

Toksoplasman esiintyvyys suomalaisissa kissoissa

Elina Rantanen

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma 2010

Eläinlääketieteellinen patologia ja parasitologia

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

Sisällysluettelo

I Kirjallisuuskatsaus	1
Johdanto	1
1 <i>Toxoplasma gondii</i> - elämäntieteen pääpiirteet	2
2 <i>Toxoplasma gondii</i> kissalla	5
2.1 Elämäntieteen vaiheet kissassa	5
2.2 Kliininen toksoplasmoosi kissalla.....	6
2.3 Toksoplasmaparasitiitin ja immunitetin muodostuminen kissalla ..	8
2.4 Toksoplasman diagnostiikka kissalla	10
2.5 Kissan toksoplasmoosin hoito	11
3 <i>Toxoplasma gondii</i> ympäristössä.....	12
4 <i>Toxoplasma gondii</i> ihmisellä.....	14
4.1 Epidemiologia	14
4.2 Kliininen toksoplasmoosi ihmisellä	15
4.3 Ihmisen toksoplasmoosin hoito	17
5 Keinoja ehkäistä toksoplasmatartuntoja.....	17
5.1 Rokotteet.....	18
5.2 Muita ennaltaehkäiseviä keinoja.....	19
6 Kissojen toksoplasmatartunnat maailmalla	21
6.1 Seroprevalenssin määrittäminen	21
6.2 Ookystien erityis ja sen havaitsemiseen käytetyt menetelmät.....	22
II Tutkimusosa	24
Johdanto	24
1 Aineisto ja menetelmät.....	25
1.1 Serologia.....	25
1.2 Ulostetutkimus	28
2 Tulokset.....	29
2.1 Serologisen tutkimuksen tulokset	29
2.2 Ulostetutkimuksen tulokset	32
3 Pohdinta.....	33
Kiitokset	37
Kirjallisuusluettelo	38

I Kirjallisuuskatsaus

Johdanto

Toxoplasma gondii on yksisoluinen kokkideihin kuuluva alkueläin (Dubey ym. 2009b). Muita toksoplasman kaltaisia lihansyöjien kokkideja ovat esim. *Neospora*-, *Isospora*-, *Sarcocystis*-, *Cryptosporidium*-, *Hammondia*- ja *Besnoitia*-sukuiset loiset (Dubey ym. 2009b). *Toxoplasma gondii* on obligatorinen solunsisäinen parasiitti (Montoya & Liesenfeld 2004). Sen pääisäntänä ovat kissaeläimet (*Felidae*), ja väli-isäntiä voivat olla mitkä tahansa nisäkkäät sekä linnut. Myös ihminen voi olla loisen väli-isäntä (Taylor ym. 2007). *Toxoplasma gondii* -loisella on useita tapoja infektoida eri isäntälajejaan. Loinen siirtyy väli-isäntiinsä tyypillisimmin ravinnon mukana tai vertikaalisesti istukan kautta synnynnäisessä tartunnassa ja pääisäntiinsä kissaeläimiin tavallisimmin infektoituneista väli-isännistä lihansyönnin välityksellä (Dubey ym. 2009b).

Toksoplasmoosia esiintyy kaikkialla maailmassa, ja kolmasosa maailman ihmisistä on saanut infektion (Montoya & Liesenfeld 2004). Toksoplasmoosi onkin yksi yleisimmistä ihmisen parasiittisairauksista (Hill & Dubey 2002). Ihmisillä toksoplasmoosin vaarallisuus liittyy ennen kaikkea synnynnäisen toksoplasmoosin sikiölle tai vastasyntyneelle mahdollisesti aiheuttamiin vaurioihin. Toksoplasmainfektio on krooninen, ja okulaarinen toksoplasmoosi ja kudoskystat saattavat aiheuttaa sairastuneille ongelmia myöhemmässä elämässä (Kijlstra & Jongert 2008). Toksoplasmoosin aiheuttamien terveysongelmien hoitokustannukset ovat suuret (Hill & Dubey 2002). Ihmisille mahdollisia toksoplasmatartunnan lähteitä ovat etenkin huonosti kypsennetty sian, lampaan, vuohen ja vapaasti kasvatetun siipikarjan liha (Tenter ym. 2000).

Zoonoottisen luonteensa lisäksi *Toxoplasma gondii* aiheuttaa ongelmia myös tuotantoeläimille: esimerkiksi synnynnäisen toksoplasmoosin aikaansaamista aborteista lampailla voi aiheutua suuria taloudellisia tappioita (Dubey & Beattie 1988). Toksoplasmatartuntoja niin ihmisillä, tuotantoeläimillä kuin lemmikeilläkin on mahdollista ehkäistä. Hyvä hygienia etenkin ruuanvalmistuksen yhteydessä sekä lihan kunnollinen kypsentyminen ovat keinoja, joilla jokainen voi itse vähentää infektoriskiä.

Tuotantoeläimille ja kissoille pyritään löytämään toimivia rokotteita tartuntojen estämiseksi ja infektion rajoittamiseksi. Toksoplasman torjunnassa on oleellista tuntealoisen tartuntareitit etenkin sen pääisännän kissan osalta, koska vain kissa erittää ympäristöönsä infektiivisiä ookystia. Keinot joilla voidaan ehkäistä kissojen toksoplasmatartuntoja ovatkin erittäin keskeisiä toksoplasman torjunnassa.

1 *Toxoplasma gondii* - elämänsiirron pääpiirteet

Toxoplasma gondii -loisen elämänsiirtoon kuuluu sekä suvullinen että suvuton lisääntymisvaihe. Suvullinen lisääntyminen tapahtuu vain pääisännässä eli kissassa (Dubey ym. 2009b). Suvullisen lisääntymisen seurauksena muodostuu erittäin kestäviä, kooltaan 10 x 12 µm:n kokoisia ookystia, joita kissa erittää ulosteeseensa 7-21 vuorokauden ajan (Dubey & Beattie 1988, Montoya & Liesenfeld 2004). Suotuisissa ympäristöolosuhteissa - lämpimässä (noin 20 °C) ja kosteassa - ookystat sporuloituvat ja muuttuvat infektiivisiksi (Dubey ym. 1998, Dubey ym. 2009b). Ookystassa olevaa infektiivistä loisen kehitysastetta kutsutaan sporotsoiitiksi (Dubey ym. 1998).

Väli-isäntään tai toiseen pääisäntään päätyessään sporotsoiitit ekskystoituvat isäntäeläimen ohutsuolen lumenissa ja tunkeutuvat suolen soluihin sekä lamina propriaan (Dubey ym. 2009b). Isännässä olevaa loisen kehitysastetta kutsutaan nyt takytsoiitiksi. Takytsoiitit ovat 2 x 6 µm:n kokoisia (Dubey ym. 1998). Ne voivat tunkeutua lähes mihin tahansa isännän kudokseen (Gagne 2001). Takytsoiitit siirtyvät aktiivisesti (Dubey ym. 1998) isännän soluihin ja muodostavat solulimaan vakuoleja, joiden sisällä ne välttyvät tuhoutumiselta ja lisääntyvät edelleen (Gagne 2001, Montoya & Liesenfeld 2004). Isäntäeläimen solut, esimerkiksi makrofagit, saattavat myös fagosytoida takytsoiitteja (Dubey ym. 1998). Takytsoiitit lisääntyvät suvuttomasti endodyogeenisesti: parasiittisolun muodostuu kaksi tytärsolua, jotka käyttävät emosolua ravinnokseen ennen kuin lopullisesti irtautuvat omiksi soluikseen (Dubey ym. 1998). Usein endodyogeeninen lisääntyminen tapahtuu epäsynkronoidusti, jolloin lisääntyvät takytsoiittiryppäät ovat hajallaan; joskus taas synkronoidusti, jolloin takytsoiittien lisääntymisen erottaa mikroskoopilla ruusukekuvion mallisena näkymänä (Dubey ym. 1998). Takytsoiittien lisääntyminen johtaa lopulta isäntäsolun hajoamiseen,

jolloin takytsoiitit pääsevät verenkiertoon (Dubey ym. 1998, Montoya & Liesenfeld 2004). Tämä aiheuttaa isäntäeläimessä parasitemian (Gagne 2001).

Primääri-infektio johtaa useimmilla isäntäeläimillä sekä synnyntäisen että adaptiivisen immuunivasteen aktivoitumiseen, mikä rajoittaa infektiota isännässä ja saa aikaan elinikäisen immuniteetin kehittymisen (Gagne 2001, Innes ym. 2009). Primääri-infektiossa isäntäeläimen T-soluvälitteinen immuniteetti aktivoituu ja estää takytsoiittien lisääntymisen; vasta-aineet ovat tärkeämmässä roolissa sitten, kun eläin kohtaa toksoplasman uudelleen (Innes ym. 2009). Takytsoiittien aikaansaama solutuho ja tulehdusreaktio aiheuttavat akuutin toksoplasmoosin kliiniset oireet (Montoya & Liesenfeld 2004). Toksoplasmoosin vakavuus isäntäeläimellä riippuu kudoksen sijainnista ja laajuudesta (Dubey ym. 2009b). Siihen voi vaikuttaa myös loiskanta, infektoivan loisen kehitysaste, infektioannos, sekä isäntään liittyvät tekijät kuten ikä, sukupuoli tai laji. Isännän stressi tai muut samanaikaiset sairaudet ja immuunipuutostilat voivat vaikuttaa infektoitumiseen, koska *Toxoplasma gondii* on opportunistinen parasiitti (Dubey ym. 2009b).

Jos tiine eläin tai raskaana oleva nainen saa akuutin toksoplasmainfektion, takytsoiitit voivat verenkierron välityksellä siirtyä istukan kautta sikiöön ja aiheuttaa sikiölle synnyntäisen toksoplasmatartunnan (Dubey ym. 2009b). Vastasyntyneet voivat saada infektion myös maidon välityksellä, jos emolla on akuutti toksoplasmoosi ja takytsoiitit siirtyvät maitoon (Dubey ym. 2009b). Synnyntäisellä toksoplasmatartunnalla on usein vakavammat seuraukset kuin syntymän jälkeen saadulla infektiolla (Dubey ym. 2009b).

Noin kahdeksan vuorokauden kuluessa infektio isäntäeläimessä etenee latenttiin vaiheeseen (Gagne 2001). Takytsoiitit lisääntyvät ja lopulta enkystoituvat isännän soluissa: isännän kudoksiin muodostuu kuduskystia, joissa voi olla jopa tuhansia, nyt bradytsoiiteiksi kutsuttavia, loisia (Montoya & Liesenfeld 2004, Dubey ym. 2009b). Bradytsoiitit ovat 1,5 x 7 µm:n kokoisia (Dubey ym. 1998). Bradytsoiitit eroavat takytsoiiteista hiukan rakenteellisesti ja toiminnallisesti (Montoya & Liesenfeld 2004). Myös bradytsoiitit ovat infektiivisiä. Ne lisääntyvät hitaasti kuduskystien sisällä (Dubey ym. 1998). Loinen on kuduskystien sisällä piilossa isännän immuunipuolustukselta ja jää kudoksiin latenttina usein isännän loppuelämän ajaksi. Tavallisimmin kystia muodostuu luurankolihasiin, sydänlihakseen ja keskushermostoon (Gagne 2001).

Kystien esiintymispaikat vaihtelevat hiukan isäntälajin ja toksoplasmakannan mukaan: esimerkiksi hiirillä ja rotilla kystia muodostuu useammin aivoihin, kun taas muilla nisäkkäillä useimmiten lihaksiin (Dubey 1998).

Latentti infektio voi aktivoitua uudelleen, jos isännän immuunipuolustuksessa tapahtuu muutoksia. Latentin infektion uudelleenaktivoitumisen mekanisme ei tunneta. On esitetty, että joskus kuduskystat voivat hajota, jolloin bradytsoiitteja vapautuu (Dubey 1998). Normaalisti immuunijärjestelmä tuhoaa vapaat bradytsoiitit, mutta esimerkiksi immuunisuppression aikana vapautuneet bradytsoiitit lisääntyvät paikallisesti ja leviävät elimistössä (Dubey 1998). Ei ole kuitenkaan varmuutta siitä, voivatko vanhoista kuduskystista vapautuneet bradytsoiitit itse aiheuttaa infektion, vai täytyykö loisen bradytsoiitin ensin muuttua takytsoiitiksi (Dubey 1998).

Sekä pääisäntä että väli-isännät saavat infektion yleisimmin syömällä kuduskystia tai ookystia, joskus myös takytsoiitteja (Dubey 1998). Kuduskystien bradytsoiitit ovat syötyinä kissoille infektiivisempiä kuin ookystat, ja ookystien infektiivisyys kissoilla riippuu infektiannon suuruudesta (Dubey 2006). Ookystat taas ovat väli-isännille infektiivisempiä ja patogeenisempiä kuin kissalle (Dubey 1998, Dubey 2005, Dubey 2006). Luultavasti ookystien ekskystoituminen ei ole kaikilla isäntälajeilla yhtä tehokasta ja nopeaa, mikä voisi selittää eroja ookystien infektiivisyydessä kissojen ja väli-isäntien välillä (Dubey 1996a). Loisen patogeenisyyteen voi vaikuttaa myös se, mikä *Toxoplasma gondii* -genotyyppi on kyseessä (Dubey 2006). Kissalla myös ikä voi vaikuttaa: vastasyntyneillä kissanpennuilla suurin osa syödyistä, sporuloituneista ookystista kulkeutuu suoraan ulosteeseen (Dubey 1996a). Koska ookystien infektiivisyys kissoille on alhainen, eivät pennut todennäköisesti saa tartuntaa syömällä emonsa erittämiä ookystia (Dubey 1996a). *Toxoplasma gondii* on mahdollisesti adaptoitunut siirtymään kissasta toiseen tehokkaammin lihansyönnin ja kuduskystien kuin ookystien ingestion välityksellä (Dubey 1996a, Dubey 2006).

2 *Toxoplasma gondii* kissalla

2.1 Elämänkierron vaiheet kissassa

Kissalla on tarkemmin tutkittu vain bradytsoiiteista alkunsa saavaa toksoplasman elämänkiertoa (Dubey 1998). Kissa voi tuottaa ookystia, vaikka olisi syönyt vain muutaman bradytsoiitin (Dubey 2006). Kissa voi erittää ookystia myös ookystien tai takytsoiittien syömisen jälkeen: ei ole kuitenkaan varmuutta siitä, voivatko myös muut kuin loisen bradytsoiittimuodot johtaa suoraan ookystien tuottoon, vai täytyykö niiden ensin muuttua kissassa kuduskystissa oleviksi bradytsoiiteiksi, joista osa vapautuu kystien revetessä ja aloittaa loisen suvullisen lisääntymisen (Dubey 1998, Dubey 2005). Prepatenssiaika - aika infektiivisen loisen syömisestä ookystien tuottoon - eroaa sen mukaan, mistä loisen kehitysasteesta kissa on saanut tartunnan (Dubey 1998, Dubey 2006): aika on lyhin (3-10 vuorokautta) silloin, kun kissa on saanut infektion bradytsoiiteista, ja pidempi jos infektio on peräisin ookystista (> 18 vuorokautta) tai takytsoiiteista (\geq 13 vuorokautta) (Dubey 1998). Syödyn loisen määrä ei vaikuta prepatenssiajan pituuteen (Dubey 2006). Kuduskystien syömisen jälkeen suurin osa kissoista erittää ookystia, mutta sporuloituneiden ookystien syömisen jälkeen ookystia erittää vain 20 % kissoista (Dubey ym. 2009). Ei tiedetä varmasti, millainen osuus kissan toksoplasmoosin epidemiologiassa ja transmissiossa on ookystien syömistä seuraavalla ookystien tuotolla suhteessa bradytsoiiteista lähtöisin olevaan ookystien tuottoon (Dubey 1996a).

Mahassa ja suolistossa proteolyttiset entsyymit hajottavat kuduskystan seinämän, jolloin bradytsoiitit vapautuvat ja tunkeutuvat ohutsuolen epiteelisoluihin (Dubey ym. 1998). Osa bradytsoiiteista, samoin kuin ookystina syödyt sporotsoiitit, muuttuvat kissan suoliston epiteelisolujen lamina propriassa takytsoiiteiksi ja leviävät muualle kudoksiin (Dubey 1998). Osa bradytsoiiteista jatkaa epiteelisolussa toksoplasman enteroepitelialiseen elämänkiertoon, mikä johtaa loisen suvulliseen lisääntymiseen ja ookystien tuottoon (Dubey 1998, Dubey 2005). Suvullinen lisääntymissykli alkaa kahden päivän kuluttua kuduskystien syömisestä (Dubey ym. 1998), ja kestää kokonaisuudessaan 3-10 päivää (Dubey ym. 2009b).

Epiteelisoluissa bradytsoiiteista kehittyä viisi morfologisesti erilaista epäseksuaalista loisen kehitystasetta (Dubey ym. 1998). Myöhäiset epäseksuaaliset muodot lisääntyvät epätavallisella schizogonialla, joka eroaa hiukan tavallisesta *Eimeria*-kokkidien schizogoniasta (Dubey ym. 1998). Schizogoniassa tapahtuu useita tumanjakautumisia, joiden jälkeen tytärsolut eli loisen merotsoiittimuodot alkavat kehittyä schizontin sisälle ja vapautuvat lopulta schizontista isäntäsolun revetessä (Dubey ym. 1998, Dubey ym. 2009b). Gameetit muodostuvat todennäköisesti myöhäisten epäseksuaalisten kehitystasoiden merotsoiiteista (Dubey ym. 1998). Makrogameetit ovat naaraspuoleisia ja mikrogameetit urospuoleisia gameetteja. Makrogameeteissa on tuman lisäksi useita soluelimiä, mikrogameeteissa lähinnä tumamateriaalia sekä kaksi flagellaa, joilla ne uivat makrogameettien lähelle. Gameetit yhdistyvät ja muodostavat zygotin, jonka ympärille muodostuu ookystaseinä. Ookystat vapautuvat ohutsuolen lumeniin, kun infektoituneet epiteelisolut repeytyvät (Dubey ym. 1998).

Ookystat eivät ole infektiivisiä heti erittymisensä jälkeen. 1-5 päivän kuluttua erittymisestä ookystat sporuloituvat, minkä jälkeen ne ovat infektiivisiä (Dubey ym. 1998). Sporuloituneessa toksoplasman ookystassa on kaksi sporokystaa, joissa kummassakin on neljä sporotsoiittia (Dubey ym. 1998). Sporotsoiitit voivat säilyä paksun ookystaseinä alla infektiivisenä useita kuukausia (Dubey ym. 2009b). Lämpö, kosteus ja suoja auringolta edesauttavat niiden selviytymistä (Dubey ym. 2009b). Kissapopulaatiosta noin 1 % erittää ookystia kullakin ajanhetkellä (Hill & Dubey 2002).

2.2 Kliininen toksoplasmoosi kissalla

Kissoilla kliininen toksoplasmoosi on melko harvinainen, ja yleensä kissan immuunipuolustus pystyy rajoittamaan infektion siten, ettei se leviä sisäelimiin (Dubey & Beattie 1988). Koeoloissa kudostyypin syöneiden kissojen toksoplasmoosi on levinnyt sisäelimiin 1-3 viikossa kudostyypin syömisestä (Dubey & Beattie 1988). Oireet voivat alkaa nopeasti tai vähitellen (Dubey ym. 2009b). Kliininen toksoplasmoosi aiheuttaa kissalla tyypillisesti anoreksiaa, letargiaa ja keuhkotulehduksesta johtuvaa yskää ja hengitysvaikeuksia. Muita oireita voivat olla kuume, ikterus, oksentelu ja ripuli (Dubey & Beattie 1988). Kissalla voi olla myös

neurologisia oireita, kuten halvausoireita, jäykkyyttä, käytösmuutoksia ja kohtauksia (Dubey & Beattie 1988). Akuutti toksoplasmoosi voi aiheuttaa myös lihaskipuja ja haimatulehdusta (Dubey ym. 2009b). Infektio voi pahimmillaan johtaa kissan kuolemaan (Meunier ym. 2006, Jokelainen ym. 2009a). Raadonavauksessa tyypillisiä löydöksiä ovat kuoliot lamina propriassa, maksassa, pernassa, lisämunuaisessa ja etenkin keuhkoissa; lisäksi voidaan todeta multifokaalinen aivotulehdus (Dubey & Beattie 1988, Dubey 1995, Jokelainen ym. 2009a).

Intestinaalinen toksoplasmoosi johtuu loisen lisääntymisestä kissan suolistossa, ja se rajoittuu usein itsestään (Meunier ym. 2006). Toksoplasmaloinen lisäänty myös Peyerin levyissä ja suoliliepeen imusolmukkeissa (Dubey & Beattie 1988). Suolistossa voi olla haavaumia ja suoliliepeen imusolmukkeet voivat olla suurentuneet (Dubey & Beattie 1988) ja kuolioituneet (Dubey 1995).

Suoliston ulkopuolinen infektio voi olla myös krooninen ja aiheuttaa okulaarista toksoplasmoosia. Oireina ovat esimerkiksi linssin luksaatio, sekundäärinen glaukooma ja silmän etuosien suonikalvontulehdus (Meunier ym. 2006). Okulaarinen toksoplasmoosi voi kissoilla ilmetä myös suoni- ja verkkokalvontulehduksena, mikä saattaa johtaa verkkokalvon irtoamiseen (Dubey & Beattie 1988). Okulaarinen toksoplasmoosi voi esiintyä vain toisessa tai molemmissa silmissä (Meunier ym. 2006). Silmäoireita ei aina välttämättä osata epäillä toksoplasmoosiksi, koska ne eivät ole toksoplasmoosille patognomonisia (Meunier ym. 2006) ja okulaarinen taudinmuoto voi esiintyä ilman muita kliinisen toksoplasmoosin oireita (Dubey ym. 2009b). Kissoista, joilla on todettu linssin luksaatiota tai suurisilmäisyyttä, suurempi osa on seropositiivisia kuin seronegatiivisia (Meunier ym. 2006).

Infektion vakavuuteen vaikuttavat kissan ikä ja syödyn loisen kehitysaste; vastasyntyneillä pennuilla kokeellisesti syötetyt kuduskystat aiheuttavat kuolemaanjohtavan infektion, kun taas vieroitetuilla infektio on usein lievä ja yli puolivuotiailla subkliininen (Dubey ym. 1996). Takytsoiittien ja ookystien kokeellisesta syötöstä ei aiheudu vastasyntyneillekään kliinistä toksoplasmoosia (Dubey ym. 1996). Synnynnäiset infektiot kissanpennuilla ovat vakavimpia (Dubey ym. 2009b).

Kissanpentu voi saada synnynnäisen toksoplasmatartunnan emoltaan joko istukan tai maidon kautta (Hill & Dubey 2002, Dubey ym. 2009b). Tällainen vertikaalinen tartunta on kuitenkin kissoilla harvinainen eikä sitä pidetä kovin tärkeänä loisen kulkeutumisreittinä (Dubey & Beattie 1988). Jos emo infektoituu tiineyden aikana, seurauksena on kuitenkin usein myös pentujen infektoituminen (Dubey ym. 2009b). Istukan kautta saatu tartunta aiheuttaa yleensä pennun kliinisen sairastumisen (Dubey ym. 2009b). Pennuilla on todettu vakavia maksavaurioita, aivo-selkäydintulehdusta ja munuaistulehdusta (Dubey ym. 1996). Myös istukassa voi olla multifokaalisia, mineralisoituneita kuolioalueita (Dubey ym. 1996). Pennut voivat syntyä ennenaikaisesti tai kuolla ennen vieroituskäikää (Dubey ym. 2009b). Kohdussa infektoituneet pennut voivat erittää ookystia ulosteessaan (Hill & Dubey 2002).

On mahdollista, että myös jokin muu samanaikainen infektio tai myeloproliferatiivinen sairaus saattaisi huonontaa kissan ennustetta toksoplasmoosin suhteen tai aktivoida latentin toksoplasmainfektion (Dubey & Beattie 1988). Viimeaikaisissa tutkimuksissa ei kuitenkaan havaittu yhteyttä kissan FIV- tai FeLV infektion ja toksoplasmainfektion välillä, vaikka FIV ja FeLV aiheuttavat kissalle immuunisuppressiivisen tilan (Dubey ym. 2009a). Kissan kliinistä toksoplasmoosia pidetään primäärinä infektiona (Dubey ym. 2009b).

2.3 Toksoplasmaparasta-aineiden ja immunitetin muodostuminen kissalla

Toxoplasma gondii aiheuttaa isäntäeläimissään soluvälitteisen immunitetin kehittymisen ja nopean vasta-ainevasteen (Dubey & Beattie 1988). Vasta-aineet eivät pysty täysin suojelemaan isäntää solunsisäisiltä loisen muodoilta, mutta ne ovat osa immuunipuolustusta ja vaikuttavat todennäköisesti yhdessä soluvälitteisen immunitetin kanssa. Myöskään soluvälitteisen immunitetin mekanismeja ei tunneta (Dubey & Beattie 1988).

Kissalla IgG- ja IgM -vasta-ainepitoisuudet nousevat toksoplasmainfektion aikana (Dubey ym. 2009b). Ookystaeritysvaihe on yleensä ohi noin kahden viikon kuluttua infektiivisen loisen syömisestä (Dubey ym. 1998, Dubey ym. 2009b). Kissan verestä voidaan todeta toksoplasmaparasta-aineita kuitenkin vasta neljännellä viikolla kokeellisen

infektion jälkeen (Dubey & Beattie 1988). Kissojen toksoplasmaparasiitin tuotto vaihtelee yksilöllisesti: määrittetyissä vasta-ainetiittereissä on merkittäviä eroja, vaikka kissat olisivat koetilanteessa syöneet yhtä suuret määrät bradytoosia (Dubey ym. 1995, Afonso ym. 2006). Vasta-ainepitoisuudet pysyvät koholla kuukausia, ja myös subkliinisissä infektioissa pitoisuudet ovat koholla viikkoja (Dubey & Beattie 1988).

Jos kissa on joskus erittänyt oocystia, sille kehittyy tavallisesti soluvälitteinen immuunivaste oocystien erittämiseksi, eikä se eritä niitä enää uudelleen elämänsä aikana (Frenkel & Smith 1982a, Dubey 1995). Tämän immuunivasteen muodostumiseen vaikuttavat kissan ikä, ravitsemustila, primääri-infektion ajankohta ja mahdolliset sekundääriset toksoplasmainfektiot tai muut samanaikaiset infektiot, sekä loisen kanta, kehitysaste ja tarttumisreitti (Frenkel & Smith 1982a, Dubey 1995). Immuunivaste oocystiaeritykselle voi kehittyä eri tavalla luonnossa kuin koeolosuhteissa (Dubey 1995). Jos kissa metsästää jatkuvasti vapaasti luonnossa, sen immuunivaste todennäköisesti pysyy yllä (Dubey ym. 1995).

Kokeellisesti on todettu, että kissat voivat ajan myötä menettää immuunivastettaan, ja uudessa toksoplasma-altistuksessa, uudella loiskannalla, ne ovat taas erittäneet oocystia (Dubey 1995). Tällaisen sekundääri-infektion aikana kissat kuitenkin saattavat erittää vähemmän oocystia kuin primääri-infektiossa (Dubey 1995). Myös kissan ikä ja pito-olosuhteet, syödyn loisen kehitysaste sekä infektiomäärä vaikuttavat erittyvien oocystien määrään (Dubey 1995, Dubey 1998). Seerumin vasta-ainevasteet eivät korreloi oocystien eritykselle muodostuneen soluvälitteisen immuunivasteen kanssa (Dubey ym. 1995): kissa voi uuden toksoplasmaparasiitin kohdatessaan erittää oocystia, vaikka sillä olisi toksoplasmaparasiittia veressään (Mateus-Pinilla ym. 1999). Tällöin juuri soluvälitteinen immuunivaste oocystiaeritystä vastaan on voinut heikentyä ajan myötä, mutta vasta-aineita havaitaan, koska kissa on infektoitunut jo aikaisemmin. Toisaalta kissat voivat olla immuuneja oocystiaeritykselle, vaikka niillä ei todeta toksoplasmaparasiittia (Frenkel & Smith 1982a). Eräissä tutkimuksissa vasta-ainetiitterit olivat suuremmat kissoilla, jotka olivat erittäneet oocystia kuin kissoilla, joiden oocystiaeritys oli estetty klindamysiinillä (Malmasi ym. 2009).

Kroonisesti infektoituneen kissaemon pennut saavat ternimaidosta toksoplasman IgG-vasta-aineita, jotka säilyvät pennulla 8-12 viikon ikään asti (Dubey ym. 2009b). Usein

vapaana metsästävät kissanpennut saavat toksoplasmatartunnan pian vieroitusiän jälkeen saaliseläimistä. Oletetaan, että suurin osa kissoista erittää ookystia nuorena (Mateus-Pinilla ym. 1999, Dubey ym. 2009b). Vanhemmat kissat ovat nuoria todennäköisemmin ehtineet kosketuksiin toksoplasman kanssa ja siksi nuoria todennäköisemmin saaneet tartunnan (Dubey ym. 2009b). On myös viitteitä siitä, että useamman kissan talouksissa kissat ovat useammin seropositiivisia kuin ilman lajitovereita elävät kissat (Lopes ym. 2008).

2.4 Toksoplasman diagnostiikka kissalla

Koska toksoplasma aiheuttaa kissoille usein yleisoireita tai oireet ovat lieviä, on myös taudin diagnosoiminen vaikeaa. Diagnoosin tekoa voi toksoplasmaepäilyssä helpottaa seerumin hematologisten ja biokemiallisten määritysten, sytologisten näytteiden ja radiologisen kuvantamisen avulla. Ulostenäytteistä voi etsiä ookystia ja serologisilla testeillä mitata seerumin vasta-aineita (Dubey ym. 2009b).

Hematologiset poikkeavuudet kissan akuutissa toksoplasmoosissa ovat yleensä nonregeneratiivinen anemia ja leukosytoosi (neutrofilia, lymfocytoosi, monosytoosi tai eosinofilia). Vakavasti sairailta kissoilla voi esiintyä leukopeniaa, joka ilmenee usein täydellisenä lymfo- ja neutropeniana (Dubey ym. 2009b). Biokemiallisissa määrityksissä akuutissa toksoplasmoosissa havaitaan usein hypoproteinemiamia ja hypoalbuminemiaa, ja kroonisessa toksoplasmoosissa joskus hyperglobulinemiaa (Dubey ym. 2009b). Maksa- ja lihasvauriot voivat aiheuttaa alaniiniaminotransferaasi- ja aspartaattiaminotransferaasiarvojen (ALT ja AST) sekä kreatiniinikinaasi- ja bilirubiiniarvojen nousua (Dubey ym. 2009b). Kissoilla havaitaan usein myös bilirubin- ja proteinuriaa. Haimatulehdus voi nostaa seerumin lipaasin ja amylaasin aktiivisuutta ja vähentää kalsiumin pitoisuutta (Dubey ym. 2009b).

Sytologisissa näytteissä voidaan nähdä takytsoiitteja tai tulehdusmuutoksia, joissa lymfosyytit hallitsevat solukuvaa. Akuutissa infektiossa takytsoiitteja löytyy tyypillisimmin vatsa- tai rintaontelonesteestä (Dubey ym. 2009b).

Rintakehän röntgenkuvissa voidaan havaita diffuusua, interstitiellää tai alveolaarista kuviointia ja lohkottumista, diffuusua homogeenista tihentymää sekä lievää pleuran effuusiota. Vatsaontelon röntgenkuvissa voi näkyä massoja sisäelinten ympärillä tai effuusionesteen aiheuttamaa tihentymää (Dubey ym. 2009b).

Koska kissapopulaatiosta vain noin 1 % erittää ookystia kullakin ajanhetkellä ja erityisesti kestää vain 1-2 viikkoa ja koska kissoilla on harvoin kliinisiä oireita (esimerkiksi ripulia) ookystaerityksen aikana, on erityistä vaikea todeta ulostenäytteistä (Hill & Dubey 2002, Dubey ym. 2009b).

Seerumin vasta-ainemääritykset eivät kerro, milloin kissa on erittänyt ookystia: seropositivisista kissoista voidaan ainoastaan sanoa, että ne ovat jossain vaiheessa elämäänsä saaneet infektion, ja ovat todennäköisesti infektion seurauksena jo erittäneet ookystia (Dubey ym. 2009b). Jos kissalla epäillä akuuttia toksoplasmoosia, voidaan serologisilla vasta-ainemäärityksillä seurata IgG-vasta-ainetiittereiden nousua esimerkiksi 2-3 viikon välein otetuista seeruminäytteistä: yli nelinkertaisesti kasvaneet tiitterit kertovat, että infektio on akuutti (Dubey ym. 2009b). Kissalla myös kohonneet IgM-vasta-ainepitoisuudet voivat viitata akuuttiin toksoplasmainfektiin, joskus tosin myös krooniseen infektiin uudelleen aktivoitumiseen (Dubey ym. 2009b).

2.5 Kissan toksoplasmoosin hoito

Kissojen lääkityksellä akuutin infektion aikana voidaan oireiden helpottamisen lisäksi tähdätä ookystaerityksen vähentämiseen tai erityisajan lyhentämiseen: tällöin ei tarvita pitkää lääkitysaikaa, koska ookystien eritysaikakin on useimmiten lyhyt (Dubey ym. 2009b). Toksoplasmainfektioita hoidetaan systeemilääkityksellä, mikäli kissalla on vakavampia systeemisiä oireita tai esimerkiksi silmäoireet pitkittyvät paikallisesta hoidosta huolimatta (Nelson ym. 2009).

Kissoilla käytettyjä, turvallisia ja toksoplasmaan tehoavia lääkeaineita ovat klindamysiini, potentoidut sulfat (esimerkiksi trimetopriimi-sulfa) ja asitromysiini (Dubey ym. 2009b, Malmasi ym. 2009). Klindamysiini ja trimetopriimi-sulfonamidi ovat tavallisimmin käytettyjä lääkeaineita kissan toksoplasmoosin hoidossa.

Klindamysiinin haittavaikutusena voi esiintyä ruansulatuskanavan ärsytystä ja ripulia (Dubey ym. 2009b). Ookystaeritystä hillitseväksi lääkitykseksi voi käyttää klindamysiiniä 50 mg/kg suun kautta (po) tai lihaksensisäisesti (im) annosteltuna kerran päivässä 1-12 vuorokautta, tai 12,5-25 mg/kg po/im kahdesti päivässä 1-2 vrk. Yleistyneen, vakavan infektion hoitoon klindamysiinin annostelu on 8-17 mg/kg po/im kolme kertaa päivässä vähintään neljä viikkoa, tai 10-12 mg/kg po/im kahdesti päivässä vähintään neljä viikkoa; yleistyneen infektion hoitoon trimetopriimi-sulfonamidin annokset ovat 15 mg/kg po kahdesti päivässä vähintään neljän viikon ajan (Dubey ym. 2009). Vakavissa infektioiden kissa saattaa tarvita tukihoidoa, esimerkiksi kouristuksia estävää lääkitystä (Dubey ym. 2009b).

Jos kissalla esiintyy uveiittia systeemisten toksoplasmaoireiden yhteydessä, tulisi antibioottihoitoon yhdistää topikaalinen, parenteraalinen tai oraalinen kortikosteroidihoito sekundääriseen linssiluksaation ja glaukooman estämiseksi (Dubey ym. 2009b). Topikaaliset glukokortikoidit ovat yksinään riittävä hoito toksoplasman aiheuttamaan uveittiin, jos siihen ei liity yleisoireita.

Klindamysiinillä ja trimetopriimi-sulfonamidilla lääkittynä kliiniset oireet helpottuvat yleensä muutamassa vuorokaudessa, mutta okulaarinen ja keskushermostoon levinnyt toksoplasmoosi paranevat hitaammin. Kissan ennuste on huono, jos infektio on levinnyt laajalle (Dubey ym. 2009b).

3 *Toxoplasma gondii* ympäristössä

Kissa voi erittää vuorokaudessa miljoonia ookystia (Hill & Dubey 2002). Vaikka vain pieni osa kissapopulaatiosta erittää ookystia tietyllä hetkellä, ookystien tuotto ja esiintyminen ympäristössä ovat loisen väli-isännille merkittävä epidemiologinen riskitekijä. Riskiä lisää se, että sporuloituneet ookystat ovat erittäin kestäviä ja voivat säilyä kosteassa maassa 18 kuukautta (Frenkel ym. 1975, Tenter ym. 2000, Hill & Dubey 2002), jopa kaksi vuotta (Kijlstra & Jongert 2008). Kissat todennäköisesti levittävät ookystia ympäristöön muita kissaeläimiä enemmän, koska kissa tuottaa kissaeläimistä eniten ookystia sen 1-2 viikon aikana, jona se niitä erittää (Hill & Dubey

2002). Toisaalta esimerkiksi USA:ssa ilvesten toksoplasmainfektiot ovat hyvin yleisiä (Dubey & Beattie 1988).

Ookystien erityksellä on tärkeä merkitys toksoplasman säilymisessä ympäristössä (Dubey & Beattie 1988). Ookystat voivat kulkeutua ympäristössä selkärangattomien hyönteisten ja matojen mukana, jolloin ympäristön kontaminaatio leviää (Frenkel ym. 1975, Hill & Dubey 2002). Jos ookystia on ympäristössä runsaasti, myös kissojen saaliseläimillä on useammin toksoplasmatartuntoja ja kuduskystia elimistössään. Korkea seroprevalenssi saaliseläimissä lisää seroprevalenssia niitä saalistavissa kissoissa (Dubey & Beattie 1988, Hill & Dubey 2002), koska kuduskystista saadut tartunnat ovat kissoilla tavallisimpia (Afonso ym. 2007). Myös saaliseläinten ominaisuudet vaikuttavat myös sekä niiden itsensä että niitä metsästävien kissojen saamiin tartuntoihin (Afonso ym. 2007). Mitä suurempi saaliseläin, sitä todennäköisemmin se elää pidempään ja liikkuu laajemmalla alueella, jolloin se todennäköisemmin saa elämänsä aikana toksoplasmatartunnan (Afonso ym. 2007). Ympäristöolosuhteet vaikuttavat paljon siihen, millaisia saaliseläimiä alueella elää, ja tarjolla olevat saaliseläimet taas vaikuttavat kissapopulaation tartuntariskiä (Afonso ym. 2007). Myös ympäristössä olevat ookystat voivat joidenkin kissapopulaatioiden kohdalla vaikuttaa suuresti populaation seropositiivisuuteen: ookystien säilymisen kannalta otollisessa ympäristössä elävässä kissapopulaatiossa seropositiivisuus voi olla suuri vaikka kissat saalistaisivat vain vähän (Afonso ym. 2006).

Ympäristössä olevat ookystat voivat päätyä ulkona laiduntavien tai liikkuvien tuotantoeläinten ruuansulatuskanavaan. Infektion seurauksena tuotantoeläinten kudoksiin muodostuu kuduskystia, jotka puolestaan ovat ihmisten toksoplasmainfektioissa yksi merkittävimmistä tartuntalähteistä (Tenter ym. 2000).

Ookystien erityksien alkua alkaa 3-18 vuorokauden kuluttua infektiosta (Dubey 1998). Kissojen vasta-ainetasot kohoavat toksoplasmainfektiossa vasta muutamien viikkojen viiveellä, joten niitä pystytään toteamaan seeruminäytteistä yleensä vasta sitten, kun kissan ookystien erityksien on jo lakannut (Dubey ym. 1995, Pena ym. 2006). Kun tiedetään tietyllä alueella elävän kissapopulaation seroprevalenssi, voidaan kuitenkin tehdä johtopäätöksiä myös ympäristön ookystakuormituksesta ja arvioida ihmisten tartuntariskiä (Dubey ym. 1995). Mitä suurempi kissojen toksoplasmaseroprevalenssi

on jollakin alueella, sitä todennäköisemmin kissat ovat sillä alueella tärkeä epidemiologinen tekijä (Pena ym. 2006); toksoplasmainfektioita ei ole tavattu ihmisillä sellaisilla alueilla, joissa ei ole kissoja (Dubey & Beattie 1988).

4 *Toxoplasma gondii* ihmisellä

4.1 Epidemiologia

Toxoplasma gondii on maailmanlaajuisesti merkittävä zoonoottinen loinen. Tartuntojen esiintymiseen vaikuttavat kulttuuriset ja sosioekonomiset tekijät, kuten ruokailu- ja hygienia- ja elinolosuhteet (Dubey & Beattie 1988, Montoya & Liesenfeld 2004). Myös maaperän ja ilmaston kosteus ja lämpötila vaikuttavat väestön seropositiivisuuteen: kylmillä, kuumilla ja karuilla seuduilla seropositiivisia ihmisiä on vähemmän (Dubey & Beattie 1988). Seropositiivisten osuus kasvaa iän myötä; eri sukupuolten välillä ei ole todettu eroa seropositiivisuudessa (Montoya & Liesenfeld 2004).

Kudoskystia sisältävän lihan syöminen kautta saatu tartunta on ihmisellä yleisin (Montoya & Liesenfeld 2004). Tartunnan voi saada raa'asta tai huonosti kypsennetystä lihasta tai ristikontaminaationa kypsentämättömistä elintarvikkeista, jos ne ovat olleet suoraan tai välillisesti kosketuksissa raakaan, kudoskystia sisältävään lihaan (Tenter ym. 2000, Gagne 2001). Kudoskystia voi esiintyä monilla kotieläimillä, kuten sioilla, lampailla ja vuohilla, sekä riistaeläimillä, esimerkiksi villisioilla, peuroilla ja jäniksillä (Dubey 1996b, Tenter ym. 2000, Hill & Dubey 2002).

Toinen tartuntareitti on sporuloituneiden ookystien joutuminen ihmisen ruuansulatuskanavaan. Näin voi käydä kissanhiekkalaatikon siivouksen tai esimerkiksi puutarhatöiden yhteydessä, ellei riittävästä käsienpesusta ole huolehdittu ja ulostetta tai multaa joutuu suuhun (Gagne 2001). Tartunnan voi saada myös ookystista, jotka ovat päätyneet kissan ulosteista juomaveteen (Montoya & Liesenfeld 2004). Sen sijaan on erittäin epätodennäköistä, että ihminen saisi tartunnan kissan silittämistä ja normaalista käsittelystä, koska kissan karvoista ei ole löydetty ookystia edes kissan erittäessä niitä runsaasti (Dubey 1995). Ei ole myöskään todettu, että toksoplasma

tarttuisi ulkoisessa kontaktissa seroposiivisista kissoista samassa taloudessa eläviin seronegatiivisiin kissoihin (Dubey 1995). Kissoihin kosketuksissa ollut ihminen saa tartunnan ainoastaan, jos käsittelee ookystia erittävän kissan ulostetta siten, että ulosteessa olevat sporuloituneet ookystat päätyvät ihmisen ruuansulatuskanavaan (Dubey & Beattie 1988).

Kolmas tartuntatie on sikiön infektoituminen kohdussa istukan välityksellä. Jos äiti saa infektion raskauden aikana tai vähän ennen raskauden alkua, voi toksoplasma siirtyä istukan kautta sikiön verenkiertoon (Montoya & Liesenfeld 2004). Jos taas äiti on saanut infektion hyvissä ajoin ennen raskautta, on loinen jo poistunut verenkierrosta kudoksiin, eikä se aiheuta sikiölle tartuntavaaraa (Gagne 2001). Äidin ensimmäisen ja toisen raskauskolmanneksen aikana saama infektio siirtyy sikiöön pienemmällä todennäköisyydellä, mutta siirryessään voi aiheuttaa vakavia seurauksia (Gagne 2001): sikiö voi kuolla kohtuun tai abortoitua (Montoya & Liesenfeld 2004). Raskauden viimeisellä kolmanneksella saatu infektio siirtyy todennäköisemmin sikiöön, mutta seuraukset sikiölle ovat paljon lievemmät (Gagne 2001). Vastasyntynyt voi kuitenkin usein olla normaali äidin infektiosta huolimatta (Montoya & Liesenfeld 2004).

Kolmen tyypillisimmän tartuntareitin lisäksi *Toxoplasma gondii* voi joskus tarttua myös elinsierrännäisen mukana seroposiiviselta luovuttajalta seronegatiiviselle elimen vastaanottajalle, tai sen voi saada verensiirron yhteydessä (Dubey & Beattie 1988, Hill & Dubey 2002, Montoya & Liesenfeld 2004). Elin- tai luuydinsiirron aikana annettu immunosuppressiivinen lääkitys voi johtaa siihen, että potilaan latentti infektio aktivoituu uudelleen (Hill & Dubey 2002). Joskus laboratoriohenkilökunnassa voi esiintyä kontaminoituneista neuloista tai lasiesineistä saatuja tartuntoja (Montoya & Liesenfeld 2004).

4.2 Kliininen toksoplasmoosi ihmisellä

Immuunipuolustukseltaan terveillä ihmisillä primääri toksoplasmoosi on usein oireeton tai oireet ovat lieviä ja epäspesifisiä. Toksoplasmoosi voi olla paikallinen tai yleistynyt (Hill & Dubey 2002). Noin 10 %:lla potilaista voi esiintyä lievää pahoinvointia, väsymystä, päänsärkyä ja imusolmukkeiden suurenemista (Gagne 2001, Hill & Dubey

2002, Montoya & Liesenfeld 2004). Tauti jää helposti huomaamatta ja oireet häviävät itsestään, eikä lääkitystä useimmiten tarvita (Gagne 2001). Terveilläkin ihmisillä voi joskus esiintyä sydänlihask- ja monilihas-tulehdusta sekä keuhko-, maksa- ja aivotulehdusta, mutta näiden esiintyminen on erittäin harvinaista (Montoya & Liesenfeld 2004). Ookystista saadut infektiot voivat olla kudostyypistä saatuja infektioita vakavampia. Tällä hetkellä ei kuitenkaan ole olemassa diagnostisia menetelmiä selvittää, mitä kautta todettu infektio on saatu (Hill & Dubey 2002).

Ongelmia toksoplasmoosista syntyy yleisimmin vain silloin, kun potilaan immuunipuolustus on heikentynyt. Tällainen tilanne on esim. AIDS- tai elinsiirtopotilailla. Yleensä tällaisilla potilailla toksoplasmoosi johtuu latentin infektion uudelleen aktivoitumisesta (Montoya & Liesenfeld 2004). Seuraukset voivat olla vakavia: pernan suurentumista, sydänlihask- ja monilihas-tulehdusta, keuhko-, maksa- ja aivotulehdusta, silmän suoni- ja verkkokalvontulehdusta, sekä monielinvauriota voi esiintyä (Gagne 2001). Tyypillisin ja vakavin taudinkuva on aivotulehdus, johon liittyy aivojen kuolioitumista etenkin talamuksen alueella ja jota voi olla eriasteista (Hill & Dubey 2002, Montoya & Liesenfeld 2004). Kliinisiä aivotulehduksen oireita ovat esim. kohtaukset, paikalliset motoriset häiriöt, hermostolliset häiriöt kuten osittainen halvaus ja puhevaikeudet, tuntoaistin häiriöt, pikkuaivo-oireet ja neuropsykiatriset löydökset (Montoya & Liesenfeld 2004). Toksoplasmoosi voi johtaa Aids-potilaan kuolemaan (Hill & Dubey 2002).

Syntyneestä infektion saaneista vastasyntyneistä 85 %:lla infektio on vähäoireinen (Montoya & Liesenfeld 2004). Syntyneinen toksoplasmoosi voi oireilla vastasyntyneellä, ensimmäisen elinkuukauden aikana, tai vasta myöhemmin lapsuudessa tai nuoruudessa (Gagne 2001). Aluksi sikiöllä voi olla yleistynyt infektio, joka myöhemmin siirtyy pois sisäelimistä ja keskittyy keskushermostoon (Hill & Dubey 2002). Vastasyntyneellä syntyneinen toksoplasmoosi voi aiheuttaa esimerkiksi vesipäätä, kallonsisäisiä kalkkeumia, suoni- ja verkkokalvontulehdusta, karsastusta, sokeutta, epilepsiaa sekä motorista ja henkistä jälkeenjääneisyyttä (Montoya & Liesenfeld 2004, Hill & Dubey 2002). Silmäsairaudet ovat tavallisimpia syntyneisen toksoplasmoosin jälkitauteja (Hill & Dubey 2002). Hoitamatta jäänyt syntyneinen toksoplasmoosi voi myöhemmälläkin iällä aiheuttaa suoni- ja verkkokalvontulehdusta ja kasvun viivästymistä (Montoya & Liesenfeld 2004).

Okulaarista toksoplasmoosia eli toksoplasman aiheuttamaa suoni- ja verkkokalvontulehdusta on perinteisesti pidetty synnynnäisen toksoplasmoosin uudelleen aktivoitumisen seurauksena. Näyttäisi kuitenkin siltä, että sen voi saada myös akuutin hankitun toksoplasmoosin yhteydessä (Kijlstra & Jongert 2008) tai latentin toksoplasmoosin uudelleen aktivoitumisen seurauksena.

4.3 Ihmisen toksoplasmoosin hoito

Akuutin toksoplasmoosin hoito on tarpeellista raskaana olevilla naisilla, synnynnäistä toksoplasmoosia sairastavilla vastasyntyneillä ja immuunivajeisilla henkilöillä. Myös ennen raskautta toksoplasmapositiiviseksi todettu, immuunivajeinen äiti tulisi lääkittää infektion uudelleen aktivoitumisen varalta (Gagne 2001); samoin muuten terveet aikuiset ja lapset, joilla toksoplasmoosi on pitkittynyt tai vakavaoireinen, on syytä hoitaa. Lääkkeenä käytetään pyrimetamiinin, sulfadiatsiinin ja foolihapon yhdistelmää (Montoya & Liesenfeld 2004). Hoitajakso kestää tavallisesti 4-6 viikkoa potilaan kunnosta riippuen. Synnynnäisen toksoplasmoosin jälkitautien ehkäisemiseksi vastasyntyneitä tulisi hoitaa jopa kahden ensimmäisen elinvuoden ajan. On spekuloitu, estääkö sulfadiatsiinilääkitys todella synnynnäisen toksoplasmoosin kehittymisen, mutta koska lopullista varmuutta asiasta ei ole, on katsottu parhaaksi pitää hoitokäytännöt ennallaan (Montoya & Liesenfeld 2004). Rokotetta ihmisen toksoplasmoosiin ei ole (Montoya & Liesenfeld 2004).

5 Keinoja ehkäistä toksoplasmatartuntoja

Koska toksoplasmainfektioon ei ole parannuskeinoa, on etsitty tapoja vähentää toksoplasman siirtymistä ympäristöstä ja lihasta ihmisiin. Tällaisia ovat esimerkiksi toimenpiteet, joilla voidaan kontrolloida ympäristön tai tuotantoeläinten rehun ja laidunten saastumista ookystilla, tai joilla voidaan estää kudokystien muodostuminen tuotantoeläinten kudoksiin: toisin sanoen keinoja, joilla koko elintarvikeketju pysyisi toksoplasmaasta vapaana (Kijlstra & Jongert 2008). On myös tärkeää informoida koko väestöä keinoista, joilla jokainen voi itse välttää tartuntaa (Kijlstra & Jongert 2008).

5.1 Rokotteet

Tuotantoeläimistä lampailla esiintyy maailmanlaajuisesti paljon toksoplasmoosia (Dubey & Beattie 1988). Synnynnäinen toksoplasmoosi on lampailla ja vuohilla yleistä ja aiheuttaa abortteja ja vastasyntyneiden kuolemia (Innes ym. 2009). Lampailla ja vuohilla on kehitetty toksoplasmoosia vastaan rokote (S48 Toxovax®), jossa käytetty takytsoiittikanta on menettänyt kykynsä muuntua bradytsoiiteiksi tai ookystiksi. Siten rokotekanta ei aiheuta lampailla pysyvää infektiota, mutta aikaansaa immuunipuolustuksen aktivoitumisen. Rokotetuilla lampailla immuunipuolustus tuhoaa uudessa toksoplasmainfektiossa elimistöön tulleet takytsoiitit, joten kudostyviin muodostuminen vähenee. Laitumelta syötyjen ookystien sporotsoiitit eivät myöskään rokotetuilla lampailla siirry sikiöön (Innes ym. 2009).

Myös sioille on kokeiltu elävää rokotetta, toksoplasmaproteiinirokotetta ja DNA-rokotetta. Tulosten perusteella voisi olla mahdollista kehittää tuotantoeläimille rokote, joka estäisi kudostyviin muodostumisen (Innes ym. 2009). Kuitenkin näyttäisi siltä, että tehokkain keino välttää sikojen infektoitumista on kontrolloida sikatilan kissojen infektoita ja ookystaeritystä (Mateus-Pinilla ym. 1999).

Kissoille on kehitetty toksoplasman mutanttikannasta T-263 eläviä bradytsoiitteja sisältävä suun kautta annosteltava rokote. Rokotetuilla kissoilla uudessa toksoplasmainfektiossa ookystaeritys estyy, ja rokote saa aikaan myös vasta-aineiden muodostumisen kissoilla (Freyre ym. 1993, Mateus-Pinilla ym. 1999). Laboratoriotutkimuksissa 100 % kahdesti rokotetuista, aiemmin seronegatiivisista kissoista tuli seroposiivisiksi, mutta kenttätutkimuksissa tulos jäi 85 %:iin (Freyre ym. 1993, Mateus-Pinilla ym. 1999). On tutkittu, että sikatiloilla, joilla kissat on rokotettu T-263-rokotteella, sikojen ja hiirien seerumin toksoplasmaproteiinit ja hiirien kudostyvit ovat vähentyneet kissojen rokotuksen myötä (Mateus-Pinilla ym. 1999). Rokotteen teho kissalla saattaa heikentyä, mikäli kissalla on muusta sairaudesta johtuva immuunipuutostila (Mateus-Pinilla ym. 1999). Kissoille on myös kokeiltu toksoplasman proteiineista valmistettua nenän kautta annosteltavaa rokotetta, joka myös estää

ookystien tuottoa (Garcia ym. 2007). Tällä hetkellä kissoille ei ole kuitenkaan olemassa ookystien erityistä estävää hyväksyttyä rokotetta (Dubey ym. 2009b).

Elävää organismia sisältävien rokotteiden laajaa käyttöönottoa haittaavat kuitenkin rokotteenantajaan kohdistuva terveysriski sekä rokotteiden hankaluus käytännössä: elävät rokotteet ovat lyhytikäisiä, niiden vaikutus on lyhytkestoinen, ja lisäksi niiden valmistus laajaan käyttöön voi olla vaikeaa (Innes ym. 2009).

5.2 Muita ennaltaehkäiseviä keinoja

Toksoplasmoosin ennaltaehkäisyssä hyvä hygienia on oleellista. Raskaana olevien, immuunivajeesta kärsivien henkilöiden tai lasten ei ole hyvä tyhjentää kissojen hiekkalaatikoita (Hill & Dubey 2002). Kissanhiekkalaatikko tulisi puhdistaa päivittäin, jolloin ulosteessa olevat ookystat eivät ehdi sporuloitua ennen poistoa laatikosta. Sporuloitumattomat ookystat tuhoutuvat sekä ympäristössä että desinfektioaineiden vaikutuksesta helpommin kuin sporuloituneet ookystat (Dubey ym. 2009b). Ookystat kestävät pakastusta, kuumuutta, ja sporuloituneina myös useimpia desinfektioaineita: 10 % ammoniakki tuhoaa ookystat, jos sen antaa vaikuttaa kontaminoituneella pinnalla 10 minuuttia (Dubey ym. 2009b). Kissanhiekkalaatikko on hyvä pestä lähes kiehuvalle vedelle, ja kissan ulosteet on hävitettävä siten, etteivät ne päädy ympäristöön (Dubey ym. 2009b). Myös lasten hiekkalaatikoita on hyvä peittää yöksi niin, etteivät kissat pääse sinne (Hill & Dubey 2002).

Vihannekset tulee pestä hyvin ennen käyttöä, ja puutarhanhoidossa on hyvä käyttää käsineitä (Hill & Dubey 2002). Lammista ja puroista otettu juomavesi on hyvä keittää: kuumennus 70 °C:ssa 10 minuutin ajan tappaa ookystat (Dubey ym. 2009b). Raa'an lihan käsittelyn jälkeen kädet ja työvälineet tulee pestä vedellä ja saippualla, mikä tuhoaa toksoplasman eri muodot (Hill & Dubey 2002). Raskaana olevien ei tule syödä raakaa tai huonosti kypsennettyä lihaa. Lihan kuumennus kauttaaltaan vähintään 67 °C:een tai pakastaminen alle -12 °C:n lämpötilassa useimmiten riittää tappamaan kudoskystien bradysoiitit (Tenter ym. 2000, Hill & Dubey 2002).

Raskaana olevien naisten tai vastasyntyneiden rutiininomainen vasta-ainemääritys voisi olla keino saada synnynnäisestä toksoplasmoosista aiheutuvat haitat mahdollisimman vähäisiksi (Montoya & Liesenfeld 2004), mutta monessa maassa määritysten vaatimat kustannukset rajoittavat niiden käyttöä (Hill & Dubey 2002). Toisaalta suuria kustannuksia syntyy myös synnynnäisen toksoplasmoosin saaneiden lasten hoidosta (Hill & Dubey 2002).

Kissoille ei saisi syöttää raakaa lihaa tai sisäelimiä (Dubey & Beattie 1988, Dubey ym. 2009b). Jos kissalle haluaa antaa raakaa lihaa, se on syytä pakastaa. Pakastus tappaa kuduskystat, mutta ei vaikuta lihan ravitsemukselliseen laatuun samoin kuin kuumennus (Dubey ym. 2009b).

Tällä hetkellä ei ole nopeita ja eettisiä keinoja määrittää, korreloiko tuotantoeläinten seropositiivisuus kuduskystien esiintymiseen (Kijlstra & Jongert 2008). Esimerkiksi sikojen lihan kuduskystat ovat vähentyneet sitä mukaa kun kissojen ja jyrtsijöiden pääsy sikaloihin on paremmin estetty ja siat on kasvatettu kokonaan sisätiloissa (Dubey 1996b, Tenter et al 2000, Afonso ym. 2006). Toisaalta riistaeläimillä ja kasvinsyöjillä, kuten lampailla, vuohilla ja hevosilla, pito-olosuhteet ja riski siirtää tartunta ihmisille on ennallaan (Kijlstra & Jongert 2008). Kissat olisi hyvä pitää poissa tiineiden lampaiden ja vuohien lähetyviltä (Dubey & Beattie 1988), ja muutenkin poissa tuotantoeläinten kasvatus-tiloista ja rehun säilytystiloista (Dubey ym. 2009b). Tosin jos kissat pääsevät liikkumaan vapaasti ulkona, voi olla mahdotonta estää niitä menemästä eläinten laitumille. Myös mahdolliset toksoplasman vektoreina toimivat eläimet, esimerkiksi kärpäset ja etanat, olisi hyvä torjua mahdollisimman tehokkaasti eläinsuojista ja rehuvarastoista (Dubey ym. 2009b).

On todettu, että klindamysiini estää ookystaerityksen jopa kissojen ollessa immunosuppressiivisella lääkityksellä (Malmasi ym. 2009). Samoin on todettu kissanruokaan sekoitetun monensiinin estävän kissojen ookystaeritystä (Frenkel & Smith 1982b). Kaikkia kissoja ei kuitenkaan voida rutiininomaisesti lääkittää antimikrobisilla lääkkeillä, joten muita keinoja ehkäisyyn tulisi etsiä.

6 Kissojen toksoplasmatartunnat maailmalla

Seroprevalenssissa on suuria alueellisia vaihteluita, ja siihen vaikuttavat ympäristöolosuhteiden lisäksi monet kissapopulaation ominaisuudet (Afonso ym. 2006). *Toxoplasma gondii* -loisen zoonoottisuuden takia on tärkeää saada ajankohtaista tietoa kunkin alueen seroprevalenssitilanteesta kissoilla. Maailmalla on lähivuosinakin tutkittu sekä toksoplasman seroprevalenssia kissoissa että ookystien eritystä (Miró ym. 2004, Meunier ym. 2006, Pena ym. 2006, Lopes ym. 2008). Pena ym. (2006) tutkimuksessa seroprevalenssi kissoilla São Paulossa Brasiliassa oli 35,4 % ja ookystia löydettiin samassa tutkimuksessa 1,3 %:lla populaatiosta. Miró ym. (2004) Espanjassa tehdyssä tutkimuksessa kissojen seroprevalenssi oli 32,3 %. Tutkimuksessa ei löydetty *Toxoplasman* ookystia tutkituilta 382 kissalta. Lopes ym. (2008) tutkimuksessa Portugalissa seroprevalenssi oli 35,8 %, ja Meunier ym. (2006) Ranskassa tehdyssä tutkimuksessa kahdessa eri ryhmässä saadut seroprevalenssit olivat 38,5 % ja 42,0 %.

6.1 Seroprevalenssin määrittäminen

Toxoplasman seroprevalenssin määrittämisessä yleisesti käytettyjä serologisia menetelmiä ovat Sabin-Feldmanin värikoe, epäsuora hemagglutinaatiotesti (IHA), epäsuora immunofluoresenssitesti (IFA), suora agglutinaatiotesti (DAT, MAT), latex agglutinaatiotesti, ELISA ja komplementin fiksaatiotesti (Dubey & Beattie 1988). Testeillä määritetään IgG-vasta-aineita, mutta IFA-, MAT- ja ELISA-menetelmiä voidaan käyttää myös IgM-vasta-aineiden määrittämiseen (Dubey & Beattie 1988). Sabin-Feldman -testiä on pidetty toksoplasman vasta-ainediagnostiikassa luotettavimpana menetelmänä (Dubey & Beattie 1988), johon muita menetelmiä on verrattu (Desmonts & Remington 1980, Johnson ym. 1989). Testi on erittäin spesifinen ja sensitiivinen (Dubey & Beattie 1988). Sabin-Feldman -testi on kuitenkin aikaa vievä, kallis ja vaikea suorittaa (Dubey & Beattie 1988, Johnson ym. 1989). Lisäksi testiin tarvitaan elävää loista, joten se ei ole tekijälleen yhtä turvallinen kuin muut testit (Dubey & Beattie 1988).

Suora agglutinaatiotesti on sekä sensitiivinen että spesifinen, ja sitä voidaan käyttää sekä humaanin- että eläinlääketieteessä toksoplasman IgG-vasta-aineen määrittämiseen. Tulokset ovat vertailukelpoisia Sabin-Feldmannin värikokeen tulosten kanssa (Dubey & Beattie 1988). Serologisilla määrittämisillä voidaan myös selvittää vasta-ainepitoisuuksia määrittämällä vasta-ainetiitterit. Tiitteri ei kuitenkaan kerro infektion vakavuudesta (Dubey ym. 2009b) tai tarkasta ajankohdasta.

Toxo-Screen DA -menetelmässä toksoplasma-antigeeni on herkistetty formaliinilla, jolloin se tunnistaa IgG-vasta-aineet paremmin ja testin sensitiivisyys kasvaa (Desmonts & Remington 1980, Toxo-Screen DA -ohje). Testilevyille lisätään joka näytekäivoon lisäksi 2-merkaptotetanololia, joka denaturoi IgM-vasta-aineen (Desmonts & Remington 1980). Tämä parantaa testin spesifisyyttä, kun antigeeni sitoutuu vain sille spesifiseen IgG-vasta-aineeseen (Desmonts & Remington 1980). Positiivisessa reaktiossa toksoplasma-antigeeni agglutinoituu IgG-vasta-aineen kanssa ja muodostaa tasaisen maton, joka peittää yli puolet testikaivon pohjasta. Negatiivisessa reaktiossa antigeeni ei agglutinoidu, vaan vajoaa nappina kaivon pohjalle (Johnson ym. 1989).

Kvantitatiivisella tiitterin määrittämisellä, jossa näytteestä tehdään laimennossarja, saadaan tietää positiivisen näytteen vasta-ainetaso (Johnson ym. 1989). Laimeimman positiivisen reaktion antavan laimennoksen käänteisluku on näytteen tiitteri. Vasta-ainetasot voidaan ohjeen mukaan ilmaista joko tiittereinä tai konsentraatioina IU/ml: esimerkiksi tiitteriarvoa 40 vastaava konsentraatio on 4 IU/ml, ja tiitteriarvoa 4000 vastaava konsentraatio on 400 IU/ml.

6.2 Ookystien erityis ja sen havaitsemiseen käytetyt menetelmät

Flotaatio on eläinlääketieteessä yleisesti käytetty menetelmä ulosteen parasitologisessa tutkimuksessa (Meunier ym. 2006, Pena ym. 2006, Taylor ym. 2007, Gaglio ym. 2008, Ranjitkar ym. 2009). Tutkittavaa ulostenäytettä sekoitetaan johonkin korkean ominaispainon omaavaan nesteeseen eli flotaatioliuokseen suspensioksi (Taylor ym. 2007). Flotaatioliuoksina voivat toimia esimerkiksi sakkaroosiliuos (Dubey & Beattie 1988, Pena ym. 2006), kyllästetty magnesiumsulfaattiliuos (Meunier ym. 2006) tai kyllästetty natriumkloridiliuos, johon on voitu lisätä vielä glukoosia (Ranjitkar ym.

2009). Ulosteen sisältämät loisen munat ja ookystat ovat flotaationestettä kevyempiä ja nousevat nesteen pinnalle, jolloin nesteen pintakerrosta mikroskopoimalla voidaan tutkia ulosteen sisältämiä parasiitteja (Taylor ym. 2007). Flotaatiomenetelmiä on erilaisia, ja osalla niistä voidaan lisäksi tutkia kvantitatiivisesti ulosteen sisältämä parasiitin munien tai ookystien määrä, fecal egg count (FEC) (Ranjitkar ym. 2009).

Kissojen ookystien erityistä on mahdollista tutkia Flotac® -menetelmällä (University of Naples Federico II, Italy). Flotac® on melko uusi, flotaatioon perustuva kvantitatiivinen menetelmä (Cringoli 2006). Sitä on käytetty sekä humaani- että eläinlääketieteessä (Ranjitkar ym. 2009, Gaglio ym. 2008, Utzinger 2008). Lisäksi Flotac® on kirjallisuuden mukaan helppo ja nopea käyttää muihin menetelmiin verrattuna (Gaglio ym. 2008, Cringoli 2006). Flotac® -menetelmällä voidaan tutkia samanaikaisesti kaikki yhden näytteen sisältämät parasiitin munat, larvat ja ookystat. Tämä on hyödyllistä eläinlääketieteessä, missä potilailla voi usein olla samanaikaisesti erilaisia parasiitti-infektioita (Gaglio ym. 2008).

Menetelmässä flotaatiota tehostetaan sentrifugoimalla ulostenäytteen ja flotaatioliuoksen suspensiota. Näin kaikki näytteen sisältämät parasiittielementit nousevat tehokkaammin nesteen pinnalle (Cringoli 2006). Menetelmällä on myös mahdollista tutkia kerralla suurempi määrä ulostetta kuin muilla menetelmillä (Ranjitkar ym. 2009, Utzinger 2008): tällöin on mahdollista havaita lievemmätkin infektiot, joissa parasiitteja on ulosteessa vain vähän. Nämä tekijät lisäävät Flotac® -menetelmän sensitiivisyyttä verrattuna muihin menetelmiin, ja virhenegatiivisten tulosten osuus etenkin lievemmissä infektioissa laskee (Cringoli 2006, Gaglio ym. 2008, Utzinger 2008, Ranjitkar ym. 2009). Flotac® -kammioilla voidaan kvantifioida kaikki yhden ulostegramman sisältämät parasiittielementit (Cringoli 2006).

Flotac® -kammio koostuu runko-osasta, translaatio-, luku- ja pohjalevyistä sekä ruuvista ja avaimesta. Mukana on myös sentrifugointiin ja mikroskopointiin adaptorit, jotka voivat helpottaa laitteen käsittelyä ja testin suoritusta (Cringoli 2006). Flotac® -kammion translaatiolevyn ja avaimen avulla nesteen pintakerros voidaan siirtää laitteen lukulevyllä olevan lukuikkunan kohdalle, missä sitä on helppo tarkastella. Flotac® -kammion lukuikkunan näkymä on kirkas ja selkeä, mikä helpottaa etenkin pienten rakenteiden erottamista (Cringoli 2006).

II Tutkimusosa

Johdanto

Toxoplasma gondii -loisen seroprevalenssia ja ookystaeritystä suomalaisessa kissapopulaatiossa on viimeksi tutkittu 1990-luvulla (Näreaho 1995). Tällöin tutkimusaineistona olivat löytökissat. Serologisessa tutkimuksessa oli mukana 141 ja ulostetutkimuksessa 110 kissaa. Seroprevalenssi oli 44,7 %, ja ookystia löytyi yhdestä kymmenen kissan yhteisnäytteestä. Tämänhetkistä tietoa suomalaisten kissojen seroprevalenssista ei ole.

Tutkimukseni tavoitteena oli selvittää kissojen seroprevalenssia ja ookystaeritystä sekä seropositiivisuuteen vaikuttavia tekijöitä. Tutkimuksessa haluttiin vertailla seroprevalenssia suomalaisissa rotu- ja löytökissapopulaatioissa. Seropositiivisuuteen mahdollisesti vaikuttavina tekijöinä tässä tutkimuksessa tarkasteltiin kissojen ikää, sukupuolta sekä raa'an lihan syömistä. Raa'an lihan syöminen ja seropositiivisuuden yhteyttä suomalaisissa kissoissa ei ole aikaisemmin osoitettu. Osalla tämän tutkimuksen kissoista ruokintatiedot olivat tarkasti saatavilla: raakaa lihaa syövien kissojen seropositiivisuutta pystyttiin vertaamaan kissoihin, jotka eivät koskaan olleet syöneet raakaa lihaa.

Lähtöoletuksena oli, että kissojen seropositiivisuus saattaisi olla tälläkin hetkellä noin 45 %, ja että noin 1 % kissapopulaatiosta erittäisi ookystia ulosteessaan tutkimushetkellä. Koska kissat ovat toksoplasman pääisäntälaji ja voivat levittää infektiota edelleen, on tärkeää tuntea seroprevalenssin lisäksi myös kissojen seropositiivisuuteen vaikuttavia tekijöitä ja näiden tekijöiden yleisyyttä kissapopulaatiossa. Rotukissojen ja löytökissojen seropositiivisuuseroista ei ollut aiempaa tietoa; löytökissat ovat karkumatkoillaan voineet hyvinkin tulla syöneeksi jyrsijöitä tai lintuja, eikä niiden ruokintahistoriasta ole muutenkaan olemassa tietoa; toisaalta rotukissojen omistajat voivat ruokkia lemmikkejään raa'alla lihalla. Sukupuolen ei ole monessa aiemmassa tutkimuksessa todettu vaikuttavan kissojen seropositiivisuuteen (D'Amore ym. 1997, Afonso ym. 2006, Pena ym. 2006). Kissojen

iän karttuessa myös kissan todennäköisyys olla seropositiivinen kasvaa (Dubey & Beattie 1988, Afonso ym. 2006, Pena ym. 2006, Afonso ym. 2007).

1 Aineisto ja menetelmät

1.1 Serologia

Näreahon tutkimuksen (1995) perusteella oletettiin toksoplasman seroprevalenssin olevan 45 %, johon perustuen tämän tutkimuksen tavoiteltu otoskoko 95 %:n luottamusvälillä oli 381 eläintä. Tarvittava otoskoko n laskettiin kaavasta,

$$n = \frac{z^2(p)(1 - p)}{L^2}$$

jossa $z = 1,96$ (95 %:n luottamusvälillä), $p =$ arvioitu prevalenssi, $L =$ luottamusväli jaettuna kahdella. Tutkimuksessa analysoitiin yhteensä 398 kissan seerumi- tai plasmanäytettä toksoplasmaspesifisten IgG-vasta-aineiden varalta. Lisäksi 80 kissalta määritettiin seerumin tai plasman vasta-ainetiitterit. Mukana tutkimuksessa oli 369 rotukissaa, 27 löytökissaa sekä 2 villikissaa. Tutkimusaineiston rotukissat kuuluivat professori Hannes Lohen geenitutkimusprojektiin. Toksoplasmatutkimukseen osallistuvien rotukissojen osalta Lohen tutkimuksessa oli varattu mahdollisuus käyttää osaa kissoista otetuista verinäytteistä loistutkimukseen; toksoplasmatutkimuksessa tutkittujen rotukissojen verinäytteet olivat kaikki tällaisia muussa näytteenotossa ylijääneitä plasmaverinäytteitä. Löytökissojen verinäytteet saatiin Helsingin Eläinsuojeluyhdistykseltä (Hesy) jäännösverinäytteinä; tutkimukseen saatiin ylijääneitä seeruminäytteitä sellaisista Hesylle tulleista kissoista, joista oli Hesyssä otettu muita tutkimuksia varten verinäytteitä. Villikissojen verinäytteet otettiin raadonavauksen yhteydessä. Näytteet oli otettu kissoista keväällä 2009. Serologiset tutkimukset *Toxoplasma gondii* seroprevalenssin määrittämiseksi tehtiin kevään, kesän ja syksyn 2009 aikana. Tutkimukseen asti näytteet säilytettiin pakkasessa -20 °C:n lämpötilassa.

Tutkittujen kissojen ikä- ja sukupuolijakauma sekä tiedot raa'an lihan syönnistä on esitetty taulukossa 1. Nuoriksi määriteltiin sellaiset kissat, jotka olivat syntyneet vuonna

2008 tai sen jälkeen. Tutkimukseen osallistuneiden rotukissojen omistajilta oli kyselykaavakkeella selvitetty, syökö kissa raakaa lihaa tai sisäelimiä. Löytö- ja villikissojen ruokintahistoriasta ei ole vastaavaa tietoa.

Taulukko 1. Kissojen esitiedot

	rotukissat	löytökissat	villikissat	yhteensä
kissoja yhteensä	369	27	2	398
aikuinen	296	26	-	322
nuori	67	1	-	68
ikä ei tiedossa	6	0	2	8
naaras	207	14	-	221
uros	155	13	-	168
sukupuoli ei tiedossa	7	0	2	9
Rotukissojen ruokinta				
syö raakaa lihaa	270			
ei syö raakaa lihaa	77			
raa'an lihan syöminen ei tiedossa	22			

Kissojen seeruminäytteistä tutkittiin toksoplasmalle spesifisten IgG-vasta-aineiden esiintyminen suoralla agglutinaatiomenetelmällä. Määritykseen käytettiin kaupallista Toxo-Screen DA -kittiä (bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, Ranska). Se on alun perin kehitetty humaaninäytteille, mutta sitä on sovellettu onnistuneesti myös eläinlääketieteeseen useilla eläinlajeilla ja sillä on tutkittu myös kissojen seroprevalenssia (Johnson ym. 1989, Näreaho 1995, D'Amore ym. 1997, Meunier ym. 2006, Lopes ym. 2008, Jokelainen ym. 2009b).

Näytteet tutkittiin ohjeen mukaisesti 1/40- sekä 1/4000-laimennoksina. Positiivisena pidettiin tulosta, jonka tiitteri on ≥ 40 , eli kun näyte antaa positiivisen tuloksen 1/40 -laimennoksessa (Johnson ym. 1989).

Testi suoritettiin pakkauksen ohjeen mukaan. Näytteet otettiin ennen testin aloitusta pakastimesta sulamaan huoneenlämpöön. PBS-puskuria pipetoitiin valmiiksi 1/20- sekä 1/2000 -laimennusputkiin (1,9 ml ja 2,5 ml) jokaista näytettä kohti. Heti testin aluksi pipetoitiin antigeenikontrollikaivoihin 25 µl PBS-liuosta.

Jokaista näytettä pipetoitiin 100 µl näytteelle varattuun 1/20-laimennusputkeen. Tästä laimennusputkesta pipetoitiin 25 µl sekä testilevylle näytteen ensimmäiseen kaivoon että 1/2000-laimennusputkeen. 1/2000-laimennusputkesta pipetoitiin vielä samoin 25 µl testilevyn toiseen kaivoon. Ennen pipetointeja jokainen putki sekoitettiin hyvin koeputkisekoittajalla. Positiivinen ja negatiivinen kontrolliliuos pipetoitiin samoin kuin näytteet; negatiivinen kontrolli pipetoitiin ensin. Jokaiseen testilevyn kaivoon lisättiin 25 µl merkaptotetanoliamia, ja viimeiseksi jokaiseen kaivoon 50 µl erittäin hyvin sekoitettua antigeeniliuosta. Lopulliseksi näytteiden laimennussuhteeksi testilevyjen kaivoissa tuli näin ollen 1/40 (ensimmäinen kaivo) ja 1/4000 (toinen kaivo). Levyt peitettiin tarrarkilla ja vietiin laboratoriorakennuksen alakertaan kivipöydälle inkuboitumaan huoneenlämmössä; inkubointipaikka pyrittiin valitsemaan siten, että kaikenlainen testilevyihin kohdistuva värinä olisi minimoitu. Värinä saisi aikaan sen, että positiivisessa reaktiossa muodostuva agglutinoituva matto ”romahtaa” kasaan, ja tulosta on vaikea tulkita. Näytteiden annettiin inkuboitua 18 tuntia, jonka jälkeen tulokset luettiin. Tulosten lukija oli sama kaikkien näytteiden osalta.

Tiitteritutkimus tehtiin joko näytteen 1/40- tai 1/4000 -laimennoksesta riippuen siitä oliko screenin tulos positiivinen molemmissa laimennoksissa vai vain 1/40 -laimennoksessa. Ensimmäiseksi kaikkien testilevylle tulevien näytteiden kaivoihin pipetoitiin 50 µl merkaptotetanoliamia. Jokaista näytelaimennosta (joko 1/20- tai 1/2000-laimennusputkesta) pipetoitiin 25 µl testilevylle ensimmäiseen kaivoon; tämän jälkeen kaivosta 1. siirrettiin 25 µl kaivoon 2; ja samoin kaivosta 2. kaivoon 3; kaivosta 3. kaivoon 4; ja lopuksi vielä 25 µl pois kaivosta 4, jolloin saatiin konsentraatioltaan laskeva laimennossarja. Antigeenikontrolli sekä positiivinen ja negatiivinen kontrolli tehtiin tiittereiden yhteydessä samoin kuten screenissä. Lopuksi lisättiin jokaiseen näytteeseen ja kontrolliin 50 µl antigeeniliuosta. Näytteet inkuboitiin ja tulokset luettiin samoin kuin screenissä.

Tiitteritutkimukseen valittiin ensimmäiset tutkitut positiiviset 80 näytettä, joissa oli riittävästi seerumia jäljellä.

Tulosten tilastollisessa vertailussa käytettiin OpenEpi -tilasto-ohjelman chi-neliötestiä (Dean ym. 2009). Tulosten eroa pidettiin tilastollisesti merkitseväenä p-arvoilla <0,05.

1.2 Ulostetutkimus

Koska noin 1 % kissapopulaatiosta erittää *Toxoplasma gondii* -ookystia ulosteessaan (Hill & Dubey 2002), voidaan olettaa, että 100 tutkittavan kissan populaatiosta yksi kissa erittäisi toksoplasmaookystia tutkimushetkellä.

Tässä tutkimuksessa analysoitiin 131 kissan ulostenäyte. Tutkituista ulostenäytteistä yksilönäytteitä oli 76 kpl, ja kahden tai useamman kissan yhteisnäytteitä oli 21 kpl. Näytteitä kerättiin Helsingistä Hesyn löytökissojen sekä Viikin löytöeläintalon löytökissojen hiekkalaatikoista. Lisäksi saatiin ulostenäyte yhdeltä villikissalta raadonavauksen yhteydessä. Tutkimukseen saatiin ulostenäytteitä myös Vaasasta Koiratarha Kulkurista ja Rovaniemeltä Eläinlaitos Kiepiä. Helsingistä tutkittuja kissoja oli yhteensä 117 kpl, Vaasasta 12 kpl ja Rovaniemeltä 2 kpl. Tutkituissa kissoissa oli kaikenikäisiä kissoja, pentuja, aikuisia sekä selvästi iäkkäitä. Ulostenäytteet kerättiin ja tutkittiin kesän 2009 aikana. Tutkimuksessa käytettiin korkeintaan seitsemän päivää vanhoja ulostenäytteitä. Ulostenäytteet säilytettiin keräämisen ja tutkimisen välisen ajan jääkaapissa +4 °C:n lämpötilassa.

Kunkin kissan ulostetta punnittiin 5 g kahteen erilliseen muovimukiin. Tutkimusta jatkettiin siten, että näitä rinnakkaisnäytteitä ei sekoitettu keskenään missään työvaiheessa, ja samat työvaiheet suoritettiin molemmille rinnakkaisnäytteille. Punnitusta näytteestä tehtiin 1/10 -laimennos lisäämällä mukiin mittalasilarkkuudella 45 ml hanavettä. Seos homogenoitiin lusikalla sekoittaen. Homogenoitu suspensio siivilöitiin teesiivilän läpi puhtaaseen muovimukiin. Siivilöidystä suspensiosta pipetoitiin yhteensä 10 ml suspensiota koeputkeen. Koeputkeen tehtiin tussilla merkintä nestepinnan korkeuden merkiksi.

Näytteet sentrifugoitiin koeputkissa 2 min 1500 rpm, jonka jälkeen supernatantti kaadettiin pois. Jokainen koeputki täytettiin flotaationesteellä 10 ml:n tilavuuteen siten, että nestepinta tuli koeputkeen piirretyn mekin kohdalle. Koeputken pohjalle painunut näyte sekoitettiin flotaationesteeseen, ja koeputken sisällöstä siirrettiin sitten 5 ml kertakäyttöisellä muovisella Pasteur-pipetillä toiseen Flotac® -kammion kahdesta flotaatiokaivosta; samoin 5 ml toisesta rinnakkaisnäytteistä siirrettiin toiseen kaivoon. Molemmat kaivot täytettiin aivan täyteen asti ennen sulkemista. Ilmakuplat pyrittiin saamaan pois ennen kaivon sulkemista.

Flotaatiokammioita sentrifugoitiin 5 min 1000 rpm. Toisinaan tämän sentrifugoinnin seurauksena jostakin kaivosta oli vuotanut hiukan nestettä ulos, joten jokainen flotaatiokaivo käytiin vielä läpi ja lisättiin vajaisiin kaivoihin flotaationestettä niin, että ne täyttyivät. Flotac® -kammion translaatiolevyä käännettiin avaimen avulla siten, että nesteen pintakerros tuli lukuikkunaan. Ennen levyjen lukemista niistä poistettiin ruuvi ja avainosa mikroskooppinäkömön parantamiseksi. Kammiot mikroskopoitettiin valomikroskoopilla 200-kertaisella suurennoksella siten, että jokainen lukuikkunoiden viivojen välinen alue levyllä käytiin läpi.

Ulostenäytteiden osalta analyysit tehtiin semikvantitatiivisesti. Näytteitä punnittiin testiin noin 5 g, ja vaihteluvälinä oli 4,98-5,03 g. Kaksi ulostenäytteistä oli vajaampia: 3,03 g ja 4,92 g.

2 Tulokset

2.1 Serologisen tutkimuksen tulokset

Toksoplasman seroprevalenssiksi koko tutkitussa kissapopulaatiossa saatiin 48,2 % (Taulukko 2), mikä oli lähellä oletettua 45 %:n seroprevalenssia.

Rotukissoista seroposiitivisia oli 49,9 %, kun taas löytökissoista vain 25,9 % ($P < 0,05$).

Taulukko 2. Seroprevalenssi

	kissoja/ lkm	sero- posi- tiivisia/ lkm	%	95 %:n luottamus- väli (%)	sero- nega- tiivisia / lkm	%	95 %:n luottamus- väli(%)
yhteensä	398	192	48,2	43,4-53,2	206	51,8	46,9-56,7
rotukissat	369	184	49,9	44,8-55,0	185	50,1	45,0-55,2
löytökissat	27	7	25,9	12,1-44,7	20	74	55,3-87,9
villikissat	2	1	50	2,5-97,5	1	50	2,5-97,5

Tutkimuksessa sukupuoli oli tiedossa 389 kissalta. Naaraiden seroprevalenssi oli 48,9 %, ja urosten 47,6 % ($P>0,05$). Sukupuolten seroprevalenssijakauma on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. Seropositiivisuuden sukupuolijakauma

	seroposi- tiivinen		Yhteensä	seropositiivisten osuus (%)	95 %:n luottamusväli (%)
	(+)	(-)			
naaras	108	113	221	48,9	42,3-55,5
uros	80	88	168	47,6	40,1-55,2
yhteensä	188	201	389	48,3	43,4-53,3

Ikä oli tiedossa 390 kissalta. Aikuisista kissoista 53,7 % oli seropositiivisia, mutta nuorista kissoista vain 23,5 % ($P<0,001$). Iän seroprevalenssijakauma on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Seropositiivisuus ikäryhmittäin

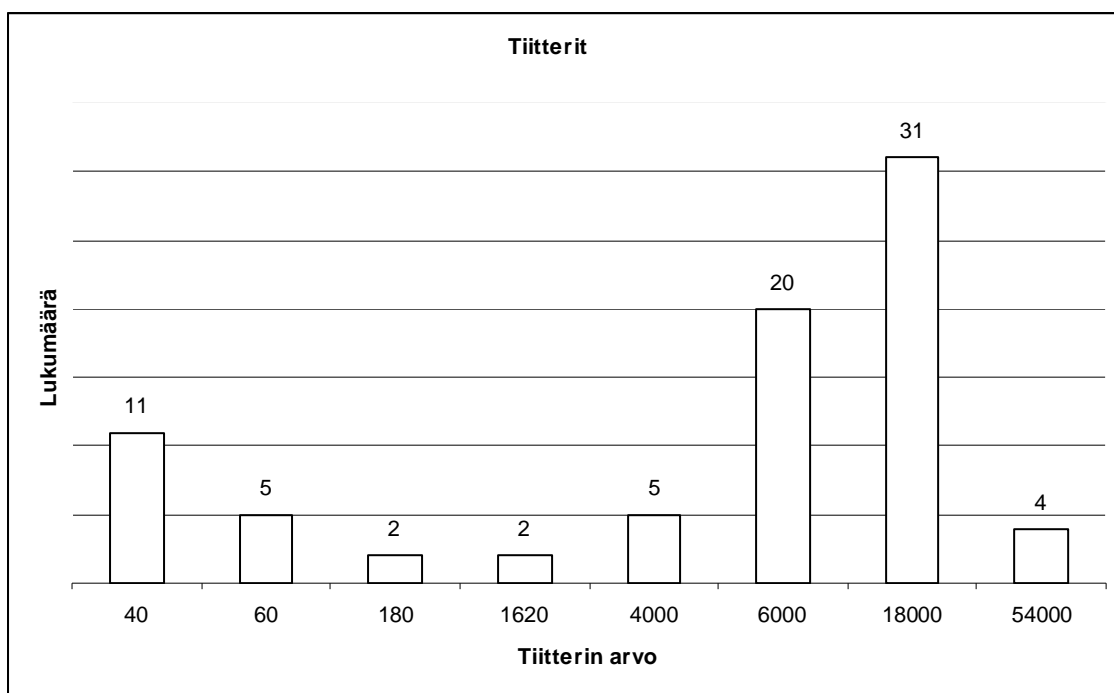
	seropositiivinen		Yhteensä	seropositiivisten osuus (%)	95 %:n luottamusväli (%)
	(+)	(-)			
aikuinen	173	149	322	53,7	48,3-59,1
nuori	16	52	68	23,5	14,6-34,7
yhteensä	189	201	390	48,5	43,5-53,4

Tutkimuksessa selvitettiin raa'an lihan syömisen ja seropositiivisuuden yhteyttä kissoilla (Taulukko 5). Raa'an lihan syönnistä oli tiedot 347 kissasta, ja näistä kaikki olivat rotukissoja; näistä kissoista 77,8 %:a oli ruokittu jossain elämänsä vaiheessa raa'alla lihalla. Raakaa lihaa syöneistä kissoista seropositiivisia oli 55,9 %. Kissoista, joita ei ollut ruokittu raa'alla lihalla, seropositiivisia oli 33,8 % (P<0.001).

Taulukko 5. Seropositiivisuus ja raa'an lihan syönti

	seropositiivinen		syö raakaa lihaa (%)	seropositiivisten osuus (%)	95 %:n luottamusväillä seropositiivisia (%)	
	(+)	(-)				
syö raakaa lihaa (+)	151	119	270	77,8	55,9	50,0-61,8
(-)	26	51	77	22,2	33,8	23,9-44,9
	177	170	347		33,7	28,9-38,8

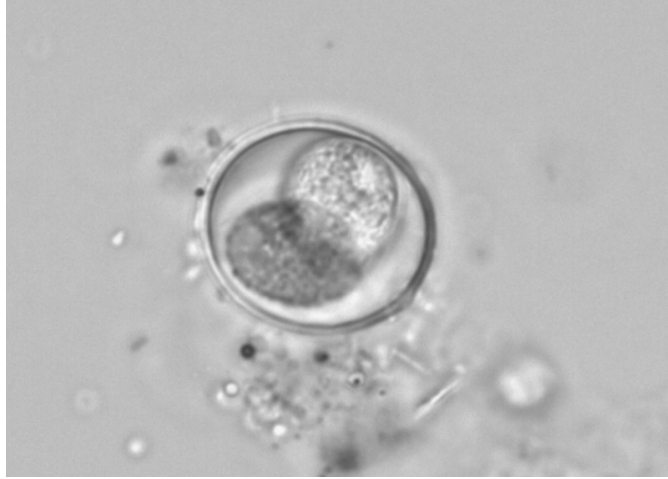
Tiitteritutkimuksen tulokset on esitetty kuvassa 1 (Kuva 1.). 80 analysoidusta näytteestä 11:sta vasta-ainetiitterit saivat arvon 40; 14 näytteessä tiittereiden arvot olivat välillä 60-4000 ja 55:ssä 6000 tai enemmän. Kaikista korkeimpiakin vasta-ainetasoja (54000) löytyi neljästä näytteestä. Tiitterin arvoa 18000 vastaavat vasta-ainepitoisuudet löytyi 31 näytteestä, ja tiitterin arvoa 6000 vastaavat pitoisuudet 20 näytteestä. Kaiken kaikkiaan tutkituissa näytteissä vasta-ainepitoisuudet näyttivät olevan melko korkeita.



Kuva 1. Vasta-ainetiitterit

2.2 Ulostetutkimuksen tulokset

Kahdesta Helsingistä saadusta ulostenäytteestä löytyi *Toxoplasma*-tyyppisiä ookystia (Kuva 2.). Toinen näyte oli kahden nuoren kissan yhteisnäyte (Hesy) ja toinen oli aikuisen naaraskissan näyte (Viikin löytöeläintalo). Positiivisen yhteisnäytteen antaneiden kissojen ulostenäytteitä seurattiin myöhemmin, ja kaksi toiselta kissoista otetuista ulostenäytteistä osoittautuivat negatiivisiksi tavallisella flotaatiotutkimuksella. Erittäjäkissa jouduttiin lopettamaan, ja se paljastui myöhemmin FIV-positiiviseksi. Tutkitusta 131 kissan populaatiosta siis 2 kissaa eritti ookystia. Ookystien erittämisen prevalenssi populaatiossa oli 1,5 %.



Kuva 2. Toksoplasman kaltainen ookysta ulostetutkimuksesta.

3 Pohdinta

Tämän tutkimuksen tulokset sekä *Toxoplasma gondii* seroprevalenssista kissoilla (48,2 %) että kissojen ookystien erityksestä (1,5 % populaatiosta) ovat samansuuntaisia kuin muuallakin lähivuosina saadut tulokset: seroprevalenssit Miró ym. (2004), Meunier ym. (2006), Pena ym. (2006), Lopes ym. (2008) tutkimuksissa ovat vaihdelleet 32,3-42,0 %, ja ookystia on todettu samoissa tutkimuksissa 0-1,3 %:lla tutkitusta kissapopulaatiosta. Näreahon (1995) tulos suomalaisten kissojen seroprevalenssista (44,7 %) on kuitenkin lähinnä tässä tutkimuksessa saatuja tuloksia.

Tässä tutkimuksessa ei havaittu tilastollisesti merkitsevää sukupuolieroja kissojen seropositiivisuudessa. Sukupuolta ei ole aina pidetty merkitsevänä tekijänä kissojen seropositiivisuuden kannalta; osassa tutkimuksista ei ole todettu eroa seroprevalensseissa uros- ja naaraskissojen välillä (Afonso ym. 2006, Pena ym. 2006, D'Amore ym. 1997). Toisinaan taas on raportoitu uroskissoilla korkeampi seroprevalenssi kuin naaraskissoilla (Miro ym. 2004, Afonso ym. 2007). Syiksi on arveltu pelkästään metsästämyllä elävissä villikissapopulaatioissa sitä, että urokset saattavat useammin metsästää suurempia, todennäköisemmin infektoituneita saaliseläimiä kuin naaraat, ja urokset myös suuremman kokonsa puolesta joutuvat metsästäämään enemmän (Afonso ym. 2007). Tässä tutkimuksessa valtaosa kissoista oli lemmikkikissoja. Löytökissojen historiasta ei voida olla varmoja, mutta koska suurin

osa Hesyn löytökissoista on tottuneita ihmisiin, voidaan olettaa, etteivät ne ole eläneet täysin villeinä. Todennäköisesti lemmikkikissoilla naaraita ja uroksia ruokitaan samoin periaattein ja samoilla ruuilla, jolloin ruokinnasta aiheutuva sukupuoliero seropositiivisuudessa tasoittuu.

Kissan iällä oli tässä tutkimuksessa merkitystä seropositiivisuuteen; aikuisilla kissoilla prevalenssi oli korkeampi kuin nuorilla kissoilla. Samaan tulokseen on päädytty muissakin tutkimuksissa (Dubey & Beattie 1988, Afonso ym. 2006, Pena ym. 2006, Afonso ym. 2007). Vanhemmat kissat ovat nuorempia todennäköisemmin ehtineet kohdata loisen jossain elämänsä vaiheessa ja saada tartunnan. Pienillä, noin yhden kuukauden ikäisillä kissanpennuilla voi olla emon ternimaidosta saatuja IgG-vasta-aineita veressään, mutta nämä vasta-aineet häviävät pennuilta 2-4 kuukauden ikään mennessä (Afonso ym. 2006).

Villikissoja oli tässä aineistossa vain kaksi, joten otoskoko on liian pieni villikissapopulaation seroprevalenssin tilastolliseen tarkasteluun. Tässä tutkimuksessa löytökissojen seroprevalenssi (25,9 %) oli huomattavasti matalampi kuin rotukissojen (49,9 %). Tämä ero oli myös tilastollisesti merkitsevä. Vaikka voitaisiinkin olettaa, että löytökissat ovat tavallisemmin monirotuaisia, ”tavallisia” kotikissoja kuin puhtasrotuisia kissoja, ei pelkästään kissojen rotua voida pitää seropositiivisuuden eroa selittävänä tekijänä: kissojen rodun ei ole aikaisemmin todettu vaikuttavan seropositiivisuuteen (Lopes ym. 2008). Rotua todennäköisempinä tekijöinä ovat muut rotukissojen ja löytökissojen pitoon liittyvät tekijät, kuten kissojen ulkoilu ja ruokinta. Näreahon (1995) tutkimuksessa koko tutkittu kissapopulaatio oli pääasiassa löytökissoja, ja seropositiivisia oli 44,7 %. Voisikin olettaa, että tässä tutkimuksessa myös löytökissojen seroprevalenssi olisi ollut suurempi, mikäli otoskoko olisi ollut suurempi.

Tutkimuksen yhteydessä rotukissojen omistajilta kysyttiin, saavatko kissat syödä raakaa lihaa tai sisäelimiä. Positiiviseksi vastaukseksi riitti, jos kissa oli yhdenkin kerran elämässään saanut raakaa lihaa. Tulosten perusteella raa'an lihan tai sisäelinten syöminen korreloi kissoilla tilastollisesti merkitsevästi toksoplasmaseropositiivisuuden kanssa. Nämä tulokset ovat samanlaisia kuin Lopes ym. (2008) saivat Portugalissa tehdyssä tutkimuksessa: ruokavalion havaittiin merkittävästi vaikuttavan seropositiivisuuteen. Lisäksi tässä tutkimuksessa kissojen omistajien vastausten

perusteella jopa 77,8 %:a rotukissoista oli ruokittu raa'alla lihalla. Nämä tulokset ovat merkittäviä, koska kuduskystista saadut toksoplasmatartunnat ovat kissoille todennäköisin tapa saada toksoplasmatartunta (Dubey ym. 1998, Dubey 2006), ja nimenomaan tätä toksoplasman elämänkierron vaihetta kissanomistajien on paitsi mahdollista, myös helppoa hallita.

Voisi ajatella, että kotoaan karanneita löytökissoja ei ole ehkä vahdittu yhtä tarkasti kuin rotukissoja, ja että ne ovat saattaneet normaalissakin elämässään kulkea rotukissoja enemmän vapaana ulkona, jolloin niillä olisi ollut mahdollista saalistaa ja saada tartunta luonnonvaraisista pienjyrsijöistä ja linnuista. Aiemmissä tutkimuksissa kulkukissojen ja ulkona liikkuvien lemmikkikissojen seroprevalenssit ovat yleensä korkeammat kuin kokonaan sisällä elävien lemmikkikissojen (Miró 2004, Pena ym. 2006, Lopes ym. 2008). Tässä tutkimuksessa tutkitut löytökissat ovat Helsingin alueelta. Voidaan ehkä olettaa, että ne ovat todennäköisemmin sisäkissoja kuin esimerkiksi maaseudulla löytöeläintaloihin päätyvät kissat. Siinä tapauksessa voitaisiin ajatella, etteivät tutkitut löytökissat olisi ulkonaliikkumisensa puolesta olleet rotukissoja suuremmassa riskissä saada toksoplasmatartunta. Rotukissojen taas voisi olettaa olevan pääasiassa sisäkissoja tai liikkuvan ulkona ainoastaan valvotusti esimerkiksi ulkotarhoissa, jolloin niilläkin voisi siten olla rajallisia mahdollisuuksia saalistaa myös luonnossa esimerkiksi pikkulintuja.

Rotukissojen omistajat ehkä hemmottelevat lemmikkejään löytökissojen omistajia useammin raa'alla lihalla. Tämä voisi selittää rotukissojen korkeamman seroprevalenssin. Tuotantoeläimistä lampaan ja sian lihassa voi olla runsaastikin toksoplasman kuduskystia, eikä niitä kontrolloida Suomessa lihantarkastuksen yhteydessä mitenkään (Dubey 1996b, Jokelainen ym. 2009b). Ruokinnan merkitystä on tutkittu ennenkin: purkkiruokaa syöville sisäkissoilla seroprevalenssi on matalampi kuin kissoilla, jotka saavat syödä raakaa lihaa tai jotka voivat liikkua luonnossa ja saalistaa (Pena ym. 2006, Lopes ym. 2008). Pelkkä sisäkissana pitäminen ei siis näyttäisi suojaavan kissaa toksoplasmatartunnalta; ruokinta vaikuttaa merkittävästi tartuntariskiini myös sisäkissoilla.

Tiitteritutkimuksessa mukana olleiden näytteiden vasta-ainepitoisuudet olivat melko korkeita: 69 % tutkituista näytteistä antoi IgG-vasta-ainetiitterilukeman 6000 tai yli.

Tiitteritutkimuksen näytteistä 39 %:ssa tiitterilukema oli 18000, ja 25 %:ssa 6000. Tiitterin arvo ei kuitenkaan kerro infektion vakavuudesta, ja vasta-aineiden muodostuminen on yksilöllistä (Dubey ym. 1995, Afonso ym. 2006), mutta hyvin korkea tiitteri voi olla viite äskettäin saadusta infektiosta.

Osa tutkimuksen seeruminäytteistä jouduttiin analysoimaan uudelleen, koska tuloksia lukiessa negatiiviset kontrollit antoivat positiivisen tuloksen. Näillä näytelevyillä myös jotkin varsinaisista näytteistä antoivat virheellisesti positiivisia tuloksia. Samat näytteet analysoitiin uudelleen ja tulokset katsottiin luettaviksi, kun samojen levyjen negatiiviset kontrollit olivat negatiivisia, positiiviset positiivisia ja antigeenikontrollit painuivat nappina pohjalle antaen negatiivisen tuloksen. Serologisissa määrityksissä virhepositiivisia tuloksia on voinut aiheuttaa esimerkiksi käytetyn PBS-liuoksen pH. Toxo-Screen DA -testin pakkauksen ohjeen mukaan tehtynä PBS-liuoksen pitäisi olla neutraali, ja antigeenin puskuriliuoksen emäksinen (pH 8,95). Lopullisen pH:n kaivoissa tulisi olla lievästi emäksinen: jos puskuriliuos on liian hapan, voi tapahtua spontaania agglutinoitumista ja voidaan saada virhepositiivisia tuloksia (Desmonts & Remington 1980). Mahdollinen virhelähde on voinut olla myös huolimattomassa pipetoinnissa, jos esimerkiksi positiivisen näytteen pipetoinnin aikana näytettä olisi roiskahtanut pienikin pisara jonkin negatiivisen näytteen kaivoon. Tämä on kuitenkin epätodennäköisempää, sillä todennäköisesti tällaisen virheen olisi huomannut pipetoinnin yhteydessä. Lisäksi samat virhepositiiviset tulokset toistuivat toisenkin kerran negatiivisten kontrollien kohdalla, ja virhe poistui kun analyysissä käytettiin uutta PBS-puskuria. Toisaalta on epäselvää, miksi jotkin näytteistä olivat virheellisillä levyillä silti negatiivisia; jos PBS-puskuri on ollut virhelähteenä, sen luulisi vaikuttavan kaikkiin näytteisiin samalla lailla.

Ulostenäytetutkimuksen mukaan 1,5 % suomalaisista kissoista erittää ookystia tietyllä hetkellä. Tämä tulos oli odotetunlainen. Tulokseen saattoi vaikuttaa onnistunut analyysimenetelmän valinta; *Toxoplasma gondii* -ookystat ovat vain 10 x 12 µm kokoisia (Dubey & Beattie 1988, Montoya & Liesenfeld 2004), joten Flotac® -menetelmä soveltuu sensitiivisyytensä takia erinomaisesti toksoplasman ookystien määrittämiseen. Flotac® -menetelmässä mikroskooppinäkyminen on lisäksi melko kirkas, joten pienetkin rakenteet erottuvat hyvin. Ulosteen ja flotaationesteen suspension

käsittelyssä oli käytännössä mahdotonta saada kaikista ulostenäytteistä yhtä suuret osuuden ulostetta päätyämään lopulliseen mikroskoopilla tarkasteltavaan liukseen.

Tämän tutkimuksen perusteella lähes puolet suomalaisista kissoista on toksoplasmaerpositiivisia, eli ne ovat jossain vaiheessa elämäänsä erittäneet runsaasti ookystia. Ookystat voivat kissojen ulosteen mukana ja esimerkiksi valumavesien ja vektoreiden sekä tuotantoeläinten tai riistan lihan välityksellä päätyä kissan reviiristä riippuen laajoillekin alueille, jolloin ne muodostavat myös ihmisille infektoriskin. Tämän vuoksi olisi syytä miettiä keinoja, joilla voitaisiin vähentää ympäristön ookystakuormitusta. Suomalaisten kissojen seroprevalenssissa ei näyttäisi tapahtuneen merkittävää muutosta viimeisen 15 vuoden aikana, joten voidaan olettaa, että tilanne pysyy samana jatkossakin mikäli kissojen pito-olosuhteissa ja ruokinnassa ei tapahdu muutoksia. Raa'an lihan syöttäminen on tämän tutkimuksen mukaan kissalle selkeä riskitekijä saada toksoplasmatartunta; samaan aikaan näyttäisi siltä, että enemmistöä lemmikkikissoista ruokitaan raa'alla lihalla tai sisäelimillä. Voidaan olettaa, että ruokintatottumuksia muuttamalla myös suomalaisten kissojen seropositiivisuusaste lähtee laskuun. Jatkossa olisi hyvä kiinnittää entistä enemmän huomiota ja kohdistaa tutkimusta siihen, miten kissoille voitaisiin tarjota lihaa siten, että toksoplasmatartunnan riski olisi mahdollisimman vähäinen ja toisaalta kissat saisivat lihasta tarvitsemansa ravintoaineet. Jos kissalle haluaa antaa lihaa, sen voi ensin pakastaa tai kypsentää, jolloin bradytsoiitit kuolevat (Hill & Dubey 2002). Kissat olisi hyvä pitää sisällä mikäli mahdollista, jolloin niiden riski saada toksoplasmatartunta saaliselämästä luonnosta olisi pienempi. Kissanomistajien oma toiminta näyttäisi vaikuttavan suuresti siihen infektoriskiin, minkä kissa ookystien tuottajana aiheuttaa omassa elinympäristössään; kissan ruokinta ja sen vapaan ulkonaliikkumisen rajoittaminen ovat kissanomistajien valinnassa ja vastuulla.

Kiitokset

Haluan kiittää kaikkia tutkimukseeni näytteitä toimittaneita tai näytteenotossa avustaneita tahoja yhteistyöstä. Suuri kiitos kuuluu ohjaajilleni Anu Näreaholle ja Pikka

Jokelaiselle esimerkillisestä ohjauksesta projektin aikana. Rakas kiitos myös Juholle avusta kirjoitusongelmissa sekä tuesta ja kannustuksesta.

Kirjallisuusluettelo

Afonso E, Thulliez P, Gilot-Fromont E. Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). International Journal for Parasitology 2006, 36: 1373-1382.

Afonso E, Thulliez P, Pontier D, Gilot-Fromont E. Toxoplasmosis in prey species and consequences for prevalence in feral cats: not all prey species are equal. Parasitology 2007, 134: 1963-1971.

Cringoli G. Flotac®, a novel apparatus for a multivalent faecal egg count technique. Parassitologia 2006, 48: 381-384.

D'Amore E, Falcone E, Busani L, Tollis M. A serological survey of feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* in stray cats. Veterinary Research Communications 1997, 21: 355-359.

Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 2.3. www.OpenEpi.com, updated 2009/20/05, accessed 2010/04/19.

Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and spesify. Journal of Clinical Microbiology 1980, 11: 562-568.

Dubey JP. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. The Journal of Parasitology 1995, 81: 410-415.

Dubey JP. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. The Journal of Parasitology 1996a, 82: 957-961.

Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. Veterinary Parasitology 1996b, 64: 65-70.

Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. International Journal for Parasitology 1998, 28: 1019-1024.

Dubey JP. Unexpected oocyst shedding by cats fed *Toxoplasma gondii* tachyzoites: In vivo stage conversion and strain variation. Veterinary Parasitology 2005, 133: 289-298.

Dubey JP. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. Veterinary Parasitology 2006, 140: 69-75.

Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press Inc, Boca Raton 1988.

Dubey JP, Lappin MR, Kwok OCH, Mofya S, Chikweto A, Baffa A, Doherty D, Shakeri J, Macpherson CML, Sharma RN. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and concurrent infections in cats from Grenada, West Indies. The Journal of Parasitology 2009a, 95: 1129-1133.

Dubey JP, Lappin MR, Thulliez P. Long-term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. The Journal of Parasitology 1995, 81: 887-893.

Dubey JP, Lindsay DS, Lappin MR. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice 2009b, 39: 1009-1034.

Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clinical Microbiology Reviews 1998, 11: 267-299.

Dubey JP, Mattix ME, Lipscomb TP. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. *Veterinary Pathology* 1996, 33: 290-295.

Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science* 1970, 167.

Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1975, 24: 439-443.

Frenkel JK, Smith DD. Immunization of cats against shedding of *Toxoplasma* oocysts. *Journal of Parasitology* 1982a, 68: 744-748.

Frenkel JK, Smith DD. Inhibitory effects of monensin on shedding of *Toxoplasma* oocysts by cats. *Journal of Parasitology* 1982b, 68: 851-855.

Freyre A, Choromanski L, Fishback JL, Popiel I. Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites, and tachyzoites of the T-263 strain of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Parasitology* 1993, 79: 716-719.

Gaglio G, Cringoli G, Rinaldi L, Brianti E, Giannetto S. Use of the Flotac technique for the diagnosis of *Aelurostrongylus abstrusus* in the cat. *Parasitology Research* 2008, 103: 1055-1057.

Gagne SS. Toxoplasmosis. Primary Care Update for Ob/Gyns 2001, 8: 122-126.

Garcia JL, Navarro IT, Biazzono L, Freire RL, Guimarães JSJr (Jose da Silva Junior), Cryssafidis AL, Bugni FM, da Cunha IAL, Hamada FN, Dias RCF. Protective activity against oocyst shedding in cats vaccinated with crude rhoptry proteins of the *Toxoplasma gondii* by the intranasal route. *Veterinary Parasitology* 2007, 145: 197-206.

Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology & Infection* 2002, 8: 634-640.

Innes EA, Bartley PM, Maley S, Katzer F, Buxton D. Veterinary vaccines against *Toxoplasma gondii*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2009, 104: 246-251.

Johnson J, Duffy K, New L, Holliman RE, Chessum BS, Fleck DG. Direct agglutination test and other assays for measuring antibodies to *Toxoplasma gondii*. Journal of clinical pathology 1989, 42: 536-541.

Jokelainen P, Sihvo H-K, Simola O, Näreaho A, Sukura A. Direct genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from three cases of fatal toxoplasmosis in cats. 10th International Congress on Toxoplasmosis, Kerkrade, The Netherlands, 2009a: 125.

Jokelainen P, Näreaho A, Knaapi S, Oksanen A, Sukura A. *Toxoplasma gondii* in wild ruminants and sheep in Finland: north-south gradient in seroprevalence. Veterinary Parasitology 2010 in press: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.008>

Kijlstra A, Jongert E. *Toxoplasma*-safe meat: close to reality? Trends in Parasitology 2008, 25: 18-22.

Lopes AP, Cardoso L, Rodrigues M. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. Veterinary Parasitology 2008, 155: 184-189.

Malmasi A, Mosallanejad B, Mohebbali M, Fard MS, Taheri M. Prevention of shedding and re-shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts in experimentally infected cats treated with oral clindamycin: a preliminary study. Zoonoses and Public Health 2009, 56: 102-104.

Mateus-Pinilla NE, Dubey JP, Choromanski L, Weigel RM. A field trial of the effectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine. Journal of Parasitology 1999, 85: 855-860.

Meunier V, Jourda S, Deville M, Guillot J. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in serum and aqueous humor samples from cats with uveitis or systemic diseases in France. *Veterinary Parasitology* 2006, 138: 362-365.

Miró G, Montoya A, Jiménez S, Frisuelos C, Mateo M, Fuentes I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Veterinary Parasitology* 2004, 126: 249-255.

Montoya JG, Liesenfeld. Toxoplasmosis. *The Lancet* 2004, 363: 1965-1976.

Nelson RW, Couto CG, Grauer GF, Hawkins EC, Johnson CA, Lappin MR, Scott-Moncrieff JCR, Taylor SM, Ware WA, Watson PJ, Willard MD. *Small Animal Internal Medicine*. 4.p. Mosby Elsevier, St. Louis 2009.

Pena HFJ, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: Seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Research in Veterinary Science* 2006, 81: 58-67.

Ranjitkar AS, Al-Jubery A, Mohamed A, Nejsun P, Roepstorff A. Comparison of three flotation methods for counting eggs in faeces. 3rd Symposium of the Scandinavian and Baltic Society for Parasitology, 16th-18th April 2009, Riga, Latvia. (Abstract)

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Veterinary Parasitology*. 3.p. Blackwell Publishing, Oxford 2007.

Utzinger J, Rinaldi L, Lohourignon LK, Rohner F, Zimmermann MB, Tschannen AB, N'Goran EK, Cringoli G. Flotac: a new sensitive technique for the diagnosis of hookworm infections in humans. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2008, 102: 84-90.