



MIKROBILÄÄKKEILLE VASTUSTUSKYKYISET BAKTEERIT ELÄINLÄÄKÄREILLÄ

LOPPURAPORTTI TYÖSUOJELURAHASTON
HANKKEESTA N:O 116105

MARIE VERKOLA (TOIM.), ASKO JÄRVINEN, PAULA M. KINNUNEN,
KRISTIAN LINDQVIST JA ANNAMARI HEIKINHEIMO

Marie Verkola (toim.), Asko Järvinen, Paula M. Kinnunen, Kristian Lindqvist ja Annamari Heikinheimo

Mikrobilääkkeille vastustuskykyiset bakteerit eläinlääkäreillä

Loppuraportti Työsuojelurahaston hankkeesta n:o 116105

Helsingin yliopisto
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Helsinki 2018

Elintarvikehygienian ja ympäristöterveyden osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

PL 66 (Agnes Sjöbergin katu 2)

00018 Helsingin yliopisto

©Helsingin yliopisto, eläinlääketieteellinen tiedekunta, elintarvikehygienian ja ympäristöterveyden osasto
ja kirjoittajat

ISBN 978-951-51-4201-6 (nid.)

ISBN 978-951-51-4202-3 (PDF)

Unigrafia Oy

Helsinki 2018

Alkusanat

Tämä on Työsuojelurahaston vuosina 2016–2018 rahoittaman Mikrobilääkkeille vastustuskykyiset bakteerit eläinlääkäreillä -tutkimushankkeen loppuraportti. Hanke toteutettiin Helsingin yliopiston eläinlääketieteellisen tiedekunnan elintarvikehygienian ja ympäristöterveyden osaston sekä Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin tutkijoiden välisenä yhteistyönä. Tutkimusryhmään kuuluivat ELT Annamari Heikinheimo, LKT, dosentti Asko Järvinen, ELT, dosentti Paula Kinnunen, FM Kristian Lindqvist ja ELL, VTM Marie Verkola.

Tutkimushankkeessa kerätystä aineistosta on kirjoitettu kaksi lisensiaatintutkielmaa eläinlääketieteelliseen tiedekuntaan: Pietola, Eeva. Laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavan *Escherichia coli* -bakteerin esiintyvyys suomalaisilla eläinlääkäreillä ja Terhi Järvelän raportin kirjoitushetkellä vielä julkaisematon tutkielma Eläinlääkärit ja metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA)— esiintyminen ja suojautumiskäytännöt. Näiden lisensiaattitöiden tulokset on esitetty tiivistetysti tässä loppuraportissa muiden hankkeen tulosten ohella. Jotta raportti olisi mahdollisimman helppolukuinen, käytettyjen menetelmien kuvaus on siirretty liitteisiin. Raportin on koornut ELL, VTM Marie Verkola.

Kiitämme Työsuojelurahastoa hankkeen rahoittamisesta. Lisäksi haluamme kiittää kaikkia tutkimukseen osallistuneita eläinlääkäreitä ja opiskelijoita. Kiitämme myös sairaanhoitaja Tuula Saloa, laboratoriomestareita Anu Seppänen ja Kirsi Ristkari, opiskelija Maryama Abdulkadir Adamia sekä eläinlääketieteen opiskelijoita Hennariikka Hyytiäinen, Paula Oikarainen, Piila Pielola, Noora Pöytälaakso, Enni Tuutti ja Maria Virtanen avusta tutkimushankkeen käytännön töissä. Kiitokset myös ELT, dosentti Pikka Jokelaiselle ja ELT, dosentti Anna-Maija Virtalalle Terhi Järvelän lisensiaattityön ohjaamisesta.

Tiivistelmä

Antibioottien liika- ja väärinkäytön vuoksi useille antibioottiryhmille vastustuskykyiset eli moniresistentit bakteerit yleistyvät ihmisillä ja eläimillä. Kansainvälisen kaupan, muuttoliikkeen ja matkustelun myötä bakteerit ovat levinneet maailmanlaajuisesti. Antibioottien käytön, sairaalahoidon ja matkustamisen ohella eläinkontaktit ovat riskitekijä moniresistentin bakteerin kantajuudelle. Suomessa erityisesti ihobakteeri *Staphylococcus aureuksen* antibioottiresistentin (MRSA) tuotantoeläimiin liitetyn muodon ja monia antibiootteja hajottavia entsyymejä ns. laajakirjoisia beetalaktamaaseja (ESBL/ AmpC) tuottavien entero- eli suolistobakteerien osuus on lisääntynyt sekä elämistä otetuissa näytteissä että sairaaloissa otetuissa seulonta- ja tulehdusnäytteissä.

Monet ammattiryhmät työskentelevät läheisessä kontaktissa eläinten kanssa, eikä heidän altistumistaan moniresistenteille bakteereille ole juurikaan tutkittu Suomessa. Tuotanto- ja seuraeläinten kanssa läheisessä kontaktissa ovat työssään mm. tuotantoeläintilojen työntekijät, kengittäjät, ratsastuksenopettajat, siementäjät, sorkkahoitajat, seuraeläinten kasvattajat, eläintenhoitajat ja eläinlääkärit. Tämän tutkimushankkeen tavoitteena oli selvittää eläinten kanssa läheisessä kontaktissa työskentelevien henkilöiden työperäistä altistumista zoonoottisille resistenteille bakteereille. Tutkimuskohteeksi valittiin suomalaiset eläinlääkärit. Laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottavien bakteerien esiintyvyyttä eläinlääkäreillä ei ole tutkittu aiemmin, eikä Suomessa ole julkaistuja tutkimuksia näiden bakteerien esiintyvyydestä terveessä väestössä. MRSA:n esiintyvyyttä eläinlääkäreillä kartoitettiin vuonna 2009 toteutetun Työsuojelurahaston rahoittaman zoonoositutkimuksen yhteydessä, mutta sen jälkeen sen esiintyvyys etenkin tuotantoeläimillä on merkittävästi lisääntynyt.

Eläinlääkäreistä otettiin näytteet metisilliiniresistentin *Staphylococcus aureuksen* (MRSA) ja laajakirjoisia beetalaktamaaseja (ESBL/AmpC) tuottavien bakteerien määrittämiseksi. Bakteereista tutkittiin ilmiäsuun (fenotyyppi) perustuvat analyysit ja geenitason analyysit (genotyyppi). Lisäksi kyselyn avulla kartoitettiin suomalaisten eläinlääkärien työssään noudattamia hygienia- ja suojauskäytäntöjä sekä moniresistenttien bakteerien tartunnalle altistavia riskitekijöitä. Hankkeessa saatavan tiedon avulla voidaan arvioida zoonoottisten bakteerien tartuntareittejä ja määrittellä keinoja tartuntojen ehkäisemiseksi. Lisäksi tutkimuksen tulosten perusteella voidaan päätellä, onko tarpeellista tutkia myös muiden eläinten kanssa läheisessä kontaktissa työskentelevien ammattiryhmien kuten eläintilojen työntekijöiden, maatalouslomittajien, keinosiementäjien eläinten hoitajien ja hevosalan työntekijöiden altistumista näille bakteereille.

ESBL/AmpC-entsyymiä tuottavia *Escherichia coli* –bakteereja todettiin 3 %:lla (9/297) ja MRSA:ta 0,3 %:lla (1/320) tutkimukseen osallistuneista eläinlääkäreistä. Tutkimuksen perusteella suomalaisten eläinlääkärien MRSA- ja ESBL-kantajuus ei poikkea normaaliväestön kantajuudesta lukuisista eläinkontakteista huolimatta. Todettu MRSA-kanta kuului tuotantoeläimiin liitettyihin MRSA-kantoihin geenitason analyysin perusteella ja muistutti resistenssigeeniensä perusteella Suomessa sioista löytyneitä kantoja. ESBL/AmpC-tuottajien alkuperää ei nykytutkimuksen valossa voida määrittellä.

Kyselyvastausten perusteella suomalaiset eläinlääkärit suojaautuvat keskimäärin hyvin, mutta parannettavaa löytyy sekä eläinlääkärien käytännöistä että asiakastilojen olosuhteista. Tutkimuksemme mukaan eläinlääkärien käsien saippuointiin keskimäärin käyttämä aika on lyhyempi kuin suositeltu 15-20 sekuntia. Etenkin tuotantoeläinten parissa työskentelevien eläinlääkäreiden tulisi kiinnittää huomiota desinfiointihuuhteen käyttöön, sillä desinfiointihuuhdetta käytti säännöllisesti kädet pestyään vain 22,8 % vastaajista tuotantoeläimiä hoitaessaan. Kaikkien eläinlääkärien tulisi muistaa käyttää aina suojakäsineitä haavaa käsitellessään, riippumatta siitä onko kyseessä tuore vai tulehtunut haava. Tutkimuksen perusteella eläinlääkärit huolehtivat myös huonosti työvälineidensä kuten lääkelaukun ja stetoskoopin puhtaudesta. Mikrobilääkkeille vastustuskykyiset bakteerit ja muut taudinaiheuttavat leviävät kuitenkin myös likaisten

välineiden välityksellä. Asiakastiloista erityisesti hevostalleilla olisi syytä kiinnittää huomiota asianmukaisiin käsienpesumahdollisuuksiin. Niin moniresistenttien bakteerien kuin muidenkin taudinaiheuttajien leviämisen estämiseksi on ensiarvoisen tärkeää, että käsien pesuun on tarjolla lämmintä juoksevaa vettä, saippuaa ja puhdas pyyhe tai käsipyyhkeitä.

Virallisten ohjeiden mukaan kädet tulee pestä ennen ja jälkeen potilaskontaktin, ennen toimenpiteitä, ennen suojakäsineiden pukemista ja niiden riisumisen jälkeen, tilakäyntien välillä, WC-käynnin jälkeen, ennen ruokailua ja töihin tultaessa ja töistä lähdettäessä. Käsien pesu poistaa likaa ja käsiin ympäristöstä tulleita bakteereja. Desinfointihuuhteen käyttö täydentää käsien pesua vähentämällä ihosta myös normaalimikrobistoon kuuluvia bakteereja. Käsien pesua ja desinfointia ei voi korvata suojakäsineiden käytöllä.

Käytetyt lyhenteet ja termit

AmpC	laajakirjainen beetalaktamaasientsyymi, jolla eri vaikutuskirjo kuin ESBL-entsyymeillä
APEC	(avian pathogenic <i>E. coli</i>) siipikarjalle tautia aiheuttavia <i>Escherichia coli</i> -kantoja
CA-MRSA	(community-acquired MRSA) avohoidon MRSA-kannat
CC	(clonal complex) klonaaliseen kompleksiin kuuluu läheistä sukua olevia sekvenssityyppejä
ECDC	(European Centre for Disease Prevention and Control) Euroopan tautienehkäisy- ja valvontakeskus
EFSA	(European Food Safety Authority) Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto
ESBL	(extended-spectrum betalactamase) laajakirjoiset beetalaktamaasit ovat bakteerin tuottamia beetalaktaamiantibiootteja hajottavia entsyymejä
Evira	(Suomen) elintarviketurvallisuusvirasto
HA-MRSA	(healthcare-acquired MRSA) terveydenhuollon MRSA-kannat
Inc	inkompatibiliteettiryhmä plasmidien luokitteluun
Kiertävä praktiikka	eläinten hoitotyö ja ennaltaehkäisevä työ tiloilla ja talleilla kiertäen
LA-MRSA	(livestock-associated MRSA) tuotantoeläimiin liitetyt MRSA-kannat; Euroopassa MRSA CC398
MLST	(multi-locus sequence typing) geenipohjainen menetelmä tiettyjen bakteerikantojen jaotteluun; määrittää bakteerin sekvenssityypin
Moniresistentti	vastustuskykyinen kolmelle tai useammalle antibiootille
MRSA	metsilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i>
Praktiikka	sairaiden eläinten hoito ja ennaltaehkäisevä terveydenhuoltotyö eläinlääkärin ammattikentässä
Praktikko	eläinlääkäri, joka hoitaa sairaita eläimiä ja tekee ennaltaehkäisevää terveydenhuoltotyötä
spa-tyypitys	genomipohjainen tyypitysmenetelmä <i>Staphylococcus aureus</i> -kantojen erotteluun
ST	(sequence type) sekvenssityyppi; määritetään MLST-menetelmällä
THL	Terveyden ja hyvinvoinnin laitos
Zoonoosi	tartuntatauti, jonka aiheuttaja voi tarttua eläimistä ihmisiin tai ihmisistä eläimiin joko suoraan tai välillisesti

Sisällysluettelo

Alkusanat	3
Tiivistelmä.....	4
Käytetyt lyhenteet ja termit	6
1 Johdanto	9
1.1 Antibiooteille vastustuskykyiset bakteerit riskinä eläinten parissa työskenteleville	9
1.2 Eläinlääkärien työkenttä	9
1.3 Moniresistentit zoonoottiset bakteerit	10
1.4 <i>Staphylococcus aureus</i> ja MRSA	10
1.5 MRSA eläimillä	11
1.6 LA-MRSA eläinten parissa työskentelevillä ammattiryhmillä	11
1.7 LA-MRSA eläimillä Suomessa	11
1.8 LA-MRSA ihmisillä Suomessa	12
1.9 <i>Staphylococcus aureuksen</i> tyypitys	12
1.10 ESBL- β -laktamaaseja, AmpC- β -laktamaaseja ja karbapenemaaseja tuottavat enterobakteerit	13
1.11 Esiintyvyys ihmisillä	13
1.12 Esiintyvyys eläimillä ja elintarvikkeissa	14
1.13 Tartuntareitit	14
1.14 Laajakirjoisten β -laktamaasien entsyymi- ja geeniperheet	15
1.15 Plasmidien luokittelu ja esiintyminen	15
1.16 <i>E. colin</i> tyypitys	15
1.17 Suojautuminen	15
2 Tutkimuksen tavoite	17
3 Aineisto	18
4 Tulokset	19
4.1 Mikrobiologiset tulokset	19
4.2 Kyselyaineiston analyysin tulokset	21
4.2.1 Eläinkontaktit työssä	21
4.2.2 Työnkuva	21
4.2.3 Käsien peseminen	22
4.2.3.1 Praktikkojen käsienpeseminen ja käsienpesumahdollisuudet työssä	22
4.2.3.2 Tuotantoeläinpraktikoiden käsien peseminen ja desinfiointihuuhteen käyttö	24
4.2.3.3 Kaikkien vastaajien arviot käsien pesuun käytetystä ajasta	26
4.2.4 Tuotantoeläinpraktikoiden suojakäsineiden käyttö	26
4.2.5 Tuotantoeläinpraktikoiden suojavaatteiden käyttö	27
4.2.6 Nauta- ja sikapraktikkojen hengityssuojaimen käyttö	28

4.2.7 Tuotantoeläinpraktikoiden työvälineiden puhdistaminen.....	29
4.2.8 Vastaajien eläinkontaktit työssä ja vapaa-ajalla.....	30
4.2.9 Eläinlääkärien altistuminen vapaa-ajalla.....	30
4.2.10 Terveystuoltoon liittyvät riskitekijät suomalaisilla eläinlääkäreillä	31
5 Johtopäätökset ja tulosten hyödynnettävyys.....	33
6 Lähteet.....	36
Liitteet.....	45
Liite1: Menetelmät	45
Esirikastus ja viljely	45
Eristys ja osoittaminen	45
Mikrobilääkeherkkyyssääntely.....	46
DNA-eristys ja laadunvarmistus	47
Resistenssigeenien osoitus ja tyyppitys.....	47
Kyselyn analyysi.....	48

1 Johdanto

1.1 Antibiooteille vastustuskykyiset bakteerit riskinä eläinten parissa työskenteleville
Antibioottien jatkuvan liika- ja väärinkäytön vuoksi bakteerien hankittu vastustuskyky eli resistenssi on muodostumassa yhdeksi aikakautemme suurimmista ongelmista (1). Kansainvälisen matkustajaliikenteen, kaupan ja maahanmuuton myötä antibiooteille resistentit bakteerit leviävät ympäri maailman. Tunnettuja riskitekijöitä tartunnalle ovat antibioottien käyttö, matkustaminen, sairaalahoito ja joissain tapauksissa eläinkontaktit (2-5).

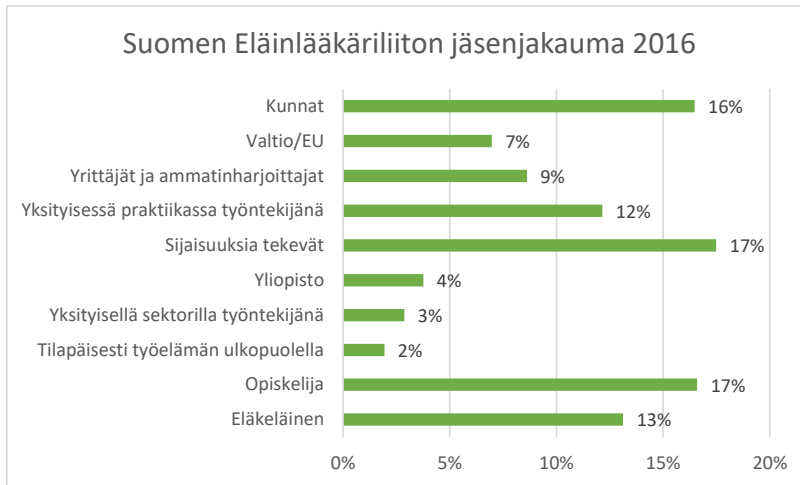
Lukuisat ammattiryhmät Suomessa ovat työssään jatkuvasti tekemisissä elävien ja/ tai kuolleiden eläinten kanssa. Tarkkaa tietoa eläinten parissa työskentelevien henkilöiden lukumäärästä ei ole saatavilla. Hyöty- ja seuraeläinten kanssa läheisessä kontaktissa ovat työssään mm. tuotantoeläintilojen työntekijät, kengittäjät, ratsastuksenopettajat, siementäjät, sorkkahoitajat, seuraeläinten kasvattajat, eläintenhoitajat ja eläinlääkärit. Lisäksi luonnoneläinten ja eläintarhaeläinten kanssa työskenteleviä ammattiryhmiä on useita. Eläinlääkärit ja klinikkaeläinhoitajat ovat muita ammattiryhmiä enemmän tekemisissä sairaiden eläinten kanssa. Osalla heistä työympäristö on sairaalamainen, ja suuri osa joutuu työssään kosketuksiin antibioottien kanssa. Riskitekijöitä antibiooteille vastustuskykyisten bakteerien tartuntaan tässä ammattiryhmässä on siis useampia.

1.2 Eläinlääkärien työkenttä

Eläinlääkärit työskentelevät laajalla kentällä. Pieneläinlääkärit työskentelevät joko yksin tai useamman eläinlääkärin klinikoilla, joilla saattaa eläinlääkärin lisäksi työskennellä myös yksi tai useampi pieneläinhoitaja. Lisäksi Suomessa on muutama pieneläinsairaala, joissa eläimille annetaan ympärivuorokautista hoitoa ja joissa työskentelee useita eläinlääkäreitä ja eläintenhoitajia. Kunnan palveluksessa olevat eläinlääkärit tekevät eläinten hoitotyötä (jatkossa praktiikka), eläinsuojeluvalvontaa tai hygieenikon tehtäviä, joihin kuuluu mm. elintarvikevalvonta. Osassa kunnista nämä toimet on eriytetty praktikkoeläinlääkärille, valvontaeläinlääkärille ja hygieenikkoeläinlääkärille, kun taas toisissa samalla eläinlääkärillä on osa tai kaikki näistä työnkuvista. Kunnassa praktiikka on useimmiten sekapraktiikkaa eli potilaina on sekä tuotanto- että seuraeläimiä. Pieneläimet hoidetaan pääsääntöisesti vastaanotolla ja suurelaimet tiloilla ja talleissa. Praktikkoeläinlääkäri¹ on ammatinharjoittaja, joka saa kunnalta peruspalkan ja toimitilat perusvarusteineen, mutta vastaa itse lääkkeiden ja tarvikkeiden hankinnasta ja saa osan tuloistaan suoraan asiakkailta. On myös yksityisiä eläinlääkäreitä, jotka hoitavat vain yhtä tai useampaa tuotantoeläinlajia (hevoset mukaan lukien) ns. kiertävässä praktiikassa tiloja ja talleja kiertäen. Hevoset ovat ainoat suurelaimet, joita hoidetaan myös sairaalaolosuhteissa, samankaltaisissa olosuhteissa kuin pieneläimiä. Tuotantoeläinten hoitoon liittyy sekä varsinaista hoitotyötä sairaan eläimen äärellä että ennaltaehkäisevää terveydenhuoltotyötä eläinyksiköissä. Teurastamoissa työskentelevät tarkastuseläinlääkärit ovat tekemisissä sekä elävien eläinten että ruhojen kanssa. He ovat valtion palveluksessa Elintarviketurvallisuusvirasto Eviran alaisuudessa. Valtion ja Euroopan unionin palveluksessa on myös eläinlääkäreitä asiantuntijatehtävissä. Yliopistolla työskentelee eläinlääkäreitä opetus- ja tutkimustehtävissä. Näistä osa on työtehtäviensä puitteissa kosketuksissa raatoihin ja/ tai eläinperäisiin näytteisiin. Lisäksi eläinlääkäreitä työskentelee teollisuudessa ja kolmannella sektorilla asiantuntijatehtävissä. Näistä osa on myös kontaktissa eläviin eläimiin, raatoihin tai eläinperäisiin näytteisiin.

¹ Tässä tutkimusraportissa praktikolla tarkoitetaan eläinlääkäriä, joka työkseen hoitaa eläimiä, joko sairauden vuoksi tai ennaltaehkäisevästi. Jos henkilö määrittellään tuotantoeläinpraktikoksi, hevospraktikoksi tai pieneläinpraktikoksi tämä ei tarkoita, että hän työsään hoitaisi ainoastaan kyseistä eläinlajia.

Suomessa on n. 2730 laillistettua eläinlääkärinä, joista 84 % oli Suomen Eläinlääkäriliiton jäseniä tammikuussa 2018 (6). Lisäksi liittoon kuuluu eläinlääketieteen opiskelijoita. Kuvassa 1 on esitetty Suomen Eläinlääkäriliiton jäsenten jakautuminen tutkimuksen toteutushetkellä syksyllä 2016.



Kuva 1. Suomen Eläinlääkäriliiton jäsenkunnan jakauma 31.10.2016 (7). Liittoon saavat liittyä kaikki eläinlääketieteen opiskelijat.

1.3 Moniresistentit zoonoottiset bakteerit

Eläimistä ihmisiin tai ihmisistä eläimiin tarttuvista eli zoonoottisista monille antibioottiryhmille vastustuskykyisistä bakteereista merkittävimpiä ovat kampylobakteerit, enterobakteereihin kuuluvat suolistobakteerit salmonellat, *Escherichia coli* ja *Klebsiella pneumoniae* sekä ihobakteeri *Staphylococcus aureus*. Tässä tutkimushankkeessa tutkimuksen kohteena olivat laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä tuottavat enterobakteerit ja metisilliiniresistentti *S. aureus* (MRSA). Keski-Euroopassa tehdyissä tutkimuksissa on todettu, että tuotantoeläinten kanssa työskentelevillä ihmisillä on suurempi riski kolonisoitua MRSA:lla ja sama näyttäisi pätevän laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottaviin enterobakteereihin (8,9). Molemmat on liitetty ruokaketjuun, mutta molemmat ovat alun perin lähtöisin terveydenhuollosta, mistä ne ovat levinneet terveydenhuollon ulkopuolelle ihmisiin ja eläimiin (10,11).

1.4 *Staphylococcus aureus* ja MRSA

S. aureus on yleinen bakteeri ihmisten ja eläinten limakalvoilla ja iholla (8,12). Sitä kantaa nenässään n. 20–40 % ihmisistä (13-15). Kantajuus tarkoittaa, että bakteerit lisääntyvät nenässä, mutta eivät aiheuta infektiota. Tutkimusten mukaan ihmiset jakautuvat pysyviin kantajiin, väliaikaisiin kantajiin ja niihin, jotka eivät koskaan kanna bakteeria (16,17). *S. aureus* voi aiheuttaa ihmiselle vakavuusasteeltaan erilaisia infektoita lievistä ihotulehduksista aina vakavaan verenmyrkytykseen (18).

Suurin osa *S. aureus* -kannoista on resistenttejä penisilliinille. Penisilliiniresistenssin aiheuttaa *blaZ*-geeni. MRSA on resistentti kaikille beetalaktaamiryhmän antibiooteille. Beetalaktaameja ovat penisilliini ja sen johdannaiset, kefalosporiinit, monobaktaamit ja karbapeneemit. Resistenssin aiheuttaa bakteerin kromosomissa sijaitseva *mecA* tai *mecC* -geeni. MRSA-bakteeria havaittiin ensimmäisen kerran 1961 brittiläisissä sairaaloissa (10). Vuosikymmenien ajan MRSA-tapaukset rajoittuivat lähinnä sairaaloihin ja vanhainkoteihin. Pitkään vain yksittäisiä tapauksia raportoitiin näiden ulkopuolelta, kunnes 1990-luvulla

ilmaantui useita tapauksia terveillä ihmisillä, joilla ei ollut yhteyttä terveydenhuoltoon. Löytyi uusia kantoja, joita usein kutsutaan avohoidon MRSA:ksi (community-associated MRSA eli CA-MRSA) niiden erottamiseksi terveydenhuollon MRSA:sta (healthcare-associated eli HA-MRSA) (18).

1.5 MRSA eläimillä

Ensimmäiset eläinten MRSA-tapaukset eristettiin Hollannissa nautojen utaretulehdusten yhteydessä 1970-luvulla (19). MRSA:ta on maailmalla raportoitu myös lampailla, hevosilla, sioilla, siipikarjalla, koirilla, kissoilla, kilpikonilla, lemmikkilinnuilla ja lepakoilla (20). Kuten ihmisillä, myös eläimillä tavataan sekä oireetonta kantajuutta että infektoita. Vuonna 2003 tuotantoeläimiltä ja tuotantoeläintiloilla työskenteleviltä ihmisiltä ja näiden läheisiltä löydettiin uudenlaisia MRSA-kantoja Ranskassa ja Hollannissa. Näitä kantoja alettiin kutsua tuotantoeläimiin liitettyksi MRSA:ksi (livestock-associated MRSA eli LA-MRSA) (21). LA-MRSA-kantojen on osoitettu tarttuvan eläimistä ihmisiin. Tuotantoeläimet – Keski-Euroopassa erityisesti siat ja juottovasikat – muodostavat tärkeän varannon näille kannoille. LA-MRSA on riski läheisessä kontaktissa tuotantoeläinten kanssa työskenteleville ihmisille (8). Tämänhetkisen tutkimustiedon perusteella LA-MRSA ei tartu elintarvikkeiden välityksellä (8,22).

Siinä missä LA-MRSA-kantojen on osoitettu tarttuvan eläimistä ihmisiin, vaikuttaa siltä, että lemmikkieläinten kannat ovat useimmiten lähtöisin ihmisistä (23). Vastikään lemmikkieläimiltä on todettu myös LA-MRSA-kantoja, jotka vaikuttaisivat olevan samoja kuin tuotantoeläimillä tavatut (24). Hevosilla on todettu erityisesti tiettyjä, ilmeisesti erityisesti hevoseen sopeutuneita MRSA-kantoja, joita on todettu myös hevosten kanssa työskenteleviltä ihmisiltä (23). Hevosista on osoitettu myös LA-MRSA-kantoja, jotka kuitenkin poikkeavat tuotantoeläimillä tavatuista (24). MRSA-bakteerit muuntuvat nopeasti geneettisesti, ja kykenevät näin sopeutumaan uusiin isäntälajeihin ja valtaamaan uusia elinlokeroita.

1.6 LA-MRSA eläinten parissa työskentelevillä ammattiryhmillä

LA-MRSA:n esiintyvyyttä on Euroopassa tutkittu tuotantoeläinten kanssa työskentelevistä ammattiryhmistä teurastamohenkilökunnalla, tuotantotilojen työntekijöillä ja eläinlääkäreillä. Luvut vaihtelevat maan, työssä kohdatun eläinlajin ja tutkimusmenetelmän mukaan. Sikoja tai siipikarjaa teurastavien teurastamoiden henkilökunnalla luvut vaihtelevat 3,2 %:sta 5,6 %:iin (25-27). Nautatilalla työskentelevillä LA-MRSA:n esiintyvyys oli 0–37,3 % (28-30), sikatilalla työskentelevillä 23,7–85,8 % (5,28,31-35), juottovasikkatilalla työskentelevillä se oli 31,3 % (36) ja siipikarjatilalla 0–37,3 % (28,37,38).

Eläinlääkäreillä LA-MRSA:n esiintyvyyden on todettu olevan 0,1 %:n ja 9 %:n välillä (39-41). Sikojen kanssa työskentelevillä eläinlääkäreillä luvut vaihtelevat 11,3 %:sta 45 %:iin (35,42). Kun suomalaisia eläinlääkäreitä tutkittiin vuonna 2009 (43), yhdeltä löytyi MRSA. Kyseessä ei ollut LA-MRSA-kanta. Tuoreita lukuja LA-MRSA:n esiintyvyydestä suomalaisilla eläinlääkäreillä ei ole.

1.7 LA-MRSA eläimillä Suomessa

Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto (EFSA) koordinoi kartoituksen Euroopan maissa 2008 (44). Tutkimuksen tavoitteena oli määritellä MRSA:n ja erityisesti LA-MRSA:n esiintyvyys jalostussioilla Euroopassa. MRSA:ta löytyi 12/24 jäsenmaasta (50 %). Yhdessätoista maassa kaikki eristetyt kannat olivat LA-MRSA-kantoja. Esiintyvyys vaihteli merkittävästi maiden välillä alle 1 %:sta 46 %:iin. Suomessa tiloja tutkittiin yhteensä 207, ja esiintyvyys oli 0,5 %, sillä LA-MRSA:ta löytyi yhden tilan pölynäytteestä.

Elintarviketurvallisuusvirasto Eviran vuonna 2009 toteuttamassa kartoituksessa 22 % sioista otetuista teurastamonäytteistä oli MRSA-positiivisia (45). Lokakuun 2011 ja maaliskuun 2013 välisenä aikana toteutetussa jatkotutkimuksessa (46) tutkittiin kaikkien erityistason jalostussikaloiden MRSA-tilannetta. MRSA:ta ei löytynyt. Erityistason jalostussikaloiden on erityisen korkeat tautisuojaus- ja tautivapausvaatimukset, sillä ne tuottavat jalostuseläimiä muille tiloille, jolloin myös mahdolliset taudinaiheuttajat leviävät sikojen mukana laajasti. Eviran syyskuussa 2016 käynnistämässä tutkimuksessa selvitettiin MRSA:n tämänhetkistä esiintyvyyttä teurassioissa. MRSA-positiivisten näytteiden osuus oli 78 % maaliskuun 2017 loppuun mennessä (47). Tämä osoittaa, että MRSA on yleistynyt suomalaisilla sikatiloilla kuluneen kymmenen vuoden aikana.

1.8 LA-MRSA ihmisillä Suomessa

Suomessa ihmisten MRSA-infektioiden osuus kaikista *S. aureus* -infektioista on alhainen verrattuna suurimpaan osaan Manner-Eurooppaa ja erityisesti Etelä-Eurooppaa (48). Euroopan tautienehkäisy- ja valvontakeskuksen ECDC:n tilastojen mukaan osuus oli Suomessa 2,5 % vuonna 2014, kun se oli Saksassa 11,8 %, Portugalissa 47,4 % ja Romaniassa 56 % (48). Uusia MRSA-tapauksia todetaan Suomessa vuosittain n. 1300, ja ne rajoittuvat pääosin terveydenhuoltoon.

LA-MRSA:ta todettiin Suomessa ensimmäisen kerran 2007 eläinsairaalan työntekijällä 13 hevosta käsittäneen epidemian aikana. Huhtikuuhun 2009 mennessä LA-MRSA oli löytynyt kymmeneltä ihmiseltä. Näistä vain yksi tapaus, hevosairaalan epidemiaan liittynyt, oli työperäinen (49). Viime vuosina uusien tapausten määrä on kasvanut, sillä niitä todettiin 41 (3,2 % kaikista MRSA-tapauksista) vuonna 2015 (50) ja 49 (2,9 %) vuonna 2016 (51).

Vuosina 2012-2013 suomalaisilla sikatiloilla toteutetussa tutkimuksessa (52), määriteltiin MRSA:n esiintyvyyttä sikatilallisilla ja heidän läheisillään, ja verrattiin ihmisiltä ja eläimiltä löydettyjä MRSA-kantoja toisiinsa. MRSA-positiivisille sioille altistuneista ihmisistä 8 %:n todettiin kantavan LA-MRSA:ta. Tutkimustiloja ei ollut kuitenkaan valittu satunnaisesti, joten tulokset ovat viitteellisiä.

1.9 *Staphylococcus aureuksen* tyyppitys

MRSA-kantoja voidaan jaotella geenipohjaisella multi-locus sequence typing -menetelmällä (MLST) sekvenssityyppeihin (ST) (53). Läheiset sekvenssityypit voidaan luokitella klonaaliksi komplekseiksi (CC) (54). Euroopassa tuotantoeläimiin liitetyt MRSA-kannat kuuluvat klonaaliseen kompleksiin CC398. Tähän kompleksiin kuuluu sekvenssityypin ST398 lisäksi myös muita sekvenssityyppejä. Pieneläimiltä on löydetty CC22:een ja CC5:een kuuluvia kantoja. Hevosilla on todettu erityisesti CC8:aan kuuluvia kantoja, mutta myös CC398:aan kuuluvia, mutta tuotantoeläinkannoista poikkeavia kantoja (24,55). Aivan viime aikoina on raportoitu myös CC398:n kantoja pieneläimillä, joiden resistenssi profiili viittaa siihen, että kannat ovat läheistä sukua tuotantoeläinkannoille (24).

Toinen genomipohjainen tyyppitysmenetelmä on *spa*-tyypitys (56). *spa*-tyypitystä käytetään eri kantojen geneettisen sukulaisuuden toteamiseen, ja se soveltuu hyvin kantojen erotteluun epidemian aikana. Saman *spa*-tyypin kannat saattavat olla samasta lähteestä. Ns. uuden sukupolven sekvensointi tekniikoiden yleistyessä kokogenomisekvenssoinnista on tulossa tärkeä työkalu kantojen alkuperän selvittämiseen. Se mahdollistaa kantojen tarkemman vertailun (57).

1.10 ESBL- β -laktamaaseja, AmpC- β -laktamaaseja ja karbapenemaaseja tuottavat enterobakteerit

Enterobacteriaceae-heimon muodostavat useat enterobakteerilajit. Näistä zoonoottisen moniresistenssin osalta merkittävimmät ovat *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ja *Salmonella* spp. Suomessa tärkeimmät lajit ovat *E. coli* ja *K. pneumoniae* (46,50). *E. coli* kuuluu suoliston normaalimikrobistoon, mutta se on myös yleisin ihmisten ja eläinten virtsatieinfektioiden aiheuttaja, joka voi myös aiheuttaa vakavia infektioita kuten vastasyntyneiden aivokalvontulehdusta ja verenmyrkytyksiä. *K. pneumoniae* aiheuttaa ihmisille keuhkokuumeita ja verenmyrkytyksiä lähinnä immuunipuutteisille potilaille sairaalaympäristössä (48,58). Eläimille *K. pneumoniae* aiheuttaa ennen kaikkea virtsatie- ja hengitystietulehduksia, verenmyrkytyksiä sekä lehmien utaretulehduksia (58).

Laajakirjoiset beetalaktamaasit ovat *Enterobacteriaceae*-heimoön kuuluvien bakteerien tuottamia entsyymejä. Niihin kuuluvat ESBL-beetalaktamaasit ja AmpC-beetalaktamaasit. Näiden entsyymien avulla bakteerit pystyvät hajottamaan beetalaktaamiryhmän antibiootteja. ESBL- ja AmpC-beetalaktamaasien kyky hajottaa eri antibioottiryhmiä on erilainen. Entsyymejä tuottavat bakteerit ovat usein myös vastustuskykyisiä muille antibioottiryhmille (59). Beetalaktamaasientsyymejä koodaavat geenit voivat sijaita joko bakteerin kromosomissa tai liikkuvilla geneettisillä elementeillä kuten plasmideissa. Tällöin geenit pystyvät siirtymään suoraan bakteerilta toiselle, bakteerikannalta toiselle ja bakteerilajilta toiselle. Nämä plasmidissa sijaitsevat geenit aiheuttavat erityistä huolta nopean maailmanlaajuisen leviämisen vuoksi. Erityistä huolta aiheuttavat myös karbapenemaasit, joiden seurauksena bakteereista tulee vastustuskykyisiä karbapeneemeille. Nämä antibiootit lasketaan nk. viimesijaisiin antibiootteihin, joita käytetään, kun muut antibiootit eivät enää tehoa. Karbapeneemien käyttö eläimillä on kiellettyä.

Tässä raportissa laajakirjoiset β -laktamaasit käsittävät sekä ESBL- että AmpC- β -laktamaasit. Karbapenemaasit eivät sisälly määritelmään. Lyhennettä ESBL käytetään ainoastaan ESBL-entsyymistä.

1.11 Esiintyvyys ihmisillä

Terveen väestön laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottavien enterobakteerien kantajuudeksi maailmassa on arvioitu 14 % ja kantajuuden määrän kasvuksi 5,38 % per vuosi (60). Euroopassa kantajuus on 4-6 % (60). Suomessa ei ole julkaistu lukuja terveen väestön kantajuudesta, mutta tietoa on saatavilla muista matalan mikrobilääkeresistenssin maista Norjasta ja Ruotsista. Norjassa ESBL/AmpC-*E. coli*a kantaa 4,9 % ja *K. pneumoniae*ta 3,2 % terveestä väestöstä (61). Ruotsissa laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavia enterobakteereita kantaa vastaavasti 4,8 % väestöstä (62).

Suomessa vuoden 2015 infektionäytteistä laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavia bakteereja löytyi 6 %:sta verinäytteistä, 2 %:sta naisten virtsanäytteistä ja 5 %:sta miesten virtsanäytteistä (63). ESBL-*E. coli*n aiheuttamien infektioiden määrä on nousussa (64). Määrän kasvu nuoremmassa ikäryhmässä viittaa kantajuuden nousuun perusterveen väestön keskuudessa, mutta saattaa myös osin olla seurausta turvapaikanhakijoiden ja matkailijoiden normaaliväestöä korkeammasta kantajuudesta (50,64).

*K. pneumoniae*n osuus infektioista on kasvanut Suomessa. Vuonna 2016 osuus oli 8 % (64). Karbapenemaasintuottajien aiheuttamista infektioista *K. pneumoniae* aiheutti 60 % (50). Eläimillä laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavan *K. pneumoniae* merkitys on toistaiseksi ollut vähäinen.

1.12 Esiintyvyys eläimillä ja elintarvikkeissa

Laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavien enterobakteerien määrästä tuotantoeläimillä, niistä saaduissa elintarvikkeissa ja seuraeläimillä on hajanaista tietoa. Euroopan unionissa seurataan tuotantoeläinten ja elintarvikkeiden yleistä resistenssitilannetta ns. indikaattoribakteerien seulontanäytteillä, mutta italialaisen tutkimuksen perusteella menetelmän herkkyys ei ole riittävä ESBL/AmpC-*E. coli*lle, jotta se kertoisi bakteerin todellisesta esiintyvyydestä tuotantoeläimissä ja elintarvikkeissa (65).

Yksittäisten tutkimusten ja kansallisten raporttien perusteella ESBL/AmpC-*E. coli*n esiintyvyys broilereilla on useissa Euroopan maissa yli 50 % (65) Saksasta ja Italiasta on raportoitu yli 80 %:n esiintyvyyksiä (65,66). Ruotsissa mikrobilääkeresistenssi- ja mikrobilääkkeenkulutusseurantaraportin (67) mukaan yli 39 % tuotantopolven broilereista, 13 % munintakanoista ja 51 % broilerinlihanäytteistä oli ESBL/AmpC-*E. coli*-positiivisia siitakin huolimatta, että Ruotsissa mikrobilääkeresistenssi on alhaisella tasolla ja mikrobilääkkeiden käyttö maltillista. Eurooppalaisesta tuontibroilerinlihasta Ruotsissa otetuissa näytteissä esiintyvyys oli 61 % ja eteläamerikkalaisesta 95 % (68). Suomessa tuotantopolven broilereita ei mikrobilääkitä. Tästä huolimatta vuosina 2014–2016 toteutetuissa tutkimuksissa ESBL/AmpC-*E. coli*n esiintyvyys on ollut 8,1–18 % (69) ja broilerinlihassa 22–32 % (70,71). Tartunnan lähteeksi epäillään ulkomailta tuotuja vanhempaispolven lintuja.

Muiden tuotantoeläinten tilannetta tutkittiin EU-tasolla ensimmäisen kerran vuonna 2015. Tutkimuksen kohteena olivat lihasiat, vasikat, sianliha ja naudanliha. Esiintyvyydet vaihtelivat merkittävästi jäsenmaiden välillä ollen lihasioilla 0–81,5 % ja vasikoilla 0–60 %. Suomessa ESBL-*E. coli*a esiintyi 0,3 % ja AmpC-*E. coli*a 2,6 % lihasioilla. Sianlihassa ei esiintynyt lainkaan ESBL-*E. coli*a ja AmpC-*E. coli*n esiintyvyys oli 0,3 %. Naudanlihasta ei löytynyt kumpaakaan. Mistään tutkituista näytteistä ei löytynyt molempia entsyymejä tuottavia *E. coli*-bakteereja (72). Vasikoita Suomessa ei tutkittu, sillä Suomessa ei kasvateta juottovasikoita. ESBL-tuottajien esiintyvyys lihasioissa, sianlihassa ja naudanlihassa on AmpC-tuottajia yleisempää EU:ssa Pohjoismaiden ulkopuolella. Ruotsissa tehdyssä tuontilihatutkimuksessa (68) esiintyvyys oli eurooppalaisessa naudanlihassa 8 % ja sianlihassa 13 %.

Seuraeläinten osalta kantajuustiedot ovat usean Euroopan maan osalta yksittäisten koiria koskevien tutkimusten varassa. Näissä Isossa-Britanniassa esiintyvyys oli 17,4 % (73), Ranskassa 18,5 % (74) ja Portugalissa 21,9 % (75). Ruotsin mikrobilääkeresistenssi- ja mikrobilääkkeenkulutusseurantaraportin mukaan koirien, kissojen ja hevosten ESBL/AmpC-kantajuus on alle 1 % (67). Vuonna 2015 Suomessa infektio- ja seulontanäytteissä koirien ja kissojen *E. coli*-kannoista alentunut herkkyys 3. polven kefalosporiineille oli 8 %:lla. Kannoista 2,5 % oli ESBL-tuottajia ja 5 % AmpC-tuottajia. Hevosilla vuosina 2011-2015 15 %:lla kannoista oli alentunut herkkyys 3. polven kefalosporiineille ja ESBL-tuottajia oli 6,9 %. Vuosina 2014-2015 ESBL-tuottajia oli 12 % (76).

1.13 Tartuntareitit

Moniresistenttien *Enterobacteriaceae*-heimon bakteerien epidemiologia on monimutkainen plasmidien liikkuvuuden vuoksi. Laajassa 62:n tutkimuksen meta-analysissä antibioottien käyttö kuluneen neljän tai 12 kuukauden aikana sekä matkustaminen, erityisesti Intiaan, todettiin riskitekijöiksi ulosteen kolonisoitumiseen ESBL-entsyymejä tuottavilla enterobakteereilla (60). Tässä meta-analysissä eläinkontaktit eivät olleet riskitekijä. Börjesson ym. (77) tutkivat 716 bakteerikantaa ihmis-, eläin- ja elintarvikenäytteistä. He eivät löytäneet todisteita ESBL-entsyymiä tai plasmidillista AmpC:tä koodaavien geenien merkittävästä klonalisesta leviämisestä tuotantoeläinten tai elintarvikkeiden välityksellä Ruotsissa. Tutkimuksen mukaan siipikarja ja kananliha saattaisivat toimia bakteerien varantona ja kananliha olla yksi leviämisreiteistä. Lemmikieläimiltä ja heidän omistajiltaan on löydetty samoja ESBL/AmpC:tä tuottavia kantoja (78). Nyky menetelmillä tartunnan suuntaa ei kuitenkaan pystytä määrittämään.

1.14 Laajakirjoisten β -laktamaasien entsyymi- ja geeniperheet

ESBL- β -laktamaasit jaetaan entsyymiperheisiin, joista tärkeimmät ovat CTX, TEM ja SHV. Kaikki ESBL-entsyymiperheisiin kuuluvista entsyyymeistä eivät kuitenkaan ole ESBL-entsyymejä, vaan joukossa on myös mm. penisillinaaseja ja karbapenemaaseja (79). ESBL-entsyymiperheistä yleisin on CTX-M (59,80,81)(45,52,53). AmpC- β -laktamaasi-entsyymiperheistä yleisin on CMY(59).

Entsyymiperheisiin kuuluvia entsyymejä koodaavat lukuisat geenit. ESBL- β -laktamaaseja koodaavat mm. *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-14} ja *bla*_{CTX-M-1}. Nämä resistenssigeenit jaetaan geeniryhmiin. Geenit *bla*_{CTX-M-1} ja *bla*_{CTX-M-15} esimerkiksi kuuluvat geeniryhmään CTX-M-1 (82).

1.15 Plasmidien luokittelu ja esiintyminen

Plasmidien luokitteluun käytetään inkompatibiliteettiryhmiä (Inc). Samassa bakteerisolussa ei voi olla useampia saman Inc-ryhmän plasmideja. Tutkimuksissa sekä eläimillä että ihmisillä on ollut ESBL/AmpC-geenejä IncF-, IncI1-, IncK-, IncA/C- ja IncN-ryhmien plasmideilla (59,77,83,84). Ihmisillä ESBL-geeneihin on yleisimmin liitetty plasmidiryhmä IncF ja erityisesti sen alaryhmä IncFII (59). Myös seuraeläimillä IncF-ryhmän plasmidit ovat yleisiä. Suomalaisilla koirilla on todettu ESBL/AmpC-geeniä IncK- ja IncI-ryhmän plasmideilla (85). Tuotantoeläimiltä on löydetty ESBL-AmpC-geenejä erityisesti plasmidiryhmistä IncI1, IncK ja IncN (77,83,84). Broilereilla plasmidien inkompatibiliteettiryhmät ovat jakautuneet geenien mukaan siten, että *bla*_{CTX-M-1}-geeniä kantavasta *E. colista* on löytenyt ryhmiin IncFII, IncFIB, IncFIC ja IncX1 kuuluvia plasmideja (85) ja *bla*_{CMY-2}-geeniä kantavasta IncK- ja IncB/O/K/Z-ryhmien plasmideja (71).

1.16 *E. colin* tyyppitys

Myös *E. colia* voidaan tyyppittää MLST-menetelmällä. Tyypillisimmät laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavan *E. colin* ST-tyypit vaihtelevat eri eläinlajeilla. Ihmisillä tyypillisimmät ovat ST131, ST405, ST10 ja ST38, tuotantoeläimillä ST10, ST88 ja ST68 (84) ja seuraeläimillä ST131, ST156 ja ST405. Eläimillä ja ihmisillä yleisiä ovat ST131, ST405 ja ST69 (59). Suomessa laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavien *E. colien* ST-tyyppejä on tutkittu eläimistä vain broilereista, joista on löytenyt mm. ST-tyyppejä ST373, ST1594 ja ST117 (71). Näistä ST117 todettiin yleisimmäksi avian pathogenic *E. coli*. (APEC) -tutkimuksessa (86). Sitä esiintyy myös muilla eläimillä ja ihmisillä (84).

1.17 Suojautuminen

Evira on laatinut ohjeet MRSA-tartunnan torjunnasta ja ehkäisystä eläimillä (87). Ohjeisiin on kirjattu sekä tavanomaiset varotoimet, joita tulee noudattaa kaikkien potilaiden kanssa että toimet MRSA-tartuntaa epäiltäessä tai tartunnan varmistuttua. Tavanomaiset varotoimet pätevät kaikkien tartuntojen ennaltaehkäisyssä. Klinikoilla ja eläinsairaaloilla saattaa olla omia hygieniaohjeistuksia.

Tutkimusten mukaan yksi tehokkaimmista keinoista vähentää zoonoottisia ja sairaalaperäisiä infektioita on käsihygienian noudattaminen (88). Suomalaisen MRSA-ohjeen (87) mukaan kädet tulee pestä vedellä ja saippualla, kun ne ovat näkyvästi likaantuneet tai niissä on eritetahroja. Kuivat kädet desinfioidaan riittävällä määrällä (2–3 ml) 70–80 prosenttista alkoholia sisältävää desinfektiohuuhdetta. Pelkkä desinfektiohuuhde riittää silloin, kun kädet eivät ole näkyvästi likaantuneet. Tutkimusten mukaan käsien pesulla poistetaan lika ja ympäristöstä peräisin olevat bakteerit käsistä, ja käsien desinfiointi poistaa normaalimikrobiston bakteereja ja vähentää hetkellisesti bakteerien jakautumista (88). Käsien pesua ja desinfiointia ei voi korvata

suojäkäsineiden käytöllä (87,89,90). Kädet tulee pestä ennen ja jälkeen potilaskontaktin, ennen toimenpiteitä, ennen suojäkäsineiden pukemista ja niiden riisumisen jälkeen, tilakäyntien välillä, WC-käynnin jälkeen, ennen ruokailua ja töihin tultaessa ja töistä lähdettäessä. Mikäli käsissä on ihovaurioita, käsitellään eritteitä, rikkiäistä ihoa, limakalvoja tai haavoja, käytetään suojäkäsineitä. Toimenpiteen aikana käsineillä käsitellään vain potilasta ja niillä varotaan saastuttamasta ympäristöä. (87)

Työssä tulee aina käyttää suojavaatetusta, joka tulee vaihtaa ja pestä riittävän usein. Tilakäynneillä tulee pyrkiä käyttämään tilojen tarjoamia varusteita. Tarpeen mukaan toimenpiteissä käytetään myös muita suojarusteita kuten muoviesiliinaa, suojäkäsineitä, suu-nenä-suojainta ja silmäsuojusta. Tutkimus- ja hoitovälineet joko puhdistetaan, desinfioidaan tai steriloidaan potilaiden tai tilakäyntien välillä. Ehjän ihon kanssa kosketuksissa olevat välineet pestään ja kuivataan, limakalvojen kanssa kosketuksissa olevat desinfioidaan. Limakalvot tai ihon läpäisevät välineet steriloidaan. (87)

2 Tutkimuksen tavoite

Tutkimushankkeen tavoitteena oli selvittää suomalaisten eläinlääkärien työperäistä altistumista zoonoottisille resistentille bakteereille. Eläinlääkäreistä otettiin näytteet MRSA-bakteerien ja ESBL-entsyymejä tuottavien bakteerien määrittämiseksi. Lisäksi kyselyn avulla kartoitettiin suomalaisten eläinlääkärien työssään noudattamia hygienia- ja suojautumiskäytäntöjä sekä moniresistenttien bakteerien kantajuudelle altistavia riskitekijöitä. Hankkeessa saadun tiedon avulla voidaan arvioida zoonoottisten bakteerien tartuntareittejä ja määritellä keinoja tartuntojen ehkäisemiseksi. Lisäksi tutkimuksen tulosten perusteella voidaan päätellä, onko tarpeellista tutkia myös muiden eläinten kanssa läheisessä kontaktissa työskentelevien ammattiryhmien kuten eläintilojen työntekijöiden, maatalouslomittajien, keinosiementäjien, eläinten hoitajien ja hevosalan työntekijöiden altistumista näille bakteereille.

3 Aineisto

Tutkimushanketta varten tehtiin tietosuojavaltuutetun rekisteri-ilmoitus, ja tutkimukselle myönnettiin Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin koordinoivan eettisen toimikunnan lupa (HUS/1446/2016). Tutkimuksen aineisto kerättiin valtakunnallisilla eläinlääkäripäivillä 30.11—2.12.2016. Tutkimuksesta tiedotettiin Suomen Eläinlääkärilehdessä ja eläinlääkäreiden sähköisissä tiedonjakokanavissa. Tutkimukseen kutsuttiin osallistumaan kaikkia eläinlääkäreitä, joilla oli ammatinharjoitusoikeus Suomessa sekä niitä eläinlääketieteen kandidaatteja, joilla oli tutkimushetkellä väliaikaiset oikeudet harjoittaa eläinlääkärin ammattia Suomessa. Väliaikaiset ammatinharjoitusoikeudet myönnetään 5. vuoden opintojen suorittamisen jälkeen, ja ne ovat voimassa kolme vuotta. Tutkimuksesta kiinnostuneet tutustuivat tutkimustiedotteeseen, jota oli saatavilla sekä suomeksi että ruotsiksi. Osallistuminen edellytti niin ikään kaksikielisen suostumuslomakkeen täyttämisen. Tutkimukseen osallistuneilla oli mahdollisuus vetäytyä tutkimuksesta kaikissa tutkimuksen vaiheissa. Sairaanhoitaja otti tutkimukseen osallistuneilta sierain- ja nielunäytteet kuljetuselatusaineputkiin (M-40 Transystem Amies agar gel, Copan Diagnostics, Brescia, Italia). Lisäksi tutkittavat ottivat itse peräsuolinäytteen kuljetuselatusaineputkeen ja palauttivat sen eläinlääkäripäivien aikana. Heitä pyydettiin täyttämään sähköinen kysely. Suostumuksen antamisen yhteydessä kukin tutkittava sai satunnaisen koodin, jolla näytteet ja kyselyvastaus voitiin yhdistää toisiinsa.

Sähköinen kysely toteutettiin Helsingin yliopiston e-lomakepalvelussa. Kysely oli jaettu kahdeksaan osaan: näytekoodi, näytteenantajan perustiedot, työolosuhteet, työkäytännöt, altistuminen vapaa-ajalla, terveydenhuoltoon liittyvät riskit, zoonoositietämys ja palaute. Kyselyä testasi ennen sen käyttöönottoa 14 eläinlääkärin ryhmä. Nämä eläinlääkärit eivät osallistuneet tutkimukseen. Vastausten pohjalta kyselyä yksinkertaistettiin ja muokattiin. Tämän jälkeen sitä testasi uudelleen muutaman eläinlääkärin ryhmä.

Kysely oli avoinna 30.11.16 -7.1.17. Sen saattoi täyttää joko eläinlääkäripäivien näyttelyosastolla tai omalla päätelaitteella. Vastausajan päättymisen jälkeen kysely avattiin vielä kahdesti vastaajille, jotka ilmoittivat sähköpostitse haluavansa vielä vastata. Uudelleen avaamisesta ei ilmoitettu laajemmin. Kyselyn sulkeutumisesta lähetettiin kaksi muistutussähköpostiviestiä kaikille tutkimukseen osallistuneille. Kyselyssä kysyttiin näytekoodi kahteen kertaan näppäilyvirheiden minimoimiseksi. Kyselyssä ei kysytty henkilötietoja, jotta se ei muodostaisi sähköistä rekisteriä.

Tutkimustulosta pyytäneille tulos postitettiin laboratorioanalyysien valmistuttua. Tutkimustulosta pyytäneille kantajille lähetettiin vastauskirjeen yhteydessä tietoa ESBL- tai MRSA-kantajuudesta ja yhteystiedot lisätietojen kysymistä varten.

4 Tulokset

Yhteensä 320 eläinlääkäriä ja eläinlääketieteen kandidaattia, joilla oli oikeus harjoittaa eläinlääkäriä ammattia Suomessa 30.11.2016, osallistui tutkimukseen allekirjoittamalla suostumuksen ja antamalla sierain- ja nielunäytteen. Peräsuolinäytteen palautti 296 osallistujaa. Kyselyyn vastasi 262 osallistujaa, joista 251 oli antanut sekä sierain- ja nielunäytteet että peräsuolinäytteen.

4.1 Mikrobiologiset tulokset

Nielu- ja sierainnäytteistä tehtyjen mikrobiologisten määritysten perusteella yhdeltä eläinlääkäriltä (0,3 %) löytyi MRSA-kanta. Kanta oli fenotyybiltään gram-positiivinen, koagulaasiposiivinen kokki ja API Staph™ -testin perusteella *S. aureus* / *S. pseudintermedius*. Kiekkoherkkyysmäärityksessä kanta oli kefoksitiiniresistentti mutta oksasilliiniherkkä, mikä osoitti sen olevan *S. aureus*. Genomitason analyysin perusteella kanta oli *S. aureus*, MLST-tyyppiä ST-398 ja spa-tyyppiä t011. Kannalta löydetyt resistenssigeenit ja niihin liitetyt antibioottiryhmät on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. MRSA-kannalta löydetyt resistenssigeenit ja niiden perusteella odotettu fenotyyppi. Taulukkoon on listattu kaikki antibioottiryhmät, joihin liitettyjä resistenssigeenejä testattiin. Jos geeniä ei löytynyt, on taulukossa viiva.

Antibiootti-ryhmä	Löydetyt geenit
Aminoglykosidit	<i>spc</i>
Beetalaktaamit	<i>blaZ</i> , <i>mecA</i>
Fenikolit	-
Fosfomysiinit	-
Fusidiinihappo	-
Glykopeptidit	-
Fluorokinolonit	<i>norA</i>
Kolistiinit	-
Makrolidit, linkosamidit ja Streptogramin B	<i>lnu(B)</i>
Nitroimidatsoli	-
Oksatsolidinoni	-
Rifampisiini	-
Sulfonamidit	-
Tetrasykliinit	<i>tet(K)</i> , <i>tet(M)</i>
Trimetopriimit	<i>dfrG</i>

Peräsuolinäytteistä yhdeksästä (3,0 %) löytyi 3. polven kefalosporiineille resistentti tai herkkydeltään alentunut *E. coli*. *K. pneumoniae* ei osoitettu. Näistä yhdeksästä kannasta kahdeksan oli fenotyypiltään ESBL-entsyymien tuottajia ja yksi ESBL- ja AmpC-entsyymien tuottaja. Genomitason määrittelyssä yhdeksältä kannalta löytyi ESBL-geeni ja yhdeltä AmpC-geeni. ESBL-tuottajista kuusi kantaa oli multiresistenttejä. Beetalaktaamiresistenssin lisäksi kannoilta löytyi resistenssigeenejä fluorokinoloneja, jotka on liitetty resistenssiin aminoglykosideja, sulfonamideja, tetrasykliinejä, trimetopriimiä, makrolideja, linkosamideja ja fenikoleja kohtaan. Yleisimpiä olivat resistenssigeenit sulfonamideille, aminoglykosideille ja tetrasykliineille.

Löydetyistä kannoista kolme edusti sekvenssityyppiä ST-131. Muut löydetyt sekvenssityypit olivat ST-10, ST-80, ST-450, ST-648, ST-871, ST-963, ST-1431, joita kutakin esiintyi yhdellä kannalla. ESBL-geeneistä yleisin oli *bla*_{CTX-M-15} (kolmella kannalla) ja toiseksi yleisimmät *bla*_{CTX-M-14} ja *bla*_{CTX-M-1} (kahdella kannalla). Muut löydetyt ESBL-geenit olivat *bla*_{CTX-M-27} ja *bla*_{SHV-12}. Löydetty AmpC-geeni oli *bla*_{CMY-76}.

Taulukko 2. Löydettyjen *Escherichia coli* -bakteerien plasmidit (91).

Kanta	Fenotyyppi	Plasmidit
EL24E	ESBL	<i>IncFII, IncFIA, IncX4, IncFIB, Col(BS512), Col156</i>
EL120E	ESBL	<i>IncB/O/K/Z, IncFIB, IncFII, IncFIA, Col156, Col(BS512), Col(KPHS6)</i>
EL158E	ESBL	<i>IncI1, IncFIB, IncFII</i>
EL216E	ESBL	<i>IncFII, IncFIA, IncFIB</i>
EL233E	ESBL	<i>IncFII, Col(BS512)</i>
EL245E	ESBL	<i>IncI1, IncFII, IncFIB, IncFIB</i>
EL256E	ESBL	<i>IncFII, IncFIB, IncY, IncB/O/K/Z</i>
EL259E	ESBL	<i>IncFII, IncR, IncY, IncX1</i>
EL298E	ESBL + AmpC	<i>IncFIA, IncFIB, IncFII</i>

4.2 Kyselyaineiston analyysin tulokset

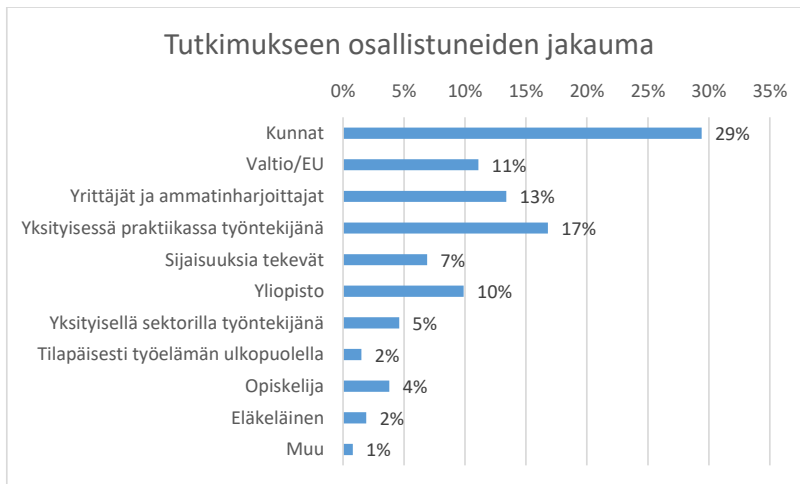
Tuloksissa käsitellään MRSA:ta kantanutta eläinlääkäriä ja ESBL/AmpC-*E. colia* kantaneita eläinlääkäreitä yhtenä ryhmänä, jotta yksittäistä kantajaa ei voi tunnistaa. Yhdeksästä kantajasta kyselyyn vastasi kahdeksan (0,03 % vastaajista). Tilastollisissa analyyseissä ei saatu merkitseviä eroja kantajien ja muiden vastaajien välille.

4.2.1 Eläinkontaktit työssä

Kyselyyn vastanneista 262:sta eläinlääkäristä 22 (8 %) ei ollut työssään kontaktissa eläviin eläimiin, eläinten ruuhoihin tai raatoihin eikä eläinperäisiin näytteisiin, eikä heidän tarvinnut vastata työkäytännöt osioon. Näin ollen työkäytännöt osioon vastasi 240 (92 %) eläinlääkäriä. Kyselyyn vastanneista kantajista kaikki olivat kontaktissa eläviin eläimiin.

4.2.2 Työnkuva

Kyselyyn vastanneista eläinlääkäreistä 200 (76,3 %) oli praktiikkatyössä. Tuotantoeläinpraktiikkaa teki 122 (46,6 %), hevospraktiikkaa 115 (43,9 %) ja pieneläinpraktiikkaa 184 (70,2 %). Kaikki kantajat tekivät praktiikkaa, mutta kukaan heistä ei tehnyt siipikarja-, turkiseläin- tai lammaspaktiikkaa. Kuvassa 2 on esitetty kyselyyn vastanneiden eläinlääkärien jakautuminen Suomen Eläinlääkäriliiton määrittelemien työnkuvien (vrt. Kuva 1) mukaan. Kantajista yksityisessä praktiikassa työntekijänä oli 4/9, yksityisellä sektorilla työntekijänä 2/9, kunnassa 2/9 ja yliopistolla 1/9.



Kuva 2. Tutkimukseen osallistuneiden sijoittuminen työelämään ja sen ulkopuolelle. Opiskelijoista tutkimukseen saivat osallistua vain väliaikaiset ammatinharjoitusoikeudet saaneet, kun taas Eläinlääkäriliittoon kuuluu kaikkien vuosikurssien opiskelijoita (vrt. Kuva 1).

4.2.3 Käsien peseminen

4.2.3.1 Praktikkojen käsienpeseminen ja käsienpesumahdollisuudet työssä

Kaikista tuotantoeläinpraktikoista suurin osa (66,9 %) arvioi käsienpesumahdollisuuksien olevan *usein* riittävät (lämmin vesi, saippua, puhdas pyyhe/käsipyyhe). Tallikäyntejä tekevistä hevospraktikoista suurin osa (47,2 %) arvioi ne *joskus* riittäviksi ja vain 22,2 % *usein* riittäviksi. Hevossairaaloissa ja pieneläinvastaanotoilla tai -sairaaloissa työskentelevien mielestä käsienpesumahdollisuudet olivat valtaosan mielestä *aina* riittävät (Taulukko 3).

Taulukko 3. Praktikkojen arviot käsienpesumahdollisuuksien riittävydestä (lämmin vesi, saippua, puhdas pyyhe/käsipyyhe) työpaikoillaan (92).

Praktikot (vastaus-%; n)	Vastausvaihtoehdot	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit
Kaikki tuotantoeläinpraktikot (96,7; 118)	Ei koskaan	0,0 (0,0–3,2)
	Harvoin	4,3 (1,8–9,5)
	Joskus	17,8 (1,9–25,7)
	Usein	66,9 (58,0–74,8)
	Aina	11,0 (6,6–17,9)
Tallikäyntejä tehneet hevospraktikot (100,0; 108)	Ei koskaan	2,8 (0,9–7,0)
	Harvoin	26,9 (19,4–35,4)
	Joskus	47,2 (38,1–56,6)
	Usein	22,2 (15,4–30,9)
	Aina	0,9 (0,2–5,1)
Hevosklinikalla töitä tehneet hevospraktikot (96,0; 24)	Ei koskaan	0,0 (0,0–13,8)
	Harvoin	0,0 (0,0–13,8)
	Joskus	0,0 (0,0–13,8)
	Usein	12,5 (4,3–31,0)
	Aina	87,5 (69,0–95,7)
Pieneläinpraktikot (98,9; 182)	Ei koskaan	0,0 (0,0–2,1)
	Harvoin	0,0 (0,0–2,1)
	Joskus	0,5 (0,1–3,0)

Praktikot (vastaus-%; n)	Vastausvaihtoehdot	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit
	Usein	6,0 (3,4–10,5)
	Aina	93,4 (88,8–96,2)

Käsien peseminen ennen potilaskontaktia ja -kontaktin jälkeen on esitetty taulukossa 4. Huomionarvoista on, että siinä missä 79,2 % hevossairaaloiden eläinlääkäreistä pesi kätensä *aina* ennen potilaskontaktia ja 87,5 % *aina* potilaskontaktin jälkeen, kiertävässä hevospraktiikassa näin toimi *aina* 3,8 % ja 7,6 % vastaajista. Sen sijaan vastaukset jakautuivat kiertävässä hevospraktiikassa varsin tasaisesti vaihtoehtojen *harvoin*, *joskus* ja *usein* välille. Ennen kontaktia suurin osa (37,7 %) pesi kätensä *joskus* ja kontaktin jälkeen 41 % *joskus* ja 35,2 % *usein*. Tuotantoeläinpraktikoista suurin osa (49,2 %) pesi kätensä *usein* ennen potilaskontaktia ja 90,7 % *usein* tai *aina* kontaktin jälkeen.

Taulukko 4. Praktikoiden käsien peseminen ennen kontaktia ja kontaktin jälkeen (92).

Praktikot	Kysymys (vastaus-%; n)	Vastausvaihtoehdot	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit
Kaikki tuotantoeläinpraktikot	Ennen kontaktia (96,7; 118)	Ei koskaan	3,4 (1,3–8,4)
		Harvoin	11,9 (7,2–18,9)
		Joskus	17,8 (11,9–25,7)
		Usein	49,2 (40,3–58,1)
		Aina	17,8 (11,9–25,7)
	Kontaktin jälkeen (96,7; 118)	Ei koskaan	0,0 (0,0–3,2)
		Harvoin	1,7 (0,5–6,0)
		Joskus	7,6 (4,1–13,9)
		Usein	57,6 (48,6–66,2)
		Aina	33,1 (25,2–42,0)
Tallikäyntejä tehneet hevospraktikot	Ennen kontaktia (98,1; 106)	Ei koskaan	3,8 (1,5–9,3)
		Harvoin	29,2 (21,4–38,5)
		Joskus	37,7 (29,1–47,2)
		Usein	25,5 (18,1–34,5)
		Aina	3,8 (1,5–9,3)
	Kontaktin jälkeen (97,2; 105)	Ei koskaan	1,9 (0,5–6,7)
		Harvoin	14,3 (8,9–22,2)
		Joskus	41,0 (32,0–50,5)
		Usein	35,2 (26,8–44,7)
		Aina	7,6 (3,9–14,3)
Hevosklinikalla töitä tehneet hevospraktikot	Ennen kontaktia (96,0; 24)	Ei koskaan	0,0 (0,0–13,8)
		Harvoin	0,0 (0,0–13,8)
		Joskus	4,2 (0,7–20,2)
		Usein	16,7 (6,7–35,9)
		Aina	79,2 (59,5–90,8)

Praktikot	Kysymys (vastaus-%; n)	Vastausvaihtoehdot	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit
	Kontaktin jälkeen (96,0; 24)	Ei koskaan	0,0 (0,0–13,8)
		Harvoin	0,0 (0,0–13,8)
		Joskus	4,2 (0,7–20,2)
		Usein	8,3 (2,3–25,8)
		Aina	87,5 (69,0–95,7)
Pieneläinpraktikot	Ennen kontaktia (97,3; 179)	Ei koskaan	0,0 (0,0–2,1)
		Harvoin	0,0 (0,0–2,1)
		Joskus	3,4 (1,5–7,1)
		Usein	14,0 (9,6–19,8)
		Aina	82,7 (76,5–87,5)
	Kontaktin jälkeen (96,7; 178)	Ei koskaan	0,0 (0,0–2,1)
		Harvoin	0,0 (0,0–2,1)
		Joskus	0,6 (0,1–3,1)
		Usein	10,7 (6,9–16,1)
		Aina	88,8 (83,3–92,6)

4.2.3.2 Tuotantoeläinpraktikoiden käsien peseminen ja desinfiointihuuhteen käyttö

Taulukossa 5 on esitetty tuotantoeläinpraktikoiden arviot käsien pesemisestä ja desinfiointihuuhteen käytöstä eri tilanteissa. Tuotantoeläinpraktikoista 55,1 % pesi kätensä *aina* ja 37,3 % *usein* kun ne likaantuivat. *Aina* ennen seuraavalle tilalle siirtymistä kätensä pesi 73,7 % tuotantoeläinpraktikoista. Desinfiointihuuhdetta käsien pesun jälkeen käytti *aina* 2,5 %, *usein* 20,3 % ja *ei koskaan* 17,8 %. Ennen seuraavalle tilalle siirtymistä 15,9 % käytti *aina* desinfiointihuuhdetta ja 17,7 % *usein* ja 14,2 % *ei koskaan*. Ennen suojakäsineiden pukemista 30 % tuotantoeläinpraktikoista pesi tai desinfioi kätensä *usein* ja 10 % *ei koskaan*. Riisumisen jälkeen vastaavat luvut olivat 43,7 % ja 2,5 %.

Taulukko 5. Tuotantoeläinpraktikkojen käsien peseminen ja desinfiointihuuhteen käyttö työssä (92).

Kysymys	Vastausvaihtoehdot		Desinfiointihuuhteen käyttö
	Vastaus-% (käsienvesu/desinfiointihuuhteen käyttö) (vastanneet/kokonaislkm)	Käsienvesu	
Käsienvesu kun käteni olivat likaiset/Desinfiointihuuhteen käyttö käsien pesun jälkeen	96,7/96,7 (118/122) ^a (118/122) ^b	Ei koskaan	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusväli 0,0 (0,0–3,2)
		Harvoin	17,8 (11,9–25,7)
		Joskus	35,6 (27,5–44,6)
		Usein	23,7 (17,0–32,2)
		Aina	20,3 (14,1–28,5)
Eläinten/Eläinryhmien välissä ^{a,b}	94,3/95,1 (115/122) ^a (116/122) ^b	Ei koskaan	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusväli 4,3 (1,9–9,8)
		Harvoin	34,5 (26,5–43,5)
		Joskus	30,2 (22,6–39,1)
		Usein	21,7 (15,2–30,1)
		Aina	25,9 (18,8–34,5)
Ennen seuraavalle tilalle siirtymistä ^{a,b}	93,4/92,6 (114/122) ^a (113/122) ^b	Ei koskaan	Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusväli 6,1 (3,0–12,0)
		Harvoin	14,2 (8,9–21,8)
		Joskus	25,7 (18,5–34,4)
		Usein	26,5 (19,3–35,4)
		Aina	17,7 (11,8–25,8)
			15,9 (10,3–23,8)

^aKäsien pesu, ^bDesinfiointihuuhteen käyttö

4.2.3.3 Kaikkien vastaajien arviot käsien pesuun käytetystä ajasta

Käsien pesuun käytetyn ajan arvioi 202 kyselyyn vastanneista eläinlääkäristä. Suurin osa (63,9 %) arvioi käyttävänsä käsien hieromiseen saippualla alle 15 sekuntia. Kantajien arvio käytetystä käsienpesuajasta oli 3,4 sekuntia alhaisempi kuin muiden vastaajien. Käsienpesuajat eivät olleet normaalisti jakautuneet eikä kantajien ja muiden eläinlääkärien arvioiden välillä todettu merkitsevää eroa ($p=0,745$). Myöskään eläinlääkäreiden valmistumisajankohdan ja käsienpesuajan välillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää yhteyttä. Poikkeavien havaintojen poistaminen ei muuttanut keskilukuja.

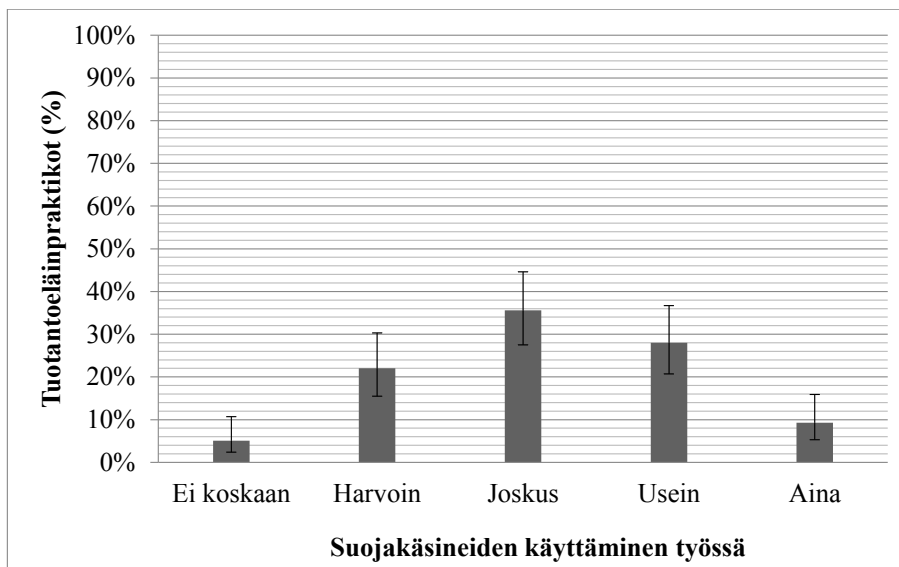
Taulukko 6. Kaikkien vastanneiden, ei-kantajien sekä kantajien käsienpesuaika-arvioiden keskiluvut kysymykseen käsienpesuaika-arviosta (92).

Keskiluvut	Kaikki (n=202)	Ei-kantajat (n=193)	Kantajat (n=9)
	Aika (s)	Aika (s)	Aika (s)
Keskiarvo	13,9	14,1	10,7
Mediaani	10,0	10,0	10,0
Moodi	10,0	5,0 ^a	10,0
Minimi	2	2	3
Maksimi	150	150	30
Vastaajia, %	100,0 (98,1–100,0) ^b	95,5 (91,8–97,6) ^b	4,5 (2,4–8,2) ^b

^a Sekä 5,0 s että 10,0 s esiintyivät yhtä usein (42 kpl). ^b 95 %:n luottamusvälit.

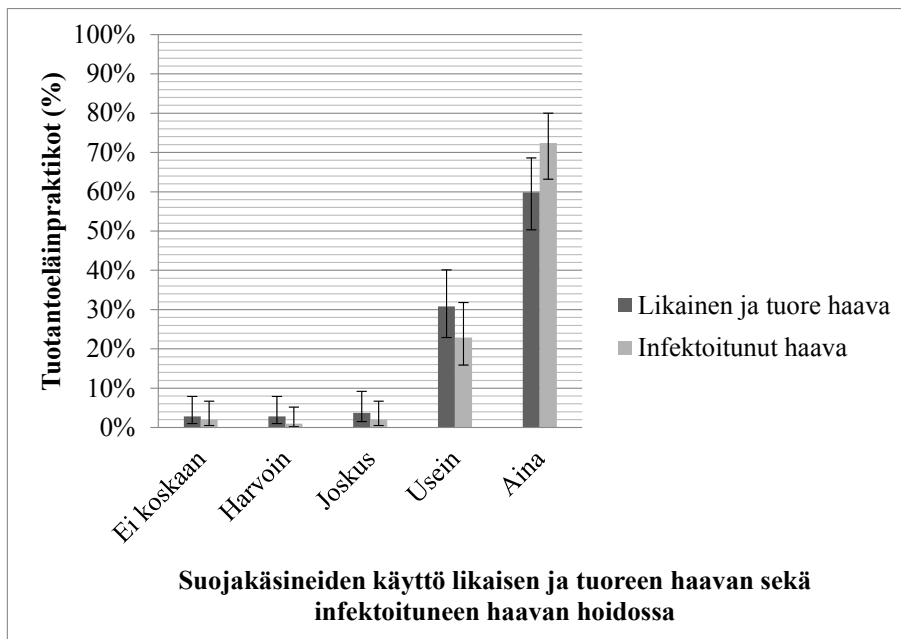
4.2.4 Tuotantoeläinpraktikoiden suojakäsineiden käyttö

Tuotantoeläinpraktikoista 9,3 % käytti aina suojakäsineitä työssään. Suurin osa (35,6 %) käytti suojakäsineitä joskus ja 5,1 % ei koskaan (Kuva 3).



Kuva 3. Tuotantoeläinpraktikkojen (n=118) suojakäsineiden käyttäminen työssä. Pylväiden viikset kuvaavat 95 %:n luottamusvälejä (92).

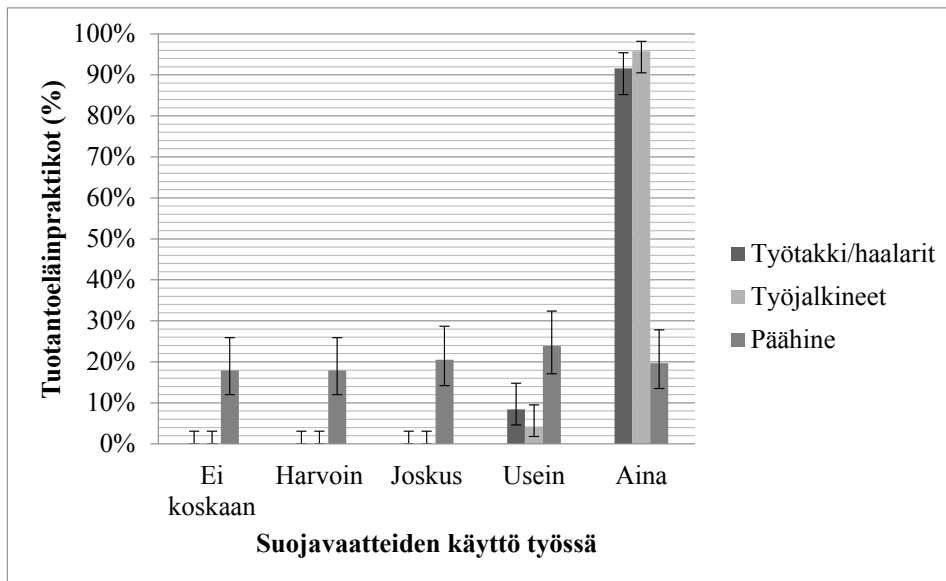
Likaista ja tuoretta haavaa hoitaessaan 59,8 % käytti *aina* suojakäsineitä, 2,8 % *ei koskaan*. Infektoitunutta haavaa hoitaessaan vastaavat osuudet olivat 72,4 % ja 1,9% (Kuva 4).



Kuva 4. Tuotantoeläinpraktikkojen suojakäsineiden käyttäminen likaisen ja tuoreen haavan (n=107) sekä infektoituneen haavan (n=105) hoidossa viimeisen 12 kuukauden aikana. Pylväiden viikset kuvaavat 95 %:n luottamusvälejä (92).

4.2.5 Tuotantoeläinpraktikoiden suojavaatteiden käyttö

Suurin osa tuotantoeläinlääkäreistä käytti työskennellessään *aina* työtakkia tai työhaalaria (91,6 %) ja työjalkineita (95,8 %). Päähineen käyttö jakautui hyvin tasaisesti kaikkiin vastausvaihtoehtoihin *usein* ollessa yleisin (23,9 %) (Kuva 5).



Kuva 5. Tuotantoeläinpraktikoiden työtakin tai -haalarin (n=119), työjalkineiden (n=119) ja päähineen käyttäminen (n=117) työssä. Pylväiden viikset kuvaavat 95 %:n luottamusvälejä (92).

4.2.6 Nauta- ja sikapraktikkojen hengityssuojaimen käyttö

Nautapraktiikassa työskennelleistä tuotantoeläinlääkäreistä 85,8 % *ei koskaan* käyttänyt hengityssuojainta. Sikapraktiikassa työskennelleistä vastaava luku oli 54,7 %. Kantajista nautapraktiikkaa tehneet neljä eläinlääkäriä eivät koskaan käyttäneet hengityssuojainta työskennellessään (Taulukko 7), sikapraktiikkaa tehneistä näin vastasi toimivansa yksi kolmesta (Taulukko 8) ja hevospraktiikkaa tehneistä kolme kolmesta.

Taulukko 7. Vuoden 2016 kyselylomakkeeseen vastanneiden kaikkien nautapraktiikkaa tehneiden, ei-kantajien (nautapraktikot) ja kantajien (nautapraktikot) hengityssuojainten käyttäminen nautapraktiikassa (92).

Vastausvaihtoehdot	Kaikki ^a Nautapraktikot	Ei-kantajat ^b (Nautapraktikot)	Kantajat (Nautapraktikot)
Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit			
Ei koskaan	85,8 (78,2–91,1)	85,3 (77,5–90,8)	4/4
Harvoin	8,8 (4,9–15,5)	9,2 (5,1–16,1)	
Joskus	3,5 (1,4–8,7)	3,7 (1,4–9,1)	
Usein	0,9 (0,2–4,8)	0,9 (0,2–5,0)	
Aina	0,9 (0,2–4,8)	0,9 (0,2–5,0)	

^a Vastaus-% ja vastanneet/kokonaislkm: 99,1 % ja 113/114, ^b Vastaus-% ja vastanneet/kokonaislkm: 99,1 % ja 109/110

Taulukko 8. Vuoden 2016 kyselylomakkeeseen vastanneiden kaikkien sikapraktiikkaa tehneiden, ei-kantajien (sikapraktikot) ja kantajien (sikapraktikot) hengityssuojainten käyttäminen sikapraktiikassa (92).

Vastausvaihtoehdot	Kaikki ^a Sikapraktikot	Ei-kantajat ^b (Sikapraktikot)	Kantajat (Sikapraktikot)
Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit			
Ei koskaan	54,7 (43,4–65,4)	55,6 (44,1–66,5)	1/3
Harvoin	17,3 (10,4–27,4)	18,1 (10,9–28,5)	

Joskus	12,0 (6,4–21,3)	9,7 (4,8–18,7)	2/3
Usein	13,3 (7,4–22,8)	13,9 (7,7–23,7)	
Aina	2,7 (0,7–9,2)	2,8 (0,8–9,6)	

^a Vastaus-% ja vastanneet/kokonaislkm: 97,4 % ja 75/77, ^b Vastaus-% ja vastanneet/kokonaislkm: 97,3 % ja 72/74

4.2.7 Tuotantoeläinpraktikoiden työvälineiden puhdistaminen

Tuotantoeläinpraktikoista puhdistivat tai vaihtoivat puhtaisiin tilakäyntien välissä suojatakin tai -haalarin 89,7 %, kumisaappaat 82,9 %, turvakengät 53,1 % ja muut eläinkontaktissa olleet välineet 48,2 %. Praktiikkalaukun puhdisti ulkopuolelta 58,8 % ja sisällön osalta 82,3 % harvemmin kuin kerran viikossa. Suurin osa eli 34,8% puhdisti stetoskoopinsa viikoittain, mutta ei päivittäin. Harvemmin kuin kerran viikossa stetoskoopin puhdisti 28,7 % tuotantoeläinpraktikoista. (Taulukko 9)

Taulukko 9. Vuoden 2016 kyselylomakkeeseen vastanneiden tuotantoeläinpraktikkojen ja kantajien muuhun kuin klinikalla tai vastaanotolla liittyvien työvälineiden puhdistaminen (92).

Työväline	Vastausvaihtoehdot	Tuotantoeläinpraktikot	Kantajat
(Vastaus-%; n)		Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit	Osuus vastanneista
Suojatakki tai- haalarit (95,1; 116)	Harvemmin kuin kerran viikossa	0,0 (0,0–3,2)	
	Viikoittain, mutta ei päivittäin	4,3 (1,9–9,7)	1/5
	Kerran päivässä	3,4 (1,3–8,5)	1/5
	Tilakäyntien välissä	89,7 (82,8–94,0)	3/5
Kumisaappaat (95,9; 117)	Harvemmin kuin kerran viikossa	0,0 (0,0–3,2)	
	Viikoittain, mutta ei päivittäin	0,9 (0,2–4,7)	
	Kerran päivässä	3,4 (1,3–8,5)	
	Tilakäyntien välissä	82,9 (75,1–88,7)	5/5
Turvakengät (80,3; 98)	Harvemmin kuin kerran viikossa	17,3 (11,1–26,0)	
	Viikoittain, mutta ei päivittäin	14,3 (8,7–22,6)	1/3
	Kerran päivässä	9,2 (4,9–16,5)	
	Tilakäyntien välissä	53,1 (43,3–62,6)	2/3
Praktiikkalaukku (ulkoa) (93,4; 114)	Harvemmin kuin kerran viikossa	58,8 (49,6–67,4)	3/5
	Viikoittain, mutta ei päivittäin	24,6 (17,6–33,2)	1/5
	Kerran päivässä	8,8 (4,8–15,4)	
	Tilakäyntien välissä	7,9 (4,2–14,3)	1/5
Praktiikkalaukku (sisältö) (92,6; 113)	Harvemmin kuin kerran viikossa	82,3 (74,2–88,2)	4/5
	Viikoittain, mutta ei päivittäin	12,4 (7,5–19,7)	1/5
	Kerran päivässä	4,4 (1,9–9,9)	
	Tilakäyntien välissä	0,9 (0,2–4,8)	
Stetoskooppi (94,3; 115)	Harvemmin kuin kerran viikossa	28,7 (21,2–37,5)	2/4
	Viikoittain, mutta ei päivittäin	34,8 (26,7–43,9)	2/4
	Kerran päivässä	14,8 (9,40–22,4)	
	Tilakäyntien välissä	18,3 (12,3–26,3)	
	Eläinten/eläinryhmien välissä	3,5 (1,4–8,6)	
Muut eläinkontaktissa	Harvemmin kuin kerran viikossa	14,5 (9,2–22,3)	

Työväline	Vastausvaihtoehdot	Tuotantoeläinpraktikot	Kantajat
(Vastaus-%; n)		Prosentit (%) ja 95 %:n luottamusvälit	Osuus vastanneista
olleet välineet (90,2; 110)	Viikoittain, mutta ei päivittäin	18,2 (12,1–26,4)	2/5
	Kerran päivässä	11,8 (7,0–19,2)	
	Tilakäyntien välissä	48,2 (39,1–57,4)	3/5
	Eläinten/eläinryhmien välissä	7,3 (3,7–13,7)	

4.2.8 Vastaajien eläinkontaktit työssä ja vapaa-ajalla

Vastanneista eläinlääkäreistä eläinkontakteja vapaa-ajalla oli 98,1 %:lla eläinlääkäreistä. Tuotantoeläimistä eläinlääkärit olivat eniten kontaktissa nautoihin sekä työssään (26,3 %) että vapaa-ajalla (11,6 %). Vähiten kontaktia oli turkiseläimiin, työssä 3,5 %:lla ja vapaa-ajalla ei kenelläkään (Taulukko 10).

Taulukko 10. Kaikkien kyselylomakkeeseen vastanneiden eläinlääkäreiden tuotantoeläinkontaktit praktiikassa ja vapaa-ajalla (92).

Tuotantoeläin	Vaihtoehdot	Kaikki vastanneet ^a	Ei-kantajat ^c	Kantajat
(Vastaus-%; n)		Lukumäärä (n); prosentti (%) ja 95 %:n luottamusvälit		Osuus kantajista
Nauta (98,9; 259) ^a	Ei kontaktia	115; 44,4 (38,5–50,5)	111; 44,4 (38,4–50,6)	4/9
	Kontakti praktiikassa	68; 26,3 (21,3–31,9)	67; 26,8 (21,7–32,6)	1/9
	Kontakti vapaa-ajalla	30; 11,6 (8,2–16,1)	29; 11,6 (8,2–16,2)	1/9
	Kontakti molemmissa	46; 17,8 (13,6–22,9)	43; 17,2 (13,0–22,4)	3/9
Sika (98,5; 258) ^a	Ei kontaktia	170; 65,9 (59,9–71,4)	165; 66,3 (60,2–71,9)	5/9
	Kontakti praktiikassa	61; 23,6 (18,9–29,2)	59; 23,7 (18,8–29,4)	2/9
	Kontakti vapaa-ajalla	11; 4,3 (2,4–7,5)	10; 4,0 (2,2–7,2)	1/9
	Kontakti molemmissa	16; 6,2 (3,9–9,8)	15; 6,0 (3,7–9,7)	1/9
Siipikarja (98,1; 257) ^a	Ei kontaktia	186; 72,4 (66,6–77,5)	179; 72,2 (66,3–77,4)	7/9
	Kontakti praktiikassa	29; 11,3 (8,0–15,7)	29; 11,7 (8,3–16,3)	0/9
	Kontakti vapaa-ajalla	25; 9,7 (6,7–14,0)	23; 9,3 (6,3–13,5)	2/9
	Kontakti molemmissa	17; 6,6 (4,2–10,3)	17; 6,9 (4,3–10,7)	0/9
Turkiseläin (98,5; 258) ^a	Ei kontaktia	247; 95,7 (92,5–97,6)	238; 95,6 (92,3–97,5)	9/9
	Kontakti praktiikassa	9; 3,5 (1,8–6,5)	9; 3,6 (1,9–6,7)	0/9
	Kontakti vapaa-ajalla	0; 0,0 (0,0–1,5)	0; 0,0 (0,0–1,5)	0/9
	Kontakti molemmissa	2; 0,8 (0,2–2,8)	2; 0,8 (0,2–2,9)	0/9
Lammas (84,0; 220) ^{a,b}	Ei kontaktia	193; 87,7 (82,7–91,4)	186; 87,3 (82,2–91,1)	7/7
	Kontakti praktiikassa	22; 10,0 (6,7–14,7)	22; 10,3 (6,9–15,1)	0/7
	Kontakti vapaa-ajalla	4; 1,8 (0,7–4,6)	4; 1,9 (0,7–4,7)	0/7
	Kontakti molemmissa	1; 0,5 (0,1–2,5)	1; 0,5 (0,1–2,6)	0/7

^aKaikki eläinlääkärit, jotka vastasivat kysymykseen työnkuvasta ja vapaa-ajan kontaktista kyseisen eläinlajin osalta. ^b220/262 eläinlääkäreitä vastasi kysymykseen muusta tuotantoeläinkontaktista (lammas) vapaa-ajalla. Lammaspraktiikkaa tehneistä eläinlääkäreistä (n=31) kahdeksan (8) ei vastannut kysymykseen lammaskontaktista (muu tuotantoeläinkontakti) vapaa-ajalla, minkä takia heitä ei ole mukana taulukossa. ^cKaikkien vastanneiden lukumäärästä on vähennetty kysymykseen vastanneiden kantajien lukumäärä.

4.2.9 Eläinlääkärien altistuminen vapaa-ajalla

Kysymykseen vastanneista 260 eläinlääkäristä 16,2 % asui eläintilalla. Kantajista kukaan ei asunut eläintilalla. Vastaajista 6,9 % asui samassa taloudessa lääkärin, hammaslääkärin tai sairaanhoitajan kanssa ja 10,3 % eläinlääkärin tai eläintenhoitajan. Maanviljelijän tai muun eläinten parissa työssään toimivan kanssa jakoi taloutensa 9,2 %.

Viimeisen kahden kuukauden aikana 87,8 % vastanneista oli matkustanut Suomen ulkopuolelle. Vastaajista 51,1 % oli matkustanut Pohjoismaihin, mikä oli suosituin matkakohde. Kaikki kantajat olivat matkustaneet Suomen ulkopuolelle. Kantajien suosituimmat matkakohteet olivat Keski-Eurooppa (7/9) ja Pohjoismaat (6/9). Lisäksi kantajat olivat matkustaneet Baltian maihin (4/9), Etelä-Eurooppaan (3/9) ja Etelä-Amerikkaan (1/9) (Taulukko 11).

Taulukko 11. Kaikkien kyselylomakkeeseen vastanneiden eläinlääkäreiden matkustuskohteet (92).

Matkustuskohteet	Kaikki (n=262; 100,0 %)	Ei-kantajat (n=253, 100,0 %)	Kantajat (n=9; 100,0 %)
Prosentit ja 95 %:n luottamusvälit			
Pohjoismaat	51,1 (45,1–57,1)	50,6 (44,5–56,7)	6/9
Baltian maat	35,5 (29,9–41,5)	35,2 (29,6–41,2)	4/9
Keski-Eurooppa	45,0 (39,1–51,1)	43,9 (37,9–50,0)	7/9
Etelä-Eurooppa	36,3 (30,7–42,2)	36,4 (30,7–42,5)	3/9
Itä-Eurooppa	8,4 (5,6–12,5)	8,7 (5,8–12,8)	0/9
Aasia	13,7 (10,1–18,4)	14,2 (10,5–19,1)	0/9
Pohjois-Amerikka	5,3 (3,2–8,8)	5,5 (3,3–9,1)	0/9
Väli-Amerikka	1,5 (0,6–3,9)	1,6 (0,6–4,0)	0/9
Etelä-Amerikka	1,5 (0,6–3,9)	1,2 (0,4–3,4)	1/9
Afrikka	1,5 (0,6–3,9)	1,6 (0,6–4,0)	0/9
Australia ja Oseania	1,1 (0,4–3,3)	1,2 (0,4–3,4)	0/9
Ei matkustusta ulkomaille	12,2 (8,8–16,7)	12,6 (9,1–17,3)	0/9

4.2.10 Terveydenhuoltoon liittyvät riskitekijät suomalaisilla eläinlääkäreillä

Taulukkoon 12 on koottu tulokset terveydenhuoltoon liittyvien riskitekijöiden osalta. Vastaajista kenelläkään ei ollut aiemmin todettu MRSA- tai ESBL-bakteeria. Viimeisen 12 kk:n aikana sairaalahoitossa Suomessa oli ollut 12,2 % vastaajista ja ulkomaille 0,8 %. Viimeisen kuuden kuukauden aikana antibioottikuurin oli saanut 34,9 % vastaajista.

Taulukko 12. Kaikkien kyselyyn vastanneiden eläinlääkäreiden terveydenhuoltoon liittyvät riskitekijät (92).

Terveydenhuoltoon liittyvät riskitekijät (Vastaus-%; n)		Lukumäärä (n); prosentti (%) ja 95 %:n luottamusvälit
Samaan talouteen kuuluvan ammatti	Terveydenhuoltoalan ammattilainen (262; 100)	18; 6,9 (4,4-10,6)
Sairaalahoito viimeisen 12 kk:n aikana	Suomessa (262; 100)	32; 12,2 (8,8-16,7)
	Ulkomailla (262; 100)	2; 0,8 (0,2-2,7)
Krooninen immunosuppressiivinen sairaus	(261; 99,6)	7; 2,7 (1,3-5,4)
Antibioottikuuri	Viimeisen kuukauden aikana (241; 92,0)	16; 6,6 (4,1-10,5)
	Viimeisen kuuden kuukauden aikana (249; 95,0)	87; 34,9 (29,3-41,0)
Aiemmin todettu MRSA-/ESBL-bakteerikantajuus tai infektio	(262; 100)	0; 0,0 (0,0-0,0)

5 Johtopäätökset ja tulosten hyödynnettävyys

MRSA:n esiintyvyys suomalaisilla eläinlääkäreillä on tämän tutkimuksen perusteella alhainen. Tutkimukseen osallistuneista 320 eläinlääkäristä yhdeltä osoitettiin MRSA-kanta eli esiintyvyys on 0,3 %. Tämä on linjassa oletetun normaaliväestön kantajuustason kanssa. Suomessa ei ole tehty tutkimuksia normaaliväestön MRSA-kantajuudesta. Saksassa MRSA-kantajuudeksi normaaliväestössä saatiin tuoreessa tutkimuksessa 0,7 % (13), mutta Saksassa MRSA:n osuus seulonta- ja infektionäytteissä on Suomea huomattavasti korkeampi. *spa*-tyypin ja resistenssiprofiilinsa perusteella tässä tutkimuksessa todettu kanta on tuotantoeläinperäinen. Samankaltaisia kantoja on Suomessa aiemmin löydetty sioilta (93). Suomalaisilta eläinlääkäreiltä tutkittiin edellisen kerran MRSA:ta vuonna 2009 (43). On huojentavaa todeta, ettei MRSA:n esiintyvyys eläinlääkäreillä ole noussut yhtä korkeaksi kuin joissain muissa Euroopan maissa, vaikka MRSA CC398:n esiintyvyys sioilla on tutkimusten perusteella noussut huomattavasti vuodesta 2009. Tutkimus ei kuitenkaan kerro, onko tämä seurausta suomalaisten eläinlääkärien paremmasta suojautumisesta tai siitä, että heillä on vähemmän kontakteja MRSA-positiivisiin tuotantoeläimiin. Löydös onkin syytä ottaa vakavasti. LA-MRSA:n esiintyvyys suomalaisissa sioissa on lisääntynyt vasta viime vuosina lähelle Hollannin ja Saksan tasoa. Tutkimukset korkean LA-MRSA-tason maista viittaavat siihen, että esiintyvyyden lisääntyminen sioilla lisää myös MRSA:n esiintyvyyttä sikojen parissa työskentelevillä ihmisillä. Näiden ihmisten kautta bakteeri voi levitä edelleen terveydenhuoltoon. Tarvitaan lisää tutkimustietoa sikojen kolonisaatiosta Suomessa, sikaloissa työskentelevien ihmisten altistumisesta tiloilla ja suojautumiskeinoista sikaloissa, jotta bakteerin leviämistä voidaan ehkäistä.

Tämä on ensimmäinen tutkimus, jossa laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavien enterobakteerien kantajuutta on tutkittu eläinlääkäreiltä. Suomessa ei myöskään ole aiemmin tutkittu terveen aikuisväestön kantajuutta β -laktamaaseja tuottavien enterobakteerien suhteen. Suomalaisilla eläinlääkäreillä esiintyvyys oli tässä tutkimuksessa 3 % (9/297), mikä vastaa pohjoismaisissa tutkimuksissa saatua normaaliväestön kantajuutta, mutta on eurooppalaisiin tutkimuksiin verrattuna matala. Suomen tason voidaan arvioida vastaavan pohjoismaisissa tutkimuksissa todettua n. 5 %:n esiintyvyyttä (61,62). Tutkimuksen tulos on mielenkiintoinen, sillä sen perusteella laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavien enterobakteerien kantajuus ei ole normaaliväestöä korkeampi. Hypoteesimme oli, että eläinlääkäreillä olisi normaaliväestöä enemmän näitä bakteereja, koska eläinlääkärit ammattikuntana ovat paljon kontaktissa erilaisiin eläimiin sen lisäksi että heitä koskevat tavanomaiset riskitekijät kuten matkailu ja antibioottien käyttö. Vastaavia tuloksia saatiin hollantilaistutkimuksessa, jossa sikateurastamon työntekijöiden kantajuus vastasi normaaliväestön kantajuutta. Kyseisessä tutkimuksessa kuitenkin työtehtävällä oli vaikutusta kantajuuteen ja kantajuus oli korkeampaa ryhmässä, jossa työntekijöillä oli korkea eläinperäinen altistustaso (83). Koska meidän tutkimuksessamme eläinlääkäreiden altistustasot ovat hyvin erilaiset työnkuvasta riippuen, voi tämä vaikuttaa tuloksiin. Tämän tutkimuksen perusteella on myös mahdotonta sanoa, vaikuttavatko hygieniakäytännöt ja suojautuminen kantajuuteen.

Tässä tutkimuksessa eristetyt laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavat *E. coli* -kannat vastasivat genomitason analyysien perusteella sekä ihmisistä että eläimistä aiemmin eristettyjä kantoja. Kantojen eläinperäisyyttä on vaikeaa arvioida, koska aiempien tutkimusten perusteella ei ole pystytty toteamaan tiettyjen kantojen olevan puhtaasti ihmis- tai eläinperäisiä. Kantojen yleisyyden perusteella arvioiden suomalaisessa eläinlääkäripopulaatiossa havaituista kannoista suurin osa vastasi yleisesti terveistä ihmisistä eristettyjä ESBL-*E. coli*-kantoja, sillä niistä löytyi ESBL-geenit *bla*_{CTX-M-15} ja *bla*_{CTX-M-14}, IncFII-plasmidit sekä ST-tyyppi 131 (59,77,84,94-96). Kaksi eläinlääkäriä kantoi ESBL-*E. coli*a, jolla oli *bla*_{CTX-M-1}-geeni ja IncI1-plasmidi, jota on useissa tutkimuksissa todettu eläimillä (68,69,71,77,83,84,94,97-99). Yhdestä eläinlääkäristä osoitettu *bla*_{CTX-M-27}-geeniä kantava *E. coli* on aiemmissa tutkimuksissa todettu saman talouden koirissa ja ihmisissä (100). Varsinaisia seuraeläinperäisiä kantoja ei ulkomaisissa tutkimuksissa ole pystytty osoittamaan, vaan seuraeläimiltä on löydetty ihmisreservoariin liitettyjä kantoja (78).

Tutkimuksessa löydettyistä ESBL- *E. coli* -kannoista 67 % ja löydetty MRSA-kanta ovat moniresistenttejä eli niiltä löytyy resistenssi ainakin kolmea eri mikrobilääkeryhmää kohtaan. ESBL/AmpC-*E. coli*-kannoilla yleisimmät resistenssigeenit olivat sulfonamidit, aminoglykosidit ja tetrasykliinit. Kahdelta eläinlääkäriltä eristetyt IncI1-plasmidia ja *bla*_{CTX-M-1}-geeniä kantavat *E. coli* -kannat olivat genotyypillisesti resistenttejä myös sulfonamideille ja tetrasykliineille. Tämä tukee teoriaa kantojen eläinperäisyydestä, koska sulfonamidit ja tetrasykliinit ovat suomalaisilla tuotantoeläimillä yleisesti käytettyjä mikrobilääkkeitä (101) ja ihmisistä eristetyt multiresistentit ESBL-*E.coli*t ovat Suomessa yleisimmin resistenttejä fluorokinoloneille, aminoglykosideille ja trimetopriimeille (63). MRSA-kannalla oli resistenssigeenit, jotka on liitetty aminoglykosidi-, fluorokinoloni-, linkosamidi-, tetrasykliini- ja trimetopriimiresistenssiin. Nämä ovat tyypillisiä MRSA CC398:lla esiintyviä resistenssigeenejä.

On huojentavaa, ettei tutkimuksessa löytyneistä *E. coli* -kannoista yksikään ollut karbapeneemille tai kolistiinille resistentti. Vuonna 2015 Suomessa todettiin kahdesta koirasta karbapeneemille resistentti *E. coli* (76,102) ja vuonna 2017 Venäjältä tuodulta koiralta kolistiiniresistentti *E. coli* (103). Suomessa näitä lääkkeitä ei käytetä eläimillä (48,104). On kuitenkin hyvä pitää mielessä, että Suomen tilanne voi muuttua nopeasti ihmis- ja eläinliikenteen myötä. Myös tuontielintarvikkeet voivat toimia välittäjinä.

Yhteenvetona voidaan todeta, että aiempien tutkimusten valossa löytnyt MRSA-kanta on hyvin suurella todennäköisyydellä tuotantoeläinperäinen. ESBL-kantojen osalta tuotantoeläinperäisyyttä ei voida osoittaa, koska suomalaisten eläinten ja ihmisten ESBL-kantojen tyypillisiä ominaisuuksia on tutkittu liian vähän. Lisäksi näiden kantojen epidemiologia on kaiken kaikkiaan niin moniulotteista, että pitäviä todisteita siirtymisestä eläimistä ihmisiin on vaikea saada.

Tämän tutkimuksen perusteella suomalaiset eläinlääkärit eivät kannata enempää moniresistenttejä bakteereja kuin normaaliväestökään. Tämä on kuitenkin ensimmäinen kerta, kun MRSA CC398-kanta todetaan suomalaiselta eläinlääkäriltä, joten tartunnan mahdollisuus tulee huomioida eläinlääkärien ammatillisena riskinä. Lisäksi moniresistenttien bakteereja todetaan yhä enenevässä määrin niin eläimistä kuin ihmisistä, joten tartunnan riskikin voi tulevaisuudessa olla entistä suurempi.

Eläinkontaktien lisäksi merkittäviä moniresistenttien bakteerien riskitekijöitä ovat mm. ulkomaanmatkailu, sairaalahoito erityisesti ulkomailla ja antibioottikuurit (2-4). Kyselyvastausten perusteella eläinlääkärit altistuvat näille riskitekijöille siinä missä muukin väestö. Ulkomaanmatkailu on myös eläinlääkärien keskuudessa yleistä. Viimeisen 6 kk:n aikana antibioottikuurilla oli ollut 34,9 % vastaajista, mikä on lähellä normaaliväestön antibioottien käyttöä. Vuonna 2016 toteutetun Eurobarometri-kyselyn mukaan 31 % suomalaisista oli ollut antibioottikuurilla viimeisen vuoden aikana (105).

Kyselyvastausten perusteella suomalaiset eläinlääkärit huolehtivat käsihygieniasta erityisesti sairaala- ja vastaanotto-olosuhteissa hyvin. Sen sijaan tila- ja talliolosuhteissa hygienia on usein puutteellista. Talleilla käsiinpesumahdollisuudet arvioitiin riittämättömiksi, joten tämä selittää varmasti osin tuloksia. Olisi tärkeää selvittää jatkotutkimuksissa, mitkä muut tekijät vaikuttavat siihen, että siinä missä 91,7 % eläinlääkäreistä pesi kätensä *usein* tai *aina* eläinkontaktin jälkeen tuotantoeläimiä hoitaessaan hevosten kanssa työskennellessään näin toimi vain 42,8 % vastaajista. Tuotantoeläinten kanssa työskentelevistä vain 2,5 % käytti desinfiointihuuhdetta *aina* pestyään kätensä ja 20,3 % *usein*. Ennen seuraavalle tilalle siirtymistä 15,9 % käytti *aina* desinfiointihuuhdetta ja 17,7 % *usein*. Desinfiointihuuhdetta on todennäköisesti harvalla tilalla tarjolla, joten eläinlääkärien olisi hyvä itse pitää mukanaan desinfiointihuudepulloa. Kiertävässä praktiikassa toimivien eläinlääkäreiden käsihygienian parantamiseksi olisi myös tärkeää selvittää, ajattelevatko eläinlääkärit suojautuessaan enemmän eläinten ja tilojen välisten tartuntojen estämistä kuin estävänsä zoonosien tarttumista itseensä. Oli lähtökohta mikä tahansa, myös suojavaatteiden ja työvälineiden puhtaanapidossa on selvästi parantamisen varaa. Moniresistentit bakteerit ja monet muut taudinaiheuttajat leviävät myös likaisten välineiden kautta sekä eläimestä toiseen ja tilalta toiselle että eläimistä ihmisiin. Tässä valossa se, että suurin osa tuotantoeläinten kanssa työskennelleistä eläinlääkäreistä

puhdisti eläimen kylkeen painettavan stetoskoopin harvemmin kuin kerran päivässä on huolestuttavaa. Tärkeimmät kehityskohteet on koottu kuvaan 6.

- käsienpesu käsien likaantuessa ja ennen eläinkontaktia/eläinryhmää ja sen jälkeen
- riittävän pitkä käsienpesuaika: käsien hierominen saippualla 15-20 sekunnin ajan ja koko käsienpesun kesto 40-60s
- desinfiointihuuhteen käyttö tuotantoeläinpraktiikassa työskennellessä
- käsien desinfiointi ennen ja jälkeen kertakäyttöisten suojahansikkaiden pukemista
- suojakäsineiden käyttö aina haavoja käsiteltäessä
- eläinkontaktissa olleiden välineiden ja erityisesti stetoskoopin puhdistus eläinten/ tilakäyntien välillä
- riittävät käsienpesumahdollisuudet asiakastiloilla ja erityisesti hevostalleilla

Kuva 6. Eläinlääkärien koulutuksessa, jatkokoulutuksessa ja asiakasviestinnässä huomioitavia kehityskohteita.

6 Lähteet

- (1) Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases* 2013;13(12):1057-1098.
- (2) Khawaja T, Kirveskari J, Johansson S, Väisänen J, Djupsjöbacka A, Nevalainen A, et al. Patients hospitalized abroad as importers of multiresistant bacteria—a cross-sectional study. *Clinical Microbiology and Infection* 2017.
- (3) Kantele A, Mero S, Kirveskari J, Laaveri T. Fluoroquinolone antibiotic users select fluoroquinolone-resistant ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) - Data of a prospective traveller study. *Travel Med Infect Dis* 2017;16:23-30.
- (4) Arcilla MS, van Hattem JM, Haverkate MR, Bootsma MCJ, van Genderen, Perry JJ, Goorhuis A, et al. Import and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. *The Lancet Infectious Diseases* 2017;17(1):78-85.
- (5) Vandendriessche S, Vanderhaeghen W, Soares FV, Hallin M, Catry B, Hermans K, et al. Prevalence, risk factors and genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carried by humans and animals across livestock production sectors. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(7):1510-1516.
- (6) Suomen Eläinlääkäriliitto. Laillistettujen laajaa osaamista. <https://www.sell.fi/elainlaakar-in-ammatti>, haettu 21.3.2018.
- (7) Suomen Eläinlääkäriliitto. Suomen eläinlääkärit. www.sell.fi/ammattina_elainlaakari, haettu 16.2.2017.
- (8) Cuny C, Köck R, Witte W. Livestock associated MRSA (LA-MRSA) and its relevance for humans in Germany. *International Journal of Medical Microbiology* 2013;303(6–7):331-337.
- (9) Huijbers PMC, Graat EAM, Haenen APJ, van Santen MG, van Essen-Zandbergen A, Mevius DJ, et al. Extended-spectrum and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics. *J Antimicrob Chemother* 2014;69(10):2669-2675.
- (10) Jevons MP, Coe AW, Parker MT. Methicillin resistance in *Staphylococci*. *Lancet* 1963;281(7287):904-907.
- (11) Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983;11(6):315-317.
- (12) Vanderhaeghen W, Hermans K, Haesebrouck F, Butaye P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food production animals. *Epidemiol Infect* 2010 May;138(5):606-625.
- (13) Köck R, Werner P, Friedrich AW, Fegeler C, Becker K, Prevalence of Multiresistant Microorganisms (PMM) Study Group, et al. Persistence of nasal colonization with human pathogenic bacteria and associated antimicrobial resistance in the German general population. *New Microbes New Infect* 2015 Dec 1;9:24-34.

- (14) Gamblin J, Jefferies JM, Harris S, Ahmad N, Marsh P, Faust SN, et al. Nasal self-swabbing for estimating the prevalence of *Staphylococcus aureus* in the community. *J Med Microbiol* 2013 Mar;62(Pt 3):437-440.
- (15) Choi CS, Yin CS, Bakar AA, Sakewi Z, Naing NN, Jamal F, et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. *J Microbiol Immunol Infect* 2006 Dec;39(6):458-464.
- (16) Williams RE. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev* 1963 Mar;27:56-71.
- (17) Vandenberg M, Verbrugh HA. Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and clinical relevance. *J Lab Clin Med* 1999;133(6):525-534.
- (18) Lowy FD. *Staphylococcus aureus* Infections. *N Engl J Med* 1998;339(8):520-532.
- (19) Devriese LA, Van Damme LR, Fameree L. Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralbl Veterinarmed B* 1972 Aug;19(7):598-605.
- (20) Cuny C, Friedrich A, Kozytska S, Layer F, Nübel U, Ohlsen K, et al. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *International Journal of Medical Microbiology* 2010;300(2-3):109-117.
- (21) Köck R, Mellmann A, Schaumburg F, Friedrich AW, Kipp F, Becker K. The epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2011 Nov;108(45):761-767.
- (22) Wendlandt S, Schwarz S, Silley P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a food-borne pathogen? *Annu Rev Food Sci Technol* 2013;4:117-139.
- (23) Weese JS, van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology* 2010 January 27;140(3):418-429.
- (24) Haenni M, Châtre P, Dupieux-Chabert C, Métayer V, Bes M, Madec J, et al. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Horses, Cats, and Dogs Over a 5-Year Period in France. *Front Microbiol* 2017;8.
- (25) Van Cleef BA, Broens EM, Voss A, Huijsdens XW, Zuchner L, Van Benthem BH, et al. High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 2010 May;138(5):756-763.
- (26) Mulders MN, Haenen APJ, Geenen PL, Vesseur PC, Poldervaart ES, Bosch T, et al. Prevalence of livestock-associated MRSA in broiler flocks and risk factors for slaughterhouse personnel in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 2010;138(5):743-755.
- (27) Gilbert MJ, Bos MEH, Duim B, Urlings HAP, Heres L, Wagenaar JA, et al. Livestock-associated MRSA ST398 carriage in pig slaughterhouse workers related to quantitative environmental exposure. *Occupational and Environmental Medicine* 2012;69(7):472-478.
- (28) Dahms C, Hübner N, Cuny C, Kramer A. Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in farm workers and the livestock environment in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *Acta Vet Scand* 2014;56(1):53.

- (29) Antoci E, Pinzone MR, Nunnari G, Stefani S, Cacopardo B. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among subjects working on bovine dairy farms. *Infez Med* 2013 Jun;21(2):125-129.
- (30) Graveland H, Wagenaar JA, Bergs K, Heesterbeek H, Heederik D. Persistence of Livestock Associated MRSA CC398 in Humans Is Dependent on Intensity of Animal Contact. *PLOS ONE* 2011;6(2):e16830.
- (31) Van Den Broek, I V F, Van Cleef, B A G L, Haenen A, Broens EM, Van Der Wolf, P J, Van Den Broek, M J M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiol Infect* 2009;137(5):700-708.
- (32) van Cleef BA, Verkade EJM, Wulf MW, Buiting AG, Voss A, Huijsdens XW, et al. Prevalence of Livestock-Associated MRSA in Communities with High Pig-Densities in The Netherlands. *PLOS ONE* 2010;5(2):e9385.
- (33) van Cleef, B A G L, van Benthem, B H B, Verkade EJM, van Rijen M, Kluytmans-van den Bergh, M F Q, Schouls LM, et al. Dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* carriage in pig farmers: a prospective cohort study. *Clinical Microbiology and Infection* 2014;20(10):O771.
- (34) Köck R, Loth B, Koksai M, Schulte-Wulwer J, Harlizius J, Friedrich AW. Persistence of nasal colonization with livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farmers after holidays from pig exposure. *Appl Environ Microbiol* 2012 Jun;78(11):4046-4047.
- (35) Cuny C, Nathaus R, Layer F, Strommenger B, Altmann D, Witte W. Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. *PLoS One* 2009 Aug 27;4(8):e6800.
- (36) Graveland H, Wagenaar JA, Heesterbeek H, Mevius D, van Duijkeren E, Heederik D. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in Veal Calf Farming: Human MRSA Carriage Related with Animal Antimicrobial Usage and Farm Hygiene. *PLoS ONE* 2010;5(6):e10990.
- (37) Geenen PL, Graat EA, Haenen A, Hengeveld PD, Van Hoek AH, Huijsdens XW, et al. Prevalence of livestock-associated MRSA on Dutch broiler farms and in people living and/or working on these farms. *Epidemiol Infect* 2013 May;141(5):1099-1108.
- (38) Richter A, Sting R, Popp C, Rau J, Tenhagen BA, Guerra B, et al. Prevalence of types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in turkey flocks and personnel attending the animals. *Epidemiol Infect* 2012 Dec;140(12):2223-2232.
- (39) Jordan D, Simon J, Fury S, Moss S, Giffard P, Maiwald M, et al. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by veterinarians in Australia. *Aust Vet J* 2011 May;89(5):152-159.
- (40) Groves MD, Crouch B, Coombs GW, Jordan D, Pang S. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Australian Veterinarians. 2016;11(1):e0146034.
- (41) Walter J, Espelage W, Cuny C, Jansen A, Witte W, Eckmanns T, et al. Veterinarians Visiting Swine Farms Are at High Risk for Colonization With Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2016 Jan 1;62(1):126-128.

- (42) Wulf MWH, Sørnum M, van Nes A, Skov R, Melchers WJG, Klaassen CHW, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. *Clinical Microbiology and Infection* 2008;14(1):29-34.
- (43) Salmenlinna S, Vainio A, Kanerva M, Vuopio-Varkila J, Myllyniemi A-L, Raulo S, et al. Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 eläimillä ja ihmisillä. *Sairaalahygienialehti* 2010;28:9-13.
- (44) European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008 - Part A: MRSA prevalence estimates. *EFSA Journal* 2009;7(11):n/a.
- (45) FINRES-Vet 2007-2009. Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents. 2011.
- (46) FINRES-Vet 2010-2012. Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents. 2015.
- (47) Finnish Food Safety Authority Evira. Sianliha ei aiheuta MRSA-vaaraa Suomessa. Tiedote 17.5.2017. <https://www.evira.fi/tietoa-evilasta/ajankohtaista/2017/sianliha-ei-aiheuta-mrsa-vaaraa-suomessa2/>, haettu 18.5.2017.
- (48) European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). ECDC 2017.
- (49) Salmenlinna S, Lyytikäinen O, Vainio A, Myllyniemi AL, Raulo S, Kanerva M, et al. Human cases of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398, Finland. *Emerg Infect Dis* 2010 Oct;16(10):1626-1629.
- (50) Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL). Tartuntataudit Suomessa 2015. 2016;10.
- (51) Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL). MRSA esiintyvyys 2016. <https://www.thl.fi/fi/web/infektiotaudit/seuranta-ja-epidemiati/tartuntatautirekisteri/tartuntataudit-suomessa-vuosiraportit/tautien-esiintyvyys-2016/mrsa-esiintyvyys-2016>, haettu 16.8.2017.
- (52) Maa- ja metsätalousministeriö. Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) kotieläimillä ja sen merkitys eläinten ja ihmisten välisiin tartuntoihin. 2015.
- (53) Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2000 Mar;38(3):1008-1015.
- (54) Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002 May 28;99(11):7687-7692.
- (55) Abbott Y, Leonard FC, Markey BK. Detection of three distinct genetic lineages in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from animals and veterinary personnel. *Epidemiol Infect* 2010 May;138(5):764-771.
- (56) Frenay HM, Theelen JP, Schouls LM, Vandenbroucke-Grauls CM, Verhoef J, van Leeuwen WJ, et al. Discrimination of epidemic and non-epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains on the basis of protein A gene polymorphism. *J Clin Microbiol* 1994 Mar;32(3):846-847.

- (57) Kao RR, Haydon DT, Lycett SJ, Murcia PR. Supersize me: how whole-genome sequencing and big data are transforming epidemiology. *Trends Microbiol* 2014 May;22(5):282-291.
- (58) Brisse S, Duijkeren Ev. Identification and antimicrobial susceptibility of 100 *Klebsiella* animal clinical isolates. *Veterinary Microbiology* 2005;105(3):307-312.
- (59) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal* 2011;9(8).
- (60) Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis* 2016 Aug 1;63(3):310-318.
- (61) Charlotte R Ulstad, Margrete Solheim, Sophie Berg, Morten Lindbaek, Ulf R Dahle, Astrid L Wester. Carriage of ESBL/AmpC-producing or ciprofloxacin non-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in healthy people in Norway. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2016 Jan 1;5(1):1-11.
- (62) Livsmedelsverket, Statens veterinärmedicinska anstalt (, Folkhälsomyndigheten. Slutrapport från ett myndighetsgemensamt projekt - antibiotikaresistens. ESBL-bildande *E.coli* i vår omgivning – livsmedel som spridningsväg till människa. 2014.
- (63) Finres 2016. Bakterien mikrobiläkeresistenssi Suomessa. 2017;42/2017.
- (64) Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL). ESBL esiintyvyys 2016. <https://www.thl.fi/fi/web/infektiaudit/seuranta-ja-epidemiati/tartuntatautirekisteri/tartuntataudit-suomessa-vuosiraportit/tautien-esiintyvyys-2016/esbl-esiintyvyys-2016>, haettu 23.2.2018.
- (65) European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. *EFSA Journal* 2016;14(2).
- (66) Hering J, Frömke C, von Münchhausen C, Hartmann M, Schneider B, Friese A, et al. Cefotaxime-resistant *Escherichia coli* in broiler farms—A cross-sectional investigation in Germany. *Preventive Veterinary Medicine* 2016;125:154-157.
- (67) Swedres-Svarm. Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden. 2017.
- (68) Egervärn M, Börjesson S, Byfors S, Finn M, Kaipe C, Englund S, et al. *Escherichia coli* with extended-spectrum beta-lactamases or transferable AmpC beta-lactamases and *Salmonella* on meat imported into Sweden. *International Journal of Food Microbiology* 2014;171:8-14.
- (69) Päivärinta M, Pohjola L, Fredriksson-Ahomaa M, Heikinheimo A. Low Occurrence of Extended-Spectrum β -lactamase-Producing *Escherichia coli* in Finnish Food-Producing Animals. *Zoonoses and Public Health* 2016;63(8):624-631.
- (70) Evira. Laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä tuottavat bakteerit (ESBL). 2017.
- (71) Heikinheimo A, Latvio S, Päivärinta M, Fredriksson-Ahomaa M. Identification of *bla*_{CMY-2} and *bla*_{CTX-M-1} carrying *Escherichia coli* in slaughterhouse broilers and broiler meat in Finland - Whole genome sequencing

reveals high genetic diversity with multiple MLST types; 4th International Conference on Responsible Use of Antibiotics in Animals 2016 26th-28th September.

(72) European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. *EFSA Journal* 2017;15(2).

(73) Schmidt VM, Pinchbeck GL, Nuttall T, McEwan N, Dawson S, Williams NJ. Antimicrobial resistance risk factors and characterisation of faecal *E. coli* isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom. *Preventive Veterinary Medicine* 2015;119(1):31-40.

(74) Haenni M, Saras E, Metayer V, Medaille C, Madec JY. High prevalence of blaCTX-M-1/Incl1/ST3 and blaCMY-2/Incl1/ST2 plasmids in healthy urban dogs in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2014 Sep;58(9):5358-5362.

(75) Belas A, Salazar AS, Gama LT, Couto N, Pomba C. Risk factors for faecal colonisation with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in dogs. *Vet Rec* 2014 Aug 30;175(8):202.

(76) FINRES-Vet 2. Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents. 2017.

(77) Börjesson S, Ny S, Egervärn M, Bergström J, Rosengren A, Englund S, et al. Limited Dissemination of Extended-Spectrum beta-Lactamase- and Plasmid-Encoded AmpC-Producing *Escherichia coli* from Food and Farm Animals, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2016 Apr;22(4):634-640.

(78) Pomba C, Rantala M, Greko C, Baptiste KE, Catry B, van Duijkeren E, et al. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *J Antimicrob Chemother* 2017 Apr 1;72(4):957-968.

(79) Bush K, Fisher JF. Epidemiological Expansion, Structural Studies, and Clinical Challenges of New β -Lactamases from Gram-Negative Bacteria. *Annu Rev Microbiol* 2011;65(1):455-478.

(80) Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews* 2005 October 01;18(4):657-686.

(81) Jacoby GA, Munoz-Price L. The New β -Lactamases. *N Engl J Med* 2005;352(4):380-391.

(82) Bonnet R. Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004 January 01;48(1):1-14.

(83) Dohmen W, Van Gompel L, Schmitt H, Liakopoulos A, Heres L, Urlings BA, et al. ESBL carriage in pig slaughterhouse workers is associated with occupational exposure. *Epidemiol Infect* 2017;145(10):2003-2010.

(84) Day M.J., Rodríguez I, van Essen-Zandbergen A, Dierikx C, Kadlec K, Schink A, et al. Diversity of STs, plasmids and ESBL genes among *Escherichia coli* from humans, animals and food in Germany, the Netherlands and the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2016;71(5):1178-1182.

(85) Tamminen Heli. Suomalaisesta broilerintuotantoketjusta, broilerinlihasta ja koirista eristettyjen AmpC-positiivisten *Escherichia coli* -bakteerien resistenssiplasmidien ja genomien tyyppittäminen Jyväskylän yliopisto; 2014.

- (86) Ronco T, Stegger M, Olsen RH, Sekse C, Nordstoga AB, Pohjanvirta T, et al. Spread of avian pathogenic *Escherichia coli* ST117 O78:H4 in Nordic broiler production. *BMC Genomics* 2017;18(1):13.
- (87) Evira. Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* -suositus tartunnan torjunnasta ja ehkäisystä eläimillä. Eviran julkaisuja 2010;9.
- (88) Gregory S. How good is your hand hygiene? *In Pract* 2005;27(4):178-182.
- (89) WHO. WHO guidelines on hand hygiene in health care: a summary. 2009; http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70126/1/WHO_IER_PSP_2009.07_eng.pdf?ua=1, haettu 20.3.2018.
- (90) BSAVA. BSAVA practice guidelines. Reducing the risk from MRSA and MRSP. British Small Animal Veterinary Association (BSAVA) 2016.
- (91) Pietola E. Laajakirjoisia β -laktamaaseja tuottavan *Escherichia coli* -bakteerin esiintyvyys suomalaisilla eläinlääkäreillä. Licensiaatintutkielma, Helsingin yliopisto, 2017.
- (92) Terhi Järvelä. Eläinlääkärit ja metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) – esiintyminen ja suojautumiskäytännöt. Licensiaatintutkielma, Helsingin yliopisto, julkaisematon.
- (93) Heikinheimo A, Johler S, Karvonen L, Julmi J, Fredriksson-Ahomaa M, Stephan R. New dominant spa type t2741 in livestock-associated MRSA (CC398-MRSA-V) in Finnish fattening pigs at slaughter. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016 Mar 2;5:8. eCollection 2016.
- (94) Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18(7):646-655.
- (95) Reuland EA, Al Naiemi N, Kaiser AM, Heck M, Kluytmans JA, Savelkoul PH, et al. Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Amsterdam. *J Antimicrob Chemother* 2016 Apr;71(4):1076-1082.
- (96) Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother* 2011 Jan;66(1):1-14.
- (97) Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Stuart JC, Voets GM, van den Munckhof, M P, van Essen-Zandbergen A, et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection* 2011;17(6):873-880.
- (98) Garcia-Cobos S, Kock R, Mellmann A, Frenzel J, Friedrich AW, Rossen JW. Molecular Typing of Enterobacteriaceae from Pig Holdings in North-Western Germany Reveals Extended- Spectrum and AmpC beta-Lactamases Producing but no Carbapenem Resistant Ones. *PLoS One* 2015 Jul 30;10(7):e0134533.
- (99) Apostolakos I, Franz E, van Hoek, A H A M, Florijn A, Veenman C, Sloet-van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, et al. Occurrence and molecular characteristics of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* in faecal samples from horses in an equine clinic. *J Antimicrob Chemother* 2017 Jul 1;72(7):1915-1921.
- (100) Ljungquist O, Ljungquist D, Myrenas M, Ryden C, Finn M, Bengtsson B. Evidence of household transfer of ESBL-/pAmpC-producing Enterobacteriaceae between humans and dogs - a pilot study. *Infect Ecol Epidemiol* 2016 Jun 20;6:31514.

- (101) European Medicines Agency, European Surveillance for Veterinary Antimicrobial Consumption. Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015. 2017.
- (102) Evira. NDM (New Delhi Metallo-beetalaktamaasi) -entsyymiä tuottava E. coli ja muut karbapeneemi-antibiooteille vastustuskykyiset bakteerit. <https://www.evira.fi/elaimet/elainten-terveys-ja-elaintaudit/laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/usein-kysyttya-ndm-bakteereista/>, haettu 20.3.2018.
- (103) Evira. Suomessa todettu kolistiiniresistenssiä tuontikoirasta. 2017; <https://www.evira.fi/elaimet/zoonosikeskus/ajankohtaista/2017/suomessa-todettu-kolistiiniresistenssia-tuontikoirasta/>, haettu 20.3.2018.
- (104) Vna 1054/2014. Valtioneuvoston asetus eräiden lääkeaineiden käytön kieltämisestä eläimille. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2014/20141054>, haettu 20.3.2018.
- (105) European Commission. Special Eurobarometer 445. Antimicrobial Resistance. 2016. https://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/eb445_amr_generalreport_en.pdf, haettu 5.4.2018.
- (106) EURL-AR. Laboratory protocols. Isolation of MRSA from dust samples 2nd Ed 2009. DTU Food, European Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, 2009. https://www.eurl-ar.eu/CustomerData/Files/Folders/21-protocols/287_3-final-mrsa-protocol.pdf, haettu 5.4.2018.
- (107) EURL-AR. Laboratory Protocol. Isolation of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing E. coli from caecal samples. Version 3. DTU Food, European Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, 2015.
- (108) EUCAST. Antimicrobial susceptibility testing. EUCAST disk diffusion method. Version 5.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2015.
- (109) EUCAST. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013.
- (110) 2013/652/EU. Komission täytäntöönpanopäätös, annettu 12 päivänä marraskuuta 2013, zoonoottisten ja indikaattoribakteerien mikrobilääkeresistenssin seurannasta ja raportoinnista. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?uri=CELEX%3A32013D0652>, haettu 5.4.2018.
- (111) Evira. Ohje MRSA ja laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottavien kantojen tunnistamisesta ja lähettämisestä Eviraan. 029/2, 2017. https://www.evira.fi/globalassets/tietoa-evirasta/esittely/toiminta/laboratoriotuominta/naytteenotto/lab_029_ohje_mrsa_ja_laajaki.pdf, haettu 1.3.2017.
- (112) Keto-Timonen R, Nevas M, Korkeala H. Efficient DNA fingerprinting of Clostridium botulinum types A, B, E, and F by amplified fragment length polymorphism analysis. Appl Environ Microbiol 2005 Mar;71(3):1148-1154.
- (113) Wattam AR, Davis JJ, Assaf R, Boisvert S, Brettin T, Bun C, et al. Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. Nucleic Acids Res 2017 Jan 4;45(D1):D542.
- (114) Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol 2012 May;19(5):455-477.

- (115) Gurevich A, Saveliev V, Vyahhi N, Tesler G. QUASt: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics* 2013 Apr 15;29(8):1072-1075.
- (116) Larsen MV, Cosentino S, Rasmussen S, Friis C, Hasman H, Marvig RL, et al. Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *J Clin Microbiol* 2012 Apr;50(4):1355-1361.
- (117) Bartels MD, Petersen A, Worning P, Nielsen JB, Larner-Svensson H, Johansen HK, et al. Comparing whole-genome sequencing with Sanger sequencing for spa typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2014 Dec;52(12):4305-4308.
- (118) Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O, et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother* 2012 Nov;67(11):2640-2644.
- (119) Joensen KG, Scheutz F, Lund O, Hasman H, Kaas RS, Nielsen EM, et al. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2014 May;52(5):1501-1510.
- (120) Carattoli A, Zankari E, Garcia-Fernandez A, Voldby Larsen M, Lund O, Villa L, et al. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrob Agents Chemother* 2014 Jul;58(7):3895-3903.
- (121) Larsen MV, Cosentino S, Lukjancenko O, Saputra D, Rasmussen S, Hasman H, et al. Benchmarking of methods for genomic taxonomy. *J Clin Microbiol* 2014 May;52(5):1529-1539.
- (122) Wirth T, Falush D, Lan R, Colles F, Mensa P, Wieler LH, et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* 2006 Jun;60(5):1136-1151.
- (123) Brown LD, Cai TT, DasGupta A. Interval Estimation for a Binomial Proportion. *Statist Sci* 2001;16(2):101-133.

Liitteet

Liite1: Menetelmät

Esirikastus ja viljely

Nielu- ja sierainnäytteiden tutkiminen noudatti mukautetusti Euroopan unionin mikrobilääkeresistenssireferenssilaboratorion ohjetta (106). Toinen rikastusvaihe jätettiin pois, koska näytteissä ei oletettu olevan samanlaista *Enterococcus*-kontaminaation riskiä kuin sikanäytteissä eikä toisaalta haluttu karsia ihmisperäisiä MRSA-kantoja. Peräsuolinäytteiden tutkimisessa noudatettiin mukautetusti Euroopan Unionin vertailulaboratorion protokollaa ESBL- ja AmpC-entsyymiä sekä karbapenemaasia tuottavien *E. coli* -bakteerien eristämiseen ulostenäytteestä (107). Kaikkien näytteiden esirikastus aloitettiin 24 tunnin sisällä näytteiden ottamisesta. Kunkin tutkittavan sierain- ja nielunäyte esirikastettiin liuottamalla molemmat vanupuikot yhdessä koeputkessa 5 ml:ssa Müller-Hinton-lientä (Oxoid, Basingstoke, Englanti), jonka natriumkloridipitoisuus oli 6,5 %. Peräsuolinäytteet esirikastettiin liuottamalla vanupuikko 9 ml:ssa puskuroitua peptonivettä (Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, UK). Kaikkia esirikasteita inkuboitiin 20-24 tuntia +37 °C:ssa. Tämän jälkeen sierain- nielunäytteiden esirikastetta viljeltiin 10 µl silmukalla hajotusviljelyynä CHROMagar MRSA selektiiviagarille (CHROMagar Microbiology, Pariisi, Ranska) ja peräsuolinäytteiden esirikastetta 10 µl silmukalla hajotusviljelyynä kahdelle eri MacConkey-agarmaljalle (Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, UK). Toisen maljan agariin oli lisätty 3. polven kefalosporiinia (1 mg/l kefotaksiimi) (USP, Rockville, MD, USA; Chayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) ja toiseen karbapeneemiä (0,5 mg/l meropeneemi) (USP, Rockville, MD, USA). CHROMagar MRSA -maljoja inkuboitiin 24 tuntia ja MacConkey-maljoja 20-24 tuntia + 37°C:ssa. CHROMagar MRSA -maljoilta valittiin tyypilliset vaaleanpunaiset tai marjapuuronväriset pesäkkeet jatkoviljelyyn, MacConkey-maljoilta *E. coli* -bakteerille tyypilliset pinkit, laktoosiposiitiiviset, keskisuuret tai suuret pesäkkeet sekä *K. pneumoniae* -bakteerille tyypilliset suuret, limaiset pesäkkeet. Tutkimuksia ei jatkettu niiden maljojen osalta, joilta ei löytynyt tyypillistä kasvua.

Jatkotutkimuksiin valituilta MacConkey-maljoilta siirrostettiin yhdestä kolmeen *E. coli* -bakteerille tyypillistä pesäkettä hajotusviljelyynä kahdelle CHROMagar Orientation -agarille (CHROMagar, Pariisi, Ranska), joista toiseen oli lisätty 1 mg/l kefotaksiinia. Tällä haluttiin helpottaa *E. coli* -pesäkkeiden tunnistamista. Maljoja inkuboitiin 20–24 tuntia +37 °C:ssa. Jatkoon valittiin kefotaksiimia sisältävistä CHROMagar Orientation -agareista maljat, joilla kasvoi *E. coli* -bakteerille tyypillisiä vaaleanpunaisia pesäkkeitä sekä maljat, joilla kasvoi *K. pneumoniae* -bakteerille tyypillisiä metallinsinisiä pesäkkeitä tai sinisiä pesäkkeitä vaaleanpunaisilla kehyksillä. Jos CHROMagar Orientation -maljalla ei ollut yhtään vaaleanpunaista tai sinistä kasvua, tutkimukset lopetettiin.

Kontrollikantoina CHROMagar MRSA -maljojen laaduntestaukseen käytettiin negatiivisina kontrollikantoina herkkiä ATCC 8095 *S. aureus* ja ATCC 25178 *S. aureus* -kantoja sekä positiivisina Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) MRSA-kantoja AF 1214-14 MRSA ja AF 1582-14 MRSA. MacConkey-agarit testattiin negatiivisella kontorillikannalla *E. coli* ATCC 25922 ja positiivisilla kontrollikannoilla *E. coli* CTX-M-9 (ESBL-tuottaja), *E. coli* B14-24 CMY-2 (AmpC-tuottaja) ja *E. coli* OXA-48 (karbapenemaasin tuottaja).

Eristys ja osoittaminen

Yksi MRSA:lle tyypillinen vaaleanpunainen pesäke kultakin CHROMagar MRSA -maljalta viljeltiin naudanveriagarille, ja maljoja inkuboitiin +37 °C:ssa 20–24 tuntia. Kantojen pesäkemorfologia ja hemolyyisit kirjattiin ja niille tehtiin koagulaasitesti kaninplasmalla (BD BBL Coagulase Plasmas, BD, Franklin Lakes NJ, USA) sekä gram-värijäys. Koagulaasiposiitiivisille gram-positiivisille kokkibakteereille tehtiin tuoreesta

puhdasviljelystä API Staph -biokemiallinen testi (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Ranska) valmistajan ohjeiden mukaan. Tulokset tulkittiin apiweb-ohjelmalla. Mikrobilääkeherkkyysmäärittämiseen jatkettiin niiden kantojen osalta, jotka apiweb tunnisti *Staphylococcus aureus* -bakteeriksi. Mahdollisen eläinperäisen lähteen takia ei tässä vaiheessa voitu sulkea pois, etteivätkö kannat olisi voineet olla myös *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteereja, sillä Api Staph ei erottele näitä bakteereja luotettavasti.

Kultakin CHROMagar Orientation -maljalta, johon oli lisätty 1mg/l kefotaksiimia, viljeltiin *E. coli* -bakteerille tyypillinen vaaleanpunainen pesäke hajotusviljelyssä naudanveriagarille, ja maljoja inkuboitettiin 20–24 tuntia +37 °C:ssa. Puhtaaksi viljellyille pesäkkeille tehtiin oksidaasitesti ja gramvärjäys. Oksidaasinegatiiviset ja gramnegatiiviset sauvatvalittiin jatkotutkimuksiin API20E-testiin (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Ranska). API20E -testi suoritettiin valmistajan ohjeiden mukaan tuoreesta ja puhdasviljelystä ja inkuboitettiin 18–24 tuntia +37 °C:ssa. Tulokset tulkittiin apiweb-ohjelmalla. Mikrobilääkeherkkyysmäärittäminen tehtiin niille kannoille, jotka apiweb tunnisti *E. coli* -bakteeriksi. *K. pneumoniae* -bakteerille tyypillisten pesäkkeiden jatkotutkimukset tehtiin samaan tapaan kuin *E. coli*.

Mikrobilääkeherkkyysmäärittäminen

Mikrobilääkeherkkyys määritettiin kiekkodiffuusio menetelmällä EUCAST-standardin ja ohjeiden (108,109) mukaan. *E. coli* osalta herkkyysmäärittämiseen valitut kiekot pohjautuvat EU-lainsäädäntöön (110) ja EFSA:n suosituksiin (59). Kasvualustana oli EUCAST-standardin mukainen 4 mm paksu Müller-Hinton-agar (Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, UK). *S. aureus* -kantojen herkkyys testattiin 30 µg:n kefoksitiinikiekoilla (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska). Koska kannat saattoivat olla eläinperäisiä, varmistettiin 300 IU:n polymyksiini B -kiekolla (Abtek Biologicals Ltd., Liverpool, UK), ettei *Staphylococcus pseudintermedius* -kantoja ollut virheellisesti tunnistettu *S. aureus* -kannoiksi (111).

E. coli -kantojen herkkyys 3. polven kefalosporiineille testattiin 5 µg kefotaksiimikiekoilla (Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, UK) ja 10 µg keftatsidiimikiekoilla (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska). Herkkyys 2. polven kefalosporiineille testattiin 30 µg kefoksitiinikiekoilla (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska) ja 4. polven kefalosporiineille 30 µg kefepiimikiekoilla (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska). Lisäksi 3. polven kefalosporiini- ja klavulaanin yhdistelmien synergia testattiin 30 µg kefotaksiimi- ja keftatsidiimikiekoilla (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska) sekä yhdistelmäkiekoilla kefotaksiimi-klavulaanin yhdistelmä 30 µg + 10 µg (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska) ja keftatsidiimi-klavulaanin yhdistelmä 30 µg + 10 µg (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska). Karbapeneemien herkkyysmäärittämiseen käytettiin 10 µg meropenemikiekoita (Rosco Diagnostica, Tastrup, Tanska). ESBL-herkkyysmaljoja inkuboitettiin 16–20 tuntia +35 °C:ssa. MRSA-herkkyysmaljoja inkuboitettiin 16–20h +36 °C:ssa. Mikrobilääkeherkkyysmäärittämisen onnistuminen varmistettiin MRSA:n osalta negatiivisella kontrollikannoilla ATCC 8095 *S. aureus* ja ATCC 25178 *S. aureus* sekä positiivisilla AF 1214-14 MRSA ja AF 1582-14 MRSA ja *E. coli* osalta negatiivisella kontrollikannalla *E. coli* ATCC 25922 sekä positiivisilla kontrollikannoilla *E. coli* CTX-M-9 (ESBL-tuottaja), *E. coli* B14-24 CMY-2 (AmpC-tuottaja) ja *E. coli* OXA-48 (karbapenemaasin tuottaja). Estovyöhykkeiden halkaisijat mitattiin ja tulkittiin käyttäen raja-arvoina EUCAST:n epidemiological cut-off value (ECOFF) -raja-arvoja.

E. coli -kantojen resistenssimekanismit pääteltiin herkkyysprofiilien mukaan. ESBL-tuottajiksi määriteltiin ne isolaatit, jotka olivat resistenttejä kefotaksiimille ja/tai keftatsidiimille ja yhdistelmäkiekkotestissä ainakin toiselle yhdistelmälle. AmpC-tuottajiksi määriteltiin kefotaksiimille ja/tai keftatsidiimille sekä kefoksitiinille resistentit isolaatit, jotka olivat herkkiä kefepiimille. Sekä ESBL- että AmpC-tuottajia olivat tutkimuksessa ne isolaatit, jotka olivat resistenttejä kefotaksiimille ja/tai keftatsidiimille, kefoksitiinille ja kefepiimille sekä antoivat yhdistelmäkiekkotestissä positiivisen tuloksen. Karbapenemaasin tuottajiksi määriteltiin isolaatit, jotka olivat resistenttejä kefotaksiimille ja/tai keftatsidiimille sekä meropenemille.

DNA-eristys ja laadunvarmistus

Gramnegatiivisten bakteerikantojen kokogenominen DNA eristettiin ja puhdistettiin käyttämällä PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen™ by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad CA, Yhdysvallat) -pikamenetelmää valmistajan ohjeiden mukaan. Eristystä varten *E. coli* -kantoja kasvatettiin ensin tryptoni-soija-liemessä

Fenotyyppisten testien perusteella *S. aureusten* kokogenominen DNA eristettiin aiemmin kuvatulla menetelmällä (112) seuraavin muutoksin: Kannat kasvatettiin 7 ml:ssa tryptoni-soija-lientä (Tryptone Soya Broth, Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, UK) 16 tuntia 37 °C:ssa. Putket siirrettiin jäihin ja viljelmää pipetoitiin 2 ml uuteen putkeen. Sentrifugoinnin jälkeen jäljelle jäänyt solunappi resuspensoitiin liuoksessa, joka sisälsi 400 µl Tris-EDTA-puskuria (10:1), 100 µl lysosyymia (50 mg/ml), 100 µl mutanolysiiniä (1000 IU/ml), 10 µl lysostafiinia (1mg/ml) ja 10 µl RNAasia (10mg/ml). Putkia inkuboitiin ravistimessa kyljellään +37 °C:ssa ravistimessa kyljellään 2 tuntia. Tämän jälkeen putkiin lisättiin 14 µl EDTA:ta (0,5 M), 60 µl NaCl (3 M) ja 2 µl Proteinaasi-K:ta (18 mg/ml) ja seos vorteksoitiin huolellisesti. Putkiin lisättiin 60 µl natriumlauryylisulfaattia, ja ne vorteksoitiin huolellisesti. Mikäli liuos ei kirkastunut, lisättiin vielä 40 µl natriumlauryylisulfaattia. Fenolikloroformi-isoamyylialkoholi- ja kloroformi-2-pentanolii- uuttojen ja etanolipesujen jälkeen putket kuivattiin vetokaapissa yön yli. Seuraavana aamuna DNA liuotettiin 10-50 µl:aan Tris-EDTA-puskuria.

Eristetyn DNA:n laadunvarmistus proteiini- ja polysakkaridi-epäpuhtauksien suhteen tehtiin Nanodrop ND-1000 spektrofotometrillä (NanoDrop Technologies, Inc. Wilmington, DE, Yhdysvallat) noudatettaen valmistajan ohjeita. Kontrollina käytettiin gramnegatiivisille kannoille PureLink® Genomic DNA Mini Kit Elution Bufferia ja oletetuille *S. aureus* -kannoille Tris-EDTA-puskuria. Laadunvarmistus RNA-epäpuhtauksien suhteen tehtiin elektrofooresilla. Hyväksytyt absorbanssisuhteet olivat A260/A280=1,8–2,0 ja A260/A230=1,8–2,2. Laadunvarmistus DNA:n pitoisuuden suhteen tehtiin Qubit® 2.0 fluorometrillä (Invitrogen™ by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, Yhdysvallat) valmistajan ohjeen mukaan käyttäen Qubit® dsDNA BR Assay Kits (Invitrogen™ by Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, Yhdysvallat) -reagenssipakettia.

Resistenssigeenien osoitus ja tyyppitys

Eristetty DNA lähetettiin kokogenomisekvensoitavaksi Saksaan (CeGat, Center for Genomics and Transcriptomics, Tübingen). CeGat käyttää sekvensointiin next-generation sequencing (NGS) -teknologiaa. Isolaatit sekvensointiin Illumina HiSeq4000 alustalla 100 kertaisella lukupeitolla ja 2 x 100 bp lukupituudella (read length). DNA-kirjasto luotiin Illumina Nextera Kitillä ja siihen käytettiin 0,1 ng DNA:ta kantaa kohden. Illumina kokogenomisekvensoinnin tuotteena saatiin useita kopioita lyhyitä parillisia DNA-sekvenssejä (pair end reads). DNA-sekvenssit saatiin laadunvarmistettuina FastaQ-tiedostoina, joiden laatu oli analysoitu FASTQC (Version 0.10.5-cegat; Andrews, Simon) -ohjelmalla. Q30-arvo, eli todennäköisyys, että 1/1000 emäksestä on väärä, oli 92,91 %. Näytteiden sekvensoinnissa tai datan arvioinnissa ei havaittu epäsäännönmukaisuuksia.

Gramnegatiivisten bakteerien osalta lyhyet DNA-sekvenssit koottiin uudelleen kokogenomiksi (assembly) PATRIC 3.3.18 Assembly -palvelussa (113). Kokogenomin uudelleen koonnissa lyhyet DNA-sekvenssit yhdistetään päällekkäisyyksien perusteella yhdeksi sekvenssiksi, jatkumoksi (contig). Koonnissa jää aina koontiohjelmistosta riippuen jonkin verran yli lyhyitä DNA-sekvenssejä, jotka voivat sisältää geenejä. Jatkumotiedostot luotiin PATRIC Assembly -palvelussa SPAdes-algoritmillä (114), joka on todettu luotettavaksi *E. coli* -bakteerin genomien kokoojaksi (assembler) (115). *S. aureus* -kantojen osalta koonti

tehtiin Center of Genomic Epidemiology (CGE) -palvelimella (DTU, Tanska). Koska CGE epäonnistui *E. colin* resistenssigeenien ja plasmidien osoittamisessa raakadatasta antaen vääriä negatiivisia tuloksia, myös MRSA-kannan genomini koonti tehtiin lisäksi PATRIC-palvelussa. Tuloksissa ei kuitenkaan ollut eroa.

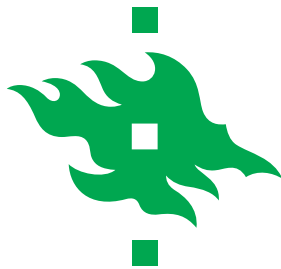
Kantojen geneettiset ominaisuudet saatiin vertaamalla koottuja genomeja Center of Genomic Epidemiology (CGE) -palvelimen (DTU, Tanska) tietokantojen tiedostoihin. Käytetyt tietokannat olivat *S. aureuksen* osalta MLST 1.8 (116), spaTyper 1.0 (117), ResFinder 2.1 (118) ja VirulenceFinder 1.5 (119) ja *E. colin* osalta PlasmidFinder 1.3 (120), SpeciesFinder 1.2 (121) ja MLST 1.8 (116). ResFinder-tietokannassa resistenssigeenit haettiin kynnsarvolla (threshold for % ID) 90 % ja minimipituudeksi valittiin 60 %. ResFinder hakee resistenssigeenejä seuraaville mikrobilääkkeille: aminoglykosidit, β -laktamit, kolistiini, fluorokinolonit, fosfomysiinit, fusidiini, glykopeptidit, makrolidit, linkosamiinit, streptogramiini B, nitroimidatsolit, oksatsolidinonit, fenikolit, rifampisiini, sulfonamidit, tetrasykliinit ja trimetopriimi. PlasmidFinder-tietokannassa haettiin plasmidit *Enterobacteriaceae*-tietokannasta kynnsarvolla 95 %. PlasmidFinder kertoo, onko bakteerikannalla plasmideja, mutta ei kerro sijaitseeko resistenssigeeni plasmidissa vai kromosomissa. SpeciesFinder-tietokannassa varmistettiin API20E™-testin lajintunnistustulokset. SpeciesFinder tunnistaa bakteerilajin 16s rRNA:n perusteella. Kannat tyyppitettiin MLST-palvelussa, joka käyttää PubMLST.org -tietokannan dataa. *E. colin* vertailukantana käytettiin *Escherichia coli* #1 -kanta (122). *S. aureus* -kannat spa-tyypitettiin spaTyper-tietokannan avulla. VirulenceFinder-tietokanta hakee seuraavia *S. aureuksen* virulenssigeenejä *hly*, *hlyABC*, *tst*, *lukED*, *lukFS-PV*, *etAB*, *edinABC*, *aur*, *splABE*, *scn*, *sak*, ACME sekä enterotoksiinit A-E, G-O, R, U ja Q.

Kyselyn analyysi

Ennen analyysia kyselyaineisto käytiin kokonaisuudessaan läpi ja muokattiin käsiteltävään muotoon. Muokkausprosessi ja muuttujat on kuvattu tarkemmin Terhi Järvelän lisensiaatintutkielmassa (92).

Tilastollisiin analyyseihin käytettiin IBM SPSS Statistics 24.0 -ohjelmaa. Tarvittavat 95 %:n luottamusvälit laskettiin Epitools-laskurilla (Sergeant 2017) Wilsonin menetelmällä (123). Työolosuhteet-osion työnkuvien esiintymisosuuksien laskemiseen käytettiin frekvenssitaulukoita. Työkäytännöt- ja altistuminen vapaa-ajalla -osioiden esiintymisosuuksien laskemiseen käytettiin ristiintaulukointia.

Käsienpesuaika-kysymyksen vastausten normaalijakautuneisuuden testaus tehtiin Shapiro-Wilk-testillä. Käsienpesuaika-arvioiden eroa kantajien ja muiden vastaajien välillä testattiin kahden riippumattoman otoksen Mann-Whitney U -testillä. Fisherin eksaktia testiä käytettiin käsienpesuaikalokkien ja valmistumisajankohtien välisen riippuvuuden testaamiseen. Riskitaso oli kaikilla testeillä 5 %.



HELSINGIN YLIOPISTO
ELÄINLÄÄKETIETEELLINEN TIEDEKUNTA