

# Maksamatojen metacercaria- muotojen esiintyvyys Suomen särjissä

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

ELK Antti Mäkiaho

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto  
Eläinlääketieteellinen tiedekunta  
Helsingin Yliopisto  
2019

Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto	
Tekijä - Författare - Author Mäkiäho Antti			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Maksamatojen metacercaria-muotojen esiintyvyys Suomen särjissä			
Oppiaine - Läroämne - Subject Eläinlääketieteellinen patologia ja parasitologia			
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum - Month and year 20.5.2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 30	
Tiivistelmä - Referat – Abstract <p>Opisthorchiidae-heimon maksamadot ovat kansainvälisesti ihmisillä yksiä merkittävimpiä kalavälitteisiä parasiittejä. Heimon maksamatoja esiintyy yleisesti Itä- ja Kaakkois-Aasiassa sekä Venäjällä, mutta niitä on havaittu myös laajalti Euroopassa kalaa syöväillä nisäkkäillä ja linnuilla. Suomessa on aiemmissa tutkimuksissa havaittu esiintyvän zoonoottisista Opisthorchiidae-heimon maksamadoista <i>Pseudamphistomum truncatum</i> ja <i>Metorchis bilis</i>. Maksamatoja tai niiden metacercarioita on löydetty harmaahylkeistä, merikotkista, ketuista ja särjistä. Ihminen voi saada Opisthorchiidae-heimon maksamatoinfektion syömällä raakaa tai huonosti kypsennettyä särkikalaa. Särkikalojen käyttö elintarvikkeena on Suomessa koko väestön tasolla melko vähäistä, mutta viimevuosina kotimaisen kalan käytön puolesta on markkinoitu voimakkaasti ja suosiossa ovat erilaiset raakaa kalaa sisältävät ruuat.</p> <p>Tutkielman tavoitteena oli selvittää maksamatojen metacercaria-muotojen esiintyvyyttä suomalaisissa särjissä. Tutkimusaineistona oli kahdeksalta eri paikkakunnalta pyydetyt kalanäytteet, yhteensä 78 kalaa. Näytteitä oli sekä sisävesistä, että merialueilta. Tutkimuksessa kalat digestoitettiin metacercarioiden vapauttamiseksi kalojen lihaksista. Metacercariat laskettiin ja luokiteltiin morfologian perusteella mikroskoipoimalla. Löydetyt metacercariat poimittiin talteen sekvensointia varten. Metacercarioiden esiintyvyys koko tutkimusaineistossa oli 42 %. Merialueilta pyydetyissä kaloissa metacercarioita esiintyi 83 %:lla ja sisävesissä 18 %:lla tutkituista kaloista. Yhden lödetyn metacercarian osalta laji saatiin varmistettua ITS2-geenialue sekvensoimalla <i>P. truncatumiksi</i>. Muiden metacercarioiden osalta sekvensointia ei voitu tehdä, koska näytteiden DNA:ta ei saatu monistumaan PCR-menetelmällä. PCR:n epäonnistuminen saattoi johtua siitä, että näytteissä ei ollut alukkeita vastaavaa DNA:ta. Näytteenä olleet metacercariat saattoivat olla lajia, jonka DNA ei vastannut alukkeita, jolloin alukkeet eivät kiinnittyneet DNA:han. Ongelmana saattoi olla myös se, että alukkeita vastaava ITS2-geenialue ei välttämättä ole riittävän konservatiivinen tunnettujen lajien osalta, jotta alukkeet kiinnittyisivät kaikissa tapauksissa.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords maksamato, metacercaria, <i>Pseudamphistomum truncatum</i> , <i>Metorchis bilis</i> , <i>Posthodiplostomum</i> , särki			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Sukura Antti (johtaja), Lavikainen Antti, Eriksson-Kallio Anna Maria, Koski Perttu			

## SISÄLLYS

1 JOHDANTO.....	1
2 KIRJALLISUUSKATSAUS.....	2
2.1 Imumadot.....	2
2.2 Maksamadot .....	2
2.2.1 Elämänkierto .....	3
2.2.2 Maksamadot ihmisillä .....	7
2.2.3 <i>Opisthorchis felineus</i> .....	9
2.2.4 <i>Clonorchis sinensis</i> .....	11
2.2.5 <i>Opisthorchis viverrini</i> .....	12
2.2.6 <i>Metorchis bilis</i> .....	13
2.2.7 <i>Pseudamphistomum truncatum</i> .....	14
2.2.8 <i>Posthodiplostomum sp.</i> .....	15
2.2.9 Esiintyvyys Suomessa .....	16
2.3 Maksamatojen metacercariat elintarvikkeissa .....	17
2.4 Suomen särkikalat .....	17
3 AINEISTOT JA MENETELMÄT .....	19
3.1 Kalojen esikäsittely.....	19
3.2 Digestio ja loisrakenteiden laskenta .....	20
3.3 Sekvensointi .....	21
4 TULOKSET .....	24
5 POHDINTA .....	26
6 LÄHTEET.....	31

## 1 JOHDANTO

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (nyk. Ruokavirasto) ja Helsingin Yliopiston Eläinlääketieteellinen tiedekunta tutki yhteisprojektissa vuonna 2016 Suomenlahden itäosasta yhdestä pyyntipaikasta pyydetyissä särjissä esiintyviä imumatoja (Trematoda). Tutkimuksessa särjistä löydettiin *Pseudamphistomum*-, *Metorchis*- ja *Posthodiplostomum* -sukujen imumatoja sekä toistaiseksi määrittämättömiä lajeja (Näreaho ym. 2017). Näistä löydetyistä lajeista Opisthorchiidae-heimoon kuuluvat maksamadot *Pseudamphistomum truncatum* ja *Metorchis bilis* voivat tarttua myös ihmiseen raakana syödystä kalasta (Hung ym. 2013). Lähes kaikista tutkituista särjistä löytyi imumatojen toukkamuotoja ja mahdollisesti ihmiseen tarttuvien maksamatojen osuus oli tutkitussa aineistossa noin neljänkymmenen prosentin luokkaa (Näreaho ym. 2017). *Metorchis bilis* ja *P. truncatum* -lajien maksamatoja oli Evira löytänyt Suomesta jo aiemmissa tutkimuksissaan lajien pääisännistä (Evira 2010, Evira 2017a, Evira 2017b, Hirvelä-Koski ym. 2017).

Zoonoottisia Opisthorchiidae-heimon maksamatoja on havaittu Euroopassa laajalti mm. saukoilla, ketuilla ja hylkeillä (Saeed ym. 2005, Neimanis ym. 2016). Maailmanlaajuisesti Opisthorchiidae-heimon maksamadot ovat merkittäviä ihmisten loisia (WHO 1995) ja on arvioitu, että jopa 35 miljoonalla ihmisellä on maksamatoinfektio (Lun ym. 2005) ja 700 miljoonalla ihmisellä on riski saada se (Keiser ja Utzinger 2005). Särkikalat (Cyprinidae) toimivat näiden maksamatojen toisena väli-isäntänä, ensimmäisen väli-isännän ollessa kotilot (Hung ym. 2013). Pääisäntinä voivat olla mm. raakaa kalaa syövät linnut ja nisäkkäät (Hung ym. 2013).

Tämän lisensiaatintyön tarkoituksena on selvittää maksamatojen metacercaria-muotojen esiintymistä Suomen särkikannassa sekä sisävesissä että rannikkomerialueilla. Tutkimusmenetelmänä käytetään digestiota ja mikroskopointia. Digestiossa metacercaria-toukkamuodot saadaan vapautumaan kalan lihaksista ja niiden määrä saadaan laskettua mikroskopoimalla. Metacercariat pyritään tunnistamaan alustavasti lajitasolle morfologian perusteella ja tarkempi lajimääritys tehdään sekvensoimalla.

## **2 KIRJALLISUUSKATSAUS**

### **2.1 Imumadot**

Imumadot (Trematoda) kuuluvat Platyhelminthes-pääjaksoon. Ne voidaan jakaa kahteen alaluokkaan: Digenea ja Aspidogastrea. Digenea-alaluokkaan kuuluu noin 18 000 lajia (Olson ym. 2003). Aspidogastrea-alaluokkaan kuuluu noin 80 lajia ja ne ovat lähinnä luu- ja rustokalojen sekä kilpikonnien parasiitteja (Bray ja Littlewood 2001).

Digenea-alaluokan imumatoja loisii lähes kaikissa selkärangkaisissa eliöissä ja suurimmalla osalla näistä imumadoista ensimmäisenä väli-isäntänä toimii nilviäinen (Olson ym. 2003). Pääisännässä imumatojen tyypillisimpiä kohde-elimä ovat ruuansulatuskanava, sappitiet ja verenkiertoelimistö (Taylor ym. 2007). Eläinlääkinnällisesti alaluokan merkittävimpiä heimoja ovat Fasciolidae, Dicrocoeliidae, Paramphistomidae ja Scistosomatidae (Taylor ym. 2007).

Imumadot ovat rakenteeltaan tyypillisesti dorso-ventraalisesti litistyneitä (Taylor ym. 2007). Niiden ruuansulatuskanava koostuu suusta, nielusta, ruokatorvesta ja parista umpinaisia suolia. Eritys tapahtuu liekkisolujen avulla eritysrauhasen kautta. Imumadoilla ei ole ruumiinonteloa, vaan elimet sijaitsevat parenkyymissä. Niiden hermojärjestelmä koostuu kahdesta pitkittäisestä hermorungosta ja ganglioista. Suurin osa imumadoista on hermafroditteja eli niillä on sekä uroksen että naaraan sukuelimet. Suvullinen lisääntyminen voi tapahtua sekä itse- että ristiin hedelmöityksellä (Taylor ym. 2007).

### **2.2 Maksamadot**

Digenea-alaluokkaan kuuluu useampia imumatoja, joiden aikuismuodot elävät pääisännän maksassa tai sappitiehyissä. Näitä imumatoja kutsutaan maksamadoiksi. Keskeisimpiä maksamatoheimoja ovat Fasciolidae, Dicrocoeliidae ja Opisthorchiidae (Mas-Coma ja Bargues 1997). Tässä tutkielmassa keskitytään Opisthorchiidae-heimon maksamatoihin.

Opisthorchiidae-heimoon kuuluu nykytietämyksen mukaan 33 sukua (King ja Scholz 2001). Yhdentoista Opisthorchiidae-heimoon kuuluvan lajin on raportoitu infektoivan myös ihmisiä, näistä merkittävimpiä ovat *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini* ja *Opisthorchis felineus*. (Hung ym. 2013). Muut zoonoottiset lajit ovat *Amphimerus noverca*, *Amphimerus pseudofelineus*, *Metorchis bilis*, *Metorchis conjunctus*, *Metorchis orientalis*, *Opisthorchis tenuicollis*, *Pseudamphistomum aethiopicum* ja *Pseudamphistomum truncatum* (Hung ym. 2013). Kirjallisuudessa esiintyvien *Metorchis albidus* ja *Metorchis crassiusculus* -lajien katsotaan nykytietämyksen mukaan olevan samaa lajia kuin *M. bilis* (Sitko ym. 2016).

Opisthorchiidae-heimon maksamadot ovat kooltaan pieniä. Niiden koko vaihtelee lajin ja isäntäeläimen mukaan (Kaewkes 2003) ja ne ovat tyypillisesti pituudeltaan 1-20 mm (Mas-Coma ja Bargues 1997, Simpson ym. 2005). Aikuiset yksilöt ovat tunnistettavissa yleensä lajitasolle morfologian perusteella vertailemalla testisten muotoa ja sijaintia sekä vitelliinirauhasten sijoittumista (Kaewkes 2003). Munien ja metacercarioiden osalta morfologinen lajimääritys on haastavaa, koska ne muistuttavat hyvin paljon toisiaan eri lajien välillä (Mordvinov ym. 2012).

### **2.2.1 Elämänkierto**

Maksamatojen elämänkierto on melko monimutkainen ja sisältää useita vaiheita. Niillä on kaksi väli-isäntää ja pääisäntä, lisäksi niiden elämänkiertoon kuuluu sekä aseksuaalinen että seksuaalinen lisääntyminen (King ja Scholz 2001). Opisthorchiidae-heimon maksamadoilla on melko yhteneväinen elämänkierto (Kuva 1) (Chai ym. 2005) ja heimon merkittävimpien lajien elämänkierto on kuvattu melko kattavasti (Mas-Coma ja Bargues 1997, King ja Scholz 2001, Kaewkes 2003, Murrell ja Pozio 2017).

Opisthorchiidae-heimon maksamatojen ensimmäisenä väli-isäntinä toimivat makeanveden kotilot pääasiassa *Bithynia*-suvusta (Petney ym. 2013). Toisena väli-isäntänä voivat toimia useat särkikalat (Chai ym. 2005, Petney ym. 2013). Pääisäntiä ovat useat kalaa syövät nisäkkäät ja joidenkin lajien osalta myös linnut (Petney ym. 2013).

Aikuiset maksamadot elävät pääasiassa pääisäntänsä sappitiehyissä sekä sappirakossa ja joskus harvoin haimatiehyessä (Kaewkes 2003), missä ne lisääntyvät seksuaalisesti ja tuottavat munia, jotka päätyvät isännän ulosteen mukana ympäristöön (Murrel ja Pozio 2015). Aikuinen maksamato pystyy tuottamaan jopa tuhansia munia päivässä (King ja Scholz 2001, Kaewkes 2003) ja ne voivat elää mahdollisesti jopa yli 45 vuotta pääisännässään (WHO 1995). Maksamatojen munat ovat kellertävän ruskeita ja lajista riippuen pituudeltaan 21–100 µm ja leveydeltään 10–120 µm (King ja Scholz 2001). Munat ovat morfologialtaan samanlaisia ja niiden erottaminen lajitasolle on vaikeaa (Kaewkes 2003).

*Opisthorchis viverrini* munan kehittymiseen väli-isännälle infektiiviseen muotoon kestää lämpimässä vedessä 1–2 kuukautta (Kaewkes 2003), tänä aikana munan sisälle kehittyy miracidium-toukka (King ja Scholz 2001). Kun ensimmäisenä väli-isäntänä toimiva kotilo syö infektiivisen munan, vapautuu miracidium-toukka kotilon ruuansulatuskanavassa munasta ja tunkeutuu ruuansulatuskanavan seinämän läpi hemolymfaattiseen tilaan (Kaewkes 2003). Miracidium-toukasta on rakenteellisesti erotettavissa kaksi rauhasmaista rakennetta, apikaalinen ja kefaalinen rauhanen; lisäksi niillä on useita sukusoluja sekä pari erittäviä liekkisoluja ja alkeellinen parillinen hermorunko (Kaewkes 2003).

Miracidium-toukasta muodostuu sporokysta muutamassa tunnissa sen jälkeen, kun se on tunkeutunut ruuansulatuskanavasta väli-isännän kudoksiin (Mas-Coma ja Bargues 1997, Kaewkes 2003). Sporokystat ovat rakenteellisesti ohutseinäisiä (Kaewkes 2003), niillä ei ole suuta vaan ne ottavat tarvitsemansa ravinnon absorptiolla kotilon kudoksista (King ja Scholz 2001). *Opisthorchis viverrini* sporokystat ovat kooltaan noin 1100 x 650 µm (Kaewkes 2003). Sporokystista kehittyy useita redioita noin 17 päivässä (King ja Scholz 2001).

Redioilla on jo havaittavissa elimellisiä rakenteita: niillä on suu, nielu ja lyhyt suoli sekä sisällään useita kehittyviä cercarioita (Kaewkes 2003). *Opisthorchis viverrini* rediat ovat pituudeltaan noin 520 µm ja leveydeltään 90 µm (Kaewkes 2003). Sporokysta- ja redia-vaiheessa tapahtuu maksamatojen aseksuaalinen lisääntyminen: yhdestä sporokystasta muodostuu 20–50 rediaa ja yhdestä rediasta muodostuu 4–50 cercariaa (Hong ja Fang 2012,

Murrel ja Pozio 2015). Yhdestä munasta voi kehittyä näiden välivaiheiden jälkeen jopa tuhansia cercarioita (Murrel ja Pozio 2015).

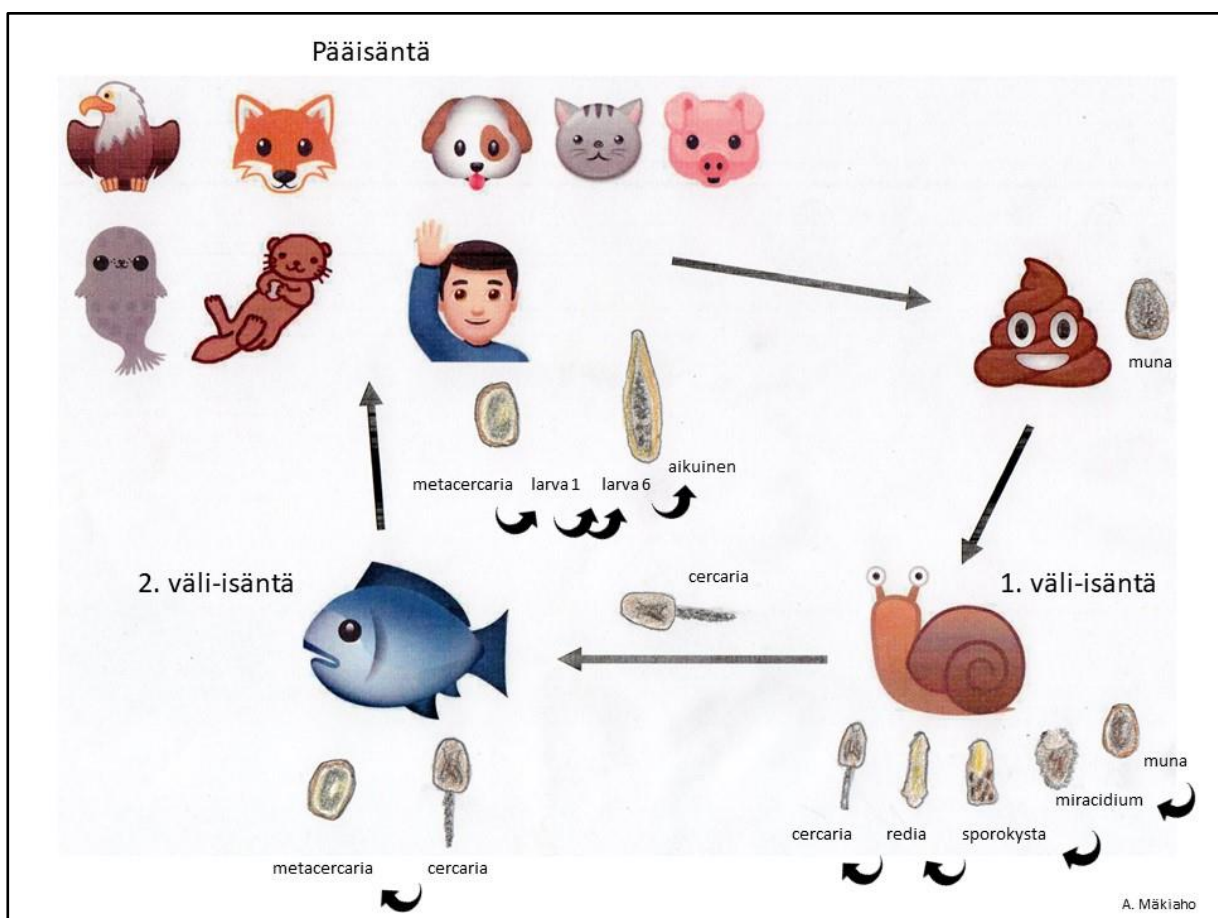
Cercariat ovat rakenteeltaan kaksiosaisia: niillä on n. 150 x 75 µm kokoinen ruumis ja n. 390 µm pitkä häntä, lisäksi niillä on useita tuntokarvoja molemmilla puolilla ruumista (Kaewkes 2003). Rakenteellisesti niiltä on erotettavissa pigmentoituneet pistesilmät, suu, jossa on hampaiden kaltaisia rakenteita, sekä nielu (Kaewkes 2003). Lisäksi niillä on väli-isäntään tunkeutumista varten kehittyneet rauhasrakenteet (Mas-Coma ja Bargues 1997). Cercarioilla on myös erityisrauhanen ja erittäviä liekkisoluryhmiä sekä kehittyvien sukuelinten alkeet (Kaewkes 2003).

Kypsyneet cercariat poistuvat kotilosta veteen ja alkavat etsiä toisena väli-isäntänä toimivaa kalaa (King ja Scholz 2001). Cercariat ovat geo- ja fototrooppisia (Kaewkes 2003), ne leijuvat vedessä ylösalaisin pohjaa kohden ja etsivät samalla aktiivisesti kohdettaan. Vesipatsaan pohjalle päädyttyään ne uivat takaisin lähemmäksi pintaa ja aloittavat uudelleen laskeutumisen kohti pohjaa (King ja Scholz 2001). Kotilosta vapautumisen jälkeen cercariat säilyvät hengissä vedessä noin vuorokauden, minkä aikana niiden tulisi löytää väli-isännäksi sopiva kala (Mas-Coma ja Bargues 1997). Cercariat tarttuvat kalan pintaan suullaan, pudottavat häntänsä ja aloittavat tunkeutumisen kalan suomujen ja ihon läpi (King ja Scholz 2001). Cercaria kehittää ympärilleen hyaliinikuoren, jolloin muodostuu metacercaria tyypillisimmin kalan lihaksistoon tai pehmytkudoksiin, joskus harvemmin suomuihin, eviin tai kiduksiin (Mas-Coma ja Bargues 1997).

Metacercariat ovat muodoltaan soikeita tai pyöreitä ja niillä on kaksinkertainen kuorirakenne (Kaewkes 2003). Metacercarian kypsyminen ja kehittyminen infektiiviseen muotoon kestää lajista ja olosuhteista riippuen 3-6 viikkoa (Mas-Coma ja Bargues 1997, Kaewkes 2003). Metacercarioiden koossa on vaihtelua lajien välillä ja tyypillisesti niiden pituus on 0,12–0,46 mm ja leveys 0,09–0,38 mm (Mas-Coma ja Bargues 1997, Skov ym. 2008). Metacercarioiden on arveltu säilyvän infektiivisinä pääisännille vain noin vuoden ajan (Mas-Coma ja Bargues 1997, Sithithaworn ym. 1997), minkä jälkeen metacercarian sisällä oleva larva kuolee.



Pääisäntä saa maksamatoinfektion syömällä infektiivisiä metacercarioita sisältävän kalan. Pääisännän ruuansulatuskanavassa metacercarian sisällä oleva larva vapautuu kuorestaan ja hakeutuu sappitiehyisiin 10-20 minuutin kuluessa (Lai ym. 2016), missä se aikuistuu kuuden eri larva-muodon kautta aikuiseksi maksamadoksi (King ja Scholz 2001). Kehittyminen metacercariasta vapautuvasta larvasta aikuiseksi munia tuottavaksi maksamadoksi kestää ihmisessä noin neljä viikkoa (Lai ym. 2016). Larva-muodot saattavat vaeltaa pääisännän maksassa ennen aikuistumistaan (King ja Scholz 2001). Maksamatojen suvullinen lisääntyminen tapahtuu pääisännässä (Mas-Coma ja Bargues 1997).



Kuva 1. Opisthorchiidae-heimon maksamadon elämänkierto. Pääisännän sappitiehyissä elävä aikuinen maksamato munii munia, jotka päätyvät pääisännän ulosteen mukana ympäristöön ja sieltä vesistöihin, missä ensimmäisenä väli-isäntänä toimiva kotilo syö munan. Kotilossa munasta vapautuu miracidium-toukka, joka muuttuu sporokystaksi ja edelleen rediaksi lisääntyen samalla suvuttomasti. Kotilosta vapautuu lopulta veteen tuhansia cercarioita, jotka etsivät toisena väli-isäntänä toimivan kalan ja tunkeutuvat kalan ihon läpi sen kudoksiin muodostaen metacercarioita. Pääisännän syödessä

raa'an kalan vapautuu metacercariasta larva, joka hakeutuu pääisännän sappiteihin, missä se aikuistuu useamman välivaiheen kautta.

### 2.2.2 Maksamadot ihmisillä

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation) on listannut Opisthorchiidae-heimon maksamadot kahdeksanneksi merkittävimmiksi ruuan välityksellä leviäviksi parasiiteiksi (FAO 2014). Vuonna 1995 WHO (World Health Organization) arvioi, että noin 17 miljoonaa ihmistä on infektoitunut Opisthorchiidae-heimon maksamadoilla ja 350 miljoonalla ihmisellä on riski saada maksamatoinfektio (WHO 1995). Lun ym. arvioi vuonna 2005, että pelkästään *C. sinensis* -infektiota olisi Kiinassa 15 miljoonalla ihmisellä ja maailmanlaajuisesti maksamatoinfektio olisi 35 miljoonalla. Keiser ja Utzinger (2005) arvioivat, että 700 miljoonalla ihmisellä on riski saada maksamatoinfektio. Infektoituneiden ihmisten määrän kasvun arvioidaan johtuvan ainakin osittain vesiviljelyn huomattavasta lisääntymisestä ihmisten ravinnon lähteenä Aasiassa (Keiser ja Utzinger 2005). Samalla kasvanut väestö lisää riskiryhmään kuuluvien määrää.

Maksamadot elävät pääasiassa pääisännän intrahepaattisissa sappiteissä, mutta niitä löydetään myös ekstrahepaattisista sappiteistä, sappirakosta ja joskus myös haimatiehyistä (Chai ym. 2005, Lim ym. 2008). Maksamadot aiheuttavat sappiteissä paikallista inflammaatiota sekä adenomatoottista hyperplasiaa ja sappiteiden fibroosia, lisäksi ne voivat aiheuttaa sappiteiden tukoksen (Lim ym. 2008). Simpson ym. (2005) havaitsivat histologisessa tutkimuksessa *P. truncatum* aiheuttavan saukoilla sappitiehyiden hyperplasiaa sekä maksan fibroosia ja hepatosyyttien vähenemistä. Lisäksi havaittiin sappiteiden limakalvolla lymfosyyttien ja eosinofiilien infiltraatiota (Simpson ym. 2005).

Ihmisillä *C. sinensiksen* aiheuttamaa sairautta nimitetään klonorkiaasiksi ja *O. viverrinin* ja *O. felineuksen* aiheuttamaa sairautta opistorkiaasiksi. Ihmisillä maksamatoinfektion oireet vaihtelevat infektion voimakkuuden mukaan. Yleensä alle sadan madon aiheuttama infektio ei aiheuta oireita tai oireina on lievää vatsakipua ja ripulia (Lun ym. 2005, Lai ym. 2016). Kun matojen määrä vaihtelee 100–1000 välillä, myös oireet voimistuvat, tyypillisesti tällöin

havaitaan kuumetta, painon menetystä, anoreksiaa, koliikkioireita, väsymystä sekä vatsan turvotusta (Lun ym. 2005, Lai ym. 2016). Voimakkaissa infektioissa, joissa maksamatoja voi olla tuhansia, oireina on raportoitu akuutissa vaiheessa voimakasta vatsakipua ja kroonisissa tapauksissa askitesta, ikterusta, hepatomegaliaa, hypertensiota ja ripulia (Lun ym. 2005, Dorny ym. 2009, Lai ym. 2016). Pozio ym. (2013) raportoivat *O. felineuksen* aiheuttaman akuutin infektion oireina kuumetta yli 60 %:lla tapauksista, vatsakipua n. 50 %:lla ja päänsärkyä n. 40 %:lla. Harvinaisempia oireita ovat voimattomuus, ripuli, pahoinvointi, nivelkipu, lihaskipu, kutina, heikotus, kuiva yskä, ummetus ja heikentynyt ruokahalu (Pozio ym. 2013). *Opisthorchis felineuksen* aiheuttamaa akuutin vaiheen infektiota pidetään ihmisellä vakavampana kuin *O. viverrinin* tai *C. sinensiksen* aiheuttamaa infektiota (Yurlova ym. 2017).

Ihmisillä maksamatoinfektio diagnosoidaan yleensä osoittamalla maksamadon munia ulosteesta. Ulostenäytteiden analysoimiseen on useita erilaisia tekniikoita, joista osa perustuu näytteen suoraan mikroskopointiin ja osa flotaatioon tai sedimentaation (Mas-Coma ja Bargues 1997). Imumatojen munat ovat raskaita, joten niille täytyy käyttää suuremman ominaispainon omaavaa flotaationestettä kuin sukkulamatojen tai heisimatojen munille (Taylor ym. 2007). Harnnoi ym. (1998) havaitsi tutkimuksissaan *O. viverrinin* munien ominaispainon vaihtelevan 1.27–1.30 välillä. Ylisimmin ulostenäytteiden tutkimiseen on käytössä Kato-Katz-tekniikka sen helppouden ja edullisuuden takia (Hong ym. 2003, Rim 2005, Qian ym. 2016). Kato-Katz –tekniikassa uloste levitetään objektilasille ja värjätään glyseriini-malakiitti vihreä-liuoksessa liotetulla sellofaanilla, minkä jälkeen näyte mikroskopoidaan (Cho ym. 1969). Kato-Katz-tekniikkaa voidaan käyttää myös madonmunien kvantitatiiviseen määrittämiseen käyttämällä valmista muottipohjaa ja punnitsemalla 41,7 mg ulostetta, madonmunien määrä kerrotaan luvulla 24, jolloin saadaan epg-arvo (Hong ym. 2003). Toinen yleisesti käytetty tekniikka on formaliini-eetteri sedimentaatiomenetelmä (Rim 2005), jossa madonmunat erotellaan käyttämällä formaliinin ja eetterin seosta (Cho ym. 1969). Kumpikaan testi ei yksittäin tehtynä ole kovinkaan sensitiivinen, mutta toistettaessa testi useamman kerran saadaan sensitiivisyyttä parannettua huomattavasti (Qian ym. 2013). Hyvin lievien infektioiden osalta formaliini-eetteri sedimentaatiomenetelmää pidetään sensitiivisempänä kuin Kato-Katz-tekniikka, koska siinä käytettävä ulostemäärä on suurempi (Hong ym. 2003).

WHO:n alainen International Agency for Research on Cancer (IARC) on luokitellut krooniset *C. sinensis* ja *O. viverrini* -infektiot kolangiokarsinoomaa aiheuttaviksi luokan 1. karsinogeeniksi ihmisillä, lisäksi on jonkin verran näyttöä siitä, että molempien aiheuttamat akuutit infektiota voisivat olla karsinogeenisiä (IARC 2012). Pakharukova ja Mordvinov (2016) havaitsivat tutkimuksissaan *O. felineuksen* tuottavan samoja genotoksisia metaboliitteja, joita myös muut maksamadot tuottavat. Lisäksi he havaitsivat epidemiologisessa selvityksessään mahdollisen yhteyden *O. felineuksen* ja sappiteiden syövän välillä Länsi-Siperiassa (Pakharukova ja Mordvinov 2016).

### 2.2.3 *Opisthorchis felineus*

Aikuisten *O. felineus* -maksamatojen koko vaihtelee hieman pääisännän mukaan (Mordvinov ym. 2012), niiden pituus vaihtelee lähteestä riippuen 2–18 mm välillä ja leveys 1–3,5 mm välillä (Mas-Coma ja Bargues 1997, Mordvinov ym. 2012). Munat ovat vaalean keltaisia, muodoltaan soikeita ja kooltaan 26 x 10 µm (Mordvinov ym. 2012). Metacercariat ovat soikeita ja niiden koko vaihtelee pituuden osalta 0,21–0,43 mm välillä ja leveyden 0,17–0,34 mm (Yurlova ym. 2017).

*Opisthorchis felineuksen* ensimmäisenä väli-isäntänä on raportoitu toimivan ainakin seuraavat kotilolajit: *Bithynia leachi*, *B. troscheli*, *B. inflata*, *B. tentaculata*, *B. fuchsiana*, *Parafossarulus manchouricus*, *Allocinma longicornis* ja *Opisthorchophorus hispanicus* (Hung ym. 2013). Toisena väli-isäntänä toimii makeanveden kaloista ainakin sulkava (*Abramis balerus*), lahna (*A. bramae*), sapa (*A. sapa*), salakka (*Alburnus alburnus*), toutain (*Aspius aspius*), Dnieperin barbi (*Barbus borysthenicus*), pasuri (*Blicca bjoerkna*), ruutana (*Carassius carassius*), nokkasärki (*Chondrostoma nasus*), rantanuoliainen (*Cobitis taenia*), karppi (*Cyprinus carpio*), törö (*Gobio gobio*), allikkosalakka (*Leucaspis delineates*), turpa (*Leuciscus cephalus*), säyne (*L. idus*), seipi (*L. leuciscus*), mutu (*Phoxinus phoxinus*), miekkasärki (*Polecus cultratus*), särki (*Rutilus rutilus*), sorva (*Scardinius erythrophthalmus*) sekä suutari (*Tinca tinca*) (Hung ym. 2013). *Opisthorchis felineuksen* pääisäntänä voi toimia useat kalaa syövät nisäkkäät. Ainakin seuraavien lajien on raportoitu toimivan sen pääisäntänä: koira (*Canis lupus familiaris*), kissa (*Felis catus*), susi (*Canis lupus*), punakettu (*Vulpes vulpes*), naali (*Vulpes lagopus*), arokettu (*Vulpes corsac*),

ahma (*Gulo gulo*), villisika (*Sus scrofa*), kesysika (*Sus scrofa domesticus*), majava (*Castor fiber*), saukko (*Lutra lutra*), supikoira (*Nyctereutes procyonoides*), mäyrä (*Meles meles*), minkki (*Mustela vison*), vesikko (*Mustela lutriola*), kärppä (*Mustela erminea*), lumikko (*Mustela nivalis*), hilleri (*Mustela putorius*), siperiankärppä (*Mustela sibirica*), soopeli (*Martes zebellina*), siperianmaaorava (*Eutamias sibiricus*), vesimyyrä (*Arvicola terrestris*), kaniini (*Oryctolagus cuniculus*), rotta (*Rattus norvegicus*), harmaahylje (*Halichoerus grypus*), kaspianhylje (*Pusa caspica*), partahylje (*Erignathus barbatus*), leijona (*Felis leo*) ja ihminen (Hung ym. 2013, Petney ym. 2013).

*Opisthorchis felineus* -maksamatoja esiintyy endeemisesti melko laajalti Venäjällä sekä pääettä väli-isännissään, erityisesti Länsi-Siperiassa Ob- ja Irtysh-jokien läheisyydessä sekä Venäjän Euroopan puoleisissa osissa Volga- ja Don-jokien läheisyydessä (Mordvinov ym. 2012). Lisäksi *O. felineusta* esiintyy Ukrainassa ja Valko-Venäjällä Dnepr-joen alueella (Mordvinov ym. 2012). Muualla Euroopassa *O. felineus* havaintoja on ainakin 13 maasta (Pozio ym. 2013). 2000-luvulla raportoituja tapauksia on Saksasta, Kreikasta, Italiasta, Portugalista ja Espanjasta (Pozio ym. 2013).

Länsi-Siperian endeemisillä alueilla *O. felineusta* on havaittu esiintyvän pääasiassa alle 2 %:lla ensimmäisenä väli-isäntänä toimivista *Bithynia*-suvun kotiloista (Karpenko ym. 2008, Yurlova ym. 2017). Joillakin alueilla infektoituneita kotiloita on kuitenkin havaittu olevan jopa yli 60 % (Yurlova ym. 2017). Ob-joen alueelle paikoin jopa 100 %:lta säyneistä (*Leuciscus idus*) ja seipeistä (*Leuciscus leuciscus*) sekä 50 %:lta särjistä (*Rutilus rutilus*) löytyy *O. felineuksen* metacercarioita (Yurlova ym. 2017).

WHO arvioi vuonna 1995, että noin 1,5 miljoonalla ihmisellä on *O. felineus* -infektio ja 14 miljoonalla ihmisellä on riski saada se. 2000-luvulla Keiser ja Ultzinger (2005) ovat arvioineet, että 12,5 miljoonalla ihmisellä on riski saada *O. felineus* -infektio. Euroopassa *O. felineus* infektioita on havaittu ihmisillä pääasiassa Venäjällä, Ukrainassa ja Valko-Venäjällä sekä yksittäisiä infektioita Saksassa ja Kreikassa (Pozio ym. 2013). Italiassa havaittiin vuosien 2003-2011 aikana yli 200 ihmisellä *O. felineus* -infektio pienellä alueella Keski-Italiassa (Pozio ym. 2013). Paikallisesti maksamatojen esiintyvyys ihmisillä voi nousta endeemisillä alueilla

huomattavan korkeaksi. Venäjällä Länsi-Siperiassa Ob-joen alueelta on raportoitu 50–80 %:n esiintyvyyttä ihmisillä ja Euroopan puolella Dnepr-joen alueella esiintyvyys vaihtelee 60–70 %:n välillä ja Volgan alueella 20–30 %:n välillä (Yurlova ym. 2017). Koko väestön tasolla esiintyvyyden on arvioitu vaihtelevan Länsi-Siperian endeemisillä alueilla 0,05–0,6 %:n välillä (Yurlova ym. 2017).

#### **2.2.4 *Clonorchis sinensis***

*Clonorchis sinensis* eli kiinanmaksamato on aikuisena kooltaan 8–25 mm pitkä ja 1,5–5 mm leveä (Rim 1990, Lai 2016). Soikeat munat ovat kooltaan keskimäärin 29 x 16 µm ja metacercariat 0,12–0,16 x 0,09–0,14 mm (Mas-Coma ja Bargues 1997).

*Clonorchis sinensiksen* ensimmäisenä väli-isäntänä toimivia kotilolajeja on raportoitu olevan ainakin kymmenen (Hung ym. 2013), näistä keskeisimpiä ovat *Alocinma longicornis*, *Parafossarulus striatulus* ja *Bithynia fuchsianus* (Lun ym. 2005). Toisena väli-isäntänä on raportoitu ainakin 132 eri kalalajia pääasiassa Cyprinoidea-yläheimosta (Lun ym. 2005) sekä ainakin kolme äyriäislajia (King ja Scholz 2001). Ihmisen lisäksi *C. sinensiksen* pääisäntänä on raportoitu toimivan koira, kissa, sika, villisika, rotta, näätä, kärppä, minkki ja mäyrä (Hung ym. 2013).

*Clonorchis sinensistä* esiintyy endeemisenä Kiinassa, Pohjois- ja Etelä-Koreassa, Taiwanissa, Vietnamissa, Venäjällä ja Japanissa (Hung ym. 2013). Kiinassa, missä *C. sinensistä* on havaittu eniten, painottuu suurin esiintyvyys Koillis-Kiinaan sekä maan etelä- ja kaakkoisosiin (Lai ym. 2016). Heilongjiangin, Guangxin ja Guangdongin maakunnissa *C. sinensiksen* esiintyvyys koko väestön tasolla on arvioitu olevan yli 3 %, mutta paikallisesti infektoituneiden osuus väestöstä voi olla yli kolmekymmentä prosenttia (Lai ym. 2016). *Clonorchis sinensis* -infektioiden määrä on ainakin kolminkertaistunut Kiinassa kymmenessä vuodessa 1990-luvulta 2000-luvulle tultaessa (Keiser ja Ultzinger 2005). Lai ym. (2016) arvioi, että tällä hetkellä Kiinassa infektoituneita ihmisiä on yli 15 miljoonaa. *Clonorchis sinensistä* esiintyy myös Taiwanissa, mutta tarkempia arvioita sen esiintyvyydestä ei tiedetä (Hong ja Fang 2012), paikallisesti esiintyvyyden on havaittu vaihtelevan ihmisillä 0–57 % välillä (Rim 2005). Etelä-Koreassa

suolistoloisten esiintyvyyttä on tutkittu säännöllisesti laajalla otannalla 70-luvulta asti 5–7 vuoden välein, vuoden 2004 tutkimuksessa *C. sinensiksen* esiintyvyys koko väestön tasolla oli 2,4 %, mutta paikoin esiintyvyys oli yli 11 % (Kim ym. 2009). *Clonorchis sinensiksen* esiintyvyys on laskenut Koreassa massalääkitysten käyttöönoton jälkeen (Rim 2005, Hung ym. 2013), mutta Hong ja Fang (2012) arvioivat *C. sinensistä* esiintyvän silti Koreassa n. 1,3 miljoonalla ihmisellä. Vietnamin *C. sinensistä* esiintyy lähinnä maan pohjoisosissa (Hung ym. 2013), missä sitä on arvioitu olevan noin miljoonalla ihmisellä (Hong ja Fang 2012). Venäjällä *C. sinensiksen* esiintyminen painottuu Venäjän Kaukoitään Amur-joen alueelle (Rim 2005, Hung ym. 2013). Venäjällä raportoituja klonorkiaasi tapauksia on noin kolmetuhatta (Qian ym. 2016), mutta Hong ja Fang (2012) arvioivat sitä esiintyvän todellisuudessa noin miljoonalla ihmisellä.

### **2.2.5 *Opisthorchis viverrini***

*Opisthorchis viverrini* on aikuisena kooltaan keskimäärin 7,4 mm pitkiä ja 1,5 mm leveitä. Niiden munat ovat soikeita, väriltään kellertävän ruskeita ja kooltaan n. 28 x 16 µm. (Mas-Coma ja Bargues 1997). Metacercariat ovat soikeita ja niiden pituus vaihtelee 0,19–0,25 mm välillä ja leveys 0,15–0,22 mm välillä (Mas-Coma ja Bargues 1997).

*Opisthorchis viverrinin* ensimmäisenä väli-isäntänä toimii *Bithynia*-suvun etanoista ainakin *Bithynia funiculata*, *B. siamensis gomiphalos*, *B. siamensis siamensis*, *B. siamensis laevis* ja *Melanoides tuberculata* (Chai ym. 2005, Hung ym. 2013, Petney ym. 2013). Raportoituja toisena väli-isäntänä toimivia kalalajeja on yli 35 pääasiassa Cyprinoidea-yläheimosta (Keiser ja Utzinger 2005). *Opisthorchis viverrinia* pidetään ensisijaisesti ihmisten loisena, mutta ne infektoivat myös kissoja ja koiria, jotka toimivat *O. viverrinin* reservuaarina (Petney ym. 2013). Endeemisillä alueilla Kaakkois-Aasiassa *O. viverrinin* esiintyvyys kissoilla on paikoin jopa 60 % (Sithithaworn ym. 2012). Koirilla esiintyvyys on huomattavasti vähäisempää (Petney ym. 2013).

Yossepowitch ym. (2004) arvioi, että yhdeksällä miljoonalla ihmisellä on *O. viverrini*-infektio. Keiserin ja Utzingerin (2005) mukaan yli 67 miljoonaa ihmisellä on riski saada infektio.

*Opisthorchis viverrinia* esiintyy pääasiassa Kaakkois-Aasiassa Thaimaan, Kambodzan, Vietnamin ja Laosin alueella (Chai ym. 2005). Thaimaassa *O. viverrinia* esiintyy yleisemmin maan pohjoisosissa, missä sen esiintyvyys koko väestön tasolla on n. 16 %, mutta paikoin sitä esiintyy Pohjois-Thaimaan kylissä jopa 100 %:lla väestöstä (Sithithaworn ym. 2012). Laosin osalta prevalenssi ihmisillä on keskimäärin 10 %, mutta paikoin esiintyvyys nousee yli 60 %:iin. Kambodzassa *O. viverrinin* esiintyvyys vaihtelee 1–32 % välillä ja myös Vietnamin esiintyvyys on samaa luokkaa (Sithithaworn ym. 2012).

### **2.2.6 *Metorchis bilis***

Aikuiset *M. bilis* -maksamadot ovat pituudeltaan 1,75–3,75 mm ja leveydeltään 1,0–1,5 mm (Mordvinov ym. 2012). Munat ovat tyypillisesti kooltaan 30 x 20 µm (Mordvinov ym. 2012). Metacercariat ovat pyöreitä tai soikeita ja kooltaan 0,13–0,16 mm x 0,19–0,23 mm (Kiyon ym. 2018).

Euroopassa *M. bilistä* on raportoitu esiintyvän useissa Euroopan maissa. Saksassa *M. bilistä* on havaittu esiintyvän kissoilla, ja vuonna 2001 *M. bilistä* ja *O. felineusta* löydettiin Saksassa rekikoirilta, joille oli syötetty raakaa kalaa (Schuster ym. 2007). Schuster ym. (1999) havaitsi *M. bilistä* esiintyvän jopa 28 %:lla ketuista (*Vulpes vulpes*) Brandenburgin alueella Saksassa. Englannista *M. bilistä* on löydetty 7,8 %:lta lähes kuudensadan tutkitun saukon (*Lutra lutra*) aineistosta ja Tanskassa jopa 30 %:lta tutkituista saukoista, lisäksi *M. bilistä* on todettu saukoilla Ranskassa, Saksassa ja Ruotsissa (Sherrard-Smith ym. 2016). Suomessa *M. bilistä* on todettu yhdessä ketussa (Evira 2010) ja yksittäisistä kuolleena löydettyistä merikotkista (*Haliaeetus albicilla*) (Krone ym. 2006). Saksassa yli 50 %:lla merikotkista on havaittu *M. biliksen* aiheuttama maksamatoinfektio (Krone ym. 2006). Sitko ym. (2016) raportoivat Tshekissä *M. bilistä* löydetyn 20 %:lta merimetsoista (*Phalacrocorax carbo*) sekä yksittäisiä löydöksiä kapustahaikaralta (*Platalea leucorodia*), merikotkalta, keisarikotkalta (*Aquila heliaca*) hiirihaukalta (*Buteo buteo*) ja arohiirihaukalta (*Buteo rufinus*). Slovakiassa Komorova ym. (2016) löysivät *M. bilistä* yhdeltä merikotkalta ja yhdeltä arohiirihaukalta. Berliinin alueella jopa 30 %:lta särjistä on löydetty maksamatojen metacercarioita, salakoissa (*Alburnus alburnus*) ja säyneissä metacercarioiden esiintyvyyttä pidetään vielä korkeampana (Schuster



ym. 2007). Venäjällä Irtysh-joen sivujoessa *M. biliksen* metacercarioiden esiintyvyydeksi säyneissä on todettu 10,8 %, seipissä 16,5 % ja särjissä 2,3 % (Yurlova ym. 2017).

*Metorchis biliksen* aiheuttamia infektioita, metorkiaasia, on raportoitu ihmisillä Venäjällä, jossa sitä esiintyy lähinnä Ob-joen alueella (Hung ym. 2013), sekä yksittäisiä tapauksia Kazakstanista (Kiyani ym. 2018). Kuznetsova ym. (2000) havaitsivat serologisilla testeillä, että Novosibirskin alueella yli puolessa kliinisistä opistorkiaasi-tapauksista infektion aiheuttajana olisi *M. bilis* yksin tai sekainfektiona *O. felineuksen* kanssa. Toisessa tutkimuksessa havaittiin *M. biliksen* aiheuttamien infektioiden osuudeksi 7 % ja sekainfektioiden osuudeksi 63 % (Fedorov ym. 2002). *Metorchis bilis* -infektioita pidetäänkin Venäjällä alidiagnosoituina (Sitko ym. 2016).

### **2.2.7 *Pseudamphistomum truncatum***

Aikuiset *P. truncatum* maksamadot ovat pieniä, pituudeltaan 1,02–1,4 mm ja leveydeltään 0,18–0,7 mm (Simpson ym. 2005, Skov ym. 2008). Munat ovat soikeita ja kooltaan 27–30 x 15–17 µm (Skov ym. 2008). *Pseudamphistomum truncatum* metacercarioiden koko vaihtelee pituuden osalta 0,32–0,46 mm ja leveyden osalta 0,26–0,38 mm välillä (Skov ym. 2008).

*Pseudamphistomum truncatum*in pääisäntinä on raportoitu ainakin saukko, minkki, hilleri, vesikko, kärppä, lumikko, ahma, kettu, naali, susi, supikoira, harmaahylje, kirjohylje (*Phoca vitulina*), kaspianhylje, kissa, koira ja ihminen (Hawkins ym. 2010, Hildebrand ym. 2011). Ensimmäisenä väli-isäntänä toimii *Bithynia*-suvun kotiloista ainakin *B. tentaculata* ja *B. leachii* (Skov ym. 2008, Hawkins ym. 2010) sekä *Radix*-sukuun kuuluva *Radix balthica* (Sherrard-Smith ym. 2015). Toisena väli-isäntänä toimivat särkikalat (Hung ym. 2013).

*Pseudamphistomum truncatum*ia on raportoitu esiintyvän useissa Euroopan maissa, mm. Suomessa (Näreaho ym. 2017), Ruotsissa (Neimanis ym. 2016), Tanskassa (Saeed ym. 2005), Saksassa (Schuster ym. 1999), Irlannissa (Hawkins ym. 2010), Iso-Britanniassa (Simpson ym. 2005), Puolassa (Hildebrand ym. 2011), Venäjällä (Voronin ym. 2017), Valko-Venäjällä

(Shimalov ym. 2000), Ranskassa, Italiassa ja Unkarissa (Hung ym. 2013). Saeed ym. (2006) havaitsivat yli tuhat kettua sisältäneessä tutkimuksessaan Tanskassa *P. truncatumia* esiintyvän 3,6 %:lla tutkituista ketuista. Kaikki *P. truncatum* löydökset keskittyivät Pohjois-Själlantin alueelle (Saeed ym. 2006). Iso-Britanniassa havaittiin kahdessa eri tutkimuksessa *P. truncatum* esiintyvyyden olevan kuolleena löydetyillä saukoilla 11,7 % 273 tutkitun saukon aineistossa (Sherrard-Smith ym. 2009) ja 160 saukon aineistossa 17,5 % (Simpson ym. 2009). Neimanis ym. (2016) tutki Ruotsissa vuosien 2002–2013 aikana yli 1500 harmaahyljettä ja 11,9 %:lla havaittiin maksamatoinfektio, joista kaikki molekyylibiologisesti varmistetut tapaukset olivat *P. truncatum* aiheuttamia. He havaitsivat infektioiden esiintyvyyden lisääntyneen huomattavasti tuona aikana. Maksamatojen esiintyvyydessä harmaahylkeillä oli havaittavissa alueellista vaihtelua, Perämeren alueella esiintyvyys oli vain 4 %, kun se etelämpänä rannikolla vaihteli 14–19 % välillä. Aivan Etelä-Ruotsin rannikolla Skånen alueella maksamatoinfektioita ei havaittu, mahdollisesti väli-isäntänä toimivalle särjelle liian korkean suolapitoisuuden takia (Neimanis ym. 2016). Irlannissa on havaittu *P. truncatum* metacercarioiden esiintyvyyden olevan Shannon-joen särjissä jopa 89 % (Hawkins ym. 2010). Voronin ym. (2017) havaitsivat tutkimuksissaan, että Viipurin lahdella *P. truncatum* metacercarioita esiintyy jopa yli 75 %:lla särjistä, lisäksi havaittiin yksittäisiä infektoituneita lahnoja, sorvia sekä yksi infektoitunut vimpa (*Vimba vimba*). Näreaho ym. (2017) havaitsivat *P. truncatumia* esiintyvän paikallisesti n. 45 %:lla yhdestä pyyntipaikasta pyydetyistä särjistä itäisellä Suomenlahdella Kotkan edustalla. *Pseudamphistomum truncatum* -infektioita on raportoitu Venäjällä ihmisillä Keski-Volgan alueella (Khamidullin ym. 1995).

### **2.2.8 *Posthodiplostomum* sp.**

*Posthodiplostomum*-suvun imumadot kuuluvat Diplostomidae-heimoon (Athokpam ja Tandon 2014). Suvun imumadot loisivat pääisäntänsä ruuansulatuskanavassa (Ondrackova ym. 2004) ja suvun lajeista ainakin 30 tiedetään käyttävän pääisäntänään lintuja (Athokpam ja Tandon 2014). *Posthodiplostomum*-suvun imumadot ovat kooltaan keskimäärin 1,02 mm pitkiä ja 0,48 mm leveitä (Ritossa ym. 2013), metacercariat ovat muodoltaan pyöreitä tai soikeita ja niissä on yksinkertainen kuori (Athokpam ja Tandon 2014). Kooltaan metacercariat ovat keskimäärin 0,65 x 0,51 mm (Athokpam ja Tandon 2014).

*Posthodiplostomum cuticola* eli haikaraimumato aiheuttaa särkikaloilla mustatäplätautia (black spot disease) (Ondrackova ym. 2002), jota on havaittu myös Suomessa mm. särjillä (Køie 1999, Näreaho ym. 2017). *Posthodiplostomum cuticolan* elämäntyyppi eroaa hieman Opisthorchiidae-heimon maksamadoista. Pääisäntänä toimivat linnut, joiden ruuansulatuskanavassa aikuiset imumadot elävät ja tuottavat munia (Ondrackova ym. 2004). Veteen päädyttyä munista vapautuu miracidium-toukka, joka tunkeutuu ensimmäisenä väliisäntänä toimivaan Planorbidae-heimon kotiloon (Ondrackova ym. 2004). Kotilosta vapautuvat cercariat tunkeutuvat toisena väliisäntänä toimivan kalan ihoon, eviin tai lihaksiin muodostaen metacercarioita, jotka ovat infektiivisiä pääisäntänä toimiville linnuille (Ondrackova ym. 2004).

### 2.2.9 Esiintyvyys Suomessa

Suomesta on löydetty Opisthorchiidae-heimon maksamadoista *P. truncatumia* ja *M. bilistä*. Krone ym. (2006) tutki yksitoista Suomesta kuolleena löydettyä merikotkaa ja löysi neljältä *M. bilis*-infektion. Lisäksi *M. bilistä* on löydetty yhdeltä ketulta (Evara 2010). Näreaho ym. (2017) tunnisti sekvensoimalla yhden Suomenlahdelta Kotkan edustalta pyydetyistä särjestä löydetyn metacercarian *M. bilikseksi*.

*Pseudamphistomum truncatumia* on havaittu esiintyvän Suomen rannikolla elävillä harmaahylkeillä Suomenlahdelta aina Perämerelle asti (Hirvelä-Koski ym. 2017). Näreaho ym. (2017) löysi *P. truncatumin* metacercarioita Suomenlahdelta Kotkan edustalta pyydetyistä särjistä. Evara on raportoinut *P. truncatumia* löydetyn Suomesta yksittäistapauksina ketuilta (Evara 2017a, Evara 2017b)

Suomessa esiintyy myös *Posthodiplostomum cuticolan* aiheuttamaa mustatäplätautia. Sitä on havaittu Suomessa särjillä ainakin Suomenlahdella (Køie 1999, Näreaho ym. 2017) ja sen esiintyvyys on lisääntynyt viime vuosina (Eriksson-Kallio 2017).

### 2.3 Maksamatojen metacercariat elintarvikkeissa

Maksamatojen metacercariat ovat kestäviä, ne kestävät hyvin suolaa, kuivumista ja kylmää (Pakharukova ja Mordvinov 2016). Murrell ja Pozio (2017) raportoivat sekä *O. felineuksen*, että *C. sinensiksen* kestävänsä -18 °C:ssa pakastamista ainakin neljä vuorokautta ja -10 °C:ssa yli 20 vuorokautta. Fan (1998) havaitsi koe-eläintutkimuksissa *C. sinensiksen* säilyvän infektiivisenä vielä seitsemän päivän pakastamisen jälkeen -20 °C:ssa, kun taas -12 °C:ssa pakastaminen kahdenkymmenen vuorokauden ajan riitti estämään koe-eläinten infektoitumisen (Fan 1998). Korkean suolapitoisuuden osalta tulokset vaihtelevat, EFSA:n (European Food Safety Authority) (2010) raportin mukaan 13,6 % suolapitoisuudessa metacercariat kuolevat vuorokaudessa, mutta toisaalta Fan (1998) osoitti, että 30 % suolapitoisuudessa metacercariat voivat säilyä infektiivisinä seitsemän päivää. EFSA:n (2010) raportin mukaan metacercariat tuhoutuvat kuumentamalla 50 °C:ssa viidessä tunnissa, ja lämpötilan noustessa 70 °C:een metacercariat tuhoutuvat puolessa tunnissa, mutta Mas-Coma ja Bargues (1997) raportoivat *C. sinensiken* metacercarioiden kuolevan jo kolmen minuutin kuumennuksella 65 °C:ssa. Koska tähän mennessä tehdyissä tutkimuksissa on saatu ristiriitaisia tuloksia maksamatojen metacercarioiden kestävyden osalta, tarvittaisiin tarkempaa tutkimusta niiden kestävydestä erilaisten kalankäsittelytekniikoiden osalta.

### 2.4 Suomen särkikalat

Opisthorchiidae-heimon maksamatojen toisena väli-isäntänä toimivia särkikalajoja tavataan yleisesti myös Suomessa. Suomen lajitietokeskuksen (2019) mukaan Suomessa esiintyy 19 särkikalalajia. Näistä laajimmille levinneitä ja runsaslukuisimpia ovat särki (*Rutilus rutilus*) ja lahna (*Abramis bramae*). Taloudellisesti merkittävimpiä ja eniten ruokakalana käytettyjä särkikalajoja ovat särki, lahna ja säyne (*Leuciscus idus*). Särki on yksi Suomen yleisimmistä kalalajeista ja sitä tavataan pohjoisinta Lappia lukuun ottamatta koko maassa (Luke 2019d). Vuotuinen särkisaalis on viimevuodet ollut Suomessa kokonaisuudessaan noin neljä miljoonaa kiloa (Luke 2019e). Suomalaiset syövät särkeä keskimäärin 60 g henkeä kohden vuodessa (Luke 2019b). Lahnaa esiintyy Suomessa yleisesti aina napapiirin korkeudelle asti (Luke 2019d) ja sitä pyydetään vuosittain noin kaksi miljoonaa kiloa (Luke 2019e). Lahnaa vuotuinen kulutus

on 100 g/hlö/v (Luke 2019b). Säyne on edellisiin lajeihin verrattuna huomattavasti vähemmän pyydetty ja käytetty särkikala, sen vuosittaiset pyyntimäärät ovat noin 400 000 kg (Luke 2019e) ja kulutus 10 g/hlö/v (Luke 2019b). Säynettä esiintyy Pohjois-Lappia lukuun ottamatta lähes koko maassa (Luke 2019d). Suurin osa särkikalasaaliista saadaan sivusaaliina muita kaloja pyydettyäessä (Luke 2019d) tai poistokalastuksen tuloksena ns. roskakalaa vesistöistä pyydettyäessä ja poistettaessa (RKTL 2013). Särkikalasaalis käytetään pääasiassa turkiseläinten rehuksi (RKTL 2013).

### 3 AINEISTOT JA MENETELMÄT

Tutkimuksen aineistona käytettiin Suomen eri sisävesistöistä ja rannikkoalueilta pyydettyjä särkiä. Kaloja otettiin tutkimukseen 9-10 kpl pyyntipaikkaa kohden. Kalat toimitettiin Helsingin Yliopiston eläinlääketieteellisen tiedekunnan patologian yksikköön, jossa ne pakastettiin odottamaan esikäsittelyä. Yhteensä kalanäytteitä saatiin 78 kpl kahdeksalta eri paikkakunnalta. Sisävesistä näytteitä oli viideltä eri paikkakunnalta: Lappeenrannasta (Saimaa), Heinolasta (Ruotsalainen), Jämsästä (Päijänne), Lohjalta (Enäjärvi) ja Kuusamosta (Säkkilänjärvi). Merialueilta näytteitä oli Tammisaaresta (Läntinen Suomenlahti), Pietarsaaresta (Merenkurkku) ja Hailuodosta (Perämeri) (Kuva 2).



Kuva 2. Näytteeksi saatujen kalojen pyyntipaikat.

#### 3.1 Kalojen esikäsittely

Kalojen esikäsittely tapahtui Eviran (nyk. Ruokavirasto) Helsingin toimipisteessä. Kalat numeroitiin juoksevalla numerolla. Sulatetut kalat tarkastettiin silmämääräisesti haikaraimumatojen aiheuttamien melaniinikertymien varalta ja tyypilliset muutokset kirjattiin ylös. Kalojen pituus mitattiin asettamalla ne Ruokavirastolla käytössä olevaan mittaustyökaluun, joka oli kallellaan olevan L-kirjaimen mallinen kouru, jossa oli mitta-

asteikko. Pituus määritettiin suppuun laitetun pyrstön kärjen mukaan. Kalat myös punnittiin kokonaisena. Seuraavaksi noin joka viidenneltä kalalta irrotettiin olkalukkoluu (cleithrum) iän määrittystä varten. Olkalukkoluut keitettiin vedessä, jotta muut kudokset saatiin irtoamaan luusta. Kalan ikä määritettiin laskemalla mikroskoopilla luusta kasvurenkaat. Kalat avattiin ventraalisesti, ja niiden sisäelimet poistettiin. Seuraavaksi kaloista irrotettiin veitsellä oikea filee, joka määritettiin A-fileeksi. Vasen filee, johon jäi pään irrotuksen jälkeen myös keskiruoto, määritettiin B-fileeksi. Fileet punnittiin ja laitettiin omiin muovipusseihin, joihin kirjattiin kalalle annettu numero. Mikäli kaloja ei digestoitu samana tai seuraavana päivänä esikäsitteystä, ne pakastettiin.

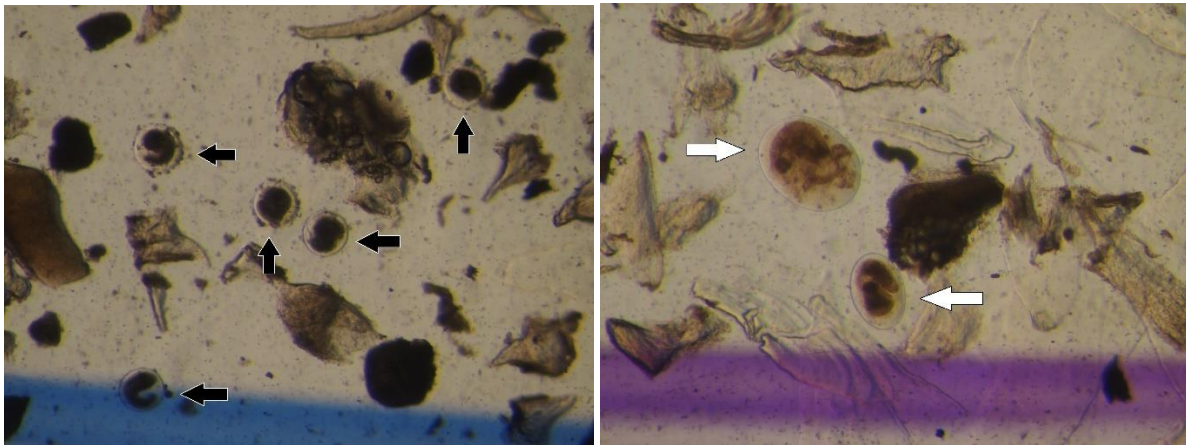
### **3.2 Digestio ja loisrakenteiden laskenta**

Kalojen digestio suoritettiin Helsingin Yliopiston eläinlääketieteellisen tiedekunnan parasitologian laboratoriossa kesäkuun 2017 ja maaliskuun 2018 välisenä aikana. Digestioon käytettiin ensisijaisesti B-fileitä, jotka sisälsivät myös kalan keskiruodon. Fileet digestoitettiin yksitellen omissa astioissa. Digestiota varten filee ensin jauhettiin sauvasekoittajalla isossa dekanterilasissa, minkä jälkeen sekaan lisättiin vettä, suolahappoa ja pepsiiniä kalan painon mukaan. Alle 50 g painavien fileiden digestioseos sisälsi 490 ml vesijohtovettä, jonka lämpötila oli n. 37 °C. Seokseen lisättiin 12 ml 25-% suolahappoa ja sekoittamisen jälkeen 5 g pepsiiniä. 50–100 g painavien fileiden digestioseos oli kaksinkertainen edellä kuvattuun verrattuna. Kaloja digestoitettiin lämpölevyllä 37 °C:ssa seoksen lämpötilaa koko ajan tarkkaillen n. 30 minuuttia. Seosta sekoitettiin magneettisekoittajalla koko digestion ajan.

Digestion jälkeen seos kaadettiin siivilän läpi erotussuppiloon ja dekanterilasi huuhdeltiin vesijohtovedellä, joka kaadettiin samaan suppiloon, ja seosta seisotettiin suppilossa 30 min. Suppilon pohjalle laskeutunutta sakkaa, joka sisälsi myös mahdolliset metacercariat, laskettiin erilliseen dekanterilasiin n. 100 ml. Erotussuppilo tyhjennettiin ja huuhdeltiin, minkä jälkeen dekanterilasiin laskettu liuos kaadettiin tiheämmän siivilän läpi takaisin suppiloon ja sekaan lisättiin vesijohtovettä noin viisinkertainen määrä. Seosta seisotettiin suppilossa n. 15 minuuttia. Mikäli seos oli riittävän kirkasta, laskettiin pohjalle laskeutunut sakka petrimaljalle metacercaria-muotojen laskentaa varten. Jos seos oli vielä sameaa, toistettiin kirkastus vielä

toiseen kertaan ennen metacercaria-muotojen talteenottoa. Käytössä oli kaksi erotussuppiloa ja kaksi eri tiheyksistä siivilää. Suppilot ja siivilät pestiin jokaisen kalan jälkeen.

Loisrakenteiden laskentaa varten petrimaljojen pohjat oli ruudutettu n. 1 x 1 cm ruutuihin vedenpitävällä tussilla, jotta maljat voitiin käydä systemaattisesti läpi. Laskenta tapahtui stereomikroskoopin avulla. Maljalta tunnistettiin ja laskettiin kaikki tyypilliset imumatojen loisrakenteet (Kuvat 3 & 4). Tulokseksi kirjattiin loisrakenteiden kokonaismäärä sekä erikseen erityyppiset rakenteet. Kaikki erilaiset metacercaria-muodot kerättiin maljalta pipetillä 2 ml muovisiin Eppendorf-putkiin minkä jälkeen putkiin lisättiin 96-% etanolia. Putkeen lisättiin kalan numerokoodi ja tiedot putken sisällöstä. Putket pakastettiin myöhempää sekvensoimalla tehtävää lajintunnustusta varten.



Kuvat 3 & 4. Vasemman puoleisessa kuvassa Lappeenrannasta pyydetystä kalasta löytyneitä normaalikokoisia pyöreitä metacercarioita (mustat nuolet) petrimaljalla stereomikroskoopilla kuvattuna. Oikealla Pietarsaaresta pyydetystä kalasta löytyneitä kahden kokoisia soikeita metacercarioita (valkoiset nuolet).

### 3.3 Sekvensointi

Näytteet pyrittiin tunnistamaan lajitasolle DNA:n PCR-monistuksen ja sekvensoinnin perusteella Ruokaviraston Oulun yksikössä joulukuun 2018 ja huhtikuun 2019 välisenä aikana. Oulun yksikössä on tutkittu vastaavia näytteitä myös aiemmin. Käytössä olevan menetelmän pohjana käytettiin Skovin ym. (2008) ja Sherrard-Smithin ym. (2016) kuvaamia menetelmiä. Lajitunnistuksessa kohteena oli ITS2-geenialue, ja sen monistamiseksi käytettiin OphetF- ja



OphetR-alukkeita (F: 5'-CTCGGCTCGTGTGTCGATGA-3' ja R: 5'-GCATGCARTTCAGCGGGTA-3') (Müller ym. 2007, Näreaho ym. 2017).

Sekvensointia varten yksittäiset metacercariat poimittiin 200 µl PCR-putkeen, minkä jälkeen putkesta haihdutettiin etanoli ja putkeen lisättiin 15 µl lyysipuskuria, jonka tarkoituksena oli hajottaa loisrakenteet. Lyysipuskuri sisälsi 14,15 µl TE-standardia (10 mM Tris (pH 8.0), 1 mM EDTA) sekä 0,45% Tween 20:tä ja 2 µg Proteinase K:ta. Osa metacercarioiden kuorista oli hajonnut säilytyksen aikana, mutta jokaisesta saatiin poimittua toukka ja osia kuoresta lyysiliuosta varten. PCR-putkia inkuboitiin +65 °C:n lämpötilassa kolme tuntia tai kunnes loisrakenteet olivat hajonneet. Hajotukseen käytetyt entsyymit inaktivoitiin lämmittämällä liuosta 95 °C asteessa kymmenen minuuttia.

PCR-reaktiota varten otettiin 4 µl lyysiliuosta PCR-putkeen ja lisättiin 16 µl PCR-seosta, joka sisälsi DyNAzyme-puskuria (Finnzymes, Vantaa, Suomi), 0,25 mM dNTP (Finnzymes), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1U DyNAzyme II DNA Polymerase (Finnzymes) sekä 1 µM kumpaakin primeria (OphetF & OphetR). PCR-ajo suoritettiin XP Cycler-laitteella (Bioer). PCR-ajo aloitettiin viiden minuutin denaturaatiolla 95 °C asteessa. Tämän jälkeen toistettiin 40 kertaa sykliä: denaturaatio 94 °C:ssa 30 s, alukkeiden kiinnittyminen 53 °C:ssa 1 min ja elongaatio 72 °C:ssa 1 min. Denaturaatiovaiheessa DNA-juosteet erkanevat toisistaan, minkä jälkeen lämpötilaa laskettaessa 53 °C:een tapahtuu alukkeiden kiinnittyminen yksisäikeisiin DNA-juosteisiin. DNA-juosteiden monistuminen tapahtuu DNA-polymeraasientsyymin avulla elongaatiovaiheessa 72 °C:ssa. Lopuksi liuoksen lämpötila pidettiin 72 °C asteessa seitsemän minuutin ajan DNA:n stabiloimiseksi.

PCR-ajon jälkeen saatu DNA eroteltiin elektroforeesilla agarosigeelissä (1,5 %). Molekyylipainomarkkereina käytettiin 50 tai 100 bp kokoisia markkereita (DNA Ladder). Geelin kuivauksen jälkeen oikean kokoiset, n. 400 bp kokoiset PCR-tuotteet, leikattiin irti geelistä steriilillä veitsellä ja siirrettiin Eppendorf-putkiin. DNA eristettiin geelistä käyttäen E.Z.N.A. Gel Extraction Kit:ä (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA).

PCR-tuotteet sekvensoitiin Oulun Yliopiston Biocenter-yksikössä. Sekvensointi suoritettiin käyttäen ABI-teknologiaa (Applied Biosystems Co., Waltham, USA). Saadut raakasekvenssit analysoitiin ja muokattiin MEGA 6-ohjelmalla ja lopuksi saatua sekvenssiä verrattiin GenBank-sekvenssitietokannassa oleviin sekvensseihin lajin määrittämiseksi.

#### 4 TULOKSET

Pyydetyt kalat olivat yhtä lahnaa lukuun ottamatta särkiä. Särkien pituus vaihteli välillä 12,3–25,4 cm, pituuden keskiarvo oli 17,5 cm ja mediaani 17,2 cm. Lahnan pituus oli 15,5 cm. Särkien paino vaihteli 17,5–203,2 g välillä, keskiarvo oli 57,0 g ja mediaani 43,7 g. Lahnan paino oli 46,2 g. Silmämääräisesti yhdessäkään kalassa ei havaittu haikaraimumadon aiheuttamia muutoksia eli nk. black spotteja.

Metacercariat jaoteltiin morfologisesti kolmeen eri luokkaan: normaalikokoiset pyöreät, pienet pyöreät ja soikeat (Näreaho ym. 2017). Digestoinnin jälkeen metacercarioita havaittiin 42 %:ssa kaikista tutkituista kalafileistä. Merialueelta pyydetyistä kaloista metacercarioita löytyi 83 %:lta ja sisävesistä 18 %:lta tutkituista kaloista. Taulukossa 1 on kuvattu infektoituneiden kalojen määrät pyyntipaikoittain. Sisävesien osalta kaikki löydökset yhtä lukuun ottamatta (Jämsä) olivat Lappeenrannasta, jossa lähes kaikilta kaloilta löytyi normaalinkokoisia pyöreitä metacercarioita ja kolmesta kalasta lisäksi myös pieniä pyöreitä metacercarioita. Hailuodosta ja Pietarsaaresta pyydetyissä kaloissa suurin osa metacercarioista oli soikeita, kun taas Tammisaaresta ja Lappeenrannasta pyydetyissä kaloissa esiintyi pääasiassa normaalikokoisia pyöreitä metacercarioita. Pieniä pyöreitä metacercarioita esiintyi yksittäisinä muutamissa kaloissa. Yksittäisissä kaloissa metacercarioiden kokonaismäärä vaihteli 0–49 välillä digestoitua filettä kohden. Metacercarioiden määrä painoyksikkö kohden kalassa vaihteli välillä 0–2,9 kpl/g kalaa, keskiarvon ollessa 0,17 kpl/g. Merialueelta pyydetyissä kaloissa metacercarioiden esiintyvyys oli korkeampia: keskiarvo 0,32 kpl/g.

Yhteensä 50 metacercaria-näytettä käsiteltiin ja ajettiin PCR:llä. PCR-ajossa vain yhdessä näytteessä DNA:n monistus onnistui ja metacercarian laji saatiin määritettyä sekvensoimalla *P. truncatumiksi*, samankaltaisuus GenBankista löytyvän vertailusekvenssin (JF710315) suhteen oli 100 %. Tämä näyte oli Tammisaaresta pyydetyistä särjestä löydetty normaalinkokoinen pyöreä metacercaria. Muista näytteistä ei onnistuttu saamaan oikean kokoista PCR-tuotetta sekvensointia ja lajimääritystä varten.

Taulukko 1. Imumatojen metacercarioilla infektointuneiden kalojen lukumäärät pyyntipaikkojen ja loISRakenteiden morfologisen jaottelun mukaan.

	Digestoidut kalat (kpl)	Infektointuneet kalat yhteensä	Normaalikokoiset pyöreät metacercariat	Pienet pyöreät metacercariat	Soikeat metacercariat
Heinola	9	-	-	-	-
Jämsä	10	1	1	-	-
Kuusamo	10	-	-	-	-
Lappeenranta	10	8	8	3	-
Lohja	10	-	-	-	-
Sisävedet yht.	49	9	9	3	-
Hailuoto	10	8	3	-	6
Pietarsaari	9	9	1	2	8
Tammisaari	10	7	6	1	4
Merialueet yht.	29	24	10	3	18

## 5 POHDINTA

Optimaalisissa olosuhteissa maksamadot ovat erittäin tehokkaista lisääntyjiä. Yksi aikuinen maksamato pystyy tuottamaan päivittäin jopa tuhansia munia (Kaewkes 2003, King ja Scholz 2001). Mikäli muna vesiympäristöön päätyessään tulee ensimmäisenä väli-isäntänä toimivan kotilon syömäksi, voi siitä muodostua kotilossa suvuttoman lisääntymisen ansiosta tuhansia cercarioita (Murrell ja Pozio 2015), jotka hakeutuvat edelleen toisena väli-isäntänä toimiviin särkikaloihin. Pääisäntänä toimiva selkärankainen saa tartunnan syömällä raakaa kalaa, jossa on infektiivisiä metacercarioita. Endeemisillä alueilla, missä maksamatoja esiintyy runsaasti pääisännissä, on infektoituneiden kotiloiden osuus kuitenkin tyypillisesti melko pieni, alle 2 % (Kaewkes ym. 2003), mutta infektoituneiden kalojen osuus voi olla jopa yli 90 % (Kaewkes ym. 2003, Yurlova ym. 2017).

Alueilla, joissa Opisthorchiidae-heimon maksamatoja esiintyy runsaasti endeemisenä, on havaittu kotieläinten, erityisesti kissojen, koirien ja sikojen, olevan tärkeitä reservuaareja näille maksamadoille ja ne ovat keskeisessä osassa ylläpitämässä infektiivistä painetta näillä alueilla (Murrell ja Pozio 2017, WHO 1995). Suomessa kotieläimet eivät todennäköisesti muodosta merkittävää reservuaaria maksamadoille, mutta yksittäisillä raakoja särkikaloja syövät koirilla ja kissoilla voi olla riski saada tartunta. Muutenkin kotieläinten aiheuttaman tartuntapaineen voi katsoa Suomessa olevan melko pieni, koska näiden ulosteiden päätyminen sellaisenaan vesistöihin on melko vähäistä. Suomessa todennäköisemmän reservuaarin maksamadoille muodostavat kalaa syövät villieläimet ja linnut. Harmaahylkeistä on Suomessa löydetty *P. truncatumia* Perämereltä aina Suomenlahdelle asti (Hirvelä-Koski ym. 2017). *Metorchis bilistä* on havaittu Suomessa merikotkilla (Krone ym. 2006) ja myös ketuilla on havaittu yksittäisiä *M. bilis* ja *P. truncatum* -infektioita (Evira 2010, Evira 2017a, Evira 2017b). Muualla Euroopassa erityisesti minkkien (Hawkins ym. 2010, Simpson ym. 2005), saukkojen (Hawkins ym. 2010, Hildebrand ym. 2011), kettujen (Saeed ym. 2005, Schuster ym. 1999) ja harmaahylkeiden (Neimanis ym. 2016) on todettu toimivan Opisthorchiidae-heimon maksamatojen pääisäntinä. Näitä kaikkia lajeja esiintyy myös Suomessa, ja saukkoa lukuun ottamatta niiden kannat ovat vahvoja.

Suomen saukkokannan kooksi vuonna 2014 on arvioitu 3000–5000 yksilöä (Ympäristö 2014), saukko on levittäytynyt koko maahan, mutta kanta on vahvimmillaan Järvi-Suomen alueella (Riistakolmiot 2019b). Minkkikanta on Suomessa vahva, viime vuosina metsästyksellä saaliiksi saatujen minkkien määrä on ollut noin 50 000 yksilöä vuodessa (Luke 2019b). Kettu on myös yleinen laji ja sen kannan kooksi on arvioitu 70 000–90 000 yksilöä metsästyskauden jälkeen (Riistakolmiot 2019a), vuotuinen kettusaalis on Suomessa n. 50 000 yksilöä (Luke 2019b). Harmaahylkeitä esiintyy koko Itämeren alueella ja niiden kokonaiskanta on laskentojen perusteella yli 30 000 yksilöä, joista Suomen merialueilla elää n. 10 000 yksilöä (Luke 2019c). Myös Itämeren norppaa (*Pusa hispida botnica*) voisi pitää yhtenä potentiaalisen pääisäntänä maksamadoille, mutta Ruokavirastossa tutkituilla norpilla ei ole Suomessa havaittu maksamatoinfektioita (Isomursu M, henkilökohtainen tiedonanto 3.12.2018).

Kettua lukuun ottamatta näiden lajien normaalina luontainen ravinto muodostuu pääasiassa kaloista, joten niiden infektoituminen maksamadoilla on todennäköistä, mikäli ne syövät runsaasti maksamadon metacercarioita sisältävää kalaa. Ketut syövät harvemmin kalaa, mutta erityisesti talvella ihmisen toimesta järven jäälle jätetyt kalat voivat paikallisesti muodostaa merkittävän ravinnonlähteen ketuille.

Euroopassa on raportoitu merimetsoilla esiintyvän *M. bilis*-infektioita (Sitko ym. 2016). Suomessa merimetsokanta on kasvanut n. 8 %:lla vuosittain 2000-luvulla ja vuonna 2018 merimetsan pesiä arvioitiin olevan n. 26 700 kpl (Ympäristö 2018). Suomessa merimetsojen ravinnosto lähes puolet koostuu särkikaloista (Ympäristö 2018), joten merimetsoja voi pitää potentiaalisena reservuaarina *M. bilikselle* myös Suomessa. Merimetsa saattaisi myös levittää maksamatoja sisävesistöihin, koska merimetsoja on havaittu myös sisämaassa, vaikka kaikki sisämaan pesimisyrietykset ovatkin epäonnistuneet häirinnän takia (Syke 2018).

Merikotkilla on todettu Euroopassa esiintyvän paikoin melko runsaastikin *M. bilis*-infektioita ja niitä on löydetty myös Suomessa 40 %:lta kuolleena löydetyistä tutkituista merikotkista (Krone ym. 2006). Suomen merikotkakannan on arvioitu vuonna 2015 olevan noin 1000 yksilöä ja näistä puolet sijoittuu Ahvenanmaan ja Varsinais-Suomen alueelle (WWF 2016). Kannan pienestä koosta huolimatta merikotkia voinee pitää ainakin paikallisesti merkittävänä

pääisäntään *M. bilikselle* Suomessa, koska merikotkien ravintona ovat myös särkikalat (Sulkava ym. 1997) ja niiden pääasiallinen elinympäristö on vesialueilla, jolloin *M. biliksen* munien kierto ulosteen mukana väli-isäntiin mahdollistuu.

Hawkins ym. (2010) pitää Irlannissa minkkejä potentiaalisena indikaattorilajina *P. truncatum* osalta, koska ne käyttävät ravintonaan paljon kalaa ja ovat levittäytyneet tehokkaasti eivätkä ole suojeltuja. Suomessakin minkkejä voisi käyttää maksamatojen levinneisyyden kartoittamiseen niiden laajan levinneisyyden ja melko runsaan esiintyvyyden takia. Saukkoja esiintyy Suomessa pääasiassa keskisessä Suomessa ja niiden määrä on varsin pieni, mikä rajoittaa niiden käyttämistä maksamatojen levinneisyys kartoittamisessa ja käyttämistä indikaattorilajina. Schuster ym. (1999) käytti kettuja kartoittaessaan maksamatojen esiintyvyyttä Saksassa Brandenburgin alueella, koska niitä oli helposti saatavilla tutkimuksia varten ja ne liikkuvat kohtuullisen suppealla alueella, jolloin ne kuvaavat paikallista tilannetta paremmin. Hän ei kuitenkaan pitänyt niitä optimaalisena indikaattorilajina, koska kalat eivät ole kettujen ensisijaista ruokaa.

Ihminen voi saada maksamatoinfektion syömällä raakaa tai huonosti kypsennettyä kalaa, jossa on maksamadon metacercarioita. Maksamatoinfektion diagnosoimiseen ihmisillä käytetään ulostenäytettä, josta etsitään munia. Lisäksi on käytössä myös serologisia testejä (Rim 2005). Ultraäänitutkimuksella ja tietokonetomografialla voidaan etsiä tyypillisiä muutoksia maksasta ja sappiteistä (Hong ja Fang 2012), kolangiografialla voidaan mahdollisesti havaita aikuisia maksamatoja sappiteissä (Rim 2005). Ihmisillä maksamatoinfektiota hoidetaan ensisijaisesti pratsikvantelilla käyttäen annosta 25 mg/kg kolme kertaa vuorokauden aikana (Rim 2005). Uutena lääkkeenä on mahdollisesti tulossa tribendimidiini, jolla on todettu tehoa sekä in vitro että in vivo (Hong ja Fang 2012). Maksamatoja vastaan on yritetty kehittää myös rokotteita, mutta niiden teho on ollut melko heikko (Hong ja Fang 2012).

Koirien ja kissojen osalta on vain vähän tutkimuksia lääkityksestä maksamatoinfektioiden osalta. Kissoilla on käytetty useita eri hoitoprotokolia: 20 mg/kg kolmena päivänä tai 25 mg/kg kolme kertaa vuorokauden aikana tai yksi annos 50-100 mg/kg (Schuster ym. 2007). Schuster ym. (2007) antoi koirille, joilla oli todettu maksamatojen vasta-aineita ja osalla myös munia

ulosteessa, pratsikvantelia kolmella eri protokolalla: kerta annos 20 mg/kg, kerta-annos 50 mg/kg ja 20 mg/kg kahdella annostelukerralla vuorokauden välein. Kaikilla näillä todettiin kymmenen viikon kuluttua vasta-aine tasojen laskeneen ja maksamatojen munia ei enää havaittu ulosteessa (Schuster ym. 2007).

Suomessa kulutettiin vuonna 2017 13,9 kg kalaa henkilöä kohden, tästä viljellyn ja pyydetyn kotimaisen kalan osuus oli yhteensä 4,1 kg/hlö/v (Luke 2019a) laskettuna fileepainoina. Maksamatojen väli-isäntänä toimivia särkikaloja syödään vuosittain keskimäärin 170 g/hlö (Luke 2019b). Viimevuosina kotimaisen kalan käytön puolesta on markkinoitu ja uusia tuotteita on tullut markkinoille. Ruokakulttuurissa on tapahtunut viime vuosina muutoksia, kun mm. sushin ja muiden raakana syötävien kalatuotteiden suosio on kasvanut. Myös raakana syötävien suolalla tai alkoholilla graavattujen särkikalojen käyttöä on mahdollisesti lisääntymässä median kotimaiseen kalan käyttöä kohtaan osoittaman mielenkiinnon lisääntyessä. Tietyillä alueilla Suomessa syödään perinteisesti suolasärkeä, joka on raakana säilötty korkeassa suolapitoisuudessa. Nämä raakana syötävät tuotteet muodostavat suurimman riskin ihmisille maksamatojen kannalta, koska metacercarioiden on todettu kestävän melko hyvin korkeaa suolapitoisuutta (Fan 1998). Maksamatojen metacercariat kestävät ainakin jossain määrin myös kuivausta (Pakharukova ja Mordvinov 2016), mutta kuivatuissa tuotteissa tartuntariski on todennäköisesti pienempi. EU-lainsäädäntö (EPNa 853/2004) edellyttää tiettyjä poikkeuksia lukuun ottamatta raakana syötävien kalatuotteiden kylmäkäsitelyä -20 °C:ssa 24 tunnin ajan tai -35 °C:ssa 15 tunnin ajan, mutta tämä säädös ei koske kalassa olevia trematodeja (EPNa 853/2004). Koska trematodien metacercarioiden on osoitettu säilyvän infektiivisinä vielä yli seitsemän vuorokauden pakastuksen jälkeen -20 °C:ssa ja 20 tunnin jälkeen -28 °C:ssa, voidaan katsoa vuorokauden pakastuksen -20 °C:ssa olevan riittämätön tuhoamaan kaikki kalassa olevat metacercariat. Raakana, suolattuna tai marinoituna syötäviä tuotteita valmistettaessa olisikin suositeltavaa käyttää pakastettua särkikalaa, jota on pidetty -18 °C:ssa yli seitsemän vuorokauden ajan, mikä sekin voi olla riittämätön aika. Evira suositteli vuonna 2017 raakana syötäville särkikaloille vähintään seitsemän vuorokauden pakastusta (Evira 2017b). EFSA:n (2010) raportin mukaan minuutin kuumennus 65 °C:ssa riittää tuhoamaan *Anisakis*-sukkulamadot kalasta, mutta trematodien metacercarioiden kestävät jopa 30 minuuttia 70 °C:ssa kuumentamista ja viisi tuntia 50 °C:ssa



(EFSA 2010). Mas-Coma ja Bargues raportoivat *C. sinensis* metacercarioiden kuolevan jo kolmen minuutin kuumennuksella 65 °C:ssa. Minuutin kuumennusta 65 °C:ssa voitaneekin pitää riittämättömänä maksamatojen metacercarioiden tuhoamiseksi, mutta kolme minuuttia voisi olla riittävä. Sekä kylmäkäsittelyiden että kuumennusaikojen osalta tarvittaisiin kuitenkin lisää tutkimuksia, jotta yksiselitteisiä suosituksia voitaisiin antaa.

PCR-ajojen epäonnistumisen osalta on epätodennäköistä, että näytteiden DNA olisi vaurioitunut näytteitä käsiteltäessä. Niitä ei säilytetty pitkiä aikoja päivänvalossa, jolloin auringon UV-säteily olisi voinut vaurioittaa DNA:ta, vaan metacercariat säilöttiin 96-% etanoliin ja ne säilytettiin pakastimessa. PCR-ajoissa positiivinen kontrolli toimi, joten PCR-olosuhteet olivat toimivat. Ensimmäisessä ajossa positiivisena kontrollina käytettiin aiemmin sekvensoimalla varmistettua näytettä, joka monistui normaalisti PCR-ajossa. PCR:n epäonnistuminen voi johtua siitä, että näytteissä ei ollut alukkeita vastaavaa DNA:ta. Näytteet saattoivat olla lajia, jonka DNA ei vastaa alukkeita, jolloin alukkeet eivät kiinnity DNA:han. Ongelmana voi olla myös se, että alukkeita vastaava ITS2-geenialue ei välttämättä ole riittävän konservatiivinen tunnettujen lajien osalta. Mikäli tällä ITS2-geenialueella on lajin sisällä vaihtelua alukkeiden kiinnittymiskohdassa, eivät alukkeet kiinnity kaikissa tapauksissa oikein, jolloin PCR-ajo epäonnistuu. Müller ym. (2007) tosin havaitsivat tutkimuksissaan, että Opisthorchiidae-heimon maksamadoilla ITS2-geenialue on hyvin homologinen.

Yllättävää tuloksissa oli, että sekvensoimalla *P. truncatumiksi* tunnistettu näyte oli morfologisesti normaalikokoinen pyöreä metacercaria. Aiemman Suomessa tehdyn kartoituksen perusteella *P. truncatum* metacercariat olivat muodoltaan soikeita (Näreaho A, henkilökohtainen tiedonanto 12.6.2017). Tämän perusteella näyttäisi, että *P. truncatum* metacercarioissa olisi morfologista vaihtelua. Tosin morfologinen lajimääritys metacercarioiden perusteella on vaikeaa (Skov ym. 2008).

## 6 LÄHTEET

Athokpam VD, Tandon V. Morphological and molecular characterization of *Posthodiplostomum* sp. (Digenea: Diplostomidae) metacercaria in the muscles of snakeheads (*Channa punctata*) from Manipur, India. *Helminthologia* 2014, 51:141-152.

Bray RA, Littlewood DTJ. Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor & Francis, Lontoo, Iso-Britannia, 2001.

Chai J-Y, Murrell KD, Lymbery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. *Int J Parasitol* 2005, 35:1233-1254.6

Cho SY, Lee SH, Rim HJ, Seo BS. An evaluation of cellophane thick smear technique for mass stool examination. *Korean J Parasitol* 1969, 1:48-52.

Dorny P, Praet N, Deckers N, Gabriel S. Emerging food-borne parasites. *Vet Parasitol* 2009, 163:196-206.

EFSA 2010. Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1543>, haettu 11.4.2019.

EPNa 853/2004. Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 853/2004 eläinperäisiä elintarvikkeita koskevista erityisistä hygieniasäännöistä. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?qid=1513680070979&uri=CELEX:02004R0853-20171121>, haettu 13.4.2019.

Eriksson-Kallio AM. Kalatautikatsaus vuodelle 2016. Kalaterveyspäivä. Turku 2017. <https://www.kalankasvatus.fi/wp-content/uploads/2018/01/Kalatautikatsaus-vuodelle-2016-Eriksson-Kallio.pdf>.

Evira 2010. Eviran julkaisuja 1/2010 Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaarat. [https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/julkaisut/julkaisusarjat/julkaisuja/elintarvikkeiden\\_mikrobiologiset\\_vaarat.pdf](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/julkaisut/julkaisusarjat/julkaisuja/elintarvikkeiden_mikrobiologiset_vaarat.pdf), haettu 1.3.2019.

Evira 2017a. Eviran julkaisuja 2/2017 Eläintaudit Suomessa 2016. <https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa->

[meista/julkaisut/julkaisusarjat/julkaisuja/elaimet/ eviran\\_julkaisuja\\_2\\_2017.pdf](#), haettu 1.3.2019.

Evira 2017b. Ihmiseen tarttuvia maksamatoja Suomenlahden särjissä. <http://aineisto.ruokavirasto.fi/evira20181231/www/tietoa-evirasta/ajankohtaista/2017/ihmiseen-tarttuvia-maksamatoja-suomenlahden-sarjissa/index.html>, haettu 28.4.2019, päivitetty 4.4.2017.

Fan PC. Viability of metacercariae of *Clonorchis sinensis* in frozen or salted freshwater fish. Int J Parasitol 1998, 28:603-605.

FAO 2014. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. <http://www.fao.org/3/a-i3649e.pdf>, haettu 11.4.2019.

Fedorov KP, Naumov VA, Kuznetsova VG, Belov GF. Some real problems of human opisthorchiasis. Med Parazitol (Mosk) 2002 3:7-9. [artikkeli venäjäksi]

Harnnoi T, Wijit A, Morakote N, Pipitgool V, Maleewong W. Specific gravity of *Opisthorchis viverrini* eggs. J Helminthology 1998, 2:359-36.

Hawkins CJ, Caffrey JM, Stuart P, Lawton C. Biliary parasite *Pseudamphistomum truncatum* (Opisthorchiidae) in American mink (*Mustela vison*) and Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Ireland. Parasitol Res 2010, 107:993-997.

Hildebrand J, Popiolek M, Zalesny G, Pirog A. record of *Pseudamphistomum truncatum* (Rudolphi, 1819) (Digenea, Opisthorchiidae) in the Eurasian otter (*Lutra lutra*) from Poland. Wiadomosci Parazytologiczne 2011, 57:151-154.

Hirvelä-Koski, V., Nylund, M., Skrzypczak, T., Heikkinen, P., Kauhala, K., Jay, M., Isomursu, M. Isolation of *Brucella pinnipedalis* from grey seals (*Halichoerus grypus*) in the Baltic Sea. J Wildlife Dis 2017, 53: 850-853.

Hong S-T, Fang Y. *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis, an update. Parasitol Int 2012, 61:17-24.

Hong S-T, Choi M-H, Kim C-H, Chung B-S, Ji Z. The Kato-Katz method is reliable for diagnosis of *Clonorchis sinensis* infection. Diagn Micr Infec Dis 2003, 47:345-347.

Hung NM, Madsen H, Fried B. Global status of fish-borne zoonotic trematodiasis in humans. Acta Parasitol 2013, 58:231-258.

IARC 2012. Biological Agents. <https://monographs.iarc.fr/iarc-monographs-on-the-evaluation-of-carcinogenic-risks-to-humans-20/>, haettu 2.4.2019.

Kaewkes S. Taxonomy and biology of liver flukes. *Acta Trop* 2003, 88:177-186.

Khamidullin RI, Fomina OA, Sultanaeva EG, Khamidullin IR. Opisthorchiasis and pseudamphistomiasis on the territory of the middle Volga valley. *Med Parasitol* 1995. 1:40-2. [artikkeli venäjäksi]

Karpenko SV, Chechulin AI, Yurlova NI, Serbina EA, Vodyanitskaya SN, Krivopalov AV, Fedorov KP. Characteristics of Opisthorchiasis foci in Southern West Siberia. *Contemp Probl Ecol* 2008, 1: 517–521. [artikkeli venäjäksi]

Keiser J, Ullzinger J. Emerging foodborne trematodiasis. *Emerg Infect Dis* 2005, 11:1507-1514.

King S, Scholz T. Trematodes of the family Opisthorchiidae: a minireview. *Korean J Parasitol* 2001, 39:209-221.

Kiyan VS, Bulashev AK, Katokhin AV. *Opisthorchis felineus* and *Metorchis bilis* metacercariae in cyprinid fish *Leuciscus idus* in Nura-Sarysu river, Kazakhstan. *Korean J Parasitol* 2018, 56:267-274.

Komorova P, Sitko J, Spakulova M, Hurnikova Z. Intestinal and liver flukes of birds of prey (*Accipitriformes*, *Falconiformes*, *Strigiformes*) from Slovakia: uniform or diverse compound? *Parasitol Res* 2016, 115:2837-2844.

Krone O, Stjernberg T, Kenntner N, Tararuch F, Koivusaari J, Nuuja I. Mortality factors, helminth burden, contaminant residues in white-tailed sea eagles (*Haliaeetus albicilla*) from Finland. *Ambio* 2006, 35:98-104.

Kuznetsova VG, Naumov VA, Belov GF. Methorchiasis in the residents of Novosibirsk area, Russia. *Cytobios* 2000, 339:33-34.

Køie M. Metazoan parasites of flounder *Platichthys flesus* (L.) along a transect from the southwestern to the northeastern Baltic Sea. *ICES J Mar Sci* 1999, 56:157-163.

Lai D-H, Hong X-K, Su B-X, Liang C, Hide G, Zhang X, Yu X, Lun Z-R. Current status of *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis in China. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2016, 110:21-27.

Lim JH, Mairiang E, Ahn GH. Biliary parasitic diseases including clonorchiasis, opisthorchiasis and fascioliasis. *Abdom Imaging* 2008, 33:157-165.

Luke 2019a. Kalan kulutus 2017. [https://stat.luke.fi/kalan-kulutus-2017\\_fi](https://stat.luke.fi/kalan-kulutus-2017_fi), haettu 7.4.2019.

Luke 2019b. Tilastotietokanta, kotimaisen kalankulutus.

[http://statdb.luke.fi/PXWeb/pxweb/fi/LUKE/LUKE\\_06%20Kala%20ja%20riista\\_06%20Muu\\_t\\_02%20Kalan%20kulutus/4\\_Kotimaisen\\_kalankulutus.px/table/tableViewLayout1/?rxid=001bc7da-70f4-47c4-a6c2-c9100d8b50db](http://statdb.luke.fi/PXWeb/pxweb/fi/LUKE/LUKE_06%20Kala%20ja%20riista_06%20Muu_t_02%20Kalan%20kulutus/4_Kotimaisen_kalankulutus.px/table/tableViewLayout1/?rxid=001bc7da-70f4-47c4-a6c2-c9100d8b50db), haettu 6.4.2019.

Luke 2019c. Hylkeet. <https://www.luke.fi/tietoa-luonnonvaroista/riista/hylkeet/>, haettu 7.4.2019.

Luke 2019d. Kalalajitieto. <http://kalahavainnot.fi/kalalajitieto/index>, haettu 29.4.2019.

Luke 2019e. Tilastotietokanta, kokonaiskalasaalis.

[http://statdb.luke.fi/PXWeb/pxweb/fi/LUKE/LUKE\\_06%20Kala%20ja%20riista\\_02%20Rakenn%20ja%20tuotanto\\_08%20Kalastus%20yhteensa/03\\_Kokonaiskalansaalis.px/table/tableViewLayout1/?rxid=2fe6a0ca-aa76-4da0-8989-edc0d338d835](http://statdb.luke.fi/PXWeb/pxweb/fi/LUKE/LUKE_06%20Kala%20ja%20riista_02%20Rakenn%20ja%20tuotanto_08%20Kalastus%20yhteensa/03_Kokonaiskalansaalis.px/table/tableViewLayout1/?rxid=2fe6a0ca-aa76-4da0-8989-edc0d338d835), haettu 29.4.2019.

Lun Z-R, Gasser RB, Lai D-H, Li A-X, Zhu X-Q, Yu X-B, Fang Y-Y. Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China. *Lancet Infect Dis* 2005, 5:31-41.

Mas-Coma S, Bargues MD. Human liver flukes: a review. *Research and Reviews in Parasitology* 1997, 57: 145-218.

Mordvinov VA, Yurlova NI, Ogorodova LM, Katokhin AV. *Opisthorchis felineus* and *Metorchis bilis* are the main agents of liver fluke infection of humans in Russia. *Parasitol Int* 2012, 61:25-31.

Müller B, Schmidt J, Mehlhorn H. PCR diagnosis of infections with different species of Opisthorchiidae using a rapid clean-up procedure for stool samples and specific primers. *Parasitol Res* 2007, 100:905-909.

Murrell KD, Pozio E. The liver flukes: *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis* spp, and *Metorchis* spp. Global water pathogen project, Part three, Specific excreted pathogens: environmental and epidemiology aspects 2017.

Neimanis AS, Moraesus C, Bergman A, Bignert A, Höglun J, Lundström K, Strömberg A, Bäcklin B-M. Emergence of the zoonotic biliary trematode *Pseudamphistomum truncatum* in grey seals (*Halichoerus grypus*) in the Baltic sea. PLoS ONE 2016, 11: e0164782.

Näreaho A, Eriksson-Kallio AM, Heikkinen P, Snellman A, Sukura A. High prevalence of zoonotic trematodes in roach (*Rutilus rutilus*) in Gulf of Finland. Acta Vet Scand 2017, 59:75.

Olson PD, Cribb TH, Tkach VV, Bray RA, Littlewood DTJ. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). Int J Parasitol 2003, 33:733-755.

Ondrackova M, Jurajda P, Gelnar M. The distribution of *Posthodiplostomum cuticola* metacercariae in young-of-the-year cyprinid fishes. J Fish Biol 2002, 60:1355-1357.

Ondrackova M, Simkova A, Gelnar M, Jurajda P. *Posthodiplostomum cuticola* (Digenea: Diplostomatidae) in intermediate fish hosts: factors contributing to the parasite infection and prey selection by the definitive bird host. Parasitol 2004, 129:761-770.

Ondraekova M, Bartosova S, Valova Z, Jurajda P, Gelnar M. Occurrence of black-spot disease caused by metacercariae of *Posthodiplostomum cuticola* among juvenile fishes in water reservoirs in the Morava River basin. Acta Parasitol 2004, 49.

Pakharukova MY, Mordvinov VA. The liver fluke *Opisthorchis felineus*: biology, epidemiology and carcinogenic potential. Trans R Soc Trop Med Hyg 2016, 110:28-36.

Petney TN, Andrews RH, Saijuntha W, Wenz-Mücke A, Sithithaworn P. The zoonotic, fish-borne liver flukes *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felineus* and *Opisthorchis viverrini*. Int J Parasitol 2013, 43:1031-1046.

Pozio E, Armignacco O, Ferri F, Morales MAG. *Opisthorchis felineus*, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union. Acta Trop 2013, 126:54-62.

Qian M-B, Yap P, Yang Y-C, Liang H, Jiang Z-H, Li W, Utzinger J, Zhou X-N, Keiser J. Accuracy of the Kato-Katz method and formalin-ether concentration technique for the diagnosis of *Clonorchis sinensis*, and implication for assessing drug efficacy. Parasite Vector 2013, 6:314.

Qian M-B, Utzinger J, Keiser J, Zhou X-N. Clonorchiasis. Lancet 2016, 387:800-810.

Riistakolmiot 2019a. Kettu. <https://www.riistakolmiot.fi/animal/kettu-vulpes-vulpes/>, haettu 7.4.2019.

Riistakolmiot 2019b. Saukko. <https://www.riistakolmiot.fi/animal/saukko-lutra-lutra/>, haettu 7.4.2019.

Rim H-J. Clonorchiasis in Korea. Korean J Parasitol 1990, 28:63-78.

Rim H-J. Clonorchiasis: an update. J Helminthol 2005, 79:269-281.

Ritossa L, Flores V, Viozzi G. Life-cycle stages of a *Posthodiplostomum* species (Digenea: Diplostomidae) from Patagonia, Argentina. J Parasitol 2013, 99:777-780.

RKTL 2013. RKTL:n työraportteja 28/2013, Vähäarvoisen kalamateriaalin jalostus lisäarvotuotteiksi – liiketoimintanäkymät. [http://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/519969/rktrltr2013\\_28.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/519969/rktrltr2013_28.pdf?sequence=1&isAllowed=y), haettu 30.4.2019.

Saeed I, Maddox-Hyttel C, Monrad J, Kapel CMO. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. Vet Parasitol 2005, 139:168-179.

Schuster R, Bonin J, Staubach C, Heindrich R. Liver fluke (Opisthorchiidae) finding in red foxes (*Vulpe vulpes*) in the eastern part of the Federal State Brandenburg, Germany – a contribution to the epidemiology of opisthorchiidosis. Parasitol Res 1999, 85:142-146.

Schuster RK, Heindrich J, Pauly A, Nöckler K. Liver flukes in dog and treatment with praziquantel. Vet Parasitol 2007, 150:362-365.

Sherrard-Smith E, Cable J, Chadwick EA. Distribution of Eurasian otter biliary parasites, *Pseudamphistomum truncatum* and *Metorchis albidus* (Family Opisthorchiidae), in England and Wales. Parasitology 2009, 136:1015-1022.

Sherrard-Smith E, Perkins SE, Cable CJ. Spatial and seasonal factors are key determinants in the aggregation of helminths in their definitive hosts: *Pseudamphistomum truncatum* in otter (*Lutra lutra*). Int J Parasitol 2015, 45:75-83.

Sherrard-Smith E, Stanton DWG, Cable J, Orozco-terWengel P, Simpson VR, Elmeros M, van Dijk J, Simonnet F, Roos A, Lemarchand C, Polednik L, Heneberg P, Chadwick EA. Distribution and molecular phylogeny of biliary trematodes (Opisthochiidae) infecting native *Lutra lutra* and alien *Neovison vison* across Europe. Parasitol Int 2016, 65:163-170.

Shimalov VV, Shimalov VT, Shimalov AV. Helminth fauna of otter (*Lutra lutra*, Linnaeus, 1758) in Belarussian Polesie. Parasitol Rec 2000, 86:528.

Simpson VR, Gibbons LM, Khalil LF, Williams JLR. Cholecystitis in otters (*Lutra lutra*) and mink (*Mustela vison*) caused by the fluke *Pseudamphistomum truncatum*. Vet Rec 2005, 157:49-52.

Simpson VR, Tomlinson AJ, Molenaar FM. Prevalence, distribution and pathological significance of the bile fluke *Pseudamphistomum truncatum* in Eurasian otters (*Lutra lutra*) in Great Britain. Vet Rec 2009, 164:397-401.

Sithithaworn P, Pipitgool V, Srisawangwong T, Elkins DB, Haswell-Elkins MR. Seasonal variation of *Opisthorchis viverrini* infection in cyprinoid fish in north-east Thailand: implications for parasite control and food safety. Bulletin of the World Health Organization 1997, 75: 125-131.

Sithithaworn P, Andrews RH, Van De N, Wongsaroj T, Sinuon M, Odermatt P, Nawa Y, Liang S, Brindley PJ, Sripa B. The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin. Parasitol Int 2012, 61\_10-16.

Sitko J, Sherrard-Smith E, Stanton DWG, Komorova P, Heneberg P. Integrative taxonomy of European parasitic flatworms of the genus *Metorchis* Loos, 1899 (Trematoda: Opisthorchiidae). Parasitol Int 2016, 65:258-267.

Skov J, Kania PW, Jørgensen TR, Buchmann K. Molecular and morphometric study of metacercariae and adults of *Pseudamphistomum truncatum* (Opisthorchiidae) from roach (*Rutilus rutilus*) and American mink (*Mustela vison*). Vet Parasitol 2008, 155:209-216.

Sulkava S, Tornberg R, Koivusaari J. Diet of the White-tailed Eagle *Haliaeetus albicilla* in Finland. Ornis Fennica 1997, 74:65-78.

Suomen Lajitietokeskus 2019. Lajihaku.

<https://laji.fi/taxon/list?informalGroupFilters=MVL.27&target=MX.53144&typesOfOccurrenceFilters=MX.typeOfOccurrenceOccurs&typesOfOccurrenceFilters=MX.typeOfOccurrenceStablePopulation&typesOfOccurrenceFilters=MX.typeOfOccurrenceOccasional&typesOfOccurrenceFilters=MX.typeOfOccurrenceCommon&typesOfOccurrenceFilters=MX.typeOfOccurrenceRare&typesOfOccurrenceFilters=MX.typeOfOccurrenceVeryRare>, haettu 29.4.2019.

Syke 2018. Merimetsokannassa enää vain lievää kasvua. [https://www.syke.fi/fi-FI/Ajankohtaista/Merimetsokannassa\\_ena\\_vain\\_lievaa\\_kasvu\(47529\)](https://www.syke.fi/fi-FI/Ajankohtaista/Merimetsokannassa_ena_vain_lievaa_kasvu(47529)), haettu 7.4.2019.



Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary Parasitology. 3. p. Blackwell Publishing, Oxford, Iso-Britannia 2007.

Voronin VN, Belova LM, Kudriavceva TM, Krotov VI, Portnova EI, Baeva EV. Infestation of cyprinide fishes with metacercariae *Pseudamphistomum truncatum* (Rudolphi, 1819) in the Gulf of Vyborg, Leningrad region. Veterinaria 2017, 3:38-42. [artikkeli venäjäksi]

WWF 2016, WWF Raportti 2016, Merikotkien puolesta. <https://wwf.fi/mediabank/9316.pdf>, haettu 7.4.2019.

WHO 1995. Control of foodborne trematode infections. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41544>, haettu 11.4.2019.

Ympäristö 2014. Saukko. <https://www.ymparisto.fi/download/noname/%7B4AEC4052-A312-4374-A098-EC977E17A39A%7D/38079>, haettu 7.4.2019

Ympäristö 2018. Merimetsoseuranta. [https://www.ymparisto.fi/fi-FI/Luonto/Lajit/Lajien\\_seuranta/Merimetsoseuranta](https://www.ymparisto.fi/fi-FI/Luonto/Lajit/Lajien_seuranta/Merimetsoseuranta), haettu 7.4.2019

Yossepowitch O, Gotesman T, Assous M, Marva E, Zimlichman R, Dan M. Opisthorchiasis from imported raw fish. Emerg Infect Dis 2004, 12:2122-2126.

Yurlova N, Yadrenkina EN, Rastyazhenko NM, Serbina EA, Glupov VV. Opisthorchiasis in West Siberia: Epidemiology and distribution in human, fish, snail, and animal populations. Parasitol Int 2017, 66:355-364.