

Staphylococcus pseudintermedius -bakteerin
mikrobilääkeresistenssi ja sen kehitys Suomessa 2011-2015

Pihla Filppula
Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Helsingin yliopisto 2018



Tiedekunta - Fakultet - Faculty		Osasto - Avdelning – Department	
Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare - Author			
Pihla Filppula			
Työn nimi - Arbetets titel – Title			
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> -bakteerin mikrobilääkeresistenssi ja sen kehitys Suomessa 2011-2015			
Oppiaine - Läroämne - Subject			
Eläinlääketieteellinen bakteriologia			
Työn laji - Arbetets art - Level	Aika - Datum - Month and year	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages	
Lisensiaatin tutkielma	4/2018	41	
Tiivistelmä - Referat – Abstract			
<p><i>Staphylococcus pseudintermedius</i> kuuluu koiran normaalimikrobistoon, 42–92 % koirista toimii sen kantajanaja. Se on myös yleinen korva- ja ihotulehdusten aiheuttaja. Metisilliiniresistentti <i>S. pseudintermedius</i> (MRSP) on resistentti beetalaktaameille, jolloin infektion hoito vaikeutuu. Mikrobilääkeresistenssin lisääntyminen onkin ajankohtaista eläinlääketieteessä. Tässä lisensiaatin tutkielmassa selvitettiin <i>S. pseudintermedius</i> -bakteerin mikrobilääkeresistenssiä Suomessa ja verrattiin sitä muissa maissa tehtyihin tutkimuksiin. Tutkielma sisältää kirjallisuuskatsauksen ja tutkimusosion. Kirjallisuuskatsauksessa tutustuttiin <i>S. pseudintermedius</i> -bakteeriin, stafylokokkien resistenssimekanismeihin sekä mikrobilääkeresistenssiin maailmalla. Lisäksi käsiteltiin lyhyesti <i>S. pseudintermedius</i> - ja MRSP -infektion hoitoa. Tutkimusosiossa laskettiin mikrobilääkkeistä resistenttien bakteerien osuus prosentteina, moniresistenttien kantojen osuus sekä selvitettiin taustatekijöiden merkitystä MRSP:n yhteydessä. Analysoitavia mikrobilääkkeitä olivat oksasilliini, klindamysiini, erytromysiini, tetrasykliini, sulfa-trimetopriimi, fusidiinihappo, enrofloksasiini, gentamisiini sekä amikasiini. Tutkielman hypoteesina oli, että mikrobilääkeresistenssi on kasvanut osan mikrobilääkkeen kohdalla vuosien aikana.</p> <p>Tutkielman aineisto koostui eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen mikrobiologian laboratorion Provet LIMS -järjestelmästä peräisin olevista <i>S. pseudintermedius</i> -löydösten kiekkoherkkyysmääritysten tuloksista. Löydöksiä oli raakadatan tarkistuksen jälkeen yhteensä 1932 kappaletta, ja ne olivat vuosilta 2011-2015. Näytteiden analysointiin ja taulukointiin käytettiin Microsoft Excel® 2010 ja 2016 - sekä WHONET 5.6 -ohjelmaa, johon tiedot siirrettiin BacLink 2-ohjelman avulla. Luottamusvälit laskettiin WHONET 5.6 -ohjelmalla tai EpiTools-työkalulla. P-arvot laskettiin khiin neliö -testillä tai tarvittaessa Fisherin eksaktilla testillä.</p> <p>Tetrasykliiniresistenssi oli yleisintä vaihdellen 36,2–40,8 % välillä. Klindamysiini- ja erytromysiiniresistenssi olivat seuraavaksi yleisimpiä vaihdellen 27,8–36,2 % välillä. Testatuista kannoista 10,9–18,1 % oli MRSP-kantoja. Moniresistenttien kantojen osuus aineistossa oli 22–28,6 %. Kissoilla MRSP-tartunta oli yleisempi kuin koirilla (p: 0,026), joskin kissojen pienen määrän takia tulos ei ole luotettava. Pintamärkäviljelyn näytetyypillä oli tilastollisesti merkitystä (p: 0,001), mutta näytteenottovuodella (p: 0,086) tai maakunnalla (p: 0,070) ei ollut merkitystä.</p> <p>Mikrobilääkeresistenssin kasvusta tai laskusta ei tehty tilastollista testausta, joten ei voida sanoa, oliko silmämääräisesti havaitut mikrobilääkeresistenssin muutokset tilastollisesti merkitseviä ja siten hypoteesin mukaisia. Suomen mikrobilääkeresistenssi on samassa linjassa Euroopan maiden kanssa niiltä osin, kun samoja mikrobilääkkeitä on testattu. MRSP-kantojen esiintyvyys on ollut hieman korkeampaa kuin muualla Euroopassa, mutta Australiassa oksasilliiniresistenssi on ollut samaa tasoa Suomen kanssa. Suomen MRSP-bakteerien mikrobilääkeresistenssi vastaa pääsääntöisesti hyvin Pohjoismaiden tuloksia, mutta muuhun Eurooppaan verrattuna on eroavaisuuksia. Erilaisten ihoinfektioiden kohdalla olisi aina hyvä ottaa näyte ja määrittää bakteerin resistenssiprofiili turhien mikrobilääkekuurien määräämisen ehkäisemiseksi, resistenssin muodostumisen välttämiseksi sekä tehokkaan hoidon takaamiseksi.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords			
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , metisilliiniresistenssi, MRSP, mikrobilääkeresistenssi, moniresistentti, MDR			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited			
HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s)			
Johtaja: Merja Rantala, dosentti, ELT, kliininen opettaja, tarttuvien eläintautien erikoiseläinlääkäri			
Ohjaajat: Thomas Grönthal, ELT, kliininen opettaja, tarttuvien eläintautien erikoiseläinlääkäri			
Merja Rantala, dosentti, ELT, kliininen opettaja, tarttuvien eläintautien erikoiseläinlääkäri			

1 JOHDANTO.....	1
2 KIRJALLISUUSKATSAUS	2
2.1 Stafylokokkibakteerit	2
2.2 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> -bakteeri.....	3
2.2.1 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> patogeenina	3
2.3 Mikrobilääkkeiden vaikutusmekanismit bakteerisoluihin ja mikrobilääkeresistenssi	4
2.3.1 Mikrobilääkeherkkyyden testaaminen.....	7
2.4 Mikrobilääkeresistenssi <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> -bakteerissa ..	8
2.4.1 Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	10
2.4.1.1 MRSP-bakteerin molekyylietiologia	11
2.4.1.2 Metisilliiniresistentin <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> -bakteerin etiologia ja resistenssi.....	11
2.4.1.3 MRSP-tartunnan riskitekijät	14
2.5 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> -infektion hoito	15
2.5.1. MRSP-infektion hoito	16
3 MATERIAALIT JA MENETELMÄT	17
3.1 Käytetty materiaali.....	17
3.2 Raakadatan tarkistus	17
3.3 Analysoitavien mikrobilääkkeiden valinta.....	18
3.4 Resistenssiprosenttien laskeminen.....	18
3.5 Moniresistenttien kantojen laskeminen	18
3.6 Tilastolliset menetelmät.....	19
4 TULOKSET	19
5 POHDINTA.....	25
6 KIITOKSET	29
KIRJALLISUUSLUETTELO	30

1 JOHDANTO

Lemmikkieläinten määrä Suomessa on kasvussa. Vuonna 2012 koiria oli kotitalouksissa noin 630 000, mutta vuoteen 2016 mennessä määrä oli kasvanut 800 000 yksilöön. Kissojen määrä on pysynyt ennallaan noin 600 000 yksilössä. Kun otetaan kaikki lemmikkieläimet huomioon, vuosien 2012–2016 välisenä aikana niiden määrä on noussut 5 prosenttiyksikön verran. Vuonna 2016 35 % kotitalouksista oli ainakin yksi lemmikkieläin (SVT 2016). Lemmikkieläimet ovat tiivis osa perhettä nyky-yhteiskunnassa ja tämän seurauksena myös niiden sairauksien hoitoon ollaan yhä myöntyväisempiä ja valmiimpia. Lemmikkien tyypillisiä sairauksia ovat erilaiset bakteeri-infektiot, kuten korva- ja ihotulehdukset, ja niiden hoitoon käytetään yleisesti mikrobilääkkeitä.

Mikrobilääkkeiden kokonaiskulutus eläinlääketieteessä on vuosien saatossa vähentynyt (Fimea 2017a), mutta mikrobilääkeresistenssin lisääntyminen on tästä huolimatta viime aikoina ollut huolenaiheena, myös lääketieteessä. Kokonaiskulutuksen laskusuhdanteesta huolimatta mikrobilääkkeiden käyttö eläinlääketieteessä ei aina perustu tutkittuun tietoon tai lainsäädäntöön. Tästä esimerkkinä on kolmannen polven kefalosporiinien käyttö, joka on lainsäädännössä rajoitettu vain tilanteisiin, joissa ei ole olemassa muuta tehokasta hoitovaihtoehtoa (MMM 17/14, liite 2 luku 5). Evira valvookin kyseisten mikrobilääkkeiden käyttöä ja lähettää selvityspyynnöt eläinlääkäreille, jotka ovat eniten niitä käyttäneet (Evira 2018). Muiden mikrobilääkkeiden tavoin suun kautta annettavien kefalosporiinien myynti lääketukuista on kuitenkin kaiken kaikkiaan laskenut vuodesta 2011 alkaen (Fimea 2017b).

Mikrobilääkkeiden kokonaiskulutuksen laskusta huolimatta tutkimuksia mikrobilääkeresistenssin muodostumisesta on edelleen syytä tehdä. Tutkimustulosten avulla voidaan esimerkiksi luoda mikrobilääkkeille käyttösuosituksia (Evira 2016), jotka helpottavat eläinlääkäreiden arkipäivää ja ohjaavat lääkkeiden käyttöä ollen näin apuna resistenssitilanteen hallinnassa. Lisäksi resistenssin lisääntymiseen viittaavat tulokset voivat motivoida kehittämään uusia, ei mikrobilääkkeitä sisältäviä hoitokäytäntöjä. Tässä

liseniaatin tutkielmassa selvitettiin *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerin mikrobilääkeresistenssiä ja sen kehitystä Suomessa vuosina 2011-2015. Tutkielma sisältää sekä kirjallisuuskatsauksen että tutkimusosion. Kirjallisuuskatsausosiossa tutustutaan *S. pseudintermedius* -bakteeriin, stafylokokkien resistenssimekanismeihin sekä mikrobilääkeresistenssitilanteeseen muissa maissa.

Tutkimusosiossa analysoitiin *S. pseudintermedius* -löydösten kiekkoherkkyyismäärittelysten tuloksia vuosilta 2011-2015. Tuloksista laskettiin vuosittaiset mikrobilääkekohtaiset resistenssiluvut sekä moniresistenttien kantojen osuus. Lisäksi eri taustatekijöiden merkitystä selvitettiin metisilliinille resistentin *S. pseudintermediuksen* osalta. Hypoteesina oli, että *S. pseudintermedius* -bakteerin mikrobilääkeresistenssi on kasvanut vähintäänkin muutaman mikrobilääkkeen kohdalla tutkittujen vuosien aikana.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Stafylokokkibakteerit

Stafylokokit ovat grampositiivisia, katalaasia tuottavia kokkibakteereita (Foster 1996, Huebner ja Goldmann 1999, Becker ym. 2014), jotka ovat osa nisäkkäiden normaalimikrobistoa erityisesti iholla ja limakalvoilla (Foster 1996, Becker ym. 2014). Stafylokokkisukuun kuuluu yli 40 lajia sekä yli 20 alalajia (Becker ym. 2014), jotka voivat olla koagulaasipositiivisia, kuten *Staphylococcus pseudintermedius* tai koagulaasinegatiivisia, kuten *Staphylococcus epidermidis* (Foster 1996, Becker ym. 2014).

Stafylokokkibakteerit ovat opportunistisia patogeeneja eli ne voivat aiheuttaa taudin isännän vastustuskyvyn tai paikallisen vastustuskyvyn (esimerkiksi ihorikko) heikentyessä. Tyypillisiä stafylokokkien aiheuttamia tulehduksia ovat erilaiset iho- (Bannoehr ja Guardabassi 2012, Hillier ym. 2014) ja

korvatulehdukset (Bannoehr ja Guardabassi 2012). Stafylokokit voivat myös tarttua lemmikkieläimestä ihmiseen ja aiheuttaa tulehduksia ihmisellä (Wang ym. 2013).

2.2 *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteeri

Staphylococcus pseudintermedius on erityisesti koirien normaalimikrobistoon kuuluva koagulaasipositiivinen bakteeri. Sitä esiintyy tyypillisesti iholla, karvafollikkeleissa sekä limakalvoilla kuten nenässä, suussa ja peräaukossa (Van Duijkeren ym. 2011, Bannoehr ja Guardabassi 2012). Tutkimuksista riippuen kantajia on 46–92 %, eivätkä kissat ole bakteerin luonnollisia isäntiä (Bannoehr ja Guardabassi 2012).

Staphylococcus intermedius -bakteeri on kuvattu vuonna 1976 (Hajek 1976) ja sittemmin jaoteltu kolmeen erilliseen bakteeriin: *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ja *S. delphini* (Fitzgerald 2009). Nämä bakteerit muodostavat niin kutsutun SIG-ryhmän (*Staphylococcus intermedius* -group) (Bannoehr ja Guardabassi 2012), jonka bakteereista *S. intermediuksen* ja *S. pseudintermediuksen* erottaminen toisistaan fenotyypin perusteella on hankalaa. Ellei käytetä muita tunnistamismenetelmiä, kuten perimän tutkimista, oletetaan koiralta löydetyn SIG-ryhmän bakteerin olevan *S. pseudintermedius*. Näin voidaan menetellä, sillä suurin osa koirilta löydetyistä SIG-ryhmän bakteereista on *S. pseudintermediuksia* (Van Duijkeren ym. 2011, Bannoehr ja Guardabassi 2012). Tässä kirjallisuuskatsauksessa pieneläimistä peräisin olevien *S. intermedius* -löydösten oletetaan olevan *S. pseudintermedius* -bakteereita, mikäli julkaisu on ajalta ennen *S. pseudintermedius* -bakteerin kuvausta. Näistä löydöksistä käytetään termiä *S. (pseud)intermedius*. Tämä kirjallisuuskatsaus keskittyy *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteeriin.

2.2.1 *Staphylococcus pseudintermedius* patogeenina

Staphylococcus pseudintermedius on opportunistinen patogeeni. Tämä patogeeni on tyypillinen korva- ja ihotulehdusten (Van Duijkeren ym. 2011,

Bannoehr ja Guardabassi 2012) sekä leikkaushaavainfektioiden aiheuttaja (Van Duijkeren ym. 2011).

S. pseudintermedius -bakteerilla on useita virulenssitekijöitä, kuten erilaisia entsyymejä, toksineja (Fitzgerald 2009, Bannoehr ja Guardabassi 2012) sekä pintaproteiineja (Bannoehr ja Guardabassi 2012). Bakteerin tuottama eksfoliativinen toksini (*Staphylococcus (pseud)intermedius* exfoliative toxin, SIET) saa aikaan ihotulehduksessa esiintyviä oireita, kuten punoitusta ja ihon kuoriutumista, injektoitaessa koiran ihoon. Sen merkitys patogeneesissä on kuitenkin epävarma (Bannoehr ja Guardabassi 2012). *S. pseudintermedius* -bakteerin tuottamista pintaproteiineista proteiini A sitoutuu immunoglobuliini-G vasta-aineen Fc-alueeseen estäen näin elimistön normaalin immuunivasteen (Balachandran ym. 2017). *S. pseudintermedius* pystyy myös muodostamaan biofilmejä (Fitzgerald 2009). Tämä tarkoittaa, että bakteerit yhdessä tuottamiensa solun ulkopuolisten yhdisteiden kanssa muodostavat kudoksen pinnalle organisoidun bakteeriyhteisön. Biofilmin sisällä olevat bakteerit ovat vastustuskykyisempiä mikrobilääkkeille, minkä seurauksena normaalit hoitokäytännöt eivät välttämättä ole riittäviä (Davies 2003, Ferran ym. 2016). Bakteerin yleisyydestä huolimatta sen patogeneesista tiedetään suhteellisen vähän (Fitzgerald 2009, Van Duijkeren ym. 2011, Bannoehr ja Guardabassi 2012).

2.3 Mikrobilääkkeiden vaikutusmekanismit bakteerisoluihin ja mikrobilääkeresistenssi

Mikrobilääkkeillä on erilaisia vaikutusmekanismeja bakteerisolussa, joilla ne estävät bakteerien kasvun. Beetalaktaamit, kuten penisilliini ja metisilliini estävät bakteerin soluseinäsynteesin (Waxman ja Strominger 1983, Tenover 2006) sitoutumalla penisilliiniä sitovaan proteiiniin (PBP) (Zapun ym. 2008). MLS-ryhmän mikrobilääkkeet (makrolidit, linkosamidit ja streptogramiinit) taas vaikuttavat bakteerin proteiinisynteesiin estäen sen (Vannuffel ja Cocito 1996, Tenover 2006). Ne sitoutuvat ribosomin alayksikköön 50S, jonka seurauksena lähetti-RNA kiinnittyminen ribosomiin häiriintyy (Vannuffel ja Cocito 1996). Fluorokinolonien vaikutusmekanismi perustuu DNA-synteesin häiriintymään (Blondeau 2004, Tenover 2006) estämällä topoisomeraasi II ja IV entsyymien

toiminnan (Blondeau 2004). Sulfonamidi-diaminopyrimidiini yhdistelmät, esimerkiksi sulfa-trimetopriimi, estävät yhdessä bakteerisolun foolihapposynteesin (Tenover 2006).

Mikrobilääkeresistenssillä tarkoitetaan bakteerin kykyä vastustaa yhden tai useamman mikrobilääkkeen vaikutusta. Seuraavassa on selitetty muutama tyypillisin resistenssimekanismi sekä esimerkki mikrobilääkkeestä tai mikrobilääkeryhmästä siihen liittyen. Taulukossa 1 on esitetty lisää stafylokokkibakteerien resistenssimekanismia eri mikrobilääkkeitä vastaan.

Taulukko 1. *Staphylococcus aureus* - ja *Staphylococcus pseudintermedius* - bakteerin tyypillisimpiä resistenssimekanismia ja esimerkkejä niitä ohjaavista geeneistä.

Mikrobilääke	Resistenssimekanismi	Muutosta ohjaava(t) geeni(t)	Viite
Oksasilliini, kefalosporiinit	Vaikutuskohdan muutos (muuttunut PBP)	<i>mecA</i>	Van Duijkeren ym. 2011, Kadlec ja Schwarz 2012
Klindamysiini	Vaikutuskohdan muutos (ribosomin metylaatio), efflux-pumput	<i>erm</i> -geenit	Leclercq 2002, Roberts 2008
Erytromysiini	Vaikutuskohdan muutos (ribosomin metylaatio), efflux-pumput	<i>erm</i> -geenit	Leclercq 2002, Roberts 2008
Tetrasykliini	Efflux-pumput, vaikutuskohtaa suojaavat proteiinit	<i>tet</i> -geenit	Chopra ja Roberts 2001

Sulfa-trimetopriimi	Efflux-pumput	<i>dhfr</i> -geenit, <i>dhps</i> , <i>sull</i> , <i>sulll</i>	Eliopoulos ja Huovinen 2001
Fusidiinihappo	Vaikutuskohdan muutos, vaikutuskohtaa suojaavat proteiinit, mikrobilääkkeen muutos entsyymien avulla, solukalvon läpäisevyyden muutos	<i>fus</i> -geenit	Castanheira ym. 2010
Enrofloksasiini	Efflux-pumput, vaikutuskohdan muutos (topoisomeraasi II ja IV muutos, sitoutuminen heikkenee)	<i>grlA/B</i> , <i>gyrA/B</i> , <i>nor</i> -geenit	Hooper 2002, Lowy 2003, Santos Costa ym. 2015
Gentamisiini	Mikrobilääkkeen hajotus entsyymien avulla (AME-entsyymit)	<i>aac (6)-Ie-</i> <i>aph (2'')</i> , <i>aph (3')-IIIa</i>	Daigle ym. 1999, Perumal ym. 2016
Amikasiini	Mikrobilääkkeen hajotus entsyymien avulla (AME-entsyymit)	<i>aac (6)-Ie-</i> <i>aph (2'')</i> , <i>aph (3')-IIIa</i>	Daigle ym. 1999, Perumal ym. 2016

Bakteeri voi tuottaa mikrobilääkettä hajottavaa entsyymiä, esimerkiksi beetalaktamaasia (Tenover 2006, Drawz ja Bonomo 2010). Sen toiminta perustuu beetalaktaameihin kuuluvan mikrobilääkkeen beetalaktaamirenkaan hydrolysoimiseen ja siten hajottamiseen (Lowy 2003, Drawz ja Bonomo 2010). Bakteereilla on omia tyypillisiä beetalaktamaaseja, jotka kaikki voidaan luokitella sekvensoinnin perusteella neljään yhteiseen pääryhmään A-D (Livermore 1995). Esimerkkinä bakteerien beetalaktamaaseista ovat *E. coli* -bakteerin TEM1, TEM2

ja SHV, (Shah ja Hasan 2004, Tenover 2006) ja stafylokokkien tuottama penisillinaasi (Lowy 2003).

Bakteerisolu voi pumpata mikrobilääkkeen ulos solusta niin sanotuilla efflux-pumpuilla ennen kuin se on ehtinyt vaikuttaa (Tenover 2006). Pumppuja on solun pinnalla myös luonnostaan ja niitä voidaan luokitella niiden ominaisuuksien mukaan (Putman ym. 2000). Grampositiivisten stafylokokkien resistenssi fluorokinoloneihin kuuluviin mikrobilääkkeisiin perustuu osin tällaisiin pumppuihin (Hooper 2002), esimerkkinä *S. aureus* -bakteerin pinnalla olevat NorA-, NorB- ja NorC-pumput (Hooper, 2002, Jang 2016). Stafylokokit käyttävät efflux-pumppuja myös makrolideihin ja linkosamideihin kuuluvien mikrobilääkkeiden poistamiseen bakteerisolusta (Leclercq 2002).

Bakteeri voi muuttaa mikrobilääkkeen vaikutuskohtaa niin, ettei se enää pysty kiinnittymään siihen (Tenover 2006), tästä esimerkkinä makrolidien ja linkosamidien sitoutumiskohdan metylaatio stafylokokkien ribosomeissa *erm*-geenin vaikutuksesta (Leclercq 2002, Roberts 2008). Toinen tärkeä esimerkki tästä on stafylokokkien metisilliiniresistenssi. Myöhemmin kerrotaan tarkemmin *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerin metisilliiniresistenssin mekaniismista, joka on samankaltainen myös muilla stafylokokeilla.

2.3.1 Mikrobilääkeherkkyyden testaaminen

Bakteerin resistenssiä voidaan testata eri tavoilla, kuten fenotyypin perustuvilla kiekkodiffuusio- tai liemilaimennosmenetelmällä (Van Duijkeren ym. 2011, Kadlec ja Schwarz 2012). Kiekkodiffuusio menetelmässä bakteeria sisältävää liuosta levitetään kauttaaltaan Müller-Hinton agarille, jonka jälkeen mikrobilääkkeitä sisältäviä kiekkoja asetellaan agarille. Tulokset saadaan mittaamalla mikrobilääkekiekon ympärille muodostuneen estovyöhykkeen halkaisija. Estovyöhykkeellä tarkoitetaan aluetta mikrobilääkekiekon ympärillä, jolla ei ole bakteerikasvua. Mittaus tehdään maljojen 18–24 tunnin inkuboinnin jälkeen (CLSI 2012). Saadut mittaustulokset ilmoitetaan millimetreinä, joille on määritelty tulkintarajoja (Evira 2013).

Stafylokokkien resistenssiprofiilia määritettäessä on tärkeää testata myös bakteerin metisilliiniresistenssi. Mikäli bakteeri on resistentti metisilliinille, oletetaan sen nimittäin olevan resistentti myös kaikille muille beetalaktaamimikrobilääkkeille. Mikroilääkeherkkyytsteissä käytetään kuitenkin metisilliinin sijasta yleensä oksasilliinia sen ollessa vakaampi laboratorio-olosuhteissa (Kadlec ja Schwarz 2012). Varmin tapa selvittää stafylokokkibakteerin metisilliiniresistenssi kuitenkin on *mecA*-geenin etsiminen PCR-menetelmällä (Van Duijkeren ym. 2011). Tässä tutkimuksessa analysoitavat resistenssitulokset on saatu kiekkodiffuusiomenetelmää käyttämällä.

2.4 Mikroilääkeresistenssi *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerissa

Ludwig ym. (2016) selvittivät tutkimuksessaan yleisten ihopatogeenien, mukaan lukien *S. pseudintermedius*, mikroilääkeresistenssiä Tshekistä, Ranskasta, Saksasta, Unkarista, Italiasta, Hollannista, Puolasta, Espanjasta, Ruotsista ja Iso-Britanniasta peräisin olevista näytteistä. Saksan tilanteesta lisää kertoo myös kartoitus eläinlääketieteessä käytettävien mikroilääkkeiden resistenssitilanteesta (GERMAP). Euroopan ulkopuolella muun muassa Australiassa (Saputra ym. 2017) ja Yhdysvalloissa (Videla ym. 2018) on tutkittu *S. pseudintermedius* -bakteerin mikroilääkeresistenssiä.

Ludwig ym. (2016) tutkimuksessa analysoitiin yhteensä 1408 näytettä, 1182 koirista ja 226 kissoista, jotka olivat otettu erilaisista ihotulehduksista, haavainfektioista ja korvatulehduksista. *S. pseudintermedius* oli koirien yleisin ja kissojen toiseksi yleisin eristetty bakteeri, koirilla 47 % (556 näytettä) ja kissoilla (49 näytettä) 21,7 % näytteistä sisälsi kyseisen bakteerin. Mikroilääkeresistenssitulokset tutkimuksesta on esitetty taulukossa 2. Saksan vuoden 2015 kartoituksessa raportoidaan vuosina 2012 ja 2013 tutkittujen *S. pseudintermedius* -kantojen resistenssi 11 (penisilliini, oksasilliini, klindamysiini, kloramfenikoli, ampisilliini, amoksisilliini-klavulaanihappo, gentamisiini, enrofloksasiini, tetrasykliini, marbofloksasiini, erytromysiini) mikroilääkkeen osalta. Vuonna 2012 resistenssitasot vaihtelivat 7–67 % välillä, kun taas vuonna 2013 resistenssitasot olivat jokaisen testatun mikroilääkkeen kohdalla

edellisvuotta korkeampia. Vuonna 2013 resistenssitasot vaihtelivat noin 10–71 % välillä. Molempina vuosina penisilliinin resistenssitaso oli korkein tutkituista mikrobilääkkeistä (GERMAP 2015).

Taulukko 2. *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerin mikrobilääkeresistenssi sekä *mecA*-geenin sisältävien bakteereiden (*S. pseudintermedius*, *S. aureus* ja koagulaasinegatiiviset stafylokokit) mikrobilääkeiresistenssi Tshekistä, Ranskasta, Saksasta, Unkarista, Italiasta, Hollannista, Puolasta, Espanjasta, Ruotsista ja Iso-Britanniasta peräisin olevista näytteistä (Ludwig ym. 2016) Intermediate-kannat on laskettu resistenteiksi.

Mikrobilääke	Resistenssi %, koira	Resistenssi %, kissa	Resistenssi %, <i>mecA</i>
Penisilliini	20,7	18,4	100,0
Oksasilliini	6,8	10,2	-
Klindamysiini	29,9	-	82,0
Kloramfenikoli	19,8	22,4	34,0
Ampisilliini	9,2	-	100,0
Amoksisilliini- klavulaanihappo	6,5	10,2	100,0
Gentamisiini	6,7	18,3	70,0
Enrofloksasiini	8,6	14,3	78,0
Marbofloksasiini	6,7	12,2	72,0

Australiassa tutkittiin vuosina 2013–2014 seuraeläimistä eristettyjen koagulaasipositiivisten stafylokokkien mikrobilääkeresistenssiä yhteensä 16 mikrobilääkkeen osalta (Saputra ym. 2017). Näytteitä kerättiin 888 kappaletta, joista yleisin tunnistettu bakteeri oli *S. pseudintermedius* (70,8 %). Koirista peräisin olleiden kantojen mikrobilääkeresistenssi vaihteli 1,1–45,1 % välillä amoksisilliini-klavulaanihapporesistenssin ollessa korkein ja amikasiiniresistenssin pienin. Enrofloksasiiniresistenssi (8,1 %) oli yksi matalammista, kun taas tetrasykliini- ja sulfa-trimetopriimiresistenssi (22,7 % ja 37,3 %) olivat korkeimpia amoksisilliini-klavulaanihapon jälkeen. Kannat olivat yhtä resistenttejä (12,7 %) oksasilliinille ja klindamysiinille kefalosporiinien (kefovesiini, kefoksitiini,

keftriaksoni ja kefalotiini) resistenssitasojen (11,5–13,5 %) ollessa myös samaa tasoa.

Yhdysvalloissa (Videla ym. 2018) mikrobilääkeresistenssi tutkittiin 190 *S. pseudintermedius* -kannasta. Resistenssi testattiin erikseen metisilliinille herkkien ja metisilliinille resistenttien kantojen kesken. Aineistossa oli 49 metisilliinille herkkää *S. pseudintermedius* -kanta. Resistenssi testattiin yhdeksän mikrobilääkkeen (kefalosporiini, kloramfenikoli, klindamysiini, erytromysiini, gentamisiini, marbofloksoasiini, penisilliini, tetrasykliini ja sulfa-trimetopriimi) osalta. Mikrobilääkkeiden resistenssitasot metisilliinille herkillä *S. pseudintermedius* -kannoilla vaihtelivat 0,0–38,8 % välillä, poisluettuna penisilliini, jonka resistenssi oli 73,5 %. Penisilliinin jälkeen korkein resistenssi oli sulfa-trimetopriimilla. Suurin osa, 141 kappaletta, tutkituista kannoista oli metisilliinille resistenttejä. Näiden kantojen resistenssitasot vaihtelivat 70,9–100,0 % välillä, poikkeuksena kloramfenikoli, jonka resistenssi oli vain 6,4 %. Metisilliiniresistenssiä kerrotaan tarkemmin seuraavassa kappaleessa.

2.4.1 Metisilliiniresistentti *Staphylococcus pseudintermedius*

Metisilliinille resistenttejä *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteereja eli MRSP-bakteereja löydettiin Euroopasta ensimmäistä kertaa vuonna 2007. Tällöin Pohjois-Saksasta löytyi *S. (pseud)intermedius* -bakteeri, joka oli resistentti useille mikrobilääkkeille, mukaan lukien metisilliinille. Näytteet olivat peräisin 11 koirasta ja yhdestä kissasta ja ne oli kerätty iho- ja korvatulehdusnäytteistä (Loeffler ym. 2007).

MRSP-bakteereilla on metisilliiniresistenssiä koodaava *mecA*-geeni, joka saa penisilliiniä sitovan proteiinin PBP2a ilmentymään (Kadlec ja Schwarz 2012). Tämän normaalista poikkeavan PBP2a-proteiinin affiniteetti eli taipumus kiinnittyä metisilliiniin on huomattavasti alhaisempi kuin metisilliinille herkkien *S. pseudintermedius* -bakteerien PBP:n vastaava (Van Duijkeren ym. 2011). Tästä johtuen MRSP-bakteerien soluseinäsynteesi jatkuu metisilliinin tai muiden beetalaktaamien läsnäolosta huolimatta (Van Duijkeren ym. 2011). *MecA*-geeni sijaitsee liikkuvassa *SCCmec* geenikasetissa (Weese ja Van Duijkeren 2010),

jonka mukana se voi siirtyä bakteerilta toiselle, mutta myös toisille stafylokokkilajeille (Van Duijkeren ym. 2011).

2.4.1.1 MRSP-bakteerin molekyyliepidemiologia

Bakteerien molekyyliepidemiologiaa voidaan tutkia selvittämällä bakteerikantojen keskinäistä sukulaisuutta. Multilokusseksensointi (Multilocus sequence typing, MLST) on yksi menetelmä, jolla *S. pseudintermedius* -bakteereja saadaan tyypitettyä eri sekvenssityyppeihin (Pires Dos Santos ym. 2016). Toisiaan läheisesti muistuttavat sekvenssityypit (ST) voidaan vielä jaotella klonalisiin ryhmiin (Clonal complex, CC) (Damborg ym. 2016, Pires Dos Santos ym. 2016).

Pires Dos Santos ym. selvittivät katsauksessaan (2016) MRSP:n maailmanlaajuisia epidemiologiaa. Sekvenssityyppiä ST71 on aikaisemmin pidetty niin sanottuna eurooppalaisena MRSP-kantana (Perreten ym. 2010), mutta sittemmin kyseistä kantaa on löydetty myös Pohjois- ja Etelä-Amerikasta sekä Aasiasta. Vastaavasti myös Pohjois-Amerikassa yleinen CC68 on levinnyt Eurooppaan. Klonaliset ryhmät CC45 ja CC112 ovat yleisimpiä Aasiassa, mutta ovat lisäksi kohtalaisen yleisiä Euroopassa (Pires Dos Santos ym. 2016). Ryhmään CC258 kuuluvien kantojen määrä on lisääntynyt Norjan (Kjellman ym. 2015) sekä Ruotsin (Swedres-Svarm 2016) lisäksi myös muualla Euroopassa (Pires Dos Santos ym. 2016). Kyseiseen ryhmään kuuluva ST258 onkin jättämässä yleisyydessä jo ST71-kannan taakseen (Kjellman ym. 2015, Duim ym. 2016). Suomessa CC258 on kolmanneksi suurin klonaalinen ryhmä jääden ryhmien CC71 ja CC45 taakse (Grönthal ym. 2017). Sekvenssityyppien leviäminen kertoo paitsi MRSP-kantojen leviämisestä, myös mikrobilääkeresistenssin leviämisestä. Eri kannoilla on nimittäin havaittu erilaisia resistenssiprofiileja (Kjellman ym. 2015, Damborg ym. 2016, Pires Dos Santos ym. 2016, Swedres-Svarm 2016).

2.4.1.2 Metisilliiniresistentin *Staphylococcus pseudintermedius* -bakteerin epidemiologia ja resistenssi

Tutkimuksia erityisesti MRSP:n esiintymisestä on tehty muissa Pohjoismaissa. Norjalaisessa tutkimuksessa Kjellman ym. (2015) selvittivät Norjan MRSP-

esiintyvyyttä, mikrobilääkeresistenssiä sekä MRSP-kantojen sukulaisuutta vuosina 2008-2013 kerätyistä näytteistä. Ruotsin tilanteesta kertoo vuosittain ilmestyvä kartoitus mikrobilääkkeiden käytöstä (Swedres-Svarm). Tanskassa kerättyjen kliinisten MRSP-näytteiden mikrobilääkeresistenssiä ja sukulaisuutta taas tutkittiin Damborg ym. (2016) tutkimuksessa. Kantojen sukulaisuutta tutkittiin sekvenssityypityksen avulla. Pohjoismaiden lisäksi MRSP:n mikrobilääkeresistenssiä on tutkittu muun muassa Hollannissa (Duim ym. 2016), Saksassa (GERMAP 2015) sekä useampaa Euroopan maata käsittelevässä tutkimuksessa (Ludwig ym. 2016).

Kjellman ym. (2015) tekemässä tutkimuksessa 189:ltä kliinisesti terveeltä koiralta suusta ja perineaalialueelta otetuista näytteistä löydettiin viisi MRSP-positiivista näytettä (2,6 %). Ruotsin ensimmäinen MRSP-kanta löydettiin vuonna 2006 terveen koiran peräaukosta otetusta näytteestä (Svarm 2006). Ruotsissa on vuodesta 2009 lähtien raportoitu 33–130 MRSP-löydöstä vuosittain (Svarm 2010 ja 2011, Swedres-Svarm 2012, 2013, 2015 ja 2016). Löydösten määrä oli korkeimmillaan vuonna 2009, jolloin löydettiin 130 MRSP-positiivista näytettä (Swedres-Svarm 2015). Vuonna 2016 MRSP-löydöksiä ilmoitettiin 55 kappaletta (Swedres-Svarm 2016).

Norjalaisista MRSP-positiivisista näytteistä tutkittiin mikrobilääkeresistenssi seuraavien mikrobilääkkeiden osalta: tetrasykliini, fusidiinihappo, sulfa-trimetopriimi, siprofloksasiini, erytromysiini, klindamysiini, gentamisiini ja nitrofurantoiini. Tuloksissa resistenssiprosentit mikrobilääkkeiden osalta vaihtelivat 0 % (nitrofurantoiini) ja 87 % (erytromysiini ja klindamysiini) välillä (Kjellman ym. 2015). Norjalaistutkimuksessa fusidiinihapporesistenssi (26 %) oli samaa tasoa kuin Ruotsissa 2015, kun taas gentamisiiniresistenssi (39 %) oli hieman korkeampi. Ruotsissa vuonna 2015 MRSP-löydösten fusidiinihapporesistenssi oli 22 % ja gentamisiiniresistenssi 29 % (Swedres-Svarm 2015). Vuonna 2016 vastaavat luvut olivat 22 % ja 47 % (Swedres-Svarm 2016).

Tanskassa MRSP-bakteerien mikrobilääkeresistenssiä on vertailtu kantojen klonaalisten ryhmien välillä. Vuosilta 2009–2014 kerättyjen MRSP-kantojen mikrobilääkeresistenssi vaihteli suuresti CC71-ryhmään kuuluvien bakteereiden

ollen lähes kokonaan resistenttejä fluorokinoloneille ja gentamisiinille, kun taas CC258-ryhmä oli huomattavasti herkempi mikrobilääkkeille (Damborg ym. 2016).

Tanskassa (Damborg ym. 2016) yleisin sekä Norjassa (Kjellman ym. 2015) toiseksi yleisin MRSP-kantojen sekvenssityyppi oli ST71. Molemmissa maissa sekvenssityypin havaittiin myös olevan moniresistentti (resistenssi ≥ 3 mikrobilääkeryhmälle). Resistentin kanta Tanskassa oli herkkä vain kahdelle (kloramfenikolille ja rifampisiinille) mikrobilääkkeelle 22 testatusta. Norjassa vastaavasti sekvenssityypin ST71 kuuluvat kannat olivat herkkiä 1-3 mikrobilääkkeelle kahdeksasta testatusta. Ruotsissa vuonna 2016 tutkituista 28 MRSP-kannasta neljä kuului ST71-sekvenssityypin, mikä tekee siitä kolmanneksi yleisimmän sekvenssityypin Ruotsissa. Nämä myös olivat moniresistenttejä kaikkien muidenkin Ruotsissa tutkittujen kantojen tapaan. MRSP-kantojen mikrobilääkeresistenssi kuitenkin vaihtelee suuresti. Kaikki Ruotsista löydetty sekvenssityypin ST551 kuuluneet kannat olivat resistenttejä enrofloxasiinille, erytromysiinille, klindamysiinille, gentamisiinille, tetrasykliinille ja sulfa-trimetopriimille, kun taas lähes kaikki ST71 kannat olivat herkkiä tetrasykliinille resistenssiprosentin ollessa vain 2 % (Swedres-Svarm 2016).

Hollannissa on myös tutkittu (Duim ym. 2016) MRSP-bakteerin mikrobilääkeresistenssiä ja bakteerikantojen sekvenssityyppejä. MRSP-kantojen osuus kaikista *S. pseudintermedius* -bakteereista vuonna 2013 oli 7,38 % ja sen huomattiin kasvaneen 6,1 prosenttiyksiköllä vuodesta 2004. Hollannissa mikrobilääkeresistenssiä tutkittiin MRSP-bakteerien klonaalisten ryhmien mukaan yhdeksän eri mikrobilääkeryhmän osalta (beetalaktaamit, tetrasykliinit, linkosamidit ja/tai makrolidit, kloramfenikolit, diaminopyrimidiini-sulfonamidi yhdistelmät, aminoglykosidit, fluorokinolonit, fusidiinihappo ja rifamysiinit). Kannat, jotka kuuluivat klonalisiin ryhmiin CC71 tai CC45 olivat resistenttejä seitsemälle mikrobilääkeryhmälle, kun taas CC258-ryhmään kuuluneet kannat olivat resistenttejä vain viidelle tai kuudelle mikrobilääkeryhmälle ollen kuitenkin herkkiä enrofloxasiinille (fluorokinoloni). Suurin osa tutkituista MRSP-löydöksistä oli resistenttejä viidelle tai kuudelle mikrobilääkeryhmälle. Näytteet oli kerätty vuosien 2004–2013 aikana.

Ludwig ym. (2016) tutkimuksessa metisilliiniresistenssin mahdollistava *mecA*-geeni havaittiin 6,3 % *S. pseudintermedius* -bakteereista, mutta viidestä oksasilliinille resistentistä kannasta ei kuitenkaan löydetty *mecA*-geeniä. Tätä geeniä kantavien bakteerien mikrobilääkeresistenssi myös tutkittiin, ja tulokset on esitetty taulukossa 2. Saksassa vuonna 2012 tutkituista kannoista 8 % ja vuonna 2013 tutkituista kannoista 10 % oli metisilliinille resistenttejä. Kartoituksessa MRSP-kantojen havaittiin olevan resistenttejä esimerkiksi erytromysiinille, gentamisiinille, sulfa-trimetopriimille, enrofloksasiinille ja marbofloksasiinille, suurin osa MRSP-positiivisista kannoista oli myös moniresistenttejä (GERMAP 2015). Raportissa niputetaan yhteen kaikki SIG-ryhmän bakteerit, mutta kuten aikaisemmin on todettu, voidaan lemmikkieläimiltä löydettyjä SIG-ryhmän bakteereja pitää *S. pseudintermedius* -bakteerina.

2.4.1.3 MRSP-tartunnan riskitekijät

Erilaisten riskitekijöiden vaikutusta MRSP-tartuntaan on selvitetty muun muassa Saksassa ja Yhdysvalloissa. Saksassa Lehner ym. (2014) tutkivat 150 MRSP-positiivista ja 133 metisilliinille herkkää *S. pseudintermedius* -bakteerin kantajaa monimuuttujamallin avulla. Tutkittuja riskitekijöitä olivat muun muassa vierailut eläinsairaalassa, aikaisemmat mikrobilääkitykset, aikaisempi glukokortikoidilääkitys, korvasta otettu näyte sekä eläinlaji. Yhdysvalloissa (Hensel ym. 2016) tutkittiin 53 MRSP- ja 45 metisilliinille herkän *S. pseudintermedius* -bakteerin kantajaa, joilla kaikilla oli aikaisemmin diagnosoitu ihotulehdus. Arvioitavia riskitekijöitä olivat muun muassa aikaisemmat mikrobilääkitykset, immuunijärjestelmän säätämiseen tarkoitettujen lääkkeiden käyttö ja mikrobilääkkeiden väärä käyttötapa.

Usealla vierailulla tai pidemmällä hoitajaksolla eläinsairaalassa oli vahva yhteys MRSP-tartuntaan (Lehner ym. 2014). Tutkimuksessa myös selvisi, että glukokortikoidilääkityksellä oli yhteys MRSP-tartuntaan, mikä huomattiin myös yhdysvaltalaisessa tutkimuspopulaatiossa (Hensel ym. 2016). Yhdysvalloissa tosin tutkittiin laajemmin immuunijärjestelmän säätämiseen käytettyjen lääkkeiden, joihin myös glukokortikoidit kuuluvat, yhteyttä MRSP-tartuntaan. Tutkimuksessa huomattiin sekä aikaisemmin että käynnissä olevan lääkityksen

olevan MRSP:n riskitekijä. Eläinlajilla (kissa tai koira) havaittiin olevan yhteys MRSP-tartuntaan (Lehner ym. 2014).

Aikaisemmillä mikrobilääkekuureilla taas ei ole yksiselitteisen selkeää yhteyttä MRSP-tartuntaan. Lehner ym. (2014) tutkimuksessa aikaisempi mikrobilääkkeiden käyttö ei ollut MRSP-tartunnan riskitekijä, kun taas Hensel ym. (2016) tutkimuksessa yhteys näiden välillä löydettiin. Mikrobilääkkeiden väärällä käytöllä, esimerkiksi liian pienet annokset tai suosituksia lyhyemmät kuurit, ei havaittu olevan yhteyttä MRSP-tartuntaan (Hensel ym. 2016), kuten ei myöskään korvasta eristetyllä kannalla ja MRSP- tartunnalla (Lehner ym. 2014).

2.5 *Staphylococcus pseudintermedius* -infektion hoito

Kaikkia bakteeri-infektioita hoidettaessa on arvioitava mikrobilääkehoidon tarve ja valittava oikea mikrobilääke käyttötarkoitukseen. Kuten kaikkien infektioiden hoidossa, myös *S. pseudintermedius* -bakteerin aiheuttaman tulehduksen hoidon yhteydessä on varmistuttava bakteerin herkkyydestä käytetylle mikrobilääkkeelle. Näin vältetään sellaisten mikrobilääkkeiden käyttö, joilla ei ole tehoa taudinaiheuttajaa kohtaan sekä samalla vähennetään riskiä mikrobilääkeresistenssin kasvun osalta (Evira 2016, MMMa 17/14, liite 2 luku 5).

Suomessa Elintarviketurvallisuusvirasto on laatinut oppaan mikrobilääkkeiden käytöstä bakteeritulehdusten yhteydessä (Evira 2016), jossa suositellaan *S. pseudintermedius* -bakteerin aiheuttaman ihotulehduksen hoitoon ensisijaisesti antiseptista paikallishoitoa ihon puhdistusten ja pesujen avulla. Vakavissa infektioiden voidaan käyttää klindamysiinia tai 1. polven kefalosporiinia herkkyysmäärittämisen perusteella. Paranemisen kontrollointi on tärkeää ja mahdolliset tulehdusta aiheuttavat taustasyt on myös selvitettävä.

Myös Hillier ym. (2014) katsauksessa todetaan paikallishoidon olevan paras hoito pinnalliseen ihotulehdukseen. Mikrobilääkehoitoon päädyttäessä katsauksessa suositellaan ensisijaisesti klindamysiinia tai linkomysiinia, 1. polven kefalosporiineja ja amoksisilliini-klavulaanihappoa, mikä on linjassa Eviran ohjeiden kanssa. Mikäli nämä yhdessä paikallishoidon kanssa eivät tehoa, suositellaan käytettäväksi herkkyysmäärittämisen perusteella doksisykliiniä,

kloramfenikoleja, fluorokinoloneja, rifampisiinia tai aminoglykosideja. Huomioitavaa on, että Suomessa rifampisiinin käyttöä on rajoitettu valtioneuvoston asetuksessa eräiden lääkeaineiden käytön kieltämisestä eläimille (1054/2014, 11 §), eikä sitä näin ollen saa käyttää näihin infektioihin.

2.5.1. MRSP-infektion hoito

Mikäli tulehduksen aiheuttaja varmistetaan MRSP-bakteeriksi, infektion hoito muuttuu hankalammaksi tehokkaiden mikrobilääkkeiden vähentyessä. Suun kautta systeemisesti annettavien tehokkaiden mikrobilääkkeiden ollessa vähissä, iholle paikallisesti laitettavien lääkeaineiden merkitys korostuu. Paikallisesti iholle laitettava fusidiinihappo on yksi mahdollisuus MRSP:n aiheuttamassa ihotulehduksessa (Clark ym. 2015, Frosini ym. 2017), sillä paikallisannostelussa saavutettavat pitoisuudet ylittävät pienimmän bakteerin kasvua estävän pitoisuuden (MIC-arvon) (Frosini ym. 2017).

Frosini ja Bond (2017) tutkivat sienilääkkeenä käytetyn klotrimatsolin tehoa metisilliinille herkkään *S. pseudintermedius* -bakteeriin sekä MRSP:hen. Tutkimuksessa määritetyt MIC-arvot olivat kohtalaisen matalia. Tämä pitoisuus todennäköisesti saadaan ylitettyä paikallisannostelussa (Frosini ja Bond 2017), jolloin lääkeaineella voisi olla tehoa myös kliinisesti. Klotrimatsolin todettiin myös vaikuttavan yhtä hyvin sekä metisilliinille herkkään *S. pseudintermedius* -bakteeriin että MRSP-bakteeriin, mikä viittaisi siihen, ettei bakteerin metisilliiniresistenssi vaikuta klotrimatsolin tehoon. MRSP-infektioiden hoitoa paikallisvalmisteilla täytyy vielä kuitenkin tutkia lisää. Sekä fusidiinihappo että klotrimatsoli ovat in-vitro -tutkimuksissa osoittaneet antibakteerista aktiivisuutta, kuten yllä on todettu, mutta niiden tehokkuuden todentamiseksi täytyy vielä tehdä kliinisiä tutkimuksia.

3 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

3.1 Käytetty materiaali

Työssä analysoitiin *Staphylococcus pseudintermedius* -löydösten kiekkoherkkyysmääritysten tuloksia, jotka olivat peräisin eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen mikrobiologian laboratorion Provet Net -järjestelmästä (Finnish Net Solutions, Suomi). Löydökset on kerätty vuosina 2011-2015 ja niitä on yhteensä 2171 kappaletta. Tulokset siirrettiin Microsoft Excel® 2010 -taulukkolaskentaohjelmaan. Valtaosa löydöksistä oli peräisin kliinisistä infektiotokuksista. Mukana oli myös resistenttien bakteerien seulontanäytteitä, jotka poistettiin aineistosta.

3.2 Raakadatan tarkistus

Tuloksista poistettiin ensin useamman kerran taulukoidut samat löydökset käyttämällä Microsoft Excel® 2010 -taulukkolaskentaohjelman kaksoiskappaleiden poisto -toimintoa. Tämän jälkeen tarkistettiin kiekkoherkkyysmääryksissä saatujen estovyöhykkeiden koot, jotka eivät voi olla alle 6 mm tai yli 40 mm. Mikäli estovyöhykkeen koko oli alle 6 mm tai yli 40 mm, löydös poistettiin. Datasta poistettiin myös suurempi tai pienempi kuin -merkit. Jos löydöksen kohdalla oli esimerkiksi > 30 mm, korjattiin tämä 30 millimetriksi. Herkkyysmääryksessä saadut millimetritulokset ja niiden tulkinnan, onko herkkä vai resistentti, välinen oikeellisuus myös tarkistettiin. Herkkyystulkinnoissa käytettiin CLSI:n standardeihin pohjautuvaa Eviran ohjeistusta (Evira 2013) sekä Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitoksen FiRe:n (THL 2009) herkkyysmäärittämissärajot, mikäli tietoa ei Eviran ohjeistuksesta löytynyt. Tässä vaiheessa myös tarkistettiin, oliko löydöksen kohdalla MRSP-merkintä, jos se oli resistentti oksasilliinille. Estovyöhykkeen koko oli tällöin ≤ 17 mm. Raakadatan tarkistuksen jälkeen löydösten määrä väheni 1932 kappaleeseen.

3.3 Analysoitavien mikrobilääkkeiden valinta

Alkuperäisessä materiaalissa yhteensä 23 mikrobilääkkeeltä löytyi ainakin yksi kiekkodiffuusiomääritelmän tulos. Tätä työtä varten analysoitiin kuitenkin vain *S. pseudintermedius* -bakteerin peruspaneeliin ja lisäpaneeliin kuuluvien mikrobilääkkeiden resistenssi. Peruspaneeliin kuuluvat oksasilliini, klindamysiini, erytromysiini, tetrasykliini, sulfa-trimetopriimi sekä fusidiinihappo ja lisäpaneeliin kuuluvat enrofloksasiini, gentamisiini sekä amikasiini. Lisäpaneelin mikrobilääkkeistä oli tehty kiekkoherkkyysmääryksiä systemaattisesti kaikille kannoille vasta vuodesta 2015 lähtien. Tätä ennen lisäpaneeli oli määritelty vain moniresistenteistä tai MRSP-kannoista.

3.4 Resistenssiprosenttien laskeminen

Valituista mikrobilääkkeistä laskettiin jokaisesta erikseen vuosittainen resistenttien bakteerien osuus prosentteina eli kuinka suuri osa löydöksistä oli resistenttejä tietylle mikrobilääkkeelle. Tätä varten resistenttien kantojen lisäksi kannat, joiden herkkyys oli alentunut (niin kutsutut intermediate-kannat) määriteltiin resistenteiksi. Resistentteiksi määritellyt kannat toimivat osoittajina ja nimittäjinä käytettiin kaikkia testattuja kantoja. Kun osoittaja jaettiin nimittäjällä, saatiin tulos, joka ilmaistiin prosentteina. Kaikille tuloksille laskettiin lisäksi 95 % luottamusvälit. Nämä tehtiin WHONET 5.6 (WHO Collaborating Centre for Surveillance of Antimicrobial Resistance) -ohjelmalla, johon tiedot siirrettiin BacLink 2-ohjelman avulla. Samalla tavalla laskettiin lisäksi MRSP-bakteereiksi luokiteltujen löydösten resistenssiprosentit Microsoft Excel® 2016 - taulukkolaskentaohjelmalla. Näiden luottamusvälit (Wilson) laskettiin Epitools-ohjelmalla (<http://epitools.usvet.com.au/content.php?page=CIPproportion>)

3.5 Moniresistenttien kantojen laskeminen

Sellaisia kantoja, jotka ovat resistenttejä kolmelle tai useammalle testatulle mikrobilääkeaineryhmälle kutsutaan moniresistenteiksi kannoiksi (MDR-kannat). Näiden osuus laskettiin koko aineistosta vuosittain peruspaneeliin kuuluvien mikrobilääkkeiden osalta. Tätä varten luotiin oma muuttuja kuvaamaan

resistenssiä nollien ja ykkösten avulla. Nolla tarkoitti, että kanta on herkkä kyseiselle mikrobilääkkeelle, kun taas ykkönen tarkoitti resistenssiä. Jos yhden kannan kohdalla näiden ykkösten ja nollien summaksi saatiin 3 tai enemmän, kanta oli MDR. Näiden kantojen vuosittaisille osuuksille laskettiin myös 95 % luottamusvälit.

3.6 Tilastolliset menetelmät

Taustamuuttujien (eläinlaji, näytetyyppi, näytteen alkuperä ja vuosi) yhteyttä MRSP-ominaisuuteen tutkittiin ristiintaulukoimalla ja laskemalla p-arvo jokaisen taustatekijän tilastollisen merkitsevyyden arvioimiseksi. P-arvot laskettiin khiin neliö -testillä (http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=chi_sq1) tai Fisherin eksaktilla testillä (<http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=2by2Table>) näytemäärän ollessa liian pieni luotettavan khiin neliö -testin suorittamiseksi.

4 TULOKSET

Aineistossa oli tarkastuksen jälkeen yhteensä 1932 *Staphylococcus pseudintermedius* -löydöstä. Suurin osa oli peräisin koirista löydösten lukumäärän ollessa 1902. Kissoista oli peräisin 18 löydöstä. Lisäksi yksi löydös oli peräisin hamsterista ja 11 löydöksen kohdalla tieto eläinlajista puuttui. Näytteistä valtaosa, noin 75 % oli pintamärkäviljelyitä (Taulukko 3). Pintamärkäviljelyiden näytetyypit on vielä erikseen jaoteltu taulukossa 4. Näytteet olivat peräisin eripuolilta Suomea, alkuperäjakauma maakunnittain on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 3. Näytteiden, joista on löydetty *S. pseudintermedius*, lukumäärä tutkimusryhmittäin.

Tutkimusryhmä	Lukumäärä (%)
Pintamärkäviljely (aerobiviljely)	1451 (75,1)
Syvämärkäviljely (aerobi+anaerobiviljely)	265 (13,7)
Virtsaviljely	98 (5,1)
Muut	70 (3,6)
YES-potilaan leikkaushaavainfektio	48 (2,5)
Yhteensä	1932

Taulukko 4. Pintamärkäviljelyiden näytetyypit ja niistä otettujen näytteiden lukumäärä.

Pintamärkäviljelyn näytetyypit	Lukumäärä
Korva ^a	447
Ihopoimu/ihorikko	341
Muu erite	280
Furunkkeli	170
Haava	146
Fisteli/dreeniaukko	38
Tieto puuttuu	29
Yhteensä	1451

^aBulla/välikorva, korvakäytävä

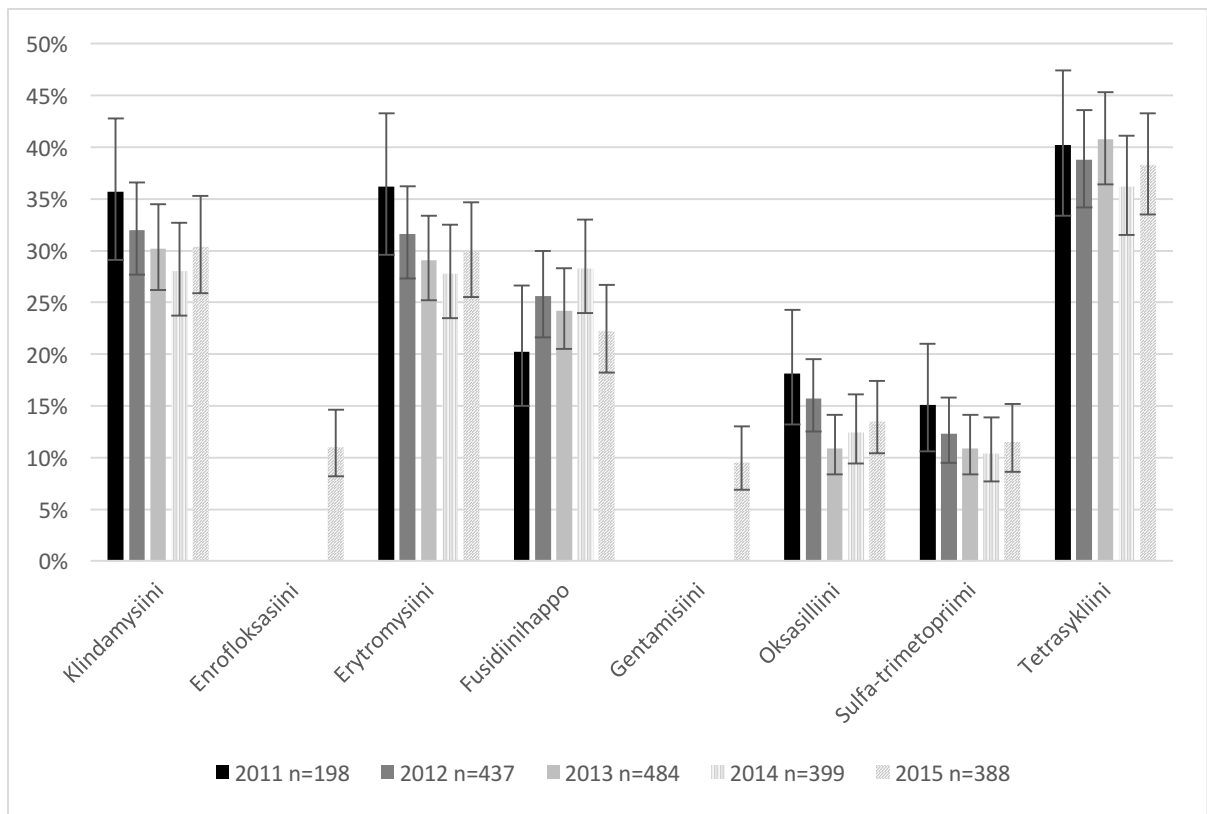
Taulukko 5. Näytteiden, joista on löydetty *S. pseudintermedius*, lukumäärä maakunnittain.

Maakunta	Lukumäärä
Helsinki	1127
Muu Uusimaa	405
Pirkanmaa	125
Varsinais-Suomi	82
Kanta-Häme	50
Pohjois-Pohjanmaa	48
Kymenlaakso	24
Päijät-Häme	23
Keski-Suomi	11
Pohjois-Savo	9
Etelä-Karjala	8
Pohjois-Karjala	7
Satakunta	7
Etelä-Savo	2
Pohjanmaa	2
Etelä-Pohjanmaa	1
Kainuu	1
Yhteensä	1932

WHONET-ohjelman avulla lasketuista vuosittaisista resistenssiprosenteista tehtiin mikrobilääkekohtainen kaavio (Kuva 1), jossa kuvataan *S. pseudintermedius* -bakteerin mikrobilääkeresistenssin kehitys vuosittain, tulosten luottamusvälit sekä testattujen kantojen määrä. Amikasiinin, enrofloksasiinin ja gentamisiinin osalta kiekkoherkkyyismääryksiä on tehty systemaattisesti vasta vuodesta 2015, joten vain sen vuoden tulokset on esitetty kuvassa 1.

Resistenttien bakteerien osuus ei ollut kasvanut yhdenkään mikrobilääkkeen kohdalla vuosittain. Lisäksi vain fusidiinihapporesistenssi vuonna 2015 oli suurempi kuin vuonna 2011. Klindamysiinin, erytromysiinin ja sulfa-trimetopriimin osalta oli havaittavissa samankaltaisuutta, vuoteen 2014 asti resistenssi oli laskenut, mutta vuonna 2015 se oli taas kääntynyt nousuun. Oksasilliinilla tämä resistenssin nousu alkoi jo vuonna 2014. Fusidiinihappo- ja tetrasykliiniresistenssi vaihteli vuosittain, eikä selvää resistenssiprosentin kasvutai laskutrendiä ollut havaittavissa. Gentamisiiniresistenssi (9,5 %) oli vuonna 2015 kaikista analysoiduista mikrobilääkkeistä pienin, kun taas tetrasykliiniresistenssi oli vuonna 2015 korkein, peräti 38,3 %. Amikasiinille

resistentejä *S. pseudintermedius* -kantoja ei löytynyt ollenkaan vuosien 2011-2015 aikana.



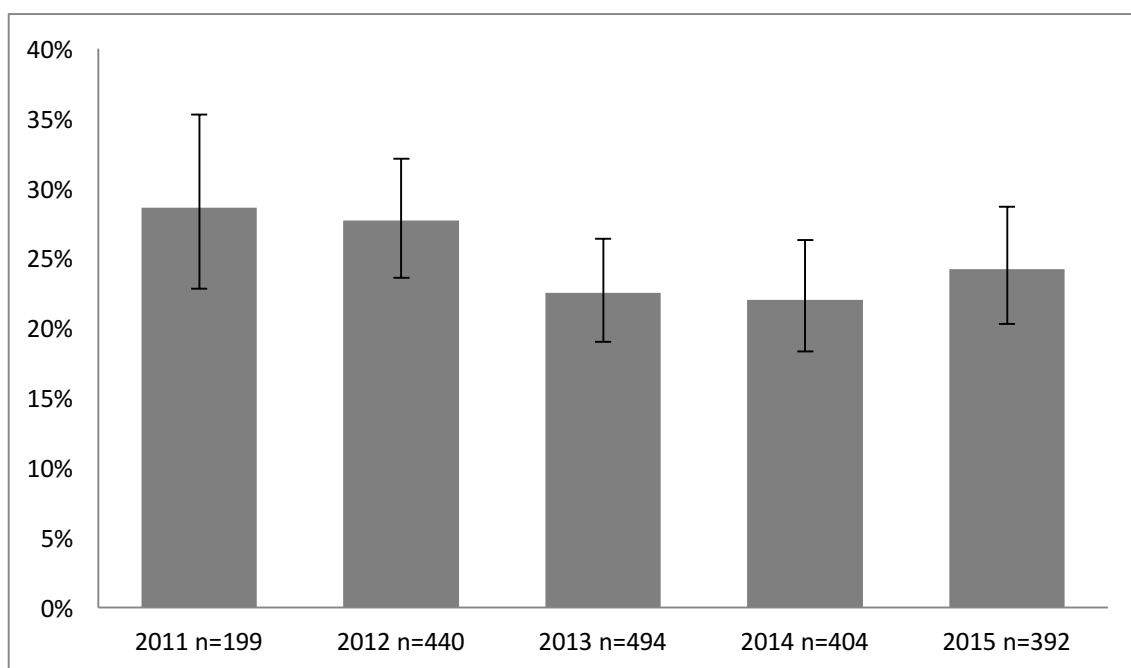
Kuva 1. Testattujen mikrobilääkkeiden resistenssiprosentit, testattujen kantojen määrä sekä 95% luottamusvälit vuosina 2011-2015. Testattujen kantojen määrässä on pientä vaihtelua eri mikrobilääkkeiden välillä. Ilmoitetut näytemäärät eroavat maksimissaan 10 bakteerikannalla todellisuudessa testatusta lukumäärästä. Enrofloxasiniinista ja gentamisiinista on tietoa vain vuodelta 2015.

MRSP-kannoista tarkasteltiin erikseen resistenssiä muille mikrobilääkkeille. Mikrobilääkeresistenssi sekä niiden luottamusvälit peruspaneeliin kuuluvien mikrobilääkkeiden osalta on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. MRSP-bakteerien mikrobilääkeresistenssi ja luottamusväli. Näytteet ovat vuosilta 2011-2015.

Mikrobilääke	Testattujen kantojen määrä	R%	95 % luottamusväli
Oksasilliini	263	100	98,6-100
Erytromysiini	263	81,4	76,2-85,6
Klindamysiini	263	81,0	75,8-85,3
Sulfa-trimetopriimi	263	44,9	39,0-50,9
Fusidiinihappo	261	24,1	19,4-29,7
Tetrasykliini	262	71,0	65,2-76,2
Gentamisiini	246	42,3	36,3-48,5
Enrofloksasiini	247	48,2	42,0-54,4

Moniresistenttien bakteerikantojen vuosittainen osuus prosentteina esitetään kuvassa 2. MDR-kantojen prosenttiosuus on laskenut vuosien 2011–2014 aikana, vuonna 2015 osuus on kuitenkin kasvanut 2,2 prosenttiyksikköä edellisvuoteen verrattuna. Tämä noudattaa samankaltaista kaavaa useiden mikrobilääkkeiden vuosittaisten resistenssiprosenttien kanssa.



Kuva 2. MDR-kantojen osuus *Staphylococcus pseudintermedius* -löydöksistä vuosittain, tutkittujen *S. pseudintermedius* -bakteerien näytemäärät ja 95 %:n luottamusväli.

Taulukossa 7 on kuvattu eläinlajin vaikutus MRSP-tulokseen. Mukana ovat kaikki näytteet, joiden kohdalla eläinlaji tiedettiin poisluettuna hamsterista peräisin ollut yksi näyte. Taulukossa 8 on kuvattu pintamärkäviljelyn näytetyypin vaikutusta MRSP-tulokseen. Mukana ovat kaikki näytteet, joiden näytetyyppi tiedettiin. Taulukossa 9 on kuvattu näytteen maantieteellisen alkuperän vaikutusta MRSP-tulokseen. Kuvassa 1 taas on myös kuvattu vuoden vaikutusta MRSP-tulokseen.

Taulukko 7. Aineiston MRSP-löydökset ryhmiteltynä eläinlajin mukaan,

Eläinlaji (näytteiden lkm)	MRSP (%)	ei-MRSP (%)
Koira (1902)	254 (13,4)	1648 (86,6)
Kissa (18)	6 (33,3)	12 (66,7)

Taulukko 8. Aineiston MRSP-tulokset ryhmiteltynä pintamärkäviljelyn tiedettyjen näytetyyppien mukaan.

Näytetyyppi (näytteiden lkm)	MRSP (%)	ei-MRSP (%)
Fisteli/dreeniaukko (38)	5 (13,2)	33 (86,8)
Furunkkeli (170)	19 (11,2)	151 (88,8)
Haava (146)	25 (17,1)	121 (82,9)
Ihopoimu/ihorikko (341)	53 (15,5)	288 (84,5)
Korva ^a (447)	36 (8,1)	411 (91,9)
Muu erite (280)	52 (18,6)	228 (81,4)

^aBulla/välikorva, korvakäytävä

Taulukko 9. Aineiston MRSP-löydökset ryhmiteltynä niiden alkuperän mukaan.

Näytteiden alkuperä (lkm)	MRSP (%)	ei-MRSP (%)
Helsinki (1127)	172 (15,2)	955 (84,8)
Etelä-Suomi ^a (510)	57 (11,1)	453 (88,9)
Länsi-Suomi ^b (228)	29 (12,7)	199 (87,3)
Itä-Suomi ^c (18)	0 (0,0)	18 (100,0)
Pohjois-Suomi ^d (49)	5 (10,2)	44 (89,8)

^aEtelä-Karjala, Päijät-Häme, Kanta-Häme, Uusimaa, Kymenlaakso

^b Etelä-Pohjanmaa, Keski-Suomi, Pirkanmaa, Pohjanmaa, Satakunta, Varsinais-Suomi

^cPohjois-Karjala, Pohjois-Savo, Etelä-Savo

^dKainuu, Pohjois-Pohjanmaa

Eläinlajien välisten erojen tilastollinen merkitsevyys MRSP-tuloksen yhteydessä laskettiin Fisherin eksaktilla testillä. P-arvoksi saatiin 0.026, joten erot eläinlajien välillä ovat siis tilastollisesti merkitseviä, kun oletetaan merkitsevyyden rajan olevan $< 0,05$. Pintamärkäviljelyiden näytetyyppien vaikutusta MRSP-tulokseen selvitettiin käyttämällä khiin neliö -testiä. P-arvoksi saatiin 0,001 ($\chi^2= 21,33$; $df= 5$), joten näytetyyppien välillä on tilastollisesti merkitsevä ero. Näytteiden maantieteellisen alkuperän yhteyttä MRSP-tulokseen testattiin myös käyttämällä khiin neliö -testiä, jolloin p-arvoksi saatiin 0,070 ($\chi^2= 8,66$; $df= 4$). Sillä mistä päin Suomea näyte on peräisin ei siis ole tilastollisesti merkitystä. Lisäksi vielä vuoden vaikutus MRSP-tulokseen testattiin khiin neliö -testillä. P-arvoksi saatiin 0,086 ($\chi^2= 8,15$; $df= 4$), eli myöskään vuosien välillä olevat erot MRSP-tuloksissa eivät ole tilastollisesti merkitseviä.

5 POHDINTA

S. pseudintermedius -bakteerin mikrobilääkeresistenssin kehitys Suomessa on tämän tutkielman tulosten perusteella ollut vaihtelevaa. Alun laskevan vaiheen jälkeen suurimman osan peruspaneeliin kuuluneiden mikrobilääkkeiden resistenssi oli kasvanut vuoden 2014 jälkeen. Mielenkiintoista olisikin selvittää, onko resistenssin kasvu jatkunut, vai onko se ollut vain yksittäinen piikki. Kasvusta tai laskusta ei kuitenkaan tehty tilastollista testausta, joten ei voida sanoa, oliko silmämääräisesti havaitut mikrobilääkeresistenssin muutokset tilastollisesti merkitseviä. Mikrobilääkkeiden kokonaiskulutuksen laskiessa (Fimea 2017a) voisi olettaa, että myös mikrobilääkeresistenssin muodostuminen kääntyisi laskuun. Kokonaiskulutusta mittaavissa tilastoissa ei kuitenkaan ole erikseen eritelty pieneläinten ja tuotantoeläinten mikrobilääkkeiden käyttöä (Fimea 2017c), joten ei voida siis suoraan olettaa, että pieneläimillä mikrobilääkkeiden käyttö olisi vähentynyt ja siten vaikuttanut mikrobilääkeresistenssin muodostumiseen. Pieneläinten osuutta mikrobilääkkeiden käytöstä voidaan kuitenkin arvioida esimerkiksi suun kautta

annettavien kefalosporiinien avulla, sillä ne ovat käytännössä suunnattu vain pieneläimille. Näiden mikrobilääkkeiden myynti lääketukuista onkin vähentynyt (Fimea 2017b). Mikrobilääkeresistenssin ja mikrobilääkkeiden kokonaiskulutuksen välistä riippuvuutta, tai onko sitä ollenkaan, olisi mielenkiintoista tutkia tarkemmin esimerkiksi vuosittain.

Tämän tutkielman perusteella *S. pseudintermedius* -bakteerin mikrobilääkeresistenssi Suomessa on samassa linjassa muiden Euroopan maiden kanssa niiltä osin, kun samoja mikrobilääkkeitä on testattu. Esimerkiksi klindamysiinin resistenssitaset Suomessa vastaavat melko hyvin muiden Euroopan maiden tuloksia (Ludwig ym. 2016). Australiassa *S. pseudintermedius* -bakteerin mikrobilääkeresistenssi on taas pääsääntöisesti matalampi Suomeen verrattuna. Esimerkiksi klindamysiini-, enrofloksasiini- ja tetrasykliiniresistenssi ovat kohtalaisesti Suomen vastaavia matalampia. Poikkeuksena kuitenkin on sulfa-trimetopriimi, jonka resistenssi on Australiassa (Saputra ym. 2017) yli kaksi kertaa suurempi kuin Suomessa. Yhdysvalloissa mikrobilääkkeiden resistenssitasojen vaihtelu on samaa tasoa Suomen kanssa, mutta myös Yhdysvalloissa sulfa-trimetopriimiresistenssi on Suomeen verrattuna huomattavan korkea (Videla ym. 2018). Kirjallisuuskatsauksessa käsitellyissä eurooppalaisissa artikkeleissa ei oltu testattu sulfa-trimetopriimiresistenssiä, joten Suomen tilannetta niihin ei voi verrata. Jos Suomen sulfa-trimetopriimiresistenssi olisi myös muihin Euroopan maihin verrattuna huomattavasti matalampi, olisi mielenkiintoista selvittää, mistä tämä voisi johtua.

Tutkimuksissa on eroja, jotka vaikeuttavat tulosten vertailua. Tanskassa (Damborg ym. 2016) ja Hollannissa (Duim ym. 2016) mikrobilääkeresistenssiä tutkittiin klonaalisten ryhmien mukaan ja näiden ryhmien välillä havaittiin myös huomattavia eroja mikrobilääkeresistensseissä. Näitä tuloksia on hankala verrata tämän tutkielman vuosittaisten resistenssiprosenttien lukemiin, koska *S. pseudintermedius* -kantojen tyypityksiä eri sekvenssityyppeihin ei ole otettu mukaan tähän tutkielmaan. Tämä voisikin olla hyvä jatkotutkimuksen kohde, ottaa tiedot sekvenssityypeistä mukaan aineistoon ja laskea mikrobilääkeresistenssi klonaalisten ryhmien suhteen. Myös Yhdysvalloissa (Videla ym. 2018) tutkittujen *S. pseudintermedius* -bakteerin resistenssitulosten vertailu suoraan tämän tutkielman tuloksiin on hieman hankalaa, koska

resistenssi testattiin erikseen metisilliinille herkistä *S. pseudintermedius* - ja MRSP-kannoista. Näin toimittiin, koska aineistossa MRSP-kantojen määrä oli huomattavan suuri verrattuna metisilliinille herkkiin kantoihin. Tämä olisi vääristänyt saatuja tuloksia (Videla ym. 2018).

MRSP-kantojen esiintyvyys Suomessa on ollut hieman korkeampi kuin muualla Euroopassa, mutta Australiassa vuosilta 2013-2014 peräisin olleissa kannoissa oksasilliiniresistenssi taas oli samaa tasoa Suomen kanssa. Huomioitavaa kuitenkin on, että erityisesti vuoden 2011 MRSP-bakteerien suureen esiintyvyyteen on vaikuttanut Yliopistollisen eläinsairaalan MRSP-epidemia. Tämän vuoden jälkeen vastaaviin lukuihin ei ole päästy. On myös otettava huomioon, että tutkimusmenetelmissä on ollut eroja, MRSP-bakteeri on voitu määritellä suoraan oksasilliiniresistenssin perusteella, niin kuin tässä tutkielmassa, tai löydetyn *mecA*-geenin perusteella. Oksasilliiniresistenssin rajana pidetty alle 17 mm kokoinen estovyöhykkeen halkaisija tosin ennustaa hyvin *mecA*-geenin olemassaolon (Bemis ym. 2009). Oksasilliiniresistenssi voi kuitenkin toteutua kannan kohdalla, vaikka bakteerista ei *mecA*-geeniä löydetäisikään (Ludwig ym. 2016, Saputra ym. 2017).

Tässä tutkielmassa lasketut MRSP-bakteerien mikrobilääkeresistenssit vastaavat pääsääntöisesti hyvin Pohjoismaiden tuloksia, mutta muiden Euroopan maiden osalta on eroavaisuuksia. Euroopassa gentamisiinin ja enrofloksasiinin resistenssitason olivat huomattavasti korkeampia verrattuna Suomen vastaaviin, kun taas klindamysiinin resistenssissä oli vain yhden prosenttiyksikön ero (Ludwig ym. 2016). Norjassa MRSP-bakteerien erytromysiiniresistenssi vastasi hyvin Suomen vastaavaa, kuten myös gentamisiiniresistenssi (Kjellman ym. 2015). Ruotsissa gentamisiinin resistenssitaso oli vuonna 2015 kohtalaisesti Suomen ja Norjan tasoa matalampi, mutta vuoteen 2016 mennessä se oli noussut jo hieman Norjaa ja Suomea korkeammaksi (Swedres-Svarm 2016). Fusidiinihapporesistenssi oli Suomessa, Norjassa ja Ruotsissa samaa tasoa. Tässä tutkielmassa fusidiinihapporesistenssi on samaa tasoa sekä metisilliinille herkillä *S. pseudintermedius* - että MRSP-kannoilla.

Suurempi osa kissoista peräisin olevista *S. pseudintermedius* -kannoista on MRSP-kantoja koiriin verrattuna. Toisaalta aineistossa kissoista peräisin olevien

näytteiden määrä on todella alhainen koirista peräisiin oleviin verrattuna, joten sattuman merkitys tuloksissa korostuu. Samanlainen tulos on myös saatu Saksassa (Lehner ym. 2014), jossa kissojen vähäinen määrä tosin myös vaikutti tuloksen luotettavuuteen. Tätä tulosta ei siis voi pitää täysin luotettavana, vaan se vaatisi lisää tutkimuksia suuremmalla kissapopulaatiolla. Lisäksi tämän tutkimuksen mukaan eri pintamärkäviljelyn näytetyypeillä on tilastollisesti merkittävä ero MRSP-löydöksen suhteen. Korvasta otetun näytteen ei havaittu olevan yhteydessä MRSP-tartuntaan Lehner ym. (2014) tutkimuksessa Saksassa, joten todennäköisesti näin on myös tämän tutkielman aineistossa. Tulosten tilastollista testausta voisi jatkaa vielä pidemmälle ja esimerkiksi selvittää, millä kaikilla pintamärkäviljelyn yksittäisillä näytetyypeillä on yhteys MRSP-tartuntaan. Maantieteellisellä sijainnilla tai vuodella ei havaittu olevan merkitystä MRSP-bakteerien osuudessa.

MDR-kantojen esiintyvyys Suomessa on kääntynyt nousuun vuonna 2015. Vertailu Tanskaan (Damborg ym. 2016) ja Norjaan (Kjellman ym. 2015) on kuitenkin hankalaa, sillä niissä bakteerin moniresistenttiä on tutkittu klonaalisten ryhmien mukaan. Tätä tutkielmaa voisikin jatkaa selvittämällä MDR-kantojen sekvenssityypit ja laskemalla moniresistenttien kantojen osuus uudestaan niiden suhteen vertailukelpoisten tulosten saamiseksi. Ruotsissa vuonna 2016 tutkituista MRSP-kannoista kaikki olivat moniresistenttejä (Swedres-Svarm 2016).

S. pseudintermedius mainitaan Eviran (Evira 2016) mikrobilääkesuosituksissa pinnallisen ja syvän ihotulehduksen todennäköisenä aiheuttajamikrobina. Ensisijaisena hoitona tällaisissa *S. pseudintermedius* -bakteerin aiheuttamissa ihotulehduksissa on suositeltavaa käyttää paikallishoitovalmisteita, ennen kuin siirrytään systeemisiin mikrobilääkekuureihin (Hillier ym. 2014, Evira 2016). Tämä on hyvin linjassa tämän tutkielman tulosten kanssa. Mikrobilääkkeistä suositellaan käytettäväksi klindamysiinia tai 1. polven kefalosporiinia herkkyysmäärittämisen perusteella, mutta tämän tutkielman tulosten mukaan kuitenkin noin joka kolmas kannoista oli resistentti klindamysiinille. Tämän takia herkkyysmäärittäminen onkin tärkeää tehdä, jotta voidaan varmistua mikrobilääkkeen tehosta taudinaiheuttajaa kohtaan.

MRSP-bakteerien aiheuttamien infektioiden hoidossa on suositeltu käytettäväksi paikallisesti annosteltavaa fusidiinihappoa (Clark ym. 2015, Frosini ym. 2017). Myös tässä tutkielmassa saadut tulokset MRSP-bakteerien fusidiinihapporesistenssistä tukee tätä. MRSP-infektioiden hoidossa olisi muutenkin tärkeää määrittää bakteerin resistenssiprofiili, sillä se voi tämän aineiston tulosten perusteella hyvinkin olla herkkä fusidiinihapon lisäksi myös sulfa-trimetopriimille. Erilaisten ihoinfektioiden kohdalla olisi aina hyvä ottaa näyte ja määrittää bakteerille herkät ja resistentit mikrobilääkkeet turhien mikrobilääkekuurien määräämisen ehkäisemiseksi, resistenssin muodostumisen välttämiseksi sekä tietysti tehokkaan hoidon takaamiseksi.

6 KIITOKSET

Suuri kiitos ohjaajalleni Thomas Grönthalille useista rakentavista kommenteista ja eteenpäin kannustamisesta työskentelyn aikana. Kiitokset myös työn johtajalle ja toiselle ohjaajalle Merja Rantalalle hyvistä ideoista ja parannusehdotuksista työn viimeistelyvaiheessa. Haluan myös antaa kiitokset tutkielman opponoinnista Noora Pernulle sekä kaikille läheisilleni vankkumattomasta tuesta.

KIRJALLISUUSLUETTELO

Balachandran M, Bemis DA, Kania SA. Expression and Function of Protein A in *Staphylococcus pseudintermedius*. *Virulence* 2017, 9: 390-401.

Bannoehr J, Guardabassi L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet Dermatol* 2012, 23: 253-66.

Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 2014, 27: 870-926.

Bemis DA, Jones RD, Frank LA, Kania SA. Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J Vet Diagn Invest* 2009, 21: 53-8.

Blondeau JM. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv Ophthalmol* 2004, 49: 73-78.

Castanheira M, Watters AA, Bell JM, Turnidge JD, Jones RN. Fusidic acid resistance rates and prevalence of resistance mechanisms among *Staphylococcus* spp. isolated in North America and Australia, 2007-2008. *Antimicrob Agents Chemother* 2010, 54: 3614-7

Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001, 65: 232-60

Clark SM, Loeffler A, Bond R. Susceptibility in vitro of canine methicillin-resistant and -susceptible staphylococcal isolates to fusidic acid, chlorhexidine and miconazole: opportunities for topical therapy of canine superficial pyoderma. *J Antimicrob Chemother* 2015, 70: 2048-52.

CLSI (CLSI 2012). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition.

https://www.researchgate.net/profile/Suzan_Ragheb5/post/Are_there_recommendations_for_the_order_of_antibiotic_discs_applied_on_Miller_Hinton_agar/atta

chment/59d63e0879197b807799ab90/AS:422233756704774@1477679780485
/download/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf, haettu 6.11.2017

Daigle DM, Hughes DW, Wright GD. Prodigious substrate specificity of AAC(6')-APH(2''), an aminoglycoside antibiotic resistance determinant in enterococci and staphylococci. *Chem Biol* 1999, 6: 99-110.

Damborg P, Moodley A, Aalbæk B, Ventrella G, Dos Santos TP, Guardabassi L. High genotypic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine infections in Denmark. *BMC Vet Res* 2016, 12: 131.

Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov* 2003, 2: 114-22.

Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev* 2010, 23: 160-201.

Duim B, Verstappen KM, Broens EM, Laarhoven LM, van Duijkeren E, Hordijk J, de Heus P, Spaninks M, Timmerman AJ, Wagenaar JA. Changes in the Population of Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* and Dissemination of Antimicrobial-Resistant Phenotypes in the Netherlands. *J Clin Microbiol* 2016, 54: 283-8.

Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira 2013). Kiekkoherkkyysmenetelmän SIR-tulkintarajat.

http://www.evira.fi/files/attachments/fi/evira/lomakkeet_ja_ohjeet/elintarvikkeet/elintarvike_ja_rehututkimus/mibi/evira_3484_liite2_v7_sir_tulkintarajat_fi.pdf, päivitetty 21.11.2013, haettu 15.12.2015.

Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira 2016). Mikrobilääkkeiden käyttösuositukset eläinten tärkeimpiin tulehdus- ja tartuntatauteihin.

https://www.evira.fi/globalassets/tietoa-evirasta/julkaisut/julkaisusarjat/elaimet/mikrobilaakkeiden_kayttosuositukset_fi-004.pdf, päivitetty 15.9.2017, haettu 19.11.2017.

Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira 2018). Kolmannen polven kefalosporiinien valvonnassa välivuosi.

<https://www.evira.fi/elaimet/elainlaakaripalvelut/saparo-utiskirje-elainlaakareille/2018/saparo-utiskirje-elainlaakareille-12018/kolmannen-polven-kefalosporiinien-valvonnassa-valivuosi/>, päivitetty 20.2.2018, haettu 22.3.2018.

Eliopoulos GM, Huovinen P. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. Clin Infect Dis 2001, 32: 1608-14.

Ferran AA, Liu J, Toutain PL, Bousquet-Mélou A. Comparison of the In vitro Activity of Five Antimicrobial Drugs against Staphylococcus pseudintermedius and Staphylococcus aureus Biofilms. Front Microbiol 2016, 7: 1187.

Fimea (Fimea 2017a). 2001-2016 Kokonaiskulutus.

<http://www.fimea.fi/documents/160140/2682201/FI+taulukko+1+kokonaiskulutus+2017-11-17.pdf/4c1401fd-fd17-4a9f-b379-38774b58d775>, päivitetty 11/2017, haettu 3.1.2018.

Fimea (Fimea 2017b). 2001-2016 Suun kautta annettavat valmisteet.

<http://www.fimea.fi/documents/160140/2682201/FI+taulukko+3+suun+kautta+annettavat+2017-11-13.pdf/d336d081-9bc0-4e22-b203-7eb92af370a2>, päivitetty 11/2017, haettu 25.2.2018.

Fimea (Fimea 2017c). Mikrobilääkkeiden kulutus eläimillä.

http://www.fimea.fi/elainlaakkeet/mikrobilaakkeiden_kulutus_elaimilla, haettu 3.1.2018.

Fitzgerald JR. The Staphylococcus intermedius group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of meticillin resistance. Vet Dermatol 2009, 20: 490-5.

Foster T. Staphylococcus. 4. p. Baron, Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston 1996.

Frosini SM, Bond R, Loeffler A, Lerner J. Opportunities for topical antimicrobial therapy: permeation of canine skin by fusidic acid. *BMC Vet Res* 2017, 13: 345.

Frosini SM, Bond R. Activity In Vitro of Clotrimazole against Canine Methicillin-Resistant and Susceptible *Staphylococcus pseudintermedius*. *Antibiotics (Basel)* 2017, 6: 29.

Department of Veterinary Medicine at the Freie Universität Berlin/
VETERINARY CENTER FOR RESISTANCE RESEARCH (TZR) (GERMAP 2015). Antimicrobial Resistance and Consumption report on the consumption of antimicrobials and the spread of antimicrobial resistance in human and veterinary medicine in Germany. <http://www.vetmed.fu-berlin.de/en/einrichtungen/sonstige/tzr/News/Germap-2015.html>, haettu 6.11.2017.

Grönthal T, Eklund M, Thomson K, Piiparinen H, Sironen T, Rantala M. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and the molecular epidemiology of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* in small animals in Finland. *J Antimicrob Chemother* 2017, 72: 1021-1030.

Hensel N, Zabel S, Hensel P. Prior antibacterial drug exposure in dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. *Vet Dermatol* 2016, 27: 72-8e20.

Hillier A, Lloyd DH, Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, Breitschwerdt E, Guardabassi L, Papich MG, Rankin S, Turnidge JD, Sykes JE. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases). *Vet Dermatol* 2014, 25: 163-75,
Hooper DC. Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancet Infect Dis* 2002, 2: 530-8.

- Huebner J, Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med* 1999, 50: 223-36.
- Jang S. Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus* and their clinical implications. *J Microbiol* 2016, 54: 1-8.
- Kadlec K, Schwarz S. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet Dermatol* 2012, 23: 276-82.
- Kjellman EE, Slettemeås JS, Small H, Sunde M. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from healthy dogs in Norway - occurrence, genotypes and comparison to clinical MRSP. *Microbiologyopen* 2015, 4: 857-66.
- Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis* 2002, 34: 482-92.
- Lehner G, Linek M, Bond R, Lloyd DH, Prenger-Berninghoff E, Thom N, Straube I, Verheyen K, Loeffler A. Case-control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. *Vet Microbiol* 2014, 168: 154-60.
- Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995, 8: 557-84.
- Loeffler A, Linek M, Moodley A, Guardabassi L, Sung JM, Winkler M, Weiss R, Lloyd DH. First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Vet Dermatol* 2007, 18: 412-21.
- Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003, 111: 1265-73.
- Ludwig C, de Jong A, Moyaert H, El Garch F, Janes R, Klein U, Morrissey I, Thiry J, Youala M. Antimicrobial susceptibility monitoring of dermatological bacterial pathogens isolated from diseased dogs and cats across Europe (ComPath results). *J Appl Microbiol* 2016, 121: 1254-1267.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus lääkkeiden käytöstä ja luovutuksesta eläinlääkinnässä. MMMa 17/14.

http://mmm.fi/documents/1410837/1817140/Laakkeiden_luovutus_.pdf/a7ff23f1-83f0-4a3e-9bf5-51babbfc837a, haettu 28.1.2018.

Roberts MC. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 2008, 282: 147-59.

Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, Grönlund Andersson U, Finn M, Greko C, Moodley A, Kania SA, Frank LA, Bemis DA, Franco A, Iurescia M, Battisti A, Duim B, Wagenaar JA, van Duijkeren E, Weese JS, Fitzgerald JR, Rossano A, Guardabassi L. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 2010, 65: 1145-54.

Perumal N, Murugesan S, Krishnan P. Distribution of genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci. *Indian J Med Microbiol* 2016, 34: 350-2.

Pires Dos Santos T, Damborg P, Moodley A, Guardabassi L. Systematic Review on Global Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: Inference of Population Structure from Multilocus Sequence Typing Data. *Front Microbiol* 2016, 7: 1599.

Putman M, van Veen HW, Konings WN. Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000, 64: 672-93.

Santos Costa S, Viveiros M, Rosato AE, Melo-Cristiano J, Couto I. Impact of efflux in the development of multidrug resistance phenotypes in *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol* 2015, 24: 232.

Saputra S, Jordan D, Worthing KA, Norris JM, Wong HS, Abraham R, Trott DJ, Abraham S. Antimicrobial resistance in coagulase-positive staphylococci isolated from companion animals in Australia: A one year study. *PLoS One* 2017, 12: e0176379. doi: 10.1371/journal.pone.0176379

Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Extended-spectrum beta-lactamases (ESbLs): characterization, epidemiology and detection. Crit Rev Microbiol 2004, 30: 25-32.

Suomen virallinen tilasto (SVT 2016). Kotitalouksien kulutus.

http://tilastokeskus.fi/til/ktutk/2016/ktutk_2016_2016-11-03_tie_001_fi.html,

haettu 19.3.2018, päivitetty 3.11.2016.

Svarm (Svarm 2006). Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/trycksaker/1/svarm2006.pdf, haettu 10.5.20017.

Svarm (Svarm 2010). Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/trycksaker/svarm2010.pdf, haettu 22.3.2018.

Svarm (Svarm 2011). Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/trycksaker/svarm2011.pdf, haettu 22.3.2018.

Swedres-Svarm (Swedres-Svarm 2012). Swedish Antibiotic Utilisation and Resistance in Human Medicine Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/swedres_svarm2012.pdf, haettu 22.3.2018.

Swedres-Svarm (Swedres-Svarm 2013). Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/swedres_svarm2013.pdf, haettu 22.3.2018.

Swedres-Svarm (Swedres-Svarm 2015). Consumption of antibiotics and occurrence of antibiotic resistance in Sweden.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/swedres_svarm2015.pdf, haettu 10.5.2017.

Swedres-Svarm (Swedres-Svarm 2016). Consumption of antibiotics and occurrence of antibiotic resistance in Sweden.

http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/swedres_svarm2016.pdf, haettu 1.12.2017.

Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med* 2006, 119: 3-10.

Terveysten ja hyvinvoinnin laitos, FiRe (THL 2009). Kiekkomenetelmän SIR-tulkintarajat (estorenkkaan halkaisija, mm) Mueller-Hinton- ja HTM-elatusaineella.

http://www.thl.fi/attachments/Fire/liite_3a_erh_sir_taulukko.pdf, päivitetty 7.3.2009, haettu 15.12.2015.

Valtioneuvoston asetus eräiden lääkeaineiden käytön kieltämisestä eläimille 1054/2014, 11§.

<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2014/20141054#Pidp450534912>, haettu 4.1.2018.

van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyörälä S, Ruzauskas M, Sanders P, Threlfall EJ, Torren-Edo J, Törneke K; Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother* 2011, 66: 2705-14.

Vannuffel P, Cocito C. Mechanism of action of streptogramins and macrolides. *Drugs* 1996, 51: 20-30.

Videla R, Solyman SM, Brahmbhatt A, Sadeghi L, Bemis DA, Kania SA. Clonal Complexes and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* Isolates from Dogs in the United States. *Microb Drug Resist* 2018, 24: 83-88.

Wang N, Neilan AM, Klompas M. *Staphylococcus intermedius* infections: case report and literature review. *Infect Dis Rep* 2013, 5: e3. doi: 10.4081/idr.2013.e3

Waxman DJ, Strominger JL. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. *Annu Rev Biochem* 1983, 52: 825-69.

Weese JS, van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol* 2010, 140: 418-29.

Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev* 2008, 32: 361-85.