



Norges veterinærhøgskole

***Toxoplasma gondii* infeksjon hos katt i
Norge - seroprevalens og risikofaktorer**

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection
among cats in Norway and risk factors for
seropositivity

Kristine Paulsen Eggen
Nina Malmberg
Kull 2005

Fordypningsoppgave
Smådyr

Veiledere
Bente Kristin Sævik
Kristin Wear Prestrud

Institutt for sports- og familiedyrmedisin
Seksjon for smådyrsykdommer

Oslo, mai 2011



Norges veterinærhøgskole

***Toxoplasma gondii* infeksjon hos katt i
Norge - seroprevalens og risikofaktorer**

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection
among cats in Norway and risk factors for
seropositivity

Kristine Paulsen Eggen
Nina Malmberg
Kull 2005

Fordypningsoppgave
Smådyr

Veiledere
Bente Kristin Sævik
Kristin Wear Prestrud

Institutt for sports- og familiedyrmedisin
Seksjon for smådyrsykdommer

Oslo, mai 2011

Innhold

Forord	4
Sammendrag.....	5
DEL I.....	6
Innledning.....	6
<i>Toxoplasma gondii</i>	7
Livssyklus, morfologi og overføring.....	7
Ekstraintestinal syklus.....	8
Enteroepitelial syklus.....	10
Oocyster.....	11
Kongenital overføring.....	12
Immunitet hos katt.....	12
Toxoplasmose.....	13
Toxoplasmose hos katt.....	13
Patogenese og kliniske symptomer.....	13
Diagnose.....	14
Behandling og prognose.....	15
Toxoplasmose hos mennesker og andre mellomverter.....	16
Tidligere studier.....	17
Studier gjort på katt.....	17
Studier gjort på mennesker og andre dyrearter.....	17
DEL 2	
<i>Toxoplasma gondii</i> - a seroprevalence study in cats from Norway.....	19
Introduction.....	19
Materials and methods.....	21
Study sample.....	21
Serological testing for <i>T. gondii</i>	21
Statistical analysis.....	22
Descriptive statistics.....	22
Risk factor analysis.....	22
Model evaluation.....	23
Results.....	23

Descriptive statistics.....	23
Study sample.....	23
Seroprevalence.....	24
Risk factor analysis.....	24
Modevaluation.....	26
Discussion.....	27
Takk til bidragsytere.....	31
Summary	31
Referanser.....	32
Vedlegg	39
Medforfattererklæring	39

Forord

Som fordypningsstudenter innen smådyrmedisin, har vi valgt å skrive oppgave om parasitten *Toxoplasma gondii* hos katt, og å undersøke seroprevalensen imot *T. gondii* hos et utvalg katter med serumprøver innsendt til Sentrallaboratoriet, Norges veterinærhøgskole, høsten 2009. Da lite vites om forekomsten av *T. gondii* hos norske katter, syns vi det er interessant å belyse dette temaet og forsøke å kartlegge seroprevalensen hos katter i Norge. *T. gondii* har en global utbredelse, og smitter så å si alle varmblodige dyr inkludert menneske, hvor parasitten blant annet kan føre til misdannelser hos foster og abort ved smitte til gravide kvinner. Kattedyr står sentralt i smittespredning til andre dyr og mennesker, da de som eneste endevert av parasitten skiller ut oocyster til miljøet via feces, som igjen kan smitte mellomverter av parasitten.

T. gondii spiller en viktig rolle både inne human- og veterinærmedisin. På grunn av *T. gondii* sin betydning som zoonose og helserisiko for blant annet gravide, er katteeiere ofte bekymret for hvorvidt deres katt er smittet med parasitten, og veterinærene blir ofte spurt om risikoen for smitte fra katt til menneske. Vi synes derfor det er viktig at veterinærer har faglig kompetanse innen dette området og kan gi fornuftige råd i slike situasjoner. Selv om katter sjelden utvikler klinisk alvorlig sykdom ved en *T. gondii* infeksjon, er dette en sykdom som kan manifestere seg på mange ulike måter når det oppstår kliniske symptomer. Som kommende smådyrpraktikere synes vi også at det er viktig å ha kunnskap om sykdommen toksoplasmose og kliniske symptomer hos katt, slik at man også kan få berettiget mistanke om denne sykdommen hos syke katter.

Vi håper med denne undersøkelsen å kunne si noe om forekomsten og mulige risikofaktorer for *T. gondii* seropositivitet hos norske katter. Vi ønsker også at undersøkelsen på et senere tidspunkt kan danne grunnlag for en publikasjon i et vitenskapelig tidsskrift.

Vi har valgt å dele oppgaven i to deler. Del 1 er en innledning skrevet på norsk: En litteraturstudie som kan sies å danne bakgrunnen for oppgaven i sin helhet. Del 2 er skrevet på engelsk og er tenkt å være et utkast til en vitenskapelig artikkel. Denne delen er oppbygd som en vitenskapelig artikkel med innledning, materialeog metoder, resultat og diskusjon.

Sammendrag

Tittel: *Toxoplasma gondii* infeksjon hos katt i Norge – seroprevalens og risikofaktorer

Forfattere: Kristine Paulsen Eggen og Nina Malmberg

Veiledere: Bente Kristin Sævik, Institutt for sports- og familiedyrmedisin
Kristin Wear Prestrud, Institutt for sports- og familiedyrmedisin

Toxoplasma gondii er en encellet intracellulær parasitt som finnes over hele verden. Parasitten kan infisere de fleste, om ikke alle, varmblodige dyr inkludert mennesker. Kattedyr er endeverter, og alle andre arter fungerer som mellomverter for parasitten. Infeksjon med *T. gondii* hos endeverter og immunkompetente mellomverter forløper oftest asymptomatisk eller med milde, forbigående symptomer. Imidlertid kan primærinfeksjon hos drektige hunddyr og gravide kvinner føre til abort eller fosterskader. Immunsupprimerte individer kan utvikle klinisk toksoplasmose.

Formålet med denne studien er å beskrive seroprevalensen av *T. gondii* hos katter i et utvalg av serumprøver sendt inn fra hele landet til Sentrallaboratoriet, Norges veterinærhøgskole, høsten 2009, og identifisere mulige risikofaktorer for smitte ut fra tilgjengelig informasjon. Vi har analysert 478 serumprøver med et restserum på minimum 0,4 ml, og analysert disse for IgG antistoffer mot *T. gondii* ved hjelp av et kommersielt testkit (Toxo-Screen Da kit, bioMerieux. S.A., Mary-l'Etoile, France). 1:40 fortykning av sera ble brukt som cut-off, og det ble funnet en seroprevalens på 41,0 % (95 % KI: 36,6 - 45,4). Viktige risikofaktorer inkluderer rase, kjønn, alder og geografisk område. Huskatter har høyere risiko for seropositivitet enn rasekatter, og hannkatter en høyere risiko enn hunnkatter. Risikoen øker signifikant med kattens alder, og katter som bor utenfor Oslo har høyere risiko for seropositivitet enn katter i Oslo.

DEL I

Innledning

Toxoplasma gondii er en encellet intracellulær parasitt som tilhører familien Sarcocystidae, (vevscystedannende koksidier), som igjen hører inn under rekken Apicomplexa (Gjerde 2007). Parasitten har en global utbredelse, og kan infisere en lang rekke verter. Katter (*Felis catus*) og andre medlemmer av familien Felidae er eneste kjente endeverter, mens de fleste, om ikke alle, varmblodige dyr inkludert menneske fungerer som mellomverter (Tenter et al., 2000; Dubey og Beattie 1988). *T. gondii* ble først beskrevet i 1908 av Nicolle og Manceaux, som påviste organismen i organene til gondi (*Ctenodactylus gundi*), en nord-afrikansk gnager (Nicolle og Manceaux 1908). I første halvdel av 1900-tallet ble det man trodde var ulike arter av *T. gondii* navngitt etter hvilke vertsdyr de ble oppdaget i. Først på 1930-tallet viste biologiske og immunologiske sammenlikninger at ulike isolater fra dyr og mennesker var identiske med *T. gondii* (Tenter et al., 2000). Den fullstendige livssyklusen til parasitten ble kjent i 1970, da man oppdaget seksuelle stadier av parasitten (oocyster) i tynntarmen hos katter (Tenter et al., 2000; Frenkel et al., 1970). Som endeverter er katter de eneste dyrene som skiller ut infeksiose oocyster til miljøet (Frenkel et al., 1970).

De fleste isolater av *T. gondii* kan deles inn i tre genetiske linjer: Type I, II og III (Dubey og Lappin 2006). I tillegg er det funnet en mengde atypiske linjer av parasitten rundt om i verden, spesielt i Sør-Amerika (Dubey et al., 2007).

Infeksjon med *T. gondii* har både humanmedisinsk og veterinærmedisinsk betydning. Toxoplasmose er en kjent zoonose, og hos menneske gir sykdommen vanligvis milde og forbigående symptomer. Hos immunsupprimerte individer kan derimot parasitten gi svært alvorlige symptomer og er potensielt dødelig (Jones et al., 2002). Den kan også føre til abort eller alvorlig kongenital sykdom hos foster ved smitte in utero (Smith 2009; Tenter et al., 2000). *T. gondii*-infeksjon er også svært vanlig hos mange husdyrarter (Dubey og Beattie 1988; Tenter et al., 2000). Parasitten er særlig viktig hos sau, der den er en viktig årsak til abort (Buxon et al., 2007).

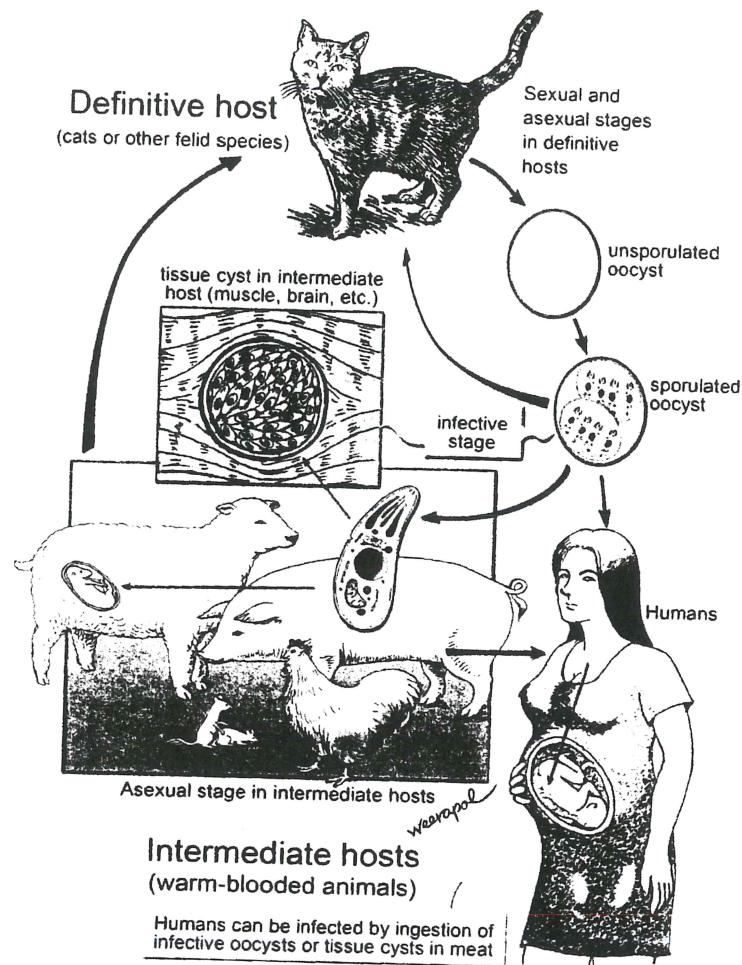
Toxoplasma gondii

Livssyklus, morfologi og overføring

T. gondii har en fakultativ toverts livssyklus som både kan ha en kjønnnet og ukjønnnet (direkte og indirekte) livssyklus (Tenter et al., 2000). Parasitten har tre infeksiose stadier: tachyzoiter (under aktiv infeksjon i vertsvev), bradyzoiter (i vevscyster) og sporozoiter (i oocyster) (Dubey et al., 1998), som alle kan infisere både endevert og mellomvert hovedsakelig via en av følgende ruter:

- A) Horisontalt ved oralt inntak av infeksiose oocyster fra miljøet
- B) Horisontalt ved inntak av vevscyster i rått eller lite varmebehandlet kjøtt eller viscera fra mellomverter
- C) Vertikalt ved transplacental overføring av tachyzoiter

I tillegg kan tachyzoiter hos flere dyrearter også overføres i melk fra mordyr til avkom (Tenter et al., 2000).



Figur 1. Livssyklus for *T. gondii* (Engstrøm 2010).

Ekstraintestinal syklus

Den ekstraintestinale utviklingen av *T. gondii* er den samme for alle verter, inkludert gnagere og andre mellomverter, mennesker og katter. Syklusen er også den samme uavhengig av hvilket stadium av parasitten som inntas (Dubey og Lappin 2006). Mellomverter blir enten smittet med infeksiose oocyster fra endeverten katt, eller med vevscyster (bradyzoiter) av parasitten fra en annen mellomvert. Smitte med tachyzoiter fra inntak av nylig infiserte mellomverter betyr lite da tachyzoiter er lite resistente mot miljøet i mage og tarm (Dubey 1998a), men tachyzoiter kan overføres fra mor til foster ved parasitemi hos mordyret.

Etter inntak av et av de infeksiose stadiene av *T. gondii* vil disse frigjøres i mellomvertens tarm. Ved inntak av infeksiose oocyster, ekskysterer disse og frigjøres i mellomvertens tynntarm. Ved inntak av vevscyster fra infiserte mellomverter, vil bradyzoitene frigjøres i

tarmen. De infeksjøsne stadiene trenger så inn i intestinale celler, inkludert i lamina propria, hvor de på et tidspunkt omgjøres til tachyzoiter og begynner å dele seg i celler de infiserer, bl.a. immunceller, kapillære endotelceller, glatte muskelceller og fibroblaster (Dubey 1998a; Dubey et al., 2009).

Tachyzoitene er halvmåneformede med en spiss framdel og avrundet bakdel. Størrelsen er ca. 2-6 μm med en veldefinert kjerne som vanligvis er sentrert i cellen (Dubey et al., 1998). Tachyzoitene kan bevege seg ved hjelp av bl.a. glidebevegelser og rotasjon, og de entrer vertsceller ved å aktivt penetrere vertscellens cellemembran eller ved fagocytose. De deler seg ved endodyogeni, en spesialisert form for formering der to datterceller dannes av en morcelle (Dubey et al., 1998). På denne måten blir vertscellen til slutt så full av tachyzoiter at den brister. Tachyzoitene blir da frigitt og infiserer nye vertsceller hvor de fortsetter å dele seg ved endodyogeni. Hastigheten på invasjon og vekst av tachyzoitene varierer med *T. gondii* stamme og type vertsceller som infiseres (Dubey et al., 1998).

Det vil etter kort tid oppstå en parasittemi, og tachyzoitene blir spredt med blod og lymfe til de fleste organer og vev i mellomverten, hvor formeringen fortsetter. I forsøk med mus, ble parasittemi registrert hos noen av musene så tidlig som 4 timer etter inokulasjon, men hos de fleste tok det 48 timer (Dubey 1998a). Dette er det aktive stadiet i infeksjonen, som fører til ulike grader av vevsdestruksjon og som kan føre til kliniske symptomer hos verten. Tachyzoitene vil etter hvert differensieres til bradyzoiter, som fører til dannelsen av vevscyster (Dubey et al., 2009). Vevscyster kan utvikles i mellomverten så tidlig som 6-7 dager etter inntak av oocyster eller vevscyster fra andre mellomverter. Vevscystene persisterer sannsynligvis resten av vertens liv (Dubey et al., 1998).

Bradyzoitene har noen få strukturelle ulikheter sammenlignet med tachyzoitene. De har en kjerne som er lokalisert mer mot framdelen av cellen, mens tachyzoitene har en mer sentrert kjerne. (Dubey et al., 1998). Inne i vevscystene formerer bradyzoitene seg sakte ved endodyogeni (Tenter et al., 2000; Dubey et al., 1998), slik at cystene med tid vil vokse. De befinner seg hele tiden intracellulært og størrelsen på cystene varierer mye, avhengig av alder på cysten og lokalisasjon/vertscelle. En ung vevscyste kan være 5 μm i diameter og kun inneholde to bradyzoiter, mens eldre cyster kan inneholde mange hundre bradyzoiter og er derfor større. Vevscyster i hjernen er ofte mindre enn vevscyster i muskulatur (Dubey et al., 1998). Vevscystene finnes oftest i nervevev og muskelvev, inkludert hjerne, øyne, skjelett- og

hjertemuskulatur, men kan også finnes i viscerale organer, som lunger, lever og nyrer (Dubey et al., 1998; Dubey et al., 2009). Intakte vevscyster er sannsynligvis harmløse og kan befinne seg i vertsdyret i hele dets liv uten å utløse en immunrespons (Dubey et al., 1998).

Omdannelsen mellom tachyzoiter og bradyzoiter er imidlertid reversibel. Hos immunsupprimerte individer kan derfor infeksjon reaktiveres (Smith 2009; Israelski og Remington 1988; Odaert et al., 1996).

Enteroepitelial syklus

Denne syklusen forekommer kun hos endeverten. De fleste katter antas å smittes ved inntak av mellomverter infisert med *T. gondii* (Dubey og Lappin 2006). Avhengig av art, geografisk lokalisasjon og årstid kan opp til 73 % av smågnagere og opp til 71 % av ville fugler være infisert med parasitten (Tenter et al., 2000). Etter inntak av vevscyster fra en infisert mellomvert, oppløses cystevæggen av proteolytiske enzymer i mage og tynntarm hos katten. Dette fører til frigjøring av bradyzoiter som penetrerer tarmepitelet og initierer en ukjønnert oppformering av *T. gondii*. Før den kjønnede formeringen og gametogonien begynner, dannes det først fem morfologisk ulike ukjønnede stadier av parasitten i tarmens epitelceller, kalt type A til E (Dubey et al., 1998). Det tar ca. to dager fra inntak av vevscyster til den kjønnede syklusen starter. De siste ukjønnede stadiene omdannes etter hvert til mikro- og makrogamonter. Gamonter finnes i tynntarmen, særlig i ileum, 3-15 dager etter inntak av vevscyster. Fra hver mikrogamont dannes det opptil 21 mikrogameter, som er ca. 2 µm store og har to flageller. Hver makrogamont vokser og utvikles til en makrogamet. Mikrogametene bruker sine flageller for å svømme til og penetrere og befrukte modne makrogameter, og det dannes på denne måten zygoter. Etter befruktning dannes det en oocystevegg rundt parasitten. Infiserte epitelceller rupturerer og frigir oocyster ut i tarmlumen (Dubey et al., 1998). Disse blir så skilt ut i miljøet med kattens feces, hvor de må sporulere før de er infektive for nye verter. Nesten alle katter som infiseres med vevscyster skiller ut oocyster etter en prepatensperiode (tid fra smitte til utskillelse av oocyster) på 3-10 dager, med en patensperiode (tid parasitten kan påvises hos verten) på opp til 20 dager (Tenter et al., 2000; Dubey 1998a; Dubey and Frenkel 1976).

Katter kan også infiseres ved inntak av et stort antall (≥ 1000) tachyzoiter, for eksempel dersom de får i seg en nylig infisert mellomvert (Tenter et al., 2000; Dubey 1996).

Tachyzoitene vil da først utvikle seg videre som tachyzoiter utenfor tarmen, før de omgjøres til bradyzoiter og danner vevscyster. En del av tachyzoitene kommer seg tilbake til tarmen,

hvor de starter kjønnet formering med dannelse av oocyster som resultat. Mindre enn 30 % av katter infisert med tachyzoiter skiller ut oocyster. Etter 15 – 19 dager kan kattene skille ut oocyster i opptil 7 dager (Tenter et al., 2000; Dubey 1998a; Dubey og Frenkel 1976).

Katter kan smittes med infeksiose sporocyster skilt ut fra andre katter ved en fekal-oral smittevei. I kattens tarm frigjøres sporozoitene og penetrerer intestinale celler, inkludert celler i lamina propria. Her deles de ved endodyogeni og blir tachyzoiter, som så vil spre seg og trenge inn i vertsceller i ulike organer utenfor tarmen. Tachyzoitene deler seg intracellulært og spres når vertscellene blir så fulle av parasitter at de rupturerer. Tachyzoitene vil etter hvert encystreres og det dannes vevscyster som inneholder bradyzoiter (Dubey og Lappin 2006). En del av tachyzoitene vil så vende tilbake til tarmen og starte kjønnet formering her, som resulterer i dannelsen av oocyster. Under 30 % av kattene som smittes med infektive oocyster vil skille ut oocyster selv, med en prepatenstid på 18 dager eller lengre (Dubey 1998a; Dubey and Frenkel 1976).

Oocyster

Kattedyr skiller ut oocyster etter inntak av et av de infektive stadiene til *T. gondii*; tachyzoiter, bradyzoiter eller sporozoitene. Etter primærinfeksjon skiller katter ut et svært stort antall oocyster, ofte mer enn 100 millioner, til miljøet (Tenter et al., 2000; Dubey 1996). Oocystene skilles ut med kattens feces usporulerte, og oocystene er ikke infektive før de har sporulert. Dette tar 1 til 5 dager avhengig av luftfuktighet og temperatur. Sporulerte oocyster inneholder to ellipsoidale sporocyster, som hver inneholder fire sporozoitene (Dubey et al., 1998). Ved opptak av oocyster til en egnet vert skjer ekscystrering i nærvær av gallesalter og trypsin, slik at sporocysten rupturerer og frigir sporozoitene. Oocystene regnes som svært infektive for mellomverter, men kun moderat infektive for kattedyr (Dubey 1996; Miller et al., 1972). Dubey har i forsøk gitt nyfødte kattunger (<3 dager gamle) sporulerte oocyster oralt. Disse har passert gjennom tarmen uten å ekscystrere og gi toxoplasmose. Den lave infektiviteten hos katt kan tyde på at smitte av kattunger sannsynligvis ikke skjer fekal-oral med oocyster fra katter eller kulløsken (Dubey 1996).

Sporulerte oocyster av *T. gondii* er svært resistente i miljøet. De overlever korte perioder med kulde og tørke, og kan holde seg infeksiose i fuktig jord og sand i opp til 18 måneder (Tenter et al., 2000). I eksperimenter har sporulerte oocyster vist seg å overleve lagring ved 4 °C i opp til 54 måneder og frysing ved -10 °C i opp til 106 dager, men de overlever kun 1-2 minutter

ved oppvarming til 55-60 °C (Dubey 1998b) . De er også impermeable og derfor svært resistente mot desinfeksjonsmidler (Tenter et al 2000).

Kongenital overføring

Parasittemi under svangerskap/drektighet kan føre til placentitt fulgt av spredning av tachyzoiter til foster. Hos menneske og sau ser man vanligvis dette ved primærinfeksjon av mor(dyr) under svangerskapet/drektigheten. Mange kattunger som er født av katter med aktiv infeksjon infiseres in utero eller via melken (Dubey and Lappin 2006; Powell og Lappin 2001).

Immunitet hos katt

T. gondii er en intracellulær organisme og beskyttende immunitet oppnås hovedsakelig gjennom cellulær immunitet. Både CD4+ lymfocytter (T –hjelpeseller) og CD8+ lymfocytter (T-cytotoksiske celler) er viktige (Araujo 1991; Gazzinelli et al., 1991 og 1992). I tillegg utvikles et humoralt immunsvaret i løpet av den første uken etter smitte (Dubey og Beattie 1988).

Katt skiller vanligvis kun ut store mengder oocyster ved primærinfeksjon med *T. gondii*. Katter som har skilt ut oocyster regnes for å være immune mot å skille ut oocyster igjen, men denne immuniteten har vist seg å ikke være livslang. I forsøk ble utskillelse av oocyster hos katter induisert ved reinfeksjon 6 år etter primærinfeksjon (Dubey 1995). Flere faktorer kan påvirke utskillelsen av oocyster både under en primær- og reaktivert infeksjon. Disse faktorene er kattens alder, kattens ernæringsstatus, stamme og stadium av *T. gondii* og infeksjonsdose (Dubey 1995).

Som nevnt over, spiller det humorale immunforsvaret også en rolle i immunresponsen mot *T. gondii*, og derfor brukes ofte serologi for å undersøke hvorvidt katten har vært eksponert for parasitten. Katter som har blitt infisert med vevscyster serokonverterer (IgG) mellom 2 og 5 uker etter infeksjon (Tenter et al., 2000).

Toksoplasmose

Toksoplasmose hos katt

Patogenese og kliniske symptomer

De fleste tilfeller av infeksjon med *T. gondii* hos katt skjer etter inntak av infektive vevscyster, eller mer sjelden etter inntak av oocyster, men in utero infeksjon kan også sees (Elmore et al., 2010). Dersom en drektig, ikke-eksponert katt infiseres med parasitten, vil tachyzoiter kunne spres til placenta og foster under den aktive fasen av infeksjon (Tenter et al., 2000). Kattunger som smittes in utero kan skille ut oocyster etter fødsel (Dubey og Lappin 2006; Dubey et al., 2009). Under en aktiv infeksjon hos mordyret vil tachzoiter også finnes i melk og kan smitte diende kattunger (Powell og Lappin 2001). *T. gondii*-infeksjon er i midlertid sjelden årsak til abort og fosterskader hos katt. Drektighetstap er trolig forårsaket av systemisk sykdom hos hunnkatten, framfor induksjon av lesjoner i uterus og foster (Noakes et al., 2009).

Infeksjon hos katt forløper vanligvis subklinisk, men hos 10-20 % av smittede katter utvikles en selvbegrensende tynntarmsdiaré en til to uker etter infeksjon. Dette er sannsynligvis et resultat av parasittens replikasjon i tarmepitelet (Lappin 2010). Klinisk ekstraintestinal toksoplasmose er relativt sjelden, og sees oftest hos immunsupprimerte eller unge katter. Tilstanden er alvorlig og ender ofte fatalt. Kattene blir ofte syke kort tid etter smitte da tachyzoitene deler seg og øker raskt i antall, noe som gir opphav til inflammasjon og nekroser i vevet (Lappin 2010). Forløpet kan være akutt eller perakutt, men det er vanligst med et langsomt progredierende forløp (Dubey og Lappin 2006). Kliniske symptomer varierer med hvilke organer som angripes. Hos katt er lunger, lever, CNS inkludert øyet, hjertet og pankreas ofte involvert (Lappin 2010; Dubey et al., 2009). Kattunger som er infisert transplacentalt eller transmammært utvikler ofte de alvorligste symptomene på ekstraintestinal toksoplasmose og dør ofte av CNS-, myokard-, lever- og/eller lungeaffeksjon (Lappin 2010; Dubey et al., 2009; Dubey og Lappin 2006). Kattunger født av hunnkatter med en aktiv *T. gondii*-infeksjon utvikler ofte korioretinitt, som i visse tilfeller kan utvikles til en forbigående fremre uveitt (Dubey og Lappin 2006). Toksoplasmose ervervet postnatalet er generelt mindre alvorlig enn ved prenatal smitte. Kliniske symptomer hos eldre katter kan være resultat av tachyzoitspredning i den initielle akutte fasen av sykdommen, eller

reaktivering er encysterte bradyzoiter etter en immunsuppresjon. Vanlige symptomer er dyspné, ikterus, slapphet og anoreksi. Når øyet er affisert, sees oftest fremre uveitt. Parasitten kan også angripe andre organsystemer, og avhengig av hvilke organer som affiseres kan man se symptomer og sekundært lidelser som muskelhyperestesi, halthet, anemi, gastrointestinale symptomer, ascites, sentralnervøse symptomer, forstørrede lymfeknuter, pankreatitt, hudlidelser, hjertemuskelsykdom og plutselig død (Engstrøm 2010; Dubey og Lappin 2006; Lappin 2003).

Okulære symptomer er en vanlig manifestasjon ved generalisert toksoplasmose og kan sees alene eller sammen med andre symptomer. Hyppigheten av *T. gondii* infeksjon som årsak til fremre uveitt hos katt er ikke kjent, men en signifikant sammenheng mellom fremre uveitt hos katt og eksponering for *T. gondii* er rapportert (Davidson 2000). Diagnosen okulær toksoplasmose kan stilles histologisk ved å identifisere bradyzoiter og takyzoiter i iris og ciliærlegemet. Vanligvis sees fremre uveitt, men inflammasjon av åre- og netthinnen kan også sees (Engstrøm 2010; Davidson 2000).

Medikamenter og sykdommer som svekker det cellulære immunforsvaret hos verten øker risikoen for utvikling av klinisk toksoplasmose. Vanligvis vil reaktivering av latent *T. gondii* infeksjon være årsak til sykdom. Fatal toksoplasmose er rapportert hos katt på syklosporinbehandling (Last et al., 2004; Barrs et al., 2006). Behandling med glukokortikoider vil også predisponere for sykdom. Hos mennesker ansees HIV/AIDS å kunne predisponere for reaktivering av en latent toksoplasmose (Heitmann og Irizarry 1997), men om dette også er tilfelle hos katt med FIV infeksjon er usikkert (Engstrøm 2010).

Diagnose

Diagnosen felin toksoplasmose er ofte vanskelig å stille antemortem. For å stille en sikker diagnose må organismen påvises, for eksempel i prøve tatt ved bronkoalveolær lavage (BAL) eller i prøve av cerebrospinalvæske (Engstrøm 2010). Funn av oocyster i feces er indikativt, men bekrefter ikke diagnosen. Apatogene koksidier som *Hammondia* sp. kan forårsake frisetting av oocyster som er morfologisk like *T. gondii* (Lappin 2010). Dessuten vil de fleste katter ha sluttet å skille ut oocyster ved diagnosetidspunktet. De fleste infiserte katter skiller kun ut oocyster en gang i livet, i en periode på 1-2 uker. I USA er det funnet at kun rundt 1 % av katter skiller ut oocyster til enhver tid (Dubey og Lappin 2006; Dabritz et al., 2007). I nyere tid har man brukt PCR for å detektere *T. gondii* DNA i feces, og dette kan brukes til å

differensiere parasitten fra andre organismer (Lappin 2010). Serologisk testing kan også være til hjelp, og det finnes flere ulike tester tilgjengelig. IgM antistoffer kan detekteres to til fire uker etter primær infeksjon, og antistoffnivået holder seg høyt i rundt tre-fire måneder. IgG antistoffer øker 2-4 uker etter infeksjon og kan detekteres i blodet i minst 6 år etter smitte (Lappin 2006; Dubey 1995). Et positivt IgG titer viser eksponering for parasitten, men for å sannsynliggjøre klinisk toksoplasmose bør man påvise IgM antistoffer eller signifikant stigning i IgG antistoffer i parprøver tatt med 2-4 ukers mellomrom. Ved klinisk toksoplasmose ser man ofte en firedobling av IgG i parprøvene (Elmore et al., 2010).

Behandling og prognose

Det er beskrevet flere behandlingsregimer for toksoplasmose hos katt. Klindamycin, sulfonamider, trimetoprim og pyrimetamin, enten alene eller i kombinasjon, har blitt brukt med varierende resultat (Elmore et al., 2010). Disse substansene er protozoostatiske, og hemmer bare takyzoitstadiet av parasitten. Det sees ingen eller svært liten effekt på bradyzoiter og vevscyster (Engstrøm 2010). Lappin angir i sin review fra 2010 at førstevalget i behandling mot felin toksoplasmose er klindamycin hydroklorid, 10-12 mg/kg per oralt, administrert hver tolvte time i fire uker, og som annenvalg en kombinasjon av trimetoprim-sulfonamid, 15 mg/kg per oralt hver tolvte time i fire uker. Dersom responsen på behandlingen er dårlig etter en ukes behandling, bør det vurderes å bytte medikament (Lappin 2010; Lappin et al., 1989; Dubey og Lappin 2006).

Seropositive katter med uveitt behandles med kortikosteroider lokalt. Dersom uveitten persisterer, eller residiverer, anbefales det å kombinere lokal kortikosteroidbehandling med antibiotika som er effektiv mot *T. gondii*, for eksempel et av de som er nevnt over (Engstrøm 2010).

Ved behandling med klindamycin eller sulfonamid i kombinasjon med pyrimetamin eller trimetoprim responderer pasienten ofte på behandlingen etter 2-3 dager. Ved uveitt og CNS-symptomer kan det ta noe lenger tid før bedring sees. Det er vanlig med tilbakefall hos katter som behandles under fire uker, ettersom parasitten ikke elimineres. Prognosen hos katter med pneumoni eller hepatitt er dårlig (Engstrøm 2010; Lappin 2003).

Toksoplasmose hos menneske og andre mellomverter

Mennesker smittes av *T. gondii* gjennom kontaminert jord og vann, fra vevscyster i rått kjøtt eller kjøtt som ikke er gjennomstekt, ved transplantasjon av infiserte organer og transfusjon av blod, eller in utero (Dubey og Jones 2008). Den vanligste smitekilden er mat, særlig rått eller ikke gjennomstekt svine- eller lammekjøtt. Ferske grønnsaker som er kontaminert med kattefeces utgjør også en risiko. Smitte via kontakt med jord er også angitt å være vanlig (Tenter et al., 2000).

Mennesker som smittes etter fødsel er vanligvis asymptomatiske, men noen kan få influensalignende symptomer som feber, lymfadenopati og muskelsmerter (Elmore et al., 2010). Retinokoroiditt og fremre uveitt kan sees (Commodaro et al., 2009), og av og til utvikles alvorlig sykdom og død etter primærinfeksjon. Infeksjon med parasitten er også vist å gi enteritt og pneumoni hos mellomverter (Oksanen et al., 1996; Dubey et al., 1997; Leal et al., 2007).

Immunsupprimerte individer kan utvikle mer alvorlige symptomer under en primærinfeksjon (Davidson et al., 1993). Okulær sykdom som retinokoroiditt utvikles ofte hos immunsupprimerte individer. Encefalitt, pneumoni og annen systemisk sykdom kan sees hos individer med immunsupprimerende lidelser eller individer som gjennomgår immunsupprimerende terapi (Elmore et al., 2010).

Dersom kvinner smittes for første gang under svangerskapet, vil fosteret kunne skades avhengig av om tachyzoitene invaderer placenta og/eller foster og graden av vevsskade dette fører til. Det har også betydning når i svangerskapet kvinner smittes. Risikoen for intrauterin infeksjon hos foster øker utover i svangerskapet, mens effektene på foster er mest alvorlig dersom smitte skjer tidlig i svangerskapet. Hos de fleste (67-80%) prenatalt smittede spebarn er infeksjonen subklinisk og kan bare diagnostiseres ved hjelp av serologiske og andre laboratoriemetoder (Tenter et al., 2000), men barn kan fødes svake med varierende grad av vevsskade, av og til sees alvorlig neurologisk og okulær sykdom (Vutova et al., 2002; Tenter et al., 2000). Selv om barn fødes uten symptomer, kan symptomer på vevsskade manifestere seg senere i livet, hovedsakelig som øyesykdom, CNS-symptomer og døvhet (Vuvota et al., 2002; Tenter et al., 2000). Invasjon av placenta, som kan føre til placentar insuffisiens og/eller overføring til foster, er kjent hos flere dyrearter, og resulterer ofte i reproduksjonsproblemer

som fosterdød og abort/dødfødsler. Dette er et velkjent problem hos små drøvtyggere, som sau (Dubey og Beattie 1988; Duncanson et al., 2001).

Tidligere studier

Studier gjort på katt

Det er gjort studier av seroprevalensen av *T. gondii* hos katt i mange land, og den estimerte seroprevalensen på verdensbasis er 30 – 40 % (Elmore et al., 2010). For å nevne noen studier spesielt, er det rapportert en seroprevalens på 25 % hos belgiske huskatter (De Craeye et al., 2008). I den studien fant man at seroprevalensen økte med alderen på kattene. I Mexico ble det funnet en seroprevalens på 21,8 % hos domestiserte katter, også her økte frekvensen seropositive med alder på kattene (Besné-Mérida et al., 2008). I denne studien ble det sett på ulike risikofaktorer, og det ble funnet at viktige risikofaktorer var hunnkjønn, mating av katter med rått kjøtt og dårlig/sjelden rengjøring av kattekassen. Nylig ble seroprevalensen av *T. gondii* også undersøkt hos katter i Irland, hvor den ble funnet å være 33,7 % (Juvet et al., 2010). I Egypt ble seroprevalensen funnet å være hele 97,4 % hos forvillete, eierløse katter i 2010 (Al-Kappany et al., 2010).

I Skandinavia ble prevalensen av antistoffer mot *T. gondii* hos katter undersøkt i Danmark på slutten av 1960-tallet, og man fant en seroprevalens på 62 % (Work 1969). I 1978 undersøkte Georg Kapperud seroprevalensen hos katter og en del andre arter i Norge og Sverige, og fant da at 21 av 87 (24 %) av huskatter undersøkt var positive for *T. gondii* (Kapperud 1978). I 1990 ble prevalensen av antistoffer mot *T. gondii* undersøkt hos katter, hunder og hester i Sverige, der 42 % av kattene testet positivt for antistoffer mot *T. gondii* (Uggla, Mattson og Juntti, 1990).

Studier gjort på mennesker og andre dyrearter

Toksoplasmose er en av de vanligste parasittiske zoonosene på verdensbasis, og det er estimert at opp til en tredjedel av verdens befolkning har vært eksponert for parasitten. Estimer av seroprevalensen hos befolkningsgrupper varierer mye mellom ulike land, mellom ulike geografiske områder innen et og samme land, og mellom etniske grupper som bor i samme område. Som et resultat av dette har antistoffer vært detektert hos 0 til 100 % av individer innen ulike populasjoner bestående av voksne mennesker de siste tredivetårene

(Tenter et al., 2000). Seroprevalensen er lav i områder med kaldt klima, som i de skandinaviske landene hvor seroprevalensen er funnet å ligge mellom 11 - 28 % (Tenter et al., 2000). I 2006 ble seroprevalensen av *T. gondii* undersøkt hos mennesker i Sverige, Estland og Island, og ble funnet å være henholdsvis 23 %, 54,9 % og 9,8 % . Disse forskjellene ble forklart ved forskjellig eksponering av infektive oocyster i miljøet via kontaminert jord og vann, og ulik sosioøkonomisk utvikling i de tre landene (Bergirsdottir et al., 2006).

Det er også gjort seroprevalensstudier på en rekke mellomverter av parasitten, og noen av disse nevnes spesielt. Disse studiene kan si oss noe om smitte i miljøet og det generelle smittepresset. Beitende dyr som sau og geit vil kunne bli eksponert for et høyt smittepress på grunn av kontaminering av miljøet med oocyster, og har derfor høy seroprevalens i mange områder av verden (Tenter et al., 2000). I en undersøkelse av lam i 194 saueflokker fra ulike områder av Norge, ble 44,3 % av flokkene funnet seropositive mot *T. gondii* (Skjerve et al., 1998). Det er også gjort seroprevalensundersøkelser på rådyr (*Capreolus capreolus*), elg (*Alces alces*), hjort (*Cervus elaphus*) og reinsdyr (*Rangifer tarandus*) i Norge. Positive serumprøver ble funnet hos 33,9 % av rådyrene, 12,6 % av elgene, 7,7 % hos hjortene og 1 % av reinsdyrene (Vikøren et al., 2004). I Sverige er prevalens av antistoffer mot *T. gondii* funnet å være 20 % hos elg og 34 % hos rådyr (Malmsten et al., 2010).

DEL II

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among cats in Norway and risk factors for seropositivity

Introduction

Toxoplasma gondii is a ubiquitous parasite that occurs in most parts of the world (Tenter et al., 2000; Dubey and Beattie, 1988). Infections by the parasite are common in humans and animals, and ingestion of sporulated oocysts through contaminated food or water and ingestion of tissue cysts in undercooked meat are important routes of transmission (Dubey and Beattie, 1988). Cats are the definite hosts and the only species that can excrete oocysts (Dubey, 1996; Frenkel et al., 1970).

It has been estimated that up to one third of the human population has been exposed to *T. gondii*. Estimated *Toxoplasma* seropositivity in humans differs greatly in different parts of the world, and in colder climates, such as Scandinavia, the estimated prevalence is between 11-28 % (Tenter et al., 2000). Clinical disease in humans is mostly seen in immunocompromised individuals and in cases of congenital toxoplasmosis, whilst immunocompetent humans infected with *T. gondii* usually are asymptomatic. In the rare circumstance of clinical disease it may be presented as an influenza-like disease with fever, lymphadenopathy and muscle-pain (Elmore et al., 2010; Dubey and Beattie, 1998). Immunocompromised individuals may develop more serious diseases during a primary infection, such as pneumonia and encephalitis (Davidson et al., 1993; Elmore et al., 2010). There is also a possibility of reactivation of a previously acquired latent infection, and encephalitis was reported to occur in up to 40 % of *Toxoplasma* seropositive patients with HIV infection (Tenter et al., 2000). Congenital toxoplasmosis may have serious consequences for the infant/child, with encephalomyelitis being the most significant one (Tenter et al., 2000).

Worldwide, *T. gondii* has an estimated seroprevalence in domestic cats (*Felis catus*) of 30-40 % (Elmore et al., 2010; Dubey and Beattie, 1988). Most cats infected with *T. gondii* have no noticeable clinical signs of infection (Voillare et al., 2005; Lappin 2010). Previously

unexposed cats ingesting bradyzoites in tissues may develop a self-limiting small-intestinal diarrhea (Dubey and Lappin, 2006), but in general the enteroepithelial cycle in the cat seldom leads to clinical signs (Lappin, 2010; Lappin, 2003). According to Lappin (2010), only 10-20 % of experimentally inoculated cats develop selv-limiting diarrhea for 1 to 2 weeks after primary oral inoculation with *T. gondii* oocysts, assumingly due to enteroepithelial replication (Dubey and Lappin, 2006).

Feline toxoplasmosis is most severe in transplacentally infected kittens (Dubey and Lappin, 2006). Affected kittens may be stillborn or they may die before weaning, usually of pulmonary or hepatic disease (Dubey et al., 2009; Lappin, 2010). Enlarged abdomen because of enlarged liver and ascites is noticed (Dubey and Lappin, 2006). Kittens with congenital infection frequently develop ocular toxoplasmosis with e.g. chorioretinitis or uveitis (Powell and Lappin, 2001). Common clinical findings in extraintestinal toxoplasmosis are fever, depression, anorexia, peritoneal effusion, icterus and dyspnea. Other signs may be weight loss, vomiting, diarrhea, hyperesthesia, stiff gait, lameness and dermatitis (Dubey and Lappin, 2006; Lappin, 2010; Bowman et al., 2002; Anfray et al., 2005). Recently, eosinophilic fibrosing gastritis was described in a *T. gondii*-infected cat (McConnel et al., 2007). A suspected toxoplasma-associated myocarditis, an intracranial *T. gondii* granuloma and myelitis due to reactivated spinal toxoplasmosis has also been reported (Simpson et al., 2005; Pfohl and Dewey, 2005; Lindsay et al. 2010).

In feline toxoplasmosis, macro- and microscopic lesions are found in many organs, although most commonly in the lungs. Macroscopic lesions consist of edema, congestion, failure of the lungs to collapse and multifocal firm, white to yellow areas of discoloration. In the abdomen, a diffuse necrotizing hepatitis can be found (Bowman et al., 2002).

The clinical signs in older cats may be the result of the spread of tachyzoites after primary infection or due to reactivated latent infection following immunosuppression (Dubey and Lappin, 2006). Sublethal, chronic toxoplasmosis occurs in some cats and infection with *T. gondii* should be on the list of differential diagnoses in cats with anterior/posterior uveitis, fever, muscle hyperesthesia, weight loss, anorexia, seizures, ataxia, icterus, diarrhea or signs of pancreatitis (Lappin, 2003; Lappin, 2010). Ocular toxoplasmosis with anterior or posterior uveitis involving one or both eyes is well recognized in generalized toxoplasmosis in the cat (Davidson and English, 1998; Dubey et al., 2009). It is, however, rare to find *T. gondii*

organisms in the eyes of cats with anterior uveitis without other clinical signs of toxoplasmosis and a hypothesis is made that immunopathogenic mechanisms may lead to the uveitis (Davidson and English, 1998).

Prevalence studies of antibodies to *T. gondii* in cats have been performed earlier in Scandinavia, although they are rather few. In the late 1960s, Work (1969) found a seroprevalence of 62 % in cats in Denmark, and in 1990 Uggla et al. reported a seroprevalence in cats of 42 %. In Norway, the only previous study of *Toxoplasma* seropositivity in cats, to our knowledge, is the one by Kapperud in 1978, who reported a seroprevalence of 24 %. Therefore, a study was performed to investigate *Toxoplasma* seropositivity and risk factors for seropositivity in Norwegian cats. The hypothesis was that signalment, health status and living location influenced the odds of seropositivity.

Materials and methods

Study sample

Cats from Norway that had 1) blood samples analysed at the Central Laboratory, Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway, during the autumn in 2009 and 2) had a minimum of 0.4 ml sera left after the requested analysis was performed, were eligible for inclusion in the present study. The Central Laboratory receives blood samples from cats from all over the country for, among other things, clinical-chemical and haematological analyses. The serum samples from the cats were stored in a freezer at -70 °C and each sample was labelled with a unique laboratory number. Data collected from submission forms for the requested analysis included information about the cat's breed, sex, age, the address of the cat-owner and/or veterinarian, and the indication (a synopsis of the clinical history and clinical findings) for requesting the analysis.

Serological testing for *T. gondii*

The serum samples were thawed at room temperature and analysed for IgG antibodies to *T. gondii* with a commercial test kit (Toxo-Screen Da kit, bioMerieux. S.A., Mary-l'Etoile, France) following the manufacturer's instructions. This test is a direct agglutination test (DAT) with whole tachyzoites as antigen and treatment of sera with 2-mercaptoethanol to inactivate IgM antibodies. Positive and negative control samples were included in each test plate. Sera were diluted to 1:40 which was set as threshold value, and samples with visible

agglutination at this dilution were interpreted as positive. All inconclusive (borderline) samples, together with 22 randomly selected positive samples, were titrated by testing twofold dilutions from 1:40-1:1280. Results obtained with the test were expressed as antibody titre, i.e. the reciprocal of the highest dilution at which the agglutination was visible after 5-15 hours of incubation at room temperature.

Statistical analysis

All data was entered into an Excel spreadsheet, and subsequently imported into STATA. The software package Stata 11 (Stata Corporation, 4905 Lakeway Drive, College Station, TX 77845, USA) was used for all analyses.

Descriptive statistics

Demographic and health data are reported as numbers and percentages. The frequency of seropositive cats is reported in percentage with 95 % Confidence Interval (CI).

Risk factor analysis

The dependent variable *T. gondii* seropositivity is a dichotomous variable (yes/no) and a logistic regression model of the relationship between predictors and the outcome was applied. Associations between the dependent variable and the predictor variables were first screened with univariable logistic regression. Categorical variables with too few observations were amalgamated when biological or logical new categories were possible to make. Ordinal and dichotomous variables were evaluated for collinearity with Goodman and Kruskal's gamma. Variables with a p-value ≤ 0.20 , provided that was no collinearity ($r < 0.70$) between variables, were then considered for further analysis in a multivariable logistic regression model to assess the relationship with *Toxoplasma* seropositivity.

The model was constructed using both manual backward and forward elimination. Predictor variables were retained in the model when the p-value was < 0.05 . Potential confounding and intervening variables were considered after constructing a causal diagram. Changes of more than 20 % in the coefficients in the model with the potential confounder present were used as additional indication of confounding. Interactions between biological plausible significant predictors were tested by adding an interaction term to the final model, and the interaction term retained if $p < 0.01$. A variable was considered intervening if adding it removed the entire effect of another variable. Intervening variables were excluded from the final model.

The multiple Wald test and the likelihood ratio test (LRT) were used to evaluate differences between categories of categorical variables. The Stata command `lincom` was used to conduct contrasts among each category of categorical predictors.

Model evaluation

The fit of the model was evaluated with the Hosmer-Lemeshow goodness of fit test. Also, plots of standardized residuals versus leverage and delta betas were constructed and evaluated to identify any outliers and influential observations. In addition, a receiver operating characteristics (ROC) curve was generated.

Results

Descriptive statistics

Study sample

In total, 478 cats were included in the present study. The distribution of cats related to part of the country was: "Østlandet" (n = 355), "Vestlandet" (n=68), "Nord-Norge" (n=37), "Trøndelag" (n=8) and "Sørlandet" (n=10). 384 cats were domestic cats and 94 were pedigree cats, and 183 cats were females and 295 were males. Regarding reproductive status, 229 cats were reported intact and 237 were neutered. For 12 cats such information was not available. 105 female cats were intact (22.5 %) and 74 were spayed (15.9 %), whereas 125 male cats were intact (26.6 %) and 163 were castrated (35.0 %). When divided into age categories (life stage classification, as suggested by the Feline Advisory Bureau) (Hoyumpa Vogt et al. 2010): 8 cats were kittens (0-6 m), 75 cats were juniors (7 m-2 y), 75 cats were adults (3-6 y), 95 cats were mature (7-10 y), 118 cats were seniors (11-14 y), and 57 cats were geriatric (15 y+). For 50 cats age was not reported. Of the 478 cats, 41 were categorised as clinically healthy (e.g. based on preanesthetic survey, health control including senior/geriatric health control), 112 chronic ill (e.g. illness of several weeks duration, significant weight loss) and 263 acute ill (e.g. illness of days duration, up to a few weeks). In 62 cats the health status was not possible to categorize due to lack of information in the submission form. In none of the cats a suspicion of toxoplasmosis was raised.

Seroprevalence

196 of 478 cats were seropositive for *T. gondii*, therefore overall seroprevalence in the study sample was 41.0 % (95 % CI: 36.6 – 45.4).

Of the 22 positive samples titrated, by testing twofold dilutions from 1:40-1:1280, 18 had a titre of 1280 (81.8 %), 1 had a titre of 640 (4.5 %), 2 had a titre of 320 (9.1 %) and 1 had a titre of 160 (4.5 %).

Risk factor analysis

Due to few observations in the age category “kitten”, the variable age was recategorized and “kitten” and “junior” were amalgamated into one category. Living region was recategorized to Oslo County *versus* the rest of the Norwegian counties represented in the study sample. The unconditional OR, p-value, and 95 % CI for the variables: Breed, sex, reproductive status, age, living region and “health category” are outlined in Table 1. From unconditional screening the following variables breed, sex, age and living location were selected for model building. No collinearity was detected among selected variables.

Results (OR, p-value, and 95 % CI) from the final multivariable model are shown in Table 2. Compared to domestic cats, pedigree cats had reduced risk for *Toxoplasma* seropositivity (OR=0.45), and male cats had increased risk (OR=1.64). Also, *Toxoplasma* seropositivity varied significantly with age. The Multiple Wald test and LRT for the categorical variable “age” was both significant with p=0.0032 and p=0.0020, respectively. When comparing the age categories the following categories were significantly different from each other: adult and mature, adult and senior and adult and geriatric. The risk for *Toxoplasma* seropositivity among cats living in Oslo was significantly reduced (OR=0.38). The following interactions were tested: breed x age, breed x living location, and age x living location. None of the tested interactions were significant. Manual backward elimination and forward selection procedures both resulted in the same model.

Table 1. The unconditional odds ratio (OR), P-values and 95% confidence interval (CI) for the risk factors for *Toxoplasma* seropositivity in cats explored in the present study (name of variable and level).

Variable and level	Odds ratio	p-value	95% CI
Breed			
Domestic cat	1.00	-	-
Pedigree cat	0.37	0.000	(0.22-0.62)
Sex			
Female	1.00	-	-
Male	1.51	0.035	(1.03-2.20)
Reproductive status			
Intact	1.00	-	-
Neutered	0.81	0.270	(0.56-1.18)
Unknown reproductive status*	0.93	0.930	(0.29-3.01)
Age			
Kitten+junior (0-2 years)	1.00	-	-
Adult (3-6 years)	1.57	0.200	(0.79-3.16)
Mature (7-10 years)	3.08	0.001	(1.62-5.87)
Senior (11-14 years)	2.85	0.001	(1.53-5.29)
Geriatric (15+ years)	3.26	0.001	(1.58-6.72)
Unknown age*	1.93	0.090	(0.90-4.13)
Region			
Rest of Norway [□]	1.00	-	-
Oslo County	0.43	0.000	(0.28-0.65)
Health status			
Clinical healthy	1.00	-	-
Chronic ill	1.02	0.956	(0.49-2.11)
Acute ill	0.94	0.852	(0.48-1.83)
Unknown health status*	1.09	0.834	(0.49-2.42)

* Age, reproductive status and health status of the cat not reported in the submission form

[□]All other counties represented in the study sample

Table 2. Results from the final multivariable model applied in the present study to investigate risk factors for *Toxoplasma* seropositivity in cats. The unconditional odds ratio (OR), P-values and 95% confidence interval (CI) for the significant risk factors are presented.

Variable and level	Odds ratio	p-value	95% CI
Breed			
Domestic cat	1.00	-	-
Pedigree cat	0.45	0.004	(0.26-0.78)
Sex			
Female	1.00	-	-
Male	1.64	0.017	(1.09-2.45)
Age			
Kitten+junior (0-2 years)	1.00	-	-
Adult (3-6 years)	1.57	0.221	(0.76-3.22)
Mature (7-10 years)	3.37	0.000	(1.71-6.64)
Senior (11-14 years)	2.93	0.001	(1.53-5.59)
Geriatric (15+ years)	3.33	0.002	(1.56-7.13)
Unknown age*	2.34	0.041	(1.03-5.30)
Region			
Rest of Norway [□]	1.00	-	-
Oslo County	0.38	0.000	(0.25-0.60)

* Age of the cat not reported in the submission form

□ All other counties represented in the study sample

Model evaluation

The final model showed reasonably good fit; the Hosmer-Lemeshow goodness of fit test was not significant ($X^2=4.50$, 8 d.f.) with $p=0.81$. Outlying observations with influence on the model were not found. The predictive ability of the model was moderate to low, area under the ROC curve=0.7033.

Discussion

Seroprevalences against *T. gondii* in cats vary greatly around the world, ranging from 4.8 % (Jittapallapong, 2010) to 97.4 % (Al-Kappany, 2010). Differences in serological surveys could be due to different geographical locations, however, the use of different methods of serological testing and different threshold values for seropositivity makes direct comparisons difficult (Millán et al., 2009; Dubey et al., 2006).

In the present study, a seroprevalence of 41.0 % was found using a threshold value of 1:40. This indicates that Norwegian cats are commonly exposed to *T. gondii*. The prevalence reported in this study is in accordance with several of the many previous studies performed (Table 3).

Table 3

Results from previous studies of seroprevalences against <i>Toxoplasma gondii</i> in cats				
Country	Seroprevalence, %	Method	Titer threshold	Reference
Thailand	4.8	Sabin-Feldman dye test	1:16	Jittapalong et al., 2010
Pennsylvania, United States	19.5	MAT	1:25	Dubey et al. 2009
Mexico	21.8	Indirect ELISA	Not reported	Besné-Mérida et al.,2008
Belgium	25	IIFA	Not reported	Craeye et al.,2008
United States	31.6	ELISA	1:64	Voillare et al., 2005
Ireland	33.7	ELISA	1:64	Juvet et al., 2010
Portugal	35.8	MAT	1:20	Lopes et al., 2008
Seoul, Korea	38.9	ELISA	1:4	Lee et al. 2010
Florence, Italy	44	MAT	1:20	Mancianti et al., 2010
Colombia	45.2	MAT	<1:5	Dubey et al. 2006
Tehran	63	IFAT	1:32	Haddadzadeh et al., 2006
Majorca, Spain	84.7	MAT	1:25	Millán et al., 2009
Egypt	97.4	MAT	1:5	Al-Kappany et al., 2010

MAT: Modified Agglutination Test

IIFA: Indirect Immunofluorescence Assay

IFAT: Indirect Fluorescent Antibody Test

Differences in seroprevalences between ill and healthy cats did not differ with statistical significance in this study. There are three major modes of transmission of toxoplasma in cats; congenital, ingestions of bradyzoites in infected tissues (intermediate hosts) and ingestion of food or water contaminated with infective oocysts (Dubey and Lappin, 2003). Acute illness is unlikely to affect seroprevalence due to the fact that the cat probably already would have been exposed to the parasite or any of its possible routes of transmission prior to onset of the illness. Chronic illness has a theoretical possibility of affecting the seroprevalence considering the likelihood of an ill cat being kept indoors or being unable to hunt and therefore minimizing exposure to possible intermediate hosts such as small rodents. In none of the cats included in this study a clinical suspicion of toxoplasmosis was raised, but one can not exclude the possibility that some of the clinically ill cats had toxoplasmosis due to the relatively unspecific clinical signs of this disease. Thus, the seroprevalence in the study sample might be higher than what would be expected for the general population of cats in Norway. Despite the theoretical possibilities of cats included in this study having toxoplasmosis and chronic illness affecting the seroprevalence, we consider it unlikely that this affects the seroprevalence significantly, and therefore we believe that the estimate in this study is a good estimate of the seroprevalence of the total population of cats in Norway.

In this study, seroprevalence is significantly higher in male cats than female cats. This is in accordance with the results found by Lee et al. (2010) where they found the number of positive in male stray cats to be slightly higher than that of female stray cats (18.8 % vs 12.5 %). Still, other surveys reports the number of positive to be higher in female cats than in male cats (Dubey et al., 2009; Besné-Mérida et al., 2008; Jittapalong et al., 2010) yet others found no difference in seroprevalence with statistical significance between the two sexes (Haddadzadeh et al., 2006; Millán et al., 2009; DeFeo et al., 2002). The inconclusive results in the different surveys may indicate that the gender of the cat has less relevance when it comes to the seropositivity to *T.gondii*.

A comparison of domestic cats with pedigree cats revealed a statistical significant higher *Toxoplasma* seroprevalence in domestic cats. This is consistent with the results obtained in the study by Lopes et al., (2008), although their survey failed to show a statistically significant difference. Also, studies made by Juvet et al., 2010 and DeFeo, 2002 showed similar results. The prevalence of *T.gondii* is usually lower in indoor cats than in stray cats.

(Dubey and Beattie, 1988). Domestic cats are probably less frequently kept exclusively indoors, and therefore they have greater possibilities to hunt rodents which may be infected with *T. gondii*.

In the present study, there was no statistically significant difference in seroprevalence when comparing reproductive status. A possible expected difference due to more extensively roaming by intact cats were therefore not observed. It is also worth noting that classification of cats in this study being intact/neutered was based on information given in the submission form, and the authors were unable to verify this information .

Comparing cats from Oslo with cats from outside Oslo showed an increased prevalence of seropositivity and increased risk of toxoplasmosis in other parts of Norway. Differences in seroprevalence may be a reflection of the survivability of *T. gondii* oocysts in the environment (Dubey and Lappin, 2003). Oocysts survive for longer periods of time in warm, humid environments than in hot and dry or very cold environments. (Vollaire et al., 2005). In a city such as Oslo there might be less fields and places where humidity promote oocysts to survive, but there might also be more plausible but unknown explanations. It seems that oocysts are not very pathogenic for cats (Dubey, 1996) and that the parasite has evolved to be most efficiently transmitted in cats by carnivorism/ingesting bradyzoites in intermediate hosts (Frenkel et al., 1970). There is reason to believe that cats kept in a city like Oslo is more likely to be kept indoors permanently and therefore unable to hunt. This could explain some of the differences in seroprevalence between sera from cats in Oslo and sera from outside Oslo. Also the availability of intermediate hosts (rodents) is larger / easier accessible in areas more rural than in a city and therefore promoting a higher seroprevalence in cats living outside of Oslo. Earlier reports state that animals from rural or feral environments are more apt to hunt small mammals (Dubey and Lappin, 2003) and therefore probably more at risk of contracting the parasite. Yet, the seroprevalence in rodents was not correlated with seroprevalence in cats in the study made by DeFeo et al., (2002) so further investigations are needed in order to conclude about the reasons for the different seroprevalences in the different geographical areas. It is the authors' opinion that the most probable explanation for the difference in seroprevalence is due to how cats are kept. As this study also has shown, there is less risk for seropositivity to *T. gondii* in pure breed cats and those cats are also usually kept indoors.

As reported in previous studies, it was shown that the seroprevalence of *T. gondii* increases with age (Vollaire et al., 2005; Lopes et al., 2008; Haddadzadeh et al., 2006; Besné-Mérida et al., 2008; Dubey et al., 2009). This is likely to relate to possible increased exposure time of adult cats to the infective forms of *T.gondii*. (Voillare et al., 2005; Dubey and Lappin, 2003; Lopes et al .,2008)

The accuracy of any diagnostic test is never 100%, thus the seroprevalence determined in this study is only an estimate. Sukhtana et al. (2001) found the sensitivity and specificity of Toxo-Screen Da to be 100% and 94.8% respectively and with a positive predictive value of 71.3%. In the present study a threshold value of 1:40 was chosen according to the manufacturers recommendation, but other studies have chosen a lower threshold. Dubey et al., (2006) states that also lower titers should be considered diagnostic in cats. It is reasonable to assume that if a lower threshold was chosen in this study the seroprevalence might have been slightly higher. It is also worth noting that serum samples used in this study were collected from cats visiting their private veterinary practitioners and therefore may not be a “true” representative of the total population of cats in Norway.

In conclusion, cats in Norway appear to be commonly exposed to *T. gondii*. This study investigated possible risk factors for seropositivity to *T. gondii* and found age, breed, gender and living region to be important. Although gender was found to be important in this study, the inconclusive results found in other studies make the authors of the present study perceive this as a less important risk factor.

Takk til bidragsytere

Vi vil gjerne få takke våre veiledere Bente Kristin Sævik og Kristin Wear Prestrud for deres støtte og hjelp under arbeidet med denne oppgaven. Det har vært både spennende og lærerikt å jobbe sammen med dere om dette temaet. Vi gleder oss til videre samarbeid og å se hva sluttresultatet av arbeidet vårt vil bli!

Vi vil også få takke Stein Istre Thoresen ved Sentrallaboratoriet som har gjort serumprøvene tilgjengelig for oss. Takk også til Elisabeth Bleken for all hjelp under arbeidet med rekvisisjoner og oppbevaring av serumprøvene inntil analysene ble utført. Vi må heller ikke glemme å takke alle på Immunologisk laboratorium Lindern for at vi fikk utføre analysene våre hos dere og for at dere stilte opp og hjalp oss med utstyr vi måtte trenge.

Summary

Title: Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among cats in Norway and risk factors for seropositivity

Authors: Kristine Paulsen Eggen and Nina Malmberg

Supervisor: Bente Kristin Sævik and Kristin Wear Prestrud, Institutt for sports- og familiedyrmedisin

Toxoplasma gondii is a worldwide, ubiquitous intracellular parasite. The parasite can infect most, if not all, warmblooded animals, including man. Cats are final host, whereas all other animals are intermediate hosts for the parasite. Infections with *T. gondii* in cats or immunocompetent intermediate hosts usually are asymptomatic or with only mild clinical signs. On the other hand, a primary infection in pregnant animals and women can lead to abortion or damage to the foetus. Immunocompromised individuals can develop clinical toxoplasmosis. The aim of this study was to investigate the seroprevalence to *T.gondii* in cats in feline serum samples submitted to the Central Laboratory during fall 2009, and to identify

risk factors based on the information given in the submission forms. A total of 478 serum samples with a minimum of 0.4 ml of sera left have been analyzed for IgG antibodies to *T. gondii* using a commercial test-kit. A dilution of 1:40 was set as a threshold, and a seroprevalence of 41 % (95% CI: 36.6 – 45.4) was found. Important risk factors include breed, sex, age and living region. It was found that domestic cats have a higher risk than pedigree cats, and that male cats have a higher risk than female cats. The risk increases with age, and cats living outside of Oslo have a higher risk for seropositivity than cats living in Oslo.

Referanser

- Al-Kappany Y.M., Rajendran C., Ferreira L.R., Kwok O.C.H., Abu-Elwafa S.A., Hilali M., and Dubey J.P (2010). High prevalence of toxoplasmosis in cats from Egypt: isolation of viable *Toxoplasma gondii*, tissue distribution, and isolate designation. *J. Parasitol.* 96(6):1115-8
- Anfray P., Bonetti C., Fabbrini F., Magnino S., Mancianti F., and Abramo F. (2005). Feline cutaneous toxoplasmosis: a case report. *Vet. Dermatol.* 16:131-136
- Araujo F.G. (1991). Depletion of L3T4 (CD4+) T lymphocytes prevents development of resistance to *Toxoplasma gondii* in mice. *Inf. Immun.* 59:1614-19
- Barrs V.R., Martin P., and Beatty J.A. (2006). Antemortem diagnosis and treatment of toxoplasmosis in two cats on cyclosporine therapy. *Aust. Vet. J.* 84:30-5
- Bergirsdottir A., Asbjørnsdottir H., Cook E., Gislason D., Jannson C., Olafsson I., Gislason T., Jogi R., and Thjodleifson B. (2006). *Scand. J. Infect. Diseases* 38:625-31
- Besné-Mérida A., Figueroa-Castillo J.A., Martínez-Maya J.J., Luna-Pastén H., Calderón-Segura E., and Correa D. (2008). Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Mexico City. *Vet. Parasitol.* 157(3-4):310-3

Bowman D.D., Hendrix C.M., Lindsay D.S., and Barr S.C. (2002). *Toxoplasma gondii*, in Bowman et al (ed): Feline Clinical Parasitology (ed 1), Iowa, Iowa State University Press/Blackwell Science

Buxton D., Maley S.W., Wright S.E., Rodger S., Bartley P., and Innes E.A. (2007). *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: New aspects of an old story. *Vet.Parasitol.* 149: 25-8.

Commodaro A.G., Belfort R.N., Rizzo L.V., Muccioli C., Silveira C., Burnier Jr M.N., and Belfort Jr R. (2009). Ocular toxoplasmosis – an update and review of literature. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 104(2):345-50.

Dabritz H.A., Miller M.A., and Atwill E.R. (2007). Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231:1676-84

Davidson M.G. (2000). Toxoplasmosis. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 30(5):1051-62

Davidson M.G., Rottman J.B., English R.V., Lappin M.R., and Tompkins M.B. (1993). Feline Immunodeficiency Virus Predisposes Cats to Acute Generalized Toxoplasmosis. *Am. J. Pathol.* 143:1486-97

Davidson, M.G., and English, R.V. (1998). Review article. Feline ocular toxoplasmosis. *Veterinary Ophthalmology* 1:71-80.

De Craeye S., Francart A., Chabauty J., De Vriendt V., Van Gucht S., Leroux I., and Jongert E. (2008). Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Belgian house cats. *Vet. Parasitol.* 157: 128-32

DeFeo M.L., Dubey J.P., Mather T.N., and Rhodes R.C. (2002). Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. *AJVR*, Vol 63, 12: 1714-1717

Dubey J.P., and Frenkel J.K. (1976). Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J. Protozool.* 23;537-46

- Dubey J.P., and Beattie C.P. (1988). *Toxoplasmosis of Animal and Man*. Boca. Raton, FL: CRC Press
- Dubey J.P. (1995). Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J. Parasitol.* 81:410-5.
- Dubey J.P. (1996). Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J. Parasitol.* 82(6):957-61
- Dubey J.P., Speer C.A., Shen S.K., Kwok O.C.H., and Blixt J.A. (1997). Oocyst-induced murine toxoplasmosis: Life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *J. Parasitol.* 83(5):870-82
- Dubey J.P., Lindsay D.S., Speer C.A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 11(2):267-99
- Dubey J.P. (1998a). Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int. Journ. Parasitol.* 28:1019-24
- Dubey J.P. (1998b). *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *J. Parasitol.* 84(4):862-5
- Dubey JP, Cortés-Vecino JA, Vargas-Duarte JJ, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LM, Polo LJ, Zambrano L, Mora LE, Kwok OC, Smith T, Su C. (2006). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. *Vet. Parasitol.* 141: 42-47
- Dubey J.P., and Lappin M.R. (2006). Toxoplasmosis and Neosporosis. In Greene CE (ed): *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (ed 3), Philadelphia, Saunders/Elsevier:754-67
- Dubey J.P., and Jones J.L. (2008). *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int. J. Parasitol.* 31:1257-78
- Dubey J.P., Bhatia C.R., Lappin M.R., Ferreira L.R., Thorn A., and Kwok O.C.H. (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Bartonella* spp. antibodies in cats from Pennsylvania. *J. Parasitol.* 95:578-580

- Dubey J.P., Lindsay D.S., and Lappin M.R. (2009). Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. *Vet. Clin. Small. Anim.* 39:1009-34
- Duncanson P., Terry R.S., Smith J.E., and Hide G. (2001). High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. *Int. J. Parasitol.* 31(14):1699-703.
- Elmore S.A., Jones J.L., Conrad P.A., Patton S., Lindsay D.S., and Dubey J.P. (2010). *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends Parasitol.* 26(4):190-6.
- Engstrøm I.B. (2010). Toxoplasmos hos katt. *Svenske veterinærtidning* nr 1/2010:11-8
- Frenkel J.K., Dubey J.P., and Miller N.L. (1970). *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian cysts. *Science* 167:893-6
- Gazzelini R., Xu Y., Hienny S., Cheever A., and Sher A. (1992). Simultaneous depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 149:175-80
- Gazzelini R.T., Hakim F.T., Hienny S., Shearer G.M., and Sher A. (1991). Synergistic role of CD4+ and CD8+ T lymphocytes in IFN- γ production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. *J. Immunol.* 146:286-92
- Gjerde Bjørn, (2007). "Veterinærmedisinsk protozoologi", NVH aug 2007
- Haddadzadeh H.R., Khazraiiinia P., Aslani M., Rezaeian M., Jamshidi S., Taheri M., and Bahonar A. (2006). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in stray and household cats in Tehran. *Veterinary Parasitology* 138: 211-216
- Heitman B.B., and Irizarry A.F. (1997). Recognition and management of toxoplasmosis. *Nurse Pract.* 22(9):75, 79-82, 85-6 passim.
- Hoyumpa Vogt A., Rodan I., Brown M., Brown S., Buffington C.A., Larue Forman M.J., Neilson J., and Sparkes A. (2010). AAFP – AAHA: feline life stage guidelines. *J. Feline Med. Surg.* 12(1):43-54

- Israelski, D.M., and Remington J.S. (1988). Toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 2(2):429-45
- Jittapalong S., Inpankaew T., Pinyopanuwat N., Chimnoi W., Kengradomkij C., Wongnarkpet S., Maruyama S., Lekkla A., and Sukthana Y. (2010). Epidemiology of *Toxoplasma gondii* infection of stray cats in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 41: 13-18
- Jones J.L., Sehgal, M., and Maguire, J.M. (2002), Toxoplasmosis-associated deaths among human deficiency virus-infected persons in the United States, 1992-1998. *Clin. Infect. Dis.* 34:1161
- Juvet F., Lappin M.R., Brennan S., and Monney C.T. (2010). Prevalence of infectious agents in cats in Ireland. *J. Feline Med. Surg.* 12:476-82
- Kapperud G. (1978). Survey for Toxoplasmosis in wild and domestic animals from Norway and Sweden. *J. Wildl. Dis.* 14:157-62.
- Lappin M.R., Greene C.E., Winston S., Toll S.L., Epstein M.E. (1989). Clinical feline toxoplasmosis. Serologic diagnosis and therapeutic management of 15 cases. *J. Vet. Intern. Med.* 3(3):139-43.
- Lappin M.R. (2003). Polysystemic protozoal infections. In: Nelson RW & Cuoto GC, eds *Small Animal Internal Medicine*, 3rd ed. St. Louis, Mosby: 1296-99
- Lappin, M.R. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Toxoplasma gondii* Infection in Cats. *Top Companion Anim. Med.* 25(3):136-41
- Last R.D., Suzuki Y., Manning T., Lindsay D., Galipeau L, and Withbread T.J. (2004). A case of fatal systemic toxoplasmosis in a cat being treated with cyclosporine A for feline atopy. *Vet Dermatol.* 15(3):194-8
- Leal F.E., Cavazzana C.L., de Andrade H.F. Jr., Galisteo A.J. Jr., de Mendonça J.S., and Kallas E.G. (2007). *Toxoplasma gondii* pneumonia in immunocompetent subjects: case report and review. *Clin. Infect. Dis.* 44(6):62-6

Lee S-E., Kim J-Y., Kim Y-A., Cho S-H., Ahn, H-J., Woo H-M., Lee W-J., and Nam H-W. (2010). Prevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Stray and Household Cats in Regions of Seoul, Korea. Korean J Parasitol. 48(3):267-270

Lindsay S.A., Barrs V.R., Child G., Beatty J.A., and Krockenberger M.B. (2010). Case report. Myelitis due to reactivated spinal toxoplasmosis in a cat. Journal of Feline Medicine and Surgery 12: 818-821

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

Malmsten J., Jakubek E-B., and Bjørkman C. (2011). Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in moose (*Alces alces*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) in Sweden. Vet. Parasitol. 177(3-4):275-80

Mancianti F., Nardoni S., Ariti G., Parlanti D., Giuliani G., and Papini R.A. (2010). Cross-sectional survey of *Toxoplasma gondii* infection in colony cats from Urban Florence (Italy). J. Feline Med. Surg. 12(4):351-4

McConnel J.F., Sparkes A.H., Blunden A.S., Neath P.J., and Sansom J. (2007). Eosinophilic fibrosing gastritis and toxoplasmosis in a cat. J Fel Med Surg 9: 92-86

Millán J., Cabezón O., Pabón M., Dubey J.P., and Almería S. (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in feral cats (*Felis silvestris catus*) in Majorca., Balearic Islands, Spain. Vet. Parasitol. 165:323-26

Miller N.L., Frenkel J.K., and Dubey J.P. (1972). Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. J. Parasitol. 58(5):928-37

Nicolle C, Manceaux L. (1908) Sur une infection a corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. C R Hebd Séances Aca.d Sci 147:763-6

Noakes D.E., Parkinson T.J., and Gary C.W. (2009). Subfertility and infertility. In: Veterinary Reproduction and Obstetrics, 9th ed., Saunders Elsevier: 672

- Odaert, H., Soete, M., Fortier, B., Camus, D., and Dubremetz, J.F. (1996). Stage conversions of *Toxoplasma gondii* in mouse brain during infection and immunodepression. *Parasitol. Res.* 82:28-31
- Oksanen A., Gustafsson K., Lundén A., Dubey J.P., Thulliez P., and Uggla A. (1996). Experimental *Toxoplasma gondii* infection leading to fatal enteritis in reindeer (*Rangifer tarandus*). *J. Parasitol.* 82(5):843-5
- Pfohl, J.C., Dewey, C.W. (2005). Short Communication. Intracranial *Toxoplasma gondii* granuloma in a cat. *J. Feline Med. Surg.* 7:369-374
- Powell C.C., Brewer M, and Lappin M.R. (2001). Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. *Vet. Parasitol.* 102, 1-2:29-33.
- Powell, C.C., and Lappin, M.R. (2001). Clinical ocular toxoplasmosis in neonatal kittens. *Vet. Ophthalmol.* 4,2:87-92
- Simpson K.E., Devine B.C., and Gunn-More D. (2005). Case Report. Suspected toxoplasma-associated myocarditis in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 7: 203-208
- Skjerve E., Waldeland H., Nesbakken T., and Kapperud G. (1998). Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. *Preventive Veterinary Medicine* 35: 219-27
- Smith J.E. (2009). Tracking Transmission of the Zoonosis *Toxoplasma gondii*. *Adv. Parasitol.* Vol. 68:139-59
- Sukthana Y., Chintana T., Supatanapong W., Siripan C., Lekkla A., and Cheabchalrad R. (2001). Predictive value of latex agglutination test in serological screening for *Toxoplasma gondii*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 32(2): 314-8.
- Tenter A.M, Heckeroth A.R, and Weiss L.M, (2000). *Toxoplasma gondii*: from animal to humans. *Int. J. Parasitol.* 30:1217-58
- Uggla A., Mattson S., and Juntti N. (1990). Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Cats, Dogs and Horses in Sweden. *Acta vet. Scand.* 31:219-22

Vikøren T., Tharaldsen J., Fredriksen B., and Handeland K. (2004). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild red deer, roe deer, moose, and reindeer from Norway. *Vet. Parasitol.* 120: 159-69

Vollaire M.R., Radecki S.V., and Lappin M.R. (2005). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. *Am J Vet Res* 66: 874-877

Vuvota K., Peicheva Z., Popova A., Markova V., Mincheva N, and Todorov T. (2002). Congenital toxoplasmosis: eye manifestations in infants and children. *Ann. Trop. Paediatr.* 22:213-8

Work K. (1969). The incidence of toxoplasma antibodies among dogs and cats in Denmark. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 75(3):447-56

Vedlegg

Medforfattererklæring

