



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE

**Promocijas darba
kopsavilkums**

**Summary of
Doctoral Thesis**

Zanda Ozoliņa

**TREMATODES
ALARIA ALATA (GOEZE, 1782)
ATTĪSTĪBAS CIKLA IZPĒTE
DAŽĀDOS PARAZĪTA
SAIMNIEKOS LATVIJĀ**

**LIFE CYCLE OF TREMATODE
ALARIA ALATA (GOEZE, 1782)
IN DIFFERENT HOSTS IN LATVIA**

Rīga 2026



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE

**MEDICĪNAS UN DZĪVĪBAS
ZINĀTŅU FAKULTĀTE**

Zanda Ozoliņa

**TREMATODES *ALARIA ALATA* (GOEZE, 1782)
ATTĪSTĪBAS CIKLA IZPĒTE DAŽĀDOS
PARAZĪTA SAIMNIEKOS LATVIJĀ**

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

zinātnes doktora grāda (*Ph. D.*) iegūšanai
dabaszinātnēs (bioloģijā)
Apakšnozare – zooloģija

Rīga 2026

Promocijas darbs izstrādāts Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā BIOR no 2015. gada līdz 2026. gadam.



Darbs sastāv no ievada, 7 nodaļām, nobeiguma, literatūras saraksta.

Darba forma: publikāciju kopa bioloģijas nozarē, zooloģijas apakšnozarē.

Darba zinātniskā vadītāja asoc. prof., *Dr. biol.* **Gunita Dekсне.**

Darba recenzenti:

- 1) *Ph. D.* **Epp Moks;**
- 2) *Dr. med.* **Sniedze Laivacuma;**
- 3) *Dr. biol.* **Ainārs Auniņš.**

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2026. gada 5. novembrī Latvijas Universitātes Bioloģijas nozares promocijas padomes atklātā sēdē.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes bibliotēkā Rīgā, Kalpaka bulvārī 4.

LU bioloģijas zinātņu
nozares promocijas
padomes priekšsēdētājs _____ / **Guntis Brūmelis** /
(paraksts)

padomes sekretāre _____ / **Ilze Elbere** /
(paraksts)

© Zanda Ozoliņa, 2026
© Latvijas Universitāte, 2026

ISBN 978-9934-36-689-5
ISBN 978-9934-36-690-1 (PDF)

ANOTĀCIJA

Darba nosaukums: “Trematodes *Alaria alata* (Goeze, 1782) attīstības cikla izpēte dažādos parazīta saimniekos Latvijā.”

Trematode *Alaria alata* ir plaši izplatīta Eiropā, un tai raksturīgs sarežģīts heteroksēns attīstības cikls, kurā iesaistīti plēsēji kā definitīvie saimnieki, ūdens gliemeži kā pirmie starpsaimnieki, abinieki kā otrie starpsaimnieki, kā arī paratēniskie saimnieki, tostarp mežacūkas un citi zīdītāji. Kopš 2005. gada *A. alata* mezocerkāriji arvien biežāk tiek konstatēti mežacūku muskulatūrā Eiropā, pievēršot uzmanību šī parazīta potenciālajam zoonotiskajam riskam, kas saistīts ar medījuma gaļas patēriņu.

Šī darba mērķis bija izpētīt *A. alata* dzīves ciklu, analizēt tā sastopamību dažādās saimnieku grupās, izvērtēt faktorus, kas ietekmē olu un miracīdiju attīstību un izdzīvošanu, kā arī novērtēt zoonotisko risku, kas saistīts ar mežacūku gaļas patēriņu.

Pētījums balstīts uz ilgtermiņa datiem (2004–2026) un ir līdz šim visaptverošākais *A. alata* pētījums Latvijas savvaļas dzīvnieku populācijās. Darbā analizēti plēsēji, abinieki un mežacūkas, kā arī veikti eksperimentāli pētījumi par *A. alata* olu un miracīdiju attīstību un izdzīvošanu dažādos vides apstākļos.

Rezultāti parāda, ka *A. alata* ir plaši izplatīta Latvijā, un augsta sastopamība plēsēju populācijās norāda uz aktīvu un stabilu parazīta apriti dabiskos apstākļos. Abinieki apstiprināti kā nozīmīgi otrie starpsaimnieki, un mezocerkāriji visbiežāk konstatēti varžu sugās, galvenokārt galvas reģionā un iekšējos orgānos. Eksperimentāli pierādīts, ka olu un miracīdiju attīstību būtiski ietekmē temperatūra, izžūšana un ūdens dinamika, kas veicina parazīta saglabāšanos mērenā klimatā. Neskatoties uz salīdzinoši augsto mezocerkāriju sastopamību mežacūku gaļā, novērtētā varbūtība cilvēkam saslimt ar alariozi ir zema.

Pētījuma rezultāti sniedz jaunas atziņas par *A. alata* ekoloģiju, dzīves ciklu un zoonotisko potenciālu Ziemeļeiropā, kā arī veicina parazītu uzraudzības un riska novērtēšanas pilnveidošanu pārtikas drošības kontekstā.

Pētījums veikts Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā “BIOR”, Mikrobioloģijas un patoloģijas laboratorijā, Parazitoloģijas grupā (2015–2025).

Atslēgvārdi: *Alaria alata*, dzīves cikls, mezocerkāriji, abinieki, mežacūka, plēsēji, zoonotiskais risks

SATURA RĀDĪTĀJS

ANOTĀCIJA	3
IEVADS	5
Pētījuma zinātniskā novitāte un praktiskā nozīme	7
Pētījumu rezultātu aprobācija	7
1. TEORĒTISKAIS PAMATOJUMS	10
1.1. <i>A. alata</i> transmisijas ekoloģija dažādos saimniekos	10
1.2. <i>A. alata</i> zoonotiskais potenciāls	13
2. MATERIĀLI UN METODES	14
2.1. Metacerkāriju un pieaugušo <i>A. alata</i> konstatēšana	14
2.2. Olu attīstības un dzīvotspējas eksperimentālā pētījuma dizains	14
2.3. Mezocerkāriju konstatēšana	15
2.3.1. Otrie starpsaimnieki: abinieki	15
2.3.2. Paratēniskie saimnieki: mežacūka un Eirāzijas lūsis	16
2.4. Statistiskā analīze	16
3. REZULTĀTI	18
3.1. Metacerkāriji un pieaugušas <i>A. alata</i> (Publikācijas IV; V)	18
3.2. Olu attīstība (Publikācija I)	19
3.2.1. Gaismas ietekme	19
3.2.2. Temperatūras ietekme	21
3.2.3. Izžūšanas un kustīgas ūdens vides ietekme	22
3.3. Mezocerkāriji otrajos starpsaimniekos (Publikācija III)	22
3.4. Mezocerkāriji paratēniskajos saimniekos	23
3.4.1. <i>A. alata</i> mezocerkāriju noteikšanas metožu salīdzinājums (Publikācija VI)	23
3.4.2. <i>A. alata</i> mezocerkāriju sastopamība mežacūkās (Publikācija II)	23
3.4.3. <i>A. alata</i> zoonotiskā potenciāla novērtējums (Publikācija II)	25
3.4.4. <i>A. alata</i> mezocerkāriji Eirāzijas lūšos (Publikācija IV)	25
4. DISKUSIJA	26
4.1. Vides un ekoloģisko faktoru nozīme <i>A. alata</i> transmisijā Latvijā	26
4.2. Diagnostikas izaicinājumi un metodoloģiskie ierobežojumi	30
4.3. <i>A. alata</i> zoonotiskais potenciāls	31
SECINĀJUMI	33
AIZSTĀVAMĀS TĒZES	34
PATEICĪBAS	35
IZMANTOTĀS LITERATŪRAS SARAKSTS	73

IEVADS

Savvaļas dzīvnieku veselība ir būtiska ilgtspējīgas attīstības sastāvdaļa un cieši saistīta ar “Vienas veselības” (*One Health*) pieeju, kas uzsver cilvēku, dzīvnieku un ekosistēmu veselības savstarpējo saistību. Šajā kontekstā parazīti ir nozīmīga bioloģiskās daudzveidības daļa, kam ir būtiska loma saimniecorganismu populāciju regulēšanā un ekosistēmu struktūras un funkciju uzturēšanā. Dabiskajās ekosistēmās parazītu daudzveidība veicina ekoloģisko stabilitāti, ietekmējot sugu mijiedarbību, trofiskās attiecības un enerģijas apriti barības ķēdēs.

Trematodēm raksturīgi sarežģīti heterokseni attīstības cikli, kuros iesaistīti vairāki saimnieki dažādos trofiskajos līmeņos. Parasti tajos ir iesaistīti ūdens vidē dzīvojoši starpsaimnieki un sauszemes galīgie saimnieki, tādējādi nodrošinot saikni starp ūdens un sauszemes ekosistēmām. Šādu ciklu sarežģītība palielina transmisijas iespējas un veicina parazītu izdzīvošanu, vienlaikus radot ciešu atkarību no dažādiem biotiskiem un abiotiskiem faktoriem (Poulin un Cribb, 2002; Galaktionov un Dobrovolskij, 2003). Tādēļ trematožu cirkulāciju dabā būtiski ietekmē vides apstākļi, saimnieku kopienu struktūra un ekoloģiskās mijiedarbības.

Daudzas trematodes ir nozīmīgi zoonotiski parazīti, kuru transmisija uz cilvēkiem notiek, uzņemot pārtiku, kas satur invazīvās kāpuru stadijas. Klasiski piemēri ir *Fasciola hepatica*, ar kuru cilvēki invadējas, lietojot uzturā kontaminētus ūdensaugus, kā arī ar zivīm vai vēžveidīgajiem saistītās trematodes, piemēram, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis* spp. un *Paragonimus* spp. Šie parazīti ir vieni no nozīmīgākajiem pārtikas izcelsmes parazitozoju izraisītājiem pasaulē, un to izplatību lielā mērā nosaka uztura paradumi, pārtikas pagatavošanas tradīcijas un vides apstākļi (Keiser un Utzinger, 2009; Robertson et al., 2014).

Mežacūkas (*Sus scrofa*) ir viena no nozīmīgākajām medījamo dzīvnieku sugām Eiropā, un arvien biežāk tās tiek atzītas par sabiedrības veselībai nozīmīgu pārtikas izcelsmes parazītu saimniekiem (Guardone et al. 2022). Medījamo dzīvnieku gaļa bieži tiek uzskatīta par dabīgu un ilgtspējīgu pārtikas produktu, tomēr tās lietošana uzturā ir saistīta arī ar noteiktiem sabiedrības veselības riskiem, tostarp pārtikas izcelsmes parazitozēm. Atšķirībā no lauksaimniecības dzīvniekiem savvaļas dzīvnieki netiek turēti kontrolētos audzēšanas apstākļos, un to saskare ar parazītiem ir atkarīga no dabiskajiem ekoloģiskajiem procesiem. Tādēļ mežacūkas ieņem nozīmīgu vietu savvaļas dzīvnieku un cilvēka saskares punktā un ir īpaši svarīgas pārtikas nekaitīguma risku novērtēšanā (Guardone et al. 2022).

Starptautiskās pārtikas izcelsmes parazītiem, kas saistīti ar medījamo dzīvnieku gaļas lietošanu uzturā, Eiropā arvien lielāka uzmanība tiek pievērsta *Alaria* spp. Viena no nozīmīgākajām sugām ir *Alaria alata* – mērenās klimata joslas trematode

ar sarežģītu attīstības ciklu, kurā galīgie saimnieki ir plēsēji, pirmie starpsaimnieki – ūdens gliemeži, otrie starpsaimnieki – abinieki, savukārt paratēniskie saimnieki ir dažādi zidītāji, putni un rūpuļi (Möhl et al., 2009). Šajā attīstības ciklā mežacūka ir viens no nozīmīgākajiem paratēniskajiem saimniekiem, kura audos uzkrājas invadētspējīgā mezocerkāriju stadija.

Atšķirībā no vairuma zoonotisko trematožu, *A. alata* raksturīga mezo-cerkāriju stadija, kas nav iecistēta, ir ļoti kustīga audos un spēj invadēt plašu saimnieku loku bez turpmākas attīstības. Šāda transmisijas stratēģija veicina parazīta izplatīšanos barības ķēdēs un nodrošina tā ilgstošu cirkulāciju dažādās ekosistēmās. Mezocerkāriju spēja invadēt plašu saimnieku loku veicina parazīta izplatību un ilgstošu cirkulāciju dabā, vienlaikus apgrūtinot transmisijas ceļu un zoonotiskā riska izvērtēšanu.

Neraugoties uz pieaugošo interesi par šo parazītu, vairāki būtiski *A. alata* bioloģijas un epidemioloģijas aspekti joprojām nav pilnībā noskaidroti. Joprojām trūkst zināšanu par dažādu saimnieku lomu attīstības cikla uzturēšanā, faktoriem, kas ietekmē parazīta attīstību un izdzīvošanu apkārtējā vidē, kā arī par tā izplatību savvaļas dzīvnieku populācijās. Turklāt diagnostikas metožu ierobežojumi, īpaši gaļas pārbaudēs, var veicināt invadēto dzīvnieku skaita un parazīta izplatības nepietiekamu novērtēšanu.

Arī *A. alata* zoonotiskais potenciāls joprojām nav pilnībā noskaidrots. Lai gan Eiropā līdz šim nav apstiprināti cilvēku saslimšanas gadījumi, kas saistīti ar *A. alata*, eksperimentālie pētījumi un ziņojumi par radniecīgām *Alaria* sugām liecina, ka mezocerkāriji spēj invadēt cilvēku kā nejaušu saimnieku. Pieaugot medijamo dzīvnieku gaļas patēriņam un saglabāties tradicionālajām pārtikas pagatavošanas metodēm, pastāv iespēja saskarties ar šo parazītu, lai gan individuālais invāzijas risks pašlaik tiek uzskatīts par zemu.

Ņemot vērā joprojām pastāvošās zināšanu nepilnības, nepieciešami pētījumi, kuros apvienota informācija par parazīta attīstību, saimnieku lomu attīstības ciklā un izplatību savvaļas dzīvnieku populācijās. Tas ļautu labāk izprast *A. alata* transmisiju un izvērtēt tās potenciālo nozīmi sabiedrības veselībā. Šāda pieeja ir īpaši nozīmīga reģionos, kur vides apstākļi un saimnieku daudzveidība veicina parazīta cirkulāciju dabā, bet pieejamie dati joprojām ir ierobežoti.

Pētījuma mērķis ir izpētīt *Alaria alata* attīstības ciklu Latvijā, raksturot faktorus, kas ietekmē parazīta sastopamību dažādos saimniekos, un izvērtēt tā zoonotisko potenciālu.

Lai sasniegtu izvirzīto mērķi, tika noteikti šādi uzdevumi:

1. Noteikt *A. alata* sastopamību definitīvajos saimniekos;
2. Eksperimentāli novērtēt *A. alata* olu un miracīdiju attīstību un izdzīvošanu;
3. Raksturot *A. alata* mezocerkāriju sastopamību abiniekos kā otrajos starpsaimniekos;
4. Noteikt *A. alata* mezocerkāriju sastopamību paratēniskajos saimniekos un izvērtēt diagnostikas metožu piemērotību;
5. Novērtēt *A. alata* zoonotisko potenciālu.

Pētījuma zinātniskā novitāte un praktiskā nozīme

Promocijas darbā pirmo reizi veikta visaptveroša *A. alata* attīstības cikla izpēte Latvijā, apvienojot datus par parazīta sastopamību definitīvajos, starpsaimniekos un paratēniskajos saimniekos. Iegūtie rezultāti būtiski papildina izpratni par *A. alata* transmisiju un faktoriem, kas nodrošina parazīta cirkulāciju dabiskos apstākļos.

Pētījumā eksperimentāli novērtēta dažādu vides faktoru ietekme uz *A. alata* olu un miracīdiju attīstību un izdzīvošanu, nosakot temperatūras, gaismas, izžūšanas un ūdens kustības nozīmi parazīta attīstības procesā. Detalizēti raksturota arī *A. alata* mezocerkāriju sastopamība un lokalizācija abiniekos, identificējot nozīmīgākās otro starpsaimnieku grupas. Savukārt *A. alata* mezocerkāriju konstatēšana Eirāzijas lūsim (*Lynx lynx*) ir jauna saimnieka atradne, kas paplašina zināšanas par šīs trematodes saimnieku spektru.

Pētījuma praktiskā nozīme saistīta ar *A. alata* diagnostikas pilnveidošanu un zoonotiskā riska izvērtēšanu. Darbā izvērtēta dažādu diagnostikas metožu piemērotība mezocerkāriju noteikšanai dzīvnieku audos un sniegti ieteikumi to izmantošanai praksē. Iegūtie dati par *A. alata* sastopamību mežacūkās ļauj objektīvāk novērtēt ar medijamo dzīvnieku gaļas patēriņu saistīto zoonotisko risku Latvijā. Tie papildina zināšanas par parazīta izplatību Eiropā. Pētījuma rezultāti ir izmantojami savvaļas dzīvnieku parazītu monitoringā, veterinārmedicinā un pārtikas nekaitīguma riska novērtēšanā.

Pētījumu rezultātu aprobācija

Originālo publikāciju saraksts

Doktora disertācija balstīta uz šādām zinātniskajām publikācijām, uz kurām tekstā atsaucies norādītas ar romiešu cipariem:

- I. **Ozoliņa, Z.**, Zepa, S., Dekšne, G. (2026). *In vitro* development and hatching success of *Alaria alata* miracidia (Trematoda: Diplostomidae). *Parasitology Research*, 125, 16.
<https://doi.org/10.1007/s00436-026-08637-x>
- II. **Ozoliņa, Z.**, Mateusa, M., Šuksta, L., Liepiņa, L., Dekšne, G. (2020). The wild boar (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) as an important reservoir host for *Alaria alata* in the Baltic region and potential risk of infection in humans. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22, 100485.
<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100485>



III. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G., Pupins, M., Gravele, E., Gavarāne, I., Kirjušina, M. (2021). *Alaria alata* mesocercariae prevalence and predilection sites in amphibians in Latvia. *Parasitology Research*, 120, 145–152. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06951-6>



IV. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Deksnē, G. (2020). First confirmed case of *Alaria alata* mesocercaria in Eurasian lynx (*Lynx lynx*) hunted in Latvia. *Parasitology Research*, 119, 759–762. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06556-8>



V. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Deksnē, G. (2018). The host age-related occurrence of *Alaria alata* in wild canids in Latvia. *Parasitology Research*, 117, 3743–3751. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6074-5>



VI. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2017). Effectiveness of two methods for mesocercariae of *Alaria alata* detection in wild boars (*Sus scrofa*). *Environmental and Experimental Biology*, 15, 25–28. <https://doi.org/10.22364/eeb.15.04>



Citas ar *A. alata* pētījumiem Latvijā saistītas publikācijas

Papildus disertācijā iekļautajām publikācijām autore ir līdzautore vairākām starptautiskām publikācijām par *A. alata* diagnostiku, izmantojot morfoloģiskās un molekulārās metodes. Lai gan šīs publikācijas nav iekļautas promocijas darba pamatā esošo publikāciju sarakstā, tās ir paplašinājušas zināšanas par *A. alata* Latvijā un veicinājušas šī parazīta diagnostikas pieeju izstrādi un izvērtēšanu.

- Kästner, C., Bahn, P., Schönfelder, R., **Ozoliņa, Z.**, Alksne, L., Richter, M. H., Deksnē, G., Mayer-Scholl, A., Johne, A. (2021). Development of a novel method for identification of *Alaria alata* mesocercariae by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Microorganisms*, 9, 1664. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081664>
- Dimzas, D., Chassalevris, T., **Ozoliņa, Z.**, Dovas, C. I., Diakou, A. (2021). Investigation of the food-transmitted parasites *Trichinella* spp. and *Alaria*

spp. in wild boars in Greece by classical and molecular methods and development of a novel real-time PCR for *Alaria* spp. detection. *Animals*, 11, 2803. <https://doi.org/10.3390/ani11102803>

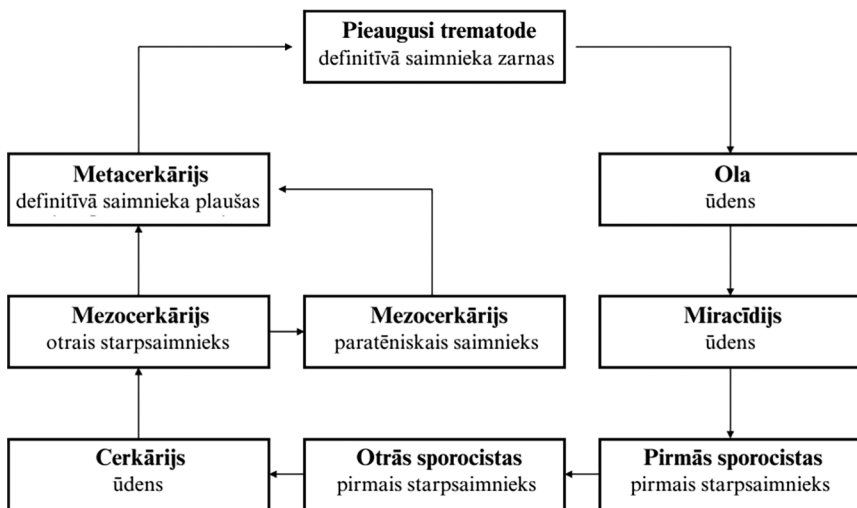
Dalība zinātniskajās konferencēs

1. **Ozoliņa, Z.**, Mateusa, M., Deksnē, G. (2025). "What's Living Inside? A Closer Look at Intestinal Parasites in Latvian Dogs." 11th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Reykjavik, Iceland, 13–15 September 2025.
2. Mateusa, M., **Ozoliņa, Z.**, Müller-Graf, C., Deksnē, G. (2025). "Trichinella spp. and *Alaria alata* – A Risk of Wild Boar Consumption for Human Health in Latvia?" 1st SafeGameMeat Conference, Porto, Portugal, 26–28 May 2025.
3. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Šuksta, L., Kirjušina, M., Gravele, E., Pupins, M., Deksnē, G. (2019). "The Success of the *Alaria alata* Life Cycle in Latvia." The 8th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology (SBSP) and the Annual Meeting of the European Veterinary Parasitology College (EVPC), Copenhagen, Denmark, 10–11 October 2019.
4. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Deksnē, G. (2018). "The Host Age-Related Occurrence of *Alaria alata* in Wild Canids in Latvia." 13th Conference of the European Wildlife Disease Association, Larissa, Greece, 27–31 August 2018.
5. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2018). "The Effects of Different Light Conditions on Trematode *Alaria alata* Egg Embryonation and Hatching Success." 76th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, 31 January 2018.
6. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2017). "Preliminary Report of In Vitro Conditions on the Hatching Time of *Alaria alata* Eggs." 7th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Riga, Latvia, 8–9 June 2017.
7. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2017). "Effectiveness of Two Methods for Detection of *Alaria alata* Mesocercariae in Wild Boars (*Sus scrofa*)." 9th International Conference on Biodiversity Research (ICBR), Daugavpils, Latvia, 26–28 April 2017.
8. **Esīte, Z.**, Jahundoviča, I., Kokina, I., Deksnē, G. (2015). "Constructing Molecular Phylogenetic Trees of the Genus *Alaria* Based on Data Available in GenBank." 8th International Conference on Biodiversity Research (ICBR), Daugavpils, Latvia, 28–30 April 2015.
9. **Esīte, Z.**, Jahundoviča, I., Deksnē, G. (2015). "First Report of DNA Extraction and Characterization of *Alaria alata* in Latvia." 6th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Uppsala, Sweden, 23–24 April 2015.

1. TEORĒTISKAIS PAMATOJUMS

1.1. *A. alata* transmisijas ekoloģija dažādos saimniekos

Alaria alata pirmo reizi aprakstīja Goeze (1782), balstoties uz pieaugušiem parazītiem, kas konstatēti rudajā lapsā (*Vulpes vulpes*). Turpmākajās desmitgadēs atsevišķi tika aprakstītas dažādas parazīta attīstības stadijas abiniekos un cūkās, līdz 20. gadsimta vidū tika noskaidrota to piederība vienotam attīstības ciklam (Duncker, 1896; Stefański un Tarczyński, 1953; Skryabin, 1960). Mūsdienās *A. alata* tiek uzskatīta par visplašāk izplatīto *Alaria* ģints sugu Eiropā un vienīgo šīs ģints sugu ar būtisku epidemioloģisko nozīmi reģionā (Pearson, 1956; Möhl et al., 2009; Robertson et al. 2014; Dimzas et al. 2021; Kästner et al. 2021; Korpysa-Dzirba et al. 2021; Guardone et al. 2022). Tāpat kā citām šīs ģints sugām, arī *A. alata* raksturīgs sarežģīts heteroksēns attīstības cikls, kurā iesaistīts definitīvais saimnieks, divi obligātie starpsaimnieki un fakultatīvi paratēniskie saimnieki (1. attēls) (Bosma, 1934; Pearson, 1956; Möhl et al., 2009).



1. attēls. *Alaria* sugu attīstības cikls (tulkots no Möhl et al. 2009).

Alaria ģints sugām raksturīgs plašs saimnieku spektrs, kas atšķiras atkarībā no parazīta sugas, ģeogrāfiskā reģiona un vides apstākļiem (Pearson, 1956; Möhl et al., 2009). *A. alata* attīstības ciklā iesaistītas vairākas saimnieku grupas, kas pārstāv dažādas parazīta attīstības stadijas, un nozīmīga loma transmisijā ir paratēniskajiem saimniekiem (Möhl et al., 2009; Bečlik et al., 2025). Saimnieka un parazīta mijiedarbību nosaka *A. alata* sarežģītais heteroksēnais attīstības

cikls un dažādajām attīstības stadijām raksturīgās bioloģiskās īpašības. Dažādos saimniekos parazīts veido atšķirīgas attiecības ar saimniekorganismu – no zarnu kolonizācijas un vairošanās definitīvajos saimniekos līdz mezocerkāriju migrācijai un ilgstošai saglabāšanai audos starpsaimniekos un paratēniskajos saimniekos. Šīs mijiedarbības nosaka gan parazīta izraisītās patoloģiskās pārmaiņas, gan dažādu saimnieku nozīmi parazīta transmisijā un attīstības cikla uzturēšanā (Pearson, 1956; Möhl et al., 2009).

Pieaugušie *A. alata* parazīti apdzīvo definitīvo saimnieku (plēsēju) tievās zarnas proksimālo daļu, kur notiek dzimumvairošanās un olas ar saimnieka fekālijām nonāk apkārtējā vidē (Skryabin, 1960; Möhl et al., 2009). Eiropā par nozīmīgākajiem *A. alata* definitīvajiem saimniekiem tiek uzskatītas rudās lapsas (*Vulpes vulpes*) un jenotsuņi (*Nyctereutes procyonoides*), kas darbojas kā galvenie rezervuārsaimnieki, savukārt vilkiem (*Canis lupus*) un kaķveidīgajiem transmisijā, visticamāk, ir mazāka nozīme (Möhl et al., 2009; Bružinskaitē-Schmidhalter et al., 2012; Murphy et al., 2012; Laurimaa et al., 2016; Karamon et al., 2016; Kjær et al., 2021).

Definitīvie saimnieki invadējas, apēdot invadētus otros starpsaimniekus vai paratēniskos saimniekus, kuru audos atrodas dzīvotspējīgi mezocerkāriji. Pēc uzņemšanas mezocerkāriji iekļūst zarnu sienā un migrē caur saimnieka audiem, īpaši diafragmu un plaušām. Plaušās īslaicīgi attīstās par metacerkārijiem (Skryabin, 1965; Möhl et al., 2009). Pēc tam metacerkāriji pa elpošanas ceļiem nonāk rīklē, tiek norīti un atkārtoti nonāk zarnās, kur attīstās par pieaugušiem parazītiem (Mehlhorn, 2001; Möhl et al., 2009). Dzimumgatavību parazīti parasti sasniedz 29–36 dienu laikā pēc nonākšanas zarnās (Skryabin, 1960; Skryabin, 1965; Möhl et al., 2009).

Definitīvajos saimniekos *A. alata* parasti neizraisa būtiskas patoloģiskas pārmaiņas. Augstas invāzijas intensitātes gadījumā var attīstīties zarnu iekaisums, savukārt migrējošie kāpuri atsevišķos gadījumos var izraisīt plaušu bojājumus. Tomēr patoloģiskās pārmaiņas parasti ir vieglas, un nav konstatēta saistība starp invāzijas intensitāti un saimnieka veselības stāvokli (Skryabin 1960; Skryabin 1965; Möhl et al. 2009; Lempp et al. 2017; Klink et al. 2025). Šādas saimnieka un parazīta attiecības veicina ilgstošu parazīta saglabāšanos saimnieku populācijās, vienlaikus nodrošinot efektīvu transmisiju ekosistēmās (Poulin un Cribb 2002; Galaktionov un Dobrovolskij 2003).

Olas, kuras definitīvie saimnieki izdala ar fekālijām, attīstās tikai ūdens vidē. Miracīdiju attīstību un atbrīvošanos no olas būtiski ietekmē vides apstākļi, sevišķi temperatūra un mitrums. Labvēlīgos apstākļos miracīdiji attīstās aptuveni nedēļas laikā, savukārt zemā temperatūrā attīstība ievērojami palēninās, vienlaikus saglabājot olu dzīvotspēju ilgāku laiku (Pearson 1956; Skryabin 1960; Olsen 1974). Iepriekšējos pētījumos pierādīts, ka *Alaria* olas spēj izturēt sasaldāšanu un atsākt attīstību pēc nonākšanas labvēlīgos apstākļos, kas liecina par to augsto izturību pret apkārtējās vides ietekmi (Pearson 1956). Pēc izšķīlšanās miracīdiji invadē saldūdens gliemežus, kas pilda pirmo starpsaimnieku lomu.

Kā *A. alata* pirmie starpsaimnieki visbiežāk minēti planorbīdu un limneīdu dzimtas gliemeži, īpaši *Planorbis planorbis* un *Anisus vortex*, tomēr dati par parazīta sastopamību šajos saimniekos joprojām ir ierobežoti (Wójcik et al. 2002; Portier et al. 2012).

Abinieki ir *A. alata* otrie starpsaimnieki, un tiem ir būtiska nozīme parazīta attīstības cikla uzturēšanā ūdens un sauszemes ekosistēmās. Pēc izdalīšanās no invadētiem gliemežiem, cercāriji aktīvi iekļūst abinieku ādā, zaudē asti un aptuveni divu nedēļu laikā attīstās par mezocercārijiem, kas lokalizējas saimnieka audos, galvenokārt muskulatūrā (Olsen 1974; Möhl et al. 2009; Patrelle et al. 2015; Voelkel et al. 2019). Mezocercāriji ir infekciozā stadija gan definitīvajiem, gan paratēniskajiem saimniekiem, tādēļ tiem ir centrāla nozīme *A. alata* transmisijā. Atšķirībā no citām trematožu kāpuru stadijām mezocercāriji tālāk neattīstās, tomēr saglabā spēju migrēt un ilgstoši saglabāt dzīvotspēju saimnieka audos, tādējādi nodrošinot parazīta cirkulāciju starp dažādiem saimniekiem (Pearson 1956; Möhl et al. 2009).

Par otrajiem starpsaimniekiem var kalpot plašs abinieku sugu klāsts, tostarp brūnā varde (*Rana temporaria*), purva varde (*Rana arvalis*), ūdensvardes (*Pelophylax* spp.) un parastais krupis (*Bufo bufo*). Invāzijas izplatība dažādās sugās un biotopos būtiski atšķiras, sasniedzot no aptuveni 8 % līdz vairāk nekā 80 % (Patrelle et al. 2015; Voelkel et al. 2019; Bełcik et al. 2025; Kirillov et al. 2026). Mezocercāriji var lokalizēties visā saimnieka ķermenī, tomēr dabiskos apstākļos invadētiem abiniekiem parasti neizraisa būtiskas patoloģiskas pārmaiņas. Augstas invāzijas intensitātes gadījumā iespējama saimnieka dzīvotspējas samazināšanās. Tas var padarīt abiniekus vieglāk pieejamus plēsējiem, tādējādi palielinot iespēju parazītam nonākt nākamajā saimniekā (Pearson 1956; Skryabin 1960; Skryabin 1965; Möhl et al. 2009; Patrelle et al. 2015).

Mezocercāriji var ilgstoši saglabāties dažādos paratēniskajos saimniekos, tostarp zīdītājos, rāpuļos un putnos, tādējādi pagarinot parazīta izdzīvošanu un veicinot tā cirkulāciju starp dažādām saimnieku grupām (Skryabin 1960; Möhl et al. 2009; Rentería-Solis et al. 2013; Takeuchi-Storm et al. 2015). No paratēniskajiem saimniekiem īpaša nozīme ir mežacūkai (*Sus scrofa*), ko nosaka tās plašā izplatība, biežā invadētība un nozīme cilvēku uzturā izmantojamo medījamo dzīvnieku vidū (Möhl et al. 2009; González-Fuentes et al. 2014a; Gazzonis et al. 2018; Bilska-Zajac et al. 2021). Dažādos Eiropas reģionos *A. alata* sastopamība mežacūkās ir ļoti atšķirīga un svārstās no mazāk nekā 1 % līdz vairāk nekā 70 %, ko ietekmē gan vides apstākļi, gan izmantotās diagnostikas metodes (Wójcik et al. 2001; Riehn et al. 2011a; Paulsen et al. 2012; Portier et al. 2014; Gazzonis et al. 2018; Bilska-Zajac et al. 2021).

Tāpat kā lielākā daļa trematožu, arī *A. alata* ir hermafrodīts, kam raksturīga gan dzimumvairošanās, gan bezdzimumvairošanās (Galaktionov un Dobrovolskij 2003). Parazīta attīstības cikls parasti ilgst 92–114 dienas, tomēr pieaugušo parazītu dzīves ilgums joprojām nav zināms (Möhl et al. 2009).

1.2. *A. alata* zoonotiskais potenciāls

A. alata zoonotisko potenciālu nosaka tās plašais saimnieku spektrs un spēja ilgstoši saglabāties mezocerkāriju stadijā paratēniskajos saimniekos. Cilvēks var invadēties, lietojot uzturā nepietiekami termiski apstrādātu gaļu, kas satur dzīvotspējīgus mezocerkārijus, un tiek uzskatīts par nejaūšu paratēnisko saimnieku (Möhl et al. 2009; Korpysa-Dzirba et al. 2021).

Eiropā līdz šim nav ziņots par apstiprinātiem *A. alata* izraisītiem cilvēku saslimšanas gadījumiem. Tomēr aprakstīti vairāki cilvēku alariozes gadījumi, ko izraisījušas radniecīgas Ziemeļamerikas *Alaria* sugas, tostarp zemādas, acu, plaušu un ģeneralizētas invāzijas, kā arī letāli gadījumi, kas saistīti ar plašu kāpuru migrāciju organismā (Fernandez et al. 1976; Freeman et al. 1976; Beaver et al. 1977; McDonald et al. 1994; Kramer et al. 1996). Aprakstītajos cilvēku saslimšanas gadījumos konstatēti zemādas mezgļi, acu bojājumi, plaušu bojājumi un ģeneralizēta alarioze, kas liecina par mezocerkāriju spēju migrēt pa zīdītāju audiem (Fernandez et al. 1976; Beaver et al. 1977; McDonald et al. 1994; Kramer et al. 1996).

Eiropā mežacūka (*Sus scrofa*) tiek uzskatīta par nozīmīgāko potenciālo cilvēka invadēšanās avotu, jo mežacūku gaļā bieži konstatē dzīvotspējīgus mezocerkārijus, kas spēj saglabāt dzīvotspēju dažādos uzglabāšanas un pārstrādes apstākļos (Möhl et al. 2009; González-Fuentes et al. 2014a; González-Fuentes et al. 2014b; Gazzonis et al. 2018). Tādēļ *A. alata* plašā izplatība savvaļas dzīvnieku populācijās un pieaugošā interese par medijamo dzīvnieku gaļu ir veicinājusi interesi par šī parazīta iespējamo nozīmi sabiedrības veselībā (Malešević et al. 2016; Korpysa-Dzirba et al. 2021; Guardone et al. 2022). Lai gan faktisko risku patērētājiem joprojām ir grūti novērtēt, *A. alata* arvien biežāk tiek minēta kā potenciāli nozīmīgs pārtikas izcelsmes parazīts, kura uzraudzībā un riska izvērtēšanā nepieciešama "Vienas veselības" (*One Health*) pieeja (Robertson et al. 2014; Korpysa-Dzirba et al. 2021; Guardone et al. 2022).

Latvijā *A. alata* klātbūtne ir apstiprināta, izmantojot gan parazitoloģiskās, gan molekulārās identifikācijas metodes. Latvijas izcelsmes *A. alata* paraugi izmantoti kā references un pozitīvās kontroles materiāls sugas specifiska reālā laika PCR testa izstrādē (Dimzas et al. 2021). Savukārt no Latvijas mežacūkām, abiniekiem un Eirāzijas lūšiem iegūtie mezocerkāriji izmantoti MALDI-TOF MS metodes izstrādē un validācijā *A. alata* identifikācijai (Kästner et al. 2021). Šie pētījumi ne tikai apstiprina *A. alata* sastopamību Latvijas savvaļas dzīvniekos, bet arī apliecina molekulāro un proteomisko metožu piemērotību šīs sugas identifikācijai (Dimzas et al. 2021; Kästner et al. 2021).

2. MATERIĀLI UN METODES

2.1. Metacerkāriju un pieaugušo *A. alata* konstatēšana

Rudās lapsas un jenotsuņi tika iegūti Trakumsērgas valsts uzraudzības un apkarošanas programmas ietvaros. No 2010./2011. līdz 2013./2014. gada medību sezonai abu sugu dzīvnieki tika ievākti visā Latvijas teritorijā katru gadu no novembra līdz februārim. Savukārt 2014./2015. gada medību sezonā paraugi tika iegūti tikai Latvijas austrumu daļā, kas robežojas ar Krievijas Federāciju un Baltkrieviju (Food and Veterinary Service of Latvia, 2014). Pelēkie vilki tika ievākti medību sezonās no 2010./2011. līdz 2014./2015. gadam (no 15. jūlija līdz 31. martam), bet Eirāzijas lūši – no 2004./2005. līdz 2017./2018. gadam (no decembra līdz martam). Visi dzīvnieki iegūti saskaņā ar Latvijas Medību noteikumiem un valstī noteiktajām medību kvotām.

Kopumā *A. alata* sastopamība tika pētīta 1223 dzīvniekiem, tostarp 539 rudajām lapsām, 411 jenotsuņiem, 231 Eirāzijas lūšim un 42 pelēkajiem vilkiem. No tiem 1074 dzīvniekiem (468 rudajām lapsām, 333 jenotsuņiem, 231 Eirāzijas lūšim un 42 pelēkajiem vilkiem) tika noteikta gan pieaugušo *A. alata* parazītu, gan metacerkāriju klātbūtne. Dzimums tika noteikts Eirāzijas lūšiem un pelēkajiem vilkiem, savukārt vecuma grupa (pieaugušais vai jauns dzīvnieks) tika noteikta rudajām lapsām ($n = 378$), jenotsuņiem ($n = 278$), Eirāzijas lūšiem ($n = 231$) un pelēkajiem vilkiem ($n = 20$), balstoties uz zobu nodilumu. Par jauniem dzīvniekiem tika uzskatīti tādi, kas jaunāki par vienu gadu, ņemot vērā, ka Latvijā suņu un kaķu dzimtas plēsēju mazuļi Latvijā parasti dzimst pavasarī un vasaras sākumā (Tauriņš 1982).

Pirms izmeklēšanas iekšējie orgāni vismaz divas nedēļas tika sasaldēti -80°C temperatūrā, lai mazinātu *Echinococcus* spp. invāzijas risku. Pēc tam paraugus atkausēja istabas temperatūrā. Traheju, plaušas un zarnas izmeklēja, izmantojot mazgāšanas, filtrēšanas caur sietu, sedimentācijas un parazītu skaitīšanas metodus (Roepstorff un Nansen 1998; Duschet et al. 2005; Umhang et al. 2011). Metacerkārijus un pieaugušās *A. alata* trematodes identificēja pēc morfoloģiskajām pazīmēm un saskaitīja (Möhl et al. 2009).

2.2. Olu attīstības un dzīvotspējas eksperimentālā pētījuma dizains

Februārī un martā, 2025. gadā, Trakumsērgas valsts uzraudzības un apkarošanas programmas ietvaros tika iegūti rudo lapsu fekāliju paraugi. Dzīvnieku liemeņi pirms sekcijas tika uzglabāti 4°C temperatūrā ne ilgāk kā trīs dienas, pēc tam fekāliju paraugi tika ņemti tieši no taisnās zarnas. *A. alata* olas no fekālijām tika izdalītas, izmantojot sedimentācijas metodi (Demelash et al. 2016).

Turpmākajiem eksperimentiem tika apvienotas nogulsnes, kas saturēja *A. alata* olas no trīs lapsām, lai nodrošinātu nejaušu olu atlasīti. Eksperimentiem tika izvēlētas tikai neskartas olas ar skaidri saskatāmām attīstības pazīmēm. Šajā pētījumā olu dzīvotspēja tika definēta kā *A. alata* olu spēja saglabāt dzīvotspēju un attīstīties dažādos vides apstākļos.

In vitro eksperimenti tika izstrādāti, lai novērtētu *A. alata* olu dzīvotspēju dažādu vides faktoru ietekmē, tostarp mainot apgaismojumu, temperatūru, izšķūšanas ilgumu un ūdens kustību (viļņošanās). Izvēlētie faktori raksturo būtiskākos vides apstākļus, kas var ietekmēt olu attīstību dabiskajās saldūdens dzīvotnēs.

Visos eksperimenta variantos attīrītās olas inkubēja destilētā ūdenī un regulāri novēroja, lai izvērtētu olu attīstību un miracīdiju izšķīlšanos. Olu attīstība tika iedalīta piecās stadijās saskaņā ar Pearson (1956) klasifikāciju: neembrionētas olas, embrionētas olas, pilnībā attīstītas olas, olas, no kurām izkļuvis miracīdijs, un mirušas olas.

2.3. Mezocerkāriju konstatēšana

Kopumā pētījumā tika analizēti 390 abinieki, 17 605 mežacūkas un 234 Eirāzijas lūši. Visi dzīvnieki tika iegūti saskaņā ar Latvijas Medību noteikumiem vai pamatojoties uz Latvijas iestāžu izsniegtajām atļaujām dzīvnieku ievākšanai un eitanāzijai zinātniskajiem pētījumiem.

Katrai saimnieku grupai tika izvēlēta pētījuma mērķiem visatbilstošākā mezocerkāriju konstatēšanas metode. *A. alata* mezocerkāriju noteikšanai tika izmantotas mākslīgās sagremošanas metode ar magnētisko maisītāju (TIM; Komisijas Īstenošanas regula (ES) 2015/1375), *Alaria* spp. mezocerkāriju migrācijas metode (AMT; Riehn et al. 2010) un kompresora metode.

2.3.1. Otrie starsaimnieki: abinieki

Laikposmā no 2017. līdz 2019. gadam 86 nejauši izvēlētos pastāvīgos mitrājos visā Latvijas teritorijā tika ievākti 390 abinieki. Dzīvnieki tika iegūti, pamatojoties uz īpašām atļaujām abinieku ievākšanai un eitanāzijai zinātniskajiem pētījumiem (atļauju Nr. 26/2017-E, 14/2018-E un 21/2019-E; Dabas aizsardzības pārvalde). Pieaugušās vārdes un krupji tika ievākti seklūdens zonās, izmantojot ķeramos (entomoloģiskos) tikliņus, un astoņu stundu laikā nogādāti laboratorijā. Līdz izmeklēšanai paraugi tika uzglabāti 4 °C temperatūrā.

Abinieki tika identificēti līdz sugas līmenim, pamatojoties uz morfoloģiskajām pazīmēm, un klasificēti kā parastā varde (*Rana temporaria*), purva varde (*Rana arvalis*), parastais krupis (*Bufo bufo*) un zaļo varžu sugu komplekss (*Pelophylax esculentus* komplekss). Katram īpatnim tika noteikta attīstības stadija (pieaugušais vai kurkulis).

A. alata mezocerkāriju noteikšanai tika izmantota kompresijas metode. Abinieku audus ievietoja starp diviem stikliem, saspieda un izmeklēja ar

stereomikroskopu. Visi konstatētie mezocerkāriji tika izdalīti no saimnieka audiem un pārbaudīti mikroskopā 100–400× palielinājumā. *A. alata* mezocerkārijus identificēja pēc morfoloģiskajām pazīmēm, tostarp ķermeņa formas, izmēra un dziedzeršūnu skaita.

2.3.2. Paratēniskie saimnieki: mežacūka un Eirāzijas lūsis

A. alata mezocerkāriju sastopamība mežacūkās tika pētīta, izmantojot divas savstarpēji papildinošas pieejas. Pirmkārt, tika analizēti retrospektīvie dati no Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta BIOR (ZI BIOR). Tostarp ikgadējie pārskati par *A. alata* mezocerkāriju nejaušu konstatēšanu *Trichinella* spp. izmeklējumā laikā no 2014. līdz 2019. gadam. Mednieki brīvprātīgi iesniedza muskuļu audu paraugus (≥ 150 g), tostarp diafragmas, mēles un citus skeleta muskuļu paraugus, kurus izmeklēja individuāli, izmantojot TIM.

Otrkārt, no 2018. gada decembra līdz 2019. gada oktobrim tika veikts mērķtiecīgs pētījums, lai novērtētu *A. alata* mezocerkāriju sastopamību mežacūkās. Muskuļu audu paraugus, kas tika iesniegti rutīnas *Trichinella* spp. izmeklējumam, papildus izmeklēja, izmantojot AMT. Mezocerkārijus identificēja pēc morfoloģiskajām pazīmēm, tostarp ķermeņa formas, izmēra un dziedzeršūnu skaita.

A. alata mezocerkāriju konstatēšanai tika izmeklēti 234 Eirāzijas lūšu muskuļu audu paraugi. Paraugi tika iegūti medību sezonās no decembra līdz martam, laika posmā no 2004./2005. līdz 2017./2018. gadam, saskaņā ar valsts medību kvotām. Muskuļu audus sākotnēji izmeklēja, izmantojot TIM. Gadījumos, kad tika konstatēti *A. alata* mezocerkāriji, paraugus atkārtoti izmeklēja, izmantojot AMT, lai apstiprinātu mezocerkāriju klātbūtni.

2.4. Statistiskā analīze

A. alata mezocerkāriju sastopamība (invadēto saimnieku īpatsvars), mediānā intensitāte (parazītu mediānais skaits, ņemot vērā tikai invadētos saimniekus) un vidējā intensitāte (parazītu vidējais skaits, ņemot vērā tikai invadētos saimniekus) tika aprēķināti saskaņā ar Bush et al. (1997). Sastopamības 95 % ticamības intervāli tika aprēķināti, izmantojot Clopper–Pearson metodi (Clopper un Pearson 1934). Vidējās intensitātes ticamības intervāli tika noteikti kā īsākie intervāli, kas nodrošina izvēlēto ticamības līmeni, jo datu struktūras dēļ precīzas 95 % ticamības intervālu robežas nav iespējams noteikt (Carpenter un Bithell 2000).

Atšķirības mezocerkāriju sastopamībā starp dzīvnieku sugām, vecuma grupām, dzimumiem un ģeogrāfiskajiem reģioniem tika novērtētas, izmantojot Fišera eksakto testu, savukārt atšķirības mediānajā intensitātē tika analizētas ar Mūda mediānas testu (Sen 2005; Reiczigel et al. 2008). Salīdzinājumi starp

mezocerkāriju konstatēšanas metodēm tika veikti, aprēķinot attiecību rādītājus (*odds ratios*) kā nosacītās maksimālās ticamības novērtējumus (Breslow un Day 1990). Korelācijas starp pētītajiem rādītājiem tika analizētas, izmantojot Spīrmena rangu korelāciju (Spearman 1904).

In vitro olu eksperimentos katram eksperimentālajam variantam tika aprēķināts olu attīstības rādītājs (DR) un miracīdiu izklūšanas rādītājs (HR). Attīstības rādītājs tika definēts kā to olu īpatsvars, kas sasniedza vēlīnās attīstības stadijas, attiecībā pret kopējo olu skaitu. Savukārt HR tika definēts kā olu īpatsvars, no kurām izklūvis miracīdijs, attiecībā pret pilnībā attīstīto olu skaitu.

Atšķirības olu attīstības rādītājā (DR) un miracīdiu izklūšanas rādītājā (HR) starp eksperimentālajiem variantiem un attiecīgajām kontroles grupām tika novērtētas, izmantojot neparametrisko Manna–Vitnija testu. Saistība starp vides faktoriem (temperatūru, apgaismojumu, izžūšanas ilgumu un ūdens kustību) un DR vai HR tika analizēta, izmantojot Spīrmena rangu korelāciju.

Telpiskās izplatības kartes tika izveidotas, izmantojot ģeogrāfiskās informācijas sistēmas (GIS) programmatūru ArcGIS 10 (ESRI, Redlands, Kalifornija, ASV), par pamatu izmantojot Latvijas pamatkarti.

Iespējamība (*Pr*), ka cilvēks, lietojot uzturā mežacūku gaļu, uzņems *A. alata* mezocerkārijus, tika aprēķināta pēc vienādojuma $Pr = P \times NT \times IA$, kur *P* ir *A. alata* sastopamība mežacūkās, kas noteikta šajā pētījumā, *NT* ir iespējamība, ka mežacūku gaļa nav izmeklēta uz parazītu klātbūtni, bet *IA* ir iespējamība, ka *A. alata* mezocerkāriji gaļā vai gaļas produktos nav inaktivēti (ANSES 2015).

Lai aprēķinātu cilvēka invadēšanās varbūtību, tika izmantotas dažādas *NT* un *IA* vērtību kombinācijas. Pamatojoties uz datiem par mežacūku izmeklēšanu uz *Trichinella* spp. klātbūtni (ZI BIOR un Valsts meža dienests, nepublicēti dati), tika izmantotas *NT* vērtības 99 %, 95 % un 80 %. Savukārt, balstoties uz publicētiem datiem par *A. alata* mezocerkāriju izdzīvošanas spēju mežacūku gaļā un gaļas produktos, tika izmantotas *IA* vērtības 0,5 %, 1 % un 5 % (González-Fuentes et al. 2014a,b; González-Fuentes et al. 2015).

3. REZULTĀTI

3.1. Metacerkāriji un pieaugušas *A. alata* (Publikācijas IV; V)

Kopumā pieaugušas *A. alata* trematodes tika konstatētas 859 no 1223 izmeklētajiem savvaļas plēsējiem Latvijā, kas atbilst sastopamībai 70,2 % (95 % TI: 67,6–72,7). Pieaugušie parazīti tika konstatēti visās pētītajās saimnieku sugās un visos pētītajos reģionos, kas liecina par plašu parazīta izplatību un stabilu cirkulāciju Latvijas savvaļas dzīvnieku populācijās. Visbiežāk *A. alata* tika konstatēts pelēkajiem vilkiem, kam sekoja rudās lapsas un jenotsuņi, savukārt Eirāzijas lūšiem parazīts tika konstatēts tikai atsevišķos gadījumos ($P = 1,7\%$) (1. tabula).

1. tabula

***Alaria alata* pieaugušo trematožu sastopamība, vidējā intensitāte un intensitātes diapazons savvaļas plēsējiem Latvijā**

Suga	Izmeklēto/ invadēto dzīvnieku skaits	Sastopamība, % (95% TI)	Vidējā intensitāte ± SE	Intensitātes diapazons
Jenotsuns	411/ 345	83,9 (80,0–87,4)	755,0 ± 118,7	1–18 870
Rudā lapsa	539/ 471	87,4 (84,3–91,1)	193,1 ± 18,2	1–6 247
Eirāzijas lūsis	231/4	1,7 (0,5–4,5)	4,3 ± 4,5	1–12
Pelēkais vilks	42/ 39	92,9 (80,5–98,5)	683,3 ± 164,2	7–5 347

TI – ticamības intervāls; SE – standartklūda.

Salīdzinājumā ar rudajām lapsām un Eirāzijas lūšiem jenotsuņiem tika konstatēta statistiski nozīmīgi augstāka pieaugušo *A. alata* parazītu vidējā intensitāte ($p < 0,05$), savukārt starp jenotsuņiem un pelēkajiem vilkiem nozīmīgas atšķirības netika konstatētas. Visaugstākā vidējā intensitāte tika novērota jenotsuņiem, kam sekoja pelēkie vilki un rudās lapsas.

Visās Latvijas medību administratīvajās vienībās (MAV) tika konstatētas pieaugušas *A. alata* trematodes. Rudajām lapsām un jenotsuņiem sastopamība svārstījās no 74,1 % līdz 96,3 %, un kopumā augstāki rādītāji tika novēroti Latvijas rietumu un centrālajā daļā nekā austrumu reģionos. Pelēkajiem vilkiem sastopamība lielākajā daļā MAV sasniedza 100 %, lai gan atsevišķos reģionos izmeklēto dzīvnieku skaits bija neliels. Piecu secīgu medību sezonu laikā rudajām lapsām tika novērots pakāpenisks sastopamības pieaugums, savukārt jenotsuņiem un pelēkajiem vilkiem būtiskas izmaiņas starp sezonām netika konstatētas.

A. alata metacerkāriji plaušās tika konstatēti 216 dzīvniekiem, kas atbilst sastopamībai 20,1 % (95 % TI: 17,8–22,6). Jenotsuņiem metacerkāriju sastopamība bija statistiski nozīmīgi augstāka nekā rudajām lapsām ($p < 0,0001$). Plaušu metacerkāriji tika konstatēti tikai vienam pelēkajam vilkam (pieci eksemplāri), savukārt Eirāzijas lūšiem tie netika konstatēti (2. tabula).

***Alaria alata* metacerkāriju sastopamība, vidējā intensitāte un intensitātes diapazons savvaļas plēsējiem Latvijā**

Suga	Izmeklēto/ invadēto dzīvnieku skaits	Sastopamība, % (95 % TI)	Vidējā intensitāte ± SE	Intensitātes diapazons
Jenotsuns	333/ 165	49,5 (44,1–55,1)	34,7 ± 5,5	1–592
Rudā lapsa	468/ 50	10,7 (8,0–13,8)	10,8 ± 4,3	1–161
Eirāzijas lūsis	231/ 0	0	–	–
Pelēkais vilks	42/ 1	2,4 (0,01–12,6)	–	5

TI – ticamības intervāls; SE – standartkļūda.

Metacerkāriju vidējā intensitāte bija statistiski nozīmīgi augstāka jenotsuņiem nekā rudajām lapsām un pelēkajiem vilkiem ($p < 0,05$). Analizējot datus pa medību sezonām, gan jenotsuņiem, gan rudajām lapsām tika novērota metacerkāriju sastopamības pieauguma tendence, lai gan atsevišķās sezonās bija vērojamas svārstības.

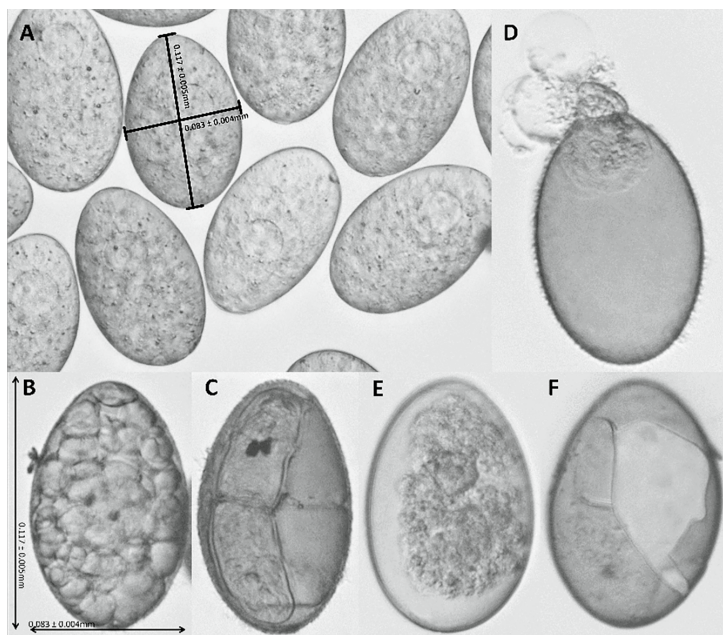
Suņu dzimtas saimniekiem bieži vien vienlaikus tika konstatēti gan pieaugušie *A. alata* parazīti, gan metacerkāriji. Rudajām lapsām 92,0 % dzīvnieku, kuriem plaušās tika konstatēti metacerkāriji, vienlaikus tika konstatēti arī pieaugušie parazīti. Savukārt 10,6 % rudajām lapsām ar pieaugušajām *A. alata* trematodēm plaušās tika konstatēti arī metacerkāriji. Jenotsuņiem 88,5 % dzīvnieku, kuriem tika konstatēti metacerkāriji, vienlaikus bija sastopamas arī pieaugušās trematodes, bet 47,8 % dzīvnieku ar pieaugušajiem parazītiem tika konstatēti arī metacerkāriji. Tika konstatēta statistiski nozīmīga pozitīva korelācija starp pieaugušo trematožu skaitu un metacerkāriju intensitāti jenotsuņiem ($r_s = 0,27$, $p = 0,001$) un rudajām lapsām ($r_s = 0,17$, $p = 0,0002$).

3.2. Olu attīstība (Publikācija I)

Kopumā astoņos *in vitro* eksperimentālos variantos tika pētītas 3600 *Alaria* spp. olas. Olas bija ovālas formas, dzeltenīgas, ar vāciņu un plānu čaulu. Olu garums svārstījās no 0,105 līdz 0,128 mm (vidēji $0,117 \pm 0,005$ mm), bet platums – no 0,070 līdz 0,090 mm (vidēji $0,083 \pm 0,004$ mm) (2. attēls). Tika identificētas dažādas olu attīstības stadijas, kuras tika izmantotas turpmākajās analizēs.

3.2.1. Gaismas ietekme

Pēc 25 dienām kopš olu ievietošanas eksperimentālajās platformās 12,2 % olu (95 % TI: 5,8–12,9), kas tika pakļautas dažādiem apgaismojuma apstākļiem, sasniedza pilnībā attīstītas olas stadiju (3. tabula). No pilnībā attīstītajām olām 72,2 % (95 % TI: 54,5–86,7) bija olas, no kurām izkļuvis miracīdijs. Attīstība no embriņģa olas līdz stadijai, kurā no olas izkļuvis miracīdijs, noritēja 8–11 dienu laikā.



2. attēls. *Alaria* spp. olu ($0,117 \pm 0,005$ mm x $0,083 \pm 0,004$ mm) attīstības stadijas

A – neembrionētas olas, B – embrionēta ola, C – pilnībā attīstīta ola, D – ola, no kuras izkļuvis miracīdijs, E – mirusi ola, F – bojāta ola.

3. tabula

Alaria alata olu attīstība dažādos apgaismojuma apstākļos 25 dienas pēc eksperimenta uzsākšanas: pirmo attīstības stadiju novērošanas laiks, olu attīstības rādītājs (DR) un olu īpatsvars, no kurām izkļuvis miracīdijs (HR/DR)

Eksperimenta variants	Olas attīstības stadija	Pirmie novērojumi (dienas ± SD)	DR, % (TI 95 %)	HR/DR (TI 95%)
Dabiska gaismā	Embrionēta	9 ± 2	13,3 (7,1–22,1)	50,0 (21,1–78,9)
	Attīstījusies	16 ± 0		
	Izkļuvis miracīdijs	17 ± 1		
Gaisma	Embrionēta	6 ± 0	13,3 (7,1–22,1)	75,0 (42,8–94,5)
	Attīstījusies	13 ± 3		
	Izkļuvis miracīdijs	14 ± 3		
Tumsa	Embrionēta	6 ± 0	10,0 (4,7–18,1)	100,0 (66,4–100,0)
	Attīstījusies	12 ± 0		
	Izkļuvis miracīdijs	15 ± 1		
Vidējais	Embrionēta	7 ± 1	12,2 (6,3–20,8)	72,7 (39,0–94,0)
	Attīstījusies	13 ± 1		
	Izkļuvis miracīdijs	15 ± 1		

TI – ticamības intervāls; SD – standartnovirze.

Statistiski nozīmīgas atšķirības starp pārbaudītajiem apgaismojuma apstākļiem ne olu attīstības rādītājā (DR), ne miracīdiju izkļūšanas rādītājā (HR) netika konstatētas ($p = 0,5$). Tādēļ turpmākajās analizēs kā kontroles grupa tika izmantota visu apgaismojuma variantu vidējā vērtība.

3.2.2. Temperatūras ietekme

Olu attīstība nenotika, kamēr olas atradās ledusskapja vai saldētavas temperatūrā, un atsākās tikai pēc to pārvietošanas uz istabas temperatūru dabiskā apgaismojumā. Īslaicīga atrašanās saldētavā (2–4 stundas) neietekmēja turpmāku embriju attīstību un miracīdiju izkļūšanu no olām. Savukārt ilgstošākas sasaldēšanas rezultātā ievērojama daļa olu visā eksperimenta laikā saglabājās neembrionētas (4. tabula).

4. tabula

***Alaria alata* olu attīstība dažādos vides apstākļos 25 dienas pēc eksperimenta uzsākšanas: pirmo attīstības stadiju novērošanas laiks, olu attīstības rādītājs (DR) un olu īpatsvars, no kurām izkļuvis miracīdijs (HR/DR)**

Eksperimenta variants	Inkubācijas laiks	Olu attīstības stadija	Pirmie novērojumi (dienas ± SD)	DR, % (TI 95 %)	HR/DR, % (TI 95 %)
Saldēšana	2 h	Embrionēta	7 ± 1	10,0 (4,7–18,1)	66,7 (29,9–92,5)
		Attīstījusies	12 ± 0		
		Izkļuvis miracīdijs	14 ± 1		
	4 h	Embrionēta	5 ± 1	3,3 (0,7–9,4)	38,5 (0,8–90,6)
		Attīstījusies	13 ± 1		
		Izkļuvis miracīdijs	15 ± 1		
Izžušana	2 m	Embrionēta	10 ± 2	3,3 (0,7–9,4)	40,0 (0,8–90,6)
		Attīstījusies	19 ± 1		
		Izkļuvis miracīdijs	19 ± 0		
	4 m	Embrionēta	8 ± 0	1,1 (0,0–6,0)	100,0 (2,5–100,0)
		Attīstījusies	10 ± 0		
		Izkļuvis miracīdijs	13 ± 0		
Kustīga ūdens vide	NA	Embrionēta	6 ± 1	26,7 (17,9–37,0)	100,0 (85,8–100,0)
		Attīstījusies	10 ± 0		
		Izkļuvis miracīdijs	16 ± 0		

TI – ticamības intervāls; SD – standartnovirze.

Olas, kas tika pakļautas saldētavas apstākļiem un pēc tam inkubētas 37 °C temperatūrā, uzrādīja statistiski nozīmīgi augstākus olu attīstības rādītājus (DR) un miracīdiju izkļūšanas rādītājus (HR) nekā kontroles grupas olas (attiecīgi $p < 0,05$ un $p < 0,02$). Savukārt pakļaušana ledusskapja apstākļiem neradīja statistiski nozīmīgas atšķirības salīdzinājumā ar kontroles grupu. Pastāvīga inkubācija 37 °C temperatūrā paātrināja olu embrionēšanos, taču nevienā no pilnībā attīstītajām olām netika novērota miracīdiju izkļūšana un tika konstatēta augsta olu mirstība. Tas liecina, ka paaugstināta temperatūra, lai gan veicina attīstību, samazina olu dzīvotspēju.

3.2.3. Izzūšanas un kustīgas ūdens vides ietekme

Olu dzīvotspēja bija cieši saistīta ar izzūšanas ilgumu. Dzīvotspējīgas saglabājās tikai tās olas, kas tika pakļautas izzūšanai 2–4 minūtes, savukārt ilgāka izzūšana izraisīja augstu neembrionētu un mirušu olu īpatsvaru (4. tabula). Tika konstatēta ļoti cieša pozitīva korelācija starp izzūšanas ilgumu un olu mirstību ($r_s = 1,0$, $p < 0,001$). Savukārt olām, kas tika inkubētas ūdens kustības apstākļos, tika novērots statistiski nozīmīgi augstāks to olu īpatsvars, no kurām izkļuvis miracīdijs, nekā kontroles grupā ($p < 0,001$).

3.3. Mezocerkāriji otrajos starpsaimniekos (Publikācija III)

A. alata mezocerkāriji tika konstatēti abinieku populācijās visā Latvijā, kas liecina par plašu parazīta izplatību. Mezocerkāriji tika reģistrēti visās analizētajās varžu grupās, bet netika konstatēti parastajam krupim (5. tabula).

5. tabula

***Alaria alata* mezocerkāriju sastopamība dažādās abinieku sugās Latvijā (pieaugušajiem īpatņiem un/vai kurkuļiem)**

Sugas	Attīstības stadijas	Izmeklēto/ invadēto dzīvnieku skaits	P, % (TI 95 %)	Vidējā intensitāte ± SD (diapazons)	Mediānā intensitāte (mediānais TL)
Zaļo varžu sugu kom- plekss	Kurkuļi	80/47	58,8 (47,5–69,6)	8,7±16,3 (1–95)	4 (96,0% 2–5)
	Pieauguši	255/57	22,4 (17,4–28,0)	28,9±54,3 (1–237)	4 (96,8% 3–8)
Parastā varde	Pieauguši	19/3	15,8 (3,4–39,6)	20±15,7 (6–37)	NA
Purva varde	Pieauguši	3/1	33,3 (0,8–90,6)	2	NA
Parastais krupis	Pieauguši	33/0	0	NA	NA

P – sastopamība; TI – ticamības intervāls; TL – ticamības līmenis; SD – standartnovirze; NA – nav piemērojams.

Kopumā no 390 izmeklētajiem abiniekiem, tostarp parastajiem krupjiem, *A. alata* mezocerkāriji tika konstatēti 108 īpatņiem. Starp pētītajām varžu sugām statistiski nozīmīgas atšķirības sastopamībā netika konstatētas. Tomēr invāzijas raksturojums atšķirās atkarībā no attīstības stadijas – zaļo varžu sugu kompleksa kurkuļiem sastopamība bija statistiski nozīmīgi augstāka nekā pieaugušajiem īpatņiem ($p < 0,0001$). Savukārt vidējā intensitāte starp abām grupām būtiski neatšķīrās.

Mezocerkārijiem bija raksturīga izteikta lokalizācija noteiktos audos. Pieaugušajiem abiniekiem mezocerkāriji visbiežāk tika konstatēti galvas apvidū, iekšējos orgānos un serozajos apvalkos. Savukārt kurkuļiem tie galvenokārt lokalizējās galvas un ķermeņa apvidū. Mezocerkāriju sastopamība šajos reģionos bija statistiski nozīmīgi augstāka kurkuļiem nekā pieaugušajiem īpatņiem ($p < 0,0001$). Turklāt zaļo varžu sugu kompleksa pieaugušajiem īpatņiem aknās tika konstatēta statistiski nozīmīgi augstāka mezocerkāriju mediānā intensitāte ($p = 0,005$).

Kopumā lielākā daļa mezocerkāriju tika konstatēti ķermeņa dobumā, tostarp iekšējos orgānos un serozajos apvalkos, savukārt cistu veidošanās tika novērota tikai nelielai daļai mezocerkāriju.

3.4. Mezocerkāriji paratēniskajos saimniekos

3.4.1. *A. alata* mezocerkāriju noteikšanas metožu salīdzinājums (Publikācija VI)

Lai novērtētu diagnostisko efektivitāti, pilotpētījumā 60 mežacūku muskuļu audu paraugi tika izmeklēti vienlaikus, izmantojot *Alaria* mezocerkāriju migrācijas metodi (AMT) un *Trichinella* izmeklēšanas metodi (TIM). *A. alata* mezocerkāriji tika konstatēti 46 paraugos, un starp abām metodēm tika novērota statistiski nozīmīga atšķirība noteikšanas efektivitātē ($\chi^2 = 16,59$, $p < 0,01$).

AMT bija statistiski nozīmīgi jutīgāka nekā TIM, nodrošinot 4,86 reizes lielāku iespēju konstatēt *A. alata* mezocerkārijus (95 % TI: 2,22–10,99). Ar AMT vienā paraugā tika konstatēts no 1 līdz 61 mezocerkārijam (0,02–1,22 mezocerkāriji/g), savukārt ar TIM – no 0,02 līdz 0,56 mezocerkārijiem/g. Attiecīgi ar AMT noteiktā mezocerkāriju vidējā intensitāte bija statistiski nozīmīgi augstāka nekā ar TIM ($p < 0,01$).

3.4.2. *A. alata* mezocerkāriju sastopamība mežacūkās (Publikācija II)

Ilgtermiņa uzraudzības dati, kas iegūti regulāro *Trichinella* spp. izmeklējumu laikā, liecināja par salīdzinoši zemu *A. alata* mezocerkāriju šķietamo sastopamību mežacūku populācijā. Izmeklējot 17 605 mežacūku paraugus ar *Trichinella* izmeklēšanas metodi, tika konstatēta šķietamā sastopamība 8,3 % (95 % TI: 7,9–8,7), savukārt vidējā intensitāte visā pētījuma periodā saglabājās zema un stabila.

Turpretim to pašu muskuļu audu paraugu izmeklēšana ar *Alaria* mezocerkāriju migrācijas metodi liecināja par ievērojami augstāku *A. alata* mezocerkāriju sastopamību un vidējo intensitāti nekā izmeklēšana ar *Trichinella* izmeklēšanas

***Alaria* spp. mezocerkāriju migrācijas metodes (AMT) un *Trichinella* izmeklēšanas metodes (TIM) salīdzinājums, izmantojot identiskus mežacūku muskuļu audu paraugus**

Parametrs/ metode	AMT	TIM
Izmeklēto paraugu skaits	485	485
Pozitīvo paraugu skaits	213	66
Sastopamība	43,9*	13,6
TI 95%	39,4–48,5	10,7–17,0
Intensitāte MPG	0,126	0,089
TL 95%	0,10–0,17	0,06–0,19
SD	0,23	0,19
Mediāna MPG	0,06	0,04
TL 95,3%/96,8%	0,06–0,08	0,02–0,06
Abundance	0,055*	0,012
TL 95%	0,045–0,075	0,008–0,024

MPG – mezocerkārijs gramā; SD – standartnovirze; TI – ticamības intervāls; TL – ticamības limenis;

* statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0,05$).

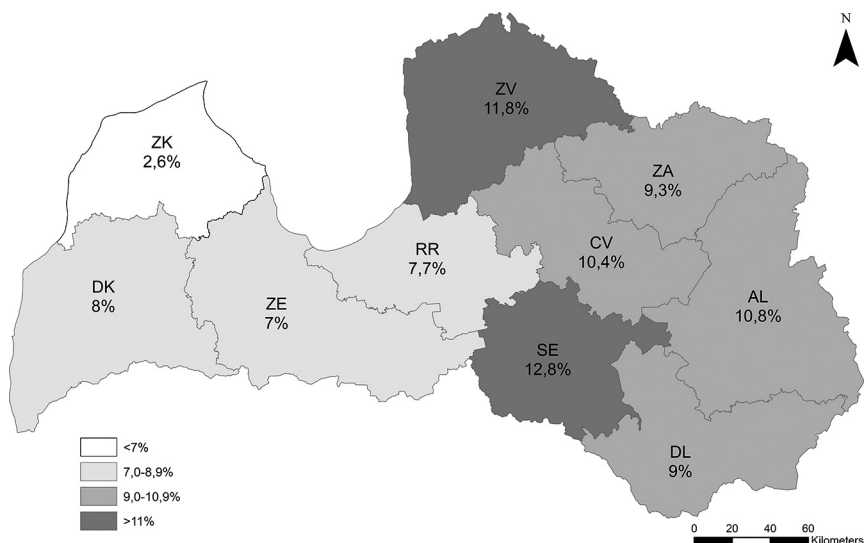
metodi (6. tabula). No 485 paraugiem, kas tika izmeklēti ar abām metodēm, AMT mezocerkārijus konstatēja 43,9 % paraugu, salīdzinot ar 13,6 % paraugu, kas bija pozitīvi ar TIM. Ar AMT noteiktā sastopamība un vidējā intensitāte bija statistiski nozīmīgi augstāka nekā izmantojot TIM ($p = 0,0001$).

Šie rezultāti liecina, ka ikdienas *Trichinella* spp. izmeklējumi būtiski nenovērtē *A. alata* mezocerkāriju sastopamību mežacūku populācijā. Izmantojot AMT, *A. alata* mezocerkāriji tika konstatēti statistiski biežāk nekā ar TIM ($p < 0,05$), norādot uz augstu mezocerkāriju sastopamību mežacūkās.

Papildus vispārējam *A. alata* mezocerkāriju sastopamības novērtējumam tika analizētas arī sastopamības ģeogrāfiskās atšķirības starp medību administratīvajām vienībām (3. attēls). Sastopamība dažādās medību administratīvajās vienībās atšķirās – augstāki rādītāji tika novēroti Latvijas ziemeļu un dienvidu daļā, savukārt zemāka sastopamība tika konstatēta atsevišķās Rietumlatvijas teritorijās. Tomēr *A. alata* mezocerkāriji tika konstatēti visās medību administratīvajās vienībās, kas liecina par plašu parazīta izplatību Latvijas mežacūku populācijā.

3.4.3. *A. alata* zoonotiskā potenciāla novērtējums (Publikācija II)

Ņemot vērā, ka *Trichinella* spp. pārbaude tiek veikta tikai aptuveni 5 % likumīgi nomedīto mežacūku un ka *A. alata* mezocerkāriju faktiskā sastopamība var pārsniegt 40 %, tika aprēķināts, ka varbūtība cilvēkam uzņemt *A. alata* mezocerkārijus, patērējot mežacūku gaļu, svārstās no 0,2 % līdz 2,2 % atkarībā no gaļas pagatavošanas veida un mezocerkāriju inaktivācijas efektivitātes.



3. attēls. *Alaria alata* mezocerkāriju šķietamā sastopamība mežacūkās Latvijā (2014–2019), balstoties uz regulāro *Trichinella* spp. izmeklējumu datiem. Šķietamā sastopamība atspoguļo regulāro *Trichinella* spp. izmeklējumu rezultātus un nenorāda *A. alata* mezocerkāriju faktisko sastopamību mežacūku populācijā

Medību administratīvās vienības: DK, Dienvidkurzeme; ZK, Ziemeļkurzeme; ZE, Zemgale; RR, Rīgas reģions; SE, Sēlija; DL, Dienvidlatgale; AL, Austrumlatgale; ZA, Ziemeļaustrumi; CV, Centrālvidzeme; ZV, Ziemeļvidzeme

3.4.4. *A. alata* mezocerkāriji Eirāzijas lūšos (Publikācija IV)

Papildus mežacūkām *A. alata* mezocerkāriji tika konstatēti arī Eirāzijas lūšī, kas ir pirmais dokumentētais šīs sugas invadēšanās gadījums ar *A. alata* mezocerkārijiem. Veicot atkārtotu izmeklēšanu ar *Alaria* mezocerkāriju migrācijas metodi (AMT), 100 g diafragmas paraugā tika konstatēti 23 mezocerkāriji (0,2 mezocerkāriji/g). Invadētais īpatnis bija sešus gadus vecs tēviņš, kas nometīts Latvijas centrālajā daļā.

4. DISKUSIJA

4.1. Vides un ekoloģisko faktoru nozīme *A. alata* transmisijā Latvijā

A. alata transmisiju Latvijā nodrošina stabila daudzsaимnieku sistēma, kas integrē ūdens un sauszemes ekosistēmas. Šīs disertācijas rezultāti liecina, ka visi parazīta attīstības ciklam nepieciešamie saimnieki un attīstības stadijas ir sastopami Latvijas savvaļas dzīvnieku kopienās, nodrošinot nepārtrauktu parazīta transmisiju. Sarežģīti heteroksēni attīstības cikli samazina atkarību no atsevišķiem saimniekiem un palielina transmisijas noturību, savukārt vides apstākļi ietekmē gan saimnieku pieejamību, gan parazīta attīstības iespējas (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Sures et al. 2023).

Definitīvie saimnieki, piemēram, rudās lapsas, jenotsuņi un pelēkie vilki, ir būtiski *A. alata* olu izplatītāji vidē. Augstā pieaugušo *A. alata* trematožu sastopamība Latvijas plēsējos liecina par nepārtrauktu olu izdalīšanos un nonākšanu saldūdens biotopos. Līdzīgi augsti sastopamības rādītāji ir novēroti arī citās Baltijas valstīs, sasniedzot 90,7 % Igaunijā un 94,8 % Lietuvā (Bružinskaitē-Schmidhalter et al. 2012; Laurimaa et al. 2016). *A. alata* sastopamība suņveidīgajiem ir saistīta ar zemeņu teritorijām, mitrājiem un ainavām, kur sastopami piemēroti starpsaимnieki, norādot, ka augsta sastopamība galīgajos saimniekos atspoguļo labvēlīgus apstākļus parazīta transmisijai (Murphy et al. 2012; Széll et al. 2013; Portier et al. 2014).

Visā Eiropā suņveidīgajiem dzīvniekiem konstatētā augstā pieaugušo *A. alata* trematožu intensitāte, kas dažkārt pārsniedz vairākus tūkstošus īpatņu vienā saimniekā, liecina par regulāru kontaktu ar parazītu un atkārtotu invadēšanos (Karamon et al. 2018; Belcik et al. 2025). Vairāku piemērotu definitīvo saimnieku sugu klātbūtne palielina transmisijas stabilitāti un samazina atkarību no svārstībām atsevišķās plēsēju populācijās (Anderson un May 1985; Woolhouse et al. 2001). Tādējādi definitīvie saimnieki uztur *A. alata* transmisiju, nodrošinot pastāvīgu parazīta olu nonākšanu vidē.

Definitīvie saimnieki invadējas galvenokārt, uzņemot ar mezocerkārijiem invadētus otros starpsaимniekus un paratēniskos saimniekus. Plēsējiem barojoties ar invadētiem abiniekiem un paratēniskajiem saimniekiem, vienā barošanās reizē iespējams uzņemt lielu skaitu mezocerkāriju (Möhl et al. 2009; Laurimaa et al. 2016). Abinieki, mazie zīdītāji, rāpuļi un citi paratēniskie saimnieki, tostarp to liķi, veido nozīmīgu suņveidīgo dzīvnieku barības daļu Ziemeļeiropā, nodrošinot vairākus parazīta transmisijas ceļus barības ķēdēs (Sutor et al. 2010; Drygala et al. 2013; Süld et al. 2014). Parazīta transmisiju nosaka saimnieku sugu sastāvs, parazīta bioloģiskās īpašības un vides apstākļi. Vides faktori ietekmē gan potenciālo saimnieku pieejamību, gan to savstarpējo mijiedarbību, kas savukārt nosaka parazīta transmisijas intensitāti definitīvajos saimniekos (Sures et al. 2023).

Atkārtota mezocerkāriju uzņemšana ar barību palielina transmisijas efektivitāti un laika gaitā var veicināt parazītu uzkrāšanos saimniekorganismā, kas izskaidro augsto pieaugušo *A. alata* trematožu intensitāti, ko bieži novēro savvaļas plēsējos (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Belcik et al. 2025). Šo pieņēmumu apstiprina arī šī pētījuma rezultāti, kuros pieaugušo *A. alata* trematožu intensitāte pieaugušajiem dzīvniekiem bija augstāka nekā jaunajiem īpatņiem, īpaši jenotsuņiem. Pieaugušo *A. alata* trematožu un metacerkāriju vienlaicīga sastopamība, kā arī pozitīvā korelācija starp abu stadiju intensitāti liecina par atkārtotu invadēšanos. Tas savukārt var izskaidrot no vecuma atkarīgās atšķirības invāzijas intensitātē (Anderson un May 1985; Woolhouse 1998; Galaktionov un Dobrovolskij 2003).

Olu nonākšana ūdens vidē vai citās mitrās dzīvotnēs iezīmē pāreju uz attīstības cikla posmu, kurā parazīts ir tieši pakļauts vides ietekmei. Šajā disertācijā iegūtie eksperimentālie dati liecina, ka *A. alata* olas temperatūrā no 7 °C līdz 23 °C no neembrionētām attīstās līdz stadijai, no kuras izklūst mirācijs, 3–16 dienu laikā. Šie rezultāti liecina, ka Latvijai raksturīgās pavasara un vasaras ūdens temperatūras ir pietiekamas sekmīgai olu attīstībai (Kalvāns et al. 2023; Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas centrs, 2025). Strauja attīstība saīsina laika posmu starp olu nonākšanu vidē un pirmā starpsaimnieka invadēšanu, samazinot mirstību pirms sastapšanās ar saimnieku un palielinot veiksmīgas transmisijas iespējamību. Šie rezultāti saskan ar teorētiskajiem modeļiem par brīvi dzīvojošo parazītu stadiju ievainojamību un norāda, ka temperatūra ir viens no nozīmīgākajiem agrinās attīstības regulatoriem (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Poulin 2011; Sures et al. 2023).

Olas izturēja sasaldēšanu –20 °C temperatūrā un pēc temperatūras paaugstināšanās atsāka attīstību, kas liecina par spēju pārciest nelabvēlīgus ziemas apstākļus. Šie rezultāti norāda, ka vismaz daļa vēlā rudenī vidē nonākušo olu var saglabāt dzīvotspēju visu ziemas periodu seklos ūdens objektos vai mitros substrātos. Spēja uz laiku apturēt attīstību un vēlāk to atsākt nodrošina nepārtrauktību starp transmisijas sezonām, samazina brīvi dzīvojošo stadiju mirstību un paildzina laika periodu, kurā iespējama pirmā starpsaimnieka invadēšana (Pearson 1956; Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Poulin 2011; Morley un Lewis 2016). Līdzīga aukstuma izturība aprakstīta arī citām trematodēm (Smyth un Halton 1983; Morley un Lewis 2016), taču *Alaria* spp. gadījumā tā eksperimentāli pētīta reti. Mērenā klimata apstākļos šāda brīvi dzīvojošo stadiju izturība tiek uzskatīta par būtisku faktoru, kas nodrošina sarežģītu heteroksēnu attīstības ciklu saglabāšanos sezonālu vides svārstību apstākļos (Sures et al. 2023).

Olu attīstību neietekmēja gaismas iedarbība, kas liecina, ka atšķirībā no trematodes *Fasciola hepatica* (Wilson 1968; Galaktionov un Dobrovolskij 2003) mirācijai izklūšanu no olas, visticamāk, nosaka mehāniski vai osmotiski faktori, nevis gaismas signāli. Šāds modelis ir piemērots duļķainām, ēnainām un nogulumiem bagātām saldūdens dzīvotnēm, kas bieži sastopamas Latvijas mitrājos (Urtāns 2017). Fakts, ka gaisma neietekmēja olu attīstību, norāda, ka šī

attīstības cikla posma norise nav ierobežota ar noteiktiem apgaismojuma apstākļiem, ļaujot attīstībai noritēt arī duļķainās un ēnainās ūdenstilpēs. Turpretim vislielākais olu īpatsvars, no kurām izkļuva miracīdiji, tika novērots dinamiskos un ar skābekli bagātinātos apstākļos, kas liecina, ka ūdens kustība un skābekļa pieejamība veicina miracīdiju izkļūšanu no olām. Kopumā šie rezultāti liecina, ka temperatūra un ūdens biotopu fizikālās īpašības nosaka miracīdiju izkļūšanas laiku un pāreju uz nākamo attīstības cikla posmu (Smyth un Halton 1983; Galaktionov un Dobrovolskij 2003).

Pēc izkļūšanas no olas miracīdiji invadē saldūdens gliemežus, no kuriem vēlāk izdalās cercāriji. Tie invadē abiniekus, kas kalpo par otrajiem starpsaimniekiem (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Möhl et al. 2009; Portier et al. 2012). Latvijā konstatētā augstā mezocercāriju sastopamība zaļo varžu sugu kompleksa pārstāvjiem, parastajām vardēm un purva vardēm, kā arī to plašā izplatība dažādos audos apstiprina abinieku nozīmīgo lomu *A. alata* attīstības ciklā. Mezocercāriju uzkrāšanās abiniekos nodrošina transmisiju plašam plēsēju lokam. Tādējādi abinieki savieno ūdens un sauszemes ekosistēmas, veicinot parazīta transmisiju gan uz paratēniskajiem, gan definitīvajiem saimniekiem (Odening 1963; Möhl et al. 2009; Laurimaa et al. 2016). Abinieku populācijas ir cieši saistītas ar mitriem biotopiem, un to sezonālās svārstības lielā mērā nosaka vides apstākļi. Tāpēc faktori, kas ietekmē abinieku skaitu un pieejamību, vienlaikus ietekmē arī *A. alata* transmisijas intensitāti. Līdzīgi modeļi novēroti citās Eiropas mitrāju ekosistēmās, kur abinieki veido nozīmīgu posmu trematožu transmisijā starp ūdens un sauszemes saimniekiem (Poulin 2011; Patrelle et al. 2015; Voelkel et al. 2019; Bełcik et al. 2022).

Mezocercāriju, nevis tipisko metacercāriju klātbūtne, ir būtiskākā atšķirība starp *A. alata* attīstības ciklu un klasisko trīs saimnieku trematožu attīstības ciklu. Klasiskā attīstības ciklā cercāriji otrajā starpsaimniekā pārveidojas par metacercārijiem, kas ir tieši infekciozi definitīvajam saimniekam (Galaktionov un Dobrovolskij 2003). Savukārt *A. alata* gadījumā cercāriji attīstās par mezocercārijiem – stadiju, kas neveido cistu un spēj izdzīvot vairākkārtēju saimnieku maiņu. Šī īpatnība ļauj trematodei izmantot plašu paratēnisko saimnieku loku un dažādus transmisijas ceļus, paplašinot attīstības ciklu ārpus klasiskās trīs saimnieku sistēmas. Rezultātā transmisiju mazāk ierobežo saimnieku specifiskums, un parazīta attīstības cikls kļūst noturīgāks mainīgos vides apstākļos (Pearson 1956; Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Möhl et al. 2009; Poulin 2011; Sures et al. 2023).

Paratēniskie saimnieki būtiski paplašina *A. alata* saimnieku loku un palielina transmisijas iespējas starp dažādām dzīvnieku sugām. Papildus zidītājiem šajā procesā var piedalīties arī rūpuļi, kas mitrāju ekosistēmās darbojas kā ilgstoši mezocercāriju rezervuāri. Polijā konstatēta augsta *A. alata* sastopamība parastajam zalktim (*Natrix natrix*), sasniedzot 58,8 % (Bełcik et al. 2022). Bełcik et al. (2025) apkopotie dati norāda, ka rūpuļi ir bieži sastopami *A. alata* paratēniskie saimnieki un var būt nozīmīgs posms attīstības ciklā. Plašais paratēnisko

saimnieku loks samazina parazīta atkarību no atsevišķām saimnieku sugām un veicina attīstības cikla nepārtrauktību (Galaktionov un Dobrovolskij 2003).

Plašinātajā attīstības ciklā mežacūkas ir vieni no epidemioloģiski nozīmīgākajiem paratēniskajiem saimniekiem. Šajā pētījumā, izmantojot *Alaria* mezocerkāriju migrācijas metodi (AMT), tika apstiprināts, ka mežacūkas ir nozīmīgi paratēniskie saimnieki, kuros mezocerkāriju sastopamība sasniedza 43,9 %. Līdzīga mezocerkāriju sastopamība, izmantojot AMT, ir konstatēta arī citviet Eiropā, tostarp 28,2 % Vācijā (Riehn et al. 2012; Kästner et al. 2021), 44,3–44,8 % Polijā (Strokowska et al. 2020; Strokowska et al. 2021a) un 6,0–6,8 % Austrijā un Čehijā (Paulsen et al. 2013; Paulsen et al. 2014). Šādas atšķirības liecina, ka *A. alata* transmisijas intensitāti būtiski ietekmē vides apstākļi un biotopu struktūra (Bilska-Zajac et al. 2021).

Šajā disertācijā tika pierādīts nevienmērīgs mezocerkāriju sadalījums muskuļos un saistaudos, kas liecina, ka trematožu lokalizācija organismā nav nejauša. Mezocerkāriji biežāk uzkrājas vietās ar lielāku saistaudu un taukaudu īpatsvaru (Riehn et al. 2010). Šāds sadalījums ietekmē diagnostisko jutību un pārtikas nekaitīguma riska novērtējumu, jo invāzijas var tikt novērtētas par zemu, ja tiek izmantota standartizēta paraugu ņemšana vai mazāk jutīgas diagnostikas metodes (Riehn et al. 2010; Strokowska et al. 2021b), kā arī apgrūtina rezultātu attiecināšanu uz visu liemeni (Paulsen et al. 2012). Šie rezultāti uzsver paraugu ņemšanas stratēģijas nozīmi, jo nevienmērīgais mezocerkāriju sadalījums var izraisīt sastopamības un intensitātes nepietiekamu novērtēšanu.

A. alata uzkrāšanās starpsaimniekos un paratēniskajos saimniekos tiek uzskatīta par vienu no nozīmīgākajiem mehānismiem, kas veicina *A. alata* transmisiju (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Poulin 2011). Starp paratēniskajiem saimniekiem mežacūkas ieņem īpašu lomu, jo tās izmanto dažādus biotopus un barojas ar plašu barības resursu spektru, kas palielina iespēju uzņemt mezocerkārijus no abiniekiem vai citiem paratēniskajiem saimniekiem (Schley un Roper 2003; Tarvydas un Belova 2022; Rekiel et al. 2024). To lielais populācijas blīvums, sociālā uzvedība un plašā pārvietošanās spēja vēl vairāk palielina šo dzīvnieku epidemioloģisko nozīmi. Šādas īpašības veicina atkārtotu mezocerkāriju uzņemšanu dzīves laikā un var izskaidrot augstāku sastopamību vecākiem dzīvniekiem, kas novērota vairākos pētījumos (Dolle 2016; Strokowska et al. 2020).

Vēl viena *A. alata* attīstības cikla īpatnība ir Eirāzijas lūša spēja pildīt dažādas saimnieka funkcijas. Lai gan kaķveidīgie tradicionāli tiek uzskatīti par definitīvajiem saimniekiem (Pearson 1956; Möhl et al. 2009), šajā disertācijā iegūtie rezultāti apstiprina, ka Eirāzijas lūsis var būt gan pieaugušo *A. alata* trematožu, gan mezocerkāriju saimnieks. Tas liecina, ka viena un tā pati saimnieksuga, atkarībā no ekoloģiskajiem apstākļiem, var piedalīties attīstības ciklā gan kā definitīvais, gan kā paratēniskais saimnieks. Šāda saimnieku lomu pārkļāšanās paplašina parazīta transmisijas iespējas (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Poulin 2011; Sures et al. 2023).

Disertācijas rezultāti liecina, ka *A. alata* transmisiju Latvijā nodrošina sarežģīta daudzsaimnieku sistēma, kuras darbību nosaka vides apstākļi, saimnieku daudzveidība un to savstarpējās attiecības. *A. alata* attīstības cikls ietver vairākus transmisijas ceļus, kas nodrošina trematodes cirkulāciju dabā. Īpaši nozīmīga šajā sistēmā ir mezocerkāriju stadija, kas ļauj trematodei izmantot plašu paratēnisko saimnieku loku un mazina transmisijas jutību pret izmaiņām atsevišķu saimnieku populācijās. Šie rezultāti liecina, ka sarežģītu trematožu attīstības ciklu uztur vairāki savstarpēji saistīti transmisijas ceļi un saimnieku grupas, nevis kāda viena dominējoša attīstības stadija (Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Poulin 2011). Iegūtie dati apstiprina, ka Latvijā *A. alata* attīstības cikls sekmīgi norisinās dažādās saimnieku grupās. Augstā sastopamība visos attīstības cikla posmos liecina, ka Latvijā pastāv labvēlīgi apstākļi ilgstošai *A. alata* cirkulācijai dabā.

4.2. Diagnostikas izaicinājumi un metodoloģiskie ierobežojumi

Latvijā *A. alata* sastopamību apstiprina ne tikai parazitoloģiskie novērojumi dažādās saimnieku sugās, bet arī molekulārās un proteomiskās identifikācijas rezultāti. *A. alata* ir apstiprināta dažādos attīstības cikla posmos, tostarp mezocerkāriju stadijā vardēs, mežacūkās un Eirāzijas lūšos, kā arī pieaugušo trematožu stadijā definitīvajos saimniekos. Suga ir apstiprināta, izmantojot gan sugas specifisku reālā laika PCR, gan MALDI-TOF masas spektrometriju (Dimzas et al. 2021; Kästner et al. 2021). Turklāt Latvijas izolāti izmantoti kā references un validācijas materiāls šo metožu izstrādē, kas sniedz papildu pierādījumus par *A. alata* cirkulāciju Latvijas savvaļas dzīvnieku populācijās.

Neskatoties uz sasniegumiem *A. alata* diagnostikā, noteikšanas efektivitāte joprojām ir lielā mērā atkarīga no saimnieka sugas, parazīta attīstības stadijas un izmantotās metodes. Īpaši izteikti šie ierobežojumi ir paratēniskajiem saimniekiem, piemēram, mežacūkās, kur mezocerkāriju noteikšanu ietekmē gan to nevienmērīgais sadalījums audos, gan diagnostikas metodes jutība. Šajā disertācijā iegūtie rezultāti pierāda, ka *Trichinella* pārbaudes metode (TIM) var nepietiekami novērtēt *A. alata* sastopamību, jo mezocerkāriji mākslīgās sagremošanas procesā var tikt bojāti, savukārt to nevienmērīgā lokalizācija organismā samazina rutīnveida paraugu ņemšanas efektivitāti (Möhl et al. 2009; Riehn et al. 2010; Strokowska et al. 2021b). Pretstatā tam *Alaria* mezocerkāriju migrācijas metode (AMT), kuras pamatā ir dzīvotspējīgu mezocerkāriju aktīva migrācija, parasti ļauj konstatēt ievērojami lielāku mezocerkāriju skaitu (Riehn et al. 2010; Strokowska et al. 2021b). Tādēļ izplatības novērtējumi, kas balstīti tikai uz rutīnisko pārbažu datiem, visticamāk, neuzrāda patieso *A. alata* sastopamību mežacūku populācijās. Situāciju vēl vairāk sarežģī tas, ka daudzviet joprojām tiek izmantotas metodes, kas nav paredzētas *A. alata* noteikšanai. Dati par invāzijas intensitāti ir ierobežoti, apgrūtinot transmisijas dinamikas un zoonotiskā riska novērtēšanu (Möhl et al. 2009; Belcik et al. 2025).

Cilvēku alarioze tiek uzskatīta par retu un maz pētītu zoonozi, par kuru pieejami tikai atsevišķi klīniski apraksti un gadījumu ziņojumi (Möhl et al. 2009; Belcik et al. 2025). Tomēr atšķirībā no daudzām citām parazitārām zoonozēm pašlaik nav pieejamas specifiskas vai standartizētas metodes alariozes diagnostikai cilvēkiem. Diagnoze galvenokārt balstās uz nejausiem atradumiem, savukārt apstiprinātas seroloģiskās vai molekulārās diagnostikas metodes joprojām nav pieejamas.

Kopumā var secināt, ka diagnostikas ierobežojumi ietekmē visus *Alaria* attīstības cikla posmus – no mezocerkāriju noteikšanas otrajos starpsaimniekos un paratēniskajos saimniekos līdz alariozes diagnostikai cilvēkiem. Lai gan molekulārās un proteomikas metodes būtiski uzlabo sugas identifikācijas iespējas, to pielietojums ikdienas praksē joprojām ir ierobežots. Savukārt, neliels ziņoto cilvēku alariozes gadījumu skaits var atspoguļot drīzāk diagnostikas ierobežojumus nekā patieso invadēšanās biežumu, liecinot, ka *Alaria* spp. zoonotiskais potenciāls, iespējams, tiek novērtēts par zemu.

4.3. *A. alata* zoonotiskais potenciāls

Saimnieka un *A. alata* mijiedarbību nosaka saimnieku daudzveidība, barošanās paradumi un trematozes spēja pielāgoties dažādiem ekoloģiskajiem apstākļiem. Tā rezultātā veidojas sarežģīta daudzsaimnieku sistēma, kas spēj ilgstoši pastāvēt dažādās vidēs. Attīstības ciklā iesaistīti vairāki obligātie un fakultatīvie saimnieki, un tā sekmīga norise ir atkarīga no parazīta spējas izmantot dažādas mugurkaulnieku sugas (Odening 1963; Galaktionov un Dobrovolskij 2003; Möhl et al. 2009). Šajā disertācijā iegūtie rezultāti apstiprina, ka arī Latvijā *A. alata* izmanto plašu saimnieku loku dažādos attīstības cikla posmos.

Atšķirībā no daudzām pārtikas trematozēm, kuru transmisija uz cilvēkiem notiek, uzņemot cistveida metacerkārijus, *A. alata* izmanto neiekapsulētu un ļoti kustīgu mezocerkāriju stadiju, kas spēj invadēt plašu paratēnisko saimnieku loku (Möhl et al. 2009; Robertson et al. 2014). Par šīs stadijas zoonotisko potenciālu liecina arī eksperimentālie pētījumi ar primātiem, kuros pēc *Alaria* mezocerkāriju uzņemšanas konstatēta kāpuru migrācija audos un smagas patoloģiskas izmaiņas (Odening 1963; Möhl et al. 2009). Lai gan līdz šim nav dokumentēti cilvēku invadēšanās gadījumi ar *A. alata*, ir ziņots par invadēšanos ar citām *Alaria* sugām, īpaši *A. americana*, kā arī ar neidentificētiem *Alaria* mezocerkārijiem, tostarp par gadījumiem ar smagu un pat letālu iznākumu (Fernandez et al. 1976; Möhl et al. 2009).

Šis pētījums parādīja, ka *A. alata* sastopamība mežacūkām Latvijā, kas noteikta, izmantojot AMT metodi, ir augsta (43,9 %), apstiprinot parazīta plašu cirkulāciju savvaļas dzīvnieku populācijās. Mežacūkām novērotās sezonālās svārstības liecina, ka transmisijas intensitāte gada laikā var mainīties atkarībā no ekoloģiskajiem faktoriem, tostarp starpsaimnieku aktivitātes un saimnieku barošanās paradumiem. Lai gan aprēķinātā varbūtība cilvēkam invadēties ar

A. alata, patērējot mežacūku gaļu uzturā, ir salīdzinoši zema (0,2–2,2 %), šie rezultāti apstiprina, ka *A. alata* transmisija uz cilvēkiem ir iespējama. Ņemot vērā parazīta augsto sastopamību mežacūku populācijā un dokumentētos cilvēku alariozes gadījumus, ko izraisījušas citas *Alaria* sugas, *A. alata* zoonotiskais potenciāls nav uzskatāms par nenozīmīgu.

Lai gan Eiropā nav ziņots par apstiprinātiem cilvēku invadēšanās gadījumiem, ko izraisījis tieši *A. alata*, Ziemeļamerikā aprakstītie cilvēku alariozes gadījumi, ko izraisījušas radniecīgas *Alaria* sugas, neļauj izslēgt šīs sugas zoonotisko potenciālu (McDonald et al. 1994; Möhl et al. 2009; Robertson et al. 2014). *A. alata* plašā sastopamība savvaļas dzīvnieku populācijās, apvienojumā ar diagnostikas ierobežojumiem un tādiem riska faktoriem kā nepietiekama medījamo dzīvnieku gaļas termiskā apstrāde vai jēlas gaļas produktu patēriņš, liecina, ka parazīta zoonotiskais potenciāls varētu būt novērtēts par zemu. Kopumā šā pētījuma rezultāti liecina, ka *A. alata* potenciālo nozīmi sabiedrības veselībā nosaka parazīta cirkulācijas īpatnības dabā, saimnieku daudzveidība, diagnostikas iespējas un cilvēku uztura paradumi.

SECINĀJUMI

1. Augsta *A. alata* sastopamība un invāzijas intensitāte savvaļas plēsēju populācijās norāda, ka suņu dzimtas dzīvnieki funkcionē kā galvenie definitīvie saimnieki, nodrošinot parazīta apriti vidē un nepārtrauktu apkārtējās vides kontamināciju ar olām.
2. *A. alata* olas saglabā dzīvotspēju zemās temperatūrās un pēc temperatūras paaugstināšanās spēj atsākt attīstību. Dinamiska ūdens vide veicina miracīdiju izšķilšanos, kas norāda, ka seklas un kustīgas ūdenstilpes mērenā klimata joslā nodrošina īpaši labvēlīgus apstākļus parazīta attīstībai un transmisijai.
3. Abinieki Latvijā ir nozīmīgi *A. alata* starpsaimnieki. Mezocerkāriji visbiežāk tika konstatēti zaļo varžu sugu kompleksam, galvenokārt lokalizējoties galvas reģionā un iekšējos orgānos.
4. *A. alata* mezocerkāriju konstatēšana Eirāzijas lūsim (*Lynx lynx*) paplašina zināmo parazīta saimnieku loku un norāda, ka šī suga var funkcionēt gan kā paratēniskais, gan retāk kā definitīvais saimnieks.
5. Mežacūka Latvijā ir nozīmīgs *A. alata* paratēniskais saimnieks ar augstu mezocerkāriju sastopamību muskulatūrā, kas liecina par aktīvu parazīta apriti barības ķēdē un regulāru kontaktu ar starpsaimniekiem dabiskajos apstākļos.
6. Mežacūkas var būt potenciāls alariozes avots cilvēkiem, tomēr cilvēku invadēšanās risks ir zems.
7. *A. alata* Latvijā uztur stabilu attīstības ciklu, kurā iesaistīti vairāki definitīvie, starpsaimnieki un paratēniskie saimnieki, kas pārstāv dažādus trofiskos līmeņus un ekoloģiskās nišas.

AIZSTĀVAMĀS TĒZES

1. *A. alata* Latvijā uztur stabilu un pilnvērtīgu attīstības ciklu, kurā iesaistīti definitīvie, pirmie un otrie starpsaimnieki un paratēniskie saimnieki dažādās ekoloģiskajās nišās.
2. *A. alata* augstā sastopamība un invāzijas intensitāte savvaļas plēsējos liecina par biežu saskari ar parazītu un atkārtotu invadēšanos, kas saistīta ar saimnieku barošanās paradumiem un plēsēju–medījuma attiecībām.
3. *A. alata* olu un miracīdiju attīstību un izdzīvošanu būtiski ietekmē vides faktori, kas veicina parazīta saglabāšanos mērenā klimata apstākļos.
4. Abinieki pilda nozīmīgu lomu kā otrie starpsaimnieki, nodrošinot parazīta pāreju no ūdens vides uz sauszemes saimniekiem.
5. Mezocerkāriju nevienmērīgais sadalījums saimnieka audos un diagnostikas metožu ierobežojumi var izraisīt *A. alata* sastopamības nepietiekamu novērtēšanu.
6. Mežacūkas ir nozīmīgi paratēniskie saimnieki ar augstu mezocerkāriju sastopamību, un to plašā medišana un izmantošana uzturā nosaka šo dzīvnieku īpašo nozīmi *A. alata* zoonotiskā riska kontekstā.
7. Lai gan aprēķinātais cilvēka invadēšanās risks, patērējot mežacūku gaļu, ir zems, augstā *A. alata* sastopamība savvaļas dzīvniekos un diagnostikas ierobežojumi liecina, ka parazīta zoonotiskais potenciāls var būt novērtēts par zemu.

PATEICĪBAS

Vispirms vēlos izteikt visdziļāko pateicību savai darba vadītājai Gunitai Deksei par daudzu gadu garumā sniegto atbalstu, iedrošinājumu, gudro padomu un patiesi izcilo vadību. Varu droši teikt, ka, iespējams, nekad nebūtu kļuvusi par parazitoloģi, ja liktenis mūs nebūtu savedis kopā. Paldies par pacietību, uzticēšanos, nemainīgo atbalstu un par to, ka vienmēr atradi laiku maniem jautājumiem. Paldies, ka iedvesmoji mani tiekties augstāk un darīt visu, kas ir manos spēkos. Esmu īpaši pateicīga par neticami ātrajām atbildēm, palīdzību publikāciju sagatavošanā un gatavību vienmēr iesaistīties. Grūti vārdos izteikt, cik daudz tas man nozīmē. Entuziasms par parazitātiem ir patiesi lipīgs – un, par laimi, tas ir viens no tiem gadījumiem, kad inficēšanās nāk tikai par labu.

Sirsnīgi pateicos Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajam institūtam “BIOR” par paraugu nodrošināšanu, iespēju izmantot laboratorijas telpas un infrastruktūru, kā arī par sniegto tehnisko atbalstu. Bez institūta atbalsta šī doktora disertācija nebūtu tapusi.

Īpašu pateicību vēlos veltīt neaizstājamajai BIOR Parazitoloģijas grupai par atbalstu, palīdzību un kopā pavadītajiem gadiem. No paraugu vākšanas un laboratorijas darba līdz neaizmirstamajām kafijas pauzēm, kas dažkārt bija tikpat nozīmīgas kā pati zinātne, – šo ceļu nebūtu iespējams noiet bez jums. No sirds pateicos Leldei Šukstai, Zandai Segliņai, Lindai Liepiņai, Maijai Selezņovai, Maijai Rozenfeldei, Helēnai Maijai Avotiņai, Janai Kiseļovai un Paulai Vildavai par palīdzību, atbalstu un visiem skaistajiem mirkļiem ceļā uz šīs disertācijas tapšanu. Īpašs paldies Mairai Mateusai par nenovērtējamo palīdzību, daudzpusīgo atbalstu un klātbūtni visā rakstīšanas procesā.

Sirsnīgs paldies Gunai Bagradei un Latvijas Valsts meža zinātnes institūtam “Silava” par palīdzību paraugu vākšanā. Guna, paldies ne tikai par Tavām zināšanām un atbalstu, bet arī par brīvdienām, kuras veltīji man un parazitātiem. Man bija patiens prieks no Tevis mācīties gan dzīvnieku preparēšanu, paraugu sagatavošanu, gan to, kā nejauši neaizskālot parazitātus. Tava pieredze, dāsnums un praktiskie padomi ir devuši milzīgu ieguldījumu šīs disertācijas tapšanā – daudz lielāku, nekā iespējams izteikt vārdos.

Pateicos BIOR Patoloģijas grupai un visam laboratorijas personālam par ilgstošo un rūpīgo darbu paraugu vākšanā un uzglabāšanā. Bez jūsu ieguldījuma šim darbam vienkārši nebūtu nepieciešamā materiāla.

Paldies Daugavpils Universitātes Dabaszinātņu un tehnoloģiju institūtam par iespēju izmantot laboratorijas un nodrošinātās naktsmājas. Īpaši vēlos pateikties Muzai Kirjušinai. Man bija gods strādāt kopā ar Jums un Jūsu komandu. Paldies par ieguldījumu abinieku parazitātu izpētē un par vērtīgajiem padomiem šīs disertācijas izstrādes laikā.

Pateicos visiem studentiem, kuri palīdzēja laboratorijā. Īpaši Karlīnai Adatai, Emilijai Skādulei un Sintijai Zepai, kuras pievienojās man, lai kopīgi atklātu, ko

nozīmē aizrautība ar *A. alata*. Varbūt tā nav pati populārākā nozare, par kuru interesēties, taču noteikti viena no neaizmirstamākajām.

Dainai Pūlei un Sabīnei Birzgalei pateicos par palīdzību karšu gatavošanā un pacietību, atbildot uz maniem neskaitāmajiem jautājumiem.

Andrim Avotiņam pateicos par palīdzību statistikas jautājumos, diskusijām par disertāciju, atbalstu pirms eksāmeniem un visā doktorantūras laikā. Tev piemīt apskaužama spēja parādīties tieši tajā brīdī, kad palīdzība ir visvairāk nepieciešama, un atrast īstos vārdus īstajā laikā.

Patiesi pateicos Līgai Sofiai un Baibai Magonei par ieguldīto darbu valodas rediģēšanā un korektūrā. Jūsu rūpība un vērtīgie ieteikumi būtiski uzlaboja šīs disertācijas kvalitāti.

No sirds pateicos savai mammai Ilzei un mammītei Antonijai, kuras vienmēr ir atbalstījušas manas idejas, lai cik trakas tās reizēm šķistu. Tieši jūsu piemērs, pieredze un bērnība laboratorijas vidē iedvesmoja mani izvēlēties zinātnieces ceļu. Paldies manam brālim Mārtiņam par atbalstu un par to, ka dažkārt prata glabāt manus noslēpumus no mammas. Esmu pateicīga arī saviem vīra vecākiem Laimai un Jānim par sapratni, atbalstu un klātbūtni. Bez jums šis ceļš būtu bijis daudz grūtāks.

Un visbeidzot – manam brīnišķīgajam vīram Dāvim Ozoliņam. Paldies, ka visus šos gadus esi bijis man līdzās. Tava pacietība, mīlestība, iedrošinājums un nelokāmā ticība man ir palīdzējusi pārvarēt daudz vairāk, nekā Tu pats apzinies. Paldies par palīdzību manuskriptu sagatavošanā, par uzklausītajām domām, vilšanos un neskaitāmajiem stāstiem par parazitētiem. Paldies par vārdiem, kas vienmēr nāca īstajā brīdī, par atgādinājumiem atpūsties, par atbalstu brīžos, kad šaubījies par sevi, un par to, ka ļāvi man turpināt darboties arī tad, kad tas šķita visgrūtāk un nesavienojami ar ģimenes dzīvi. Bez Tevis es to nebūtu paveikusi. Tu esi bijis mans miers, mans spēks un mana drošā osta visā šajā ceļā.

Un maniem bērniem – Austrai, Viesturam un Haraldam. Paldies par jūsu pacietību, mīlestību un par to, ka dalījāties ar savu mammu šīs disertācijas tapšanas laikā. Jūs esat mans lielākais prieks, mans lielākais iedvesmas avots un galvenais iemesls, kāpēc es vēlējos šo darbu pabeigt.



UNIVERSITY OF
LATVIA

**FACULTY OF MEDICINE
AND LIFE SCIENCES**

Zanda Ozoliņa

**LIFE CYCLE OF TREMATODE
ALARIA ALATA (GOEZE, 1782)
IN DIFFERENT HOSTS IN LATVIA**

SUMMARY OF DOCTORAL THESIS

submitted for the Doctoral Degree of Science (Ph. D.)
Field of Science – Natural Sciences (Biology)
Subfield – Zoology

Riga 2026

The doctoral thesis was carried out at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR, from 2015 to 2026.



The thesis contains the introduction, 7 chapters, reference list.

Form of the thesis: collection of research papers in natural sciences (biology), subfield of zoology.

Supervisor Assoc. prof., Dr. biol. Gunita Dekšne

Reviewers:

- 1) PhD **Epp Moks**;
- 2) Dr. med. **Sniedze Laivacuma**;
- 3) Dr. biol. **Ainārs Auniņš**.

The thesis will be defended at the public session of the Doctoral Committee of Biology, University of Latvia, on November 5, 2026.

The thesis is available at the Library of the University of Latvia, Kalpaka blvd. 4.

This thesis is accepted for the commencement of the degree of Doctor of Natural Sciences (Biology) on September 9, 2026 by the Doctoral Committee of Biology, University of Latvia.

Chairman of
the Doctoral Committee _____ / **Guntis Brūmelis** /
(signature)

Secretary of
the Doctoral Committee _____ / **Ilze Elbere** /
(signature)

© Zanda Ozoliņa, 2026
© University of Latvia, 2026

ISBN 978-9934-36-689-5
ISBN 978-9934-36-690-1 (PDF)

ANNOTATION

Thesis title: “Life cycle of trematode *Alaria alata* (Goeze, 1782) in different hosts in Latvia.”

The trematode *Alaria alata* is widely distributed across Europe and has a complex heteroxenous life cycle involving carnivores as definitive hosts, aquatic snails as the first intermediate hosts, amphibians as the second intermediate hosts, and a broad range of paratenic hosts, including wild boar and other mammals. Since 2005, *A. alata* mesocercariae have been increasingly detected in wild boar muscle in Europe, raising concerns about its potential zoonotic risk associated with the consumption of game meat.

The aim of this study was to investigate the life cycle of *A. alata*, to analyse its occurrence across multiple host species, to evaluate factors influencing egg and miracidial development and survival, and to assess the zoonotic risk associated with the consumption of wild boar meat.

The study is based on long-term data collected between 2004 and 2026 and represents the most comprehensive investigation of *A. alata* in Latvian wildlife to date. The examined host groups included wild carnivores, amphibians, and wild boar. In addition, experimental studies were conducted to evaluate the development and survival of *A. alata* eggs and miracidia under different environmental conditions.

The results demonstrate that *A. alata* is widely distributed in Latvian wildlife, with high prevalence observed in wild carnivores, indicating an active and stable transmission cycle under natural conditions. Amphibians were confirmed as important second intermediate hosts, with mesocercariae most frequently detected predominantly localised in the head region and internal organs. Experimental results showed that the development and survival of *A. alata* eggs and miracidia are strongly influenced by environmental factors, including temperature, desiccation, and water dynamics, supporting the parasite's ability to persist under temperate climatic conditions. Despite the relatively high prevalence of mesocercariae in wild boar meat, the estimated probability of human exposure through consumption of wild boar meat was low.

The findings of this study provide new insights into the ecology, life cycle, and zoonotic potential of *A. alata* in Northern Europe and contribute to improved parasite surveillance and risk assessment in the context of food safety.

The research was carried out at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”, Laboratory of Microbiology and Pathology, Parasitology Group, from 2015 to 2025.

Keywords: *Alaria alata*, life cycle, mesocercariae, amphibians, wild boar, carnivores, zoonotic risk

TABLE OF CONTENTS

ANNOTATION	39
INTRODUCTION.....	41
Scientific novelty and practical importance of the research	43
Approbation of research results	43
1. THEORETICAL BACKGROUND	46
1.1. Transmission ecology and host associations of <i>A. alata</i>	46
1.2. Zoonotic potential.....	48
2. MATERIALS AND METHODS	50
2.1. Detection of metacercariae and adult flukes	50
2.2. Experimental design for egg development and hatching studies.....	50
2.3. Detection of mesocercariae.....	51
2.3.1. Second intermediate hosts: amphibians	51
2.3.2. Paratenic hosts: wild boar and Eurasian lynx.....	52
2.4. Statistical analyses.....	52
3. RESULTS	54
3.1. Metacercariae and adult flukes (Paper IV; V).....	54
3.2. Egg development and hatching (Paper I).....	55
3.2.1. Effect of light.....	55
3.2.2. Effect of temperature.....	57
3.2.3. Effect of desiccation and dynamic environment.....	58
3.3. Mesocercariae in second intermediate hosts (Paper III).....	58
3.4. Mesocercariae in paratenic hosts	59
3.4.1. Comparison of diagnostic methods for the detection of <i>A. alata</i> mesocercariae (Paper VI).....	59
3.4.2. Prevalence of <i>A. alata</i> mesocercariae in wild boar populations (Paper II).....	59
3.4.3. Assessment of the zoonotic potential of <i>A. alata</i> (Paper II)	61
3.4.4. <i>A. alata</i> mesocercariae in eurasian lynx (Paper IV)	61
4. DISCUSSION	62
4.1. Environmental and ecological drivers of <i>A. alata</i> transmission in Latvia...	62
4.2. Diagnostic challenges and methodological limitations	66
4.3. Zoonotic implications of <i>A. alata</i>	67
CONCLUSIONS.....	69
MAIN THESES FOR DEFENSE.....	70
ACKNOWLEDGMENTS	71
REFERENCES	73

INTRODUCTION

Wildlife health is an integral component of sustainable development and is closely linked to the One Health concept, which recognises the interconnected health of humans, animals, and ecosystems. Within this framework, parasites represent an essential part of biodiversity and play a fundamental role in regulating host populations and maintaining ecosystem structure and functions. In natural systems, parasite diversity contributes to ecological stability by influencing species interactions, trophic relationships, and energy flow within food webs.

Trematodes are characterised by complex heteroxenous life cycles involving multiple hosts across different trophic levels. These life cycles typically include aquatic intermediate hosts and terrestrial definitive hosts, thereby linking aquatic and terrestrial ecosystems. The complexity of these systems increases transmission opportunities and enhances parasite persistence but also introduces multiple ecological dependencies (Poulin and Cribb 2002; Galaktionov and Dobrovolskij 2003). As a result, trematode transmission is strongly influenced by environmental conditions, host community composition, and ecological interactions.

Many trematodes are of zoonotic importance and are transmitted to humans through the consumption of infective larval stages present in food. Classical examples include *Fasciola hepatica*, transmitted through contaminated aquatic vegetation, and fish- or crustacean-borne trematodes such as *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis* spp., and *Paragonimus* spp. These parasites represent well-recognised foodborne hazards, and their epidemiology is closely linked to human dietary habits, food preparation practices, and environmental conditions (Keiser and Utzinger 2009; Robertson et al. 2014).

Wild boar (*Sus scrofa*) represent one of the most important game species in Europe and are increasingly recognised as hosts of foodborne parasites relevant to public health (Guardone et al. 2022). Game meat is often perceived as a natural and sustainable food source; however, it is also associated with specific public health risks, including foodborne parasitic infections. Unlike livestock, wild animals are not subjected to controlled rearing conditions, and their exposure to parasites depends on natural ecological processes. Consequently, wild boar occupy an important position at the wildlife–human interface and are of particular relevance for food safety risk assessment (Guardone et al. 2022).

Among foodborne parasites associated with game meat, *Alaria* spp. has received increasing attention in Europe. *A. alata*, a trematode widely distributed across temperate regions, has a complex life cycle involving carnivores as definitive hosts, aquatic snails as the first intermediate hosts, amphibians as second intermediate hosts, and a broad range of facultative paratenic hosts, including mammals, birds, and reptiles (Möhl et al. 2009). In this system, wild boar

functions as a key paratenic host, accumulating infective mesocercarial stages in its tissues. A distinctive feature of *A. alata* is the presence of a mesocercarial stage, which is non-encysted, highly mobile, and capable of infecting a wide range of hosts without further development. This transmission strategy differs fundamentally from that of most zoonotic trematodes and allows the parasite to persist within complex ecological networks through trophic transmission. The ecological flexibility of mesocercariae enhances parasite survival and dispersal but complicates the interpretation of transmission pathways and zoonotic risk. Despite increasing awareness, several key aspects of *A. alata* biology and epidemiology remain insufficiently understood. The relative importance of different host species in maintaining transmission cycles, the factors influencing parasite development and survival under environmental conditions, and the true prevalence of infection in wildlife populations are still subject to uncertainty. In addition, methodological limitations in parasite detection, particularly in meat inspection, may lead to substantial underestimation of infection levels.

The zoonotic potential of *A. alata* is also not fully clarified. Although human infections have not been confirmed in Europe, experimental studies and case reports involving related *Alaria* species suggest that mesocercariae are capable of infecting humans as accidental hosts. The increasing consumption of game meat, combined with traditional food preparation practices, may therefore create conditions conducive to human exposure, even if the individual risk remains low.

Given these uncertainties, there is a need for an integrated approach combining ecological, experimental, and epidemiological data to better understand the transmission dynamics and public health relevance of *A. alata*. Such an approach is particularly important in regions where environmental conditions, host diversity, and game meat consumption patterns may facilitate parasite transmission, yet remain insufficiently studied.

The aim of this study was to investigate the life cycle of *Alaria alata* and to analyse transmission across multiple host species, to evaluate factors influencing egg and miracidial development and survival, and to assess the zoonotic risk associated with the consumption of wild boar meat.

To achieve the aim, the following tasks were proposed:

1. To determine the occurrence and infection patterns of *A. alata* in definitive hosts;
2. To experimentally evaluate the development and survival of *A. alata* eggs and miracidia under controlled conditions;
3. To assess the occurrence and distribution of *A. alata* mesocercariae in amphibians as second intermediate hosts;
4. To determine the occurrence of *A. alata* mesocercariae in paratenic hosts and to evaluate the performance of diagnostic methods;
5. To evaluate the zoonotic potential of *A. alata*.

Scientific novelty and practical importance of the research

This doctoral thesis provides the first comprehensive analysis of the life cycle of *A. alata* in Latvia, integrating data from definitive, intermediate, and paratenic hosts and thereby improving the understanding of its transmission ecology under natural conditions. The study presents experimental evidence on the development and survival of *A. alata* eggs under different environmental conditions, demonstrating the influence of temperature fluctuations, light, desiccation, and water dynamics on miracidia development. Furthermore, the occurrence and tissue localisation of *A. alata* mesocercariae in amphibians were characterised in detail, identifying the most important second intermediate host groups. The detection of *A. alata* mesocercariae in the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) represents a previously unreported host–parasite association and expands current knowledge on the host range of this parasite.

From a practical perspective, the study evaluates the performance of diagnostic methods for the detection of *A. alata* mesocercariae in muscle tissue and provides recommendations for the most appropriate approaches. The obtained data on the occurrence of *A. alata* in wild boar contribute to a more evidence-based assessment of zoonotic risk associated with wild boar meat consumption in Latvia and provide relevant insights applicable to a broader European context. The results support wildlife parasite monitoring and can be applied in veterinary medicine and food safety risk assessment.

Approbation of research results

Original scientific publications

This doctoral thesis is based on the following published research papers, which are referred to in the text by Roman numerals:

- I. **Ozoliņa, Z.**, Zepa, S., Deksnē, G. (2026). In vitro development and hatching success of *Alaria alata* miracidia (Trematoda: Diplostomidae). *Parasitology Research*, 125, 16. <https://doi.org/10.1007/s00436-026-08637-x>
- II. **Ozoliņa, Z.**, Mateusa, M., Šuksta, L., Liepiņa, L., Deksnē, G. (2020). The wild boar (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) as an important reservoir host for *Alaria alata* in the Baltic region and potential risk of infection in humans. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22, 100485. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100485>



III. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G., Pupins, M., Gravele, E., Gavarāne, I., Kirjušina, M. (2021). *Alaria alata* mesocercariae prevalence and predilection sites in amphibians in Latvia. *Parasitology Research*, 120, 145–152. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06951-6>



IV. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Deksnē, G. (2020). First confirmed case of *Alaria alata* mesocercaria in Eurasian lynx (*Lynx lynx*) hunted in Latvia. *Parasitology Research*, 119, 759–762. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06556-8>



V. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Deksnē, G. (2018). The host age-related occurrence of *Alaria alata* in wild canids in Latvia. *Parasitology Research*, 117, 3743–3751. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6074-5>



VI. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2017). Effectiveness of two methods for mesocercariae of *Alaria alata* detection in wild boars (*Sus scrofa*). *Environmental and Experimental Biology*, 15, 25–28. <https://doi.org/10.22364/eeb.15.04>



Additional publications related to the topic

Beyond the publications included in this doctoral thesis, the author has also contributed to several international studies investigating the diagnosis of *A. alata* using both morphological and molecular methods. While these studies are not part of the thesis, they have expanded the knowledge base on *A. alata* in Latvia and contributed to the development and evaluation of diagnostic approaches for this parasite.

- Käßtner, C., Bahn, P., Schönfelder, R., **Ozoliņa, Z.**, Alksne, L., Richter, M. H., Deksnē, G., Mayer-Scholl, A., Johnē, A. (2021). Development of a novel method for identification of *Alaria alata* mesocercariae by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Microorganisms*, 9, 1664. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081664>
- Dimzas, D., Chassalevris, T., **Ozoliņa, Z.**, Dovas, C. I., Diakou, A. (2021). Investigation of the food-transmitted parasites *Trichinella* spp. and *Alaria*

spp. in wild boars in Greece by classical and molecular methods and development of a novel real-time PCR for *Alaria* spp. detection. *Animals*, 11, 2803. <https://doi.org/10.3390/ani11102803>

International conferences

1. **Ozoliņa, Z.**, Mateusa, M., Deksnē, G. (2025). "What's Living Inside? A Closer Look at Intestinal Parasites in Latvian Dogs." 11th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Reykjavik, Iceland, 13–15 September 2025.
2. Mateusa, M., **Ozoliņa, Z.**, Müller-Graf, C., Deksnē, G. (2025). "Trichinella spp. and *Alaria alata* – A Risk of Wild Boar Consumption for Human Health in Latvia?" 1st SafeGameMeat Conference, Porto, Portugal, 26–28 May 2025.
3. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Šuksta, L., Kirjušina, M., Gravele, E., Pupins, M., Deksnē, G. (2019). "The Success of the *Alaria alata* Life Cycle in Latvia." The 8th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology (SBSP) and the Annual Meeting of the European Veterinary Parasitology College (EVPC), Copenhagen, Denmark, 10–11 October 2019.
4. **Ozoliņa, Z.**, Bagrade, G., Deksnē, G. (2018). "The Host Age-Related Occurrence of *Alaria alata* in Wild Canids in Latvia." 13th Conference of the European Wildlife Disease Association, Larissa, Greece, 27–31 August 2018.
5. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2018). "The Effects of Different Light Conditions on Trematode *Alaria alata* Egg Embryonation and Hatching Success." 76th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, 31 January 2018.
6. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2017). "Preliminary Report of In Vitro Conditions on the Hatching Time of *Alaria alata* Eggs." 7th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Riga, Latvia, 8–9 June 2017.
7. **Ozoliņa, Z.**, Deksnē, G. (2017). "Effectiveness of Two Methods for Detection of *Alaria alata* Mesocercariae in Wild Boars (*Sus scrofa*)." 9th International Conference on Biodiversity Research (ICBR), Daugavpils, Latvia, 26–28 April 2017.
8. **Esīte, Z.**, Jahundoviča, I., Kokina, I., Deksnē, G. (2015). "Constructing Molecular Phylogenetic Trees of the Genus *Alaria* Based on Data Available in GenBank." 8th International Conference on Biodiversity Research (ICBR), Daugavpils, Latvia, 28–30 April 2015.
9. **Esīte, Z.**, Jahundoviča, I., Deksnē, G. (2015). "First Report of DNA Extraction and Characterization of *Alaria alata* in Latvia." 6th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Uppsala, Sweden, 23–24 April 2015.

1. THEORETICAL BACKGROUND

1.1. Transmission ecology and host associations of *A. alata*

Alaria alata was first described by Goeze (1782) from adult parasites recovered from the red fox (*Vulpes vulpes*). During the following decades, different developmental stages of the parasite were described separately from amphibians and swine before their connection within a single life cycle was finally established in the mid-twentieth century (Duncker 1896; Stefański and Tarczyński 1953; Skryabin 1960). Today, *A. alata* is recognised as the most widespread species of the genus *Alaria* in Europe and the only species of major epidemiological importance in the region (Pearson 1956; Möhl et al. 2009). Like other members of the genus, *A. alata* has a complex heteroxenous life cycle involving a definitive host, two obligatory intermediate hosts and a facultative paratenic host (Figure 1) (Bosma 1934; Pearson 1956; Möhl et al. 2009).

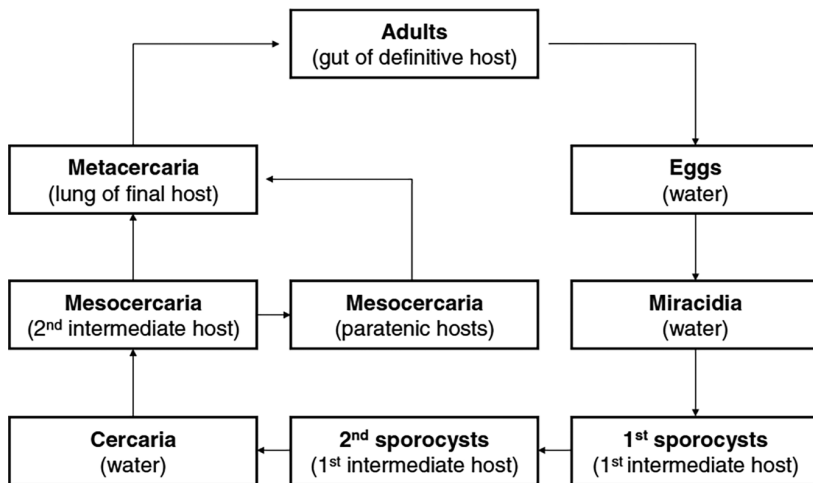


Figure 1. Life cycle of *Alaria* species: developmental stages (Möhl et al. 2009).

Species of the genus *Alaria* are characterised by a broad host spectrum that depends on parasite species as well as geographical and environmental conditions (Pearson 1956; Möhl et al. 2009). *A. alata* is associated with multiple host groups representing different developmental stages throughout its life cycle, with a substantial proportion of infections occurring in paratenic hosts (Möhl et al. 2009; Bełcik et al. 2025). Host-parasite interactions in *A. alata* are determined by its complex heteroxenous life cycle and the stage-specific

biological properties of its developmental forms. The parasite exhibits distinct interaction patterns across definitive, intermediate and paratenic hosts, ranging from intestinal colonisation and reproduction to systemic larval migration and long-term tissue persistence. These interactions shape both the pathological outcomes and the epidemiological role of each host group within the transmission cycle (Pearson 1956; Möhl et al. 2009).

Adult *A. alata* inhabit the proximal part of the small intestine of carnivorous definitive hosts, where sexual reproduction occurs and eggs are released into the environment with host faeces (Skryabin 1960; Möhl et al. 2009). Wild carnivores represent the principal definitive hosts of *A. alata* in Europe, with red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) serving as the main reservoir hosts, while wolves (*Canis lupus*) and felids appear to play a lesser epidemiological role (Möhl et al. 2009; Bružinskaitė-Schmidhalter et al. 2012; Murphy et al. 2012; Laurimaa et al. 2016; Karamon et al. 2016; Kjær et al. 2021). Infection occurs through ingestion of infected second intermediate or paratenic hosts containing viable mesocercariae. Following ingestion, mesocercariae penetrate the intestinal wall and migrate through host tissues, particularly the diaphragm and lungs, where they transiently develop into metacercariae (Skryabin 1965; Möhl et al. 2009). Subsequently, metacercariae migrate via the respiratory tract to the pharynx, are swallowed and re-enter the intestine, where maturation into adult flukes occurs (Mehlhorn 2001; Möhl et al. 2009). Sexual maturity is typically reached within 29–36 days following intestinal establishment (Skryabin 1960; Skryabin 1965; Möhl et al. 2009).

In definitive hosts, *A. alata* is generally considered to exhibit low pathogenicity. Heavy infections may induce intestinal inflammatory changes, while migrating larval stages can occasionally cause pulmonary lesions. However, pathological findings are typically mild and no consistent relationship has been demonstrated between parasite burden and host condition (Skryabin 1960; Skryabin 1965; Möhl et al. 2009; Lempp et al. 2017; Klink et al. 2025). Such relatively balanced host–parasite interactions facilitate long-term persistence of the parasite within host populations while maintaining efficient transmission within ecosystems (Poulin and Cribb 2002; Galaktionov and Dobrovolskij 2003).

Eggs released by definitive hosts develop exclusively in aquatic environments. Embryonation and hatching success are strongly influenced by environmental conditions, particularly temperature and moisture. Under favourable conditions, miracidia may develop within approximately one week, whereas low temperatures substantially delay development while maintaining egg viability for prolonged periods (Pearson 1956; Skryabin 1960; Olsen 1974). Previous studies have demonstrated that *A. alata* eggs can survive freezing and resume development when subsequently exposed to favourable temperatures, indicating considerable environmental resilience (Pearson 1956). Following hatching, miracidia infect freshwater snails serving as first intermediate hosts. Natural infections have primarily been reported in planorbid and lymnaeid snails,

particularly *Planorbis planorbis* and *Anisus vortex*, although information on infection prevalence remains limited (Wójcik et al. 2002; Portier et al. 2012).

Anuran amphibians serve as the second intermediate hosts of *A. alata* and play a key role in maintaining transmission within aquatic and terrestrial ecosystems. Following release from infected snails, cercariae actively penetrate amphibian skin, shed their tails and develop into mesocercariae within host tissues, particularly musculature, within approximately two weeks (Olsen 1974; Möhl et al. 2009; Patrelle et al. 2015; Voelkel et al. 2019). The mesocercarial stage represents the infective stage for both definitive and paratenic hosts and is therefore central to parasite transmission. Unlike other larval trematode stages, mesocercariae remain developmentally arrested while retaining the ability to migrate and persist within host tissues, facilitating transmission across multiple trophic levels (Pearson 1956; Möhl et al. 2009). A wide range of amphibians may serve as second intermediate hosts, including brown frogs (*Rana temporaria*, *Rana arvalis*), water frogs (*Pelophylax* spp.) and the common toad (*Bufo bufo*). Prevalence varies considerably among host species and habitats, ranging from approximately 8% to over 80% (Patrelle et al. 2015; Voelkel et al. 2019; Belcik et al. 2025; Kirillov et al. 2026). Mesocercariae may occur throughout the host body, although pathological effects in naturally infected amphibians appear to be limited. Nevertheless, heavy infections may impair host performance and increase susceptibility to predation, thereby enhancing trophic transmission to subsequent hosts (Pearson 1956; Skryabin 1960; Skryabin 1965; Möhl et al. 2009; Patrelle et al. 2015).

Mesocercariae may persist in a wide range of paratenic hosts, including mammals, reptiles and birds, thereby prolonging parasite survival and facilitating transmission across multiple trophic levels (Skryabin 1960; Möhl et al. 2009; Rentería-Solis et al. 2013; Takeuchi-Storm et al. 2015). Among these hosts, wild boar (*Sus scrofa*) is considered particularly important due to its widespread distribution, frequent infection and significance as a game species consumed by humans (Möhl et al. 2009; González-Fuentes et al. 2014a; Gazzonis et al. 2018; Bilska-Zajac et al. 2021). Reported prevalence in wild boar varies considerably among regions, ranging from below 1% to over 70%, depending on environmental conditions and diagnostic methods used (Wójcik et al. 2001; Riehn et al. 2011; Paulsen et al. 2012; Portier et al. 2014; Gazzonis et al. 2018; Bilska-Zajac et al. 2021).

1.2. Zoonotic potential

Although *A. alata* primarily circulates among wildlife hosts, its broad host range and ability to persist as mesocercariae in paratenic hosts create opportunities for accidental human exposure. Humans may become infected through the consumption of raw or undercooked meat containing viable mesocercariae and are considered accidental paratenic hosts (Möhl et al. 2009; Korpysa-Dzirba et al. 2021).

No confirmed human infections caused by *A. alata* have been reported in Europe. However, several cases of human alariosis caused by closely related North American *Alaria* species have been documented, including subcutaneous, ocular, respiratory and systemic infections, as well as fatal cases associated with extensive larval migration (Fernandez et al. 1976; Freeman et al. 1976; Beaver et al. 1977; McDonald et al. 1994; Kramer et al. 1996). Clinical manifestations described in human cases include subcutaneous nodules, ocular infections, respiratory symptoms and disseminated systemic disease, demonstrating the capacity of mesocercariae to survive and migrate within mammalian tissues (Fernandez et al. 1976; Beaver et al. 1977; McDonald et al. 1994; Kramer et al. 1996).

In Europe, wild boar (*Sus scrofa*) is considered the most important source of potential human exposure because mesocercariae are frequently detected in wild boar meat and may remain viable under a range of storage and processing conditions (Möhl et al. 2009; González-Fuentes et al. 2014a; González-Fuentes et al. 2014b; Gazzonis et al. 2018). The widespread distribution of *A. alata* in wildlife, increasing wild boar populations and growing consumption of game meat have therefore raised concerns regarding its public health significance (Malešević et al. 2016; Korpysa-Dzirba et al. 2021; Guardone et al. 2022). Although the actual risk to consumers remains difficult to quantify, *A. alata* is increasingly recognised as an emerging food-borne parasite requiring continued surveillance and risk assessment within a One Health framework (Robertson et al. 2014; Korpysa-Dzirba et al. 2021; Guardone et al. 2022).

Like most trematodes, *A. alata* is hermaphroditic, allowing both cross-fertilisation and self-fertilisation (Galaktionov and Dobrovolskij 2003). The complete biological life cycle generally spans 92–114 days, although the lifespan of sexually mature adults remains unknown (Möhl et al. 2009).

In Latvia, the occurrence of *A. alata* has been confirmed using both parasitological and molecular identification approaches. Latvian *A. alata* material has been used as reference and positive-control material in the development of a species-specific real-time PCR assay (Dimzas et al. 2021). In addition, mesocercariae isolated from Latvian wild boars, amphibians and Eurasian lynx were used in the development and validation of a MALDI-TOF MS identification method (Kästner et al. 2021). Together, these studies provide independent confirmation of *A. alata* in Latvian wildlife and demonstrate the applicability of molecular and proteomic approaches for species identification (Dimzas et al. 2021; Kästner et al. 2021).

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Detection of metacercariae and adult flukes

Carcasses of red foxes and raccoon dogs were collected within the Latvian State Programme for the Control and Eradication of Rabies. From the 2010/2011 to the 2014/2015 hunting seasons, during each sampling period from November to February, both species were collected across the entire territory of Latvia; whereas in the 2014/2015 season, animals were collected only from the eastern part of Latvia, bordering the Russian Federation and Belarus (Food and Veterinary Service of Latvia, 2014). Grey wolves were collected during the hunting seasons from 2010/2011 to 2014/2015 (15 July to 31 March), whereas Eurasian lynx were obtained from 2004/2005 to 2017/2018 (December to March). All animals were collected within the national hunting quotas established for the entire country and in accordance with the Latvian Hunting Regulations.

In total, the presence of *A. alata* was investigated in 1,223 animals, including 539 red foxes, 411 raccoon dogs, 231 Eurasian lynx, and 42 grey wolves. From these, the presence of both *A. alata* adults and metacercariae was investigated in 1,074 animals (468 red foxes, 333 raccoon dogs, 231 Eurasian lynx, and 42 grey wolves). The sex of the animals was determined for Eurasian lynx and grey wolves, while the age group (adult/juvenile) was determined for red foxes ($n = 378$), raccoon dogs ($n = 278$), Eurasian lynx ($n = 231$), and grey wolves ($n = 20$) based on dentition characteristics. Juvenile animals were defined as individuals younger than one year, considering that the breeding season of the sampled canid species in Latvia occurs from April to June (Tauriņš 1982).

Prior to examination, the viscera were frozen at -80°C for at least two weeks to reduce the risk of *Echinococcus* spp. Frozen samples were subsequently thawed at room temperature overnight. Trachea, lungs, and intestines were examined using washing, sieving, sedimentation, and counting techniques (Roepstorff and Nansen 1998; Duscher et al. 2005; Umhang et al. 2011). Metacercariae and adult trematode specimens were identified based on morphological characteristics and counted (Möhl et al. 2009).

2.2. Experimental design for egg development and hatching studies

Faecal samples were collected from red foxes within the Latvian State Programme for the Control and Eradication of Rabies in February and March 2025. Carcasses were stored at 4°C for no longer than three days prior to necropsy, and individual faecal samples were collected directly from the rectum. Eggs of *A. alata* were isolated using a simple sedimentation method (Demelash et al. 2016).

For subsequent experiments, sediments containing *A. alata* eggs from three individual foxes were pooled to create a randomized selection source. Only intact eggs exhibiting clear developmental structures were selected for experimental use. In this study, egg resistance was defined as the ability of *A. alata* eggs to remain viable and capable of development and hatching under different environmental conditions.

In vitro experiments were designed to evaluate egg resistance under environmentally relevant conditions, including variations in light exposure, temperature, desiccation, and water movement. These factors were selected to simulate environmental stressors that *A. alata* eggs may encounter in natural freshwater habitats.

For all experimental conditions, purified eggs were incubated in distilled water and monitored over time to assess egg development and hatching success. Egg development was classified into five developmental stages—unembryonated, embryonated, developed, hatched, and dead eggs—according to Pearson (1956).

2.3. Detection of mesocercariae

In total, 390 amphibians, 17,605 wild boars, and 234 Eurasian lynxes were analysed in the study. All animals were obtained in accordance with the Latvian Hunting Regulations or under special permits issued by the Latvian authorities for the collection and euthanasia of animals for scientific purposes.

Depending on the study objectives and host species, the most appropriate detection method was applied to each host group. Three different methods were used for the detection of *A. alata* mesocercariae: artificial digestion using a magnetic stirrer method applied during routine *Trichinella* spp. Testing (TIM; Commission Implementing Regulation (EU) 2015/1375), *Alaria* spp. mesocercariae migration technique (AMT; Riehn et al. 2010), and compression method.

2.3.1. Second intermediate hosts: amphibians

A total of 390 amphibians were collected between 2017 and 2019 from 86 randomly selected permanent wetlands across Latvia under special permits issued by the Latvian authorities for the collection and euthanasia of amphibians for scientific purposes (permits No. 26/2017-E, 14/2018-E, 21/2019-E; Nature Conservation Agency of Latvia). Adult frogs and tadpoles were collected from shallow water zones using standard hand nets and transported to the laboratory within eight hours. Until further examination, specimens were kept at 4 °C.

Amphibians were identified to the species level based on morphological characteristics and classified as the European common frog (*Rana temporaria*), the European moor frog (*Rana arvalis*), the European common toad (*Bufo bufo*), and the water frog group (*Pelophylax esculentus* complex). The developmental stage (adult or tadpole) was recorded.

Detection of *A. alata* mesocercariae was performed using the compression method. Dissected amphibian tissues were compressed between two glass slides and examined under a stereomicroscope. All detected mesocercariae were isolated from host tissues and examined microscopically (100–400× magnification). Identification of *A. alata* mesocercariae was based on established morphological characteristics, including body shape, size, and the number of glandular cells.

2.3.2. Paratenic hosts: wild boar and Eurasian lynx

The occurrence of *A. alata* mesocercariae in wild boars was investigated using two complementary approaches. First, retrospective data from the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment BIOR (Institute BIOR) were analyzed, including annual reports on accidental findings of *A. alata* mesocercariae detected during routine *Trichinella* spp. testing between 2014 and 2019. Muscle samples (≥150 g), including diaphragm, tongue, and other skeletal muscles, were submitted voluntarily by hunters and tested individually using the TIM.

Second, a targeted study was conducted between December 2018 and October 2019 to estimate the actual prevalence of *A. alata* mesocercariae in wild boars. Muscle samples submitted for routine *Trichinella* spp. testing was additionally examined using the AMT. Identification of mesocercariae was based on established morphological characteristics, including body shape, size, and the number of glandular cells.

Muscle samples from 234 Eurasian lynx were examined for the presence of *A. alata* mesocercariae. Samples were collected during hunting seasons from December to March between 2004/2005 and 2017/2018 in accordance with national hunting quotas. Muscle tissues were initially analyzed using the TIM. In cases where *A. alata* mesocercariae were detected, samples were re-examined using the AMT to confirm infection.

2.4. Statistical analyses

Prevalence (percentage of infected hosts), median intensity (median number of parasites considering only infected hosts), and mean intensity (average number of parasites considering only infected hosts) of *A. alata* mesocercariae were calculated following Bush et al. (1997). Confidence intervals (95%) for prevalence were calculated using the Clopper–Pearson method (Clopper and Pearson 1934). Confidence intervals for median intensity were reported as the shortest interval reaching the desired confidence level, as exact 95% confidence limits cannot be constructed due to data discreteness (Carpenter and Bithell 2000).

Differences in mesocercariae prevalence between host species, age groups, sex, and geographical locations were evaluated using Fisher's exact test, while differences in median intensity were assessed using Mood's median test (Sen

2005; Reiczigel et al. 2008). Comparisons between detection methods were performed using odds ratios calculated as conditional maximum likelihood estimates (Breslow and Day 1990). Correlations between variables were analyzed using Spearman's rank correlation (Spearman 1904).

For in vitro egg experiments, egg development rate (DR) and hatching rate (HR) were calculated for each experimental condition. Development rate was defined as the proportion of eggs reaching advanced developmental stages relative to the total number of eggs, whereas hatching rate was defined as the proportion of hatched eggs among developed eggs.

Differences in egg development and hatching rates between experimental conditions and corresponding control groups were evaluated using non-parametric Mann-Whitney tests. Correlations between environmental parameters (temperature, light exposure, desiccation duration, and water movement) and egg development or hatching outcomes were assessed using Spearman's rank correlation.

Spatial distribution maps were generated using a Geographic Information System (GIS) based on a base map of Latvia and visualized using ArcGIS 10 (ESRI, Redlands, CA, USA).

The probability (Pr) of human ingestion of *A. alata* mesocercariae through consumption of wild boar meat was estimated using the equation $Pr = P \times NT \times IA$, where P represents the prevalence of *A. alata* in wild boars according to the present study, NT is the probability that wild boar meat was not tested for parasites, and IA is the probability that *A. alata* mesocercariae were inactivated in meat or meat products (ANSES 2015).

Different scenario combinations of NT and IA values were applied to estimate ingestion probability. Based on national data on *Trichinella* testing coverage in wild boars (Institute BIOR and State Forest Service, unpublished data), NT values of 99%, 95%, and 80% were used. Based on published data on the tenacity of *A. alata* mesocercariae in wild boar meat and meat products, IA values of 0.5%, 1%, and 5% were applied (González-Fuentes et al. 2014a-b; González-Fuentes et al. 2015).

3. RESULTS

3.1. Metacercariae and adult flukes (Paper IV; V)

Overall, adult *A. alata* trematodes were detected in 859 of 1,223 examined wild carnivores in Latvia, resulting in an overall prevalence of 70.2% (95% CI: 67.6–72.7). Adult parasites were recorded in all investigated host species and across all studied geographic areas, indicating widespread distribution and stable circulation within Latvian wildlife populations. The highest prevalence was observed in grey wolves, followed by red foxes and raccoon dogs, whereas infection was rare in Eurasian lynx (1.7%) (Table 1).

Table 1

Prevalence, mean intensity and intensity range of adult *Alaria alata* trematodes in wild carnivores in Latvia

Specie	No. of analysed animals/infected animals	Prevalence, % (95% CI)	Mean intensity $\pm$ SE	Range
Raccoon dog	411/ 345	83.9 (80.0–87.4)	755.0 $\pm$ 118.7	1–18 870
Red fox	539/ 471	87.4 (84.3–91.1)	193.1 $\pm$ 18.2	1–6 247
Eurasian lynx	231/4	1.7 (0.5–4.5)	4.3 $\pm$ 4.5	1–12
Grey wolf	42/ 39	92.9 (80.5–98.5)	683.3 $\pm$ 164.2	7–5 347

CI – confidence interval; SE – standard error.

A significantly higher mean intensity of adult *A. alata* trematodes was observed in raccoon dogs compared to red foxes and Eurasian lynx ($p < 0.05$), whereas no significant difference was detected between raccoon dogs and grey wolves. The highest mean intensity values were observed in raccoon dogs, followed by grey wolves and red foxes.

Adult *A. alata* trematodes were detected in all game administrative units (GAUs) of Latvia. In red foxes and raccoon dogs, prevalence ranged from 74.1% to 96.3%, with generally higher values observed in western and central regions than in eastern Latvia. In grey wolves, prevalence reached 100% in most GAUs, although sample sizes at the regional level were limited. Temporal analysis revealed a steady increase in prevalence among red foxes over five consecutive hunting seasons, whereas prevalence in raccoon dogs and grey wolves fluctuated between seasons without statistically significant differences.

Pulmonary *A. alata* metacercariae were detected in 216 animals, corresponding to an overall prevalence of 20.1% (95% CI: 17.8–22.6). Metacercariae were significantly more prevalent in raccoon dogs compared to red foxes ($p < 0.0001$). Only a single grey wolf was infected with metacercariae (five specimens), and no pulmonary metacercariae were detected in Eurasian lynx (Table 2).

Table 2

Prevalence, mean intensity and intensity range of *Alaria alata* metacercariae trematodes in wild carnivores in Latvia

Species	No. of analysed animals/infected animals	Prevalence, % (95% CI)	Mean intensity $\pm$ SE	Rang
Raccoon dog	333/ 165	49.5 (44.1–55.1)	34.7 $\pm$ 5.5	1–592
Red fox	468/ 50	10.7 (8.0–13.8)	10.8 $\pm$ 4.3	1–161
Eurasian lynx	231/ 0	0	–	–
Grey wolf	42/ 1	2.4 (0.01–12.6)	–	5

CI – confidence interval; SE – standard error.

Mean intensity of metacercariae was significantly higher in raccoon dogs than in red foxes and grey wolves ($p < 0.05$). Temporal analysis demonstrated an overall increasing trend in metacercariae prevalence in both raccoon dogs and red foxes during the study period, despite occasional fluctuations.

A strong overlap between adult and larval stages was observed in canid hosts. In red foxes, 92.0% of animals infected with metacercariae also harboured adult trematodes, while 10.6% of foxes infected with adult *A. alata* exhibited pulmonary metacercariae. In raccoon dogs, 88.5% of metacercariae-positive animals were concurrently infected with adult trematodes, and 47.8% of adult-infected animals also carried metacercariae. A significant positive correlation between adult trematode abundance and metacercarial intensity was detected in raccoon dogs ($r_s = 0.27$, $p = 0.001$) and red foxes ($r_s = 0.17$, $p = 0.0002$).

3.2. Egg development and hatching (Paper I)

Overall, 3,600 *Alaria* spp. eggs were examined under eight experimental in vitro conditions. The eggs were oval-shaped, yellowish, and operculated, with a thin shell. Egg length ranged from 0.105 to 0.128 mm (mean 0.117 ± 0.005 mm), and width ranged from 0.070 to 0.090 mm (mean 0.083 ± 0.004 mm) (Figure 2). Distinct developmental stages were identified and used consistently in subsequent analyses.

3.2.1. Effect of light

After 25 days post-deposition (dpd), 12.2% (95% CI: 5.8–12.9) of eggs exposed to different light conditions developed to the active miracidia stage, of which 72.2% (95% CI: 54.5–86.7) successfully hatched. Development from embryonated to the hatched stage occurred within 8–11 days. No statistically significant differences were observed among the tested light conditions with respect to egg development or hatching rate ($p = 0.5$); therefore, mean values from all light conditions were used as a control group for subsequent analyses (Table 3).

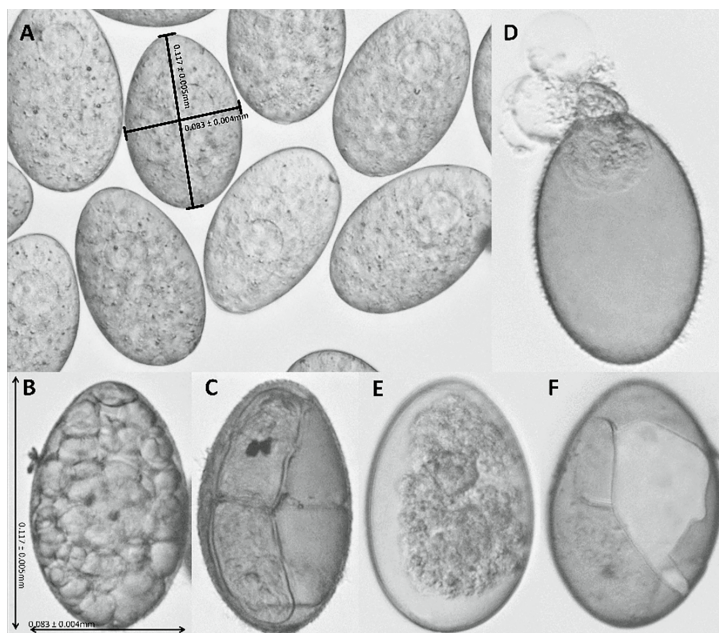


Figure 2. The development and hatching of *Alaria* spp. eggs

A – unembryonated eggs (0.117 ± 0.005 mm x 0.083 ± 0.004 mm),

B – embryonated egg, C – developed egg, D – hatched egg, E – dead egg, F – dead/damaged egg.

Table 3

Observations of *Alaria alata* egg development in different light conditions at 25 days post deposition – first observed development stages, development rate (DR), hatching proportion of development eggs (HR/DR)

Experiment conditions	Development stage	First observations (days) + SE	DR, % (CI 95%)	HR/DR, % (CI 95%)
Natural light	Embryonated	9 ± 2	13.3 (7.1–22.1)	50.0 (21.1–78.9)
	Developed	16 ± 0		
	Hatched eggs	17 ± 1		
Light	Embryonated	6 ± 0	13.3 (7.1–22.1)	75.0 (42.8–94.5)
	Developed	13 ± 3		
	Hatched eggs	14 ± 3		
Dark	Embryonated	6 ± 0	10.0 (4.7–18.1)	100.0 (66.4–100.0)
	Developed	12 ± 0		
	Hatched eggs	15 ± 1		
Mean	Embryonated	7 ± 1	12.2 (6.3–20.8)	72.7 (39.0–94.0)
	Developed	13 ± 1		
	Hatched eggs	15 ± 1		

CI – confidence interval; SE – standard error.

3.2.2. Effect of temperature

Egg development did not occur during exposure to refrigerator or freezer conditions alone and resumed only after eggs were returned to natural light conditions at room temperature. Short-term freezer exposure (two to four hours) allowed subsequent embryonation and hatching. Whereas prolonged exposure resulted in a high proportion of eggs remaining unembryonated throughout the experimental period (Table 4).

Table 4

Observed development on *Alaria alata* eggs after exposure in different environmental conditions – first observed development stages and development rate as well as hatching proportion of development eggs of different conditions observed 25 days post deposition (HR/DR)

Experiment conditions	Incubation time	Development stage	First observations (days) ± SD	DR, % (CI 95%)	HR/DR, % (CI 95%)
Freezer	2 h	Embryonated	7 ± 1	10.0 (4.7–18.1)	66.7 (29.9–92.5)
		Developed	12 ± 0		
		Hatched eggs	14 ± 1		
	4 h	Embryonated	5 ± 1	3.3 (0.7–9.4)	38.5 (0.8–90.6)
		Developed	13 ± 1		
		Hatched eggs	15 ± 1		
Desiccation	2 m	Embryonated	10 ± 2	3.3 (0.7–9.4)	40.0 (0.8–90.6)
		Developed	19 ± 1		
		Hatched eggs	19 ± 0		
	4 m	Embryonated	8 ± 0	1.1 (0.0–6.0)	100.0 (2.5–100.0)
		Developed	10 ± 0		
		Hatched eggs	13 ± 0		
Dynamic environment	NA	Embryonated	6 ± 1	26.7 (17.9–37.0)	100.0 (85.8–100.0)
		Developed	10 ± 0		
		Hatched eggs	16 ± 0		

CI – confidence interval; SD – standard deviation.

Eggs exposed to freezer conditions and subsequently incubated at 37 °C showed significantly higher development and hatching rates compared to control eggs ($p < 0.05$ and $p < 0.02$, respectively). In contrast, exposure to refrigerator conditions did not result in significant differences relative to the control group. Constant incubation at 37 °C accelerated embryonation but resulted in complete hatching failure and high egg mortality, indicating that elevated temperatures compromise egg viability despite promoting development.

3.2.3. Effect of desiccation and dynamic environment

Egg survival was strongly dependent on desiccation duration. Only eggs exposed to desiccation for two to four minutes remained viable, whereas longer exposure resulted in high proportions of unembryonated and dead eggs (Table 4). A strong positive correlation was observed between desiccation duration and egg mortality ($r_s = 1.0$, $p < 0.001$). In contrast, eggs maintained under dynamic environmental conditions showed significantly higher hatching success than controls ($p < 0.001$).

3.3. Mesocercariae in second intermediate hosts (Paper III)

A. alata mesocercariae were detected in amphibian populations throughout Latvia, indicating widespread circulation of the parasite in aquatic ecosystems. Mesocercariae were recorded in all analysed frog species but were not detected in the common toad (Table 5).

Table 5

The prevalence of *Alaria alata* mesocercariae in different amphibian species (adults and/or tadpoles) in Latvia

Species	Developmental stage	No. of investigated/positive animals	P, % (CI 95 %)	Mean intensity $\pm$ SE (range)	Median intensity (median CL)
European water frog sensu lato group	Tadpole	80/47	58.8 (47.5–69.6)	8.7 $\pm$ 16.3 (1–95)	4 (96.0% 2–5)
	Adult	255/57	22.4 (17.4–28.0)	28.9 $\pm$ 54.3 (1–237)	4 (96.8% 3–8)
Common frog	Adults	19/3	15.8 (3.4–39.6)	20 $\pm$ 15.7 (6–37)	NA
Moor frog	Adults	3/1	33.3 (0.8–90.6)	2	NA
Common toad	Adults	33/0	0	NA	NA

P – prevalence; CI – confidence interval; CL – confidence level; SE – standard error; NA – not applicable.

Overall, 108 of 390 examined amphibians, including tadpoles, were infected. No statistically significant differences in prevalence were observed among frog species. However, infection patterns differed between developmental stages, with tadpoles of the water frog group showing significantly higher prevalence than adult frogs of the same group ($p < 0.0001$). While no significant differences in median intensity were detected.

Mesocercariae exhibited clear tissue predilection patterns. In adult frogs, parasites were most frequently detected in the head region, internal organs and

visceral membranes. Whereas in tadpoles they were predominantly located in the head and torso. The prevalence of infection in these anatomical regions was significantly higher in tadpoles than in adult frogs ($p < 0.0001$). Adult water frogs also exhibited significantly higher median mesocercarial intensity in the liver ($p = 0.005$).

Overall, most mesocercariae were located within the body cavity, including internal organs and visceral membranes, whereas only a small proportion of larvae were encysted.

3.4. Mesocercariae in paratenic hosts

3.4.1. Comparison of diagnostic methods for the detection of *A. alata* mesocercariae (Paper VI)

To evaluate diagnostic performance, 60 wild boar muscle samples were simultaneously examined in a pilot study using both diagnostic methods: the *Alaria* mesocercariae migration technique (AMT) and the *Trichinella* inspection method (TIM). *A. alata* mesocercariae were detected in 46 samples, and a significant difference in detection efficiency was observed between the two methods ($\chi^2 = 16.59$, $p < 0.01$).

AMT demonstrated substantially higher diagnostic sensitivity, yielding 4.86-fold higher odds (95% CI: 2.22–10.99) of detecting *A. alata* mesocercariae than TIM. Parasite counts ranged from 1 to 61 mesocercariae per sample (0.02–1.22 mesocercariae/g) using AMT and from 0.02 to 0.56 mesocercariae/g using TIM. Consequently, mean mesocercarial intensity was significantly higher when assessed using AMT ($p < 0.01$).

3.4.2. Prevalence of *A. alata* mesocercariae in wild boar populations (Paper II)

Long-term surveillance data based on routine *Trichinella* spp. inspection indicated a relatively low apparent prevalence of *A. alata* in wild boar populations. Analysis of 17,605 wild boar samples using the *Trichinella* inspection method (TIM) revealed an apparent prevalence of 8.3% (95% CI: 7.9–8.7), with low and stable median intensity values throughout the study period.

In contrast, analysis of the same muscle samples using the *Alaria* mesocercariae migration technique (AMT) demonstrated substantially higher prevalence, intensity and abundance of *A. alata* mesocercariae (Table 6). Among 485 samples examined by both methods, AMT detected mesocercariae in 43.9% of samples, compared with 13.6% detected by TIM. Mean intensity and abundance were also significantly higher when assessed using AMT ($p = 0.0001$), confirming its superior sensitivity.

Table 6

Comparison of *Alaria* sp. mesocercariae migration technique (AMT) and *Trichinella* inspection method (TIM) using identical wild boar muscle samples

Parameter/ method	AMT	TIM
No. of analyzed samples	485	485
No. of positive samples	213	66
Prevalence	43.9*	13.6
CI 95%	39.4–48.5	10.7–17.0
Intensity MPG	0.126	0.089
CL 95%	0.10–0.17	0.06–0.19
SE	0.23	0.19
Median MPG	0.06	0.04
CL 95.3%/96.8%	0.06–0.08	0.02–0.06
Abundance	0.055*	0.012
CL 95%	0.045–0.075	0.008–0.024

MPG – mesocercariae per gram; SD – standard deviation;

CI – confidence interval; CL – confidence level; * statistically significant difference ($p < 0.05$).

These findings demonstrate that routine *Trichinella* inspection substantially underestimates the true prevalence of *A. alata* in wild boar populations. The application of AMT reveals wild boar as a highly relevant paratenic host, contributing significantly to the circulation of *A. alata* mesocercariae in terrestrial ecosystems.

In addition to overall prevalence estimates, the spatial distribution of *A. alata* in wild boar populations was assessed across Latvia using routine surveillance data (Figure 3). Observed prevalence varied among game administrative units (GAUs), with higher values observed in northern and southern regions of Latvia, while lower prevalence was recorded in parts of western Latvia. However, *A. alata* was detected in all GAUs, indicating widespread environmental circulation of the parasite at the national scale.

3.4.3. Assessment of the zoonotic potential of *A. alata* (Paper II)

Considering that only approximately 5% of legally hunted wild boars are subjected to mandatory *Trichinella* testing and that the true prevalence of *A. alata* mesocercariae may exceed 40%, the probability of human exposure through consumption of wild boar meat was estimated to range from 0.2% to 2.2%, depending on meat preparation practices and the efficacy of mesocercariae inactivation. These findings highlight the epidemiological relevance of *A. alata* in food safety and underline the limitations of current routine inspection protocols in detecting zoonotic parasites other than *Trichinella* spp.

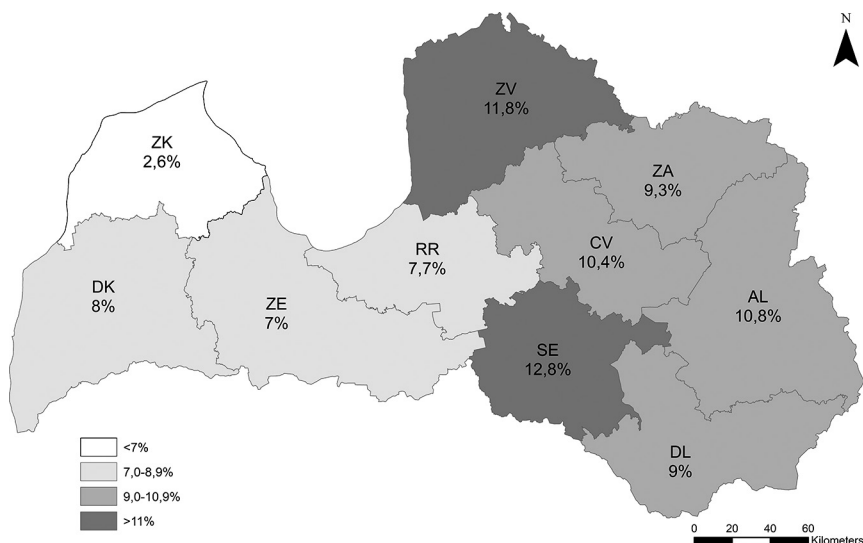


Figure 3. Apparent prevalence of *Alaria alata* mesocercariae in wild boar populations in Latvia (2014–2019) based on routine *Trichinella* inspection data. Apparent prevalence reflects routine inspection results and does not represent true prevalence of *A. alata* mesocercariae.

Game administrative units: DK, Dienvidkurzeme; ZK, Ziemeļkurzeme; ZE, Zemgale; RR, Rīga reģionāls; SE, Sēlija; DL, Dienvidlatgale; AL, Austrumlatgale; ZA, Ziemeļaustrumu; CV, Centrālvidzeme; ZV, Ziemeļvidzeme.

3.4.4. *A. alata* mesocercariae in eurasian lynx (Paper IV)

In addition to wild boar, *A. alata* mesocercariae were detected in a Eurasian lynx, representing the first documented paratenic infection in this species. Further examination using the *Alaria* mesocercariae migration technique (AMT) revealed 23 mesocercariae in a 100 g diaphragm sample (0.2 mesocercariae/g). The infected individual was a six-year-old male harvested in central Latvia.

4. DISCUSSION

4.1. Environmental and ecological drivers of *A. alata* transmission in Latvia

Transmission of *A. alata* in Latvia represents a structurally stable multi-host system integrating aquatic and terrestrial ecosystems. The findings of the present dissertation demonstrate that all essential components of the life cycle are simultaneously present and functionally integrated within Latvian wildlife communities, ensuring continuous parasite circulation. Such complex life cycles enhance transmission efficiency by reducing dependence on any single host or developmental stage, while environmental conditions regulate habitat suitability, host availability and parasite development (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Sures et al. 2023).

Definitive hosts such as red foxes, raccoon dogs and grey wolves represent the primary source of environmental contamination. The high prevalence of adult *A. alata* in Latvian carnivores confirms continuous egg shedding into freshwater habitats. Similarly high prevalence has been reported throughout the Baltic region, reaching 90.7% in Estonia and 94.8% in Lithuania (Bružinskaitė-Schmidhalter et al. 2012; Laurimaa et al. 2016). The occurrence of *A. alata* in canids has been associated with lowland areas, wetlands and landscapes supporting suitable intermediate hosts, indicating that infection levels in definitive hosts reflect broader environmental suitability for transmission (Murphy et al. 2012; Széll et al. 2013; Portier et al. 2014).

High infection intensities reported in canids across Europe, sometimes exceeding several thousand parasites per host, indicate frequent exposure and repeated transmission events (Karamon et al. 2018; Bełcik et al. 2025). The presence of several competent definitive host species increases transmission resilience and reduces dependence on fluctuations in any single carnivore population (Anderson and May 1985; Woolhouse et al. 2001). Consequently, definitive hosts function as key transmission drivers maintaining environmental contamination with parasite eggs.

Transmission to definitive hosts occurs primarily through trophic interactions. Predation on infected amphibians and paratenic hosts may result in the acquisition of large numbers of mesocercariae during a single feeding event (Möhl et al. 2009; Laurimaa et al. 2016). Amphibians, small mammals, reptiles and carrion represent important components of canid diets in Northern Europe, providing multiple transmission pathways within food webs (Sutor et al. 2010; Drygala et al. 2013; Süld et al. 2014). Consequently, transmission can be viewed as an emergent property of host–parasite–environment interactions, where environmental conditions influence prey availability and trophic connectivity, thereby regulating infection pressure in definitive hosts (Sures et al. 2023).

Repeated exposure through trophic interactions increases transmission efficiency and may lead to cumulative parasite acquisition over time, explaining the high infection intensities frequently observed in wild carnivores (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Belcik et al. 2025). This interpretation is supported by the present study, where infection intensities were higher in adults than juvenile animals, particularly in raccoon dogs. The co-occurrence of larval and adult stages and positive correlations between life stages further indicate ongoing exposure and reinfection, resulting in age-dependent infection dynamics (Anderson and May 1985; Woolhouse 1998; Galaktionov and Dobrovolskij 2003).

Egg deposition into aquatic or semi-aquatic environments marks the transition to the environmentally exposed phase of the life cycle. Experimental data generated in this dissertation demonstrate that *A. alata* eggs develop from unembryonated to fully hatched miracidia within 3–16 days at temperatures between 7 °C and 23 °C. These results indicate that typical spring and summer water temperatures in Latvia are sufficient to sustain rapid embryonation (Kalvāns et al. 2023; Latvian Environment, Geology and Meteorology Centre, 2025). Such rapid development shortens the interval between egg release and snail infection, reducing mortality before host encounter and increasing the likelihood of successful transmission. These findings support theoretical frameworks describing the vulnerability of free-living parasite stages and demonstrate that temperature acts as a key environmental regulator of early development (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Poulin 2011; Sures et al. 2023).

Eggs survived freezing at –20 °C and resumed development after temperature increase, indicating a capacity for overwinter persistence. Such tolerance suggests that at least a proportion of eggs deposited in late autumn may remain viable through winter in shallow water bodies or moist substrates. This ability to temporarily arrest development and subsequently resume it ensures continuity between transmission seasons, reduces mortality of free-living stages and extends the time window for host encounter, thereby increasing the likelihood of successful transmission (Pearson 1956; Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Poulin 2011; Morley and Lewis 2016). Similar cold tolerance has been described for other digeneans (Smyth and Halton 1983; Morley and Lewis 2016), but has rarely been experimentally demonstrated for *Alaria* spp. In temperate environments, such resilience of free-living stages is considered a critical factor supporting persistence of complex parasite life cycles under seasonal environmental variability (Sures et al. 2023).

Egg development was not stimulated by light exposure, suggesting that hatching cues are more likely driven by mechanical or osmotic triggers than by photic signals, in contrast to *Fasciola hepatica* (Wilson 1968; Galaktionov and Dobrovolskij 2003). This pattern is consistent with turbid, shaded and sediment-rich freshwater habitats commonly found in Latvian wetlands (Urtāns 2017). The absence of strict photic dependence indicates ecological flexibility in

hatching conditions, while the highest hatching success observed under dynamic and well-oxygenated conditions suggests that water movement and oxygen availability may facilitate hatching. Together, these findings indicate that both temperature and physical characteristics of aquatic habitats regulate the timing of hatching and transition to the next life cycle stage (Smyth and Halton 1983; Galaktionov and Dobrovolskij 2003).

After hatching, miracidia infect freshwater snails, followed by cercarial release and infection of amphibians as second intermediate hosts (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Möhl et al. 2009; Portier et al. 2012). The high prevalence and broad tissue distribution of mesocercariae documented in Latvian water frogs, common frogs and moor frogs confirm that amphibian populations function as efficient amplification hosts within this system. The accumulation of mesocercariae in amphibians enables transmission to a wide range of predators, and amphibians therefore function as ecological bridge hosts linking aquatic and terrestrial food webs and facilitating parasite transfer to both paratenic and definitive hosts (Odening 1963; Möhl et al. 2009; Laurimaa et al. 2016). Because amphibian populations are closely associated with wetlands and exhibit strong seasonal dynamics, their availability and infection patterns are shaped by environmental conditions, which in turn regulate transmission opportunities. Similar patterns have been observed in other European wetland ecosystems, where amphibians form dense trophic networks that facilitate parasite transmission (Poulin 2011; Patrelle et al. 2015; Voelkel et al. 2019; Bełcik et al. 2022).

The presence of mesocercariae, rather than typical metacercariae, represents a key modification of the classical three-host trematode life cycle. In the classical cycle, cercariae encyst in the second intermediate host as metacercariae directly infective to the definitive host (Galaktionov and Dobrovolskij 2003). In *A. alata*, however, cercariae develop into mesocercariae—a non-encysted and developmentally flexible stage capable of surviving multiple host transfers. This adaptation allows the parasite to exploit a broad range of paratenic hosts and transmission pathways, thereby extending the life cycle beyond the classical three-host system. As a result, transmission becomes less constrained by host specificity and more resilient to environmental variability (Pearson 1956; Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Möhl et al. 2009; Poulin 2011; Sures et al. 2023).

Paratenic hosts substantially expand the ecological network of *A. alata* and increase transmission opportunities across trophic levels. In addition to mammals, reptiles may also contribute to this network, acting as long-term mesocercarial reservoirs within wetland ecosystems. High prevalence of *A. alata* has been reported in grass snakes (*Natrix natrix*) in Poland, reaching approximately 58.8% (Bełcik et al. 2022), while broader host analyses suggest that reptiles participate in trophically driven transmission pathways (Bełcik et al. 2025). This diversity of paratenic hosts introduces functional redundancy into the system, which may enhance transmission stability under fluctuating ecological conditions (Galaktionov and Dobrovolskij 2003).

Within this expanded transmission network, wild boar represent one of the most epidemiologically relevant paratenic hosts in terrestrial ecosystems. In the present study, wild boar were confirmed as important transport hosts, with prevalence reaching 43.9% using the *Alaria* mesocercariae migration technique (AMT). Comparable AMT-based prevalence estimates have been reported across Europe, including 28.2% in Germany (Riehn et al. 2012; Kästner et al. 2021), 44.3–44.8% in Poland (Strokowska et al. 2020; Strokowska et al. 2021a), and 6.0–6.8% in Austria and the Czech Republic (Paulsen et al. 2013; Paulsen et al. 2014). Such variation suggests that environmental and landscape conditions are important determinants of transmission intensity (Bilska-Zajac et al. 2021).

The present dissertation demonstrated heterogeneous distribution of mesocercariae within muscular and connective tissues, indicating non-random tissue predilection and active larval migration within the host, with accumulation in tissues rich in connective and adipose components (Riehn et al. 2010). This uneven distribution affects detection sensitivity and food safety risk assessment, as infections may be underestimated when based on standardised sampling or less sensitive methods (Riehn et al. 2010; Strokowska et al. 2021b) and complicates extrapolation of results to the whole carcass (Paulsen et al. 2012). These findings further support the concept that mesocercariae are acquired through trophic transmission and persist within specific tissues rather than representing superficial contamination.

The accumulation of larval stages in intermediate and paratenic hosts is recognised as a key mechanism increasing transmission efficiency by facilitating parasite transfer through food chains (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Poulin 2011). Within this system, wild boar represent one of the most important paratenic hosts due to their broad habitat use, behavioural plasticity and opportunistic feeding behaviour, which increase the likelihood of exposure to infected amphibians and other paratenic hosts (Schley and Roper 2003; Tarvydas and Belova 2022; Rekiel et al. 2024). Population density, grouping behaviour and movement ecology further contribute to their epidemiological importance at the landscape level (Melis et al. 2006; Rekiel et al. 2024). Such ecological characteristics increase opportunities for repeated mesocercarial acquisition throughout life and may partly explain age-related prevalence patterns observed in several studies (Dolle 2016; Strokowska et al. 2020).

Another characteristic of the life cycle of *A. alata* is the ability of the Eurasian lynx to fulfil different host roles. Although felids are traditionally regarded as definitive hosts (Pearson 1956; Möhl et al. 2009), the findings of this dissertation confirm that the Eurasian lynx can harbour both adult *A. alata* trematodes and mesocercariae. This indicates that the same host species may participate in the life cycle as either a definitive or a paratenic host, depending on ecological conditions. Such overlap in host roles expands the transmission opportunities available to the parasite (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Poulin 2011; Sures et al. 2023).

The findings of this dissertation demonstrate that transmission of *A. alata* in Latvia is maintained by a functionally integrated multi-host system structured by environmental conditions, trophic interactions and host diversity. Rather than relying on a single transmission pathway, the parasite exploits multiple interconnected trophic routes that collectively ensure continuity of the life cycle. The ability of *A. alata* to utilise hosts in different functional roles, particularly through the mesocercarial stage, enhances transmission resilience and buffers against fluctuations in host availability and environmental conditions. These findings support the concept that persistence of complex trematode life cycles is achieved through integration and redundancy across life cycle stages rather than optimisation of any single stage (Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Poulin 2011). The consistently high prevalence observed across wildlife hosts in Latvia indicates that environmental conditions, host community structure and trophic interactions are sufficiently aligned to sustain continuous transmission at the population level, making Latvia a highly suitable transmission landscape for *A. alata*.

4.2. Diagnostic challenges and methodological limitations

In Latvia, the occurrence of *A. alata* is supported not only by parasitological observations across multiple host species but also by species confirmation using complementary diagnostic approaches. *A. alata* has been identified in different developmental stages, including mesocercariae in frogs, wild boars and Eurasian lynx, as well as adult flukes in definitive hosts. These findings have been confirmed using both species-specific real-time PCR and MALDI-TOF mass spectrometry (Dimzas et al. 2021; Kästner et al. 2021). Latvian isolates have also been used as reference and validation material during the development of these methods, providing additional support that the parasite circulating in Latvian wildlife corresponds to *A. alata*.

Despite advances in the diagnosis of *A. alata*, detection efficiency remains strongly dependent on host species, parasite developmental stage and the diagnostic method applied. These limitations are particularly evident in paratenic hosts such as wild boars, where mesocercarial detection is influenced by both their uneven distribution within host tissues and the sensitivity of the diagnostic method. The results of this dissertation demonstrate that the Trichinella inspection method (TIM) may underestimate the occurrence of *A. alata*, as mesocercariae can be damaged during artificial digestion procedures, while their uneven localisation within the host reduces the effectiveness of routine sampling strategies (Möhl et al. 2009; Riehn et al. 2010; Strokowska et al. 2021b). In contrast, the Alaria mesocercariae migration technique (AMT), which relies on the active migration of viable mesocercariae, generally detects significantly higher numbers of larvae (Riehn et al. 2010; Strokowska et al. 2021b). Consequently, prevalence estimates based solely on routine inspection data are

likely to underestimate the true occurrence of *A. alata* in wild boar populations. The situation is further complicated by the continued use of methods that were not designed specifically for *A. alata* detection. In addition, data on invasion intensity remain limited, hindering accurate assessment of transmission dynamics and zoonotic risk (Möhl et al. 2009; Belcik et al. 2025).

Human alariosis is considered a rare and poorly studied zoonosis, with current knowledge based largely on isolated clinical descriptions and case reports (Möhl et al. 2009; Belcik et al. 2025). However, unlike many other zoonotic helminths, no specific or standardized diagnostic methods are currently available for human *Alaria* infections. Diagnosis relies largely on incidental findings, while validated serological or blood-based diagnostic approaches remain unavailable.

Taken together, these findings demonstrate that diagnostic limitations affect all stages of the *Alaria* life cycle, from larval detection in intermediate and paratenic hosts to recognition of infection in humans. Although molecular and proteomic methods substantially improve species identification, their application remains limited in routine practice. Consequently, the apparent rarity of human alariosis may reflect diagnostic constraints rather than the true absence of infection, suggesting that the zoonotic significance of *Alaria* spp. is likely underestimated.

4.3. Zoonotic implications of *A. alata*

Host–parasite interactions in *A. alata* are shaped by host diversity, trophic transmission and ecological flexibility, resulting in a transmission system capable of persisting across a wide range of environmental conditions. The life cycle involves multiple obligatory and facultative hosts, and successful transmission depends on the parasite’s ability to utilise different vertebrate species across several trophic levels (Odening 1963; Galaktionov and Dobrovolskij 2003; Möhl et al. 2009). The findings of this dissertation confirm that *A. alata* exploits a wide range of host species across different stages of its life cycle in Latvia.

In contrast to many foodborne trematodes, in which transmission to humans occurs through ingestion of encysted metacercariae, *A. alata* utilises a non-encysted and highly mobile mesocercarial stage capable of infecting a broad range of paratenic hosts (Möhl et al. 2009; Robertson et al. 2014). Although *A. alata* has not been confirmed in humans to date, infections with other *Alaria* species, particularly *A. americana*, as well as unidentified *Alaria* mesocercariae, have been reported, including cases with severe and even fatal outcomes (Fernandez et al. 1976; Möhl et al. 2009). Reported cases of human alariosis have involved larvae in ocular structures, subcutaneous tissues and internal organs, with diagnosis established either intravitaly or post mortem (Fernandez et al. 1976; McDonald et al. 1994; Möhl et al. 2009).

In contrast to many food-borne trematodes, which are transmitted to humans through ingestion of encysted metacercariae, *A. alata* utilises an unencysted and

highly motile mesocercarial stage capable of infecting a wide range of paratenic hosts (Möhl et al. 2009; Robertson et al. 2014). The zoonotic potential of this stage is further supported by experimental studies in primates, in which ingestion of *Alaria* mesocercariae resulted in larval migration through tissues and severe pathological changes (Odening 1963; Möhl et al. 2009). Although no human cases of *A. alata* infection have been documented to date, infections with other *Alaria* species, particularly *A. americana*, as well as unidentified *Alaria* mesocercariae, have been reported, including cases with severe and even fatal outcomes (Fernandez et al. 1976; Möhl et al. 2009).

The present study demonstrated that the prevalence of *A. alata* in wild boar in Latvia, as determined using the AMT method, is high (43.9%), confirming widespread circulation of the parasite in wildlife populations. Seasonal variation observed in wild boar further suggests that transmission intensity may fluctuate throughout the year in relation to ecological factors such as intermediate host activity and feeding behaviour. Although the estimated probability of human exposure through consumption of wild boar meat remains relatively low (0.2–2.2%), this estimate should be interpreted cautiously. Methodological limitations together with the heterogeneous distribution of mesocercariae may result in false-negative findings and underestimation of parasite occurrence in meat intended for human consumption, suggesting that actual exposure to viable mesocercariae may be more frequent than currently assumed.

Although no confirmed human cases attributable specifically to *A. alata* have been reported in Europe, cases of human alariosis caused by related *Alaria* species in North America suggest that the zoonotic potential of *A. alata* cannot be excluded (McDonald et al. 1994; Möhl et al. 2009; Robertson et al. 2014). The widespread occurrence of *A. alata* in wildlife populations, together with diagnostic limitations and food-related risk factors, including inadequate thermal processing of game meat and consumption of raw meat products, suggests that the zoonotic potential of this parasite may currently be underestimated. Overall, the findings of the present study indicate that the public health relevance of *A. alata* is determined by the interaction between transmission ecology, host diversity, diagnostic sensitivity and human behaviour.

CONCLUSIONS

1. The high prevalence and infection intensity of *A. alata* in wild carnivore populations indicate that canids function as the main definitive hosts, ensuring continuous parasite transmission and environmental contamination with eggs.
2. *A. alata* eggs are capable of surviving at low temperatures and can resume development after temperature increase. A dynamic aquatic environment promotes miracidia hatching, suggesting that shallow and flowing water bodies in temperate regions provide particularly favourable conditions for parasite development and transmission.
3. Amphibians represent important intermediate hosts of *A. alata* in Latvia. Mesocercariae were most frequently detected in the green frog species complex, predominantly localized in the head region and internal organs.
4. The detection of *A. alata* mesocercariae in Eurasian lynx expands the known host range and indicates that this species may function both as a paratenic host and, less frequently, as a definitive host.
5. Wild boar represent an important paratenic host of *A. alata* in Latvia, with a high occurrence of mesocercariae in muscle tissues, reflecting active parasite circulation within the food web and regular exposure to intermediate hosts under natural conditions.
6. Wild boar may act as a potential source of human alariosis; however, the estimated risk of human infection remains low.
7. *A. alata* maintains a stable life cycle in Latvia involving multiple definitive, intermediate, and paratenic hosts across different trophic levels and ecological niches.

MAIN THESES FOR DEFENSE

1. *A. alata* maintains a stable and well-established transmission cycle in Latvia, involving multiple definitive, intermediate and paratenic hosts across different ecological niches.
2. High prevalence and infection intensity of *A. alata* in wild carnivores indicate frequent natural exposure and reinfection, reflecting transmission driven by host feeding ecology and trophic interactions.
3. Amphibians play a key functional role as second intermediate hosts, facilitating the transfer of the parasite from aquatic to terrestrial ecosystems and ensuring continuity of transmission.
4. Wild boar represent an important paratenic host, characterised by high prevalence of mesocercariae, and play a significant role at the wildlife–human interface due to their widespread hunting and consumption.
5. The development and survival of *A. alata* eggs and miracidia are strongly influenced by environmental factors, supporting the parasite’s persistence under temperate climatic conditions.
6. The heterogeneous distribution of mesocercariae in host tissues and limitations of commonly used diagnostic methods may lead to underestimation of true prevalence and exposure risk.
7. Although the estimated probability of human infection is low, the combination of high parasite prevalence in wildlife, methodological constraints, and human-related practices indicates that the zoonotic risk of *A. alata* may be underestimated.

ACKNOWLEDGMENTS

I would like to express my deepest gratitude to my supervisor, Gunita Dekšne, for many years of guidance, encouragement, and truly outstanding leadership. I can safely say that I might never have become a parasitologist if I had not accidentally met you. Thank you for your patience, constant support, for always finding time to answer my questions, and for inspiring me to do my best. I am especially grateful for your incredibly fast feedback and your generous support in writing manuscripts. It is difficult to put into words how thankful I am. Your enthusiasm for parasites is genuinely contagious – probably one of the few contagious things I have learned to appreciate.

I am sincerely grateful to the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR" for providing samples, laboratory facilities, infrastructure, and technical support that made this doctoral thesis possible.

To the irreplaceable BIOR Parasitology Group – thank you for your invaluable support over the years. From sample collection to laboratory work, and, of course, to the memorable coffee breaks that were sometimes as important as the science itself, I could not have done this without you. My heartfelt thanks to Lelde Šuksta, Zanda Segliņa, Linda Liepiņa, Maija Selezņova, Maija Rozenfelde, Helēna Maija Avotiņa, Jana Kiseļova, and Paula Vildava for your help, support, and all the good moments along the way. A very special thank you to Maira Mateusa for every kind of support, for help in developing this work, and for being there throughout the writing process.

My sincere thanks to Guna Bagrade and the Latvian State Forest Research Institute "Silava" for their help with sample collection. Guna, thank you not only for your knowledge and support, but also for the holidays you donated to me and the parasites. It was a pleasure learning from you how to work with canids and, just as importantly, how not to rinse the parasites away. Your experience, generosity, and practical advice have played an enormous role in the development of my doctoral thesis – much greater than I can properly express in words.

I would also like to thank the BIOR Pathology Group and all laboratory staff for their tireless work in sample collection and storage over many years. Without your involvement, there would simply have been no material for this thesis.

My thanks also go to the Daugavpils University Institute of Life Sciences and Technology for the opportunity to work in the laboratories and for providing accommodation. I am especially grateful to Muza Kirjušina. It was a true honor to work with you and your team. Thank you for your impressive work on amphibian parasites and for your valuable advice during the writing of this thesis.

I would like to thank all the students who helped with laboratory work. In particular, Karlīna Adata, Emīlija Skādule, and Sintija Zepa joined me in discovering what it really means to share my affection for *A. alata* – perhaps not the most common passion, but certainly a memorable one.

To Daina Pūle and Sabīne Birzgale – thank you for all your help with mapping and for patiently answering my endless questions. You are true map-making gurus, and I am deeply grateful that you somehow managed to make sense of all my strange wishes.

To Andris Avotiņš – thank you for all your statistical help, for discussions about my thesis, for support before exams, and throughout my doctoral studies. You have a remarkable gift for appearing exactly when needed and somehow always knowing exactly what to say.

I am sincerely grateful to Līga Sofia and Baiba Magone for their support in language editing and proofreading. Their time, attention to detail, and valuable suggestions significantly contributed to the final quality of this doctoral thesis.

I would also like to thank my mother and grandmother, Ilze and Antonija, who have supported my crazy ideas from the very beginning. Your experience, and my childhood spent in the laboratory environment, inspired me to become a scientist. Thank you also to my brother, Mārtiņš, for your support and for occasionally keeping secrets from our mother. I am also deeply grateful to my parents-in-law, Laima and Jānis, for their support and understanding. Without your support, this thesis would not have been possible.

And finally, to my amazing husband, Dāvis Ozoliņš – thank you for being beside me through all these years. Your patience, love, encouragement, and unwavering belief in me have carried me through more than you know. Thank you for helping with manuscripts, for listening to my thoughts, frustrations, and endless parasite stories, and for always finding the right words when I needed them most. Thank you for reminding me to rest, for supporting me when I doubted myself, and for making it possible for me to keep going, even in the most difficult moments. I could not have done this without you. You have been my calm, my strength, and my safe place throughout this journey. And to my children, Austra, Viesturs and Haralds – thank you for your patience, your love, and for sharing your mum with this thesis. You have been my greatest motivation to finish it.

IZMANTOTĀS LITERATŪRAS SARAKSTS / REFERENCES

- Anderson, R. M., May, R. M. (1985). Helminth infections of humans: Mathematical models, population dynamics, and control. In J. R. Baker, R. Muller (Eds.), *Advances in Parasitology* (Vol. 24, pp. 1–101). Academic Press.
- ANSES. (2015). *Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety on the presence of mesocercarial parasites of the trematode Alaria alata in wild boar meat*. French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety.
- Beaver, P. C., Little, M. D., Tucker, C. F., Reed, R. J. (1977). Mesocercaria in the skin of man in Louisiana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26, 422–426.
- Belcik, A., Różycki, M., Korpysa-Dzirba, W., Marucci, G., Fafiński, Z., Fafińska, P., Karamon, J., Kochanowski, M., Cencek, T., Bilśka-Zajac, E. (2022). Grass snakes (*Natrix natrix*) as a reservoir of *Alaria alata* and other parasites. *Pathogens*, 11(2), 156.
- Belcik, A., Cencek, T., Korpysa-Dzirba, W., Samorek-Pieróg, M., Karamon, J., Sroka, J., Zdybel, J., Skubida, M., Bilśka-Zajac, E. (2025). A comprehensive review of *Alaria alata* (Goeze, 1782) (Platyhelminthes, Trematoda) in different animal hosts. *Pathogens*, 14(7), 625.
- Bilśka-Zajac, E., Marucci, G., Pirog-Komorowska, A., Cichocka, M., Różycki, M., Karamon, J., Sroka, J., Belcik, A., Mizak, I., Cencek, T. (2021). Occurrence of *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa*) in Poland and detection of genetic variability between isolates. *Parasitology Research*, 120, 83–91.
- Bosma, N. J. (1934). The life history of the trematode *Alaria mustelae* sp. nov. *Transactions of the American Microscopical Society*, 53(2), 116–153.
- Breslow, N. E., Day, N. E. (1990). *Statistical methods in cancer research. Volume I: The analysis of case-control studies*. International Agency for Research on Cancer.
- 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.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4), 575–583.
- Carpenter, J., Bithell, J. (2000). Bootstrap confidence intervals: When, which, what? A practical guide for medical statisticians. *Statistics in Medicine*, 19(9), 1141–1164.
- Clopper, C. J., Pearson, E. S. (1934). The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika*, 26(4), 404–413.
- Demelash, K., Abebaw, M., Negash, A., Alene, B., Zemene, M., Tilahun, M. (2016). A review on diagnostic techniques in veterinary helminthology. *Nature and Science*, 14(7), 109–118.
- Dimzas, D., Chassalevris, T., Ozoliņa, Z., Dovas, C. I., Diakou, A. (2021). Investigation of the food-transmitted parasites *Trichinella* spp. and *Alaria* spp. in wild boars in Greece by classical and molecular methods and development of a novel real-time PCR for *Alaria* spp. detection. *Animals*, 11(10), 2803.

- Dolle, M. (2016). *Untersuchungen zur Prävalenz von Alaria alata Mesocercarien in Schwarzwild in Sachsen*. Doctoral dissertation, Universität Leipzig, Germany.
- Drygala, F., Werner, U., Zoller, H. (2013). Diet composition of the invasive raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the native red fox (*Vulpes vulpes*) in north-east Germany. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(2), 190–194.
- Duncker, H. (1896). Die Muskel-Distomeen. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift*, 24, 279–282.
- Duscher, G., Prosl, H., Joachim, A. (2005). Scraping or shaking—A comparison of methods for the quantitative determination of *Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Parasitology Research*, 95, 40–42.
- ESRI. (2011). *ArcGIS Desktop: Release 10*. Environmental Systems Research Institute.
- European Commission. (2015). Commission Implementing Regulation (EU) 2015/1375 of 10 August 2015 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat (codification) (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*, L 212, 7–34.
- Fernandez, B. J., Cooper, J. D., Cullen, J. B., Freeman, R. S., Ritchie, A. C., Scott, A. A., Stuart, P. E. (1976). Systemic infection with *Alaria americana* (Trematoda). *Canadian Medical Association Journal*, 115, 1111–1114.
- Food and Veterinary Service of Latvia. (2014). *Monitoring plan of animal infectious diseases*. Food and Veterinary Service.
- Freeman, R. S., Stuart, P. F., Cullen, S. J., Ritchie, A. C., Mildon, A., Fernandes, B. J., Bonin, R. (1976). Fatal human infection with mesocercariae of the trematode *Alaria americana*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25(6), 803–807.
- Galaktionov, K. V., Dobrovolskij, A. A. (2003). *The biology and evolution of trematodes*. Kluwer Academic Publishers.
- Gazzonis, A. L., Villa, L., Riehn, K., Hamedy, A., Minazzi, S., Olivieri, E., Zanzani, S. A., Manfredi, M. T. (2018). Occurrence of selected zoonotic food-borne parasites and first molecular identification of *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa*) in Italy. *Parasitology Research*, 117, 2207–2215.
- Goeze, J. A. E. (1782). *Versuch einer Naturgeschichte der Eingeweidewürmer thierischer Körper*. Pape.
- González-Fuentes, H., Riehn, K., Koethe, M., von Borell, E., Luecker, E., Hamedy, A. (2014a). Effects of in vitro conditions on the survival of *Alaria alata* mesocercariae. *Parasitology Research*, 113(8), 2983–2989.
- González-Fuentes, H., Hamedy, A., von Borell, E., Luecker, E., Riehn, K. (2014b). Tenacity of *Alaria alata* mesocercariae in homemade German meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 176, 9–14.
- González-Fuentes, H., Hamedy, A., Koethe, M., von Borell, E., Luecker, E., Riehn, K. (2015). Effect of temperature on the survival of *Alaria alata* mesocercariae. *Parasitology Research*, 114(3), 1179–1187.
- Guardone, L., Proroga, Y. T. R., Armani, A., D'Amore, A., D'Ascanio, V., De Sabatini, L., Di Cesare, A., Traversa, D., Rinaldi, L. (2022). Human behaviors and wild game meat: The potential risk of foodborne parasitic zoonoses. *Foods*, 11(10), 1522.
- Kalvāns, A., Kalvāne, G., Zandersons, V., Gaile, D., Briede, A. (2023). Recent seasonally contrasting and persistent warming trends in Latvia. *Theoretical and Applied Climatology*, 154(1), 125–139.

- Karamon, J., Samorek-Pieróg, M., Moskwa, B., Różycki, M., Bilska-Zajac, E., Zdybel, J., Włodarczyk, M. (2016). Intestinal helminths of raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) and red foxes (*Vulpes vulpes*) from the Augustów Primeval Forest (north-eastern Poland). *Journal of Veterinary Research*, 60, 273–277.
- Karamon, J., Dąbrowska, J., Kochanowski, M., Samorek-Pieróg, M., Sroka, J., Różycki, M., Bilska-Zajac, E., Zdybel, J., Cencek, T. (2018). Prevalence of intestinal helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Europe (Poland): A significant zoonotic threat. *Parasites & Vectors*, 11(1), 436.
- Kästner, C., Bahn, P., Schönfelder, R., Ozoliņa, Z., Alksne, L., Richter, M. H., Deksnė, G., Mayer-Scholl, A., John, A. (2021). Development of a novel method for identification of *Alaria alata* mesocercariae by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Microorganisms*, 9(8), 1664.
- Keiser, J., Utzinger, J. (2009). Food-borne trematodiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(3), 466–483.
- Kirillov, A. A., Chikhlyayev, I. V., Kirillova, N. Y., Ruchin, A. B., Fayzulin, A. I. (2026). Helminths of the *Pelophylax esculentus* complex (Anura, Amphibia) in the Middle Volga Region (Russia). *Diversity*, 18(5), 245.
- Kjær, L. J., Jensen, L. M., Chriel, M., Bødker, R., Petersen, H. H. (2021). The raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) as a reservoir of zoonotic diseases in Denmark. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 16, 175–182.
- Klink, J. C., Rieger, A., Wohlsein, P., Aurich, S., Hoffmann, C., Ewers, C., Raulf, M. K., Strube, C., John, A., Maksimov, P., Harder, T. (2025). Pathological findings in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Schleswig-Holstein, Germany. *Journal of Comparative Pathology*, 219, 59–77.
- Korpysa-Dzirba, W., Różycki, M., Bilska-Zajac, E., Karamon, J., Sroka, J., Belcik, A., Wasiak, M., Cencek, T. (2021). *Alaria alata* in terms of risks to consumers' health. *Foods*, 10(7), 1614.
- Kramer, M. H., Eberhard, M. L., Blankenberg, T. A. (1996). Respiratory symptoms and subcutaneous granuloma caused by mesocercariae: A case report. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55, 447–448.
- Latvian Environment, Geology and Meteorology Centre. (2025). *Surface water monitoring data*. Retrieved from <https://www.meteo.lv>
- Laurimaa, L., Süld, K., Davison, J., Moks, E., Valdmann, H., Saarma, U. (2016). Alien species and their zoonotic parasites in native and introduced ranges: The raccoon dog example. *Veterinary Parasitology*, 219, 24–33.
- Lempp, C., Jungwirth, N., Grilo, M. L., Reckendorf, A., Ulrich, A., Van Neer, A., Bodewes, R., Pfankuche, V. M., Bauer, C., Osterhaus, A. D. M. E., Baumgärtner, W. (2017). Pathological findings in the red fox (*Vulpes vulpes*), stone marten (*Martes foina*) and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*), with special emphasis on infectious and zoonotic agents in Northern Germany. *PLoS ONE*, 12(4), e0175469.
- Malešević, M., Smulders, F. J. M., Petrović, J., Mirčeta, J., Paulsen, P. (2016). *Alaria alata* mesocercariae in wild boars (*Sus scrofa*) in northern Serbia after the flood disaster of 2014. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria*, 103, 345–349.

- McDonald, H. R., Kazacos, K. R., Schatz, H., Johnson, R. N. (1994). Two cases of intraocular infection with *Alaria mesocercaria* (Trematoda). *American Journal of Ophthalmology*, 117(4), 447–455.
- Mehlhorn, H. (Ed.). (2001). *Encyclopedic reference of parasitology*. Springer.
- Melis, C., Szafranśka, P. A., Jędrzejewska, B., Bartoń, K. (2006). Biogeographical variation in the population density of wild boar (*Sus scrofa*) in western Eurasia. *Journal of Biogeography*, 33, 803–811.
- Möhl, K., Große, K., Hamedy, A., Wüste, T., Kabelitz, P., Lückner, E. (2009). Biology of *Alaria* spp. and human exposition risk to *Alaria mesocercariae* – A review. *Parasitology Research*, 105(1), 1–15.
- Morley, N. J., Lewis, J. W. (2016). Temperature stress and parasitism of trematodes. *Parasitology*, 143, 1367–1379.
- Murphy, T. M., O'Connell, J., Berzano, M., Dold, C., Keegan, J. D., McCann, A., Murphy, D., Holden, N. M. (2012). The prevalence and distribution of *Alaria alata*, a potential zoonotic parasite, in foxes in Ireland. *Parasitology Research*, 111(1), 283–290.
- Odening, K. (1963). Zur Diagnostik der Mesocercarie von *Alaria alata*, eines möglichen Parasiten des Menschen in Europa, an Hand experimenteller Befunde beim Affen [On the diagnosis of the mesocercaria of *Alaria alata*, a possible human parasite in Europe, based on experimental findings in monkeys]. *Monatsberichte der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*, 5, 385–390.
- Olsen, O. W. (1974). *Animal parasites: Their life cycles and ecology*. University Park Press.
- Patrelle, C., Portier, J., Jouet, D., Delorme, D., Ferté, H. (2015). Prevalence and intensity of *Alaria alata* (Goeze, 1792) in water frogs and brown frogs in natural conditions. *Parasitology Research*, 114(12), 4405–4412.
- Paulsen, P., Ehebruster, J., Irshik, I., Lückner, E., Riehn, K., Winkelmayer, 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., Hutarová, Z., Vodňanský, M. (2013). *Alaria alata* mesocercariae in wild boar (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) in southern regions of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 197, 384–387.
- Paulsen, P., Kukla, P., Bachkönig, N. (2014). An update on findings of *Alaria alata* mesocercariae in wild boar from Austria. In *Trends in Game Meat Hygiene* (pp. 203–208).
- Pearson, J. C. (1956). Studies of the life cycles and morphology of the larval stages of *Alaria arisaemoides* (Augustine and Uribe, 1927) and *Alaria canis* (La Rue and Fallis, 1936) (Trematoda: Diplostomatidae). *Canadian Journal of Zoology*, 34(3), 295–387.
- 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.
- Portier, J., Vallée, I., Lacour, S. S., Martin-Schaller, R., Ferté, H., Durand, B. (2014). Increasing circulation of *Alaria alata* mesocercariae in wild boar populations of the Rhine Valley, France, 2007–2011. *Veterinary Parasitology*, 199, 153–159.

- Poulin, R., Cribb, T. H. (2002). Trematode life cycles: Short is sweet? *Trends in Parasitology*, 18(4), 176–183.
- Poulin, R. (2011). *Evolutionary ecology of parasites* (2nd ed.). Princeton University Press.
- Reiczigel, J., Abonyi-Tóth, Z., Singer, J. (2008). An exact confidence set for two binomial proportions and exact unconditional confidence intervals for the difference and ratio of proportions. *Computational Statistics & Data Analysis*, 52(12), 5046–5053.
- Rekiel, A., Więcek, J., Sonta, M. (2024). Wild boar (*Sus scrofa* L. 1758), a problematic but also a useful species – A review. *Journal of Elementology*, 29(3), 575–590.
- Rentería-Solis, Z., Hamedy, A., Michler, F. U., Michler, B. A., Lückner, E., Stier, N., Wibbelt, G., Riehn, K. (2013). *Alaria alata* mesocercariae in raccoons (*Procyon lotor*) in Germany. *Parasitology Research*, 112, 3595–3600.
- Riehn, K., Hamedy, A., Große, K., Zeitler, L., Lückner, E. (2010). A novel detection method for *Alaria alata* mesocercariae in meat. *Parasitology Research*, 107, 213–220.
- Riehn, K., Hamedy, A., Große, K., Zeitler, L., Lückner, E. (2011). *Alaria alata* – Analysis, prevalence and risk assessment [*Alaria alata* – Nachweis, Prävalenz und Risikobewertung]. *Fleischwirtschaft*, 91(7), 88–92.
- Riehn, K., Hamedy, A., Große, K., Wüste, T., Lückner, E. (2012). *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) in the eastern parts of Germany. *Parasitology Research*, 111(4), 1857–1861.
- Robertson, L. J., Sprong, H., Ortega, Y. R., van der Giessen, J. W. B., Fayer, R. (2014). Impacts of globalisation on foodborne parasites. *Trends in Parasitology*, 30(1), 37–52.
- Roepstorff, A., Nansen, P. (1998). *Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine* (FAO Animal Health Manual No. 3). Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Schley, L., Roper, T. J. (2003). Diet of wild boar (*Sus scrofa*) in Western Europe, with particular reference to consumption of agricultural crops. *Mammal Review*, 33(1), 43–56.
- Sen, P. K. (2005). Mood median test. In S. Kotz, N. Balakrishnan, C. B. Read, B. Vidakovic, N. L. Johnson (Eds.), *Encyclopedia of Statistical Sciences* (2nd ed.). Wiley.
- Skryabin, K. I. (1960). *Трематоды животных и человека* [*Trematodes of animals and humans*] (Vol. 18). Academy of Sciences of the USSR.
- Skryabin, K. I. (1965). *Trematodes of animals and man: Essentials of trematodology* (Vol. 18). A. Birron, Z. S. Cole (Trans.). Israel Program for Scientific Translations.
- Smyth, J. D., Halton, D. W. (1983). *The physiology of trematodes* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Spearman, C. (1904). The proof and measurement of association between two things. *The American Journal of Psychology*, 15(1), 72–101.
- State Forest Service. (n.d.). *Forest statistics and forest resources in Latvia*.
- Stefański, W., Tarczyński, S. (1953). Sur le développement de l'Agamodistomum suis Duncker, 1881. *Acta Parasitologica*, 1(7), 149–154.
- Strokowska, N., Nowicki, M., Klich, D., Bełkot, Z., Wiśniewski, J., Didkowska, A., Chyla, P., Anusz, K. (2020). The occurrence of *Alaria alata* mesocercariae in wild boars (*Sus scrofa*) in north-eastern Poland. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 12, 25–28.

- Strokowska, N., Bełkot, Z., Wiśniewski, J., Nowicki, M., Didkowska, A., Anusz, K., Szkucik, K. (2021a). Infestation of wild boar meat from the Eastern Lublin Province with *Alaria mesocercariae*. *Medycyna Weterynaryjna*, 77, 588–593.
- Strokowska, N., Nowicki, M., Klich, D., Didkowska, A., Filip-Hutsch, K., Wiśniewski, J., Bełkot, Z., Anusz, K. (2021b). A comparison of detection methods of *Alaria alata* mesocercariae in wild boar (*Sus scrofa*) meat. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 16, 1–4.
- Süld, K., Valdmann, H., Laurimaa, L., Soe, E., Davison, J., Saarma, U. (2014). An invasive vector of zoonotic diseases sustained by anthropogenic resources: The raccoon dog in Northern Europe. *PLoS ONE*, 9(5), e96358.
- Sures, B., Nachev, M., Selbach, C., Marcogliese, D. J. (2023). Environmental parasitology in the twenty-first century. *Trends in Parasitology*, 39(5), 350–361.
- Sutor, A., Schwarz, S., Conraths, F. J., Schlüter, H. (2010). The biological cycle of *Alaria alata* and its role in the epidemiology of the parasite in Europe. *Veterinary Parasitology*, 173(3–4), 163–173.
- Széll, Z., Tolnai, Z., Sréter, T. (2013). Environmental determinants of the spatial distribution of *Alaria alata* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 198, 116–121.
- Takeuchi-Storm, N., Al-Sabi, M. N. S., Thamsborg, S. M., Enemark, H. L. (2015). *Alaria alata* mesocercariae among feral cats and badgers, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*, 21(10), 1872–1874.
- Tarvydas, A., Belova, O. (2022). Effect of wild boar (*Sus scrofa* L.) on forests, agricultural lands and population management in Lithuania. *Diversity*, 14(10), 801.
- Tauriņš, E. (1982). *Latvijas zīdītāji* [Mammals in Latvia]. Zinātne.
- Umhang, G., Woronoff-Rhen, N., Combes, B., Boué, F. (2011). Segmental sedimentation and counting technique (SSCT): An adaptable method for qualitative diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Experimental Parasitology*, 128, 57–60.
- Urtāns, A. V. (Ed.). (2017). *Aizsargājamo biotopu saglabāšanas vadlīnijas Latvijā. II. Upes un ezeri*. Dabas aizsardzības pārvalde.
- Voelkel, A. C., Dolle, S., Koethe, M., Haas, J., Makrutzki, G., Birka, S., Lückner, E., Hamedy, A. (2019). Distribution of *Alaria* spp. mesocercariae in
- Wilson, R. A. (1968). Light-induced hatching of *Fasciola hepatica* eggs. *Parasitology*, 58, 123–131.
- Wójcik, A. R., Franckiewicz-Grygoń, B., Zbikowska, E. (2001). The studies of the invasion of *Alaria alata* (Goeze, 1782) in the Province of Kuyavia and Pomerania. *Wiadomości Parazytologiczne*, 47, 423–426.
- Wójcik, A. R., Grygoń-Franckiewicz, B., Zbikowska, E. (2002). Current data of *Alaria alata* (Goeze, 1782) according to own studies. *Medycyna Weterynaryjna*, 58, 517–519.
- Woolhouse, M. E. J. (1998). Patterns in parasite epidemiology: Host population biology and parasite transmission. *Parasitology*, 116, S7–S13.
- Woolhouse, M. E. J., Taylor, L. H., Haydon, D. T. (2001). Population biology of multi-host pathogens. *Science*, 292, 1109–1112.