



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

***Toxoplasma gondii*: Olika genotypers förekomst vid klinisk sjukdom**

Jennifer Assermark



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014: 43

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2014



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

***Toxoplasma gondii*: Olika genotypers förekomst vid klinisk sjukdom**

Toxoplasma gondii: Occurrence of different genotypes in cases of clinical disease

Jennifer Assermark

Handledare:

Camilla Gustafsson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2014

Omslagsbild: Jennifer Assermark

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014: 43
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: *Toxoplasma gondii*, genotyp, virulens, klinisk toxoplasmos, människa, katt, får, viltlevande djur

Key words: *Toxoplasma gondii*, genotype, virulence, clinical toxoplasmosis, human, cat, sheep, wild life

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER.....	4
LITTERATURÖVERSIKT	4
Genotyp I.....	4
Människa	4
Genotyp II	5
Människa	5
Tamdjur	5
Viltlevande djur.....	6
Genotyp III	7
Människa	7
Viltlevande djur.....	7
Atypiska genotyper	8
Människa	8
Tamdjur	8
DISKUSSION	9
Klinisk sjukdom hos människa.....	9
Klinisk sjukdom hos djur	10
Atypiska genotyper.....	11
Slutsats.....	12
LITTERATURFÖRTECKNING	13

SAMMANFATTNING

Toxoplasma gondii är en intracellulär, zoonotisk parasit med förmågan att infektera i stort sett alla varmblodiga vertebrater, medan endast kattdjur kan fungera som huvudvärd. Parasiten finns spridd hos människor och djur över hela världen. Vid symptomatisk infektion med *T. gondii* ses en varierande klinisk bild. Kongenitalt överförd smitta leder potentiellt till abort eller neonatal infektion. Allvarlig systemisk/generaliserad sjukdom ses framförallt hos immunsupprimerade individer medan okulär toxoplasmos oftast ses som en progressiv sjukdom hos kongenitalt smittade barn eller efter förvärvad infektion hos immunkompetenta individer. Vilken klinisk bild som utvecklas tros bl.a. bero på vilken *T. gondii*-genotyp som är inblandad.

Idag finns de tre klassiska genotyperna I, II och III utbredda över norra halvklotet medan ett stort antal atypiska genotyper dominerar i andra delar av världen, framförallt i Syd- och Centralamerika. För olika genotyper av *T. gondii* anses populationsstrukturen vara klonal, det vill säga en låg genetisk diversitet uppvisas mellan de olika typerna.

De olika genotyperna anses vara förknippade med olika virulensgener. Genotyp I har visat sig vara patogen i möss medan genotyp II och III är avirulenta. Skillnaden i patogenicitet antas bero på olika uttryck av virulensfaktorer. Virulensen i möss för de atypiska genotyperna är inte lika noggrant fastställd.

Genotyp I har setts orsaka sjukdom hos människa i flertalet fall, men har inte dokumenteras från fall av klinisk toxoplasmos hos djur. I de fall människa drabbats har symptombilden varierat. Tecken på okulära, systemiska samt kongenitala skador har setts.

Genotyp II ses orsaka sjukdom i de flesta undersökta fall av klinisk toxoplasmos. Genotypen har satts i samband med både systemiska och okulära symptom hos människa samt setts i fall där infektionen varit kongenitalt överförd. Det är även den genotyp med högst förekomst bland djur med klinisk sjukdom. Förekomsten av genotyp II är därtill hög även bland kroniskt infekterade djur utan kliniska symptom.

Genotyp III är en av de vanligast förekommande genotyperna bland viltlevande djur men orsakar sällan sjukdom. Endast några enstaka fall hos djur har dokumenterats samt några få fall av klinisk manifest sjukdom hos människa.

Avseende vad som ligger bakom att olika genotyper orsakar sjukdom i olika djurarter och varför det skiljer sig åt mellan olika geografiska platser kräver mer undersökningar. Utifrån denna litteraturstudie kan dock sägas att utav de klassiska genotyperna kan genotyp II anses vara vanligast förekommande vid klinisk sjukdom hos människa och djur, medan genotyp I även orsakar sjukdom hos människa. Genotyp III verkar framförallt endast förekomma i kroniskt infekterade individer och orsakar sällan klinisk toxoplasmos. För alla genotyper, inklusive de atypiska, behövs fler studier för att helt kunna säkerställa någon koppling till klinisk sjukdom.

SUMMARY

Toxoplasma gondii is an intracellular, zoonotic parasite with the ability to cause disease in virtually any warm blooded vertebrates, whilst only members of the *Felidae* family may act as definitive hosts. *T. gondii* is globally distributed and an infection can cause disease with varying clinical outcome. Symptoms differ between individuals within the same species as well as across species barriers. Severe systemic/generalized disease is most commonly seen in immunocompromised individuals. If the disease is congenitally transmitted it potentially leads to abortions or neonatal infection. Ocular toxoplasmosis is usually seen as a progressive disease in congenitally infected children or, as recently discovered, an acquired infection in immunocompetent individuals. The varying symptoms are a result of a number of parameters of which one is considered to be the *T. gondii*-genotype involved in the infection.

Today, there are three classical genotypes I, II and III, which are widely dispersed in the Northern hemisphere. Atypical genotypes, formerly known as “exotic”, dominate other continents, primarily South- and Central America. Genotypes of *T. gondii* present a clonal population structure meaning that there is little genetic diversity between them.

Different genotypes are thought to be associated to a number of different virulence genes. Genotype I has displayed high virulence in mice whereas genotype II and III were found to be non-virulent. The difference in pathogenicity is probably linked to their separate expression of different factors of virulence. Information is scarce regarding the atypical genotypes and their respective pathogenic capabilities.

Genotype I has been associated to human disease but not with clinical illness in animals. The human isolates have been collected from individuals showing signs of systemic or ocular toxoplasmosis. Cases of congenitally transmitted toxoplasmosis have been seen as well.

Genotype II is the genotype most frequently associated with clinical toxoplasmosis, both among animals and humans. It has been recorded in cases of systemic disease and in congenitally infected individuals. Additionally, the prevalence of genotype II is high among chronically infected, asymptomatic animals.

Genotype III has rarely been documented as a cause of clinical disease but has high prevalence in asymptomatic wild life populations. Few clinical cases of infection with genotype III have been recorded.

When it comes to determining whether a certain genotype causes specific symptoms in a particular host, animal or human, more research is needed, especially concerning the atypical genotypes. At the moment, genotype II is considered to be most frequently associated with clinical toxoplasmosis in both humans and animals. Genotype I only appears to cause disease in humans but not in animals. Genotype III cannot be associated to disease since only a few cases have been identified, but it has a high prevalence in wild life.

INLEDNING

Toxoplasma gondii är en intracellulär parasit med förmågan att infektera de flesta varmblodiga djur medan endast kattdjur kan fungera som huvudvärd. I tarmepitelet hos huvudvärden sker den sexuella förökningen, det vill säga utbytet av genetiskt material mellan den honliga och hanliga gameten (Sibley & Aijoka, 2008).

Idag finns tre huvudsakliga genotyper spridda i Europa och Nordamerika; Genotyp I, II och III. Indelningen grundas ursprungligen på att genotyperna förknippas med olika virulensgener. Genotyp I uppvisar hög virulens i möss medan genotyp II och III är avirulenta (Sibley & Boothroyd, 1992). Populationsstrukturen för *T. gondii* anses vara klonal. Avsaknaden av genetisk diversitet anses bero på att utbytet av genetiskt material är begränsat, delvis genom att ett kraftigt och långvarigt immunsvaret utvecklas vid en primär *T. gondii*-infektion och att en sekundär infektion med en annan genotyp därför inte är sannolik samt att det föreligger låg sannolikhet för huvudvärden att infekteras med två olika genotyper simultant, vilket är förutsättningen för utbyte av genetiskt material. Möjligheten för *T. gondii* att spridas direkt från mellanvärd till mellanvärd, vilket utesluter det sexuella förökningssteget, bidrar också till den begränsade genetiska diversiteten (Sibley & Aijoka, 2008).

Senare studier tyder dock på att den genetiska spridningen hos *T. gondii* är mer komplex än tidigare hävdats, då flertalet atypiska isolat upptäckts vilka inte passar in under någon av de huvudsakliga genotyperna. Detta beror till stor del på att undersökningsmetodiken förbättrats vilket möjliggjort genotypning med högre urskilningsförmåga och detektion av fler genetiska markörer.

Vid symptomatisk infektion med *T. gondii* ses en varierande klinisk bild, vilken yttrar sig olika både inom art och mellan olika arter. Vilken sjukdomsbild som utvecklas beror dock inte bara på arttillhörighet utan sannolikt också på faktorer så som individens immunstatus samt vilken *T. gondii*-genotyp som är inblandad (Howe & Sibley, 1995). *T. gondii*-infektion förekommer bland annat som en kongenitalt överförd sjukdom, vilket potentiellt leder till abort eller neonatal infektion med kliniska symptom vid födelsen eller senare i livet. Allvarlig systemisk/generaliserad sjukdom ses framförallt hos immunsupprimerade individer, troligen vid reaktivering av en kronisk infektion. Okulär toxoplasmos ses dels som en progressiv sjukdom hos kongenitalt infekterade barn, men har också setts hos immunkompetenta individer efter förvärvad infektion (Gilbert & Stanford, 2000).

Förståelsen för hur olika genotyper är sammankopplade till olika sjukdomssymptom är viktig då den kan förbättra detektion av sjukdom, öka möjligheten att prediktera ett sjukdomsförlopp samt underlätta utarbetning av mer effektiva behandlingsstrategier.

Syftet med denna litteraturstudie är att ta reda på vilket samband som råder mellan olika genotyper och klinisk toxoplasmos hos människa, får, katt samt vilt. Studien undersöker de tre huvudsakliga genotyperna I, II och III och deras association till sjukdom samt om symptomen är kopplade till en specifik djurart.

MATERIAL OCH METODER

I detta arbete användes databaser som Web of Science, PubMed, Scopus samt Google Scholar för sökning efter vetenskapliga artiklar. Sökord som användes är Toxoplasma* AND genotyp* och genotyp* AND (clinical OR systemic OR fatal toxoplasmosis). En del av de artiklar som använts har hittats via referenser från artiklar funna vid ovanstående sökningar.

LITTERATURÖVERSIKT

Genotyp I

Kopplingen mellan genotyp I och sjukdom hos djur är inte bekräftad men hos människa finns fall dokumenterade. Av dessa kliniska fall är de med kongenital toxoplasmos mest framträdande (Fuentes *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2002).

Människa

Genotypning av 68 isolat av klinisk toxoplasmos i Frankrike visade att 10 % av individerna varit infekterade med genotyp I (Howe *et al.*, 1997). De drabbade var antingen AIDS-patienter eller immunosupprimerade av annan anledning. AIDS-patienterna uppvisade olika kliniska bilder vilka bl.a. innefattade pneumoni, encefalit och symptom på allmänt utbredd sjukdom.

I en studie av Fuentes *et al.* (2001) med syftet att undersöka genotypen bakom klinisk toxoplasmos i Spanien, visades att 40 % av antalet fall där fullständig genotypning utförts (25 stycken), var kopplade till genotyp I. I det totala provmaterialet ingick prover från kongenitalt infekterade barn, immunosupprimerade patienter med eller utan HIV-infektion samt kvinnor smittade under graviditeten. Sjuttiofem procent av de studerade fallen av kongenital toxoplasmos var smittade med genotyp I, medan motsvarande andel i gruppen med systemisk sjukdom hos immunosupprimerade individer var 23,5 %. Genotyp I visades också ligga bakom de fall av kongenital smitta där allvarliga symptom (abort p.g.a. kardiomyopati) eller allvarlig följsjukdom (hjärtfel, neurologisk störning) förekom hos barnet.

Ajzenberg *et al.* (2002) påvisade genotyp I i sju av åttiosex fall av kongenital toxoplasmos. Provmaterialet utgjordes bl.a. av placentaprover från kvinnor smittade under graviditeten och vävnad tagen från döda foster/nyfödda barn. Tjugoen av de åttiosex undersökta isolaten ansågs ha gett upphov till allvarlig sjukdom, då foster antingen aborterats eller fötts med allvarliga symptom. Två av dessa tjugoen fall tillhörde genotyp I medan genotyp I inte återfanns i något av de fall då sjukdomen bedömts som benign eller subklinisk. Gällande övriga fem fall orsakade av genotyp I var fyra prov positiva vid provtagning av placenta, medan infektion ej kunde påvisas hos barnen som föddes. Ett prov utgjordes av ett äldre isolat taget från ett fall av tidig spädbarnsdöd.

Genotyp I har även setts vid klinisk sjukdom i Syd- och Centralamerika. I Chile visades tre fall av klinisk toxoplasmos tillhöra genotyp I (Sabaj *et al.*, 2010). Genotypning av dessa fall visade att samtliga isolats genetiska uppsättning vid en markör sammanföll med genotyp I. En djupare genetisk analys av isolaten genomfördes därefter. Denna analys innefattade bl.a. att slumpmässigt valda DNA-segment amplifierades och jämfördes mellan isolaten. Resultatet av

den djupare analysen visade att polymorfism även förekom mellan de olika isolaten av genotyp I.

I Europa har fall av både aktiv och utläkt okulär toxoplasmos orsakats av *T. gondii*-isolat tillhörande genotyp I (Switaj *et al.*, 2010). Genotypning av 53 fall av aktiv okulär toxoplasmos samt sex fall med en bild talande för utläkt okulär toxoplasmos visade, för samtliga 59 isolat, en genetisk profil förenlig med genotyp I. Ingen av patienterna hade uppvisat tecken på nedsatt immunförsvar. Studien utfördes i Polen.

Genotyp II

Genotyp II kopplas framförallt till klinisk sjukdom hos människa i Europa och Nordamerika där cirka två tredjedelar av alla humana fall av toxoplasmos har visats kunna härledas till denna genotyp (Howe & Sibley, 1995). Dessutom anses genotyp II vara den typ som huvudsakligen återfinns i kroniskt infekterade djur.

Människa

Klinisk toxoplasmos har i många studier associerats till genotyp II. Howe *et al.* (1997) kom i undersökningen av 68 toxoplasmaisolat fram till att 81 % tillhörde genotyp II. Proven var tagna från tre grupper av patienter; AIDS-positiva, immunsupprimerade av annan anledning samt kongenitalt smittade. Genotyp II orsakade majoriteten av fall inom samtliga av dessa grupper, i synnerhet bland de kongenitalt smittade där typ II låg bakom samtliga fall.

I en studie, innefattande genotypning av 86 fall av kongenital toxoplasmos, framkom att 73 av dessa tillhörde genotyp II (Ajzenberg *et al.*, 2002). Genotyp II visades ligga bakom samtliga fall då fosterdöd förekommit, majoriteten av de fall då tidig spädbarnsdöd inträffat samt de fall där sjukdomen bedömts som allvarlig (aboterade foster).

Fuentes *et al.* (2001) fann att nio av sjutton (53 %) immunsupprimerade individer som drabbats av systemisk toxoplasmos infekterats med genotyp II men endast en av åtta (13 %) som smittats kongenitalt. Patienten diagnosticerad med kongenital sjukdom visades vid uppföljning vara asymptomatisk – en eventuell indikation på att sjukdomen var kortvarig och lindrig.

År 2011 visade Fekkar *et al.* i en fransk studie att genotyp II orsakat 10 av 13 fall av okulär toxoplasmos då genotypning utfördes på fem markörer. Av dessa 10 patienter var sex immunsupprimerade och fyra immunkompetenta. Alla patienter uppvisade varierande okulära skador innefattande bl.a. uveit och nekrotiska lesioner i retina.

Tamdjur

Katt

I en studie utförd i Finland hittades sex katter som drabbats av systemisk toxoplasmos (Jokelainen *et al.*, 2012). Katterna var alla två år eller yngre och uppvisade liknande symptom i form av apati, uttorkning, andningssvårigheter och feber. Katterna dog antingen en naturlig död eller avlivades. *T. gondii*-isolat från samtliga individer genomgick genotypning med avseende på sex markörer. Alla isolat hade en genetisk uppsättning förenlig med genotyp II.

En sjunde markör visade dessutom att en del polymorfism förekom mellan de olika isolaten av genotyp II.

Får

I en studie av 13 får med konstaterad toxoplasmos som aborterat sina foster påvisades alla ha varit infekterade med genotyp II (Owens & Trees, 1999). Proven var tagna från tio skilda gårdar i ett litet geografiskt område. I en nyligen publicerad studie av Chessa *et al.* (2014) utförd i Italien, visade sig de aborterande fåren vara infekterade av *T. gondii*. Den genetiska uppsättningen för alla 21 analyserade isolat överensstämmande med genotyp II vid samtliga undersökta markörer (11 stycken).

Viltlevande djur

För vilda djur finns det en stor variation av mottaglighet för *T. gondii* och få studier gjorda på huruvida en specifik genotyp orsakar klinisk toxoplasmos eller inte. Det har bland annat föreslagits att den europeiska ekornen (*Sciurus vulgaris*), fältharen (*Lepus europaeus*) och skogsharen (*Lepus timidus*) är mer mottagliga för parasiten än andra djurslag (Jokelainen *et al.*, 2011; Jokelainen & Nylund, 2012).

Europeisk ekorre (Sciurus vulgaris), fälthare (Lepus europaeus) och skogshare (Lepus timidus)

I en studie av Jokelainen & Nylund (2012) genomfördes genotypning av tre isolat från ekorrar som avlidit av systemisk toxoplasmos. Vävnad från alla tre ekorrar visade vid histologisk undersökning tecken på lung-, lever- och/eller mjältskador. Fynden inkluderade bland annat nekrotiska lesioner, missfärgning av lever och mjälte, överflöd av serös vätska i brösthålan etc. Alla ekorrarna visade sig vid genotypning av erhållna isolat varit infekterade med genotyp II. I en liknande, mer omfattande studie, undersöktes vilken genotyp som orsakat systemisk toxoplasmos hos fält- och skogsharar (Jokelainen *et al.*, 2011). Hararna undersöktes postmortem och för 18 av dem ansågs klinisk toxoplasmos varit dödsorsak. Diagnosen konstaterades med immunhistokemisk undersökning av levervävnad. Genetisk karaktärisering gjordes med hjälp av sex markörer. För 15 av 18 isolat lyckades fullständig genotypning med resultatet att genotyp II orsakat samtliga fall. Genotyp II ansågs även ha orsakat de övriga tre fallen av konstaterad toxoplasmos, men för dessa var genotypningen endast lyckad på fyra av sex markörer. Båda studierna utfördes i Finland.

Fjällräv (Vulpes lagopus)

Även material inhämtat från fjällrävar på Svalbard visar att genotyp II dominerar vid klinisk sjukdom på vilda djur (Prestrud *et al.*, 2008). Fyra fjällrävar drabbade av systemisk toxoplasmos med dödlig utgång provtogs för vidare undersökning. Genotypning utfördes framgångsrikt på 10 markörer med resultatet att fjällrävarna sågs ha varit infekterade med genotyp II. Även bland de fjällrävar som endast var seropositiva och ej uppvisat symptom vid provtagningsstillfället, dominerade genotyp II. Totalt var 86 % av de provtagna fjällrävarna, både de med kliniskt konstaterad sjukdom och de som endast var seropositiva, infekterade med genotyp II.

Fåglar

Flera fall av klinisk toxoplasmos har noterats på vilda fåglar, bland annat på vithövdad havsörn (*Haliaeetus leucocephalus*) (Szabo *et al.*, 2004), men få av dessa har genomgått någon genetisk karaktärisering. Genotypning har gjorts på ett fall med dödlig toxoplasmos hos större hackspett (*Dendrocopos major*). Vävnad från hackspetten visade vid makroskopisk och histologisk undersökning främst att fågeln lidit av allvarlig pneumoni. Resultatet av den studien visade att *T. gondii*-genotyp II varit orsaken (Jokelainen & Vikøren, 2014).

Genotyp III

Genotyp III förekommer i hög grad i djurpopulationer. Skillnaden mellan humana fall av toxoplasmos, där förekomsten är låg, och prevalensen bland framförallt viltlevande djur har visats vara signifikant (Howe & Sibley, 1995).

Människa

I studien av Howe *et al.* (1997) sattes genotyp III i samband med systemisk toxoplasmos hos immunsupprimerade individer i sex av femtiofem fall (11 %). En koppling till klinisk sjukdom hos immunsupprimerade individer påvisades även i fyra av sjutton fall (23,5 %) i en studie av Fuentes *et al.* (2001). I studien hittades även ett fall av kongenital toxoplasmos orsakat av genotyp III. Patienten som smittats kongenitalt var dock asymptomatisk vid uppföljning. I studien av Ajzenberg *et al.* (2002) visades en minoritet av fallen med kongenital toxoplasmos vara orsakade av genotyp III.

Viltlevande djur

T. gondii-genotyp III anses ha hög förekomst bland vilda djur, men den har sällan visats orsaka klinisk sjukdom hos dessa (Prestrud *et al.*, 2008; Jokelainen *et al.*, 2011; Jokelainen & Nylund, 2012; Jokelainen & Vikøren, 2014). Ett undantag från detta är ett registrerat fall på karolinaspett (*Melanerpes carolinus*) där genotyp III orsakat sjukdom (Gerhold & Yabsley, 2007). Fågeln uppvisade symptom så som svårighet att stå, letargi och krampanfall. Resultatet indikerar att även genotyp III kan ha sjukdomsframkallande förmåga hos djur och inte endast ge upphov till kroniska, avirulenta tillstånd.

I studien angående fjällrävar på Svalbard visade det sig att de rävar som inte infekterats med genotyp II istället varit bärare av genotyp III, dock var det ingen av de fjällrävarna som uppvisade kliniska tecken på toxoplasmos (Prestrud *et al.*, 2008).

Surikat (*Suricata surricatta*)

I en argentinsk studie gällande sex surikater drabbade av systemisk toxoplasmos med dödlig utgång utfördes vidare genotypning av *T. gondii*-isolat tagna från tre av djuren (Basso *et al.*, 2009). Surikaterna levde i fångenskap och hade uppvisat symptom så som hypotermi, andningssvårigheter samt ataxi före död. Resultatet av den genetiska analysen visade att genotyp III orsakat sjukdom hos samtliga djur.

Atypiska genotyper

De atypiska genotyperna har främst setts förekomma i tropiska områden och i delar av världen där genotyperna tidigare inte kartlagts (Shwab *et al.*, 2012). Det är sedan tidigare känt att den genetiska populationsstrukturen skiljer sig mellan norra halvklotet och t.ex. Syd- och Centralamerika bland annat genom att *T. gondii* i dessa delar av världen uppvisar större diversitet i sitt genom (Khan *et al.*, 2007). Gällande sjukdomsframkallande förmåga visar somliga av dessa genotyper upp samma virulenta mönster i möss som den klassiska genotyp I.

Människa

I en studie av Ferreira *et al.* (2011) utfördes genotypning av 20 isolat från klinisk toxoplasmos i Brasilien. Både immunkompetenta och immunsupprimerade individer inkluderades. Bland de 20 isolaten identifierades tre olika atypiska genotyper varav en av typerna, ToxoDB-genotyp #65, sågs ligga bakom 18 av fallen. Patienter infekterade av ToxoDB-genotyp #65 uppvisade antingen akuta systemiska, okulära, kongenitala eller neurologiska symptom. Utav de 18 patienter som infekterats med denna atypiska genotyp var tre stycken immunkompetenta. Studien indikerar att de atypiska genotyperna troligtvis har en stor sjukdomsframkallande potential.

I Brasilien har kongenital toxoplasmos satts i samband med ett antal atypiska genotyper (Carneiro *et al.*, 2013). Genotypning av 24 isolat från nyfödda barn resulterade i att 14 olika genotyper identifierades. Dessa visade dessutom hög diversitet sinsemellan. Av de funna genotyperna uppvisade 92 % intermediär till hög patogenicitet i möss. Barnen uppvisade olika ögonrelaterade symptom men ingen koppling till någon av de 14 genotyperna och ett specifikt okulärt symptom kunde ses.

Atypiska genotyper sattes även i samband med okulär toxoplasmos i en studie utförd i Frankrike, där 20 patienter, vilka uppvisade olika okulära lesioner förknippade med *T. gondii*-infektion, undersöktes (Fekkar *et al.*, 2011). För 13 av 20 isolat kunde fullständig genotypning avseende fem genetiska markörer genomföras. Tre av de tretton (23 %) isolaten tillhörde atypiska genotyper. Av de isolat som genomgått fullständig analys var sju tagna från immunkompetenta patienter och sex från immunsupprimerade individer. Alla patienter som infekterats med en atypisk genotyp var immunkompetenta.

Tamdjur

I ett fall av klinisk toxoplasmos hos katt i Nordamerika påvisades en atypisk genotyp (Dubey & Prowell, 2013). Den infekterade katten uppvisade symptom på systemiskt utbredd sjukdom vilket ledde till att ett prov togs för vidare genotypning. Sju av nio markörer var förenliga med den klassiska genotyp II medan de övriga två markörerna sammanföll med genotyp I. Ytterligare ett fall av systemisk toxoplasmos rapporterades från en immunkompetent katt i Schweiz (Spycher *et al.*, 2011). Symptom så som anorexi, diarré, feber och kräkningar uppvisades. Genotypning genomfördes på nio markörer varav åtta visade på genotyp II och den sista på genotyp I.

DISKUSSION

Allmänt gällande de studier som granskats här är att det oftast är relativt få isolat som genomgått genotypning i studierna och att de är tagna från individer i ett begränsat geografiskt område. Även hur isolaten analyserats bör hållas i åtanke. Beroende på vilken undersökningsmetod som använts vid genotypning utvinns olika mycket information ur studierna. Ett större antal undersökta markörer bidrar till att säkerheten och noggrannheten i resultatet höjs. En studie där någon eller några markörer ej lyckats genotypas kan därför anses mindre säker, då färre markörer ingår i bestämningen.

Klinisk sjukdom hos människa

Det verkar högst troligt att det finns ett samband mellan genotyp II och sjukdom hos människa, om hänseende tas till förekomst av kliniska fall i Europa och Nordamerika. Ett samband har setts både till kongenitala kliniska fall och generaliserade symptom för denna genotyp samt i en studie till okulär toxoplasmos (Fekkar *et al.*, 2011). I de fall kongenital sjukdom uppdagats har genotypen både gett upphov till subklinisk infektion och allvarligare symptom. Detta indikerar att de sjukdomsframkallande egenskaperna hos genotyp II även varierar inom genotyp, exempelvis med uttryck av virulensfaktorer lokaliserade till andra delar av genomet än de undersökta. Även individens immunstatus samt infektionsdos påverkar troligen det kliniska utfallet.

Att genotyp II även till stor del återfinns hos kroniskt infekterade djur ofta avsedda för livsmedel, vilket är en trolig smittväg för människa, stämmer väl överens med att genotypen skulle orsaka majoriteten av humana fall. Detta resonemang leder i sin tur till en ny frågeställning om huruvida genotyp II orsakar mer sjukdom för att vi exponeras för den i högre grad eller för att den faktiskt är mer patogen i människa än övriga genotyper? För att besvara den frågan krävs fler studier där virulensfaktorer hos *T. gondii* kopplas till specifika genotyper och sjukdom i människa. Även att undersöka om genotyp II är associerad till relativt sett fler symptomatiska än asymptomatiska fall skulle kunna bidra till att frågan besvaras, dock kan ingen sådan slutsats dras från denna litteraturstudie.

Gällande genotyp I finns det troligtvis ett samband till klinisk toxoplasmos men genotypen går inte fullständigt att koppla till någon specifik sjukdomsbild, trots att den i ett flertal studier satts i samband med framförallt kongenital toxoplasmos. En av de utmärkande studierna är den av Fuentes *et al.* (2001), som visade att 75 % av de studerade fallen av kongenital toxoplasmos orsakats av genotyp I. Denna studie var dock utförd på ett begränsat antal individer, i ett litet geografiskt område. Andra studier tyder dock istället på ett mer distinkt samband mellan kongenital toxoplasmos och genotyp II. Detta indikerar att något annat skulle ligga bakom resultaten publicerade av Fuentes *et al.* Eventuellt kan det vara fråga om en endemisk variation eller att fall av allvarligare karaktär valts ut till denna studie. Allvarliga fall av kongenital toxoplasmos har ofta visats vara orsakade av genotyp I.

Genotyp I har däremot inte setts i de fall där sjukdomen bedömts som benign/subklinisk. Detta, tillsammans med att den uppvisar hög virulens i möss, skulle kunna indikera att genotyp I uttrycker gener som i högre grad kodar för virulensfaktorer med högre patogenicitet

än de gener som observerats hos de andra klassiska genotyperna. En annan tolkning till varför genotyp I endast setts i relativt få fall och då orsakat allvarliga symptom, skulle kunna vara att genotyp I inte infekterar lika lätt men att när infektion väl sker orsakar den allvarlig klinisk sjukdom. Genotyp I har dessutom setts ha relativt låg förekomst i världen. I en sammanställning av 1457 *T. gondii*-isolat återfanns genotyp I i 2,1 % av fallen. Dessa isolat var huvudsakligen tagna från kroniskt infekterade djur (Shwab *et al.*, 2013). En låg förekomst skulle således även kunna vara en bidragande faktor till att infektion med genotyp I sällan ses.

Förekomsten av genotyp III vid klinisk sjukdom hos människa verkar vara mycket begränsad. Genotypen har visserligen isolerats från en liten andel av undersökta patienter i några studier men det finns ingen direkt koppling till sjukdom. Dessa patienter har i flertalet fall varit immunsupprimerade eller vid uppföljning av kongenital sjukdom varit asymptomatiska vilket tyder på att patogeniciteten är låg och att den endast orsakar sjukdom när individens immunförsvar är nedsatt eller att den orsakar kortvarig och lindrig sjukdom.

Förmågan att orsaka klinisk sjukdom hos en immunkompetent individ är troligtvis beroende av vilka virulensegenskaper en genotyp besitter, då det generellt är svårare att orsaka sjukdom hos en frisk person än hos en med nedsatt försvarsförmåga. Genotyp II har setts orsaka sjukdom hos både immunkompetenta och immunsupprimerade individer i någorlunda lika utsträckning. Genotyp I har uppvisat ett liknande mönster men setts orsaka allvarligare symptom i några fall samt setts orsaka ett stort antal fall av okulär toxoplasmos i Polen (Switaj *et al.*, 2010) där samtliga drabbade varit immunkompetenta. Genotyp III verkar främst kunna orsaka sjukdom hos immunsupprimerade individer. Baserat på detta förefaller genotyp I vara mest patogen när den väl infekterat, genotyp II ha lättare att infektera och uppvisa varierande patogenicitet och genotyp III uttrycka lägre patogenicitet samt uppvisa en låg sjukdomsframkallande förmåga.

Klinisk sjukdom hos djur

Även hos djur tycks genotyp II vara dominant vid kliniskt manifest sjukdom. Det faktum att den setts inducera sjukdom hos både vilda och tama djur i en klar majoritet av fallen stärker detta.

Ytterligare en faktor som talar för att genotyp II skulle vara den genotyp som framförallt framkallar sjukdom hos djur är att förekomsten av genotyp III även den är mycket hög i det vilda. I de fall klinisk sjukdom setts och både genotyp II och III upptäckts, är det dock genotyp II som orsakat sjukdom. Detta tyder på, liksom de flesta studier visat, att genotyp III inte besitter samma patogena egenskaper som typ II, med undantag för fallet på karolinaspett och fallen på surikater. Genotyp III kan sålunda orsaka sjukdom men detta sker inte frekvent. Genotyp III är därtill avirulent i möss och kunde inte framkalla sjukdom bland fjällrävarna trots att den cirkulerade i populationen.

En del av de vilda djurarter som studerats, så som harar och ekorrar, tros vara mer mottagliga för *T. gondii*. Detta har dock endast setts i ett begränsat studiematerial. Orsaken till detta skulle dels kunna vara en ökad känslighet för låga infektionsdoser och dels en utveckling av allvarligare symptom även vid en låg infektionsdos. I dessa fall är det sannolikt att en genotyp

som normalt inte skulle orsaka sjukdom i ett immunkompetent djur, gör det i dessa arter. Detta skulle kunna göra det svårare att se samband mellan klinisk sjukdom och genotyp. Trots den förmodade känsligheten är det ändå genotyp II som ligger bakom fall med klinisk sjukdom hos harar och ekorrar. Detta är rimligt med tanke på den höga förekomsten av genotyp II.

Studier angående virulensfaktorer hos vardera genotyp har endast utförts på möss med resultatet att genotyp I är den enda virulenta. Detta resultat överensstämmer inte med hur den faktiska sjukdomsfördelningen bland övriga djur i världen ser ut, där genotyp II är klart dominant och genotyp I inte registrerats orsaka sjukdom hos något djur i de studier som granskats här. Genotyp I har däremot visats orsaka sjukdom hos människa. Varför genotyp I uppträder med hög patogenicitet i människa och möss men inte i övriga djurslag är ännu inte känt men tänkbara orsaker kan vara att djurartspecifika egenskaper har större betydelse för genotypens genuttryck än genotypen själv eller att den inte förekommer i lika stor utsträckning i djurpopulationer som hos människor och att djuren därmed inte exponeras i samma grad. Det sistnämnda verkar dock osannolikt då alla genotyper sannolikt sprids på samma sätt samt att människor troligen inte utövar beteenden som skulle gynna infektion med genotyp I i högre utsträckning än för andra varmblodiga djur.

Atypiska genotyper

Denna litteraturstudie fokuserar inte på de atypiska genotyperna men utifrån de studier som ändå inkluderats här förefaller det finnas ett samband mellan de atypiska genotyperna och klinisk toxoplasmos hos människa, då framförallt i Syd- och Centralamerika, och till katt i de fall som registrerats. Atypiska genotyper har kopplats till flera olika symptom vilket indikerar en stor diversitet i genuttryck av virulensfaktorer.

Då flera av de atypiska genotyperna som isolerats från människa uppvisat ett virulent mönster i möss, visats kunna infektera immunkompetenta i flera fall samt gett upphov till spridda symptom tyder det på att de atypiska genotyperna besitter en mängd gener och genkombinationer vilka kodar för virulensfaktorer med förmåga att orsaka allvarlig sjukdom. Detta stöds även av det faktum att de fall i Europa som orsakats av en atypisk genotyp har setts hos patienter med fullgott immunförsvar.

Två studier rörande katter och klinisk toxoplasmos har granskats i denna studie. Katten i den ena studien var immunkompetent (Spycher *et al.*, 2011). Detta tyder återigen på att atypiska genotyper har stor infektionsförmåga och att de även kan orsaka sjukdom hos djur.

I takt med att mer information om atypiska genotyper samlas in är det möjligt att även samband mellan genotyp och sjukdomsframkallande förmåga kommer att förtydligas. En förbättrad undersökningsmetodik kan dessutom leda till att fler atypiska genotyper kartläggs. Det är också sannolikt att isolat som tidigare klassificerats som genotyp I, II eller III vid undersökning med en markör vid utökad genotypning avseende fler markörer skulle omklassificeras som atypiska medan andra fortfarande skulle klassificeras som klassiska genotyper. Mer information om funna isolat leder således till att fler olika genotyper kan

identifieras samt att resultat från tidiga studier, där genotypning utförts, kan komma att omvärderas.

Slutsats

Sammantaget är genotyp II tydligast kopplad till klinisk toxoplasmos hos djur och människa. Genotyp I kan antas orsaka sjukdom hos människa men inte hos djur medan genotyp III verkar minst patogen då den endast återfunnits i ett fåtal fall hos djur och människa. Atypiska genotyper ses huvudsakligen orsaka allvarlig sjukdom i mer tropiska områden. Genotyp II har visats orsaka okulära skador och systemisk sjukdom av varierande allvarlighetsgrad samt kopplats till majoriteten fall där kongenital smitta förekommit. Genotyp I har förekommit vid kongenitala fall och fall av okulär toxoplasmos – vanligtvis med allvarliga symptom. Genotyp III har svag koppling till klinisk sjukdom och kan inte sättas i samband med några specifika symptom. För att kunna fastställa några klara samband krävs vidare forskning som kopplar specifika gener till virulensfaktorer och fler studier som förbinder särskilda symptom till specifika genotyper.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Ajzenberg, D., Cogné, N., Paris, L., Bessières, M.-H., Thulliez, P., Filisetti, D., Pelloux, H., Marty, P., Dardé, M.-L. (2002). Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* Isolates Associated with Human Congenital Toxoplasmosis, and Correlation with Clinical Findings. *Journal of Infectious Diseases*, vol. 186, ss. 684–689.
- Basso, W., Moré, G., Quiroga, M.A., Pardini, L., Bacigalupe, D., Venturini, L., Valenzuela, M.C., Balducchi, D., Maksimov, P., Schares, G., Venturini, M.C. (2009). Isolation and Molecular Characterization of *Toxoplasma gondii* from Captive Slender-Tailed Meerkats (*Suricata suricatta*) with Fatal Toxoplasmosis in Argentina. *Veterinary Parasitology*, vol. 161, ss. 201–206.
- Carneiro, A.C.A.V., Andrade, G.M., Costa, J.G.L., Pinheiro, B.V., Vasconcelos-Santos, D.V., Ferreira, A.M., Su, C., Januario, J.N., Vitor, R.W.A. (2013). Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii* Revealed Highly Diverse Genotypes for Isolates from Newborns with Congenital Toxoplasmosis in Southeastern Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 51, ss. 901–907.
- Chessa, G., Chisu, V., Porcu, R., Masala, G. (2014). Molecular Characterization of *Toxoplasma gondii* Type II in Sheep Abortion in Sardinia, Italy. *Parasite*, vol. 21, 6.
- Dubey, J.P., Prowell, M. (2013). Ante-Mortem Diagnosis, Diarrhea, Oocyst Shedding, Treatment, Isolation, and Genetic Typing of *Toxoplasma gondii* Associated with Clinical Toxoplasmosis in a Naturally Infected Cat. *Journal of Parasitology*, vol. 99, ss. 158–160.
- Fekkar, A., Ajzenberg, D., Bodaghi, B., Touafek, F., Le Hoang, P., Delmas, J., Robert, P.Y., Dardé, M.L., Mazier, D., Paris, L. (2011). Direct Genotyping of *Toxoplasma gondii* in Ocular Fluid Samples from 20 Patients with Ocular Toxoplasmosis: Predominance of Type II in France. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 49, ss. 1513–1517.
- Ferreira, I.M.R., Vidal, J.E., de Mattos, C. de C.B., de Mattos, L.C., Qu, D., Su, C., Pereira-Chioccola, V.L. (2011). *Toxoplasma gondii* Isolates: Multilocus RFLP-PCR Genotyping from Human Patients in Sao Paulo State, Brazil Identified Distinct Genotypes. *Experimental Parasitology*, vol. 129, ss. 190–195.
- Fuentes, I., Rubio, J.M., Ramírez, C., Alvar, J. (2001). Genotypic Characterization of *Toxoplasma gondii* Strains Associated with Human Toxoplasmosis in Spain: Direct Analysis from Clinical Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 39, ss. 1566–1570.
- Gerhold, R.W., Yabsley, M.J. (2007). Toxoplasmosis in a Red-Bellied Woodpecker (*Melanerpes carolinus*). *Avian Diseases*, vol. 51, ss. 992–994.
- Gilbert, R.E., Stanford, M.R. (2000). Is Ocular Toxoplasmosis Caused by Prenatal or Postnatal Infection?. *British Journal of Ophthalmology*, vol. 84, ss. 224–226.
- Howe, D.K., Honoré, S., Derouin, F., Sibley, L.D. (1997). Determination of Genotypes of *Toxoplasma gondii* Strains Isolated from Patients with Toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 35, ss. 1411–1414.
- Howe, D.K., Sibley, L.D. (1995). *Toxoplasma gondii* Comprises Three Clonal Lineages: Correlation of Parasite Genotype with Human Disease. *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 172, ss. 1561–1566.
- Jokelainen, P., Isomursu, M., Nareaho, A., Oksanen, A. (2011). Natural *Toxoplasma Gondii* Infections in European Brown Hares and Mountain Hares in Finland: Proportional Mortality Rate, Antibody Prevalence, and Genetic Characterization. *Journal of Wildlife Diseases*, vol. 47, ss. 154–163.

- Jokelainen, P., Nylund, M. (2012). Acute Fatal Toxoplasmosis in Three Eurasian Red Squirrels (*Sciurus vulgaris*) Caused by Genotype II of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Wildlife Diseases*, vol. 48, ss. 454–457.
- Jokelainen, P., Simola, O., Rantanen, E., Näreaho, A., Lohi, H., Sukura, A. (2012). Feline Toxoplasmosis in Finland: Cross-Sectional Epidemiological Study and Case Series Study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 24, ss. 1115–1124.
- Jokelainen, P., Vikøren, T. (2014). Acute Fatal Toxoplasmosis in a Great Spotted Woodpecker (*Dendrocopos major*). *Journal of Wildlife Diseases*, vol. 50, ss. 117–120.
- Khan, A., Fux, B., Su, C., Dubey, J.P., Darde, M.L., Ajioka, J.W., Rosenthal, B.M., Sibley, L.D. (2007). Recent Transcontinental Sweep of *Toxoplasma gondii* Driven by a Single Monomorphic Chromosome. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, ss. 14872–14877.
- Owen, M.R., Trees, A.J. (1999). Genotyping of *Toxoplasma gondii* Associated with Abortion in Sheep. *Journal of Parasitology*, vol. 85, ss. 382–384.
- Prestrud, K.W., Asbakk, K., Mørk, T., Fuglei, E., Tryland, M., Su, C. (2008). Direct High-Resolution Genotyping of *Toxoplasma gondii* in Arctic Foxes (*Vulpes lagopus*) in the Remote Arctic Svalbard Archipelago Reveals Widespread Clonal Type II Lineage. *Veterinary Parasitology*, vol. 158, ss. 121–128.
- Sabaj, V., Galindo, M., Silva, D., Sandoval, L., Rodríguez, J.C. (2010). Analysis of *Toxoplasma gondii* Surface Antigen 2 Gene (SAG2), Relevance of Genotype I in Clinical Toxoplasmosis. *Molecular Biology Reports*, vol. 37, ss. 2927–2933.
- Shwab, E.K., Zhu, X.-Q., Majumdar, D., Pena, H.F.J., Gennari, S.M., Dubey, J.P., Su, C. (2013). Geographical Patterns of *Toxoplasma gondii* Genetic Diversity Revealed by Multilocus PCR-RFLP Genotyping. *Parasitology*, vol. 141, ss. 453–461.
- Sibley, L.D., Ajioka, J.W., (2008). Population Structure of *Toxoplasma gondii*: Clonal Expansion Driven by Infrequent Recombination and Selective Sweeps. *Annual Review of Microbiology*, vol. 62, ss. 329–351.
- Sibley, L.D., Boothroyd, J.C. (1992). Virulent Strains of *Toxoplasma gondii* Comprise a Single Clonal Lineage. *Nature*, vol. 359, ss. 82–85.
- Spycher, A., Geigy, C., Howard, J., Posthaus, H., Gendron, K., Gottstein, B., Debache, K., Herrmann, D.C., Schares, G., Frey, C.F. (2011). Isolation and Genotyping of *Toxoplasma Gondii* Causing Fatal Systemic Toxoplasmosis in an Immunocompetent 10-Year-Old Cat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 23, ss. 104–108.
- Switaj, K., Master, A., Borkowski, P.K., Skrzypczak, M., Wojciechowicz, J., Zaborowski, P. (2006). Association of Ocular Toxoplasmosis with Type I *Toxoplasma gondii* Strains: Direct Genotyping from Peripheral Blood Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 44, ss. 4262–4264.
- Szabo, K.A., Mense, M.G., Lipscomb, T.P., Felix, K.J., Dubey, J.P. (2004). Fatal Toxoplasmosis in a Bald Eagle (*Haliaeetus leucocephalus*). *Journal of Parasitology*, vol. 90, ss. 907–908.