K., Lassen, B., & Jokelainen, P. (2015). Seroprevalence of and Risk Factors for *Toxoplasma gondii* Infection in Cats in Estonia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *15*, 597–601.
- Nisa, R. U., Tantray, A. Y., & Shah, A. A. (2022). Shift from morphological to recent advanced molecular approaches for the identification of nematodes. *Genomics*, *114*, 110295.
- Noel, M. L., Scare, J. A., Bellaw, J. L., & Nielsen, M. K. (2017). Accuracy and Precision of Mini-FLOTAC and McMaster Techniques for Determining Equine Strongyle Egg Counts. *Journal of Equine Veterinary Science*, *48*, 182-187.e1.
- Oksanen, A., Siles-Lucas, M., Karamon, J., ... Casulli, A. (2016). The geographical distribution and prevalence of *Echinococcus multilocularis* in animals in the European Union and adjacent countries: A systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, *9*, 519.
- Overgaauw, P. A. M., van Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F. O., Roelfsema, J., Pinelli, E., van Knapen, F., & Kortbeek, L. M. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, *163*, 115–122.
- Pakharukova, M. Y., Lishai, E. A., Zaparina, O., Baginskaya, N. V., Hong, S.-J., Sripa, B., & Mordvinov, V. A. (2023). *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis felineus* liver flukes affect mammalian host microbiome in a species-specific manner. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *17*, e0011111.
- Papaïakovou, M., Littlewood, D. T. J., Doyle, S. R., Gasser, R. B., & Cantacessi, C. (2022). Worms and bugs of the gut: The search for diagnostic signatures using barcoding, and metagenomics–metabolomics. *Parasites & Vectors*, *15*, 118.
- Peng, H., Long, H., Huang, W., Liu, J., Cui, J., Kong, L., Hu, X., Gu, J., & Peng, D. (2017). Rapid, simple and direct detection of *Meloidogyne hapla* from infected root galls using loop-mediated isothermal amplification combined with FTA technology. *Scientific Reports*, *7*, 44853.
- Pereira, A., Martins, Â., Brancal, H., ... Maia, C. (2016). Parasitic zoonoses associated with dogs and cats: A survey of Portuguese pet owners' awareness and deworming practices. *Parasites & Vectors*, *9*, 245.
- Phuphisut, O., Yoonuan, T., Sanguankiat, S., Chaisiri, K., Maipanich, W., Pubampen, S., Komalamisra, C., & Adisakwattana, P. (2014). Triplex polymerase chain reaction assay

- for detection of major soil-transmitted helminths, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus*, in fecal samples. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 45, 267–275.
- Ponomareva, N. M., Orlova, T. V., Vlasenko, P. G., Serbina, E. A., & Yurlova, N. I. (2024). Temperature dependence of *Opisthorchis felineus* infection in the first intermediate host snail, *Bithynia troschelii*. *Acta Tropica*, 253, 107166.
- Portokalidou, S., Gkentzi, D., Stamouli, V., Varvarigou, A., Marangos, M., Spiliopoulou, I., & Dimitriou, G. (2019). *Dipylidium caninum* Infection in Children: Clinical Presentation and Therapeutic Challenges. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 38, e157.
- Pouille, M.-L., Bastien, M., Richard, Y., Josse-Dupuis, É., Aubert, D., Villena, I., & Knapp, J. (2017). Detection of *Echinococcus multilocularis* and other foodborne parasites in fox, cat and dog faeces collected in kitchen gardens in a highly endemic area for alveolar echinococcosis. *Parasite*, 24, 29.
- Pritt, B. S. (2015). Chapter 4—Molecular Diagnostics in the Diagnosis of Parasitic Infection. In A. Sails & Y.-W. Tang (Eds.), *Methods in Microbiology* (Vol. 42, pp. 111–160). Academic Press.
- Rostami, A., Riahi, S. M., Holland, C. V., Taghipour, A., Khalili-Fomeshi, M., Fakhri, Y., Omrani, V. F., Hotez, P. J., & Gasser, R. B. (2019a). Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13, e0007809.
- Rostami, A., Sepidarkish, M., Ma, G., ... Gasser, R. B. (2020). Global prevalence of *Toxocara* infection in cats. In D. D. Bowman (Ed.), *Advances in Parasitology* (Vol. 109, pp. 615–639). Academic Press.
- Rousseau, J., Castro, A., Novo, T., & Maia, C. (2022). *Dipylidium caninum* in the twenty-first century: Epidemiological studies and reported cases in companion animals and humans. *Parasites & Vectors*, 15, 131.
- Schwarz, E. M., Hu, Y., Antoshechkin, I., Miller, M. M., Sternberg, P. W., & Aroian, R. V. (2015). The genome and transcriptome of the zoonotic hookworm *Ancylostoma ceylanicum* identify infection-specific gene families. *Nature Genetics*, 47, 416–422.
- Sengupta, M. E., Lynggaard, C., Mukaratirwa, S., Vennervald, B. J., & Stensgaard, A. S. (2022). Environmental DNA in human and veterinary parasitology—Current

- applications and future prospects for monitoring and control. *Food and Waterborne Parasitology*, 29, e00183.
- Shahzad, S., Afzal, M., Sikandar, S., Afzal, I., Shahzad, S., Afzal, M., Sikandar, S., & Afzal, I. (2020). Polymerase Chain Reaction. In *Genetic Engineering—A Glimpse of Techniques and Applications*. IntechOpen.
- Simakova, A. V., Poltoratskaya, N. V., Babkina, I. B., ... Pankina, T. M. (2020). The World Largest Focus of the Opisthorchiasis in the Ob-Irtysh Basin, Russia, Caused by *Opisthorchis felineus*. In *Rural Health*. IntechOpen.
- Sokolova, T. S., Petrov, V. A., Saltykova, I. V., Dorofeeva, Y. B., Tyakht, A. V., Ogorodova, L. M., & Fedorova, O. S. (2021). The impact of *Opisthorchis felineus* infection and praziquantel treatment on the intestinal microbiota in children. *Acta Tropica*, 217, 105835.
- Stracke, K., Jex, A. R., & Traub, R. J. (2020). Zoonotic Ancylostomiasis: An Update of a Continually Neglected Zoonosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103, 64–68.
- Stromberg, P. C., Toussant, M. J., & Dubey, J. P. (1978). Population biology of *Paragonimus kellicotti* metacercariae in central Ohio. *Parasitology*, 77, 13–18.
- Szwaja, B., Romański, L., & Ząbczyk, M. (2011). A case of *Dipylidium caninum* infection in a child from the southeastern Poland. *Wiadomości Parazytologiczne*, 57, 175–178.
- Sun, J., Qin, Z., Fu, Y., Qin, H., Sun, M., Dong, H., Chao, L., Zhang, L., & Li, J. (2023). Assessment of potential zoonotic transmission of *Giardia duodenalis* from dogs and cats. *One Health*, 17, 100651.
- Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 356, 983–989.
- Tedersoo, L., Drenkhan, R., Anslan, S., Morales-Rodriguez, C., & Cleary, M. (2019). High-throughput identification and diagnostics of pathogens and pests: Overview and practical recommendations. *Molecular Ecology Resources*, 19, 47–76.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., & Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30, 1217–1258.
- Thompson, R. C. A. (2015). Neglected zoonotic helminths: *Hymenolepis nana*, *Echinococcus canadensis* and *Ancylostoma ceylanicum*. *Clinical Microbiology and Infection*, 21, 426–432.

- Traub, R. J. (2013). *Ancylostoma ceylanicum*, a re-emerging but neglected parasitic zoonosis. *International Journal for Parasitology*, *43*, 1009–1015.
- Tull, A., Moks, E., & Saarma, U. (2021). Endoparasite prevalence and infection risk factors among cats in an animal shelter in Estonia. *Folia Parasitologica*.
- Ubeira, F. M., Muiño, L., Valero, M. A., Periago, M. V., Pérez-Crespo, I., Mezo, M., González-Warleta, M., Romarís, F., Paniagua, E., Cortizo, S., Llovo, J., & Más-Coma, S. (2009). MM3-ELISA detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in preserved human stool samples. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *81*, 156–162.
- Ullah, H., Qadeer, A., Rashid, M., Rashid, M. I., & Cheng, G. (n.d.). Recent advances in nucleic acid-based methods for detection of helminth infections and the perspective of biosensors for future development. *Parasitology*, *147*, 383–392.
- Yoshida, Y., Kondo, K., Kurimoto, H., Fukutome, S., & Shirasaka, S. (1974). Comparative Studies on *Ancylostoma braziliense* and *Ancylostoma ceylanicum*. III. Life History in the Definitive Host. *The Journal of Parasitology*, *60*, 636–641.
- Yurlova, N. I., Yadrenkina, E. N., Rastyazhenko, N. M., Serbina, E. A., & Glupov, V. V. (2017). Opisthorchiasis in Western Siberia: Epidemiology and distribution in human, fish, snail, and animal populations. *Parasitology International*, *66*, 355–364.
- Zeinali, S., Khademvatan, S., Jafari, R., Vazifekhah, S., Yousefi, E., & Behroozi-Lak, T. (2023). Prevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection among women with miscarriage and their aborted fetuses in the northwest of Iran. *PLOS ONE*, *18*, e0283493.
- Ziegler, M. A., & Macpherson, C. N. L. (2019). *Toxocara* and its species. *CABI Reviews*, *2019*, 1–27.
- von Samson-Himmelstjerna, G., Harder, A., & Schnieder, T. (2002). Quantitative analysis of ITS2 sequences in *trichostrongyle* parasites. *International Journal for Parasitology*, *32*, 1529–1535.

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

https://astrobiomike.github.io/misc/amplicon_and_metagen, vaadatud 20.05.2024

<https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Instance=GeneralAtlas>, vaadatud 16.04.2024

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Echinococcus_multilocularis.jpg, vaadatud 23.05.2024

<https://www.cdc.gov/dpdx/toxocariasis/index.html>, vaadatud 14.05.2024

<https://parasite.wormbase.org/index.html>, vaadatud 22.05.2024

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.89.2306.226>, vaadatud 13.05.2024

https://toulloom.etll.ee/?ARHIIV/2000/2000_1, vaadatud 25.05.2024

<https://www.who.int/publications-detail-redirect/929044522X>, vaadatud 14.05.2024

<https://en.wikipedia.org/wiki/Zoonosis>, vaadatud 14.05.2024

LIHTLITSENTS

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Ilona Kütt,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

„Kassidega levivad zoonootilised siseparasiidid ning meetodid nende tuvastamiseks“,

mille juhendajad on Ants Tull, Urmas Saarma ja Elin Org,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Ilona Kütt
27.05.2024