

TARTU ÜLIKOOL  
ÕKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT  
ZOOLOOGIA OSAKOND  
TERIOLOOGIA ÕPPETOOL

Triin Käbin

***ALARIA ALATA* NAKKUS SÄILITUSPEREMEESTEL**

**EESTIS**

Magistritöö

Juhendajad: Ragne Oja

Epp Moks

TARTU 2015

## Sisukord

1. Sissejuhatus .....	3
2. Kirjanduse ülevaade .....	5
2.1. <i>Alaria alata</i> iseloomustus .....	5
2.2. Elutsükkel .....	5
2.3. Alarioos.....	7
2.4. Lõpp-peremeeste nakatumus .....	8
2.5. Mesotserkaaride identifitseerimismeetodid .....	9
3. Materjal ja meetodika.....	11
3.1. Andmekogumine ja välitööd.....	11
3.2. Laboratoorne töö.....	12
3.3. Andmeanalüüs .....	13
4. Tulemused .....	15
4.1. Valimi iseloomustus .....	15
4.2. Eelanalüüs .....	15
4.3. Nakatumist määravad tegurid I.....	16
4.4. Nakatumist määravad tegurid II .....	17
4.5. Mesotserkaaride arv nakatunud isenditel.....	19
5. Arutelu.....	21
Kokkuvõte .....	25
Summary.....	26
Tänuavaldused.....	27
Kasutatud kirjandus .....	28
Lisa 1. Valim .....	33

## 1. Sissejuhatus

Tööstusriikides haigestub aastas hinnanguliselt kuni 10% elanikkonnast toidu kaudu levivatesse zoonoossetesse ehk loomadega levivatesse haigustesse (Fosse *et al*, 2008). Toiduainete impordi tõttu on toidu ja vee kaudu levivate parasiitide levikule ja edasikandumisele hakatud rohkem tähelepanu pöörama (Dorny *et al*, 2009).

*Alaria alata* on karnivooride endoparasiit, kelle üha sagedasemad taustaleiud keeritsusside kontrolli käigus metssigadest (*Sus scrofa*) on teinud temast olulise uurimisobjekti (Möhl *et al*, 2009). Metssiga on Eestis kõige arvukamalt kütitud jahiuuluk, 2014/2015 jahihooajal kütiti 24 909 isendit (Keskkonnaagentuur, 2015), mis tähendab, et tema liha on inimeste toidulaual laialdaselt levinud. Kuna keeritsusside kontrolliks kasutatav tehisseede meetod pole piisavalt efektiivne *A. alata* vastsete identifitseerimiseks (Riehn *et al*, 2010) ning parasiit on võimeline nakatama inimest (Möhl *et al*, 2009), on vajalik teada rohkem tema nakkusest ja selle avaldumisest. Kuigi Eestis on leitud kõrged nakkusmäärad *A. alata* lõpp-peremeestel (Moks *et al*, 2006; Laurimaa, avaldamata andmed), puuduvad seni säilitusperemeeste nakatumist uurivad tööd.

Parasiidi kindlakstegemiseks kudedest on vaja värsket materjali (González-Fuentes *et al*, 2015), seetõttu on magistrantuuri jooksul keeruline koguda piisaval hulgal vajalikke metssea lihaproove. Selle asemel uuriti käesolevas töös metssea asemel pisiimetajaid (närilised (*Rodentia*) ja putuktoidulised (*Eulipotyphla*) tüvepikkusega kuni 160 mm), kes on *A. alata* elutsüklis metssigadega samal tasemel – mõlemad on parasiidi säilitusperemehed.

Varasemad tööd pisiimetajate nakatumisega parasiidiga *A. alata* puuduvad. Antud magistratöö on esimene, mis uurib *A. alata* nakkust ja selle avaldumist närilistel ja putuktoidulistel. Samuti on see esimene töö, milles uuritakse *A. alata* nakkust mõjutavaid tegureid säilitusperemeestel.

Käesoleva töö eesmärgid on:

- töötada välja *A. alata* mesotserkaaride avastamise meetod pisiimetajate jaoks – kas ja kuidas on nad kasutatavad *A. alata* nakkuse määramisel säilitusperemeeste ringis;
- uurida *A. alata* nakkuse avaldumist pisiimetajate populatsioonis;

- uurida, kas *A. alata* nakkus avaldub eri piirkondades erinevalt.

Töö hüpoteesid on:

- niisketel aladel on pisiimetajate nakatumine parasiidiga *A. alata* sagedasem kui kuivadel aladel, kuna niiskes keskkonnas leidub rohkem lisaperemehi – kahepaikseid;
- ainult looduslike toiduressurssidega aladel on pisiimetajate nakatumine parasiidiga kõrgem kui aladel, kus neil on ligipääs antropogeenset päritolu toidule, sest antropogeense toidubaasi olemasolul tarbivad nad *A. alata* lisaperemehi vähem;
- nakatunud pisiimetajatest on raskematel isenditel rohkem parasiite, sest vanemate isendite, kes on noorematest raskemad, kudedesse on elu jooksul kogunenud rohkem mesotserkaare.

## 2. Kirjanduse ülevaade

### 2.1. *Alaria alata* iseloomustus

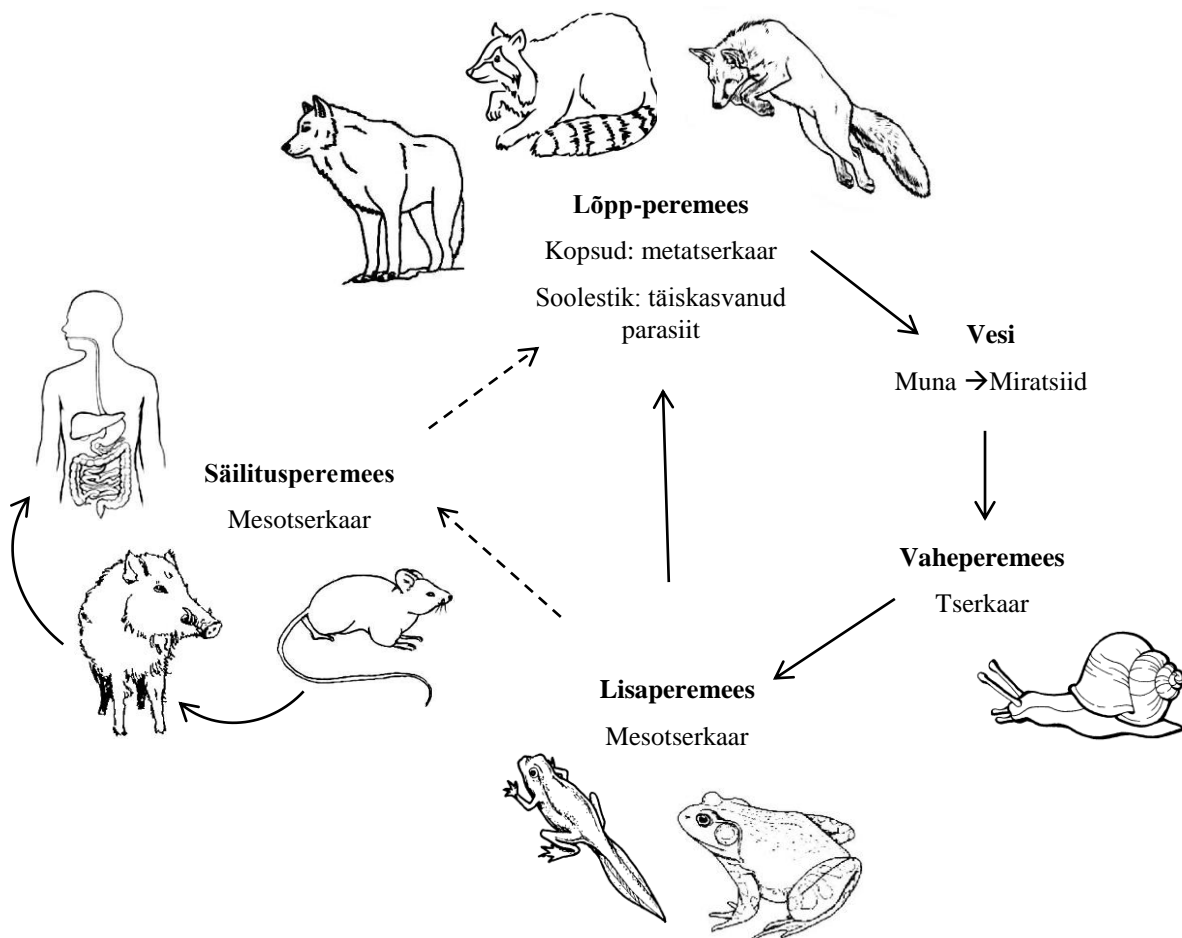
*Alaria alata* (Goeze, 1792) on lameusside (*Platyhelminthes*) hõimkonda, imiusside (*Trematoda*) klassi kuuluv parasiit. *A. alata* on kosmopoliitne liik, kuid tema leviku tuumikala on Euraasias, kus ta on ainus oma perekonna endeemne ehk järjepideva kõrge arvukusega liik (Riehn *et al*, 2011). Perekonna teised liigid on levinud Põhja- ja Lõuna-Ameerikas (*A. mustelae*, *A. intermedia*, *A. marciana*, *A. arisaemoides*, *A. canis*, *A. taxideae*) (Möhl *et al*, 2009). *A. alata* imiussid on 3–6 x 1–2 mm ning munad 110–140×70–80 µm suurusel. Liigiepiteet tuleneb tema kehakujust, mis sarnaneb tiivale (*alata* - tiivuline ld. k.) (Möhl *et al*, 2009).

### 2.2. Elutsükkel

*A. alata* elutsükkel on kolmeperevaheline, koosnedes lõpp-, vahe- ning lisaperevahelise. Peale kolme kohustusliku peremehe võivad tsükklisse lisanduda ka säilitus- ehk reservuaarperemehed (Joonis 1). Definiitvused ehk lõpp-peremehed, kelles parasiit suguliselt sigib, on erinevad koerlased (*Canidae*), kaslased (*Felidae*) ja kärplased (*Mustelidae*). Peamised lõpp-peremehed on punarebane (*Vulpes vulpes*), kährikkoer (*Nyctereutes procyonoides*) ja hunt (*Canis lupus*) (Portier *et al*, 2011). Täiskasvanud imiussid elavad ja sigivad suguliselt lõpp-peremeeste peensooles, toitudes kudedest ja limast (Möhl *et al*, 2009). Parasiidi munad satuvad väliskeskkonda koos lõpp-peremehe väljaheidetega ning edasiseks arenguks on vajalik veekeskkond, kus kahe nädala pärast väljuvad munadest esimese kasvujärgu vastsed ehk miratsiidid, kes nakatavad vaheperemehi, tungides läbi nende naha (Järvis, 1998; Möhl *et al*, 2009).

Vaheperemeeste, mageveetigude suguorganites toimub mittesuguline paljunemine, mille käigus arenevad välja sabaga tserkaarid (Buller, 2012). Peamised vaheperemehed on harilik labatigu (*Planorbis planorbis*) ja õhuke lametigu (*Anisus vortex*) (Portier *et al*, 2012). Optimaalsel temperatuuril (22–24°C) kestab parasiidi areng vaheperemes 37–45 päeva, kuid temperatuuri alanedes võib see pikeneda 77 päevani (Järvis, 1998). Teost väljudes on tserkaarid äärmiselt liikuvad ning otsivad lisaperevaheli, kelleks on konnakullesed või täiskasvanud kahepaiksed (nt: harilik kärnkonn (*Bufo bufo*), jutttselg-

kärnkonn (*Epidalea calamita*), rohe-kärnkonn (*Bufo viridis*), veekonn (*Pelophylax* kl. *esculentus*), rohukonn (*Rana temporaria*), rabakonn (*Rana arvalis*) jt.) (Möhl *et al*, 2009; Shimalov, 2009). Lisaperemehes arenevad tserkaarid järgmiseks sabata vastsestaadiumiks – mesotserkaariks (Möhl *et al*, 2009). Lisaperemeestes liiguvad mesotserkaarid ringi lihaskoes (Buller, 2012). Elutsükkel saab lõpu, kui lõpp-peremees sööb nakatunud lisaperemeest, kuid see võib ka pikeneda säilitusperemehe abil (Möhl *et al*, 2009).



Joonis 1. *Alaria alata* elutsükkel.

Säilitusperemehed on erinevad selgroogsed, kes on nakatunud lisaperemehi süües, kuid kelles parasiit edasi ei arene. *A. alata* vastsed elavad säilitusperemeeste võõrtlihastes ning neid ümbritsevas rasv- ja sidekoes (Riehn *et al*, 2011). Reservuaarperemeesteks sobivad peaaegu kõik maismaa ja pool-veelised selgroogsed, kes toituvad *A. alata* lisaperemeestest, sealhulgas ka inimene. Inimese nakatumise seisukohast on tõenäoliselt

kõige tähtsam säilitusperemees metssiga, kelle järgi nimetatakse *A. alata* mesotserkaare ka teise nimega DMS (*Distomum musculorum suis*). Säilitusperemehed ei ole parasiidi arenguks vajalikud, kuid aitavad kaasa tema levimisele ning lõpp-peremeesteni jõudmisele. Üks võimalus parasiidi levimisele kaasa aidata on olukord, kus lõpp-peremees ei söö lisaperemehi, küll aga säilitusperemehi. Kuna säilitusperemeeste spektrum on lai, siis on nad ka üksteisele toiduks ja laiendavad parasiidi levikut. Mesotserkaarid suudavad üle elada mitme säilitusperemehe vahetuse ja säilitada seejuures nakatumisvõime (Möhl *et al*, 2009).

Parasiidi edasine areng toimub lõpp-peremehes, kes on söönud nakatunud lisa- või säilitusperemeest. Allaneelatud mesotserkaarid tungivad läbi mao- ja sooleseina kõhuõõnde, sealt edasi rinnaõõnde ja kopsuparenhüümi, kus nad arenevad metatserkaarideks. Järgnevalt liiguvad metatserkaarid hingetoru kaudu suuõõnde, kust peremees nad alla neelab ja jõuavad peensoolde (Järvis, 1998). Peensooles arenevad metatserkaarid täiskasvanud ussideks, ning elutsükkel saab uue alguse, kui lõpp-peremees väljutab parasiitidega saastatud ekskrementid keskkonda. Parasiidi areng munast kuni suguküpse imiussini kestab 92–114 päeva (Järvis, 1998).

Lisaks klassikalisele elutsüklile on võimalik ka transplatsentaarne edasikandumine – lõpp-peremees võib parasiidiga nakatada oma järeltulijad (Wasiluk, 2013). On leitud, et tiined kaslased ning hiired võivad platsenta või rinnapiima kaudu poegadele *A. marciana*e mesotserkaare edasi anda ja pojad sünnivad juba täiskasvanuks arenenud parasiitidega (Järvis, 1998; Buller, 2012).

### 2.3. Alarioos

*A. alata* põhjustab oma peremeestes tõve nimega alarioos. Kuigi alaria täiskasvanud vorm ja metatserkaarid ei oma suurt tähtsust patogeenidena, siis mesotserkaarid kahjustavad peremeeste kudesid (Möhl *et al*, 2009; Riehn *et al*, 2011). Alarioosi on keerulise diagnoosida ning seega jääb see praktikas tihti määramata (Wasiluk, 2013). Inimene võib nakatuda, süües toorest või väheküpsetatud liha, mis sisaldab *A. alata* vastseid (Möhl *et al*, 2009). Katsetes on näidatud, et larvide soojendamisel füsioloogilises lahuses on nende inaktiveerimiseks vajalik kuumus vähemalt 60°C, kuid toiduvalmistamisel on lihatüki sees olevate parasiitide kahjutukstegemiseks vajalik kõrgem temperatuur (González-Fuentes *et al*, 2015). Inimestel võib alarioos väljenduda

silma või naha infektsioonina, hingamisraskustena või üldise organismi kurnatusena (Riehn *et al*, 2014). Sümptomid ja haiguse kulg olenevad sissesöödud mesotserkaaride hulgast (Riehn *et al*, 2013). Põhja-Ameerikas on olnud mitmeid nakkusjuhtumeid, mida põhjustasid *Alaria* perekonna esindajad (Möhl *et al*, 2009). Seal on registreeritud ka *A. americana* mesotserkaaride nakkusest põhjustatud surmajuhtum 24-aastaselt mehel, kes sai nakkuse tõenäoliselt väheküpsetatud konnakoibi süües. Lahkamisel leiti mesotserkaare tema mao seintest, lümfisõlmedest, maksast, südamelihasest, pankreasest ja seda ümbritsevast rasvkoest, põrnast, neerust, kopsudest ning pea- ja seljaajust (Fernandes *et al*, 1976).

## 2.4. Lõpp-peremeeste nakatumus

Hinnanguliselt on 30% Euroopa looduslikest koerlastest nakatunud parasiidiga *A. alata* (Mehlhorn *et al*, 2008). Lõpp-peremeeste nakatumust on uuritud paljudes Euroopa riikides. Kährikkoerad on peamiselt *A. alata* nakkuse kandjad Valgevenes ja Taanis kus uuritud loomadest olid nakatunud vastavalt 47,4% (Shimalov ja Shimalov, 2002) ja 69,7% (Al-Sabi *et al*, 2013). Huntide kõrge nakkusmäär on leitud Poolast – 80,1% (Szafrńska *et al*, 2010). Kõige enam uuritud *A. alata* lõpp-peremes on punarebane: Taanis on leitud nakkus 34,4% (Al-Sabi *et al*, 2013), Poolas 56,7% (Borecka *et al*, 2009) ja Rumeenias 15,0% (Sikó Barabási *et al*, 2011) uuritud loomadest.

Euroopa kõrgeimad nakkusmäärad lõpp-peremeestel on Balti riikides. Eestis on huntide nakatumus 89% (Moks *et al*, 2006), punarebastel 90,7% ja kährikkoertel 68,3% (Laurimaa *et al*, avaldamata andmed). Lätis on vastavad arvud 85,3% (Bagrade *et al*, 2009), 80,8% ja 87,1% (Esīte *et al*, 2012). Baltimaade kõrgeimad nakkusmäärad on Leedus: punarebastel 94,8% ja kährikkoertel 96,5% (Bružinskaitė-Schmidhalter *et al*, 2012).

## 2.5. Mesotserkaaride identifitseerimismeetodid

Kuni 2010. aastani ei olnud välja töötatud head meetodit *A. alata* mesotserkaaride identifitseerimiseks lihast. Neid avastati vaid keeritsussi (*Trichinella sp.*) inspeksiooni taustaleidudena (Möhl *et al.*, 2009). Algselt kasutati selleks trihhielloskoopiat, kus lihasproovi uurimine toimus mikroskoopiliselt, kahe klaasplaadi vahele surutult. Kuigi selle meetodi vahetas suuremas osas välja 1970 aastatel välja töötatud tehisseede meetod (*Trichinella inspection method* ehk TIM), on trihhielloskoopia siiani Euroopas kasutusel väikestes tapamajades (Kapel, 2005; Riehn *et al.*, 2010). Tehisseede meetodil kasutatakse lihaskoe lagundamiseks pepsiini/HCl lahust, lastakse proovil settida ning setet uuritakse stereomikroskoobiga. Euroopa Liidus on kohustuslik uurida inimtarbimisele minevat keeritsusside suhtes vastuvõtlike loomade liha (s.h. mets siga) tehisseede meetodiga (EÜ määrus 2075/2005). Tehisseede meetodiga on uuritud metssea lihaproove *A. alata* suhtes Eestile kõige lähemal Lätis, kus parasiit leiti 11,7% proovidest (Berge *et al.*, 2014).

Nüüdseks on selgunud, et tehisseede meetod ei pruugi olla piisavalt efektiivne, et identifitseerida proovidest *A. alata* vastseid (Riehn *et al.*, 2010). TIM-i kasutades esineb palju vale-negatiivseid proove sest: (1) *A. alata* ning keeritsussi paiknemine kudedes on erinev. *A. alata* vastsed eelistavad rasv- ja sidekude, näärmeid ja kõhre ning asetsevad kehas hajutatult, kuid *Trichinella* kontrolliks kasutatakse lihaskude, sest ta eelistab hea verevarustusega asukohti (Möhl *et al.*, 2009), (2) pepsiiniga töötlemisel on vastsete suremus kõrgem ning paljud kaotavad liikumisvõime (Riehn *et al.*, 2010).

Selle probleemi parandamiseks töötasid Riehn jt. (2010) välja *A. alata* spetsiifilise identifitseerimismeetodi (*A. alata mesocercariae migration technique* ehk AMT), mis on tehisseede meetodist 60% tõhusam. AMT kasutab ära parasiidi vastsete võimet liikuda kudedest välja ümbritsevasse vedelikku ja nende suutmatust ujuda vastupidiselt gravitatsiooni suunale. Mets sigade proovide uurimisel AMT meetodil võetakse 30 grammi sobivat proovimaterjali, mis lõigatakse tükkideks, asetatakse sõelale anuma peal ja kaetakse sooja kraaniveega (46–48°C). Soe vesi stimuleerib vastsete liikumist ja niipea, kui nad on kudedest väljas, langevad nad katseanuma põhja. Proovil lastakse 90 minutit seista ning seejärel kontrollitakse veeproov stereomikroskoobiga (15-20 x suurendus). Sama meetodi kasutamisel leiti, et juba 30 minuti jooksul on 95% larvidest

liikunud kudedest välja (Riehn *et al*, 2010). Ka Austrias läbi viidud uuringus, kus kontrolliti metssigu *A. alata* vastsete suhtes, leiti, et 45 minuti jooksul olid kõik mesotserkaarid kudedest välja liikunud (Paulsen *et al*, 2012).

Saksamaal kontrolliti uue meetodiga metssea proove, mis varasemalt olid keeritsusside uuringus määratud *A. alata* vabaks. AMT-d kasutades osutus 11,5% proovidest positiivseks (Riehn *et al*, 2012). AMT-d on metssigade nakatumise uurimisel kasutatud ka näiteks Tšehhis, kus leiti *A. alata* mesotserkaare 6,8% poovidest, kuigi TIM-i kasutades ei leitud ühtegi positiivset proovi (Paulsen *et al*, 2013). Sarnane nakkusmäär leiti Austrias, kus 6,7% proovidest olid positiivsed (Paulsen *et al*, 2012).

### 3. Materjal ja metoodika

#### 3.1. Andmekogumine ja välitööd

Uurimiseks koguti lõksupüügi käigus pisiimetajaid (N=182) 2013. ning 2014. aasta augustis-novembris. Suurem osa uurimismaterjalist on kogutud Tartumaalt (N=135). Lisaks koguti pisiimetajaid veel Jõgevamaalt (N=20), Lääne-Virumaalt (N=5), Raplamaalt (N=9) ja Võrumaalt (N=13). Kokku 23 erinevast asukohast ja 5 maakonnast.

Valimi moodustasid koduse kahjuritõrje käigus püütud närilised, 2014. aastal selgroogsete zooloogia välipraktikumis ja terioloogia sügiskoolis püütud pisiimetajad. Lisaks teostati püüki metsas, et täiendada valimit looduslikelt aladelt püütud isenditega.

Toidubaasi alusel jagati püügikohad kahte gruppi: antropogeense mõjuga ja loodusliku toiduga alad. Antropogeense mõjuga alade alla kuulusid majapidamised ja nende ümbrused ning metssigade lisasöötmise platsid. Loodusliku toiduga alade alla kuuluvad kõik ülejäänud püügikohad, kus puudus antropogeenne toit.

Biotoobi alusel jagati püügikohad samuti kahte gruppi: niisked ja kuivad alad. Biotoop määrati niiskeks, kui läheduses asusid veekogud või kraavid. Nende puudumisel hinnati seal kasvavat taimestikku – niisket kasvukohta eelistavate taimede esinemisel määrati biotoop niiskeks ning kuiva kasvukohta eelistavate taimede olemasolul kuivaks. Püügikohtade valikul üritati saavutada tasakaalu niiske ja kuiva biotoobi vahel. Kui selgus, et niiskest biotoobist püüti rohkem isendeid kui kuivast või vastupidi, siis korrigeeriti püügipingutust töö käigus.

Metsapüük toimus igas asukohas 4-5 päeva, v.a. terioloogia sügiskoolis, kus püük kestis erandlikult kaks päeva. Igal püügil kasutati 20–25 lõksu, mis asetati sirgjooneliselt üksteisest ligikaudu 4-meetriste vahedega. Söödana kasutati õlis praetud leiba või maapähklitega šokolaadi, mis vahetati iga päev värskema vastu. Lõkse kontrolliti hommikuti, et vältida lõksu jäänud pisiimetajate roiskumist päeva jooksul. Isendid paigutati kuni analüüside läbiviimiseni külmikusse (+4°C).

### 3.2. Laboratoorne töö

Katse laboratoorses osas määrati esmalt iga isendi liik, sugu ning kaal. Parasiitide olemasolu kindlakstegemiseks kasutati *A. alata* spetsiifilist identifitseerimise meetodit, mis põhineb parasiidi võimel liikuda kudedest välja ümbritsevasse vedelikku (Riehn *et al*, 2010). Selleks eemaldati pisiimetaja nahk ning seejärel tükeldati uuritav proov kääride abil sõelale. Sõel asetati 200 ml topsile, proov kaeti toasooja veega ja jäeti 90 minutiks seisma. Kuna *A. alata* mesotserkaarid on veest raskemad, siis liiguvad nad antud aja jooksul topsi põhja. Pärast 90 minuti möödumist eemaldati sõel, kallati ettevaatlikult, topsi raputamata, pealmine vesi ära, nii et anuma põhja jäi ligikaudu 20 ml vedelikku. Vedelik kallati Petri tassile, mille sisu uuriti mikroskoopiliselt (10 x suurendus) ning loeti kokku elujõulised liikuvad *A. alata* larvid. Kui mesotserkaare oli 30 või rohkem, märgiti nende arvuks 30. *A. alata* identifitseeriti morfoloogiliste tunnuste abil.

Proovide läbiuurimisel katsetati erinevaid lähenemisviise, et leida kõige efektiivsem viis nakkuse identifitseerimiseks pisiimetajatest:

- keha + pea + sisikond koos (N=19);
- keha, pea ja sisikond eraldi uurituna (N=20);
- ainult keha ilma sisikonnata ja peata (N=12);
- keha ja pea eraldi uurituna, ilma sisikonnata (N=3);
- keha ja pea koos, ilma sisikonnata (N=128).

Lihakeha mitmeks prooviks jaotamisest loobuti, sest leiti, et parasiite leidub siiski nii peas kui ülejäänud lihakehas ja pisiimetajad on piisavalt väikesed, et neid võib uurida koos ühes proovis. Sisikonna eraldi uurimist katsetati 20 korral, millest vaid ühel leiti parasiit sisikonna proovis. Kuid sel juhul olid mesotserkaarid olemas ka lihakehas ning seega ei peetud sisikonna uurimist edaspidi vajalikuks.

### 3.3. Andmeanalüüs

Andmete anlüüsimiseks kasutati programmi R (versioon 3.1.2). Analüüsis kasutati järgnevaid sõltumatuid tunnuseid: isendi liik, perekond, kaal, sugu, toit (looduslik, antropogeenne), biotoop (niiske, kuiv). Sõltuvad tunnused olid nakkuse olemasolu isendil (1 – nakatunud, 0 – terved) või nakkuse intensiivsus (parasiitide arv). Liigid jaotati kahte perekonda: *Apodemus* (*A. flavicollis* ja *A. agrarius*) ja *Myodes* (*M. glareolus*), ülejäänud vähearvukad liigid moodustasid kolmanda grupi. Testimaks, millest sõltub isendi nakatumine parasiidiga, kasutati  $\chi^2$ -teste. Kaalu sõltuvust teistest kategoorilistest muutujatest uuriti t-testidega. Tegemaks kindlaks, millised uuritud teguritest on pisiimetajate parasiteerituse määramisel kõige olulisemad, kasutati neid mudelivalikus. Üldistatud lineaarseid mudeleid (*Generalized Linear Models* – GLM) ja üldistatud lineaarseid segamudeleid (*Generalized Linear Mixed Models* – GLMM) võrreldi korrigeeritud Akaike informatsioonikriteeriumi (*Akaike Information Criterion with a correction* – AICc) alusel. Mudelite koostamisel viidi läbi kolm erinevat analüüsi, mille valimid erinesid üksteisest:

- 1) täisvalim kõigi vaatlustega, testimaks, mis mõjutab nakkuse olemasolu isendil – GLMM, sõltuv tunnus oli nakkuse olemasolu (1 – nakatunud, 0 – terved);
- 2) vähendatud valim, kuhu on jäetud vaid asukohad, kus vähemalt üks isend oli nakatunud, testimaks, millest sõltub nakkus, kui on teada, et parasiit keskkonnas kindlasti esineb – GLM, sõltuv tunnus oli nakkuse olemasolu (1 – nakatunud, 0 – terved), juhuslike muutujate lisamine ei andnud mudelitele lisaväärtust;
- 3) valim ainult nakatunud isenditega, uurimaks, mis mõjutab nakkuse intensiivsust – negatiivse binoomjaotusega GLMM, sõltuv tunnus oli parasiitide arv.

Mudelite koostamisel kombineeriti omavahel sõltumatute muutujatena isendite kaalu ja tunnuseid, mis  $\chi^2$ -testide tulemustena olid statistiliselt olulised (toidubaas ja biotoop). Koostati ühemuutujalised, interaktsioonideta mitmemuutujalised ning interaktsioonidega mitmemuutujalised mudelid. Mudelitesse lisati kaks interaktsiooni: toit\*biotoop, et näha, kas toidubaasi mõju on eri biotoopides erinev; toit\*kaal, et näha, kas kaalu mõju nakkusele sõltub toidubaasist. Interaktsioon biotoop\*kaal jäeti mudelitest välja, sest pole põhjust eeldada, et kaalu mõju isendi nakatumisele erineks kuivades ja niisketes biotoopides.

GLMM-des lisati algselt juhuslike muutujatena püügikoht, liik ja perekond, kuid liigi ega perekonna lisamine juhusliku muutujana ei andnud mudelitele lisaväärtust – muutujate dispersioonid olid 0. Järelikult olid isendite vahelised erinevused olulisemad kui liikide või perekondade vahelised. Seega jäeti nad täisvalimi ja nakatunud isendite valimitega mudelitest välja ning juhusliku muutujana kasutati ainult püügikohta. Vähendatud valimiga analüüsis kasutati GLM, sest ka püügikoht ei andnud mudelitele lisaväärtust. Ehk kui kasutada analüüsis ainult neid kohti, kus parasiit kindasti keskkonnas olemas on, ei ole püügikohasisene sarnasus suurem kui püügikohtade vaheline.

## 4. Tulemused

### 4.1. Valimi iseloomustus

Kokku koguti 182 pisiimetajat, kellest nakatunud oli 48 (26,4%). Nakatunud isendite keskmine parasiitide arv oli 7,27, mediaan 3,5 ja standardviga 1,24. Valimis oli esindatud 8 liiki pisiimetajaid, kellest kolm olid kõige sagedasemad: leethiir (*Myodes glareolus*) (102 isendit), kaelushiir (*Apodemus flvaicollis*) (39 isendit) ja jutttselg-hiir (*Apodemus agrarius*) (14 isendit). Lisaks olid esindatud ka koduhiir (*Mus musculus*), niidu-uruhiir (*Microtus agrestis*), mets-karihiir (*Sorex araneus*), laane-karihiir (*Sorex caecutiens*) ja väike-karihiir (*Sorex minutus*) (Lisa 1). Proovide kogumise käigus uuriti läbi ka kaks mutti (*Talpa europaea*), kuid kumbki isend ei olnud nakatunud, ning mõlemad olid püütud asukohast, kus parasiidi olemasolu ei õnnestunud kinnitada. Püütud muttide kaalud olid teistest märkmisväärselt suuremad ning seetõttu jäeti nad analüüsides välja.

Kuivast biotoobist püüti 72 pisiimetajat ning niiskest 110. Loodusliku toidubaasiga aladelt pärines 123 isendit ja antropogeense mõjuga aladelt 59 (Lisa 1). 83 pisiimetajat olid emased, 95 isased ja neljal isendil oli sugu määramata.

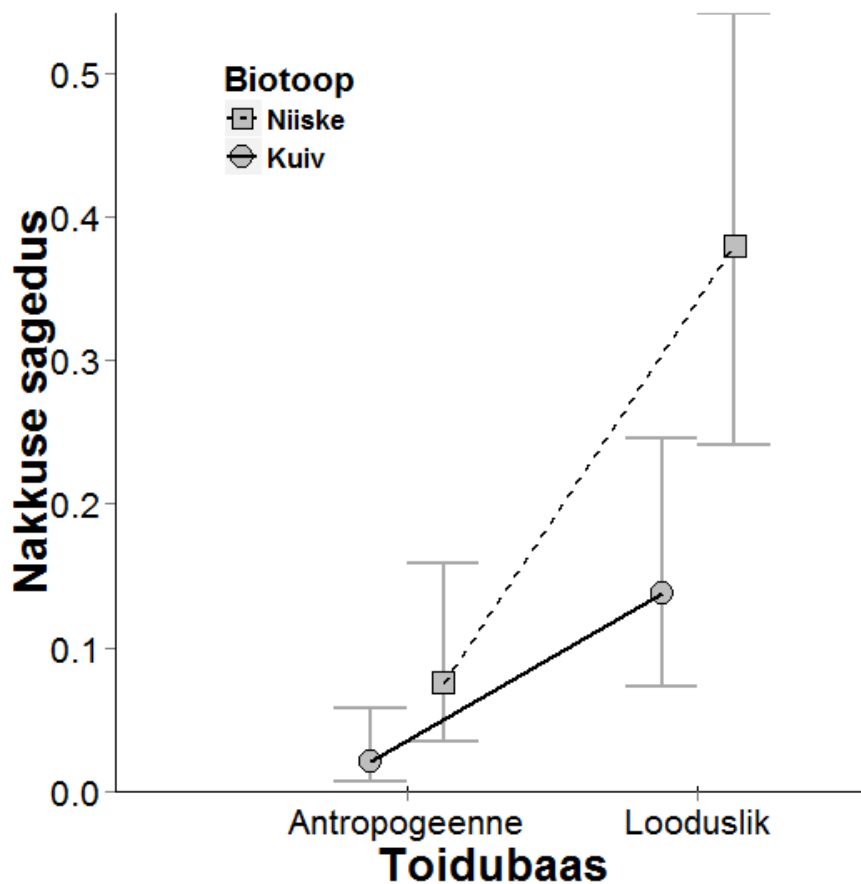
### 4.2. Eelanalüüs

$\chi^2$ -testide alusel erines nakatumine eri toidubaasiga ( $\chi^2_1 = 8,391$ ,  $p = 0,004$ ) ja eri biotoobis elavatel pisiimetajatel ( $\chi^2_1 = 10,656$ ,  $p = 0,001$ ). Tunnused „Sugu“ ( $\chi^2_1 = 0$ ,  $p = 1$ ) ja „Perekond“ ( $\chi^2_2 = 2,901$ ,  $p = 0,235$ ) ei olnud statistiliselt olulised ning seega jäeti need mudelite koostamisel kõrvale.

Pisiimetajate kaalule avaldasid mõju toit ( $t = 4,309$ ,  $df = 78,97$ ,  $p < 0,001$ ) ja perekond ( $t = 8,550$ ,  $df = 73,657$ ,  $p < 0,001$ ). Loodusliku toidubaasiga aladel oli keskmine kaal 19,3 g (min = 3 g, max = 50 g) ning antropogeense toiduga aladel 26,6 g (min = 9 g, max = 55 g). Perekonna *Apodemus* keskmine kaal oli 29,4 g (min = 10 g, max = 55 g) ja *Myodes* perekonna keskmine kaal oli 17,5 g (min = 12 g, max = 28 g).

### 4.3. Nakatumist määravad tegurid I

Täisvalimi analüüsis oli 182 isendit. Kriteeriumile  $\Delta AICc < 2$  vastas kaks mudelit (Tabel 1). Mudel Toit+(Koht) ( $\beta_L = 1,89$ ,  $SE = 0,99$ ,  $p = 0,057$ ) näitab, et pisiimetajad on sagedamini nakatunud loodusliku toiduga aladel. Mudelis Biotoop+Toit+(Koht) oli toit statistiliselt oluline ( $\beta_L = 2,01$ ,  $SE = 0,92$ ,  $p = 0,03$ ), kuid biotoop mite ( $\beta_N = 1,35$ ,  $SE = 0,86$ ,  $p = 0,12$ ) (Joonis 2). Vastavalt mudelile on pisiimetajad sagedamini nakatunud loodusliku toiduga aladel ning niiske biotoobiga aladel. Interaktsioonid ei olnud mudelites statistiliselt olulised.



Joonis 2. Nakatumise sagedus sõltuvalt toidubaasist ja biotoobist. Kasutatud on mudelit Biotoop+Toit+(Koht), kus sõltumatu tunnuse on nakkuse olemasolu isendil. Graafikul on veapiirid esitatud standardvigadena.

Tabel 1. Parasiidiga *A. alata* nakatumist ennustavad mudelid pisiimetajatel. AICc alusel parimad mudelid on paksus kirjas.

Sõltumatud ja (juhuslikud) muutujad	K	AICc	$\Delta$ AICc	$\omega$
<b>Toit+(Koht)</b>	<b>3</b>	<b>187,87</b>	<b>0,00</b>	<b>0,48</b>
<b>Biotoop+Toit+(Koht)</b>	<b>4</b>	<b>189,73</b>	<b>1,86</b>	<b>0,19</b>
Biotoop+(Koht)	3	190,95	3,08	0,10
Kaal+(Koht)	3	190,98	3,11	0,10
Toit+Kaal+(Koht)	4	191,53	3,66	0,08
Biotoop + Toit + Kaal+(Koht)	5	193,46	5,59	0,03
Biotoop+Kaal+(Koht)	4	194,10	6,23	0,02
Biotoop+Toit+Kaal+Toit*Kaal+(Koht)	6	197,53	9,66	0,00
Biotoop+Toit+Kaal+Biotoop*Toit+(Koht)	6	197,56	9,69	0,00

K – vabadusastmed; AICc – korrigeeritud Akaike informatsioonikriteerium;  $\Delta$  AICc<sub>i</sub> = AICc<sub>i</sub> – AICc<sub>min</sub>;  $\omega = \exp(-0.5 * \Delta AICc_i) / \sum_{r=1}^N \exp(-0.5 * \Delta AICc_r)$

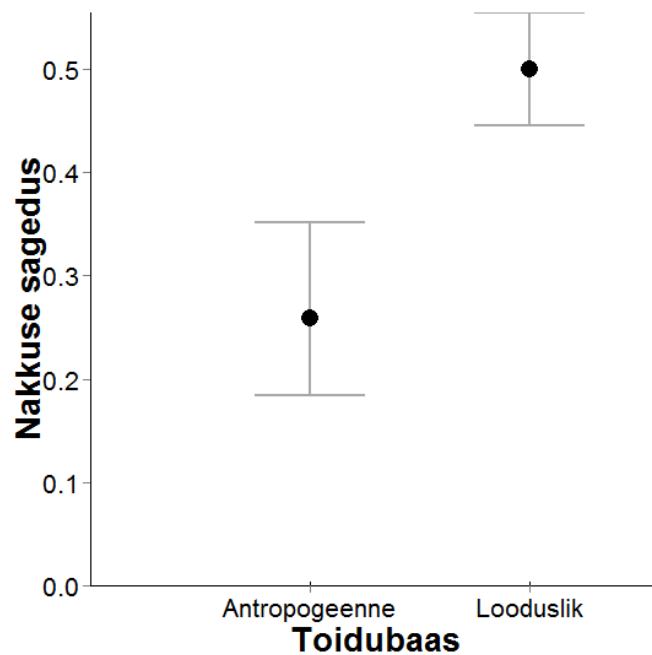
#### 4.4. Nakatumist määravad tegurid II

Vähendatud valimi analüüsis oli 109 isendit. AICc võrdluse alusel eristus kaks head mudelit (Tabel 2). Mudel Toit ( $\beta_L = 1,05$ , SE = 0,49, p = 0,03) näitab, et pisiimetajad on sagedamini nakatunud loodusliku toiduga aladel (Joonis 3). Mudel Kaal ( $\beta = -0,04$ , SE = 0,02, p = 0,09) näitab, et kergemad isendid on sagedamini nakatunud (Joonis 4). Interaktsioonid ei olnud mudelites statistiliselt olulised.

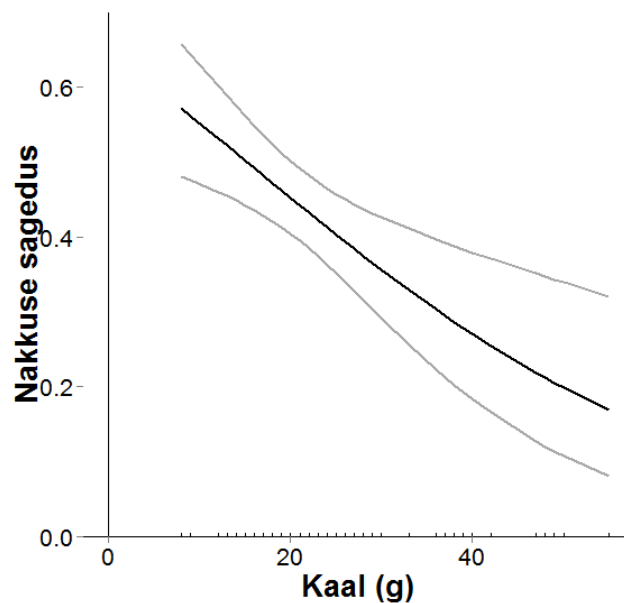
Tabel 2. Parasiidiga *A. alata* nakatumist ennustavad mudelid pisiimetajatel aladel, kus parasiit kindlasti esineb. AICc alusel parimad mudelid on paksus kirjas.

Sõltumatud muutujad	K	AICc	$\Delta$ AICc	$\omega$
<b>Toit</b>	<b>2</b>	<b>152,69</b>	<b>0,00</b>	<b>0,45</b>
<b>Kaal</b>	<b>2</b>	<b>154,56</b>	<b>1,87</b>	<b>0,18</b>
Toit+Biotoop	3	155,39	2,70	0,12
Toit+Kaal	3	155,65	2,96	0,10
Biotoop	2	155,97	3,28	0,09
Biotoop+Kaal	3	157,30	4,61	0,04
Toit+Biotoop+Kaal	4	158,56	5,87	0,02
Toit+Biotoop+Kaal+Toit*Biotoop	5	162,32	9,63	0,00
Biotoop+Toit+Kaal+Toit*Kaal	5	162,34	9,65	0,00

K – vabadusastmed; AICc – korrigeeritud Akaike informatsioonikriteerium;  $\Delta$  AICc<sub>i</sub> = AICc<sub>i</sub> – AICc<sub>min</sub>;  $\omega = \exp(-0.5 * \Delta AICc_i) / \sum_{r=1}^N \exp(-0.5 * \Delta AICc_r)$



Joonis 3. Pisiimetajate toidubaasi ja nakkuse sageduse seos koos standardvigadega piirkondades, kus parasiit keskkonnas kindlasti esineb. Kasutatud on mudelit Toit, kus sõltumatu tunnus on nakkuse olemasolu isendil.



Joonis 4. Piirkondades, kus parasiit keskkonnas kindlasti esineb, sõltub nakkuse sagedus pisiimetajatel nende kaalust. Kasutatud on mudelit Kaal, kus sõltumatu tunnus on nakkuse olemasolu isendil. Veapiirid (hallid jooned) on esitatud standardvigadena.

#### 4.5. Mesotserkaaride arv nakatunud isenditel

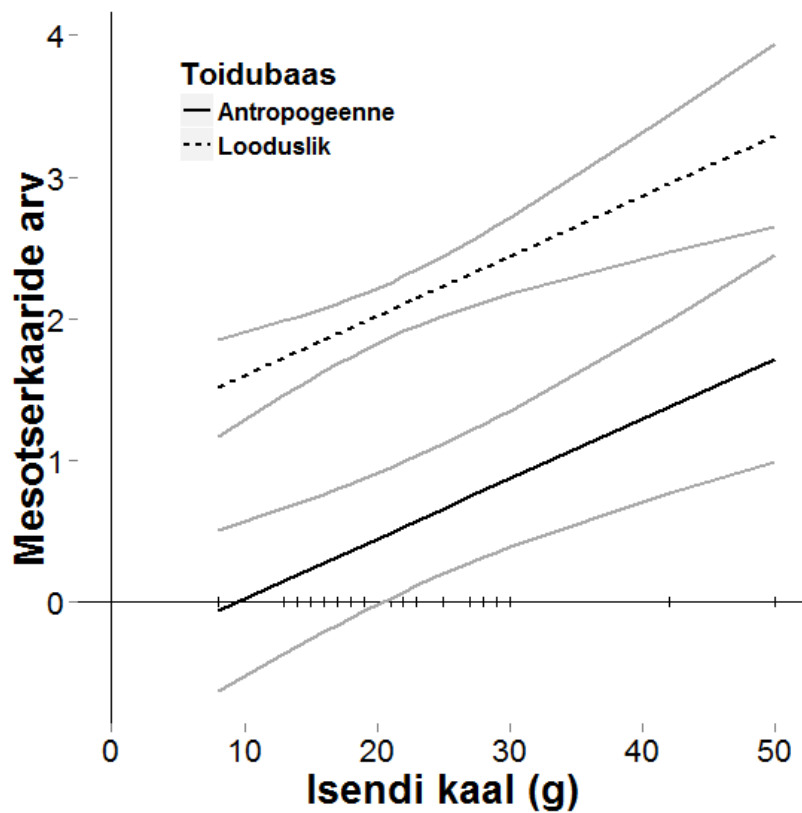
Analüüsis oli 48 isendit. AICc võrdluste järgi eristus kaks head mudelit, mille AICc on praktiliselt võrdsed ning kaalud samuti lähedased (Tabel 3). Mudel Toit+(Koht) ( $\beta_L = 1,48$ ,  $SE = 0,46$ ,  $p = 0,001$ ) näitab, et loodusliku toiduga aladel on pisiimetajad intensiivsemalt nakatunud. Mudelis Toit+Kaal+(Koht) on nii toit ( $\beta_L = 1,570$ ,  $SE = 0,5$ ,  $p = 0,002$ ) kui kaal ( $\beta = 0,04$ ,  $SE = 0,02$ ,  $p = 0,048$ ) statistiliselt olulised (Joonis 5). Mudel näitab, et intensiivsemalt on nakatunud raskemad ja loodusliku toiduga aladel elavad isendid. Interaktsioonid ei olnud mudelites statistiliselt olulised.

Tabel 3. Parasiidiga *A. alata* nakatumise intensiivsust ennustavad mudelid nakatunud pisiimetajatel. AICc alusel parimad mudelid on paksus kirjas.

Sõltumatud ja (juhuslikud) muutujad	K	AICc	$\Delta$ AICc	$\omega$
<b>Toit+(Koht)</b>	<b>4</b>	<b>301,24</b>	<b>0,00</b>	<b>0,38</b>
<b>Toit+Kaal+(Koht)</b>	<b>5</b>	<b>301,41</b>	<b>0,17</b>	<b>0,35</b>
Toit+Biotoop+Kaal+(Koht)	6	303,43	2,19	0,13
Kaal+(Koht)	4	304,92	3,68	0,06
Toit+Biotoop+(Koht)	5	305,37	4,13	0,05
Biotoop+Toit+Kaal+Toit*Kaal+(Koht)	7	307,52	6,28	0,02
Toit+Biotoop+Kaal+Toit*Biotoop+(Koht)	7	308,18	6,94	0,01
Biotoop+Kaal+(Koht)	5	308,50	7,26	0,01
Biotoop+(Koht)	4	309,26	8,02	0,01

K – vabadusastmed; AICc – korrigeeritud Akaike informatsioonikriteerium;  $\Delta$  AICc<sub>i</sub> =

$$AICc_i - AICc_{\min}; \omega = \exp(-0.5 * \Delta AICc_i) / \sum_{r=1}^N \exp(-0.5 * \Delta AICc_r)$$



Joonis 5. Nakatunud isenditel sõltub mesotserkaaride arv nii toidubaasist kui isendi kaalust. Kasutatud on mudelit  $Toit+Kaal+(Koht)$ , kus sõltumatu tunnus on mesotserkaaride arv. Veapiirid (hallid jooned) on esitatud standardvigadena.

## 5. Arutelu

Autorile teadaolevalt puuduvad varasemad tööd, mis käsitlevad pisiimetajate nakatumist parasiidiga *A. alata*. On vaid üksikud töid, kus mainitakse neid kui säilitusperemehi *Alaria* spp elutsükli (Goüy de Bellocq *et al*, 2003; Zhigileva, 2011). Antud töö on esimene, mis uurib pisiimetajate rolli *A. alata* levimises. Samuti uurib käesolev töö esmakordselt, millised tegurid on kõige olulisemad *A. alata* nakatumise ja selle intensiivsuse määramisel säilitusperemeestel. Metssigade nakkust käsitlevad uuringud on siiani keskendunud vaid sellele, kui suur osa loomadest on nakatunud ning vähestes töödes on läbi viidud ka lihtsaid  $\chi^2$ -teste, leidmaks, millest võib nakkus sõltuda (Paulsen *et al*, 2012; Paulsen *et al*, 2013). Kuid seni puuduvad detailsemad uuringud, mis seletaks erinevate tegurite mõju säilitusperemeeste nakatumisele.

Käesolevas töös leiti, et pisinärlised sobivad imiussi *A. alata* esinemise kindlakstegemiseks loodusest ning mudelorganismideks nakkuse edasikandumist mõjutavate tegurite uurimisel. Nakkuse kindlakstegemiseks pisiimetajatel sobib varem väljatöötatud AMT metoodika. Uuritava proovina sobib kasutada kogu (nahastatud) isendit või lihakeha, millelt on sisikond eemaldatud. Pisiimetajate uurimisel on metssigade ees mitmeid eeliseid. Esiteks on lühikese aja jooksul lihtsam kokku koguda arvestatav valim värskeid proove. Teiseks on pisiimetajate puhul hõlbus uurida läbi kogu lihakeha, mitte ainult väike osa kogu loomast, nagu seda tehakse metssigade uurimisel (Riehn *et al*, 2010). Seega, kui loom on nakatunud, siis suure tõenäosusega see ka analüüsi käigus kinnitatakse. Pisiimetajad näitavad nakkuse olemasolu või selle puudumist lokaalselt, kuna nende kodupiirkond on metssigade omast märkimisväärselt väiksem. Võrdluses metssigade päevase liikumisulatuslega (1,3 km<sup>2</sup> (Podgórski *et al*, 2013)), jääb leethiire kodupiirkonna suurus alla 2000 m<sup>2</sup> (Crawley, 1969), kaelushiirtel alla 2300 m<sup>2</sup> ja juttsehg-hiirtel alla 2400m<sup>2</sup> (Vukicevic-Radic *et al*, 2006). Väikese kodupiirkonna tõttu sobivad pisiimetajad ka *A. alata* nakkuse edasikandumist mõjutavate faktorite uurimiseks paremini kui metssead. Arvestades metssigade liikumisteedekonna suurt ulatust, on raske hinnata, kust nad nakkuse on saanud. Samas tuleb silmas pidada, et näriliste ja putuktoiduliste nakatumismäära ei saa otseselt üldistada metssigadele.

Siiski näitab käesolev magistr töö, et pisiimetajate kasutamisel nakkusohu kindlakstegemisel on piirangud. Nii täisvalimiga kui ka vähendatud valimiga mudelid

näitasid, et pisiimetajad on sagedamini nakatunud loodusliku toidubaasiga aladel, mis tuleb tõenäoliselt sellest, et antropogeense toidu olemasolul pole neil vajadust kõrge energiasisaldusega loodusliku toidu järele. Seega söövad nad vähem *A. alata* lisaperemehi – konni ja konnakulleseid. Nakatunud isendite analüüsimisel selgus, et toidubaasil on mõju ka nakkuse intensiivsusele. Loodusliku toidubaasiga aladel, olid pisiimetajad nakatunud suurema arvu mesotserkaaridega kui antropogeensetel aladel.

Kaelushiirel moodustab loomne osa toidust 20-40% (Abt ja Bock, 1998). Leethiirtel moodustab looduslikes elupaikades loomne toit suvel umbes 25% toidust, sügisel 15% ja talvel kõigest 5% (Gebczynska, 1976). Juttselg-hiirtel moodustab antropogeense toidubaasiga linnapiirkondades loomne toit olenevalt aastaajast 4-14,5% toidust (Babinska-Werka ja Garbarczyk, 1981). Kuna toit\*biotoop interaktsioon ei olnud statistiliselt oluline, siis vähendab antropogeenne toidubaas nakkuse riski mõlemas biotoobis ühtmoodi ning konnad langevad arvatavasti pisiimetajate saagiks peamiselt antropogeense toidu puudumise korral. Seega, kui eesmärgiks on uurida parasiidi olemasolu keskkonnas, siis peab uurima pisiimetajaid, kellel puudub ligipääs antropogeensele toidule, sest vastasel juhul ei pruugi nakkus isendites avalduda.

Käesolevas töös oli vaid üks püügikoht, kus vaatamata antropogeensele toidule esines *A. alata* mitmel isendil (4/7 olid nakatunud, keskmine mesotserkaaride arv nakatunud isenditel – 2,25). Selleks oli ratsaspordibaas, kus lõksud asetsevad nii hoonetes kui ka väljas koplite ümbruses. Võimalik, et taolises hoonetekompleksis on närilised harjunud suure koguse kergesti kättesaadava antropogeense toiduga ning lõksus olev praeleib ja šokolaad ei pakkunud neile huvi. Nii võisid lõksu sattuda isendid, kes toituvad mitmekesisemalt, olid hoonetesse saabunud hiljuti või noored, kes alles tutvuvad erinevate toiduobjektidega. Samas olid ka sama piirkonna looduslikult alalt püütud isendid sageli nakatunud (11/25 olid nakatunud, min mesotserkaaride arv – 1, max mesotserkaaride arv – 30). Selleks, et saada teada, kas erandlikud tulemused on põhjustatud püügikoha iseärasustest, on vaja suurendada valimit ja otsida juurde sarnase biotoobi ja väga rohke antropogeense toidubaasiga alasid.

Mudelitest selgus, et sagedamini on nakatunud kergemad isendid. Selline tulemus on seletatav kaalu ja toidu vahelise seosega – pisiimetajate keskmine kaal oli loodusliku toiduga aladel väiksem kui antropogeense toiduga aladel. Seega ongi kergemad ehk looduslikku toitu söövad pisiimetajad sagedamini nakatunud. Samas oli nakkuse intensiivsuse ja kaalu vahel positiivne seos: mida raskem oli pisiimetaja, seda rohkem

oli tal mesotserkaare. Leethiire ja *Apodemus* spp. liikmete sigimine algab märtsis – aprillis ning lõpeb vastavalt septembris ja oktoobris (Bergstedt, 1965). Juttself-hiirtel on tavaliselt kolm kuni viis, kaelushiirtel enamasti kaks (kuni neli) ja leethiirtel neli-viis pesakonda aastas (Remm *et al*, 2015). Käesoleva töö lõksupüük toimus valdavalt sügisesel perioodil, seega oli pisiimetajate kaal seotud nende vanusega – nooremad isendid olid kergemad kui vanemad. Nakkus püsib lisaperemes terve tema elu (Paulsen *et al*, 2013), mistõttu olid vanemad isendid intensiivsemalt nakatunud – olid pikema eluea tulemusena kogunud organismi rohkem parasiite. Kuna interaktsioon toit\*kaal ei olnud statistiliselt oluline, siis vähendab antropogeenne toidubaas erinevas kaalus pisiimetajate nakkusohu sarnaselt. Antud tulemused kinnitavad töös püstitatud hüpoteesi, mille järgi on raskemad isendid intensiivsemalt nakatunud kui kerged.

Pisiimetajad olid sagedamini nakatunud niisketes biotoopides. Peremeeste kõrgemat nakkusmäära seostatakse tavaliselt veekogude lähedusega, sest need on *A. alata* vahe- ja lisaperemeestele sobivateks elupaikadeks (Wójcik *et al*, 2001; Möhl *et al*, 2009). *A. alata* vajab kuni mesotserkaari staadiumini veekeskkonda (Möhl *et al*, 2009) ning seega on säilitusperemeestel suurem tõenäosus saada nakkus veekogude läheduses. Antud tulemus näitab, et niiske ja kuiv biotoop eristuvad teineteisest selgelt ja kinnitab töö hüpoteesi, mille kohaselt on niiskes biotoobis säilitusperemeeste nakkus sagedasem. Siiski ei olnud biotoop nakkuse intensiivsust määravate parimate mudelite seas, mis võib olla põhjustatud väikesest valimist (48 isendit). Selleks, et teada, kas biotoop on nakkuse intensiivsuse määramisel oluline faktor, tuleb suurendada valimit erinevatest biotoopidest püütud pisiimetajatega.

Pisiimetajate eelised metssigade ees on nende lihtne kättesaadavus ja väike kehasuurus ehk lühikese ajaga saab uurida läbi terve proovi, mistõttu valenegatiivne tulemus on vähetõenäolisem kui metssea puhul. Siiski tuleb arvestada, et pisiimetajate nakatumist parasiidiga *A. alata* mõjutab nende toidubaas. Seega saab nakkuse registreerimiseks kasutada ainult loodusliku toidubaasiga aladelt püütud loomi, sest antropogeenset päritolu toidu olemasolul, ei pruugi neist nakkust leida. Majapidamised, toiduainete ladustamiseks kasutatavad hooned, loomakasvatuasutused, viljapõldude ja kasutusel olevate metssigade söödaplatside lähedused ei sobi antud eesmärgi tarbeks pisiimetajate püüdmiseks. Võttes arvesse, et käesolevas töös uuritud näriliste kodupiirkonnad varieeruvad 2000-2400 m<sup>2</sup> (Crawley, 1969; Vukicevic-Radic *et al*, 2006), siis peaks viima lõksupüüki läbi vähemalt 45-50 meetri kaugusel majapidamistest, viljapõldudest ja muudest antropogeensetest toiduallikatest. Seejuures tuleb meeles pidada, et

pisiimetajate järgi saab nakkust keskkonnas hinnata vaid lokaalselt, väikestes piirkondades. Selleks, et uurida nakkuse levikut suuremates piirkondades, on vajalik püüki teostada piisavalt hulgal nõutud tingimustele vastavatatel püügiialadel uurimispiirkonnas.

Siiski ei saa veel öelda, kas pisiimetajate ja metssigade nakatumist mõjutavad samad tegurid. Selleks oleks vaja koguda suurem valim pisiimetajaid ning läbi viia sarnane uuring metssigadega. Samuti on täiendavad metssigadele keskenduvad tööd vajalikud, sest pisiimetajate nakkusmäärasid ei saa otseselt üle kanda teistele säilitusperemeestele.

## Kokkuvõte

Parasiidi *A. alata* diagnoosimine on viimastel aastatel olnud Euroopas tõusuteel. Kuna keeritsusside identifitseerimisel kasutatav tehisseede meetod ei ole *A. alata* vastsete leidmiseks piisavalt efektiivne ning parasiidil on võime nakatada inimest, siis on vajalik uurida tema nakkuse levikut ja selle avaldumist. Inimene võib nakatuda, süües ebapiisavalt küpsetatud liha, mis sisaldab *A. alata* mesotserkaare. Suurimaks ohuks inimesele peetakse metssiga, kes on *A. alata* säilitusperemees. Säilitusperemehed on ka pisiimetajad, kuid puuduvad varasemad tööd, mis uuriks nende nakatumist selle parasiidiliigiga. Samuti puuduvad tööd, mis uuriks erinevate tegurite mõju säilitusperemeeste nakkusele. Antud töö üritab seda tühimikku teadmistes täita.

Käesoleva töö eesmärk oli töötada välja *A. alata* mesotserkaaride avastamise meetod pisiimetajate jaoks, uurida, kas pisiimetajad on sobivad *A. alata* nakkuse määramiseks looduses ja uurida nakkuse avaldumist erinevates tingimustes pisiimetajate populatsioonis. Selle uurimiseks koguti erinevatest biotoopidest ja toidubaasidega piirkondadest lõksupüügiga 182 pisiimetajat, keda uuriti *A. alata* spetsiifilise identifitseerimismeetodiga.

Töö tulemusena selgus, et pisiimetajad sobivad *A. alata* nakkuse kindlakstegemiseks looduses, ning selleks sobib varem väljatöötatud AMT metoodika. Samas leiti, et pisiimetajate kasutamisel mudelorganismidena on piirangud. Loodusliku toidubaasiga aladel olid pisiimetajad sagedamini nakatunud kui piirkondades, kus neil oli ligipääs antropogeenset päritolu toidule. Toidubaas mõjutas ka nakatunud isendite nakkuse intensiivsust – loodusliku toiduga piirkondades olid pisiimetajad intensiivsemalt nakatunud. Selgus, et sagedamini olid nakatunud kergemad isendid, kuid samas oli kaalu ning nakkuse intensiivsuse vahel positiivne seos: mida raskem loom, seda rohkem parasiite. Biotoopide võrdlemisel leiti, et pisiimetajad olid sagedamini nakatunud niisketes piirkondades.

Käesolev töö näitab, et pisiimetajad sobivad *A. alata* nakkuse registreerimiseks looduses, kuid selleks tuleb kasutada loodusliku toidubaasiga piirkondi. Lisaks tuleb arvestada sellega, et pisiimetajad näitavad nakkuse olemasolu vaid lokaalselt, sest nende kodupiirkond on väga väike.

## Summary

### ***Alaria alata* infection in paratenic hosts in Estonia**

In recent years, the findings of the parasite *A. alata* have become more frequent in Europe. It is necessary to study the distribution and manifestation of infection, because the pooled-sample digestion method for the detection of *Trichinella* is not effective for detecting *A. alata* mesocercariae and the parasite is capable of infecting humans. Humans may become infected by eating inadequately cooked meat containing *A. alata* mesocercariae. Wild boar, who is a paratenic host of *A. alata*, is considered to be the greatest threat to humans. Small mammals are also paratenic hosts, but no research has been done on their infection with this parasite. Currently, there is no investigation on different factors that affect the infection of paratenic hosts. This study attempts to fill that gap.

The aim of this study was to develop the method for detecting *A. alata* infection in small mammals, find out, if small mammals are suitable for detecting *A. alata* infection in the environment and to study the manifestation of infection in different conditions in small mammal populations. 182 small mammals were trapped in different areas with various biotopes and food resources and examined with the *A. alata* mesocercariae migration technique.

The results of this study show that small mammals are suitable for detecting *A. alata* infection in the environment and previously developed AMT methodology is appropriate for it. However, it was also found that using small mammals as model organisms has its limitations. Small mammals were more frequently infected in areas with natural food resources than in areas with anthropogenic food. Food resources also affected the intensity of the infection in animals – small mammals were infected with more mesocercariae in areas with natural food resources. The study revealed that heavy specimens were infected less frequently, but at the same time there was a positive correlation between the individual's weight and the intensity of the infection: heavier individuals had more parasites. Comparison of biotopes showed that small mammals were more frequently infected in wet than in dry habitats.

The current study shows that small mammals are suitable for detecting *A. alata* infection in the environment, but areas with natural food resources should be used. Also, it should be taken into account that small mammals represent the distribution of *A. alata* only on a small scale, because their home ranges are small.

## **Tänuavaldused**

Täna oma juhendajaid – Ragne Oja ja Epp Moksi toetuse ning abi eest välitööde läbiviimisel, andmeanalüüsi õpetamisel ja töö kirjutamisel. Välitöödel abistamise eest tänan Aile Sumbergi, Andres Pärnalaasi, Kaupo Artelit, Fred Pihot, Teivi Laurimäed, Lauri Saksi, Joonas Oja, Egle Tammelehte, Marju Keisi ja Ihaste ratsaspordi ja vabaajakeskust. Lisaks tänan andmeanalüüsi õpetamise eest Cliona Georgia Dalbergi.

## Kasutatud kirjandus

Al-Sabi, M. N. S., Chriél, M., Jensen, T. H., Enemark, H. L., 2013. Endoparasites of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the red fox (*Vulpes vulpes*) in Denmark 2009-2012 – A comparative study. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 144-151.

Abt, K. F., Bock, W. F., 1998. Seasonal variations of diet composition in farmland field mice *Apodemus* spp. and bank voles *Clethrionomys glareolus*. *Acta Theriologica*, 43, 379-389.

Babinska-Werka, J., Garbarczyk, H., 1981. Animal Components of the Diet of the Striped Field Mouse under Urban Conditions. *Acta Theriologica*, 26, 301—318.

Bagrade, G., Kirjušina, M., Vismanis, K., Ozoliņš, J., 2009. Helminth parasites of the wolf *Canis lupus* from Latvia. *Journal of Helminthology*, 83, 63-68.

Berge, V., Keidāne, D., Krūklīte, A., 2014. Invasion of *Alaria mesocercariae* in wild boar in Latvia. *PROCEEDINGS of Conference „Research and Practice in Veterinary Medicine – 2014*, 18-21.

Bergstedt, B., 1965. Distribution, Reproduction, Growth and Dynamics of the Rodent Species *Clethrionomys glareolus* (Schreber), *Apodemus flavicollis* (Melchior) and *Apodemus sylvaticus* (Linne) in Southern Sweden. *Oikos*, 16, 132-160.

Borecka, A., Gawor, J., Malczewska, M., Malczewski, I., 2009. Prevalence of zoonotic helminth parasites of the small intestine in red foxes from central Poland. *Medycyna Weterynaryjna*, 65, 33-35.

Bružinskaitė-Schmidhalter, R., Šarkūnas, M., Malakauskas, A., Mathis, A., Torgerson P. R., Deplazes, P., 2012. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Lithuania. *Parasitology*, 139, 120-127.

Buller, I. D. 2012. More Hosts, More Problems: Factors Related to the Distribution and Abundance of the Four-Host Trematode Parasite *Alaria* spp. in Amphibians in the San Francisco Bay Area of California, USA. University of Colorado at Boulder: lk 57.

Crawley, M. C., 1969. Movements and Home-Ranges of *Clethrionomys glareolus* Scherber and *Apodemus sylvaticus* L. In North-East England. *Oikos*, 20, 310-319.

Dorny, P., Praet, N., Deckers, N., Gabriel, S., 2009. Emerging food-borne parasites. *Veterinary Parasitology*, 163, 196–206.

Esīte, Z., Deksne, G., Bagrade, G., 2012. Overview of *Alaria alata* distribution in different host animals in Latvia. Proceedings of Conference on „Current Events in Veterinary Research and Practice“. Jelgava, Latvia, 22-23.nov. 2012. 36-39.

Euroopa ühenduste komisjoni määrus nr 2075/2005, 5. detsember 2005. Kasutatud 24.05.2014.

Fernandes, B.J., Cooper, J.D., Cullen, J.B., Freeman, R.S., Ritchie, A.C., Scott, A.A., Stuart, P.F., 1976. Systemic infection with *Alaria americana* (Trematoda). *Canadian Medical Association Journal*, 115, 1111-1114.

Fosse, J., Seegers, H., Magras, C., 2008. Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comparative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe. *Veterinary Research, BioMed Central*, 39, 1-16.

Gebczynska, Z., 1976. Food Habits of the Bank Vole and Phenological Phases of Plants in an Oak Hornbeam Forest. *Acta Theriologica*, 21, 223—236.

González-Fuentes, H., Hamedy, A., Koethe, M., Borell, E., Luecker, E., Riehn, K., 2015. Effect of temperature on the survival of *Alaria alata* mesocercaria. *Parasitology Research*, 114, 1179-1187.

Goüy de Bellocq, J., Sarà, M., Casanova, J.C., Feliu, C., Morand, S., 2003. A comparison of the structure of helminth communities in the woodmouse, *Apodemus sylvaticus*, on islands and the western Mediterranean and continental Europe. *Parasitology Research*, 90, 64-70.

Järvis, T., 1998. Koerte parasitoosid. EPMÜ Kirjastus, lk 27-28.

Kapel, C.M.O., 2005. Changes in the EU legislation on *Trichinella* inspection—New challenges in the epidemiology. *Veterinary Parasitology*, 132, 189–194.

- Keskkonnaagentuur, 2015. Jahiulukite küttime Eestis 2014/2015 jahihooajal.
- Mehlhorn, H., 2008. Encyclopedia of Parasitology. Third edition. Springer, lk. 52.
- Moks, E., Jõgisalu, I., Saarma, U., Talvik, H., Järvis, T., Valdmann, H., 2006. Helminthologic survey of the wolf (*Canis lupus*) in Estonia, with an emphasis on *Echinococcus granulosus*. Journal of Wildlife Diseases, 42, 359-365.
- Möhl, K., Große, K., Hamedy, A., Wüste, T., Kabelitz, P., Lücker, P., 2009. Biology of *Alaria* spp. and human exposition risk to *Alaria mesocercariae* — a review. Parasitology Research, 105, 1-15.
- Paulsen, P., Ehebruster, J., Irschik, I., Lücker, E., Riehn, K., Winkelmayr, R., Smulders, F. J. M., 2012. Findings of *Alaria alata* mesocercariae in wild boars (*Sus scrofa*) in eastern Austria. European Journal of Wildlife Research, 58, 991- 995.
- Paulsen, P., Forejtek, P., Hutarova, Z., Vodnansky, M., 2013. *Alaria alata* mesocercariae in wild boar (*Sus scrofa*, Linnaeus, 1958) in south regions of Czech Republic. Veterinary Parasitology, 197, 384-387.
- Podgórski, T., Baś, G., Jędrzejewska, B., Sönnichsen, L., Śnieżko, S., Jędrzejewski, W., Okarma, H., 2013. Spatiotemporal behavioral plasticity of wild boar (*Sus scrofa*) under contrasting conditions of human pressure: primeval forest and metropolitan area. Journal of Mammalogy, 94, 109–119.
- Portier, J., Jouet, D., Ferté, H., Gibout, O., Heckmann, A., Boireau, P., Vallée, I., 2011. New data in France on the trematode *Alaria alata* (Goeze, 1792) obtained during *Trichinella* inspections. Parasite, 18, 271-275.
- Portier, J., Jouet, D., Vallée, I., Ferté, H., 2012. Detection of *Planorbis planorbis* and *Anisus vortex* as first intermediate hosts of *Alaria alata* (Goeze, 1792) in natural conditions in France: Molecular evidence. Veterinary Parasitology, 190, 151- 158.
- Remm, J., Kalda, O., Valdmann, H., Moks, E., 2015. Eesti Imetajad. Liikide tundmaõppimise teejuht. Tartu Ülikooli ökoloogia- ja maateaduste instituut.

Riehn, K., Hamedy, A., Große, K., Zeitler, L., Lücker, E., 2010. A novel detection method for *Alaria alata* mesocercariae in meat. Parasitology Research, 107, 213-220.

Riehn, K., Hamedy, A., Alter, T., Lücker, E., 2011. Development of a PCR approach for differentiation of *Alaria* spp. mesocercariae. Parasitology Research, 108, 1327-1332.

Riehn, K., Hamedy, A., Große, K., Wüste, T., Lücker, E., 2012. *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa*, Linnaeus, 1758) in the eastern parts of Germany. Parasitology Research, 111, 1857-1861.

Riehn, K., Hamedy, A., Saffaf, J., Lücker, E., 2013. First interlaboratory test for detection of *Alaria* spp. mesocercariae in meat samples using the *Alaria* spp. mesocercariae migration technique (AMT). Parasitology Research, 112, 2653-2660.

Riehn, K., Lalkovski, N., Hamedy, A., Lücker, E., 2014. First detection of *Alaria alata* mesocercariae in wild boars (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) from Bulgaria. Journal of Helminthology, 88, 247-249.

Shimalov, V. V. & Shimalov, V. T., 2002. Helminth fauna of the racoon dog (*Nyctereutes procyonoides* Gray, 1834) in Belorussian Polesie. Parasitology Research, 88, 944-945.

Shimalov, V. V., 2009. Гельминтофауна амфибий (Vertebrata: Amphibia) в Республике Беларусь Паразитология, 43, 118-129.

Sikó Barabási, S., Fok, E., Gubányi, A., Mészáros, F., Cozma, V., 2010. Helminth fauna of the small intestine in the European red fox, *Vulpes vulpes* with notes on the morphological identification of *Echinococcus multilocularis*. Scientia Parasitologica. 11, 141-151.

Szafrańska, E., Wasielewski, O., Bereszyński, A., 2010. A faecal analysis of helminth infections in wild and captive wolves, *Canis lupus* L., in Poland. Journal of Helminthology. 84, 415-419.

Vukicevic-Radic, O., Matic, R., Kataranovski, D., Stamenkovic, S., 2006. Spatial organization and home range of *Apodemus flavicollis* and *A. agrarius* on Mt. Avala, Serbia. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 52, 81–96.

Wasiluk, A., 2013. *Alaria alata* infection - threatening yet rarely detected trematodiasis. *Journal of Laboratory Diagnostics*, 49, 33-37.

Wójcik, AR., Grygon-Frankiewicz, B., Zbikowska, E., 2001. The studies of the invasion of *Alaria alata* (Goeze, 1782) in the Province of Kuyavia and Pomerania. *Wiad Parazytol*, 47, 423– 426.

Zhigileva, O. N., 2011. Correlation between Biodiversity Indices of Small Mammals and Their Helminths in West Siberian Ecosystems. *Contemporary Problems of Ecology*, 4, 416-422.

## Lisa 1. Valim

Liik	Toit		Biotoop		Nakkus		Kokku
	Looduslik	Antropogeenne	Niiske	Kuiv	Nakatunud	Terved	
<i>Apodemus</i>	30	39	47	22	16	53	69
<i>A. flavicollis</i>	20	28	28	20	9	39	48
<i>A. agrarius</i>	10	11	19	2	7	14	21
<i>Myodes</i>							
<i>M. glareolus</i>	85	17	58	44	31	71	102
<i>Muu</i>	8	3	5	6	1	10	11
<i>M. agrestis</i>	2	1	2	1	0	3	3
<i>S. araneus</i>	4	0	0	4	0	4	4
<i>S. caecutiens</i>	1	0	1	0	1	0	1
<i>M. musculus</i>	0	2	2	0	0	2	2
<i>S. minutus</i>	1	0	0	1	0	1	1
	123	59	110	72	48	134	182

## Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, \_\_\_\_\_ Triin Käbin \_\_\_\_\_,  
(*autori nimi*)

annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihlitsentsi) enda loodud teose:

\_\_\_\_\_ *Alaria alata* nakkus säilitusperemeestel Eestis \_\_\_\_\_,  
(*lõputöö pealkiri*)

mille juhendaja on \_\_\_\_\_ Ragne Oja ja Epp Moks \_\_\_\_\_,  
(*juhendaja nimi*)

reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni; üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

kinnitan, et lihlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 25.05.2015