



HELSINGIN YLIOPISTO
HELSINGFORS UNIVERSITET
UNIVERSITY OF HELSINKI

VASTASYNTYNEEN VARSAN SEPSIS OSA II

Infektion diagnosoiminen, aiheuttajamikrobit ja mikrobilääkeresistenssi

ELK Liisa Kantola
Syventävien opintojen tutkielma
Kliinisen hevos- ja
pieneläinlääketieteen osasto
Eläinlääketieteellinen
tiedekunta
Helsingin yliopisto
20.5.2010



| | | | |
|--|--|---|---|
| Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta | | Osasto - Avdelning - Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto | |
| Tekijä - Författare - Author ELK Liisa Kantola | | | |
| Työn nimi - Arbetets titel - Title Vastasyntyneen varsan sepsis osa II - Infektion diagnosoiminen, aiheuttajamikrobit ja mikrobilääkeresistenssi | | | |
| Oppiaine - Läroämne - Subject Hevosten sairaudet | | | |
| Työn laji - Arbetets art - Level syventävien opintojen tutkielma | | Aika - Datum - Month and year toukokuu 2010 | Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 41 |
| Tiivistelmä - Referat - Abstract <p>Sepsis eli infektion aiheuttama yleistynyt tulehdusreaktio on merkittävä kuolleisuuden aiheuttaja vastasyntyneillä varsoilla. Kirjallisuuskatsauksessa on käsitelty sepsiksen patofysiologiaa ja kliinisiä oireita vastasyntyneillä varsoilla sekä sepsikselle altistavia tekijöitä.</p> <p>Vastasyntyneen varsan sepsiksen diagnosoimisessa kliinisten oireiden arvioinnilla on keskeinen merkitys sairauden varhaisessa tunnistamisessa ja hoidon aloittamisessa. Sairauden nopean etenemisen ja veriviljelytulosten hitaan valmistumisen vuoksi antibioottihoito joudutaan aloittamaan jo ennen viljelytulosten valmistumista. Veriviljelyllä on kuitenkin tärkeä merkitys sepsisdiagnoosin ja valitun antibioottihoiton varmistamisessa. Sairaala-kohtaisten veriviljelynäytetulosten seuranta mahdollistaa ensisijaisen mikrobilääkkeen valinnan aiemmin eristettyjen aiheuttajamikrobien esiintyvyyden ja mikrobilääkeherkkyyksien perusteella. Yleisimpiä vastasyntyneen varsan sepsiksen aiheuttajia ovat kirjallisuuden mukaan suolistoperäiset gram-negatiiviset bakteerit. <i>Escherichia colin</i> osuus vastasyntyneiltä varsoilta otetuista veriviljelynäytteistä eristetyistä bakteerikannoista on vaihdellut eri tutkimuksissa 18,7 - 50,0 %. Pohjois-Amerikassa tehdyissä tutkimuksissa varsojen veriviljelynäytteistä eristettyjen <i>E.coli</i> -kantojen herkkyys yleisesti käytetylle trimetopriimi-sulfadiatsiinille on ollut huono (57–71 %). Penisilliinin ja gentamisiinin yhdistelmälle enterobakteerien herkkyuden on raportoitu olevan hyvä. Suomessa tilanteen on arvioitu olevan parempi.</p> <p>Tutkimuksessa kartoitettiin retrospektiivisesti veriviljelyn käyttöä varsojen sepsiksen diagnostiikassa, sepsiksen aiheuttajamikrobien esiintymistä ja mikrobilääkkeiden käyttöä Yliopistollisessa eläinsairaalassa (YES) vuosina 2004–2006. Tutkimusaineisto koostuu yhteensä 90 korkeintaan 10 päivän ikäisenä YES:aan tuodun varsan potilastiedoista. Sairaalaan saapuneista varsoista 30 % oli otettu veriviljelynäyte. Veriviljelynäytteistä positiivisia oli 62,5 %. 60 % positiivisista näytteistä kasvoi vähintään kahta bakteerilajia. Yleisin aiheuttajabakteeri oli <i>Escherichia coli</i> (23,1 %). Yksi eristetyistä <i>E.coli</i> -kannoista oli resistentti ampicillinille, gentamisiinille ja trimetopriimi-sulfadiatsiinille. Aineiston pienen koon vuoksi tutkimus ei kuitenkaan anna luotettavaa kuvaa eristettyjen aiheuttajamikrobien mikrobilääkeherkkyydestä laajemmin. Sekakasvujen osuus oli suuri ja tyypillisten veriviljelynäytteitä kontaminoivien bakteerilajien (<i>Streptococcus viridans</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., koagulaasinegatiiviset stafylokokit) osuus oli yli 30 % eristetyistä bakteerikannoista. Tämä viittaa ongelmiin veriviljelynäytteenottotekniikassa riittävän aseptiikan saavuttamien osalta. Koagulaasinegatiiviset stafylokokit voivat myös aiheuttaa sepsiksen, mutta niiden merkitys vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajina on epäselvä.</p> | | | |
| Avainsanat - Nyckelord - Keywords vastasyntynyt varsa, sepsis, veriviljely, aiheuttajamikrobi, mikrobilääkeresistenssi | | | |
| Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited Viikin kampuskirjasto | | | |
| Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) professori Riitta-Mari Tulamo, ELL Katariina Thomson | | | |

I Kirjallisuuskatsaus

| | |
|---|----|
| 1. Johdanto | 5 |
| 2. Sepsiksen määritelmä ja patofysiologia | 7 |
| Vakava sepsis ja septinen sokki | 8 |
| Infektiosta sepsikseksi – patofysiologia lyhyesti | 9 |
| Infektio sepsiksen laukaisijana | 10 |
| Sepsiksen patofysiologia vastasyntyneillä varsoilla | 11 |
| Infektioportit | 11 |
| Altistavat tekijät | 12 |
| Vasta-ainepuutos | 13 |
| 3. Sepsiksen diagnosoiminen | 14 |
| Sepsiksen kliiniset oireet varsoilla | 14 |
| Veriviljely sepsiksen diagnostiikassa | 15 |
| Veriviljelyn herkkyys ja tarkkuus | 15 |
| Veriviljelyn herkkyyden parantaminen | 16 |
| PCR | 16 |
| 4. Sepsiksen aiheuttajamikrobit | 17 |
| Sepsiksen aiheuttajabakteerien herkkyys mikrobilääkkeille | 19 |

II Tutkimusosa

| | |
|---|----|
| 5. Työn tausta ja tarkoitus | 21 |
| 6. Aineisto ja menetelmät | 21 |
| 7. Tulokset | 22 |
| 8. Pohdinta | 26 |
| Aiheuttajabakteerien esiintyvyys | 26 |
| <i>Escherichia coli</i> -kantojen herkkyydet mikrobilääkkeille | 27 |
| Kontaminantteja ja mahdollisia patogeenejä | 28 |
| Ennen veriviljelynäytteen ottoa mikrobilääkkeillä lääkityt varsat | 29 |
| Varsoille käytetyt mikrobilääkkeet | 30 |
| Kohti parempaa sepsisdiagnostiikkaa | 30 |
| 9. Lähdekirjallisuus | 32 |
| Liitteet | 38 |

Kiitokset

Raskas, mutta välillä mukaansatempaavan mielenkiintoinen matka on nyt tullut päätepisteeseen. Työni ohjaajia professori Riitta-Mari Tulamo ja ELL Katariina Thomsonia haluan kiittää kärsivällisestä, kannustavasta ja joustavasta ohjaamisesta. Ilman teitä en olisi päässyt perille. Ystävääni ja tulevaa kollegaani ELL Krisse Koikkalaista kiitän hedelmällisestä yhteistyöstä tutkimusprojektin aikana. Tätini Kaija Saastamoinen ansaitsee erityiskiitokset, niin matkan aikana saamastani henkisestä tuesta kuin niistä valmiiksi katetuista aterioista, jotka olen kirjoitustyöni lomassa päässyt nauttimaan. Ystävääni Arttu Piipposta kiitän lukuisista aihetta ja tutkielman tekemistä koskevista keskusteluista. Kiitokset myös muille matkan aikana rinnalla kulkeneille.

I Kirjallisuuskatsaus

1. Johdanto

Sepsis eli bakteerien tai muiden mikrobien aiheuttama yleisinfektio on merkittävä vastasyntyneiden varsojen kuolleisuuden aiheuttaja. Suurimmassa riskissä sairastua sepsikseen ovat alle viikon ikäiset varsat, mutta sepsistä on havaittu myös tätä vanhemmilla varsoilla.¹⁻³ Alle kahden viikon ikäisillä varsoilla sepsiksen on raportoitu olevan vasta-ainepuutoksen jälkeen yleisin syy sairaalahoitoon.⁴ Uusimpien tutkimusten mukaan sairaalahoitoa saaneista sepsisvarsoista 60–70% on selviytynyt kotiutukseen asti. Vaikka parannusta aiempaan verrattuna on tapahtunut, voidaan sepsiksen aiheuttamaa kuolleisuutta pitää yhä merkittävänä myös sairaalahoitoa saavien varsojen osalta.⁵⁻⁹

Vastasyntyneen varsan sepsiksen diagnosoimisessa kliinisten oireiden arvioinnilla on keskeinen merkitys sairauden varhaisessa tunnistamisessa ja hoidon aloittamisessa. Sairauden nopean etenemisen ja veriviljelytulosten hitaan valmistumisen vuoksi antibioottihoito joudutaan aloittamaan jo ennen viljelytulosten valmistumista.⁷⁻¹⁴ Toisaalta jatkuva mikrobilääkeresistenssin kasvu vaatii maltillista ja perusteltua antibioottien käyttöä. Eviran julkaisemassa eläinten tärkeimpiä tulehdus- ja tartuntatauteja koskevassa mikrobilääkkeiden käyttösuosituksessa¹⁵ suositellaan veriviljelyn ottamista ennen vastasyntyneen varsan sepsiksen antibiootihoidon aloittamista. Myös potilaan ennusteen kannalta veriviljelyllä on tärkeä merkitys sepsisdiagnoosin ja antibioottivalinnan varmistamisessa.^{10, 12}

Tutkimustietoa vastasyntyneiden varsojen infektioiden ja sepsiksen epidemiologiasta Suomessa tai muissa Pohjoismaissa ei ole saatavilla. Ei ole kuitenkaan syytä epäillä, ettei sepsis olisi myös meillä merkittävä vastasyntyneiden varsojen kuolleisuuden aiheuttaja, vaikka hevosten kasvatus on meillä intensiivisyydeltään toista luokkaa kuin suuremmissa hevosmaissa. Myöskään sepsiksen aiheuttajamikrobeista, niiden mikrobilääkeherkkyydestä tai veriviljelyn käytöstä varsojen sepsiksen diagnostiikassa Suomessa ei ole aiemmin julkaistua tutkimustietoa.

Tämä tutkielma koostuu kahdesta osasta. Kirjallisuuskatsauksessa käydään läpi sepsiksen patofysiologia ja kliiniset oireet vastasyntyneillä varsoilla, veriviljelyn merkitys vastasyntyneiden varsojen sepsiksen diagnosoimisessa sekä sepsiksen aiheuttajamikrobien esiintyvyys ja niiden mikrobilääkeherkkyydet aiemmissä tutkimuksissa.

Tutkimusosassa on selvitetty veriviljelyn käyttöä vastasyntyneiden varsojen sepsiksen diagnosoimisessa sekä mikrobilääkkeiden käyttöä vastasyntyneiden varsojen hoidossa Yliopistollisessa eläinsairaalassa vuosina 2004–2006. Aineisto on kerätty yhteistyössä ELL Krisse Koikkalaisen kanssa, joka teki osasta aineistoa sepsisvarsojen kliinisiä oireita, kliinipatologisia muutoksia ja sepsiksen diagnosoimista käsittelevän syventävien opintojen tutkielmansa.

2. Sepsiksen määritelmä ja patofysiologia

Sepsiksellä tarkoitetaan infektion aiheuttamaa yleistynyttä tulehdusreaktiota. Vuonna 1991 järjestetyssä konsensuskonferenssissa (The 1992 ACCP/SCCM Consensus Conference) luotiin niin kutsuttu SIRS-oireiston käsite (SIRS, systemic inflammatory response syndrome), jonka mukaan potilaalla havaitaan vähintään kaksi seuraavista muutoksista: hyper- tai hypotermia, takykardia, takypnea tai hyperventilaatio sekä leukosytoosi, leukopenia tai neutrofiilien vasemmalle siirtyminen (left shift) eli epäkypsien neutrofiilien määrän kasvu verenkierrossa. SIRS-oireiston käsitteessä olennaista on, että yleistynyt tulehdusreaktio voi syntyä paitsi infektioiden myös esimerkiksi hapen puutteen (hypoksia), traumojen kuten palovammojen sekä immunologisten reaktioiden seurauksena. Uudempien tutkimustulosten ja kliinisen kokemuksen valossa tarkasteltuna määritelmä on kuitenkin osoittautunut liian epätarkaksi (spesifisyys) niin kliinisten tutkimusten valintakriteerinä kuin käytännön potilastyössä käytettäväksi.¹⁶⁻¹⁹

Vuonna 2001 sepsiksen määritelmää arvioitiin uudelleen kertyneen tutkimustiedon pohjalta (The 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definition Conference). Määritelmän luomisen tärkeimmäksi lähtökohdaksi on asetettu sen sopivuus käytännön potilastyöhön. Tuloksena päädyttiin yleistyneen tulehdusreaktion osalta yksinkertaiseen määritelmään ”potilas näyttää septiseltä”. Tällaisella potilaalla voidaan havaita mikrobiologisesti todetun tai vahvasti epäillyn infektion lisäksi joitain taulukossa 1. esitetyistä muutoksista. Alkuvaiheen elinvaurioista kertovat muutokset voivat olla ensimmäinen merkki sepsiksestä. Mikään taulukossa esitetyistä muutoksista ei ole spesifinen sepsikselle ja vain muutokset, joita ei voida helposti selittää muilla syillä, on katsottava sepsiksen aikaansaamiksi.¹⁸

Infektio (mikrobiologisesti todettu tai vahva epäily) ja joitain seuraavista muutoksista:

Yleistila

Kuume
Alilämpöisyys
Takykardia
Takypnea
Alentunut tajunnan taso
Huomattava turvotus tai positiivinen nestetasapaino
Hyperglykemia, kun diabetes on poissuljettu

Tulehdusarvot

Leukosytoosi
Leukopenia
Valkosolujen vasemmalle siirtyminen, epäkypsiä muotoja >10 %
Plasman C-reaktiivisen proteiinin pitoisuus kohonnut >2 keskipoikkeamaa yli viitearvon
Plasman prokalsitoniinin pitoisuus kohonnut >2 keskipoikkeamaa yli viitearvon

Hemodynaamiikan muutokset

Valtimoverenpaineen aleneminen < 2 keskipoikkeamaa iän mukaisesta viitearvosta
Keuhkovaltimon happisaturaatio (Svo₂) > 70 %
Cardiac index > 3,5 l·min⁻¹·M^{-2,3} (lääketieteessä käytetty indeksi, jolla mitataan sydämen tehoa (cardiac output, CO) suhteessa ruumiin kokoon)

Elinten toimintahäiriöistä kertovat muutokset

Valtimoveren hypoksemia
Akuutti vähävirtaisuus
Seerumin kreatiniinipitoisuuden nousu
Veren hyytymishäiriöt
Ileus (suolistoäänet heikot tai poissa)
Trombosytopenia
Hyperbilirubinemia

Kudosperfuusion heikkenemistä kuvaavat muutokset

Maitohappoasidoosi
Kapillaarien täyttymisaika hidastunut tai petekcioita limakalvoilla

Taulukko 1. Sepsiksen diagnostiset kriteerit ihmisillä. Muunnelma Levy ym. ¹⁸ taulukosta.

Vakava sepsis ja septinen sokki

Vakavalla sepsiksellä tarkoitetaan komplisoitunutta sepsistä, jossa potilaalla on niin kutsuttu monielinvaurio (MODS, multiple organ dysfunction syndrome).

Monielinvauriossa useiden elinjärjestelmien toiminta on heikentynyt estäen elimistön normaalin homeostaasin ylläpidon.^{18, 19}

Septisessä sokissa potilaalla on akuutti hypotensio (alhainen valtimoverenpaine). Korkeamman verisuonten vastuksen vuoksi vastasyntyneillä ja lapsilla sokkitila muodostuu jo paljon ennen verenpaineen laskua. Tämän vuoksi septinen sokki määritellään näillä potilailla niin, että potilaalla on kohonnut sydämen lyöntitiheys (takykardiaa ei välttämättä havaita alilämpöisillä potilailla) ja merkkejä vähentyneestä verenvirtauksesta. Niitä ovat heikentynyt perifeerinen pulssi verrattuna sentraaliseen pulssiin, alentunut tajunnan taso, huomattavasti nopeutunut tai hidastunut (yli kaksi sekuntia) kapillaarien täyttymisaika (kta), kirjavat tai kylmät raajat tai vähävirtaisuus. Voimakas valtimoverenpaineen aleneminen on lapsilla merkki myöhäisvaiheen sokkitilasta, jota elimistö ei kykene kompensoimaan.^{18, 19}

Infektiosta sepsikseksi – patofysiologia lyhyesti

Käsitys sepsiksen patofysiologiasta on kehittynyt huomattavasti tutkimustiedon karttuessa²⁰. Sepsis on myös sairautena varsin monisyinen ja käsitys siitä muuttunee ja tarkentunee yhä jatkossakin. Tässä yhteydessä ei pyritä luomaan kaiken kattavaa kuvausta sepsiksen patofysiologiasta vaan käsitellään aihetta melko yleisellä tasolla. Yksityiskohtiin voi perehtyä lähdekirjallisuuden parissa.^{18, 20, 21}

Sepsiksen patofysiologiassa on keskeistä elimistön oma puolustusreaktio, sillä se aiheuttaa muutokset, jotka ovat havaittavissa yleistyneenä tulehdusreaktiona. Riittävä ja oikein mitoitettu tulehdusvaste poistaa taudinaiheuttajan aiheuttamatta haittaa elimistölle itselleen. Aikaisemmin sepsiksen keskeisenä ongelmana ajateltiin olevan ylisuuren tulehdusreaktion syntyminen seurauksena liiallisesta proinflammatoristen molekyylien tuotannosta.^{20, 22-25} Sepsispotilaiden tulehdusreaktioissa on kuitenkin havaittu ilmenevän huomattavaa vaihtelua ylisuuresta tulehdusvasteesta immunosuppressioon, ja jopa yksittäisen potilaan kohdalla voi olla vaikea määrittää, millaisesta reaktiosta on milläkin hetkellä kyse. Nykyisen käsityksen mukaan on selvää, ettei sepsiksen taustalla olevissa patofysiologissa prosesseissa ole kyse vain

yksinkertaisesta tulehdusjärjestelmän toimintahäiriöstä vaan muutoksia esiintyy useiden eri elinjärjestelmien toiminnassa, eikä niiden yksittäisiä vaikutuksia tautiprosessin kulkuun täysin tunneta.²⁰

Sepsispotilailla on merkittäviä henkeä uhkaavia muutoksia muun muassa veren hyytymisjärjestelmän toiminnassa. Järjestelmän toiminnassa on pystytty kuvaamaan monia muutoksia, mutta yksiselitteistä syytä koagulopatialle ei ole kyetty osoittamaan. Sepsispotilailla yleisessä disseminoituneessa intravaskulaarisessa koagulopatiassa (DIC, disseminated intravascular coagulation) verihiutaleiden kulutus ja veren hyytyminen on paikoitellen lisääntynyt niin voimakkaasti, että se johtaa yleistyneeseen hyytymisjärjestelmän häiriöön, jonka vaikutukset näkyvät paikallisina verenvuotoina ja toisaalta verisuonien tukkeutumisena.^{20, 26, 27}

Veren hyytymisjärjestelmän poikkeavuuksien lisäksi sepsispotilailla on havaittu häiriöitä myös glukoosimetaboliassa, lisämunuaisten toiminnassa sekä solujen toimintaa säätelevissä mekanismeissa, minkä on havaittu johtavan muun muassa neutrofiilien yliaktiivisuuteen ja toisaalta lymfosyyttien kiihtyneeseen tuhoutumiseen ja siten heikentyneeseen sytokiinien tuotantoon.^{20, 28-33}

Infektio sepsiksen laukaisijana

Sepsis on siis kliininen syndrooma, jossa potilaalla on sekä infektio että yleistynyt tulehdusreaktio. Infektio on määritelty patogeenisten tai potentiaalisesti patogeenisten mikro-organismien invaasioksi normaalisti steriiliin kudokseen tai ruumiinonteloon esimerkiksi vereen, vatsaonteloon tai virtsarakkoon. Bakteeri-infektioiden lisäksi myös virusten, sienten ja parasiittien aiheuttamat infektiot voivat aiheuttaa sepsiksen.^{18, 19}

Isäntäeläimen solujen Toll-like-reseptorit (TLR) tunnistavat mikro-organismeille tyypillisiä molekulaaarisia rakenteita, joita ei yleensä esiinny isännän omassa elimistössä (pathogen associated molecular patterns, PAMPs). Näihin rakenteisiin kuuluvat viruksille tyypillinen kaksijuosteinen RNA, gram-negatiivisten bakteerien lipopolysakkaridi (LPS) ja gram-positiivisten lipoteikkohapot sekä liikkuville mikro-

organismeille ominainen flagelliini. TLR:t ovat osa luonnollista immunitettä, eivätkä ne tarvitse aiempaa altistusta tunnistukseen mikrobien rakenteita. Niiden sitoutuminen ligandiin (PAMP) käynnistää proinflammatoristen geenien transkriptioon johtavaan signaalinvälityksen. TLR:n käynnistämä signaalitransduktio voi edetä useita osittain keskenään risteäviä kaskadeja pitkin, mikä mahdollistaa monimuotoisen ja vaihtelevan vasteen syntymisen.¹⁸

Sepsiksen patofysiologia vastasyntyneillä varsoilla

Vastasyntyneiden varsojen, tai aikuisten hevostenkaan, osalta tutkimusta sepsiksen patofysiologiasta ei ole juuri tehty, vaan kirjallisuudessa on hyödynnetty lääketieteen käsitystä aiheesta.¹³⁻³⁶ Royn³⁶ mukaan monielinvauriossa hevospotilailla voidaan havaita muun muassa kaviokuumetta, merkkejä veren hyytymisjärjestelmän häiriöistä, hengityselinten, ruansulatuskanavan ja munuaisten toimintahäiriöitä (esimerkiksi valtimoveren hypoksia, ähky, vähävirtsaisuus) tai verenkiertoelimistön toimintahäiriöitä kuten verenpaineen alentumista tai maitohappoasidoosia.

Infektiopotit

Mahdollisina infektioireitteinä vastasyntyneillä varsoilla pidetään ruansulatuskanavaa, hengitysteitä, haavoja sekä napaa. Infektoituminen voi tapahtua synnytyksen yhteydessä tai sen jälkeen. Myös sikiön infektoituminen tiineyden aikana istukkatulehduksen (plasentiitin) seurauksena on tavallista. Nykyään suolistoa pidetään kuitenkin napaa merkittävämpänä infektioireittinä.^{13, 14, 37, 38}

Lääketieteessä alkuperäisen infektioireitin on havaittu vaikuttavan sepsispotilaan ennusteeseen. Esimerkiksi keuhkotulehdukselta sairastaneiden sepsispotilaiden kuolleisuus on hoitokokeissa ollut suurempi kuin niiden potilaiden, joiden sepsis on syntynyt virtsatietulehduksen seurauksena.¹⁸

Altistavat tekijät

Kirjallisuudessa on esitetty lukuisia niin varsaan, tammaan kuin ympäristötekijöihin liittyviä vastasyntyneen varsan infektiolle ja sepsikselle altistavia tekijöitä.^{5, 13, 14, 37} Epidemiologisten tutkimusten puuttuessa näyttö näiden tekijöiden todellisesta merkityksestä sepsikselle altistavina tekijöinä on vähäistä.

Ympäristötekijöistä infektiolle ja sepsikselle altistavina tekijöinä on pidetty esimerkiksi ympäristön likaisuutta, huonoa hygieniaa, liian suurta eläintiheyttä ja huonoa ilmanvaihtoa.^{13, 14} Myös talleilla esiintyvien endeemisten infektioiden kuten salmonelloosin tai rotavirustartuntojen on arveltu olevan altistavia tekijöitä.³⁷

Varsaan liittyvistä tekijöistä ennen aikaista syntymää on pidetty merkittävänä sepsikselle altistavana tekijänä. Toisaalta myös yli pitkän kantoajan (yli 365 päivää), on katsottu voivan heikentää varsan selviämismahdollisuuksia.^{5, 37, 40} Myös täysiaikaisena syntyneiden kehittymättömien eli epäkypsien varsojen, synnytyksen aikaisesta hapenpuutteesta kärsineiden varsojen sekä varsojen, joita on jouduttu elvyttämään synnytyksen yhteydessä, on katsottu olevan riskivarsoja. Lisäksi mitä tahansa poikkeavuuksia, kuten suun tai jalkojen epämuodostumia on pidetty mahdollisesti sepsikselle altistavina tekijöinä.³⁷

Myös tammaan terveydentilalla ja synnytyksen sujumisella on katsottu olevan vaikutusta varsan sairastumiseen. Tutkimuksissa on raportoitu muun muassa käynnistetyn synnytyksen, synnytysvaikeuksien (dystokia), istukan ennen aikaisen irtoamisen sekä tammaan istukatulehduksen (plasentiitti) liittyneen varsojen sepsikseen.⁵⁻⁸ Vertailua terveiden varsojen populaatioon ei kyseisissä tutkimuksissa kuitenkaan ole tehty. Myös tammaan kroonisia terveysongelmia, huonoa ravitsemustilaa, tiineyden aikaisia akuutteja sairauksia, kuten kuumeilua ja ähkyä, sekä pitkäkestoista kuljetusta viimeisen tiineyskuukauden aikana on pidetty varsan infektiolle altistavina tekijöinä.³⁷

Vasta-ainepuutos

Tamman diffuusin epителиokoriaalisen istukan vuoksi varsan veren vasta-ainepitoisuudet ovat syntyessä alhaiset, ja sen on saatava immuunipuolustuksen kannalta välttämättömät vasta-aineet tamman ternimaidosta.^{41,42} Vasta-ainepuutoksen määritelmän osalta esiintyy jonkin verran ristiriitaisuuksia, mutta yleisimmin käytetyn määritelmän mukaan varsan katsotaan kärsivän vasta-ainepuutoksesta (failure of passive transfer, FPT), mikäli seerumin IgG-pitoisuus on 24 tunnin iässä mitattuna alle 4g/l. Seerumin IgG-pitoisuuden ollessa 4-8g/l kyseessä on osittainen vasta-ainepuutos (partial failure of passive transfer, pFPT). Optimaalisena varsan seerumin IgG-pitoisuutena 24 tunnin iässä pidetään yli 8g/l. Vastasyntyneiden varsojen vasta-ainepuutoksen esiintyvyys on vaihdellut pohjoisamerikkalaisissa ja australialaisissa siittoloissa tehdyissä tutkimuksissa 3-20 %.^{41, 43-49}

Useissa tutkimuksissa on havaittu yhteys vasta-ainepuutoksen ja vastasyntyneiden varsojen sepsiksen välillä.^{1, 2, 43, 49, 50} Vuonna 1993 julkaistussa prospektiivisessä tutkimuksessa⁵¹ todettiin sepsis veriviljelynäytteen perusteella viidellä kahdeksasta varsasta, joita estettiin saamasta ternimaitoa. Verrokkiryhmänä toimi kuusi samanlaisissa olosuhteissa pidettyä varsaa, jotka saivat imeä tammaa normaalisti heti syntymän jälkeen. Nämä varsat pysyivät terveinä tutkimuksen ajan. Tuloksen tilastollista merkitsevyyttä ei ole tutkimuksessa kuitenkaan raportoitu.

Toisaalta useiden varsojen on raportoitu pysyneen terveenä vasta-ainepuutoksesta huolimatta. Baldwinin ym.⁴⁸ tutkimuksessa vasta-ainepuutoksen esiintyvyys oli 13,6 % (18/132), vaikka kaikkien varsojen ternimaidon riittävä ja oikea-aikainen saanti varmistettiin. Tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa infektioiden sairastumisessa ja kuolleisuudessa hypogammaglobulinemisten ja normogammaglobulinemisten varsojen välillä. Tämä antaa viitteitä siitä, että varsan vasta-aineiden saannin lisäksi olosuhteilla, eläinten käsittelyllä, stressillä, muilla sairauksilla ja taudinaiheuttajien virulenssitekijöillä on vaikutusta sepsiksen kehittymiseen.^{41, 48}

3. Sepsiksen diagnosoiminen

Kliinikon kannalta vastasyntyneen varsan sepsiksen tunnistaminen on ensiarvoisen tärkeää sopivan, oikea-aikaisen hoidon aloittamiseksi ja potilaan ennusteen arvioimiseksi. Haasteelliseksi tehtävän tekee sepsisoireiden epäspesifisyys sekä sairauden nopea eteneminen. Varsan tila voi muuttua hetkessä lievistä väsyneisyydestä septiseen shokkiin.^{13, 14, 34}

Sepsiksen kliiniset oireet varsoilla

Tavallisia sepsiksen oireita varsoilla ovat väsyneisyys, haluttomuus imeä sekä heikkous. Pahimmillaan varsa on niin heikko, ettei kykene seisomaan. Varsan tajunnan taso voi olla laskenut, se voi kouristella tai sillä voidaan havaita muita neurologisia oireita. Vakavimmillaan varsa voi vaipua koomaan.^{5, 13}

Sepsisvarsan ruumiinlämpö voi olla normaali tai lievästi kohonnut, joten sepsistä ei tule pois sulkea normaalin ruumiinlämmön perusteella. Varsalla voi olla myös korkea kuume tai se voi olla alilämpöinen. Taudin alkuvaiheessa hengitysäänet ja -tiheys voivat usein olla normaalit, vaikka keuhkoihin olisi jo ehtinyt kehittyä patologisia muutoksia. Limakalvot voivat olla verkkäät (hypereemiset), vaaleat, harmaat tai syanoottiset, riippuen sokkitilan etenemisestä. Limakalvoilla voidaan myös havaita pistemäisiä verenvuotoja eli petekkioita. Myös silmien kovakalvoilla havaitaan usein verisuonten injektoitumista.^{5, 13, 14}

Sepsikseen liittyvien epäspesifisten oireiden lisäksi varsoilla voidaan havaita merkkejä eri elinjärjestelmien paikallisista tulehduksista. Ripuli on yksi yleisimmistä sepsikseen liittyvistä oireista. Muita paikallisista tulehduksista kertovia oireita ovat esimerkiksi hengitystieoireet, nivelten ja luiden kasvulinjojen alueiden turvotukset sekä ontuminen, uveiitti, sekä ihonalaiset paiseet. Napa voi vaikuttaa ulospäin normaalilta kehittyvästä tulehduksesta tai paiseesta huolimatta, joten ultraäänitutkimus voi olla hyödyllinen tilanteen varmistamisessa.^{5, 6, 13}

Tarkemmin vastasyntyneen varsan sepsiksen kliinisistä oireista ja kliinispatologisista löydöksistä on kerrottu ELL Krisse Koikkalaisen syventävien opintojen tutkielmassa, jossa on käsitelty myös sepsiksen diagnosoimiseen kehitettyjä pisteytysjärjestelmiä (sepsis score).⁵²

Veriviljely sepsiksen diagnostiikassa

Varsojen sepsiksen on todettu olevan useimmiten bakteeri-infektion aiheuttama.^{5, 8, 11, 12, 53} Yleistyneen bakteeri-infektion diagnoosin kultaisena standardina pidetään aiheuttajamikrobin eristämistä veriviljelynäytteestä. Veriviljelytulosten hitaan (24-48 h) valmistumisen ja sairauden nopean etenemisen vuoksi sepsisoireisten varsojen laajakirjoinen antibioottilääkitys suositellaan aloitettavaksi jo ennen viljelytulosten valmistumista.^{7,8,10-12} Veriviljelyllä on tärkeä merkitys diagnoosin ja antibioottivalinnan varmistamisessa. Lisäksi sairaalaan saapuvien varsojen veriviljelynäytteiden seuranta tutkimus mahdollistaa ensisijaisen mikrobilääkkeen valinnan aiemmin eristettyjen aiheuttajamikrobien esiintyvyyden ja mikrobilääkeherkkyyksien perusteella.^{10, 12, 54}

Veriviljelyn herkkyys ja tarkkuus

Huolellisella näytteenottotekniikalla veriviljelynäytteen tarkkuuden (spesifisyyden) on arveltu olevan jopa 100 %, kun näytteen kontaminoituminen on estetty.⁷ Lääketieteessä kontaminoituneita veriviljelynäytteitä pidetään kuitenkin merkittävänä ongelmana.^{55, 56} Kontaminoituneiden veriviljelynäytteiden osuus on esimerkiksi vaihdellut 1-11 % pelkästään riippuen veriviljelynäytteitä ottavien henkilöiden kokemuksesta.^{55, 57}

Vuonna 1989 julkaistussa tutkimuksessa Wilson ym. havaitsivat varsoilta otetun veriviljelyn sensitiivisyydeksi 80,9 %. Tutkimuksessa verrattiin eläviltä varsoilta otettujen veriviljelynäytteiden tuloksia ruumiinavauksessa otettujen viljelynäytteiden tuloksiin. Erityisesti vääriä negatiivisia veriviljelytuloksia saatiin gram-negatiivisten bakteerien ollessa sepsiksen aiheuttajina. Tutkimuksessa eristetyistä *Escherichia coli* -kannoista 59 % (10/17) saatiin viljeltyä vasta ruumiinavausnäytteistä.¹²

Mahdollisia syitä väärille negatiivisille veriviljelytuloksille ovat ennen näytteenottoa aloitettu antibioottihoito, näytteen käsittelyssä tai kuljetuksessa tapahtuneet virheet, valittu viljelytekniikka sekä bakteerien määrän vaihtelu veressä. Lisäksi varsa on voinut saada infektion myös näytteenoton jälkeen. Näiden tekijöiden vaikutusta vastasyntyneiden varsojen veriviljelytuloksiin ei kuitenkaan ole tutkittu.^{7, 12}

Veriviljelyn herkkyuden parantaminen

Veriviljelyn herkkyyttä sepsisdiagnoosissa voidaan parantaa ottamalla useita veriviljelynäytteitä 1-2 tunnin välein ennen antibiootihoidon aloittamista. Hoidon aloittamista ei tule kuitenkaan lykätä liiaksi, sillä se heikentää potilaan ennustetta. Ihmisillä antibiootihoidon nopean aloittamisen on havaittu merkittävästi parantavan sepsispotilaiden selviytymistä.^{55, 58-60}

Tilanteessa, jossa potilaalle on aloitettu antibioottilääkitys ennen veriviljelynäytteen ottoa, voidaan veriviljelyn herkkyyttä parantaa lisäämällä pelkistävää ainetta, esimerkiksi resiisiä, elatusaineeseen. Menetelmän tehosta on saatu lupaavaa näyttöä eristettäessä *Escherichia coli* -kantoja gentamisiiniä sisältävästä hevosen verestä *in vitro*. Tutkimuksessa resiiniä sisältävää elatusainetta käyttämällä saatiin *E.coli* eristettyä verinäytteestä kaksi kertaa useammin kuin tavanomaista elatusainetta käyttämällä. Menetelmän toimivuus sairaiden varsojen veriviljelynäytteiden tutkimisessa täytyy kuitenkin varmistaa kliinisellä kokeella.⁶¹

PCR

Tulevaisuudessa varsojen sepsiksen mikrobiologista diagnoosia voidaan mahdollisesti nopeuttaa myös perinteisen bakteeriviljelyn lisäksi tehtävällä taudinaiheuttajien virulenssigeenien tunnistukseen perustuvalla PCR-tekniikalla (polymerase chain reaction). Vastasyntyneiden varsojen verestä eristettyjen *E.coli* -kantojen virulenssigeenien tunnistuksessa on PCR-tekniikalla saavutettu hyvä analyttinen spesifisyys ja sensitiivisyys, mutta menetelmän tarkkuutta perinteiseen bakteeriviljelyyn ei ole vielä verrattu.⁶²

4. Sepsiksen aiheuttajamikrobit

Vastasyntyneillä varsoilla sepsis on useimmiten seurausta bakteeri-infektiosta. Viimeisimpien tutkimusten perusteella yleisin vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajabakteeri on *Escherichia coli*.⁷⁻¹² Laajassa retrospektiivisessä tutkimuksessa vuosilta 1982 -2007 Sanchez ym.⁹ raportoivat *E.colin* osuudeksi yli 30 prosenttia sepsisvarsoista otetuista positiivista veriviljelytuloksista. Eräässä tutkimuksessa *E.colin* osuus veriviljelynäytteistä eristetyistä bakteereista oli jopa 50 % (12/24).⁶³

E. coli ohella myös muut enterobakteereihin (*Enterobacteriaceae*) kuuluvat gram-negatiiviset bakteerit kuten *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp sekä *Salmonella* spp. ovat tavallisia löydöksiä sepsisvarsoilta otetuissa viljelynäytteissä. Muista gram-negatiivisista bakteereista yleisimpiä vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajia ovat *Actinobacillus* spp., joiden osuus on vaihdellut eri tutkimuksissa 3,4 prosentista 22 prosenttiin.⁷⁻¹² Sanchez'n ym.⁹ mukaan *Actinobacillus* spp. osuus on vähentynyt 1980-luvulta 90- ja 2000-luvuille. 1980- ja 2000-lukujen vertailun osalta tulos ei kuitenkaan ole tilastollisesti merkitsevä.

Gram-positiivisten bakteerien osuuden on havaittu lisääntyneen 2000-luvulle tultaessa.^{9, 10, 64} Eräässä tutkimuksessa⁹ gram-positiivisten osuus oli kasvanut 80-luvun 19,5 prosentista 2000-luvun 30,5 prosenttiin. Tältä osin tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä, mutta gram-negatiivisten bakteerien osuuden pienenemisen osalta kyllä. Gram-positiivisista bakteereista yleisimpiä vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajia ovat olleet *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp. ja *Enterococcus* spp.⁷⁻¹²

Anaerobisten bakteerien osuus sepsiksen aiheuttajista on vaihdellut eri tutkimuksissa jääden vajaaseen viiteen prosenttiin. Sienistä lähinnä *Candida* spp. on eristetty yksittäisiltä sepsisvarsoilta.⁷⁻¹²

| Tutkimus | Wilson ym. 1989 ¹² | Brewer ym. 1990 ¹¹ | Raisis ym. 1996 ⁶³ | Marsh ym. 2001 ¹⁰ | Stewart ym. 2002 ⁷ | Corley ym. 2007 ⁸ | Sanchez ym. 2008 ⁹ |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Tutkimuksen ajankohta | 1978- 1987 | 1982- 1987 | 1989- 1992 | 1991- 1998 | 1993- 2000 | 1995- 2004 | 1982- 2007 |
| Varsojen ikä (vrk) | ≤8 | ≤14 | <14 | ≤30 | ≤113 ^a | ≤ 10 | - |
| Varsojen lukumäärä | 47 | 251 | 24 | 543 | 101 | 85 | 423 |
| Eristetyt mikrobinäytteet (kpl) | 85 | 108 ^b | 24 | 203 | 137 | 109 | 554 |
| Sekakasvujen osuus positiivisista viljelynäytteistä (%) | 55,3 | 13,0 | - | 14,9 | 30,0 | 22,4 | - |
| Vain saapumishetken näytteet ^c | Ei | Ei | Ei | Ei | Kyllä | Ei | Ei |
| Eristettyjen aiheuttajamikrobien osuudet (%) positiivisista viljelytuloksista | | | | | | | |
| Eenteiset gram-negatiiviset | | | | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 30,6 | 42,6 | 50,0 | 18,7 | 28,5 | 33,9 | 31,1 |
| <i>Enterobacter</i> spp | 3,5 | 7,4 | 12,5 | 12,3 | 10,2 | 1,8 | 5,6 |
| <i>Klebsiella</i> spp | 12,9 | 9,3 | - | 3,9 | 8,0 | 4,6 | 6,7 |
| <i>Proteus</i> sp | - | 3,7 | 4,0 | - | 0,7 | - | - |
| <i>Salmonella</i> spp | - | 8,3 | 12,5 | 2,9 | 3,6 | - | 3,8 |
| Muut gram-negatiiviset | | | | | | | |
| <i>Acinetobacter</i> spp | - | - | - | 4,9 | - | 1,8 | - |
| <i>Actinobacillus</i> spp | 18,8 | 6,5 | 12,5 | 8,9 | 22,0 | 19,3 | 3,4 |
| <i>Citrobacter</i> spp | 4,7 | 1,9 | - | - | - | - | - |
| <i>Pasteurella</i> spp | - | 0,09 | - | 1,5 | - | - | 6,0 |
| <i>Pseudomonas</i> spp | 4,7 | 0,09 | - | 4,9 | 1,5 | 1,8 | 1,6 |
| Gram-positiiviset | | | | | | | |
| <i>Bacillus</i> spp | - | 3,7 | - | 0,5 | - | 2,8 | 4,0 |
| <i>Enterococcus</i> spp | - | - | - | 9,4 | 10,2 | 6,4 | 6,3 |
| <i>Corynebacterium</i> spp. | - | - | - | - | - | 1,8 | 2,9 |
| <i>Listeria</i> spp | - | - | - | 2,0 | 1,5 | - | - |
| <i>Staphylococcus</i> spp | 3,5 | 2,8 | - | 9,8 | 2,2 | - | 3,1 |
| <i>Streptococcus</i> spp | 8,3 | 8,3 | 8,0 | 9,4 | 7,3 | 9,2 | 9,8 |
| Anaerobit | | | | | | | |
| <i>Clostridium</i> spp | - | 2,8 | - | - | - | - | 3,8 |
| Yhteensä | 2,4 | 2,8 | - | 3,4 | 4,4 | 4,6 | 4,3 |
| Hiivat ja muut sienet | | | | | | | |
| <i>Candida</i> spp | - | - | - | 1,0 | - | - | 1,6 |
| Yhteensä | - | - | - | 1,7 | - | - | 1,8 |
| Muut bakteerit | 10,6 | 0,09 | - | 5,9 | - | 11,9 | 9,4 |

Taulukko 2. Vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajamikrobit: vuosina 1978-2007 tehdyissä tutkimuksissa raportoidut tulokset muunnettuna vertailukelpoisiksi. Tulokset on ilmoitettu aiheuttajamikrobilajien prosentiosuuksina viljelytulosten kokonaismäärästä.

^a > 90 % varsoista on ≤ 10 päivän ikäisiä.

^b Tulokset sisältävät raadonavauksen yhteydessä otettuja viljelynäytteitä muista kudoksista, kun veriviljelynäytteen tulos on ollut poikkeava tai negatiivinen.

^c Vain saapumishetken näytteet. Analysoidut näytteet koostuivat vain varsoilta sairaalaan saapumispäivänä otetuista veriviljelynäytteistä.

Aiheuttajamikrobien esiintyvyydessä on jonkin verran vaihtelua eri tutkimusten välillä. Tämän on katsottu johtuvan esimerkiksi maantieteellisestä bakteeripopulaatioiden välisestä vaihtelusta, ilmaston eroista ja muista olosuhdetekijöistä tai bakteeriviljelymenetelmien eroavaisuuksista.^{10, 44} Taulukossa 2. on esitelty tarkemmin aiempien tutkimusten tuloksia vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajamikrobien esiintymisestä. Tutkimukset on tehty pääosin Pohjois-Amerikassa.⁷⁻¹² Mukana on myös yksi Australiassa tehty tutkimus.⁶³ Kirjoittajalla ei ole tiedossa, että aiempia tutkimuksia varsojen sepsiksen aiheuttajamikrobeista olisi tehty Suomessa tai muualla Euroopassa.

Sepsiksen aiheuttajabakteerien herkkyys mikrobilääkkeille

Vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajabakteerien mikrobilääkeherkkyyttä on tutkittu muutamissa tutkimuksissa 1980- luvulta alkaen. Varsojen sepsiksen yleisimmän aiheuttajamikrobin osalta hevospraktiikassa laajasti käytetyn trimetopriimi-sulfan teho on amerikkalaisissa tutkimuksissa raportoitu olevan huono. *E.coli* -kannoista vain 57–71% oli herkkiä trimetopriimin ja sulfan yhdistelmälle. Muiden enterobakteerien ja gram-positiivisten osalta trimetopriimi-sulfan teho on aiemmissa tutkimuksissa ollut vaihtelevaa.^{10, 11} Uusimman tutkimuksen mukaan trimetopriimin ja sulfametoksatsolin yhdistelmälle oli sepsisvarsoista eristetyistä gram-positiivisista bakteereista herkkiä 79,7% ja enterobakteereista 80,4%. Muista gram-negatiivisista bakteereista herkkiä trimetopriimi-sulfametoksatsolille oli 90 %.⁹ Erityisesti *Actinobacillus* spp. osalta tilanne on hyvä, kaikkien eristettyjen kantojen ollessa herkkiä.^{10, 11}

Amerikkalaisissa tutkimuksissa penisilliinin teho varsojen sepsiksen aiheuttajia vastaan on ollut kohtalainen myös gram-positiivisten bakteerien osalta. Uusimman tutkimuksen mukaan 67,1 % varsojen veriviljelynäytteistä eristetyistä gram-positiivisista bakteereista oli penisilliinille herkkiä.⁹ Aiemmissa tutkimuksissa tulos on vaihdellut koagulaasinegatiivisten stafylokokkien 14 prosentista streptokokkien 100 prosenttiin.^{10, 11} Penisilliinin ja gentamisiinin yhdistelmä on raportoitu tehokkaaksi gram-positiivisista bakteereista 84,1 %, enterobakteereista 92,1 % ja muista gram-negatiivisista 78,9 %.⁹ *E.colin* kannoista 90–95 % on ollut herkkiä aminoglykosideihin kuuluville

amikasiinille ja 80–95% gentamisiinille sekä 80 % kolmannen polven kefalosporiinille keftiofuurille.^{10, 11}

Suomen antibioottipolitiikka eroaa huomattavasti Yhdysvaltojen tilanteesta. Aiemmin julkaistuja tutkimuksia suomalaisilta sepsisvarsoilta eristettyjen aiheuttajamikrobien mikrobilääkeresistenssistä ei ole, mutta Yliopistollisessa eläinsairaalassa saatujen varsojen veriviljelytulosten ja muiden hevospotilaiden bakteeriviljelytulosten perusteella resistenssitilanne yleisimpien aiheuttajamikrobien, kuten *Escherichia colin* ja streptokokkien, osalta vaikuttaa amerikkalaistutkimuksissa raportoitua paremmalta.⁶⁶

II Tutkimusosa

5. Työn tausta ja tarkoitus

Tutkimuksen aiheena on vastasyntyneiden varsojen sepsiksen veriviljelydiagnostiikan käyttö Yliopistollisessa eläinsairaalassa (YES). Tutkimuksen aloittamishetkellä Yliopistollisessa eläinsairaalassa ei ollut vakioitua käytäntöä sairaiden varsojen ensihoidon ja tutkimusten toteuttamisessa eikä varsojen sepsiksen diagnosoinnissa, vaan klinikko valitsi tapauskohtaisesti potilaalleen tarpeelliseksi katsomansa tutkimukset ja hoidot. Suomessa ei ole myöskään aiemmin julkaistu tuloksia vastasyntyneiden varsojen veriviljelytuloksista ja sepsiksen aiheuttajamikrobien antibioottiherkkyydestä.

Vuodesta 2003 lähtien YES:ssa on ollut mahdollisuus käyttää klinisen mikrobiologian laboratorion (HUSLAB, Helsingin- ja Uudenmaansairaanhoidopiiri) palveluja varsojen veriviljelynäytteiden tutkimiseksi. Tutkimuksessa haluttiin selvittää, kuinka suurelta osalta Yliopistollisessa eläinsairaalassa hoidetuista vastasyntyneistä varsoista oli otettu veriviljelynäyte, mitä aiheuttajamikrobeja vastasyntyneiltä varsoilta otetuissa veriviljelynäytteissä esiintyy, ja mikä on merkittävimpien aiheuttajamikrobien mikrobilääkeherkkyys. Lisäksi haluttiin selvittää kuinka suurta osaa sairaalaan korkeintaan 10 päivän ikäisinä tuoduista varsoista oli hoidettu mikrobilääkkeillä, ja mitä mikrobilääkkeitä oli käytetty.

6. Aineisto ja menetelmät

Kyseessä on retrospektiivinen deskriptiivinen tutkimus. Tutkimuksen aineistona ovat Yliopistollisessa eläinsairaalassa vuosina 2004–2006 hoidetut alle kymmenen päivän ikäiset varsat. Varsojen potilastiedot kerättiin käsin Yliopistollisen eläinsairaalan potilasohjelmista (Provet ja vanha potilasohjelma). Aineiston keräämiseen käytettiin aiemman varsojen sepsiksen diagnostiikkaa koskevan tutkimuksen³⁹ pohjalta

muokattua kaavaketta (liite I), joka sisältää muun muassa varsan ja tamman esitiedot, sepsiksen diagnosoinnissa käytettäviä kliinisiä ja kliinispatologisia muuttujia, tiedot varsan paikallisista infektioista, mahdolliset veriviljelytulokset sekä varsan hoidon aikana saamat mikrobilääkkeet.

Kliinisen tutkimuksen ja verinäytteiden (hematologinen ja kliniskemiallinen analyysi) tuloksista valittiin varsan saapumisen jälkeen ensimmäisinä otetut. Yli vuorokauden jälkeen varsan sairaalaan saapumisesta saatuja tuloksia ei otettu mukaan tutkimukseen. Veriviljelytulokset (aiheuttaja ja antibioottiherkkyys) saatiin HUSLABin arkistosta, lukuun ottamatta kolmea varsaa, joiden veriviljelytiedot olivat saatavilla ainoastaan potilasohjelman kirjauksista. Myös näiden varsojen verinäytteet oli viljelty HUSLABissa.

Veriviljelynäytteet oli otettu varsoilta sairaalaan saapuessa ennen antibiootihoidon aloittamista klinikon harkinnan mukaan. Verta otettiin aseptista tekniikkaa käyttäen laskimopunktiolla kaulalaskimosta (*Vena jugularis*) tai etujalan laskimosta (*Vena cephalica*) tai iv-katetrin asettamisen yhteydessä kaulalaskimosta. Verta otettiin 4-10 ml kaupallisiin aerobi- ja anaerobiveriviljelypulloihin (BacT/Alert®, bioMérieux, Charbonnier les Bains, Ranska). HUSLABissa veriviljelynäytteiden alustavaan viljelyyn käytettiin automaattista viljelykaappia (BacT/Alert®, bioMérieux, Charbonnier les Bains, Ranska). Bakteerikantojen jatkoviljelyt ja tunnistus tehtiin konventionaalisin menetelmin.⁶⁷ Eristettyjen bakteerikantojen mikrobilääkeherkkydet testattiin kiekkoherkkyysmenetelmällä tai E-testillä.⁶⁸

7. Tulokset

Kaikkiaan 90 vuosien 2004- 2006 aikana hoidetusta varsasta 27 (30 %) oli saatavilla veriviljelytulos. Yhteensä 24 varsalta veriviljelynäytteet oli otettu 24 tunnin kuluessa sairaalaan saapumisesta. Tuloksissa jätettiin huomioimatta kolmen varsan veriviljelytulokset. Kahdelta varsalta veriviljelynäytteet oli otettu myöhemmin kuin 24 tuntia varsan sairaalaan saapumisesta, ja yhden varsan osalta ei ollut tiedossa veriviljelynäytteen ottoajankohtaa.

Tutkimukseen valituista 24 varsan veriviljelynäytteistä positiivinen viljelytulos saatiin 15 (62,5 %) ja negatiivinen vastaavasti yhdeksästä (37,5 %) näytteestä. Positiivisista veriviljelynäytteistä yhdeksässä (60,0 %) kasvoi enemmän kuin yhtä bakteerilajia. Kahta bakteerilajia kasvoi kuudessa näytteessä ja kolmessa näytteessä kasvoi kolme eri bakteerilajia. Taulukossa 3. on esitetty positiivisista veriviljelynäytteistä esitetyt bakteerilajit.

Esitietojen mukaan viittä tutkimukseen hyväksyttyä varsaa oli lääkitty mikrobilääkkeellä ennen veriviljelynäytteen ottamista. Kolmea varsaa oli lääkitty penisilliinillä, yhtä penisilliinillä ja gentamysiinillä sekä yhtä trimetopriimin ja sulfadiatsiinin yhdistelmällä. Penisilliinillä lääkityistä varsoista yhden veriviljelytulos oli negatiivinen, yhden veriviljelynäytteessä kasvoi *Escherichia coli* ja yhden veriviljelynäytteessä kasvoi *Enterococcus* spp., *Streptococcus viridans* sekä koagulaasinegatiivinen stafylokokki. Penisilliinillä ja gentamysiinillä lääkityn varsan veriviljelynäytteessä kasvoi *E. coli*, ja trimetopriimi-sulfadiatsiinilla lääkityn näytteessä *Streptococcus viridans* sekä tunnistamaton gram-positiivinen sauva.

Mikrobilääkeherkkydet määritettiin kaikille positiivisista veriviljelynäytteistä eristetyille bakteerikannoille. Taulukossa 4. on esitetty veriviljelynäytteistä eristettyjen *Escherichia coli* -kantojen herkkydet eri mikrobilääkkeille. Yhden *E.coli* -kannan osalta mikrobilääkeherkkyystuloksia ei ollut saatavilla.

| Veriviljelynäytteistä eristetyt bakteerit | Lkm (kpl) | Osuus (%) | Puhdas-kasvuja (kpl) | Patogeenisyys |
|---|-----------|-----------|----------------------|-----------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 23,1 | 3 | patogeeni |
| <i>Streptococcus viridans</i> | 4 | 15,4 | 1 | todennäköinen kontaminantti |
| <i>Staphylococcus</i> sp., koagulaasinegatiivinen | 3 | 11,5 | - | mahdollinen kontaminantti |
| <i>Streptococcus equi zooepidemicus</i> | 1 | 3,8 | - | patogeeni |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 1 | 3,8 | - | mahdollinen patogeeni |
| <i>Enterococcus</i> sp. | 1 | 3,8 | - | patogeeni |
| <i>Bacillus cereus</i> | 1 | 3,8 | 1 | mahdollinen patogeeni |
| <i>Micrococcus</i> sp. | 1 | 3,8 | - | todennäköinen kontaminantti |
| Luokittelemattomat gram-positiiviset lajit | 3 | 11,5 | - | |
| Luokittelemattomat gram-negatiiviset lajit | 5 | 19,2 | - | |
| Yhteensä | 26 | | | |

Taulukko 3. Varsojen veriviljelynäytteistä eristetyt bakteerilajit.

| Varsat | A | B | C | D | E |
|--------------------------------|---|---|---|---|---|
| Mikrobilääke | | | | | |
| amoksisilliini-klavulaanihappo | S | - | S | S | - |
| ampisilliini | I | S | R | S | S |
| doksisykliini | - | - | S | S | S |
| gentamisiini | - | - | R | S | S |
| kefotaksiimi | S | - | S | S | - |
| keftatsidiimi | S | - | S | S | - |
| keftriaksoni | - | S | - | S | S |
| kefuroksiimi | S | - | S | S | - |
| levofloksasiini | S | - | S | S | - |
| meropeneemi | S | - | S | S | - |
| piperasilliini-tatsobaktaami | S | - | S | S | - |
| siprofloksasiini | S | S | S | S | S |
| tobramysiini | S | S | S | S | - |
| trimetopriimi-sulfadiatsiini | S | S | R | S | S |

Taulukko 4. Varsojen veriviljelynäytteistä eristettyjen *E.colien* mikrobilääkeherkkydet.

Yhteensä 90 sairaalaan saapuneesta vastasyntyneestä varsasta 70 (77,8 %) oli lääkitty yhdellä tai useammalla mikrobilääkkeellä sairaalassaoloaikana. Yhteensä 60 % (42/70) mikrobilääkkeillä lääkityistä varsoista antibioottia oli vaihdettu hoidon aikana vähintään kerran. Taulukossa 5. on esitetty tarkemmin eri mikrobilääkkeiden käyttö varsoilla. Mikrobilääkkeet oli annettu varsoille suun kautta, injektioina laskimoon, lihakseen tai nahan alle. Antoreittiä ei ole huomioitu tuloksissa. Kaksi varsaa oli lisäksi saanut polymyksiini B:tä, neomysiiniä ja gramisidiiniä sisältäviä silmätippoja ja yhtä varsaa oli lääkitty nivelensisäisesti linkomysiinillä.

| Käytetty mikrobilääke | Varsojen lukumäärä, jolle käytetty (kpl) | Osuus (%) kaikista mikrobilääkityistä varsoista |
|------------------------------|--|---|
| trimetopriimi-sulfadiatsiini | 43 | 61,4 |
| penisilliini ja gentamisiini | 24 | 34,3 |
| ampisilliini ja gentamisiini | 14 | 20,0 |
| keftiofuuri | 11 | 15,7 |
| doksisykliini | 7 | 10,0 |
| penisilliini | 4 | 5,7 |
| rifampisiini ja penisilliini | 3 | 4,3 |
| keftiofuuri ja gentamisiini | 2 | 2,9 |
| metronidatsoli | 2 | 2,9 |
| oksitetrasykliini | 2 | 2,9 |
| doksisykliini | 1 | 1,4 |

Taulukko 5. YES:ssa vuosina 2004-2006 alle 10 päivän ikäisille varsoille käytetyt mikrobilääkkeet.

8. Pohdinta

Kolmen vuoden aikana Yliopistolliseen eläinsairaalaan saapuneista alle 10 päivän ikäisistä varsoista vain 30 % oli otettu veriviljelynäyte vuorokauden sisällä sairaalaan saapumisesta. Tulos poikkeaa huomattavasti ulkomaisten varsojen tehohoitoon erikoistuneiden yksiköiden (neonatal intensive care unit, NICU) käytännöstä ottaa veriviljelynäyte kaikilta varsoilta sairaalaan saapumisen yhteydessä.¹⁰⁻¹² Esimerkiksi eräässä teksasilaisessa varsojen tehohoitoyksikössä (Neonatal Intensive Care Unit of the George D. Widmer Hospital for Large Animals) kahdeksan vuoden aikana hoitoon tulleista varsoista lähes 70 % oli otettu vähintään yksi veriviljelynäyte tunnin sisällä sairaalaan saapumisesta.¹⁰

Mahdollisuus systemaattisesti tutkia vastasyntyneiden varsojen veriviljelynäytteitä oli ollut käytössä Yliopistollisessa eläinsairaalassa vain vuoden ajan ennen tutkimusjakson alkua. Vakioitua ohjeistusta vastasyntyneiden varsojen tutkimisesta ja varsojen sepsiksen diagnostiikasta ei ollut. Menetelmän ”uutuus” ja ohjeistuksen puute ovat todennäköisesti vaikuttaneet veriviljelyn käytön vähyyteen, sillä klinikko on tehnyt jokaisen varsan osalta tapauskohtaisen päätöksen veriviljelynäytteen tarpeellisuudesta sen sijaan, että kaikilta varsoilta olisi rutiininomaisesti otettu veriviljelynäyte.

Veriviljelyllä on kuitenkin tärkeä merkitys sepsisdiagnoosin ja valitun antibiootihoidon varmistamisessa. Myös alustavan antibiootihoidon valinnan on syytä pohjautua tutkittuun tietoon kyseisessä sairaalassa esiintyvistä varsojen sepsiksen aiheuttajista ja niiden herkkydestä mikrobilääkkeille.^{10, 12, 54}

Aiheuttajabakteerien esiintyvyys

Suurimman ryhmän tutkimuksessa veriviljelynäytteistä eristetyistä vastasyntyneiden varsojen sepsiksen aiheuttajamikrobeista muodosti *Escherichia coli*, jota esiintyi 40 % (6/15) kaikista positiivisista veriviljelynäytteistä. *E.colin* osuus kaikista eristetyistä bakteerikannoista oli 23 % (6/26). Tämä vastaa kirjallisuudessa aiemmin esitettyjä tuloksia.⁸⁻¹² Gram-positiivisten bakteerien osuus oli 57,7 % (15/26) kaikista eristetyistä

bakteerikannoista. Mahdollisten kontaminanttien suuresta esiintyvyydestä johtuen tulosta on vaikea verrata aiempiin tutkimuksiin, joissa on ollut havaittavissa gram-positiivisten aiheuttajamikrobien esiintyvyyden kasvua.^{10, 64}

Yhteensä 30,7 % eristetyistä bakteerikannoista ei pystytty tunnistamaan lajitasolle asti, mikä johtuu todennäköisimmin näytteiden tutkimisesta ihmisten näytteiden tutkimiseen perehtyneessä laboratorioissa (HUSLAB), jossa ei ole eläinten patogeenejä kattavaa erityisosaamista. Tutkimuksen heikkoutena on, ettei näiden tunnistamatta jääneiden bakteerikantojen merkitystä varsojen veriviljelylöydöksinä voida arvioida.

***Escherichia coli* -kantojen herkkyys mikrobilääkkeille**

Tuloksissa on esitetty varsoista useimmiten eristettyjen *Escherichia coli* -kantojen herkkyudet eri mikrobilääkkeille. Yksi eristetyistä *E.coli* -kannoista oli resistentti ampicilliinille, gentamisiinille ja trimetopriimi-sulfadiatsiinille, ja toisen *E.coli* -kannan herkkyys oli heikentynyt (intermediate, I) ampicilliinille. Tulos osoittaa, ettei Suomessakaan yleisten taudinaiheuttajien herkkyys yleisesti käytetyille mikrobilääkkeille ole täydellinen. Tämä puoltaa varsojen veriviljelynäytetulojen seurantaan ja antibioottihoidon varmistamista veriviljelynäytteen perusteella.

Muut eristetyt *E.coli* -kannat olivat herkkiä kaikille niillä testatuille antibiooteille. Jokaiselle kannalle ei ole testattu kaikkia samoja mikrobilääkkeitä, mikä johtuu siitä, että viljelyt tehtiin ihmisten näytteiden tutkimiseen suuntautuneessa laboratorioissa, jolla ei ole eläinpatogeeneihin liittyvää erityisosaamista. Tämän vuoksi bakteerikantojen herkkyys on testattu myös useille mikrobilääkkeille, jotka eivät ole käytössä eläinlääketieteessä. Koska gentamisiinille esiintyi resistenssiä yhdellä *E.coli* -kannalla, on harmillista, että kahden muun *E.coli* -kannan herkkyyttä gentamisiinille ei ollut lainkaan testattu. Näiden kahden kannan herkkyys oli kuitenkin testattu toiselle aminoglykosidiryhmän antibiootille, tobramysiinille, jolle molemmat kannat olivat herkkiä. Paljon käytetyn penisilliinin ja gentamysiinin yhdistelmän tehosta *E.coliin* saatiin siltä osin tietoa, että 3/5 *E.coli*-kannasta oli herkkä ampicilliinin ja jonkin aminoglykosidin yhdistelmälle. Lisäksi kanta, joka oli ampicilliinille herkkyydeltään

alentunut, oli kuitenkin tobramysiinille herkkä. Aiemmissa tutkimuksissa penisilliinin ja gentamisiinin tehon *E.colia* ja muita enterisiä gram-negatiivisia bakteereja vastaan on raportoitu olleen hyvä^{9, 64}, eikä ole syytä olettaa, että tilanne Suomessa olisi huonompi.

Muiden kliinisesti merkittävien mikrobilajien kuin *E.colin* osalta ei tässä tutkimuksessa esitetty herkkyysmääritysten tuloksia, sillä yksittäisten bakteerikantojen mikrobilääkeherkkyyksien merkityksen arvioiminen kokonaistilanteen kannalta on kyseenalaista.

Kontaminanteja ja mahdollisia patogeenejä

Tutkimukseen valituista 24 varsan veriviljelynäytteestä 15 saatiin positiivinen viljelytulos (62,5 %). Positiivisten veriviljelytulosten osuus on suurempi kuin aiemmissa tutkimuksissa on raportoitu.^{10, 11} Tulokset eivät kuitenkaan ole vertailukelpoisia, sillä edellä mainituissa tutkimuksissa veriviljelynäytteet oli kerätty kaikilta sairaalaan saapuvilta varsoilta. Tässä tutkimuksessa veriviljelynäytteet oli otettu hoitavan eläinlääkärin tekemän valinnan perusteella kohdennetusti varsoilta, joiden epäiltiin sairastavan sepsistä.

Yhteensä 60 % tutkimukseen valituista veriviljelynäytteistä kasvoi enemmän kuin yhtä bakteerilajia, mikä on enemmän kuin aiemmissa tutkimuksissa raportoidut 13 - 55,3 %. Aiemmissa tutkimuksissa useamman kuin yhden bakteerikannan kasvu veriviljelynäytteissä on tulkittu sekainfektioksi.^{7, 8, 10-12} Huolellista aseptiikkaa noudatettaessa veriviljelynäytteiden tarkkuuden on arveltu olevan jopa 100%⁷, eikä näytteiden kontaminoitumisen mahdollisuutta ole juuri pohdittu. Lääketieteessä kontaminoituneita veriviljelynäytteitä pidetään kuitenkin merkittävänä ongelmana.^{55, 56}

Kirjallisuuden mukaan todennäköisiksi kontaminanteiksi luetaan mm. *Streptococcus viridans*, koagulaasinegatiiviset stafylokokit, *Micrococcus* sp. ja *Bacillus cereus*.⁵⁵ Tässä tutkimuksessa veriviljelynäytteistä eristettiin *Streptococcus viridans* (4/26, 15,4

%), koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja (3/26, 11,5 %) ja *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* kasvoi veriviljelynäytteessä puhtaana sekä aerobi- että anaerobipulloissa, minkä perusteella on mahdollista, että kyseessä ei ole näytteen kontaminoituminen. Varmin tulos olisi saatu, mikäli sama bakteerikanta olisi kasvanut useissa eri aikaan otetuissa veriviljelynäytteissä.^{69, 70}

Lääketieteessä ihmisen iholla kommensaaleina esiintyvien koagulaasinegatiivisten stafylokokkien ja viridans-ryhmän streptokokkien on todettu olevan yleisiä veriviljelynäytteiden kontaminantteja. Koagulaasinegatiivisilla stafylokokkeilla on kuitenkin todettu kliininen merkitys muun muassa iv-katetreihin liittyvien infektioiden aiheuttajana.^{55, 71, 72} Vakavasti sairaiden vastasyntyneiden varsojen ja vaihtelevilla kriteereillä septiseksi määriteltyjen varsojen veriviljelytuloksista on runsaasti tutkimustietoa⁷⁻¹², mutta koagulaasinegatiivisten stafylokokkien ja *Streptococcus viridans* sp. kliininen merkitys varsojen sepsiksen aiheuttajana on kuitenkin epäselvä. Tässä tutkimuksessa koagulaasinegatiivisia stafylokokkeja eristettiin vain näytteistä, joissa oli sekakasvua. Myös suurin osa (3/4) eristetystä *Streptococcus viridans* -kannoista kasvoi osana sekakasvua. Todennäköisesti nämä bakteerilajit ovatkin esiintyneet veriviljelynäytteissä kontaminaation seurauksena.

Potilasohjelman tietojen perusteella ei ollut mahdollista selvittää veriviljelynäytteen ottotapaa varsakohtaisesti. Osalta varsoista veriviljelynäyte oli otettu laskimopunktiolla ja osalla iv-katetrin asettamisen yhteydessä. Tyypillisten kontaminanttien ja sekakasvujen suuren esiintymisen vuoksi, veriviljelyjen ottotekniikassa on todennäköisesti ollut ongelmia riittävän aseptiikan saavuttamisen osalta.

Ennen veriviljelynäytteen ottoa mikrobilääkkeillä lääkityt varsat

Tutkimukseen hyväksytyistä varsoista viittä oli lääkitty mikrobilääkkeellä ennen veriviljelynäytteen ottoa. Näistä varsoista ainoastaan yhden veriviljelynäyte oli negatiivinen. Kahden varsan näytteestä eristettiin *E.coli*, joka on yleinen varsojen sepsiksen aiheuttaja.⁷⁻¹² Tulos on yllättävä, sillä ennen veriviljelynäytteen ottoa aloitetun antibioottihoidon on arveltu olevan yksi syy väärille negatiivisille

veriviljelytuloksille.^{7, 12} Tämän tutkimuksen perusteella ei ole mahdollista arvioida luotettavasti veriviljelymenetelmän toimivuutta antibioottilääkityillä varsoilla, mutta toisaalta tulos kuitenkin antaa viitteitä siitä, ettei veriviljelynäytteen ottaminen mikrobilääkityltä varsalta välttämättä ole turhaa.

Varsoille käytetyt mikrobilääkkeet

Suurinta osaa (77,8 %) sairaalaan saapuneista vastasyntyneistä varsoista oli lääkitty mikrobilääkkeillä sairaalassaoloaikana. Eniten varsoja oli lääkitty laajakirjoisilla antibiooteilla tai antibiootiyhdistelmillä, kuten trimetopriimi-sulfadiatsiinilla, gentamysiinillä yhdistettynä ampisilliiniin tai penisilliiniin tai keftiofuurilla. Huomattavan suurella osalla (60 %) mikrobilääkityistä varsoista mikrobilääkettä oli vaihdettu vähintään yhden kerran hoitojakson aikana. Osittain tämä tulos voi johtua siitä, ettei penisilliini ole käyttökelpoinen hevoselle suun kautta annettuna, jolloin sairaalassa penisilliini tai penisilliini ja gentamysiinilääkityksellä olleille varsoille on jatkettu kotona suun kautta annettavaa trimetopriimi-sulfadiatsiinia. Toisaalta tulos voi kuvastaa myös varsojen infektioiden vakavuutta, jos ensin valittu antibiootti on jouduttu huonon vasteen vuoksi vaihtamaan. Tätä ei kuitenkaan voida arvioida tämän tutkimuksen perusteella, sillä varsoille ei voitu määrittää riittävän yhtenäisiin kriteereihin perustuvia diagnooseja eikä varsojen sepsiksen vakavuutta voitu luotettavasti arvioida potilasohjelmaan kirjattujen tietojen perusteella.⁵²

Kohti parempaa sepsisdiagnoosiikkaa

Yhteistyössä ELL Krisse Koikkalaisen kanssa kehitimme osana syventäviä opintojamme varsojen ensihoitoa ja sepsiksen diagnosointia koskevat ohjeet käytettäväksi Yliopistollisessa eläinsairaalassa. Näissä ohjeissa on huomioitu myös veriviljelynäytteiden otto varsan saapuessa sairaalaan. Jokaiselta sairaalaan hoitoon saapuvalla varsalta suositellaan otettavaksi veriviljelynäyte 24 tunnin sisällä sairaalaan saapumisesta ja ennen mikrobilääkityksen aloittamista (liitteet II ja III) Myös Yliopistollisessa eläinsairaalassa alkuvuodesta 2010 toimintansa aloittanut Kliinisen

mikrobiologian tutkimuslaboratorio on jo huomattavasti parantanut mahdollisuuksia veriviljelynäytteiden käyttöön varsojen sepsiksen diagnostiikassa.

9. Lähdekirjallisuus

1. Cohen ND. Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals. *J Am Vet Med Assoc* 1994, 204(10): 1644-51.
2. Haas SD, Bristol F, Card CE. Risk factors associated with the incidence of foal mortality in an extensively managed mare herd. *Canadian Veterinary Journal* 1996, 37(2): 91-5.
3. Smith KC, Blunden AS, Whitwell KE, Dunn KA, Wales AD. A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. *Equine Vet J* 2003, 35(5): 496-501.
4. Freeman L, Paradis MR. Evaluating the effectiveness of equine neonatal care. *Veterinary Medicine* 1992, 87(9): 921-6.
5. Koterba AM, Brewer BD, Tarplee FA. Clinical and clinicopathological characteristics of the septicemic neonatal foal: Review of 38 cases. *Equine Vet J* 1984, 16(4): 376-82.
6. Gayle JM, Cohen ND, Chaffin MK. Factors associated with survival in septicemic foals: 65 cases (1988-1995). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1998, 12(3): 140-6.
7. Stewart AJ, Hinchcliff KW, Saville WJ, Jose-Cunilleras E, Hardy J, Kohn CW, Reed SM, Kowalski JJ. *Actinobacillus* sp. bacteremia in foals: Clinical signs and prognosis. *J Vet Intern Med* 2002, 16(4): 464-71.
8. Corley KTT, Pearce G, Magdesian KG, Wilson WD. Bacteraemia in neonatal foals: Clinicopathological differences between gram-positive and gram-negative infections, and single organism and mixed infections. *Equine Vet J* 2007, 39(1): 84-9.
9. Sanchez LC, Giguere S, Lester GD. Factors associated with survival of neonatal foals with bacteremia and racing performance of surviving thoroughbreds: 423 cases (1982-2007). *J Am Vet Med Assoc* 2008, 233(9): 1446-52.
10. Marsh PS, Palmer JE. Bacterial isolates from blood and their susceptibility patterns in critically ill foals: 543 cases (1991-1998). *J Am Vet Med Assoc* 2001, 218(10):1608-10.
11. Brewer BD, Koterba AM. Bacterial isolates and susceptibility patterns in foals in a neonatal intensive care unit. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 1990, 12(12): 1773-81.
12. Wilson WD, Madigan JE. Comparison of bacteriologic culture of blood and necropsy specimens for determining the cause of foal septicemia: 47 cases (1978-1987). *J Am Vet Med Assoc* 1989, 195(12): 1759-63.

13. Sanchez LC. Equine neonatal sepsis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2005, 21(2): 273-93.
14. Paradis MR. Update on neonatal septicemia. *Veterinary Clinics of North America, Equine Practice* 1994, 10(1): 109-35.
15. Evira. Mikrobilääkkeiden käyttösuositukset eläinten tärkeimpiin tulehdus- ja tartuntatauteihin. *Eviran julkaisuja* 3/2009
16. Cohen J, Guyatt G, Bernard GR, Calandra T, Cook D, Elbourne D, Marshall J, Nunn A, Opal S. New strategies for clinical trials in patients with sepsis and septic shock. *Critical Care Medicine* 2001, 29(4): 880-6.
17. Vincent JFCCM. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med* 1997, 25(2): 372-4.
18. Levy MMFCCP, Fink MPFCCP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, F.C.C.P., Cook DFCCP, Cohen J, Opal SM, Vincent JFCCP, Ramsay G, For the International Sepsis Definitions Conference. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003, 31(4): 1250-6.
19. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. the ACCP/SCCM consensus conference committee. american college of chest Physicians/Society of critical care medicine. *Chest* 1992, 101(6): 1644-55.
20. Remick DG. Pathophysiology of sepsis. 2007, (5): 1435-44.
21. Leaver SKMRCP, Finney SJ, BurkeGaffney A, Evans TW. Sepsis since the discovery of toll-like receptors: Disease concepts and therapeutic opportunities. *Crit Care Med* 2007, 35(5): 1404-10.
22. Waage A, Halstensen A, Espevik T. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet* 1987, 1(8529): 355-7.
23. Remick DG, Kunkel RG, Larrick JW, Kunkel SL. Acute in vivo effects of human recombinant tumor necrosis factor. *Lab Invest* 1987,56(6): 583-90.
24. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJ,3rd, Zentella A, Albert JD. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986, 234(4775): 470-4.
25. Beutler B, Milsark IW, Cerami AC. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 1985, 229(4716): 869-71.
26. Esmon CT. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. *Semin Thromb Hemost* 2006, 32 Suppl 1: 49-60.

27. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 2005,131(4): 417-30.
28. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989, 320(6): 365-76.
29. Hotchkiss RS, Dunne WM, Swanson PE, Davis CG, Tinsley KW, Chang KC, Buchman TG, Karl IE. Role of apoptosis in pseudomonas aeruginosa pneumonia. *Science* 2001, 294(5548): 1783.
30. Rodrick ML, Wood JJ, Grbic JT, O'Mahony JB, Davis CF, Moss NM, Blazar BA, Demling RH, Mannick JA. Defective IL-2 production in patients with severe burns and sepsis. *Lymphokine Res* 1986, 5 Suppl 1: S75-80.
31. O'Sullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DH, Mannick JA, Rodrick ML. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg* 1995, 222(4):482-90.
32. Cariou A, Vinsonneau C, Dhainaut JF. Adjunctive therapies in sepsis: An evidence-based review. *Crit Care Med* 2004, 32(11 Suppl):S562-70.
33. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troche G, Chaumet-Riffaud P, Bellissant E. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002, 288(7): 862-71.
34. McKenzie HC, III, Furr MO. Equine neonatal sepsis: The pathophysiology of severe inflammation and infection. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 2001, 23(7): 661-70.
35. Furr M. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and antimicrobial therapy. (special issue: Neonatology.). *Clinical Techniques in Equine Practice* 2003, 2(1): 3-8.
36. Roy M. Sepsis in adults and foals. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 2004, 20(1): 41-61.
37. Brewer BD. Neonatal infection. *Teoksessa: Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC (toim.) Equine clinical neonatology. 1. p. Lea & Febiger, Philadelphia, 1990: 298-300*
38. Toissijainen viittaus¹³ Madigan J.E. Method for preventing neonatal septicemia, the leading cause of death in the neonatal foal. *Proceedings of the 43th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, USA 1997: 17-19.*
39. Brewer BD, Koterba AM. Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. *Equine Vet J* 1988, 20(1): 18-22.

40. Corley KTT, Furr MO. Evaluation of a score designed to predict sepsis in foals. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2003, 13(3): 149-55.
41. Giguere S, Polkes AC. Immunologic disorders in neonatal foals. (neonatal medicine and surgery.). *Veterinary Clinics of North America, Equine Practice* 2005, 21(2):241-72.
42. LeBlanc MM. Immunologic considerations Teoksessa: (toim.) Koterba AM, Drummond WH, Kosch PC *Equine clinical neonatology*. 1. p. Lea & Febiger, Philadelphia, 1990: 275-291
43. McGuire TC, Crawford TB, Hallowell AL, Macomber LE. Failure of colostral immunoglobulin transfer as an explanation for most infections and deaths of neonatal foals. *J Am Vet Med Assoc* 1977, 170(11): 1302-4.
44. Morris DD, Meirs DA, Merryman GS. Passive transfer failure in horses: Incidence and causative factors on a breeding farm. *Am J Vet Res* 1985, 46(11): 2294-9.
45. Raidal SL. The incidence and consequences of failure of passive transfer of immunity on a thoroughbred breeding farm. *Aust Vet J* 1996, 73(6): 201-6.
46. Perryman LE, McGuire TC. Evaluation for immune system failures in horses and ponies. *J Am Vet Med Assoc* 1980, 176(12): 1374-7.
47. LeBlanc MM, Tran T, Baldwin JL, Pritchard EL. Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. *J Am Vet Med Assoc* 1992, 200(2): 179-83.
48. Baldwin JL, Cooper WL, Vanderwall DK, Erb HN. Prevalence (treatment days) and severity of illness in hypogammaglobulinemic and normogammaglobulinemic foals. *J Am Vet Med Assoc* 1991, 198(3): 423-8.
49. Clabough DL, Levine JF, Grant GL, Conboy HS. Factors associated with failure of passive transfer of colostral antibodies in standardbred foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1991, 5(6): 335-40.
50. McTaggart C, Penhale J, Raidal SL. Effect of plasma transfusion on neutrophil function in healthy and septic foals. *Aust Vet J* 2005,83(8): 499-505.
51. Robinson JA, Allen GK, Green EM, Fales WH, Loch WE, Wilkerson CG. A prospective study of septicemia in colostrum-deprived foals. *Equine Vet J* 1993,25(3): 214-9.
52. Koikkalainen KM. Vastasyntyneen varsan sepsis osa I - sepsiksen diagnosointi ja sepsisasteikko. Syventävien opintojen tutkielma, Eläinlääketieteellinen tiedekunta, Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen laitos, Helsingin Yliopisto 2008
53. Platt H. Septicaemia in the foal. A review of 61 cases. *Br Vet J* 1973, 129(3): 221-9.

54. Laine JR, Sykes BW. Evidence based decision making in initial antimicrobial selection in equine neonatal septicemia (abstrakti). *J Vet Intern Med* 2005, 19: 445-6.
55. Weinstein MP. Blood culture contamination: Persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol* 2003, 41(6): 2275-8.
56. Weinbaum FI, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GF, Mills SS. Doing it right the first time: Quality improvement and the contaminant blood culture. *J Clin Microbiol* 1997, 35(3): 563-5.
57. Schiffman RB, Pindur A. The effect of skin disinfection materials on reducing blood culture contamination. *Am J Clin Pathol* 1993, 99(5): 536-8.
58. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: Risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005, 49(2): 760-6.
59. Harbarth S, Garbino J, Pugin J, Romand JA, Lew D, Pittet D. Inappropriate initial antimicrobial therapy and its effect on survival in a clinical trial of immunomodulating therapy for severe sepsis. *Am J Med* 2003, 115(7): 529-35.
60. Kumar A, Kazmi M, Roberts D, Wood K, Taiberg L, Feinstein D, Gurka D, Ronald J, Sharma S, Kramer A, Suppes R, Parrillo J. DURATION OF SHOCK PRIOR TO ANTIMICROBIAL ADMINISTRATION IS THE CRITICAL DETERMINANT OF SURVIVAL IN HUMAN SEPTIC SHOCK: 41. *Crit Care Med* 2004. 32(12) (Suppl):A11.
61. Lorenzo-Figueras M, Pusterla N, Byrne BA, Samitz EM. In vitro evaluation of three bacterial culture systems for the recovery of *Escherichia coli* from equine blood. *Am J Vet Res* 2006, 67(12):2 025-9.
62. Mapes S, Rhodes DM, Wilson WD, Leutenegger CM, Pusterla N. Comparison of five real-time PCR assays for detecting virulence genes in isolates of *Escherichia coli* from septicemic neonatal foals. *Vet Rec* 2007,161(21): 716-8.
63. Raisis AL, Hodgson JL, Hodgson DR. Equine neonatal septicemia: 24 cases. *Aust Vet J* 1996, 73(4): 137-40.
64. Russell CM, Axon JE, Blishen A, Begg AP. Blood culture isolates and antimicrobial sensitivities from 427 critically ill neonatal foals. *Aust Vet J* 2008, 86(7): 266-71.
65. Morris DD. Bacterial infections of the newborn foal. II. diagnosis, treatment, and prevention. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 1984, 6(8): S436-48.
66. Thomson, Katariina suullinen tiedonanto 23.3.2010.

67. Murray PR, Baron, EJ, Jorgensen, JH, Landry, ML, Pfaller, MA (toim.) Manual of Clinical Microbiology. 9. p. American Society for Microbiology, Washington DC, 2007.
68. FiRe standardi - Bakterilääkeherkkyyden määrittäminen kiekkomenetelmällä, Terveystieteiden tutkimuskeskuksen internet-sivut:
http://www.ktl.fi/portal/suomi/yhteistyoprojektit/fire/fire_standardi/ 16.5.2010
69. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, Reller LB. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: A prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin Infect Dis 1997, 24(4): 584-602.
70. MacGregor RR, Beaty HN. Evaluation of positive blood cultures. guidelines for early differentiation of contaminated from valid positive cultures. Arch Intern Med 1972, 130(1): 84-7.
71. Martin MA, Pfaller MA, Wenzel RP. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia. mortality and hospital stay. Ann Intern Med 1989, 110(1): 9-16.
72. Rupp ME, Archer GL. Coagulase-negative staphylococci: Pathogens associated with medical progress. Clin Infect Dis 1994, 19(2):231-45.

Liite I

Varsatietolomake – YES retrospektiivinen tutkimus: neonataalisepsis anamneesi ja ensimmäisen 24 tunnin status

| Potilasno. | Nimi. | Om. | Puh. |
|--|-------|---|------|
| Hoitava ell. | | | |
| Potilastiedot | | Tamman tiedot | |
| Syntymäaika | | Ikä (vuosina) | |
| Tulopäivä ja klo | | Plasentiitti (K/E) | |
| Ikä tulohetkellä (pv) | | Vuotoa vulvasta (K/E) | |
| Sukupuoli (Ori/Tamma) | | Dystokia (K/E) | |
| Paino (kg) | | Indusoitu varsominen (K/E) | |
| Täysiaikaisuus enneaikainen < 320 pv yliaikainen > 365 pv | | Emän muu sairaus | |
| | | Pitkä kuljetus /lähtö- paikkakunta | |
| Anamnestinen tieto | | | |
| Kliiniset parametrit | | Kliinispatologiset parametrit | |
| Lämpö (°C) | | B-Leuk (x109/l) | |
| Sydänfr (x/min) | | Liuskat. neutrofiilit (x109/l) | |
| Hengitysfr (x/min) | | Sauvat. neutrofiilit (x109/l) | |
| Petekkiat (K/E) | | Eosinofiilit (x109/l) | |
| Skleran injisoituminen (K/E) | | Basofiilit (x109/l) | |
| | | Lymfosyytit (x109/l) | |
| Neurologinen tutkimus: (pirteä/lihasheikkous/ depressio/kouristelu/kooma) | | Monosyytit (x109/l) | |
| | | Neutrofiilien morfologia | |
| Paikallinen infektiofokus: (silmä/hengitystiet/ suolisto/napa/keuhkot/nivel) | | Hemoglobiini (g/l) | |
| | | Hematokriitti (%) | |
| | | P- Fibrinogeeni (g/l) | |
| Bakteeriviljely | | Kreatiniini (µmol/l) | |
| Veriviljelytulos: (aiheuttaja/neg) | | S- Glukoosi (mmol/l) | |
| | | IgG (g/l) | |
| | | K/Na/Ca/Cl (mmol/l) | |
| | | Laktaatti (mmol/l) | |
| | | Valtimoveren pO2 (mmHg) | |
| | | Valtimoveren pCO2 (mmHg) | |
| Muu bakteeriviljelytulos:(paikka+aiheuttaja/neg) | | pH | |
| | | Emäsyylimäärä BE | |
| | | Metabolinen asidoosi (K/E) | |
| | | Muut tiedot | |
| Mikrobilääkitykset | | Kotiutettu/Lopetettu (pvm) | |
| Aikaisemmat (lääke) | | Sairaalassaoloaika (pv) | |
| | | Annettu plasmata (litra) | |
| Sairaalassa (lääke) 1. 2. 3. | | Diagnosi kotiutushetkellä | |
| | | Merkkien selitykset: K=kyllä, E=ei, --= ei tietoa. Ellei tosin mainita. | |



Neonatalivarsan check-lista sisääntullessa

| | | | |
|--|---|---|------------|
| Varsan nimi: | | syntymäaika (klo): | potilasno: |
| Tulohetken STATUS | | | |
| <input type="checkbox"/> mentaalistatus <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> pirteä<input type="radio"/> apaattinen<input type="radio"/> lihasheikko<input type="radio"/> kouristeleva<input type="radio"/> kooma | <input type="checkbox"/> lämpö _____ °C | <input type="checkbox"/> paino _____ KG | |
| <input type="checkbox"/> sfr _____ / min | <input type="checkbox"/> imemisrefleksi <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> KYLLÄ / EI<input type="radio"/> normaali / heikko | | |
| <input type="checkbox"/> hfr _____ / min | <input type="checkbox"/> virtsaaminen <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> KYLLÄ / EI<input type="radio"/> tippuuko navasta virtsaa KYLLÄ / EI<input type="radio"/> ongelman laatu: _____ | | |
| <input type="checkbox"/> hengityssänet <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> normaalit<input type="radio"/> korostuneet<input type="radio"/> rahinat | <input type="checkbox"/> ulostaminen <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> mekonium tullut KYLLÄ / EI<input type="radio"/> normaali<input type="radio"/> ummetus<input type="radio"/> ripuli | | |
| <input type="checkbox"/> limakalvot <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> väri _____<input type="radio"/> kta _____ sek.<input type="radio"/> petekkiat KYLLÄ / EI | <input type="checkbox"/> abdomenin täyttyneisyys KYLLÄ / EI | | |
| <input type="checkbox"/> sklera <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> injisoitunut<input type="radio"/> petekkiat | <input type="checkbox"/> nivelten turvotus (sijainti): _____ | | |
| <input type="checkbox"/> digitaalipulssi NORM / ALENT / VOIM | <input type="checkbox"/> napa OK / TULEHTUNUT | | |
| <input type="checkbox"/> verenpaine _____ / _____ (makaava varsa) | <input type="checkbox"/> haavat – MISSÄ: _____ | | |
| <input type="checkbox"/> muut tulehdusfokukset: _____ | | | |
| VERINÄYTTEET mitä tutkitaan | | | |
| seerumi: | varsapaneeli | | |
| EDTA: | PVK + käsidiiffi + fibrinogeeni | | |
| arteriaverinäyte: | verikaasut + laktaatti | | |
| veriviljely HUSLAB: | otettu klo: | / ei otettu, syy: | |
| VIRTSANÄYTE | | | |
| ominaispaino | _____ | | |
| glukoosi | _____ | | |

otettu

(päiväys ja klo)

_____ eläinlääkäarin nimikirjaimet

PÄIVYSTYSAIKANA:

Vedä valkosolujen käsidiiffausta varten sivelyvalmiste objektilasille ja ilmakuivaa se hyvin. Näytteenvedon tulee olla onnistunut, jotta sivelyvalmisteesta ylipäättään on hyötyä.

Merkitse objektilasi varsan tiedoilla ja vie se laboratorioon odottamaan maanantaita. Näytelasin voi jättää huoneenlämpöön.

Jätä EDTA-veriputki varsan tiedoilla varustettuna jääkaappiin valkosolujen varmistuslaskentaa varten



Tamman esitiedot

Henkilökunta täyttää

| | | | |
|---|------------------------------|-------|------------|
| Sairaalaan saapumisaika (pvm ja klo) ___ / ___ / 200__ klo_____ | | | |
| VARSA | | | |
| Nimi: | Syntymäaika (pvm ja klo): | Rotu: | Pot. n:ro: |
| TAMMA | | | |
| Nimi: | Syntymäaika: | Rotu: | Pot. n:ro: |

Omistaja täyttää

| | |
|--|-------------------|
| Vastatkaa kysymyksiin ympyröimällä oikea vaihtoehto (K= kyllä, E= ei, - = en osaa sanoa). Osa kysymyksistä on vapaamuotoisia. Vastauksille on varattu tilaa kysymyksen alapuolelle. Mikäli tila ei riitä, voitte jatkaa Lisätietoja-kohtaan. Mikäli vastaatte johonkin / joihinkin kysymyksiin kyllä, voitte selventää vastauksenne Lisätietoja-kohdassa. Tähän kohtaan voitte kirjoittaa myös muita mielestänne huomionarvoisia seikkoja. | |
| Toivomme, että vastaatte kyselyyn mahdollisimman todenmukaisesti. Mikäli ette ymmärrä jotain kysymystä tai teillä on muuta kysyttävää kaavakkeen täyttämistä, voitte pyytää apua sairaalan henkilökunnalta ja opiskelijoilta. | |
| Tamman edelliset tiineydet: | |
| Monesko tiineys tämä on tammalle? | _____ |
| Onko tammalta aikaisemmin kuollut varsa/varsoja? | K / E / - |
| Onko tammalla aikaisemmin ollut synnytysvaikeuksia? | K / E / - |
| Onko tammalla aikaisemmin havaittu maidottomuutta? | K / E / - |
| Onko tammalla aikaisemmin havaittu ternimaidon ennenaikaista valuttelua? | K / E / - |
| Onko tamma käyttäytynyt aggressiivisesti aikaisempia varsoja kohtaan? | K / E / - |
| Lisätietoja: | |
| Tamman vointi tiineyden aikana: | |
| Viimeinen siemennys- tai astutuspäivämäärä | ___ / ___ / 200__ |
| Onko tammalta tullut tiineyden aikana vuotoa emättimestä? | K / E / - |
| Onko tamma kuumeillut? | K / E / - |
| Onko tammalla ollut ähkyoireita? | K / E / - |
| Onko tammalla ollut tiineyden aikana muita sairauden oireita, tai onko tamman tiineyden aikaiseen vointiin liittynyt muuta poikkeavaa? | K / E / - |
| Mitä? | |
| Onko tammalla jokin pitkäaikainen sairaus? | K / E / - |
| Mikä? | |
| Onko tammaa hoidettu tiineyden aikana edellä mainittujen sairauksien tai oireiden vuoksi? | K / E / - |
| Miten ja millä lääkkeillä? | |

Lisätietoja:

Varsominen:

Onko tamma valutellut ternimaitoa ennen synnytystä? K / E / -
Varsomisen kesto (h, min): _____
Käynnistettiinkö varsominen? K / E / -
Oliko tammalla synnytysvaikeuksia? K / E / -
Ovatko jälkeiset tulleet? K / E / -
Oliko sikiökalvoissa ja istukassa jotain poikkeavaa? K / E / -
Mitä?

Lisätietoja:

Varsan vointi ja oireet:

Milloin varsa nousi seisomaan? _____ tuntia syntymästä
Milloin varsa imi ensimmäisen kerran? _____ tuntia syntymästä
Onko varsa imenyt sen jälkeen normaalisti? K / E / -
Onko varsa saanut ternimaitoa? K / E / -
Milloin varsa sai ternimaidon? _____ tuntia syntymästä
Onko varsa virtsannut? K / E / -
Onko suolipihka tullut? K / E / -

Varsan sairauden oireet vapaamuotoisesti:

Onko varsaa hoidettu ennen YES:aan saapumista? K / E / -
Miten ja millä lääkkeillä?

Lisätietoja: