

*Toxoplasma gondii* – alkueläimen esiintyvyys  
suomalaisissa lampaissa

Suvi Knaapi

Lisensiaatin tutkielma

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Patologian ja parasitologian oppiaine

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

2011



Tiedekunta - Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto	
Tekijä - Författare – Author Suvi Knaapi			
Työn nimi - Arbetets titel – Title <i>Toxoplasma gondii</i> – alkueläimen esiintyvyys suomalaisissa lampaissa			
Oppiaine - Läroämne – Subject Patologian ja parasitologian oppiaine			
Työn laji - Arbetets art – Level Lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum – Month and year Huhtikuu 2011	Sivumäärä - Sidoantal – Number of pages 44	
Tiivistelmä - Referat – Abstract			
<p>Lisensiaatin tutkielma koostuu kirjallisuuskatsauksesta, jossa käsitellään <i>Toxoplasma gondii</i> – alkueläintä ja sen vaikutusta lampaisiin ja ihmisiin sekä kokeellisesta osasta, jossa tutkittiin <i>T. gondii</i> – alkueläin vasta-aineiden esiintyvyyttä lampailla Suomessa.</p> <p><i>T. gondii</i> on laajalle levinnyt zoonoottinen alkueläin, jonka pääisäntinä toimivat kissaeläimet ja väli-isäntinä lähes kaikki tasalämpöiset eläimet. <i>T. gondii</i> voi aiheuttaa vakavia seurauksia mm. lampaalle sekä ihmiselle. Toksoplasmoosi aiheuttaa lampaalle ohimenevän kuumeen sekä mahdollisesti abortointeja ja sikiökuolemia, mikäli tartunta on saatu tiineyden aikana. <i>T. gondii</i> – alkueläimen aiheuttamat infektiot ovat hyvin yleisiä ihmisillä, mutta kliininen tauti rajoittuu suurilta osin riskiryhmiin. Raskauden aikana saatu toksoplasmoosi voi aiheuttaa sikiövaurioita myös ihmisellä. <i>T. gondii</i> - alkueläimellä infektioitunut lampaanliha on eräs mahdollinen lähde ihmisten tartunnoille.</p> <p>Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen, EFSA, suosittelee, että loista tulisi alkaa monitoroida lampailla, kun sopivat serologiset menetelmät ovat saatavilla. <i>T. gondii</i> - alkueläimen esiintyvyydestä lampailla Suomessa ei ole aiempaa tietoa, mutta sen oletettiin olevan samankaltainen kuin muissa Pohjoismaissa. Ruotsissa alkueläintä löytyi 19 % lampaista ja Norjassa 16 %.</p> <p><i>T. gondii</i> – alkueläimen esiintyvyys määritettiin tutkimalla 1940 lammasseerumia kaupallisella suoralla agglutinaatiotestillä (Toxo-Screen DA). Näytteet ovat kerätty ympäri Suomea 97 tilalta ja jokaiselta tilalta tutkittiin 20 näytettä. Käytetty testi havaitsee IgG- luokan <i>T. gondii</i> vasta-aineet seeruminäytteestä agglutinaation avulla.</p> <p><i>T. gondii</i> – vasta-aineita löytyi maan laajuisesti 477 lampaalta 1940 tutkitusta eli seroprevalenssi on 24,6 %. Tuloksen 95 %:n luottamusväli on 22,7% – 26,5%. Matalin esiintyvyys alkueläimellä oli Lapin läänissä ja korkein Ahvenanmaalla. Seroprevalenssitulos on oletettua suuruusluokkaa. Tutkituista tiloista 76 %:lla löytyi ainakin yksi lammas, jolta havaittiin vasta-aineita loista vastaan. Suhteellisesti eniten tiloja, jossa oli ainakin yksi seropositiivinen lammas, oli Itä-Suomen läänissä ja vähiten Lapin läänissä. Tutkimuksessa tutkittiin vain yli vuoden ikäisiä lampaita, joten karitsojen <i>T. gondii</i> - vasta-aineiden esiintyvyydestä ei saatu tietoa. Se on yleensä aikuisia lampaita matalampi.</p> <p>Tutkimuksen tulokset osoittavat, että <i>T. gondii</i> – alkueläintartuntoja esiintyy Suomessa lampailla ja että lampaat altistuvat <i>T. gondii</i> – alkueläimelle varsinkin eteläisimmissä osissa Suomea. Suomalainen lampaan liha on potentiaalinen tartunnan lähde ihmisten <i>T. gondii</i> – infektiolle, mikäli lihaa ei käsitellä tavoilla, jotka tuhoavat loisen, esimerkiksi riittävällä kuumennuksella tai pakastamalla.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords <i>Toxoplasma gondii</i> , lammas, seroprevalenssi			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Viikin kampuskirjasto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) – Instruktor och ledare – Director and Supervisor(s) Prof. Antti Sukura (työn johtaja), ELT Anu Näreaho (ohjaaja), ELL Pikka Jokelainen (ohjaaja)			

## Sisällysluettelo

1 JOHDANTO .....	1
1.2 TOKSOPLASMAN ELÄMÄNKIERTO.....	3
1.2.1 Takytsoiitit.....	3
1.2.2. Bradytsoiitit .....	4
1.2.3 Ookystat.....	4
1.2.4 Elämänkierto pääisännässä.....	5
1.2.5 Elämänkierto väli-isännässä .....	6
1.3 LAMPAAN TOKSOPLASMOOSI .....	8
1.4 LAMPAIDEN <i>Toxoplasma gondii</i> – ALKUELÄINTARTUNTOJEN DIAGNOSTIIKKA .....	10
1.4.1 Histologiset menetelmät ja parasiitin eristys.....	10
1.4.2 Patologiset muutokset.....	11
1.4.3 Serologiset menetelmät .....	12
1.4.4 <i>Toxoplasma gondii</i> diagnostiikka lampaan abortoinnin yhteydessä .....	15
1.5 TOKSOPLASMOOSIN ENNALTAEHKÄISY JA HOITO LAMPAALLA .....	16
1.5.1 Rokottaminen .....	16
1.5.2 Ennaltaehkäisevä lääkehoito lampaalla.....	17
1.5.3 Toksoplasmoosin lääkehoito lampaalla.....	18
1.6 <i>Toxoplasma gondii</i> – ALKUELÄIMEN MERKITYS IHMISELLE .....	19
1.6.1 <i>Toxoplasma gondii</i> – infektio ihmisellä.....	19
1.6.2 <i>Toxoplasma gondii</i> – alkueläimen tartuntareitti ihmisiin.....	20
1.6.3 <i>Toxoplasma gondii</i> – infektioiden riskitekijät ja ennaltaehkäisy .....	21
1.7 <i>Toxoplasma gondii</i> – ALKUELÄIMEN VASTUSTAMINEN LAMPAILLA TILATASOLLA.....	23
1.8 <i>Toxoplasma gondii</i> – VASTA-AINEIDEN ESIINTYVYYS LAMPAILLA EUROOPASSA.....	25
2 TUTKIMUSOSA.....	26
2.1 AINEISTO JA MENETELMÄT .....	26
2.1.1 Näytteet .....	26
2.1.2 Otoskoko .....	27
2.1.3 Serologinen menetelmä .....	28
2.1.4 Tulosten tilastollinen tulkinta.....	30

2.2 TULOKSET .....	30
2.3 POHDINTA .....	33
2.4 KIRJALLISUUSLUETTELO.....	35

## 1 JOHDANTO

Suomessa lammastalous on pienimuotoista verrattuna muuhun eläintuotantoon (MMM 2010). Viime aikoina lammastilojen määrä on entisestään vähentynyt, mutta uuhien määrä tiloilla kasvanut (Parikka 2010). Lammastiloja vuonna 2008 oli 961 ja keskimääräinen tilakoko oli noin 60 uuhaa per tila, yhteensä lampaita oli 93 000 (MMM 2011, Parikka 2010). Suuria, yli sadan uuhien tiloja oli 167 vuonna 2008 ja suurimmilla tiloilla oli yli 500 uuhaa. Vahvoja lammassalueita ovat Varsinais-Suomi sekä Pohjanmaa, mutta lammasmäärät ovat kasvaneet erityisesti Lapissa ja Ahvenanmaalla. (Parikka 2010.) Yleisin lammasrotu Suomessa on suomenlammas, muita rotuja ovat muun muassa texel, oxford down ja rygja (Proagria 2011). Suomessa teurastetaan hieman yli 40 000 lammasta ja karitsaa vuodessa (MMM 2011). Lampaan lihaa tuotettiin vuonna 2009 Suomessa 0,76 miljoonaa kg ja lampaanlihan kulutuksen kotimaisuusaste on alle 20 % (MMM 2010, Parikka 2010).

Verrattuna suuriin lammastalousmaihin Suomen oloissa lampaan loisten levinneisyyttä rajoittaa sekä lampaiden pieni määrä että tilojen sijainti kaukana toisistaan. Haitallisista lampaan loisista Suomessa esiintyy muun muassa ruoansulatuskanavan sukkulamatoja. (Oksanen 2008.) Ne ovat erityisen ongelmallisia, sillä niillä esiintyy yleisesti loislääkeresistenssiä (Radostits ym. 2007).

Erään tuoreen lisensiaatityön mukaan teurastamoilta otetuista lampaiden ulostenäytteistä todettiin yleisimpien ruoansulatuskanavan loisten olevan kokkideja, joita löytyi yli 80 prosentilta eläimistä sekä *Strongyloides* - loisia, joita löytyi yli 47 prosentilta. Eläimiä, joilla ei havaittu loisia oli 7,6 %. Yksikään tutkituista tiloista ei ollut vapaa loisista. (Tarvainen 2009.) Ulkoloiset eivät Suomessa toistaiseksi aiheuta suurta vahinkoa viileän ilmaston vuoksi (Oksanen 2008).

Alkueläimistä muun muassa *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* ja *Eimeria* – lajit voivat aiheuttaa Suomenkin oloissa huomattavia tuotantotappioita (Oksanen 2008). *T. gondii* – infektio voi aiheuttaa vakavimmissa tapauksissa suurta vahinkoa ihmisen tai uuhien sikiölle (Bowman ym. 2003). Vaikka *N. caninum* – alkueläimen infektioista seuraa abortteja yleensä naudalle, se voi myös aiheuttaa karitsakuolleisuutta sekä

abortteja lampaalle (Radostits ym. 2007). Toisin kuin *T. gondii*, se ei tartu nykytiedon mukaan ihmiseen. Useat *Eimeria* -lajit aiheuttavat puolestaan suolistokokkidioosin karitsoille, joka saa aikaan vakavia ripuleita ja jopa kuolemia. (Bowman ym. 2003.)

*T. gondii* – infektiota esiintyy maailmanlaajuisesti ihmisillä ja eläimillä (Dubey & Beattie 1988). *T. gondii* on solunsisäinen alkueläinpatogeeni, joka kuuluu itiöeläinten pääjaksoon (*Apicomplexa*) ja *Sarcocystidae*-heimoon (Black & Boothroyd 2000, Buxton 1998). Loisen pääisäntä on kissaeläin ja väli-isäntänä voivat toimia kaikki tasalämpöiset eläimet (Dubey & Beattie 1988). Lampaalle loisinfektio voi aiheuttaa mm. sikiökuolemia ja abortointeja. *T. gondii* on zoonoosi ja infektoitunut lampaanliha on lähde ihmisten tartunnoille. (Dubey 2009.) Vaikka *T. gondii* – alkueläimen aiheuttamat infektiot ovat hyvin yleisiä ihmisillä, kliininen tauti rajoittuu suurilta osin riskiryhmiin (Tenter ym. 2000).

Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen, EFSA:n (European Food Safety Authority), mukaan on viitteitä siitä, että toksoplasmoosista johtuvaa yhteiskunnallista tautitaakkaa on aliarvioitu (EFSA 2007). Ihmisten toksoplasmoosin arvioidaan olevan alidiagnosoitu ja aliraportoitu Euroopan Unionissa, vaikka *T. gondii* on yksi yleisimmistä zoonoottisista loisista ja sen tiedetään esiintyvän suurimmassa osassa maapalloa (EFSA 2007, Tenter ym. 2000). EFSA suosittelee, että loista tulisi alkaa monitoroida lampailla, vuohilla ja riistaeläimillä, kun sopivat serologiset menetelmät on saatu standardisoitua (EFSA 2007).

Tämä lisensoitunutta tutkielmaa käsittää kirjallisuuskatsauksen, jossa käsitellään *T. gondii* – alkueläintä sekä sen vaikutuksia lampailla sekä ihmisille ja tutkimusosan. Tavoitteena tutkimuksessa oli määrittää suomalaisten lampaiden vasta-aineiden esiintyvyys *T. gondii* – alkueläimelle. Aiempaa vastaavaa tutkimusta ei ole tehty Suomessa. Tutkimus suoritettiin Helsingin yliopiston eläinlääketieteellisen tiedekunnan peruseläinlääketieteen laitoksella, parasitologian oppiaineessa kesän ja syksyn 2008 aikana.

## KIRJALLISUUSKATSAUS

### 1.2 TOKSOPLASMAN ELÄMÄNKIERTO

Koti- ja villikissat (*Felidae*-suku) ovat *Toxoplasma gondii* – alkueläimen pääisäntiä ja kaikki tasalämpöiset eläimet voivat toimia väli-isäntinä (Dubey & Beattie 1988) (Kuva 1). Loisen elämänkierrossa on kaksi sykliä, seksuaalinen ja aseksuaalinen. Seksuaalinen sykli tapahtuu ainoastaan *Felidae*-sukuun kuuluvissa isännissä. Muissa kuin kissaeläimissä loinen käy läpi aseksuaalisen syklin. Aseksuaalinen sykli tapahtuu myös kissoissa. (Black & Boothroyd 2000.) *T. gondii* -alkueläimestä on kolme infektiivistä muotoa: takytsiitit, kuduskystissä olevat bradytsiitit sekä ookystista löytyvät sporotsiitit (Dubey 1998a).

Loisen elämänkierto eroaa pääisännän ja väli-isännän välillä. *T. gondii* -alkueläimen ookystat ovat vähemmän infektiivisiä ja patogeenisiä pääisännälle kuin väli-isännälle, päinvastoin kuin monilla muilla kokkidi-lajeilla. (Dubey 1998a.) *T. gondii* on sopeutunut ookysta-oraali-infektio -sykliin kasvinsyöjillä ja kuduskysta-oraali-infektio -sykliin lihansyöjillä, varsinkin kissalla (Dubey 2007).

#### 1.2.1 Takytsiitit

Takytsiitit ovat puolikuunmuotoisia ja kooltaan noin 2 x 6 µm. Parasiitin anteriorinen pää on terävä ja posteriorinen pää pyöreä ja loisen tuma löytyy yleensä posteriorisesta osasta. (Sheffield & Melton 1968.) Takytsiitit liittyvät toksoplasmoosin akuuttiin vaiheeseen. Ne pystyvät lisääntymään nopeasti ja tappamaan lähes kaikenlaiset solut lämminverisissä eläimissä. (Dubremetz & Ferguson 2007.) Takytsiitit jakautuvat aseksuaalisesti toistuvan endodyogenian avulla isäntäsolun sisällä. Endodyogeniassa alkuperäisestä loisesta muodostuu kaksi jälkeläistä. Takytsiitit jatkavat jakautumistaan kunnes isäntäsolu on täynnä parasiitteja. (Dubey & Beattie 1988.) Takytsiitit aiheuttavat myös kongenitaalisen infektion siirtymällä emon verenkierrosta sikiön kudoksiin istukan välityksellä (Dubremetz & Ferguson 2007).

### 1.2.2 Bradytsoiitit

Bradytsoiitit ovat kuduskystien sisällä hitaasti lisääntyviä toksoplasman muotoja. Bradytsoiitit eroavat rakenteellisesti vain hieman takytsoiiteista. Ne ovat hieman pienempiä ja ohuempia kuin takytsoiitit. Kuduskysta muodostuu joukosta bradytsoiitteja, jotka ovat hyvin rajatun elastisen kalvon sisällä. Kuduskysta muodostuu isäntäsolun sytoplasmassa. Se on yleensä lähes pallon muotoinen, tai se mukailee isäntäsolun muotoa. Kuduskystat kasvavat loisen lisääntyessä niiden sisällä. Nuoret kuduskystat sisältävät vain muutamia bradytsoiitteja ja ovat kooltaan noin 5µm kun vanhemmat kuduskystat voivat sisältää satoja bradytsoiitteja ja olla kooltaan 50µm. (Dubey & Beattie 1988.) Kuduskystien lokalisaatio ja lukumäärä vaihtelevat isäntäeläimestä sekä parasiitin kannasta riippuen (Dubey 1998a). Vahingoittumaton kuduskysta voi säilyä isäntäsolussa koko isäntäeläimen eliniän ajan eikä se luultavimmin aiheuta haittaa (Dubey & Beattie 1988). Kuduskystat ovat oleellinen osa *T. gondii* -alkueläimen elämänsykliä. Ne vallitsevat kroonisissa infektioissa, vaikka ne muodostuvatkin jo aikaisessa vaiheessa infektiota. (Dubey 1998a.)

### 1.2.3 Ookystat

Sporotsoiitit kehittyvät ookystissa. Ookysta itsessään on tsygootti, joka on kaksikerroksisen seinämän sisäpuolella. Vielä sporuloitumaton ookysta sisältää sporontin, joka sporulaatiossa jakautuu kahteen pyöreään sporoblastiin, jotka puolestaan muodostavat pidentyessään sporokystan. (Dubey & Beattie 1988.) Sporuloitumaton ookysta on kooltaan 10 x 12 µm (Dubey ym. 1998). Neljä infektiivistä sporotsoiittia muodostuu jokaisen sporokystan sisällä. Sporuloitunut ookysta on kooltaan 11 x 13 µm ja muodoltaan pallomainen. (Dubey & Beattie 1988.) Itse sporotsoiitit ovat kooltaan 2 x 6-8 µm ja muistuttavat rakenteellisesti takytsoiitteja (Dubey ym. 1998).

Ookystien sporulaatio tapahtuu ympäristössä 1 - 5 päivässä ookystien erityksestä ulosteiden mukana. Sporulaatioon tarvittava aika riippuu ympäristöolosuhteista. Sporuloituneet ookystat ovat hyvin kestäviä. Ne säilyvät infektiivisinä ympäristössä jopa yli vuoden. (Dubey & Beattie 1988.) Laboratorio-olosuhteissa sporuloituneet ookystat selvisivät elinkykyisinä 54 kuukautta +4C asteessa, 13 kuukautta nollassa asteessa ja 106 päivää -10C asteessa (Dubey 1998b). Maaperässä ookystat voivat levitä muun muassa karpästen ja maamatojen levittäminä (Dubey 2007).



#### 1.2.4 Elämänkierto pääisännässä

Kissat (*Felidae*) voivat infektoitua ingestoimalla ookystien kontaminoimaa ruokaa tai vettä, ingestoimalla bradytsoiittien (tai takytsoiittien) infektoimaa kudosta tai takytsoiittien kautta istukan välityksellä (Dubey 2007). Loisen pääisäntinä kissat kykenevät levittämään ookystia syötyään mitä tahansa infektiivistä muotoa *T. gondii* -alkueläimestä (Dubey & Beattie 1988). Bradytsoiittien aikaansaama sykli on kissoilla tehokkain, sillä lähes kaikki kissat tuottavat ookystia syötyään kudostakystia, kun taas ookystien tai takytsoiittien aikaansaamissa sykleissä alle 30 %:a kissoista tuotti ookystia (Dubey & Frenkel 1976). Ookystien ja takytsoiittien indusoimia syklejä ei tunneta tarkasti, mutta niiden prepatenssiajat ovat pidempiä eivätkä yhtä ennustettavissa kuin bradytsoiittien aiheuttamissa sykleissä (Dubey & Frenkel 1972).

Kudoskystan joutuessa kissan ruoansulatuskanavaan, sen seinä liukenee mahalaukun ja ohutsuolen entsyymien vaikutuksesta. Vapautuvat bradytsoiitit läpäisevät ohutsuolen epiteelisolut ja lukuisten *T. gondii* -sukupolvien kehitys alkaa. (Dubey & Beattie 1988.) Kissan suolistosoluissa muodostuu ensin viisi (A-E) morfologisesti eroavaa aseksuaalista muotoa loisesta, ennen kuin sukusolujen/gameettien kehitys ja seksuaalinen sykli alkaa. Se kulminoituu lopulta ookystien muodostukseen. Loismuodot luokitellaan tyypeillä A-E eikä sukupolvina, sillä tyyppien sisällä on useita sukupolvina. (Dubey & Frenkel 1972.)

Seksuaalinen kehitys alkaa kaksi päivää kudoskystien ingestoinnin jälkeen (Dubey 2007). Seksuaalisessa syklissä muodostuvat pallomaiset makrogameetit sekä ellipsin muotoiset biflagellaariset mikrogameetit. Mikrogameetit uivat flagelloidensa avulla makrogameettien luo ja läpäisevät niiden seinän. Yhdessä ne muodostavat tsygootin ja hedelmöittyneen gameetin ympärille alkaa muodostua ookystaseinä. Suoliston epiteelisolujen revetessä ookystat vapautuvat suoliston lumeniin. (Dubey & Beattie 1988.) Kissat erittävät ookystia ulosteiden mukana 3 - 10 päivän kuluttua kudoskystista saadusta infektiosta (Dubey 1998a). Kissat vapauttavat miljoonia ookystia infektion aikana yleensä ilman näkyviä klinisiä oireita. Ookystien muodostus vähenee kissaeläimissä yhdeksän päivän päästä infektiosta ja loppuu kokonaan kahden viikon kuluttua, jolloin vasta-aineita loista vastaan alkaa löytyä verenkierrasta. (Dubey & Frenkel 1972.) Yleensä kissat eivät tämän jälkeen levitä loista elämänsä aikana, mutta

joskus muun muassa stressi voi laukaista infektion aktivoitumaan uudelleen (Dubey & Frenkel 1974).

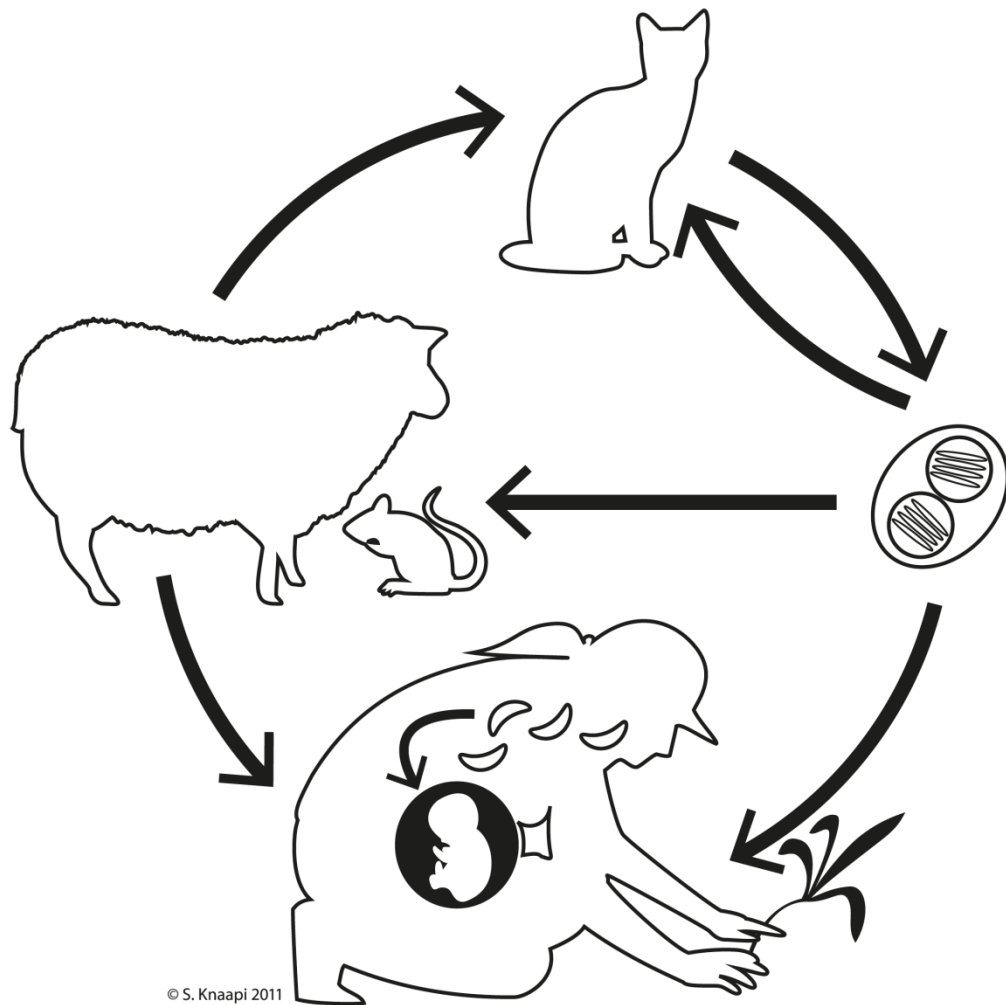
Samalla kun tämä seksuaalinen sykli etenee suolistossa, loinen levittäytyy myös suoliston ulkopuolelle moniin kudoksiin takytsiitteina ja muodostaa siellä myöhemmin kuduskystiä (Dubey & Frenkel 1972, Dubey & Beattie 1988). Takytsiitit voivat myös infektoida istukan välityksellä isäntäeläimen sikiön, mutta tätä tapahtuu harvoin kissaeläimillä (Dubey & Beattie 1988).

#### 1.2.5 Elämänkierto väli-isännässä

Väli-isännät (kissa voi toimia myös väli-isäntänä) saavat *T. gondii* – infektion tyypillisesti ingestoimalla kuduskystia infektoituneesta lihasta tai ingestoimalla ookystia kissan ulosteilla kontaminoidusta ympäristöstä (Dubey & Beattie 1988). Kongenitaalinen infektio taas syntyy, kun takytsiitit siirtyvät emon veren kautta sikiön kudoksiin. Ihmisillä, lampailla ja muilla kehittyneemmällä nisäkkäillä kongenitaalinen infektio voi tapahtua ainoastaan jos emo infektoituu tiineyden aikana. (Dubey 2007.)

Sporuloituneiden ookystien tai kuduskystien ingestion jälkeen loisen muodot vapautuvat väli-isännän ruoansulatuskanavassa ja läpäisevät suolistoepiteelin. Suolistossa ne muuttuvat nopeasti lisääntyviksi takytsiiteiksi ja lisääntyvät useissa soluissa. (Black & Boothroyd 2000.) Ne myös levittäytyvät muihin kudoksiin imukudoksen ja veren välityksellä (Dubey & Beattie 1988). Tämä on toksoplasmoosin akuuttivaihe (Black & Boothroyd 2000).

Loisen lisääntyminen isännässä jatkuu kunnes *T. gondii* – loista vastaan muodostuu vastustuskyky, jolloin solun ulkoiset loiset eliminoidaan ja solun sisäisten loisten jakaantuminen hidastuu ja kuduskystat muodostuvat (Dubey & Beattie 1988). Ensimmäiset kuduskystat muodostuvat 7–10 päivän kuluttua infektion alusta. Kuduskystia löytyy enimmäkseen keskushermostosta ja lihaskudoksesta, jossa ne säilyvät koko isännän eliniän. Toksoplasmoosin krooniseksi vaiheeksi katsotaan kuduskystien muodostuminen ympäri kehoa. (Black & Boothroyd 2000.) *T. gondii* – infektio saa normaalisti aikaan elinikäisen puolustuskyvyn muodostumisen (Dubey & Beattie 1988).



Kuva 1. *Toxoplasma gondii* – alkueläimen elämänkierto.

Kissaeläimet ovat *T. gondii* - alkueläimen pääisäntiä ja niiden suolistossa tapahtuu loisen seksuaalinen sykli. Seksuaalisen syklin seurauksena kissa vapauttaa ulosteidensa mukana suuren määrän ookystia, jotka sporuloiduttuaan voivat infektoida alkueläimen väli-isäntiä (esimerkiksi hiiren, lampaan tai ihmisen, myös kissan). Loinen voi siirtyä uuteen isäntä-eläimeen myös bradytsoiittien muodossa, kun isäntäeläin syö lihaa, jossa on kuduskystia. *T. gondii* voi siirtyä lisäksi tiineen emon sikiöön takytsoiittina, mikäli emo infektoituu tiineyden aikana.

Koska *T. gondii* -alkueläimen seksuaalinen sykli tapahtuu ainoastaan kissaeläimissä, on loisella tarve kehittää mekanismeja, jolla se vahvistaa transmissiota väli-isännältä pääisännälle. Tätä transmissiota auttaa loisen kyky vaikuttaa isäntäeläimen käytökseen. Käytösmuutoksia on tutkittu kattavasti muun muassa jyrsijöillä. (Webster 2007.) *T. gondii* voi vahingoittaa infektoitujen hiirien ja rottien hermokudosta johtaan

käytösmuutoksiin, huonoon oppimiskykyyn sekä muistiin. Infektiot vähentävät myös jyrksijöiden ilmaisemaa vastenmielisyyttä kissan tuoksuun. (Dubey 2007.)

### 1.3 LAMPAAN TOKSOPLASMOOSI

*Toxoplasma gondii* – alkueläin infektoi isäntäeläimen (sekä pääisännän että väliisännän, kuten lampaan) yleensä aiheuttamatta kliinistä tautia. Normaalisti isäntäeläimet toipuvat taudista ja kehittävät immuniteetin ja humoraalisia vasta-aineita parasiittia vastaan, mutta joskus isäntäeläimet voivat kuolla akuuttiin toksoplasmoosiin. (Dubey & Beattie 1988.) Lampaalle *T. gondii* – infektiosta aiheutuu yleensä muutaman päivän kestävä kuume (Owen ym. 1998). Toksoplasmoosin johdosta lammas voi abortoida tai synnyttää heikkoja karitsoja, mikäli *T. gondii* on infektoinut uuden tiineyden aikana (Innes ym. 2009).

*T. gondii* - loisen aiheuttama infektio alkaa, kun sporuloituneen ookystan sporotsoiitit vapautuvat lampaan ohutsuolessa. Sporotsoiitit tunkeutuvat suoliston soluihin ja jakautuvat siellä sekä muuttuvat takytsioiteiksi. (Innes ym. 2009.) Neljän päivän päästä infektion alusta takytsioitteja löydetään mesenteerisistä imusolmukkeista (Dubey 1984), jossa ne lisääntyvät ja vapautuvat verenkiertoon aiheuttaen parasitemian (Buxton 1998). Inokulaation (kokeellinen tartuttaminen loisen infektiivisillä muodoilla) jälkeen parasiittia voidaan eristää useista sisäelimestä. Myöhemmin (noin 120 pv) *T. gondii* -alkueläimen eristäminen onnistuu vain aivoista, sydäimestä, lihaksista ja suolistosta. Luurankolihasista parasiittia pystytään eristämään jatkuvasti seropositiivisilta lampailta. (Dubey & Sharma 1980.)

Lampaalle toksoplasmoosista aiheutuva parasitemia on lievää ja kestoltaan hetkellistä. Parasitemiaa havaitaan yleensä 6-11 päivää inokulaation jälkeen ja se kestää yhdestä kahteen päivään. (Dubey & Sharna 1980.) Lampaille nousee infektiosta kuume, joka ylittää 41 C astetta ja kestää keskimäärin 4 päivää (Owen ym. 1998). Kuumereaktio ajoittuu 5-12 päivää kuduskystien syömisestä (Buxton & Finlayson 1986). Eräässä tutkimuksessa kuumeisilla lampailta havaittiin noussut hengitysfrekvenssi, mutta ei muita oireita ja lampaat jatkoivat syömistään normaalisti (Owen ym. 1998). Monissa

muissa tutkimuksissa on todettu kuumeen olevan korkea ja kestävän useita päiviä, mutta muista oireista ei ole mainintoja (Buxton & Finlayson 1986, Dubey 1984), vaikka korkean kuumeen tiedetään aiheuttavan ainakin ruokahaluttomuutta, kohonnuttua sydämen sykettä ja lihasheikkoutta (Radostits ym. 2007).

Tiineellä uuhella toksoplasmoosi saattaa kulminoitua sikiön kuolemaan ja abortoitumiseen (Owen ym. 1998). Infektio tavoittaa sikiön 5 - 10 päivää parasitemian alusta (Buxton & Finlayson 1986). Loisen aiheuttama abortointi johtuu taktytsoiittien lisääntymisestä istukan kotyledoneissa ja niiden aikaansaamista istukan vaurioista, jotka johtavat istukan toiminnan heikentymiseen (Owen ym. 1998). Hapen puute aiheuttaa leukoenkefalomalasian sikiön aivoihin (Buxton ym. 1982). Parasiitin replikoituessa sikiössä, muodostuu toksoplasmoosille tyypillisiä fokaalisia muutoksia istukan kotyledoneihin sekä kehittyvään sikiöön (Owen ym. 1998).

Taudinkulku riippuu sikiön infektoitumisen ajankohdasta. Jos *T. gondii* -infektio saadaan ennen 50 tiineysvuorokautta, siitä saattaa aiheutua sikiön kuolema ja resorptio ja infektoitunut lammas vaikuttaa jääneen ”tyhjäksi”. Toksoplasmoosista johtuva abortointi sekä muut tyypilliset oireet kuten sikiön muumioituminen, karitsojen neonataalikuolemat ja heikkojen karitsojen syntyminen tapahtuu normaalisti uuhilla, jotka ovat infektoituneet tiineyden keskivaiheilla, noin tiineysvuorokausina 70 - 90. Infektion tapahtuessa viimeisten 30 tiineysvuorokauden aikana, karitsalle aiheutuu yleensä subkliininen infektio. (Blewett & Watson 1983.) Sikiön oma vastustuskyky *T. gondii* -infektioon lisääntyy sikiön iän mukana eikä sikiön immuunisysteemin tarvitse olla täysin kehittynyt vastatakseen loistartuntaan. Tämän lisäksi *T. gondii* -infektio vauhdittaa sikiön immuunisysteemin kypsymistä. Sikiön immuniteetistä tulee toimiva 70 tiineyspäivän jälkeen. (Buxton & Finlayson 1986.)

Kokeellisesti tartutettu tai luonnollisesti hankittu *T. gondii* -infektio lampailla ennen tiineyttä estää abortoinnin tiineyden aikana. Infektiosta seuraa immuniteetti, joka on suurimmalla osalla uuhista niin vahva, että se pystyy vastustamaan parasiittia myöhemmin tiineyden aikana. (Beverley & Watson 1970.) Aiemmin oletettiin, että *T. gondii* -infektio ei aiheuta abortteja enää seuraavissa tiineyksissä tai jos uuhi on infektoitunut tiineyksien välisenä aikana (Buxton & Finlayson 1986). Uudemmat tutkimukset kuitenkin esittävät, että *T. gondii* -infektio ja sen aikaansaamat abortit

voivat tapahtua myös myöhemmissä tiineyksissä ja että aiempi infektio ei takaa täydellistä suojaavaa immuniteettia seuraaviin tiineyksiin. Näiden tulosten mukaan infektion siirtymistä (transmissio) perättäisissä tiineyksissä tapahtuu 31 % uuhista ja joka viides uuhi abortoi seuraavissa tiineyksissä. (Morley ym. 2008.)

#### 1.4 LAMPAIDEN *Toxoplasma gondii* – ALKUELÄINTARTUNTOJEN DIAGNOSTIIKKA

Toksoplasmoosidiagnoosi voidaan tehdä biologisilla, serologisilla tai histologisilla metodeilla (Dubey & Beattie 1988). Toksoplasmoosidiagnostiikassa pyritään joko havaitsemaan *T. gondii* – alkueläin tai sen osa tai löytämään vasta-aineita loista vastaan (EFSA 2007). Toksoplasmoosin kliiniset oireet ovat epäspesifejä eikä niiden perusteella voi tehdä varmaa diagnoosia (Dubey & Beattie 1988).

##### 1.4.1 Histologiset menetelmät ja parasiitin eristys

Toksoplasmoosidiagnoosi voidaan tehdä havaitsemalla ja tunnistamalla loinen isäntäeläimen kudoksista biopsiasta tai raadonavauslöydöksenä käyttäen eri värjäyksiä, esimerkiksi Giemsa -värjäystä. Takytsoiittien havaitseminen indikoi aktiivista infektiota ja kuduskystien latenttia infektiota, tosin aina kuduskystat eivät värjäydy lainkaan. (Dubey & Beattie 1988.) Immunohistokemiallisilla menetelmillä voidaan havaita kokonaiset *T. gondii* – alkueläimet sekä niiden antigeenejä sisältävät jäännökset kudoksenäytteistä. Esimerkiksi ns. PAP -tekniikka on spesifinen ja sensitiivinen ja loisen antigeenit havaitaan myös vakavasti pilaantuneista kudoksista. (Ugla ym. 1987.) Merkittävä ongelma loisen havaitsemisessa histologisilla menetelmillä tutkittaessa suuria eläimiä kuten lampaita, on tutkittavan kudoksenäytteen koko. Vaikka tutkittavasta näytteestä ei havaita *T. gondii* – parasiittia, ei tämä välttämättä tarkoita, että loista ei olisi eläimen muissa osissa. (Esteban-Redondo ym. 1999.)

*T. gondii* – alkueläin voidaan todeta isäntäeläimistä myös koe-eläinten inokulaation (bioassay) avulla, jossa kudosta tai kudostenestettä inokuloidaan hiiriin tai syötetään kissoille. Kissojen ulosteet tutkitaan inokulaation jälkeen ookystien esiintymisen varalta ja hiiristä tutkitaan eri kudostenleikkeitä riippuen inokulaatioreitistä (suun kautta, vatsaontelon sisäisesti tai ihonalaisesti) sekä vasta-aineiden muodostus. (Dubey & Beattie 1988.) Sekä tartuntakykyiset ja -kyvyttömät *T. gondii* – alkueläimen muodot voidaan havaita kudoksesta myös PCR-tekniikan avulla (Buxton 1998).

#### 1.4.2 Patologiset muutokset

Makroskooppiset löydökset voivat riittää alustavaan toksoplasmoosidiagnoosiin, jonka voi varmistaa histologisella tutkimuksella (Beverley ym. 1971). Muutokset lampaan istukassa ovat huomattavasti vakavampia kuin muutokset sikiöissä ja perimmäinen syy sikiön kuolemaan on istukan vauriot (Beverley ym. 1971, Buxton ym. 1982).

Tyypillisimmät patologiset muutokset lampaan toksoplasmoosissa ovat abortoineen uuden istukan multifokaaliset tulehdusalueet, jotka usein etenevät nekroosiin ja kalkkeutuvat. Nämä kotyledoniosien fokukset saattavat olla 2,0 mm halkaisijaltaan ja näkyvät paljaalla silmällä. Tulehdusfokusten lukumäärä vaihtelee ja ne saattavat osin yhtyä suuremmaksi alueeksi. Kotyledonien väliset osat istukasta ovat muuttumattomia. (Beverley ym. 1971.) Lampaissa ei havaita patologisia muutoksia kohdun vaurioita lukuun ottamatta (Hartley & Kater 1963). Latentti *T. gondii* -infektio aiheuttaa kuitenkin kudostyypistä, näitä löytyy lampailta eniten aivoista ja lihaskudoksesta (Dubey & Beattie 1988).

Leesiöt sikiökalvoissa vaihtelevat riippuen sikiön kuoleman ajankohdasta sekä taudin vakavuudesta ja kestosta. Jos sikiön kuolema tapahtuu aikaisessa vaiheessa tiineyttä, ei usein havaita sikiökalvoissa muuta muutosta kuin autolyysiä. Muissa tapauksissa sikiökalvojen kotyledoneissa esiintyy useita valkoisia 1-2 mm halkaisijaltaan olevia nodulaarisia nekroosialueita, jotka ovat jakautuneet tasaisesti. (Hartley & Kater 1963.) Silmämääräisesti osa istukasta saattaa näyttää normaalilta, mutta mikroskooppisesti

näiltäkin alueilta löytyy pieniä jyvämäisiä leesioita (Beverley ym. 1971). Muuttuneisiin kotyledoneihin liittyy sikiökalvon hypertrofiaa sekä hyperplasiaa ja joskus *T. gondii* -parasiittien kerääntymiä. Itse sikiössä parasiittia tavataan huomattavasti harvemmin. (Hartley & Kater 1963.)

Muutokset sikiöissä ovat vaihtelevia. Kohtuun kuolleessa sikiössä havaitaan lievää tai merkittävää verekästä ihonalaista turvotusta sekä lievästi tai merkittävästi veren värjäämää fibriinijuostepitoista nestettä ruumiinonteloissa sekä vaihtelevan asteista autolyysia ja mummioitumista. Karitsoista, jotka ovat kuolleet juuri ennen tai vähän jälkeen syntymän, löytyy lievää tai kohtalaista kirkasta ihonalaista edeemaa, lievästi tai huomattavasti kirkasta oljenväristä fibriinipitoista nestettä ruumiinonteloissa sekä lievää tai merkittävää verekkyyttä ohutsuolessa. (Hartley & Kater 1963.) *T. gondii* -infektio aiheuttaa sikiöihin/karitsoihin myös neuropatologisia muutoksia (Buxton ym. 1982). Usein havaitaan pieniä nekroosifokuksia aivojen valkoisessa aineksessa (Hartley & Kater 1963). Toksoplasmoosille ominainen fokaalinen inflammaatio on laajalle levinnyttä ja yleistä aivoissa. Tulehduksen lisäksi noin puolelta infektoituneista karitsoista löytyy pientä, epäsäännöllistä ja hyvin rajautunutta leukoenkefalomasiaa, jonka yhteydessä nähdään usein verenvuotoa. (Buxton ym. 1982.) Sikiöiden aivoista havaitaan joskus gliosifokuksia (keskushermostovaurioiden yhteydessä esiintyvä gliasolujen tavallista suurempi määrä) sekä kalsifikaatiofokuksia, joiden halkaisijat vaihtelevat 0,5 ja 2 mm välillä sekä harvoin pieniä kerääntymiä *T. gondii* – alkueläimiä (Hartley & Kater 1963). Näiden lisäksi pieniä kroonisia tulehdusfokuksia voi esiintyä myös maksassa, keuhkoissa, sydämessä ja lisämunuaisessa (Hartley & Kater 1963, Buxton ym. 1982). Patologiset muutokset ovat vakavimpia karitsoilla, jotka syntyvät keskitiineyden aikaan infektoituneille uuhille (Buxton ym. 1982).

#### 1.4.3 Serologiset menetelmät

Serologiset tutkimukset ovat tärkeitä lampaan abortoinnin diagnostiikassa. Abortointidiagnostiikan lisäksi serologialla voidaan tutkia infektiolle altistumisen astetta eläinjoukossa. (Buxton 1998.) Serologiassa voidaan käyttää



tutkimusmateriaaleina lampaiden seerumia ja plasmaa, abortoituneiden sikiöiden kudostesteitä sekä uuden maitoa vasta-aineiden havaitsemiseen. *T. gondii* – alkueläimen aiheuttamien infektioiden tutkimisessa koti- ja villieläimillä suositaan serologisia menetelmiä, sillä verinäytteitä on helppo kerätä ja tutkia. (EFSA 2007.) Useita serologisia testejä on kehitetty humoraalisten vasta-aineiden havaitsemiseksi, näillä testeillä tutkitaan IgG- ja IgM-luokan vasta-aineita (Dubey & Beattie 1988). Tällä hetkellä ainoatakaan serologista testiä ei ole kuitenkaan validoitu *T. gondii* -infektion havaitsemiseen lampaalla. Useita serologisia testejä kuitenkin käytetään yleisesti myös lampaalla. (Dubey 2009.)

Sabin ja Feldman värjäystä (Sabin-Feldman dye test, DT) pidetään referenssitestinä *T. gondii* – vasta-aineiden havaitsemiselle ja muita serologisia testejä verrataan tähän värjäykseen (Shaapan ym. 2008). Se on kuitenkin kallis, aikaa vievä ja potentiaalisesti vaarallinen, sillä siinä käytetään eläviä takytsoiitteja antigeeneinä (Buxton 1998). Tämän takia DT-värjäys on korvattu muilla testeillä useissa laboratorioissa (Shaapan ym. 2008).

Modifioitu agglutinaatio testi (Modified agglutination test, MAT) sopii hyvin rutiininomaiseen *T. gondii* – alkueläimen diagnostiikkaan (Dubey ym. 1987a). Testillä on korkea sensitiivisyys, se on helppo suorittaa eikä se vaadi erikoisvälineitä (Dubey ym. 1995). Sitä ei ole kuitenkaan validoitu lampaalla, toisin kuin siilla ja kanalla, joilla testin tulokset korreloivat hyvin parasitologisten löydösten kanssa (Klun ym. 2007). Testi havaitsee ainoastaan IgG – luokan vasta-aineita, koska testissä käytetty 2-merkaptetaanoli tuhoaa IgM – vasta-aineet (Dubey ym. 1987a).

Entsyyvälitteisestä immunosorbenttimäärityksestä (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) on kehitetty useita sovelluksia *T. gondii* – alkueläimen diagnostiikkaan (Buxton 1998). ELISA on käytännöllinen nopeaan toksoplasmoosidiagnostiikkaan lampailla esimerkiksi aborttien sumassa, varsinkin alueilla, jossa on korkea infektion esiintyvyys. Seulontatestinä muuan muassa sen suhteellisen matala sensitiivisyys

kuitenkin laskee testin arvoa. (Klun ym. 2007.) Haittana on myös se, että vain muutamia ELISA-kittejä on kehitetty käytettäväksi eläimillä (Dubey 2009).

Epäsuora fluoresenssimenetelmä vasta-aineiden osoittamiseen (Indirect fluorescent antibody test, IFAT) antaa pääosin vertailukelpoiset vasta-ainetiitterit DT-värjäyksen kanssa, mutta on tätä turvallisempi suorittaa, sillä IFAT:issa käytetään kuolleita takytsiitteja (Dubey & Beattie 1988). Se on kuitenkin monimutkainen testi ja vaatii erikoisvälineitä (Dubey & Beattie 1988, Shaapan ym. 2008). Testiä voidaan käyttää sikiön seerumin tutkimiseen IgM ja IgG – vasta-aineluokkien varalta (Seefeldt ym. 1989).

Lateksiagglutinaatiotesti (Latex agglutination test, LAT) ja epäsuora hemagglutinaatiotesti (Indirect hemagglutination test, IHA) ovat helppoja suorittaa, eivätkä ne vaadi lajispesifistä antiseerumia tai konjugaattia (Buxton 1998). Hiili-immunomääritystesti (Carbon immunoassay, CIA) on kätevä epidemiologiisiin tutkimuksiin, sillä se voidaan suorittaa kenttäolosuhteissa ilman kallista laitteistoa ja se on halpa ja nopea testi (Waller ym. 1983).

Verrattaessa eri serologisia testejä (MAT, IFAT, ELISA ja DT) *T. gondii* -infektion havaitsemiseen luonnollisesti infektoiduilla lampaila todettiin, että käyttämällä modifioitua agglutinaatiotestiä saatiin korkein prevalenssi. Seuraavaksi korkein prevalenssi saatiin ELISA:lla ja epäsuoralla fluoresenssitestillä. Alhaisin prevalenssi saatiin Sabin & Feldman värjäyksellä. Myös MAT:in sensitiivisyys oli korkein (96 %). ELISA:n sensitiivisyys oli 90,1 % ja IFAT:in 80,4 %. IFAT:illa oli puolestaan korkein spesifisyys (91,4 %), kun se MAT:illä oli 88,9 % ja ELISA:lla 85,9 %. Tulosten perusteella suositeltiin hyvin sensitiivistä ja jokseenkin spesifiä MAT:ia havaitsemaan *T. gondii* vasta-aineet lampaiden seerumeista. (Shaapan ym. 2008.) Toisessa vastaavanlaisessa tutkimuksessa verrattiin MAT:ia ja IFAT:ia ja testien välillä ei juuri ollut eroa. Pieniä eroja havaittiin eri näytelaimennuksissa. (Marca ym. 1996.)

#### 1.4.4 *Toxoplasma gondii* diagnostiikka lampaan abortoinnin yhteydessä

Lampaan abortoinnin syyn selvittämisessä *T. gondii* – alkueläimen varalta, voidaan käyttää jo aiemmin mainittuja histologisia, sytologisia tai serologisia tutkimuksia (Dubey & Beattie 1988). Sikiön serologinen tutkimus on suhteellisen halpa ja luotettava metodi tutkittaessa katraan abortointeja toksoplasmoosin varalta (Munday ym. 1987). *T. gondii* – vasta-aineiden havaitseminen sikiön kudospöydästä tai seerumista on diagnostista, sillä maternaaliset vasta-aineet eivät läpäise istukkaa (Dubey ym. 1987b). *T. gondii* – vasta-aineiden puute ei kuitenkaan poissulje loistartuntaa, sillä vasta-aineiden kehittyminen on riippuvaista sikiön iästä infektion hetkellä sekä ajasta infektion ja serologisen tutkimuksen välillä (Dubey ym. 1987a). Kolostrumia juoneiden karitsojen tutkiminen vasta-aineiden varalta ei ole järkevää, sillä vasta-aineet siirtyvät emältä kolostrumin välityksellä (Dubey & Beattie 1988). Serologiset menetelmät ovat myös kätevä tapa poissulkea toksoplasmoosi abortoinnin syynä, sillä jos uuhien vasta-ainetiitterit eivät ole nousseet, niin abortti ei johdu toksoplasmoosista (Munday & Dubey 1986). Useiden viikkojen sisällä abortoinnista uuhilta otetuissa näytteissä korkeat vasta-ainetiitterit antavat kuitenkin vain viitteen toksoplasmoosista, sillä tiitterit pysyvät korkealla pitkän ajan alkuperäisen infektion jälkeen (Buxton 1998).

Kun abortoituneista sikiöistä tutkittiin *T. gondii* – vasta-aineita, eniten positiivisia tuloksia löytyi MAT:illa, toiseksi eniten ELISA:lla ja vähiten IFAT:illa. MAT:ia suosittiin, koska se vie vähiten aikaa ja työtä eikä sen toteutukseen tarvita erikoisvälineitä. Tämän lisäksi se voidaan tehdä minkä tahansa lajin seerumista ja se on tehokas toteamaan *T. gondii* – vasta-aineet vakavasti autolysoituneista sikiöistä. (Seefeldt ym. 1989.) Toisessa tutkimuksessa verrattiin MAT:in ja DT-värjäyksen *T. gondii* – vasta-aineiden tunnistusta sikiöiden seerumeista. MAT oli yhtä sensitiivinen ja spesifinen *T. gondii* - vasta-aineiden tunnistamiseen kuin DT-värjäys. DT ei toiminut useiden seeruminäytteiden kanssa, jotka olivat peräisin mädäntyneistä *T. gondii* – alkueläimen infektoimista sikiöistä. Lateksiagglutinaatiotesti ja epäsuora hemagglutinaatiotesti eivät olleet herkkiä havaitsemaan loisen vasta-aineita lampaan sikiön seerumista. (Dubey ym. 1987a.)

## 1.5 TOKSOPLASMOOSIN ENNALTAEHKÄISY JA HOITO LAMPAALLA

### 1.5.1 Rokottaminen

Lampaan toksoplasmoosia vastaan on kehitetty kaupallinen rokote, Toxovax® (Intervet UK Ltd, Milton Keynes, Iso-Britannia), joka sisältää eläviä S48-kannan *T. gondii* takytsiitteja. Rokote on saatavilla Uudessa Seelannissa, Iso-Britanniassa sekä useissa Euroopan maissa (Innes ym. 2009). Suomessa kyseistä rokotetta ei ole rekisteröity lampaalle (Evira 2011). Rokotetta käytetään lampaiden toksoplasmoosin aiheuttamien aborttien kontrolloimiseen (Buxton & Innes 1995). Muita rokotteita toksoplasmoosin kontrolloimiseksi on kehitteillä. Näiden tavoitteena on vähentää kissojen ookystien levittämistä sekä kudoskystien muodostumista eläimissä. (Innes & Vermeulen 2006.)

S48-kannan *T. gondii* takytsiitteja siirrettiin toistuvia kertoja laboratoriohiirissä, kunnes ne näyttivät menettävän kykynsä tuottaa bradytsiitteja kudoskystiin, tätä kantaa kutsutaan epätäydelliseksi kannaksi (Buxton & Innes 1995). Tämän epätäydellisen kannan on myös osoitettu menettävän kykynsä tuottaa ookystia kissaeläinten suolistossa (Frenkel ym. 1976). Siirrostamalla heikennetyt elävät S48 – kannan takytsiitit pystyvät infektoimaan seronegatiiviset lampaat ja aiheuttamaan niille riittävän vasta-ainereaktion sekä huomattavan kuumereaktion. Nämä takytsiitit eivät kuitenkaan saa aikaan kroonista infektiota tai muodosta kudoskystiä lampaissa. (O’Connell ym. 1988.) Persistoimattomalla *T. gondii* – kannalla lampaan infektointi käynnistää pitkäkestoisen suojan vakavaa *T. gondii* – infektiota vastaan. Immunologinen muisti jää tehokkaaksi ilman persistoivaa antigeeniä ja vaikka vasta-ainetasot hiipuvat. (Buxton & Innes 1995.)

S48 – kannan elävillä takytsiiteilla rokotettujen uuhien karitsointiprosentti oli merkittävästi korkeampi ja ne tuottivat enemmän eläviä karitsoja kuin rokottamattomat uuhet (O’Connell ym. 1988). Rokottaminen S48-kannalla voi suojata myös kongenitaaliselta infektiolta, sillä rokotetuilta uuhilta eristettiin merkittävästi vähemmän *T. gondii* - alkueläintä sikiökalvoista verrattuna kontrolliryhmään. Tämä viittaa rokotteen kykyyn vähentää infektion transmissiota. (Wilkins ym. 1988.) Vastaavanlaisia tuloksia rokotteen käytöstä osoittivat myös Buxton ym. (1991), joiden tulosten mukaan rokotettujen uuhien infektiosta aiheutunut kuumereaktio oli lievempi ja lyhytkestoisempi kuin rokottamattomien uuhien. Tämän lisäksi kuumetta seurannut

parasitemia oli vähentynyt, joka puolestaan johti siihen, että vain 2/3 sikiöistä infektoitui. (Buxton ym. 1991.) Rokotteen teho on myös todistettu 18 kuukautta ensimmäisen rokotteen annon jälkeen. Tutkimuksessa osoitettiin, että rokotetuilla lampailla oli vielä suoja toksoplasmoosia vastaan vaikka kiertävien vasta-aineiden pitoisuudet olivat laskeneet alhaiselle tasolle. (Buxton ym. 1993a.) Rokotteen teho on osoitettu myös kenttäkokeissa, jossa rokotettujen eläinten karitsointiprosentit nousivat ja abortointi laski verrattuna rokottamattomiin kontrollieläimiin (Buxton & Innes 1995).

Valmistaja suosittelee koko lammaskatraan rokottamista vähintään 3 viikkoa ennen astutuskautta ja uudiseläimet tulisi rokottaa katraaseen tuotaessa. Jalostusuuhet voi rokottaa viiden kuukauden iässä. Valmistaja lupaa rokotteen estävän alkueläimen aiheuttamilta vaurioilta ainakin kahtena seuraavana karitsointikertana. Tehosteen voi antaa kahden vuoden kuluttua ensimmäisestä rokotuksesta. Rokotetta ei saa antaa tiineille uuhille eikä alle kolme viikkoa ennen astutuskautta. Rokoteannos on 2 ml per lammas ja rokote injisoidaan lihaksen sisäisesti. Rokote on käytettävä kahden tunnin sisällä sen sekoittamisen jälkeen ja säilytettävä viileässä ja suojassa valolta. Rokotteesta seuraa lampaalle ohimenevä kuume. Rokotteen annostelussa ja sekoittamisessa on oltava varovainen ja käytettävä mielellään suojalaseja ja hanskoja. Valmistaja suosittelee myös, että raskaana olevien ja lisääntymisikäisten naisten sekä heikon puolustuskyvyn omaavien henkilöiden ei tule käsitellä rokotetta. (Intervet UK Ltd, Milton Keynes, Iso-Britannia.)

Elävän rokotteen annostelussa on oltava varovainen, sillä se sisältää elävän zoonoottisen patogeenin (Innes ym. 2009). Tapetun rokotteen käytöllä ei osoitettu olevan hyötyä toksoplasmoosin aiheuttamien aborttien ehkäisyssä (Wilkins ym. 1987).

### 1.5.2 Ennaltaehkäisevä lääkehoito lampaalla

Ennaltaehkäisevällä lääkehoidolla pyritään vähentämään toksoplasmoosista aiheutuvia tappioita lammastaloudelle (Dubey & Beattie 1988). Kokeellisesti lampaiden *T. gondii* -infektion aiheuttamien sikiökuolemien insidenssiä on saatu merkittävästi alenemaan, kun tiineitä uuhia on lääkitty kokkidiostaatti monensiinilla ennen altistusta parasiitille. Monensiini suojaa tiineitä uuhia kokeellisesti tartutetun toksoplasmoosin haitoilta,

vaikkakaan se ei estä karitsojen infektiota. Monensiini suppressoi infektiota, mikä muun muassa alentaa kuumetta ja vähentää istukan vaurioita, mistä johtuen karitsakuolleisuus alenee merkittävästi. Elävät karitsat lääkityiltä emoilta ovat myös merkittävästi painavampia verrattuna lääkitsemättömien emojen karitsoihin. (Buxton ym. 1988.) Monensiini vaikuttaa myös systeemisesti vaikka se onkin tehokkain ruoansulatuskanavan luumenissa. Todennäköinen systeeminen vaikutusmekanismi on *T. gondii* -loisen lisääntymisen estäminen lampaan plasentosomeissa. Tutkimuksessa todettiin myös, että lääkityksellä oli joitain etuja vaikka se aloitettiin vasta infektion jälkeen. (Buxton ym. 1987.) Vaikka monensiini on todettu tehokkaaksi lampaan toksoplasmoosin ennaltaehkäisyssä, se voi olla toksinen korkeilla annoksilla. Tämän takia on monensiinin käytölle pyritty hakemaan muita vaihtoehtoja. (Buxton ym. 1996.) Tämän lisäksi monensiinia ei ole rekisteröity lampaalle ja sen käyttö tuotantoeläimille Suomessa ei ole sallittua (Evira 2011).

Myös dekokinaatti kokkidiostaatin päivittäinen syöttö ennaltaehkäisevästi annoksella 2 mg/kg lampailla ennen *T. gondii* – altistusta vähentää huomattavasti toksoplasmoosin aiheuttamia tappioita. Kokkidiostaatin ennaltaehkäisevä annostelu viivästytti ja lievensi infektiosta aiheutunutta kuumereaktiota sekä vähensi istukan vaurioita, pidensi kantoaikaa ja lisäsi sekä syntyvien karitsojen lukumäärää että syntymäpainoa verrattuna lääkitsemättömään kontrolliryhmään. (Buxton ym. 1996.) Dekokinaatin käyttö Suomessa tuotantoeläimillä ei ole sallittua (Evira 2011).

### 1.5.3 Toksoplasmoosin lääkehoito lampaalla

Infektoituneita uuhia voi hoitaa spesifeillä antibiooteilla. Eräässä tutkimuksessa tiineille uuhille aiheutettiin kokeellisesti toksoplasmoosi, jonka jälkeen niitä lääkittiin sulfametatsiinin ja pyrimetamiinin yhdistelmällä. Kyseistä yhdistelmää on aiemmin käytetty ihmisen toksoplasmoosin hoidossa. Infektoidut lääkityt uuhet tuottivat enemmän eläviä karitsoja, niiden kantoaika oli pidempi ja istukan vauriot olivat lievempiä verrattuna infektoituneisiin lääkitsemättömiin uuhiin. Lääkeyhdistelmä alensi potentiaalisen mortaliteetin 30 prosentista nolnaan prosenttiin. (Buxton ym. 1993b.) Kyseiset antibiootit eivät ole rekisteröity Suomessa tuotantoeläimille (Evira 2011). Suomessa lampailla sallituista antibiooteista sulfadiatsiinitrimetopriimi saattaa tehoa *T.*

*gondii* – alkueläimeen, mutta sen annostuksesta lampaan akuutin toksoplasmoosin hoidossa ei ole tietoa (EVIRA 2011, Plumb 2008).

## 1.6 *Toxoplasma gondii* – ALKUELÄIMEN MERKITYS IHMISELLE

### 1.6.1 *Toxoplasma gondii* -infektio ihmisellä

*T. gondii* on yksi ihmisen yleisimmistä zoonoottisista parasiiteista maailmanlaajuisesti (Tenter ym. 2000). Seroprevalenssit ihmispopulaatioiden välillä vaihtelevat suuresti eri maiden, maantieteellisten alueiden ja eri etnisten ryhmien välillä (Dubey & Beattie 1988, Jackson & Hutchison 1989). Keski-Euroopan maissa arvioidaan lisääntymiskäisten naisten seroprevalenssin *T. gondii* – alkueläimen osalta olevan 37 – 58 %. Seroprevalenssit ovat matalampia ilmastoltaan kylmillä alueilla kuten Skandinaviassa. Prenataali-infektioiden insidenssin on arvioitu vaihtelevan yhden ja sadan välillä 10 000 synnytystä kohden eri maissa. (Tenter ym. 2000.) Suomessa *T. gondii* seropositiivisuuden prevalenssi on 20,3 % ja primaari-infektion insidenssi on 2,4/1 000 raskautta. Arviolta 131 *T. gondii* primaari-infektiota raskauden aikana tapahtuu Suomessa vuosittain. (Lappalainen ym. 1992.)

Pääosa loisen aiheuttamista infektioista immunokompetenteilla ihmisillä on oireettomia ja niistä seuraa elinikäinen immunitetti loista vastaan (Tenter ym. 2000). Joskus havaitaan lieviä oireita kuten lymfadenopatioita (Dubey & Beattie 1988). Vaikka *T. gondii* – alkueläimen aiheuttamat infektiot ovat hyvin yleisiä ihmisillä, kliininen tauti rajoittuu suurilta osin riskiryhmiin. Riskiryhmiin kuuluvat raskaana olevat naiset, joilla ei ole immunitettia loista vastaan sekä heikon puolustuskyvyn omaavat henkilöt esim. AIDS-potilaat. Puutteellisen vastustuskyvyn omaavilla ihmisillä aiemmin hankittu latentti infektio voi reaktivoitua ja johtaa enkefaliittiin. *T. gondii* on tärkeä opportunistinen patogeeni AIDS-potilailla. (Tenter ym. 2000.) Monet AIDS-potilaat kuolevat loisen aiheuttamiin muutoksiin (Dubey & Beattie 1988). Jos *T. gondii* – infektio saadaan raskauden aikana, loinen voi siirtyä immunokompetenttien naisten sikiöihin (Tenter ym. 2000). Kongenitaalinen toksoplasmoosi aiheuttaa abortointeja, neonataalikuolemia ja sikiön epämuodostumia sekä huonontaa selvästi prenataali-

infektiosta elossa selvinneiden lasten elämän laatua (Dubey & Beattie 1988, Tenter ym. 2000). *T. gondii* infektoi myös silmiä ja Yhdysvalloissa on arvioitu *T. gondii* –infektioiden olevan yleisin syy verkkokalvon tulehdukseen (Jones & Holland 2010).

#### 1.6.2 *Toxoplasma gondii* – alkueläimen tartuntareitti ihmisiin

*T. gondii* - alkueläimelle on kehittynyt useita eri tartuntareittejä (Tenter ym. 2000). Yleinen käsitys on, että valtaosa parasiitin horisontaalisista transmissioista ihmisellä johtuu kudostyönteiden syönnistä lihan mukana tai oostyönteiden syönnistä ruoan tai veden mukana, jotka ovat kontaminoituneet kissan ulosteilla (Dubey & Beattie 1988, Tenter ym. 2000). Eräessä laajassa tutkimuksessa tutkituista *T. gondii* - infektiosta 30 – 63 % liittyi huonosti kypsennetyn tai säilötyn lihan syönteihin (Cook ym. 2000).

Taktysoiiteilla on suuri merkitys vertikaalisessa transmissiossa, mutta vain pieni osa ihmisten tartunnoista saadaan vertikaalisesti (Tenter ym. 2000). Taktysoiitit ovat hyvin herkkiä ympäristön eri olosuhteille ja kuolevat yleensä nopeasti isännän ulkopuolella (Dubey & Beattie 1988). Tästä syystä uskotaan, etteivät taktysoiitit ole epidemiologisesti merkittäviä loisen horisontaalisessa transmissiossa vaikka tätä tapahtuu joskus (Tenter ym. 2000). *T. gondii* – infektiot voivat olla riski elinsiirroissa; taktysoiitteja on siirtynyt esimerkiksi verensiirtojen välityksellä (Dubey & Beattie 1988).

Lihantuotantoeläimillä kudostyönteitä löytyy yleisimmin sioilta, lampailta, vuohilta ja harvemmin siipikarjalta, kaniineilta ja hevosilta. Naudoilta kudostyönteitä löytyy harvoin, vaikka nautojen vasta-ainetasot kertovat altistuksesta loiselle. (Tenter ym. 2000.) Sianlihan on aiemmin ajateltu olevan päälähde ihmisten *T. gondii* – infektiolle (Dubey 1994). Uudemmat tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet väittämän virheelliseksi ja että lihasikojen *T. gondii* – infektioiden seroprevalenssi on alle 10 % monessa maassa (Kijlstra & Jongert 2008, Tenter ym. 2000). *T. gondii* – infektiot tulevat aina olemaan yhteydessä lihantuotantoon laiduntavilla eläimillä. Eläimillä kuten lampailta ja vuohilla, joita pidetään *T. gondii* - oostyönteillä kontaminoituneilla laitumilla, on korkea (jopa 92 %) seroprevalenssi monissa maissa. Potentiaalinen infektiolähde ihmiselle on myös villieläimet kuten hirvet, karhut ja villisiaat. (Tenter ym. 2000.) Suomessa hirven seroprevalenssi on 9,6 %, valkohäntäkauriin 26,7 % ja metsäkauriin 17,6 % (Jokelainen



ym. 2010). Lihan lisäksi kuduskystia voi löytyä myös viskeraalielimistä, esimerkiksi maksasta (Tenter ym. 2000).

Sporuloituneet *T. gondii* – alkueläimen ookystat ympäristössä ovat potentiaalisia lähteitä eläinten ja ihmisten infektiolle ja ympäristön kontaminaatio johtuu koti- tai villikissoista (Tenter ym. 2000). Kissat levittävät miljoonia ookystia loisinfektion aikana ja sporuloituneet ookystat säilyvät ympäristössä pitkiä aikoja (Dubey & Frenkel 1972, Dubey & Beattie 1988). Ihmiset voivat infektoitua ollessaan kontaktissa maaperään esimerkiksi puutarhatöiden yhteydessä, jos kontaminoitunutta maa-ainesta joutuu suuhun (Tenter ym. 2000). Useat uudemmat tutkimukset ovat esittäneet hypoteesin, jonka mukaan ookystien aiheuttaman vesivälitteisen transmission merkitys ihmisillä on suurempi kuin aiemmin on ajateltu (Dubey 2004).

### 1.6.3 *Toxoplasma gondii* – infektioiden riskitekijät ja ennaltaehkäisy

Euroopan eri maissa toteutetussa tutkimuksessa osoitettiin riskeiksi saada *T. gondii* -infektio huonosti kypsennetyn lampaan, naudun tai riistan lihan syöminen, kontakti maaperän kanssa ja matkustaminen Euroopan tai Pohjois-Amerikan ulkopuolella. Tutkituista infektiosta 30 – 63 % liittyi huonosti kypsennetyn tai säilötyn lihan syöntiin ja 6 – 17 % liittyi kontaktiin maaperän kanssa. (Cook ym. 2000.) Toisessa tutkimuksessa tekijöiksi kohonneeseen riskiin saada *T. gondii* -infektio saatiin raa’an tai huonosti kypsennetyn jauhetun, lampaan tai sian lihan syömisestä lisäksi pesemättömien raakojen vihannesten ja hedelmien syönti, kissan hiekkalaatikon peseminen ja epäsäännöllinen keittiöveisten pesu raa’an lihan käsittelyn jälkeen (Kapperud ym. 1996). Kaikki tapaus-verrokki tutkimukset ovat osoittaneet lampaanlihan merkittäväksi riskiksi saada *T. gondii* –infektio raskaana olevilla naisilla (Kijlstra & Jongert 2008).

Infektioireitti vaihtelee huomattavasti eri etnisten ryhmien välillä ja eri maantieteellisten alueiden välillä. Olisi hyvä tietää tietyn ihmispopulaation todennäköisimmät transmissioreitit, jotta tilanteeseen sopivilla vastustuskeinoilla voitaisiin ehkäistä riskiryhmien infektoituminen. (Tenter ym. 2000.) Ennaltaehkäisy suunnitelmat loista vastaan tulee suunnata estämään lihan infektoituminen, ja lisäksi tulisi parantaa lihatuotteiden tuoteselosteita paremmin tuotanto-olosuhteita ja tuotantoprosesseja

kuvaaviksi sekä parantaa tiedotusta loisesta raskaina oleville naisille (Cook ym. 2000). Jotta voidaan estää *T. gondii* - alkueläimen horisontaalinen transmissio ruoan välityksellä, lihaa tai muita eläinten syötäviä osia ei pidä syödä raakoina tai huonosti kypsennettyinä ja veitset ja muut välineet tulee pestä raa'an lihan käsittelyn jälkeen (Tenter ym. 2000).

Tutkimukset eri menetelmistä tuhota elävät loisen muodot lihasta viittaavat siihen, että pakastus on paras vaihtoehto tuottaa *T. gondii* - vapaata lihaa, vaikka menetelmän yksityiskohdat tarvitsevat validointia. Yleisesti pakastus inaktivoi kuduskystat, mutta ajan ja lämpötilan on oltava riittävät. (Kijlstra & Jongert 2008.) Kuduskystat sianlihassa muuttuivat elinkyvyttömiksi -12 asteessa kolmessa päivässä (Dubey 1988). Jääkaappilämpötilassa kuduskystat säilyvät infektiokykyisinä jopa kolmen viikon ajan (Dubey & Kirkbride 1989).

Lämpökäsittely on turvallisin menetelmä inaktivoida *T. gondii* lihasta ja tällöin ruuan turvallisuus on kuluttajan käsissä (Kijlstra & Jongert 2008). Lihassa olevat kuduskystat tuhoutuvat 67 asteen lämpötilassa (Dubey ym. 1990). Osa kuduskystista säilyy infektiokykyisinä, mikäli ruoanvalmistuksessa lämmitetään lihaa epätasaisesti esimerkiksi mikroaaltouunissa (Lunden & Ugglä 1992).

Riskiryhmiin kuuluvia kissan omistajia on ohjeistettu selvittämään lemmikkinsä immunologinen status loisen varalta, jotta heitä voidaan ohjeistaa keinoista vähentää kissojen ookystien levitystä. Näitä keinoja on mm. seronegatiivisten kissojen ruokkiminen teollisella tai/ja kypsennetyllä ruoalla primaari-infektion estämiseksi. Tämän lisäksi kissan hiekkalaatikot tulee tyhjentää ulosteista ja puhdistaa päivittäin. Riskiryhmiin kuulumattoman henkilön tulisi hoitaa hiekkalaatikon peseminen. (Tenter ym. 2000.) Suoran kontaktin kissoihin ja niiden ulosteisiin tai asumisen naapurustossa, jossa on kissoja, ei kuitenkaan ole todettu olevan riskitekijä *T. gondii* - infektioidissa (Cook ym. 2000, Kapperud ym. 1996). Riskiryhmiin kuuluvien henkilöiden tulee myös pestä tai kypsentää vihannekset ja hedelmät, jotka ovat saattaneet kontaminoitua kissan ulosteilla ennen niiden nauttimista sekä tehdä puutarhatyöt hanskat kädessä (Tenter ym. 2000).

Koska *T. gondii* - alkueläimellä voi olla suuri vaikutus ihmisten elämän laatuun, monet tahot kuten maailman terveysjärjestö, WHO, ovat toistuvasti kehottaneet valvomaan ja kontrolloimaan ihmisten toksoplasmoosia. Jossain Euroopan maissa on otettu käyttöön seulontaohjelmia, joilla on tarkoitus havaita aikainen maternaalinen primaari-infektio raskauden aikana tai havaita prenataali-infektio vastasyntyneillä. (Tenter ym. 2000). Primaari *T. gondii* - loisinfektio on merkittävä riski sikiölle jopa maissa, jossa *T. gondii* – seropositiivisuuden prevalenssi on matala (Lappalainen ym. 1992). Serologiset seulontaohjelmat raskaana oleville naisille ovat tehokas keino estää prenataali-infektiota syntyneillä lapsilla (Tenter ym. 2000). Hintahyötyanalyysit osoittavat, että jopa alueilla, kuten Suomessa, joissa on matala *T. gondii* - insidenssi, seulontaohjelmat raskaana oleville naisille ovat taloudellisesti kannattavia (Lappalainen ym. 1995). Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että raskaana olevien naisten, jotka ovat saaneet *T. gondii* -infektion äskettäin, lääkitseminen voi vähentää syntyvien lapsien taudin vakavuutta (Tenter ym. 2000). Painotuksen tulisi kuitenkin olla ennaltaehkäisyssä, sillä nykyisin käytössä olevalla antibioottiterapialla on vain vähän vaikutusta vertikaaliseen transmissioon sekä tiedotus loisesta tulisi osoittaa nykyistä laajemmin, sillä kuluttajien tieto toksoplasmoosista on rajattua ja usein loisesta tiedotetaan vain raskaana oleville naisille (Kijlstra & Jongert 2008).

Eläinten monitorointi teurastamolla voi mahdollistaa riskitilojen tunnistuksen ja tämän tiedon avulla voitaisiin muuttaa tilojen eläintenpito- ja hoito-olosuhteita, jotta elintarviketurvallisuus parantuisi. Toisaalta teurastamotutkimuksilla voisi tunnistaa *T. gondii* - infektoitu liha ja tuhota kudokset lihasta kuumentamalla tai pakastamalla. (Kijlstra & Jongert 2008.) *T. gondii* - loista ei rutiinisti tutkita teurastamoilla tällä hetkellä missään. Yksi ongelma loismonitoroinnissa on yleisesti hyväksytyyn tutkimusmenetelmän puute. (Kijlstra & Jongert 2009.)

### 1.7 *Toxoplasma gondii* – ALKUELÄIMEN VASTUSTAMINEN LAMPAILLA TILATASOLLA

Keinot vähentää loisen leviämistä tilatasolla sisältävät rokottamisen ja pito- ja hoito-olosuhteiden muuttamisen (Dubey 1996). Rokotteiden kehityksessä on tavoitteena

vähentää akuuttia parasitemiaa ja suojata kongenitaaliselta toksoplasmoosilta, vähentää kuduskystien muodostumista sekä vähentää kissojen kykyä levittää ookystia ympäristöön. Kuduskystien muodostumisen estäminen vähentäisi loisen transmissiota riittämättömästi kypsennetyn lihan kautta. (Innes & Vermeulen 2006.) Rokottamalla sikoja eräällä *T. gondii* - kannalla on saatu muodostuvien kuduskystien määrää vähennettyä (Dubey ym. 1991). Kissojen immunisaatio loisen tietyillä (T-263) bradytoiiteilla aiheutti sen, että jopa 84 % tutkituista kissoista ei levittänyt ookystia luonnollisen altistuksen jälkeen (Frenkel ym. 1991). Yhdysvalloissa tehdyssä tutkimuksessa, jossa rokotettiin sikatilojen kissat T-263 – rokotteella, väheni ympäristön ookystakontaminaatio sekä tutkittujen väli-isäntien seroprevalenssit (Mateus-Pinilla ym. 1999). Siihen asti, kunnes kehitetään kaupallinen rokote, joka estää kissoja levittämästä ookystia tai estää kuduskystien muodostuksen lihassa, on käytettävä muita ennaltaehkäisykeinoja. Ympäristön ookystien vähentäminen on luultavasti merkittävin keino estää infektion siirtymistä tuotantoeläimille. (Kijlstra & Jongert 2008.)

Jotta voidaan estää tuotantoeläinten infektoituminen tilalla, on tärkeää tunnistaa infektiolähteet. Äärimmäiset keinot estää eläinten infektoituminen ympäristön ookystilla sisältävät eläinten pidon sisätiloissa koko niiden eliniän, kaiken niiden syömän ruoan kuumentamisen vähintään 70 asteeseen ja puhtaan veden saannin. (Kijlstra & Jongert 2008.) Nämä keinot eivät kuitenkaan ole kovin toteuttamiskelpoisia laiduntavien eläinten kannalta. Kotieläimistä kissalla on merkittävä rooli *T. gondii* - infektioiden epidemiologiassa (Tenter ym. 2000). Kissat voivat primaari-infektion saatuaan levittää miljoonia ookystia loisinfektion aikana ja ookystat säilyvät ympäristössä pitkiä aikoja (Dubey & Frenkel 1972, Dubey & Beattie 1988). Näin kissa voi levittää loista alueella laiduntaviin tuotantoeläimiin (Tenter ym. 2000). Tärkeää on myös pitää kissat poissa eläintiloista sekä rehuvarastoista (Kijlstra & Jongert 2008).

Kasvinsyöjät, kuten lampaat, saavat *T. gondii* - infektion todennäköisimmin ookystilla kontaminoidun ruoan tai veden välityksellä (Skjerve ym. 1998, Tenter ym. 2000). Italiassa tehdyssä tutkimuksessa tekijöitä, jotka olivat yhteydessä lampaiden *T. gondii* - seropositiivisuuden kanssa, olivat kissan läsnäolo maatilalla, pintaveden juominen sekä suuri tilakoko (Vesco ym. 2007). Norjalaisessa tutkimuksessa kissan läsnäolo tilalla sen sijaan ei osoittautunut riskitekijäksi vasta-aineiden löytymiselle lampaista. Riskitekijöiksi osoittautuivat nuoren kissan päivittäinen oleskelu lampolassa ja

eläintiloissa, epätyypillinen laiduntaminen, hiirenmyrkyn käyttö lampolassa sekä tilan sijainti korkeammalla kuin 100 metriä merenpinnan yläpuolella. Epätyypillisellä laiduntamisella tarkoitettiin tilan lähellä laiduntamista verrattuna normaaliin käytäntöön Norjassa, jossa laitumet sijaitsevat kauempana esimerkiksi vuorilla. Tilan läheinen ympäristö on todennäköisesti hyvin kontaminoitunut *T. gondii* -loisen ookystilla. Laidunalueet vuoristossa ja metsissä ovat vain sporadisesti kontaminoituja esimerkiksi ilvesten toimesta. Tutkimuksen tekijät selittivät hiirenmyrkyn käyttöä riskitekijänä puolestaan sillä, että myrkytetyt hiiret kontaminoivat rehun helposti sekä sillä, että pelkällä hiirenmyrkyn käytöllä on vaikea pitää jysijäongelmaa kontrollissa. Skjerve ym. (1998) selittivät tilan korkeaa sijaintia riskitekijänä sillä, että ookystat saattavat säilyä paremmin lumipeitteen suojassa tasaisessa lämpötilassa verrattuna alueisiin lähellä meren rantaan, jossa lumi ja jää sulavat aika ajoin talven aikana. Tämän lisäksi tilat, jotka sijaitsevat lähempänä merenpintaa, lähettävät laiduntavat lampaat yleensä syrjäisemmille seuduille laiduntamaan tilan puutteen takia ja lampaat lähetetään usein suoraan laitumelta teurastamoon. Matalampi riski *T. gondii* -vasta-aineiden löytymiselle havaittiin katraissa, joiden lampoloissa oli metalliset ritilälattiat tai joiden lampolat olivat puurakenteisia. Ritilälattiat vähentävät lampolan kontaminaatioastetta, sillä kissan ulosteet ja kissan ulosteilla kontaminoidut materiaalit eivät jää ritilälle. Puurakenteisen lampolan matalampaa riskiä vasta-aineiden löytymiselle tutkimuksen tekijät eivät osanneet selittää. (Skjerve ym. 1998.)

## 1.8 *Toxoplasma gondii* – VASTA-AINEIDEN ESIINTYVYYS LAMPAILLA EUROOPASSA

*T. gondii* -alkueläintä tavataan yleisesti lampailla maailmanlaajuisesti (Dubey 2009). Teuraslampaiden *T. gondii* -vasta-aineiden esiintyvyydestä on kuitenkin vain rajallisesti tietoa (Tenter ym. 2000). Taulukossa 1 on esitelty valikoituja prevalenssituloksia Euroopasta. Taulukoissa esitetyjä tuloksia ei voi suoraan verrata toisiinsa, koska eri tutkimuksissa on käytetty eri tutkimusmenetelmiä ja otoskoot vaihtelevat paljon.

Taulukko 1: Lampaiden *T. gondii* – vasta-aineprevalensseja Euroopassa

Maa	otoskoko	seroprevalenssi (%)
Ruotsi (Lundén ym. 1994)	704	19
Norja (Skjerve ym. 1998)	1940	16,2
Liettua (Stimbirys ym. 2007)	354	42,1
Ranska (Dumétre ym. 2006)	93	65,5
Italia (Fusco ym. 2007)	1170	28,5
Espanja (Mainar-Jaime & Barberán 2007)	203	40,4
Serbia (Klun ym. 2006)	511	84,5

## 2 TUTKIMUSOSA

### 2.1 AINEISTO JA MENETELMÄT

#### 2.1.1 Näytteet

Tutkimuksessa käytetty aineisto on 1940 lammaseerumia, jotka ovat kerätty ympäri Suomea vuonna 2008 (Taulukko 2). Näytteet ovat pakastimessa säilytettyjä lampaan seerumeja Elintarviketurvallisuusvirastolta, yhteensä 2100 näytettä, joista tutkimukseen valittiin 1940 ottaen mukaan vain tilat, joilta saatiin täydet 20 näytettä. Näytteet ovat alun perin kerätty lain vaatiman maedi-visna - kartoituksen vuoksi ja tässä tutkimuksessa käytettiin hyödyksi ylijääneet seeruminäytteet. Tutkittuja tiloja oli yhteensä 97 ja jokaiselta tilalta tutkittiin 20 lammaseeruminäytettä.

Taulukko 2. Lampaiden seeruminäytteiden maantieteellinen jakautuminen

	näytemäärä	tutkitut tilat
Läänit		
Etelä-Suomen lääni	200	10
Länsi-Suomen lääni	380	19
Itä-Suomen lääni	260	13
Oulun lääni	300	15
Lapin lääni	360	18
Ahvenanmaa	440	22
yhteensä	1940	97

Maa- ja metsätalousministeriön asetuksen 15/EEO/2001 (Lampaiden maedi-visnan ja vuohien CAE:n vastustaminen) mukaan terveystalvontaohjelma on pakollinen tiloille, joilla pidetään yli 20 uuhua tai kuttua. Kunnaneläinlääkäri on otettava katraan kaikista yli 12 kuukauden ikäisistä lampaista ja vuohista verinäytteet. Näytteeksi otetaan verta vähintään 10 ml ilman lisäainetta vakuumiputkiin tai tavallisiin lasisiin verinäyteputkiin.

Tutkimuksessa olleista lampaista tiedetään vain, että ne ovat yli 20 uuhun tiloilta ja yli 12 kuukauden ikäisiä. Tarkempaa tietoa iästä, sukupuolesta, ravinnosta tai olosuhteista ei tässä tutkimuksessa ollut käytössä.

### 2.1.2 Otokoko

Tutkimuksessa käytettäväksi otokooksi laskettiin alun perin 400 näytettä Ruotsin lampaiden *T. gondii* -prevalenssin pohjalta. Laskussa käytettiin kaavaa:

$$n = Z^2 \times (p) \times (1-p) / L^2$$

jossa n on otokoko, Z = 1.96 (jos luottamustasoksi halutaan 95 %), p= arvio prevalenssista skaalalla 0 - 1 ja L = arvion halutaan osuvan +- L % -yksikön päähän todellisesta prosentista. Ruotsin prevalenssitulokset vaihtelivat 10 % - 45 %:n välillä

(Lundén ym. 1994) ja L:ksi valittiin 5 %. Näiden laskujen perusteella tarvittava otoskoko olisi noin 400.

Otoskoon tarkkuus varmistettiin ottamalla huomioon ryhmittymisen eli klusterointi icc-kertoimen (intracluster correlation coefficient) avulla. Ryhmittymisen on hyvä ottaa huomioon, koska eläimet elävät ryhmissä ja ryhmän sisällä altistuminen tietyille taudille on suurempaa kuin jos verrataan erillään olevia eläimiä. Ryhmän sisällä olevat eläimet muun muassa syövät samanlaista ruokaa samanlaisissa olosuhteissa ja muutenkin ovat samankaltaisempia kuin muissa ryhmissä oleskelevat eläimet. (Dohoo ym. 2003.)

Uusi, tarkempi otoskoko saadaan kaavasta:

$$n' = n(1 + p(m - 1))$$

jossa  $n'$  on uusi otoskoko,  $n$  = alkuperäinen otoskoko,  $p$  = icc-kerroin (intracluster correlation coefficient) ja  $m$  = tutkittujen eläinten lukumäärä tilaa kohden. Alkuperäisenä otoskokona oli 400 ja tutkittuja eläimiä haluttiin 20 jokaista tilaa kohden. Tutkittujen eläinten lukumäärä tilaa kohden oli tehty valinta. Jos tiloilta tutkittavien eläinten lukumäärä on suuri, nousee otoskoko hillittömästi. Jos taas tutkitaan vain pieni eläinmäärä kullakin tilalla, arvioinnin luotettavuus kärsii tilatasolla. Näytemäärä laskettiin kuitenkin tavoitteena määrittää seroprevalenssi ensisijaisesti yksilötasolla.

Eläintautideissa ylitetään harvoin icc - kertoimen arvoa 0,2 (FAO 2008), joten laskuissa päädyttiin käyttämään kyseistä arvoa. Uudeksi tarkistetuksi tarvittavaksi otoskokoksi saatiin 1920.

### 2.1.3 Serologinen menetelmä

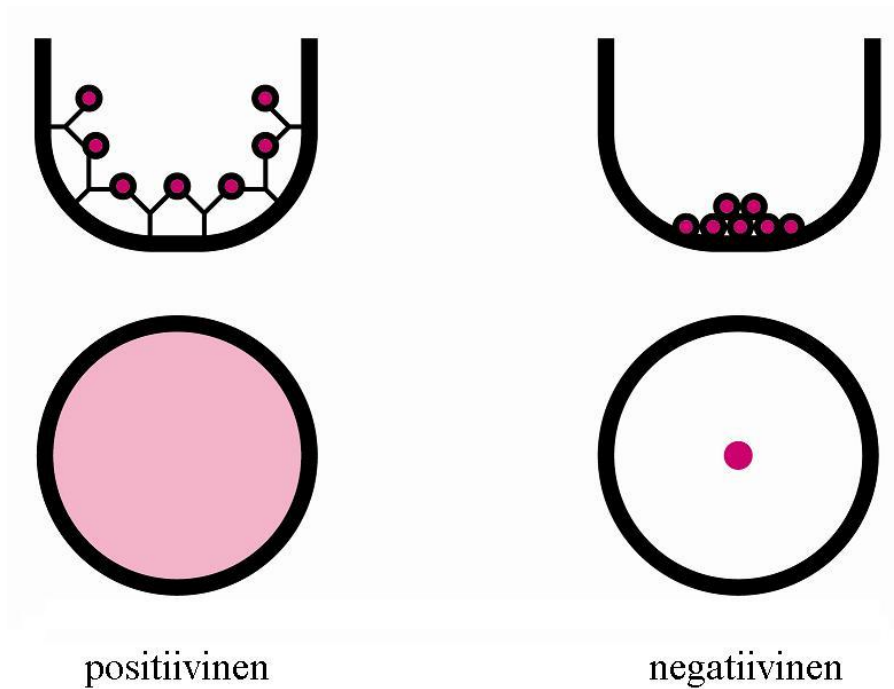
Seerumit tutkittiin Toxo-Screen DA - kitillä (Toxo-Screen DA; bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Ranska) valmistajan ohjeen mukaan. Testissä määritetään IgG – luokan *T. gondii* – vasta-aineita. Näyteseerumit laimennettiin lasisiin putkiin. Ensin putkiin pipetoitiin 1,9 ml fosfaattipuskuroitua suolaliuosta (phosphate buffered saline, PBS), jonka jälkeen putkiin lisättiin 100 µl näyteseerumia saaden näin aikaan 1:20 laimennos. Kitin mukana tulleita kontrollinäytteitä (positiivinen ja negatiivinen vuohen seerumi)



laimennettiin seerumeiden tapaan sekä tämän lisäksi kontrolleista tehtiin myös 1:2000 laimennos 2,5 ml:lla PBS:ä ja 25 µl:lla vastaavaa 1:20 laimennusta. Tämän jälkeen laimennokset sekoitettiin huolellisesti putkisekoittimessa.

Seuraavaksi jokaista seerumilaimennosta ja kontrollinäytteitä siirrettiin 25 µl omiin kaivoihinsa mikrotiitterilevylle. Tämän jälkeen mikrotiitterilevyn jokaiseen kaivoon pipetoitiin 25 µl 2-merkapttoetanolia, joka laimentaa näytteet laimennukseen 1:40 sekä positiivisen että negatiivisen kontrollin myös laimennukseen 1:4000. 2-merkapttoetanoli denaturoi IgM - luokan vasta-aineet estäen näin epäspesifisen agglutinaation. Seuraavaksi kaivoihin lisättiin 50 µl näytekitin mukana tullutta *T. gondii* - antigeenia. Viimeisen pipetoinnin yhteydessä kunkin kaivon sisältö sekoitettiin huolellisesti. Jokaiselle levylle tehtiin positiivisen ja negatiivisen kontrollin lisäksi myös antigeenikontrolli. Levyjä inkuboitiin 18 tuntia huoneenlämmössä tärinältä suojassa. Levyjen tulokset tulkittiin visuaalisesti inkuboinnin jälkeen.

Tulokset luokiteltiin arvoille 0 - 3, nollan ollessa negatiivinen tulos ja kolmen ollessa selvä positiivinen. Tuloksen 1 sai näyte, joka ei ollut puhdas negatiivinen (eli selvä "nappi" mikrotiitterikuopan pohjalla), muttei myöskään selvä positiivinen (Kuva 2.). Tuloksen 2 sai näytteet, jotka olivat positiivisia, mutteivät omanneet täydellistä sameaa mattoa mikrotiitterilevyllä, vaan maton reunat aaltoilivat tai rypistyivät. Tulokset 0 ja 1 tulkittiin negatiiviseksi ja tulokset 2 ja 3 positiiviseksi.



Kuva 2. Toxo-Screen DA – testin periaate. Positiivisessa reaktiossa näytteen vasta-aine ja testissä käytettävä *T. gondii* – antigeeni muodostavat maton mikrotiitterikuopan pohjalle agglutinoidessaan. Negatiivisessa reaktiossa näytteessä ei ole vasta-aineita, joten testin antigeenit vajoavat mikrotiitterikuopan pohjaan.

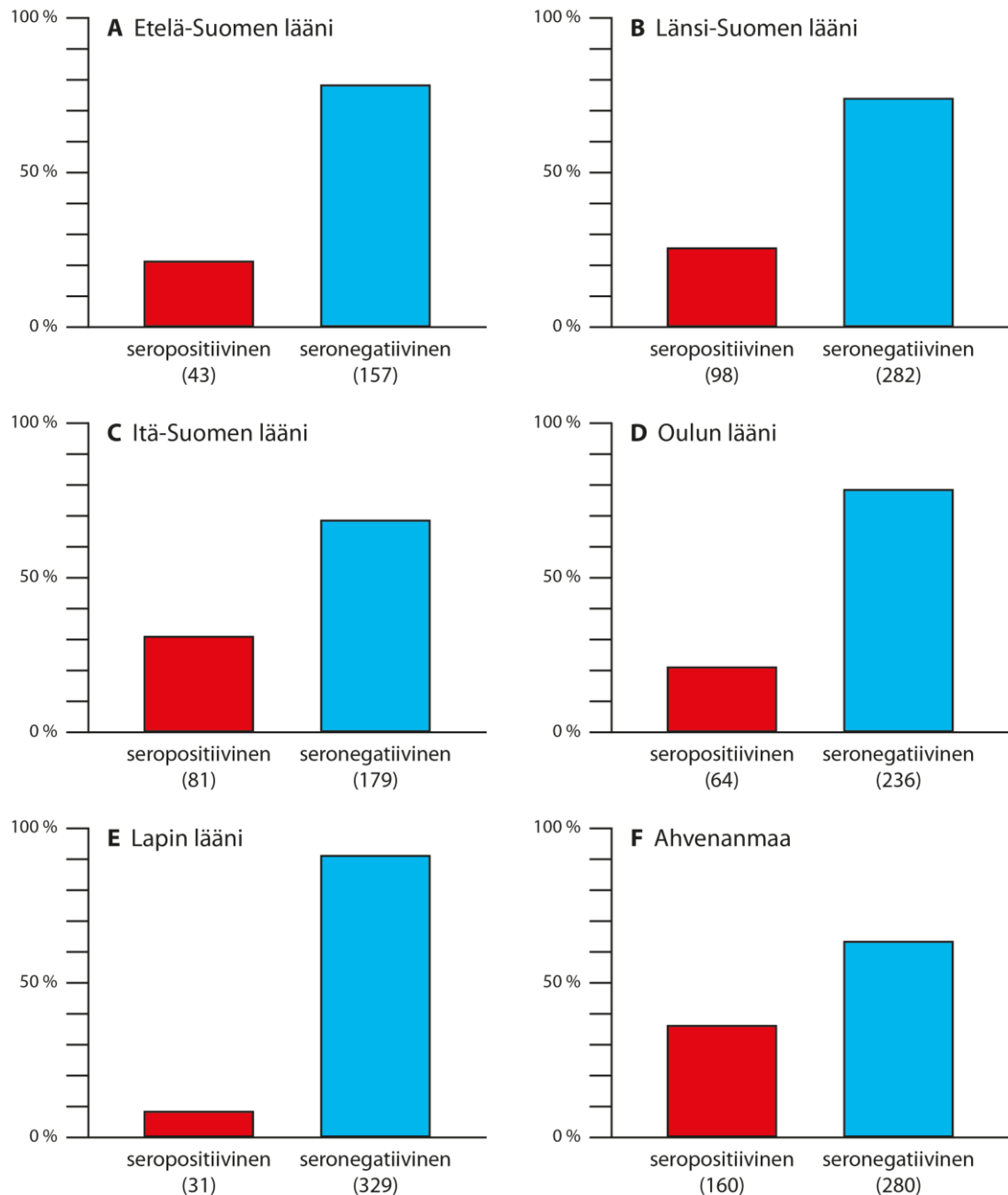
#### 2.1.4 Tulosten tilastollinen tulkinta

Tutkimuksessa saatujen tulosten tilastollinen tulkinta (95 % luottamusvälit ja p-arvo) suoritettiin OpenEpi – ohjelmalla, Mid-P exact – toiminnolla (Dean ym. 2009). P-arvot, jotka olivat  $< 0,05$  katsottiin tilastollisesti merkitseviksi.

## 2.2 TULOKSET

*Toxoplasma gondii* – vasta-aineita löytyi koko maan laajuisesti 477 lampaalta 1940 tutkitusta eli Suomessa lampaiden *T. gondii* - seroprevalenssi on 24,6 % (95 %:n luottamusväli 22,7 – 26,5). Läänien välillä lampaiden seroprevalenssit vaihtelivat korkeimman ollessa 36,4 % Ahvenanmaalla ja matalimman 8,6 % Lapin läänissä (kuva 3). Lapin läänistä tulleissa näytteissä oli vähemmän positiivisia näytteitä kuin

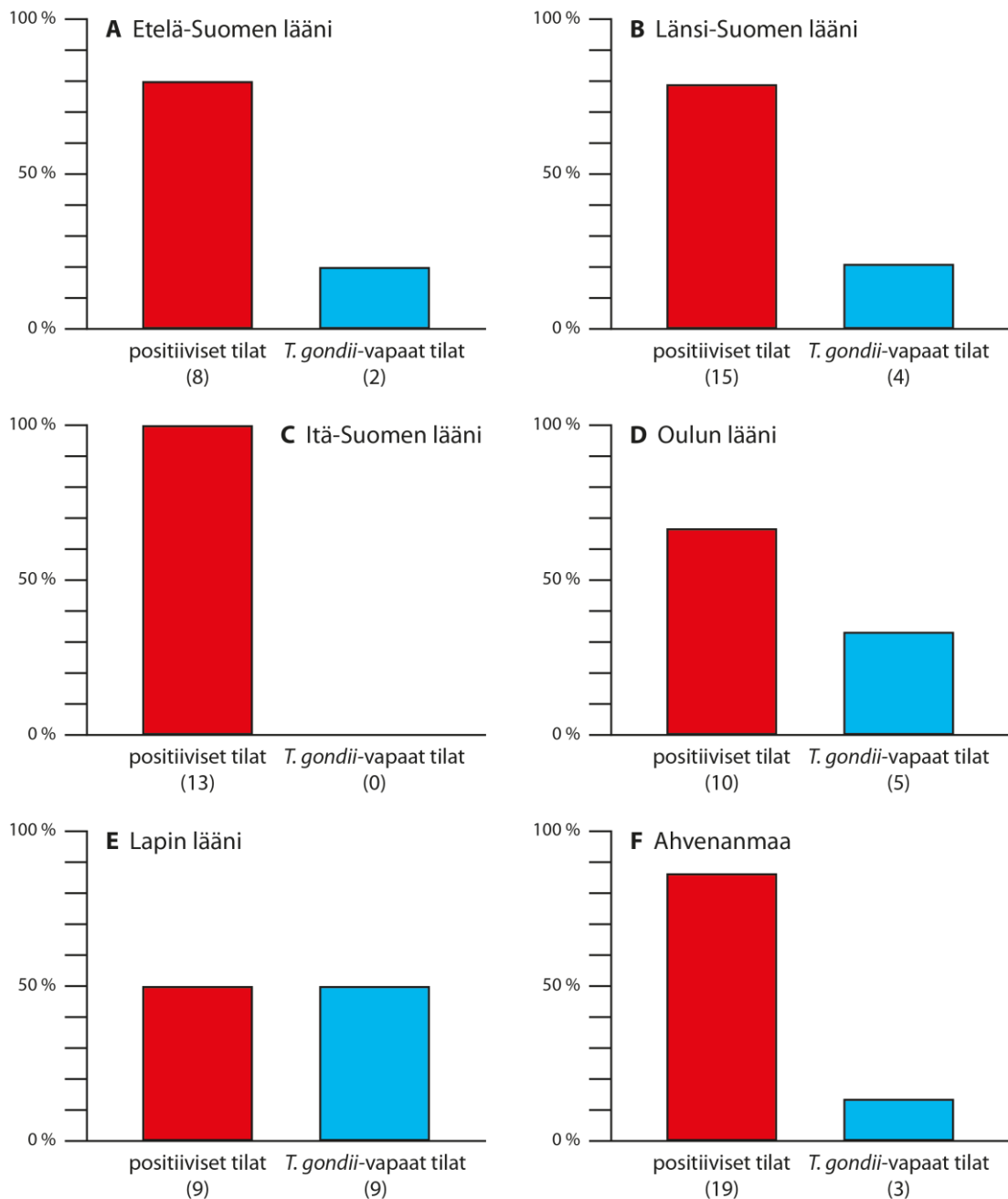
Ahvenanmaalla ( $p < 0,001$ ). Läänien seroprevalenssit (sulkeissa 95 %:n luottamusväli): Etelä-Suomen lääni 21,5 % (16,2 – 27,6), Länsi-Suomen lääni 25,8 % (21,6 – 30,4), Itä-Suomen lääni 31,2 % (25,7 – 37,0), Oulun lääni 21,3 % (17,0 – 26,2), Lapin lääni 8,6 % (6,0 – 11,9) ja Ahvenanmaa 36,4 % (32,0 – 40,9).



Kuva 3. *T. gondii* – vasta-aineiden prevalenssit lampailla lääneittäin.

Vasen pylväs kuvastaa seropositiivisten näytteiden prosentiosuutta ja oikea pylväs seronegatiivisten näytteiden prosentiosuutta. Prosentit y-akselilla, seropositiivisten ja seronegatiivisten näytteiden lukumäärät pylväiden alla sulkuissa.

Seropositiivisia lampaita löytyi 74 tilalta (76,3 %) 97 tutkituista tiloista. Suhteellisesti eniten tiloja, joissa oli ainakin yksi seropositiivinen lammas, oli Itä-Suomen läänissä (100 %) ja vähiten Lapin läänissä (50 %) (kuva 4). Etelä-Suomen läänissä 80 % tiloista löytyi positiivisia näytteitä, Länsi-Suomen läänissä 79 %, Itä-Suomen läänissä 100 %, Oulun läänissä 67 %, Lapin läänissä 50 % ja Ahvenanmaalla 86 %.



Kuva 4. *T. gondii* positiiviset ja *T. gondii* – vapaat tilat lääneittäin. Prosentit y-akselilla, tilojen lukumäärät pylväiden alla suluissa.

## 2.3 POHDINTA

*Toxoplasma gondii* - seroprevalenssiä ei ole aiemmin tutkittu suomalaisista lampaista. Tässä tutkimuksessa todettu lampaiden seroprevalenssi (24,6 %) on oletettua suuruusluokkaa maailmanlaajuisesti vaikkakin hieman muita pohjoismaita korkeampi Ruotsin seroprevalenssin ollessa 19 % ja Norjan 16 % (Lunden ym. 1992, Skjerve ym. 1998). Tutkimuksessa vahvuutena on suuri otoskoko (1940), joka varmistaa tulosten tilastollisen luotettavuuden ja edustavuuden. Riittävän näytemäärän takia prevalenssituloksille saatiin kapea 95 %:n luottamusväli.

Eräänä rajoitteena tutkimuksessa on se, että tutkittujen lampaiden ikiä, sukupuoliä tai muita asioita kuten pito-olosuhteita ei tiedetä. Tutkimuksessa olleista lampaista tiedetään vain, että ne ovat yli 20 uuhien tiloilta ja yli 12 kuukauden ikäisiä. Koska tutkitut lammat ovat yli vuoden ikäisiä, karitsojen seroprevalenssista ei saatu tietoa. Karitsojen seroprevalenssit ovat kuitenkin yleensä matalampia kuin aikuisten lampaiden (Dubey 2009). Lampaiden pito-olosuhteista olisi ollut mielenkiintoista tietää mahdollisesta kissan läsnäolosta lampolassa. Pienimmät, alle 20 uuhien tilat jäivät kokonaan prevalenssitutkimuksen ulkopuolelle.

Tutkimuksessa käytetyn Toxo-Screen DA – testin valmistaja ilmoittaa testin sensitiivisyyden olevan 96,22 % ja spesifisyyden 98,80 % (Toxo-Screen DA, BioMerieux SA, Ranska). Testin tulokset havaitaan visuaalisesti testikuopan pohjalle muodostuvan maton tai napin muodossa ja epäselvissä tapauksissa virheellisiä tulkintoja saattaa tapahtua. Tämän lisäksi tutkimuksessa näytteet tutkittiin vain yhdellä laimennuksella (1:40), joten prozone – ilmiön takia tuloksiin on saattanut tulla vääriä negatiivisia tulkintoja (Toxo-Screen DA, BioMerieux SA, Ranska). Prozone -ilmiö johtuu vasta-aineiden liian suuresta konsentraatiosta, jolloin testissä lisätty antigeeni ei riitä agglutinoimaan kaikkia vasta-aineita ja agglutinoitumattomat vasta-aineet painuvat testikuopan pohjalle antaen virheellisen negatiivisen tuloksen. Tutkimuksessa käytetty otoskoko (1940) on kuitenkin hyvin suuri ja vähentää mahdollisten virhetulosten suhteellista merkitystä lopullisessa esiintyvyydestuloksessa. Kaikki näytteet tutki ja

tulkitsi sama henkilö. Toxo-Screen DA – testi on käytännöllinen eläinlääketieteessä seulontatestinä, sillä se ei ole eläinlajispesifi (Klun ym. 2007).

Näyteseerumien laatu oli pääosin hyvä. Muutamia hemolysoituneita näytteitä oli mukana, mutta näistäkin näytteistä oli helppo tulkita tulokset. Toxo-Screen DA - kittiä ei ole validoitu hemolysoituneille näytteille. Tutkimusryhmämme ei kuitenkaan ole havainnut ongelmaa hemolysoituneiden näytteiden tulosten tulkinnassa (Jokelainen ym. 2011).

Vasta-aineiden esiintymistä tutkittaessa tulee muistaa epäsuoran menetelmän rajoitukset: Lammas on voinut olla infektoitunut *T. gondii* - alkueläimellä, vaikka vasta-ainetasot eivät vielä olisi nousseet havaittavissa olevalle tasolle.

Lampaiden *T. gondii* – infektiolla on merkitys ihmisten terveyden ja hyvinvoinnin lisäksi myös lampaiden omaan hyvinvointiin, sillä akuutti lampaan toksoplasmoosi aiheuttaa tyypillisesti useita päiviä kestävästä kuumeesta, joka voi nousta jopa 41 asteeseen (Owen ym. 1998). Suomalaisista lampaista yli 75 %:lla ei havaittu vasta-aineita loista vastaan, joten nämä lampaat ovat riskissä sairastua toksoplasmoosiin. Tämän lisäksi kuitenkin vain 23,7 % tutkituista tiloista on sellaisia, joista ei löytynyt lainkaan seropositiivisia lampaita, joten yli 75 %:lla tutkituista tiloista on tartuntalähde. Lampaiden hyvinvointia heikentää myös se, että akuutisti sairastuneiden lampaiden lääkkeellisestä hoidosta ei ole saatavilla päivitettyä tietoa.

*T. gondii* - alkueläintä ei tutkita Suomessa lihantarkastuksen yhteydessä teurastamoilla tällä hetkellä, tosin menetelmiäkään ei ole vielä standardisoitu teuraseläinten tutkimiseen (Kijlstra & Jongert 2009). Ongelmana on muun muassa infektoituneet eläimet, joiden lihasta löytyy kudoskystia, mutta vasta-aineet eivät ole nousseet tasolle, joka voitaisiin havaita serologisissa testeissä. Eläville eläimille ei myöskään suoriteta rutiininomaisia seulontatutkimuksia, vaikka EFSA on siihen kehottanut (EFSA 2007).

Tutkimuksen tulokset osoittavat, että *T. gondii* – alkueläintä esiintyy Suomessa lampailla ja että lampaat altistuvat *T. gondii* – alkueläimelle varsinkin eteläisimmissä osissa Suomea. Suomalainen lampaan liha on potentiaalinen tartunnan lähde ihmisten *T. gondii* – infektioille, mikäli lihaa ei käsitellä tavoilla, jotka tuhoavat loisen, esimerkiksi riittävällä kuumennuksella tai pakastamalla.

## 2.4 KIRJALLISUUSLUETTELO

Beverley J, Watson W. Prevention of experimental and naturally occurring ovine abortion due to Toxoplasmosis. Vet Rec 1970, 88: 39-41.

Beverley J, Watson W, Payne J. The pathology of the placenta in ovine abortion due to toxoplasmosis. Vet Rec 1971, 88: 124-128.

Black M, Boothroyd J. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. Microbiol Mol Biol Rev 2000, 64: 607-623.

Blewett D, Watson W. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II. Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. Br Vet J 1983, 139: 546-555.

Bowman D. Georgis' Parasitology for Veterinarians. 8.p. Saunders, Missouri 2003.

Buxton D. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis spp.*) in sheep and goats: recent advances. Vet Res 1998, 29: 289-310.

Buxton D, Blewett D, Trees A. Further studies in the use of monensin in the control of experimental ovine toxoplasmosis. J Comp Pathol 1988, 98: 225-236.

Buxton D, Brebner J, Wright S. Decoquinate and the control of experimental ovine toxoplasmosis. Vet Rec 1996, 138: 434-436.

Buxton D, Donald K, Finlayson J. Monensin and the control of experimental ovine toxoplasmosis: A systemic effect. Vet Rec 1987, 120: 618-619.

Buxton D, Finlayson J. Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus. J Comp Pathol 1986, 96: 319-333.

Buxton D, Gilmour J, Angus K, Blewett D, Miller J. Perinatal changes in lambs infected with *Toxoplasma gondii*. Res Vet Sci 1982, 32: 170-176.

Buxton D, Innes E. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitology 1995, 110 (Suppl): S11-S16.

Buxton D, Thomson K, Maley S, Wright S, Bos H. Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *Toxoplasma gondii* and their immunity to challenge when pregnant. Vet Rec 1991, 129: 89-93.

Buxton D, Thomson K, Maley S, Wright S, Bos H. Experimental challenge of sheep 18 months after vaccination with a live (S48) *Toxoplasma gondii* vaccine. Vet Rec 1993a, 133: 310-312.

Buxton D, Thomson M, Maley S. Treatment of ovine toxoplasmosis with a combination of sulphamezathine and pyrimethamine. Vet Rec 1993b, 132: 409-411.

Cook A, Gilbert R, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum P, Foulon W, Semprini A, Dunn D. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. BMJ 2000, 321: 142-147.

Dean A, Sullivan K, Soe M. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 2.3.1. < [www.OpenEpi.com](http://www.OpenEpi.com) >, haettu 23.2.2011

Dubey J. Experimental toxoplasmosis in sheep fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Int Goat and Sheep Res 1984, 2: 93-104.

Dubey J. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. Am J Vet Res 1988, 49: 910-913.



Dubey J. Toxoplasmosis. J Am Vet Med Assoc 1994, 205: 1593-1598.

Dubey J. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. Vet Parasitol 1996, 64: 65-70.

Dubey J. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol 1998a, 28: 1019-1024.

Dubey J. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. J Parasitol 1998b, 84: 862- 865.

Dubey J. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. Vet Parasitol 2004, 126: 57-72.

Dubey J. The life cycle of *Toxoplasma gondii*. Teoksessa: Ajioka J, Soldati D (toim.) Toxoplasma, Molecular and cellular biology. Horizon Bioscience, Norfolk 2007: 3-16.

Dubey J. Toxoplasmosis in sheep – The last 20 years. Vet Parasitol 2009, 163: 1-14.

Dubey J, Beattie C. Toxoplasmosis of animals and man. 1. p. CRC Press Inc., Florida 1988.

Dubey J, Emond J, Desmonts G, Anderson M. Serodiagnosis of postnatally and prenatally induced toxoplasmosis in sheep. Am J Vet Res 1987a, 48: 1239-1243.

Dubey J, Frenkel J. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. J Protozool 1972, 19: 155-177.

Dubey J, Frenkel J. Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. Vet Pathol 1974, 11: 350-379.

Dubey J, Frenkel J. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. J Protozool 1976, 23: 537-546.

Dubey J, Hughes H, Lillehoj H, Gamble H, Munday B. Placental transfer of specific antibodies during ovine congenital toxoplasmosis. *Am J Vet Res* 1987b, 48: 474-476.

Dubey J, Kirkbride C. Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. *J Am Vet Med Assoc* 1989, 195:1715-1716.

Dubey J, Kotula A, Sharar A, Andrews C, Lindsay D. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Parasitol* 1990, 76: 201-204.

Dubey J, Lindsay D, Speer C. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev* 1998, 11: 267-299.

Dubey J, Sharma S. Parasitemia and tissue infection in sheep fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol* 1980, 66: 111-114.

Dubey J, Thulliez P, Weigel R, Andrews C, Lind P, Powell E. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am J Vet Res* 1995, 56: 1030-1036.

Dubey J, Urban J, Davis S. Protective immunity to toxoplasmosis in pigs vaccinated with a nonpersistent strain of *Toxoplasma gondii*. *Am J Vet Res* 1991, 52: 1316-1319.

Dubremetz J, Ferguson D. Ultrastructure. Teoksessa: Ajioka J, Soldati D (toim.) *Toxoplasma, Molecular and cellular biology*. Horizon Bioscience, Norfolk 2007: 17-33.

Dumètre A, Ajzenberg D, Rozette L, Mercier A, Dardé M. *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. *Vet Parasitol* 2006, 142: 376-379.

Dohoo I, Martin W, Stryhn H. Mixed models for continuous data. Teoksessa: *Veterinary epidemiologic research*. AVC Inc, Charlottetown 2003: 473-498.

EFSA 2007. Monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals. EFSA Journal 2007, 583, 1–64.

Esteban-Redondo I, Maley S, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, Innes E. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. Vet Parasitol 1999, 86: 155-171.

Evira <<http://www.evira.fi>>, Lääkeluettelo, haettu 23.2.2011.

FAO 2008 < <http://www.fao.org/DOCREP/006/X0413E/X0413E08.htm>>, haettu 10.3.2008 ja 23.2.2011

Frenkel J, Dubey J, Hoff R. Loss of stages after continuous passage of *Toxoplasma gondii* and *Besnoitia jellisoni*. J Protozool 1976, 23: 421-424.

Frenkel J, Pfefferkorn E, Smith D, Fishback J. Prospective vaccine prepared from a new mutant of *Toxoplasma gondii* for use in cats. Am J Vet Res 1991, 52: 759-763.

Fusco G, Rinaldi L, Guarino A, Proroga Y, Pesce A, Giuseppina de M, Cringoli G. *Toxoplasma gondii* in sheep from the Campania region (Italy). Vet Parasitol 2007, 149: 271-274.

Hartley W, Kater J. The pathology of *Toxoplasma* infection in pregnant ewe. Res Vet Sci 1963, 4: 326-332.

Innes E, Bartley P, Buxton D, Katzer F. Ovine toxoplasmosis. Parasitology 2009, 136: 1887-1894.

Innes E, Vermeulen A. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora*. Parasitol 2006, 133: S145-S168.

Jackson M, Hutchison W. The prevalence and source of *Toxoplasma* infection in the environment. Adv Parasitol 1989, 28: 55-105.

Jokelainen P, Isomursu M, Näreaho A, Oksanen A. Natural *Toxoplasma gondii* infections in european brown hares and mountain hares in Finland: Proportional mortality rate, antibody prevalence, and genetic characterization. *J Wildl Dis* 2011, 47: 154-163.

Jokelainen P, Näreaho A, Knaapi S, Oksanen A, Rikula U, Sukura A. *Toxoplasma gondii* in wild cervids and sheep in Finland: north-south gradient in seroprevalence. *Vet Parasitol* 2010, 171: 331-6.

Jones J, Holland G. Annual burden of ocular toxoplasmosis in the Unites States. *Am J Trop Med Hyg* 2010, 82: 464-465.

Kapperud G, Jenum P, Stray-Pedersen B, Melby K, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol* 1996, 144: 405-412.

Kijlstra A, Jongert E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int J Parasitol* 2008, 38: 1359-1370.

Kijlstra A, Jongert E. Toxoplasma-safe meat: close to reality? *Trends Parasitol* 2009, 25: 18-22.

Klun I, Djurković-Djaković O, Katić-Radivojević S, Nikolić A. Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: seroprevalence and risk factors. *Vet Parasitol* 2006, 135: 121-131.

Klun I, Djurkovic-Djakovic O, Thulliez P. Comparison of a ommercial ELISA with the modified agglutination test for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally exposed sheep. *Zoonoses Public Health* 2007, 54: 165-168.

Lappalainen M, Koskela P, Hedman K, Teramo K, Ämmälä P, Hiilesmaa V, Koskiniemi M. Incidence of primary *Toxoplasma* infections during pregnancy in southern Finland: a prospective cohort study. *Scand J Infect Dis* 1992, 24: 97-104.

Lappalainen M, Sintonen H, Koskiniemi M, Hedman K, Hiilesmaa V, Ämmälä P, Teramo K, Koskela P. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scand J Infect Dis* 1995, 27: 265-272.

Lundén A, Näsholm A, Uggla A. Long-term study of *Toxoplasma gondii* infection in a Swedish sheep flock. *Acta Vet Scand* 1994, 35: 273-281.

Lunden A, Uggla A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *Int J Food Microbiol* 1992, 15: 357-363.

Mainar-Jaime R, Barberán M. Evaluation of the diagnostic accuracy of the modified agglutination test (MAT) and an indirect ELISA for the detection of serum antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep through Bayesian approaches. *Vet Parasitol* 2007, 148: 122-129.

Marca M, Ramos J, Loste A, Sáez T, Sanz M. Comparison of indirect immunofluorescent antibody test and modified direct agglutination test methods for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in adult sheep in Spain. *Vet Parasitol* 1996, 67: 99-103.

Mateus-Pinilla N, Dubey J, Choromanski L, Weigel R. A field trial of the effectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine. *J Parasitol* 1999, 85: 855-860.

MMM < <http://www.mmmtike.fi> > maataloustilastot, haettu 23.2.2011

MMM asetus 15/EEO/2001 Lampaiden maedi-visnan ja vuohien CAE:n vastustamisesta muutoksineen. < <http://wwwb.mmm.fi/el/laki/d/d68.html> >, haettu 23.2.2011

Morley E, Williams R, Hughes J, Thomasson D, Terry R, Duncanson P, Smith J, Hide G. Evidence that primary infection of Charollais sheep with *Toxoplasma gondii* may not prevent foetal infection and abortion in subsequent lambings. *Parasitology* 2008, 135: 169-173.

Munday B, Dubey J. Serology of experimental toxoplasmosis in pregnant ewes and their foetuses. *Aust Vet J* 1986, 63: 353-355.

Munday B, Obendorf D, Handler J, Mason R. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in ovine foetuses. *Aust Vet J* 1987, 64: 292.

O'Connell E, Wilkins M, Te Punga W. Toxoplasmosis in sheep. II. The ability of a live vaccine to prevent lamb losses after an intravenous challenge with *Toxoplasma gondii*. *N Z Vet J* 1988, 36: 1-4.

Oksanen A. Lampaan loiset. *Suom Eläinlääkäri* 2008, 114: 98-101.

Owen M, Clarkson M, Trees A. Acute phase *toxoplasma* abortions in sheep. *Vet Rec* 1998, 142: 480-482.

Parikka P. Tilannekatsaus Suomen lammastalouteen. Yhteinen tuotannon suunnittelu – info- ja koulutuspäivä. ProAgria keskusten liitto, Ristijärvi 28.1.2010, <[http://www.tukinetti.net/images/stories/tiedostot/Tuotantosunnat/Pia\\_parikka\\_Ristijarvi28012010\\_tiivistelma.pdf](http://www.tukinetti.net/images/stories/tiedostot/Tuotantosunnat/Pia_parikka_Ristijarvi28012010_tiivistelma.pdf)>, haettu 23.2.2011

Plumb D. Plumb's Veterinary Drug Handbook. 6. p. Blackwell Publishing, Iowa 2008: 1136-1140.

Proagria <<http://www.proagria.fi/suomenlammasyhdistys>> haettu 23.2.2011

Radostits O, Gay C, Hinchcliff K, Constable P. *Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10. p. Saunders Elsevier, Edinburgh 2007.

Seefeldt S, Kirkbride C, Dubey J. Comparison of enzyme linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody test, and direct agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally aborted ovine fetuses. *J Vet Diagn Invest* 1989, 1:124-127.

Shaapan R, El-Nawawi F, Tawfik M. Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. *Vet Parasitol* 2008, 153: 359-362.

Sheffield H, Melton M. The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* 1968, 54: 209-226.

Skjerve E, Waldeland H, Nesbakken T, Kapperud G. Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. *Prev Vet Med* 1998, 35: 219-227.

Stimbirys A, Bagdonas J, Gerulis G, Russo P. A serological study on the prevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep of Lithuania. *Pol J Vet Sci* 2007, 10: 83-87.

Tarvainen L. Lampaan ruuansulatuskanavan loisten esiintyminen Suomessa. Lisensiaatin tutkielma, Helsingin yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta, Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen laitos, 2009.

Tenter A, Heckerroth A, Weiss L. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 2000, 30: 1217-1258.

Uggla A, Sjöland L, Dubey J. Immunohistochemical diagnosis of toxoplasmosis in fetuses and fetal membranes. *Am J Vet Res* 1987, 48: 348.

Vesco G, Buffolano W, La Chiusa S, Mancuso G, Carappa S, Chianca A, Villari S, Curró V, Liga F, Petersen E. *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. *Vet Parasitol* 2007, 146: 3-8.

Waller T, Uggla A, Bergquist N, Walter C. Application of an indirect carbon immunoassay (CIA) for the rapid diagnosis of antibody to *Toxoplasma gondii* in sheep. *Vet Immunol Immunopathol* 1983, 5: 203-208.

Webster J. The effect of *Toxoplasma gondii* on animal behavior: Playing cat and mouse. Schizophr Bull 2007, 33: 752-756.

Wilkins M, O'Connell E, Te Punga W. Toxoplasmosis in sheep. I. Effect of a killed vaccine on lambing losses caused by experimental challenge with *Toxoplasma gondii*. N Z Vet J 1987, 35: 31-34.

Wilkins M, O'Connell E, Te Punga W. Toxoplasmosis in sheep III. Further evaluation of the ability of a live *Toxoplasma gondii* vaccine to prevent lamb losses and reduce congenital infection following experimental oral challenge. N Z Vet J 1988, 36: 86-89.