



RUOKAVIRASTO
Livsmedelsverket • Finnish Food Authority

Ruokaviraston
tutkimuksia
4/2019

Mikrobilääkeresistenssi ja -jäämät nautatiloilla - vaikutukset ympäristöön ja terveyteen (NAMI)



**Mikrobilääkeresistenssi ja -jäämät
nautatiloilla**
– vaikutukset ympäristöön ja terveyteen
(NAMI)



Mikrobilääkeresistenssi ja -jäämät nautatiloilla – vaikutukset ympäristöön ja terveyteen (NAMI)

Projektiryhmä

Maria Aarnio, Suvi Nykäsenoja ja Anna-Liisa Myllyniemi, Mikrobiologian yksikkö, Ruokavirasto
Marja Raatikainen, Pertti Koivisto, Minna Hartonen ja Iida Loivamaa, Kemian yksikkö, Ruokavirasto
Sin Man Cheung, Johanna Suomi ja Pirkko Tuominen, Riskinarvioinnin yksikkö, Ruokavirasto
Satu Ervasti ja Sari Luostarinen, Luonnonvarakeskus Luke
Suvi Lehtoranta, Heidi Rintamäki ja Juha Grönroos, Suomen Ympäristökeskus SYKE

Rahoitus

Tutkimuksen rahoittivat Maatilatalouden kehittämisrahasto Makena, Ruokavirasto, Luonnonvarakeskus Luke ja Suomen ympäristökeskus SYKE.

Kuvailulehti

Julkaisija	Ruokavirasto
Tekijät	Maria Aarnio, Anna-Liisa Myllyniemi, Suvi Nykäsenoja, Marja Raatikainen, Pertti Koivisto, Pirkko Tuominen, Johanna Suomi, Sin Man Cheung, Sari Luostarinen, Satu Ervasti, Suvi Lehtoranta, Heidi Rintamäki ja Juha Grönroos
Julkaisun nimi	Mikrobilääkeresistenssi ja -jäämät nautatiloilla – vaikutukset ympäristöön ja terveyteen (NAMI)
Julkaisusarjan nimi ja numero	Ruokaviraston tutkimuksia 4/2019
Julkaisuaika	Marraskuu 2019
ISBN PDF	978-952-358-008-4
ISSN PDF	2490-1180
Sivuja	98
Kieli	Suomi
Asiasanat	Mikrobilääkeresistenssi, mikrobilääkejäämä, lanta, lannankäsittely, lannan prosessointi, biokaasutus, mädätys, kiertotalous, riskiprofiili, elinkaariset ympäristövaikutukset
Kustantaja	Ruokavirasto
Taitto	Ruokavirasto, käyttäjäpalvelujen yksikkö
Julkaisun jakaja	Sähköinen versio: ruokavirasto.fi

Tiivistelmä

Tässä Ruokaviraston (ennen Elintarviketurvallisuusvirasto Evira), Luken ja SYKEN yhteisprojektissa tutkittiin mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien kulkeutumista lääkityistä lypsylehmistä navetta-ympäristön kautta lantavarastoihin. Lisäksi arvioitiin niiden leviämistä lannan peltolevitysten välityksellä luonnon eliöihin sekä elintarviketuotantoketjussa. Projektissa tutkittiin myös anaerobisen mesofiilisen mädätyksen vaikutuksia lannassa oleviin mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin suolistobakteereihin sekä toisaalta lannan mikrobilääkejäämien vaikutusta mädätysprosessin toimintaan. Lisäksi arvioitiin erilaisten lannan prosessointitapojen elinkaarisia ympäristövaikutuksia sekä vaikutuksia mikrobilääkejäämiin ja -resistenssiin.

Resistentit ja moniresistentit suolistobakteerit kulkeutuivat lypsykarjatilalla lantavarastoihin, mutta ne eivät rikastuneet lantaketjussa. Lypsykarjan lietelannasta mitattiin hyvin pieniä pitoisuuksia mikrobilääkkeitä. Lääkittyjen eläinten sonnasta ja virtsasta taas mitattiin hoidon aikana hyvin korkeita pitoisuuksia mikrobilääkejäämiä, jolloin niistä muodostuvissa (kuivissa) lannoissa voi olla korkeita paikallisia pitoisuuksia mikrobilääkkeitä.

Suomessa myös mikrobilääkkeillä lääkittyjen eläinten lannat levitetään pääosin käsittelemättöminä kasvinravinteiksi pelloille, jolloin lannan mukana voi levitä mikrobilääkejäämiä ja resistenttejä suolistobakteereita. Luonnon eliöt voivat altistua lannassa oleville mikrobilääkkeille ja resistentille suolistobakteereille myös Suomen olosuhteissa. Lääkittyjen eläinten lantojen lannoitekäyttöä käsittelemättömänä tulisi arvioida kriittisesti.

Mesofiilinen anaerobinen mädätys voi vähentää mikrobilääkejäämiä lannasta, mutta ei välttämättä hajota niitä. Se vähentää elävien suolistobakteerien määrää lannassa, mutta merkittävää vaikutusta resistenttien *E. coli* -bakteerien osuuteen ei havaittu. Erilaiset lannankäsittelytavat voivat kuitenkin soveltua – ravinteiden kierrätyksen ja energiantuoton lisäksi – mikrobilääkejäämien ja resistenssin torjumiseen, ja niitä tulisikin tässä tarkoituksessa tutkia tarkemmin Suomessa.

Beskrivning

Utgivare	Livsmedelsverket
Författare	Maria Aarnio, Anna-Liisa Myllyniemi, Suvi Nykäsenoja, Marja Raatikainen, Pertti Koivisto, Pirkko Tuominen, Johanna Suomi, Sin Man Cheung, Sari Luostarinen, Satu Ervasti, Suvi Lehtoranta, Heidi Rintamäki ja Juha Grönroos
Publikationens titel	Antibiotika resistens och antibiotikarester på gårdarmed nötboskap – effekter för miljö och hälsa (NAMI)
Publikationsseriens namn och nummer	Livsmedelsverkets undersökningar 4/2019
Utgivningsdatum	November 2019
ISBN PDF	978-952-358-008-4
ISSN PDF	2490-1180
Sidantal	98
Språk	Finska
Nyckelord	Antibiotika resistens, antibiotikarester, gödsel, gödselhantering, gödsel handläggning, rötning, riskprofil, livscykelanalys
Förläggare	Livsmedelsverket
Layout	Livsmedelsverket, enheten för interna stödtjänster
Distribution	Elektronisk version: livsmedelsverket.fi

Referat

I detta samprojekt mellan Livsmedelsverket (före detta Livsmedelssäkerhetsverket Evira), Luke och SYKE undersöktes spridningen av resthalter av antimikrobiella läkemedel och resistenta tarmbakterier från behandlade mjölkkor till gödsellager via ladugårdsmiljön. Därtill uppskattades spridningen till organismer i naturen via gödselspridning på åkrar samt i livsmedelskedjan. I projektet undersöktes även effekten av anaerob mesofil rötning på resthalter av antimikrobiella medel i gödsel och resistenta tarmbakterier samt även effekten av resthalter av antimikrobiella medel på rötningsprocessen. Dessutom analyserades livscykeln för miljöpåverkan av de olika gödselbearbetningsmetoderna samt effekterna på resthalter av antimikrobiella medel och resistens.

Resistenta och multiresistenta tarmbakterier spreds på mjölkgården till gödsellagren, men anrikades inte i gödselkedjan. Mycket små halter av antimikrobiella medel uppmättes i mjölkornas flytgödsel. Men mycket höga resthalter av antimikrobiella medel uppmättes i gödsel och urin medan djuren behandlades, och då kan det finnas höga lokala halter av antimikrobiella medel i deras (torr)gödsel.

I Finland sprids gödsel även av antibiotikabehandlade djur till största delen obehandlad som växtnäring på åkrar, och då kan resthalter av antimikrobiella medel och resistenta tarmbakterier spridas med gödseln. Organismer i naturen kan utsättas för antimikrobiella medel i gödsel och resistenta tarmbakterier även i finländska förhållanden. Användningen av obehandlad gödsel från medicinerade djur borde utvärderas kritiskt.

Mesofil anaerob rötning kan minska på mängden resthalter av antimikrobiella medel i gödseln, men bryter inte nödvändigtvis ned dem. Den minskar på mängden levande tarmbakterier i gödseln, men ingen betydande effekt på andelen resistenta *E.coli*-bakterier påvisades. Olika sätt att behandla gödsel kan ändå, utöver återvinning av näringsämnen och energiproduktion, lämpa sig för bekämpning av antimikrobiella resthalter och resistens, och de borde undersökas mera detaljerat i Finland i det syftet.

Description

Publisher	Finnish Food Authority
Authors	Maria Aarnio, Anna-Liisa Myllyniemi, Suvi Nykäsenoja, Marja Raatikainen, Pertti Koivisto, Pirkko Tuominen, Johanna Suomi, Sin Man Cheung, Sari Luostarinen, Satu Ervasti, Suvi Lehtoranta, Heidi Rintamäki ja Juha Grönroos
Title of publication	Antimicrobial Resistance and Residues on Cattle Farms – Effects on the Environment and Health (NAMI)
Series and publication number	Finnish Food Authority Research Reports 4/2019
Publications date	November 2019
ISBN PDF	978-952-358-008-4
ISSN PDF	2490-1180
Pages	98
Language	Finnish
Keywords	Antimicrobial resistance, antimicrobial residues, manure, manure handling, manure processing, anaerobic digestion, risk profile, life cycle assessment
Publisher	Finnish Food Authority
Layout	Finnish Food Authority, In-house Services Unit
Distributed by	Online version: foodauthority.fi

Abstract

This study was conducted by Finnish Food Authority (formerly Finnish Food Safety Authority Evira), Natural Resources Institute Finland Luke and Finnish Environment Institute SYKE in 2015–2018. The aims of the study were to examine how antimicrobial residues and antimicrobial-resistant *E. coli* bacteria spread via the manure chain from the dairy cows treated with antimicrobials to the farm environment and manure storages. Furthermore, the dissemination routes to the surrounding environment, ecosystems and back to the food chain in Finnish conditions were profiled. The effect of mesophilic anaerobic digestion process on the level of antimicrobial residues and antimicrobial-resistant *E. coli* was examined and, conversely, the effect of antimicrobial residues on the process as well. Finally, the life-cycle of different manure handling and processing methods, and their potential effects on nutrient recycling, energy production, antimicrobial residues and resistant bacteria were evaluated.

Resistant and multi-resistant *E. coli* spread to the manure storages, although enrichment in their proportion over the manure chain was not detected. Only minor concentrations of antimicrobial residues were measured from the liquid manure. Instead, very high concentrations of antimicrobial residues were measured from the faeces, urine and milk of dairy cows medicated with antimicrobials, which may lead to high local concentrations in (dry) manures composed of them.

In Finland, there is no withdrawal period for manure of medicated animals to be used as a fertilizer. Therefore, manures may contain antimicrobial residues, as well as resistant bacteria, which disseminate to the environment when applied to the fields. Animals and plants may be exposed to antimicrobial residues and resistant bacteria in agricultural and natural ecosystems in Finnish conditions as well. Therefore, fertilizer usage of faeces, urine and milk excreted by animals treated with antimicrobials should be subjected to critical assessment.

Treating the manure with mesophilic anaerobic digestion may reduce the concentration of antimicrobial residues but does not necessarily destroy them. Furthermore, the process reduced the number of total *E. coli* bacteria, although it did not have an effect on the proportion of resistant *E. coli*. Along with energy production and nutrient recycling, different manure handling and processing methods may, however, be suitable for destroying and reducing antimicrobial residues and resistant bacteria from manure, and substantially reduce the emission of antimicrobial residues and resistant bacteria to the environment, as well as to the food chain. The aspect of tackling the spread of antimicrobial resistance is to be considered when manure processing methods are developed in Finland.

Sisällys

1 Tausta.....	9
2 Kirjallisuuskatsaus.....	11
2.1 Nautakarjatalous Suomessa.....	11
2.2 Nautojen mikrobilääkintä ja mikrobilääkeresistenssi Suomessa.....	11
2.2.1 Mikrobilääkkeiden käyttö.....	11
2.2.2 Mikrobilääkejäämät lannassa.....	12
2.2.3 Mikrobilääkeresistenssi nautoilla.....	13
2.3 Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviäminen eläintiloilta ympäristöön.....	16
2.3.1 Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviäminen maaperään, vesistöihin ja ilmaan.....	16
2.3.2 Mikrobilääkejäämien ekotoksikologiset vaikutukset eliöstöön.....	20
2.3.3 Mikrobilääkeresistenssin leviäminen eliöstöön ja sen välityksellä.....	21
2.4 Lannan käsittelyn ja lannoitekäytön ympäristövaikutukset.....	22
2.4.1 Huomio elinkaariin ympäristövaikutuksiin.....	22
2.4.2 Lannankäsittelystä aiheutuvat päästöt ilmaan ja vesiin.....	22
2.4.3 Lannankäsittelytekniset ratkaisut päästöjen pienentämiseksi.....	23
2.4.4 Lannan hyödyntämistä voidaan tehostaa prosessoinnilla.....	24
2.5 Naudanlannan varastoinnin ja prosessoinnin vaikutukset mikrobilääkejäämiin ja resistenssiin.....	27
2.5.1 Biologiset prosessoinnit.....	27
2.5.2 Termiset prosessoinnit.....	28
2.5.3 Fysikaaliset prosessoinnit.....	28
3 Tutkimuksen tavoitteet ja toteutus.....	29
4 Aineisto ja menetelmät.....	30
4.1 Työpaketti 1: tilamittakaavan tutkimus ja näytteenotot.....	30
4.2 Työpaketti 2: simuloidun lannankäsittelyketjun koeasetelmat ja näytteenotot.....	32
4.3 Kemialliset analyysit.....	37
4.4 Mikrobiologiset analyysit.....	37
5. Tulokset ja tulosten tarkastelu.....	39
5.1 Tilamittakaava.....	39
5.1.1 Tilalla käytetyt mikrobilääkkeet ja tehdyt hoitotoimenpiteet.....	39
5.1.2 Lääkityt eläimet: mikrobilääkejäämät ja -resistenssi.....	39
5.1.3 Navetta: mikrobilääkeresistenssi.....	42
5.1.4 Lantalat: mikrobilääkejäämät ja -resistenssi.....	43
5.1.5 Resistenssiprofiilit.....	45
5.1.6 Yhteenveto: tutkimustilan mikrobilääkeresistenssi ja -jäämätilanne.....	45
5.2 Simuloitu lantaketju: lannan prosessoinnit.....	47
5.2.1 Mikrobilääkkeiden vaikutus metaanintuottopotentiaaliin – panoskokeet.....	47
5.2.2 Tilakohtaisen biokaasulaitoksen simulaatio – jatkuvatoimiset kokeet.....	52
5.2.3 Yhteenveto: mikrobilääkkeiden ja resistenttien suolistobakteerien kohtalot lannan prosessoinnissa ja vaikutukset prosessiin.....	58

6 Riskiprofiili.....	61
6.1 Mikrobilääkeresistenssi- ja jäämätilanne suomalaisilla nautatiloilla.....	61
6.2 Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviäminen maaperään vesistöihin ja ilmaan Suomessa.....	62
6.2.1 Maaperä.....	62
6.1.2 Vesistöt.....	63
6.1.3 Ilma.....	64
6.3 Mikrobilääkejäämien ekotoksikologiset vaikutukset eliöstöön Suomessa.....	66
6.3.1 Vesi- ja maaeläimet.....	66
6.3.2 Hyönteiset.....	66
6.3.3 Kasvit.....	66
6.4 Mikrobilääkeresistenssin leviäminen eliöstöön ja sen välityksellä Suomessa.....	68
6.4.1 Maaeläimet ja hyönteiset.....	68
6.4.2 Kasvit.....	69
7 Lannan vaihtoehtoisten käsittelytapojen elinkaariset ympäristövaikutukset.....	71
7.1 Biologiset prosessit.....	71
7.1.1 Mädätys eli biokaasutus.....	71
7.1.2 Kuivien lantojen tai lietelannasta erotetun kuivajakeen kompostointi.....	73
7.1.3 Ilmastus eli nestekompostointi.....	74
7.2 Kemialliset prosessit.....	74
7.2.1 Termisen kaasutus eli pyrolyysi.....	74
7.3 Fysikaaliset prosessit.....	75
7.3.1 Separointi eli erotusprosessit.....	75
7.3.2 Poltto.....	76
7.4 Elinkaaristen ympäristövaikutusten yhteenveto.....	77
8 Lannan prosessointien vaikutukset mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin bakteereihin.....	78
8.1 Lannan varastointi.....	78
8.2 Biologiset prosessit.....	78
8.2.1 Kuivien lantojen kompostointi.....	78
8.2.2 Ilmastus eli nestekompostointi.....	79
8.2.3 Biokaasutus eli mädätys.....	79
8.3 Kemialliset ja termiset prosessit.....	82
8.3.1 Hygienisointi.....	82
8.3.2 Pyrolyysi ja polttaminen.....	82
8.4 Fysikaaliset prosessit.....	83
8.5 Lannan prosessointien vaikutusten yhteenveto.....	83
9 Tulevaisuuden uhkia mikrobilääkeresistenssin leviämisessä.....	85
10 Johtopäätökset.....	86
Viitteet.....	89

Termit ja lyhenteet

Bakteeri	Mikrobeihin kuuluva yksisolainen eliö
BMP	Biokemiallisen metaanintuottopotentialin määrittäminen panoskokeella
CIP	Siprofloksasiini
ENR	Enrofloxasiini
ESBL	Laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottava bakteeri
Evira	Elintarviketurvallisuusvirasto
HRT	Viipymäaika (hydraulic retention time)
Luke	Luonnonvarakeskus
Lanta	Sisältää sontaa ja virtsaa sekä usein myös mm. kuivikkeita ja pesuvesiä
Mikrobi	Mikroskooppisia eliöitä, joihin kuuluu mm. bakteereita, arkeoneja, viruksia, sieniä, kasveja ja alkueliöitä.
Mikrobilääke-resistenssi	Mikrobien kyky vastustaa mikrobilääkkeiden vaikutusta
m³CH₄/tVS	Orgaanisen materiaalin metaanintuottopotentiali, kuutiometriä metaania prosessiin lisättyä orgaanista kuiva-ainetta kohti
MRSA	Metisilliinille resistentti <i>Staphylococcus aureus</i> -bakteeri
NH₄-N	Ammoniumtyppi
N_{tot}	Kokonaistyyppi
OLR	Orgaaninen kuormitus (organic loading rate)
OTC	Oksitetrasykliini
Patogeeni	Sairautta aiheuttava bakteeri
Plasmidi	Kromosomista erillinen rengasmainen DNA-molekyyli, joka sisältää bakteerin elämälle ei-välttämättömiä geenejä
P_{tot}	Kokonaisfosfori
Sonta	Eläimen uloste
TS	Kuiva-aine (total solids)
SYKE	Suomen ympäristökeskus
VFA	Haihtuvat rasvahapot (volatile fatty acids)
VS	Orgaaninen kuiva-aine (volatile solids)
Zoonoosi-bakteeri	Ihmisten ja eläinten välillä leviävä taudinaiheuttajabakteeri

1 Tausta

Mikrobilääkeresistenssi tarkoittaa mikrobien kykyä vastustaa mikrobilääkkeiden eli antibioottien vaikutusta. Mikrobilääkkeille resistenttien mikrobikantojen yleistymisen on merkittävä maailmanlaajuinen ongelma, joka uhkaa sekä ihmisten että eläinten terveydenhuoltoa. Resistenttien mikrobien aiheuttamien infektioiden hoito voi pitkittyä ja vaikeutua, mikä lisää sairastavuutta, kuolleisuutta ja hoidon kustannuksia. Suurin osa nykyään käytössä olevista mikrobilääkkeistä on kehitetty 1940–1960-luvuilla, eikä uusia, käyttöön asti saatuja mikrobilääkeryhmiä ole löydetty sitten vuoden 1987 (Tasho & Cho, 2016). Uusien mikrobilääkkeiden kehitys on hidasta erinäisistä tuotannollis-taloudellisista syistä johtuen.

Mikrobilääkkeiden runsaan käytön on yleisesti todettu lisäävän mikrobilääkeresistenssiä ihmisten ja eläinten mikrobistossa. Eläimissä ja ihmisissä elää samoja mikrobilajeja, jolloin myös eläimissä kehittyneet ja valikoituneet resistentit mikrobikannat voivat päätyä ihmisiin. Seurantatutkimuksissa onkin havaittu, että tuotantoeläinten mikrobilääkekäyttö on yhteydessä resistenssin lisääntymiseen ihmisten taudinaiheuttajissa joidenkin mikrobilääkkeiden kohdalla (ECDC/EFSA/EMA, 2017).

Suomessa mikrobilääkkeiden käyttö tuotantoeläimillä on maltillista ja hallittua; tuotantoeläimiä saa lääkittää mikrobilääkkeillä vain hoitotarkoituksessa eläinlääkärin määräyksestä. Suurin osa eläimille määrätystä mikrobilääkkeistä käytetään nautoille, sillä enemmistö suomalaisista tuotantoeläintiloista on nautakarjatiloja (Thomson ym., 2008; Luke, 2018a) ja nauta on suuri ja pitkäikäinen eläin.

Nautoista eristettyjen bakteerien mikrobilääkeresistenssiä on järjestelmällisesti seurattu Suomessa vuodesta 2003 lähtien. FINRES-Vet-seurantaohjelma antaa tietoa bakteerien resistenssistä terveiden nautojen suolistossa. Resistenttejä mikrobikantoja voi kuitenkin kehittyä ja valikoitua myös eläimen suoliston ulkopuolella, kuten lannassa, jossa suolistomikrobit altistuvat lantaan erittyneille mikrobilääkkeille. Toistaiseksi Suomessa ei ole juurikaan tutkittu, missä määrin resistentit suolistobakteerit kulkeutuvat yhdessä mikrobilääkkeiden kanssa lantavarastoihin (lantala), millaisia pitoisuuksia niitä tilaympäristössä esiintyy ja voiko resistenttien suolistobakteerien kehittymistä ja valikoitumista nautojen suoliston ulkopuolella tapahtua myös Suomen olosuhteissa.

Karjanlanta hyödynnetään Suomessa kasvinravinteina pelloilla. Lanta on arvokas orgaaninen lannoite ja maanparannusaine, jonka huolellisella hyödyntämisellä voidaan myös vähentää uusiutumattomien luonnonvarojen käyttöä. Lannan käsittelystä ja lannoitekäytöstä voi kuitenkin aiheutua myös haitallisia ympäristövaikutuksia, kuten vesistöjen rehevöitymistä sekä kasvihuonekaasupäästöjä. Näitä perinteisiä ympäristövaikutuksia pyritään torjumaan erilaisilla lannan käsittelyyn liittyvillä rajoituksilla/säädöksillä sekä lannan prosessoinneilla.

Lannan lannoitekäytöllä voi kuitenkin olla myös muita ympäristö- ja terveysvaikutuksia, joita tunnetaan vielä huonosti. Ne liittyvät lannassa oleviin mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin suolistomikrobeihin, jotka voivat lannan peltolevitysten välityksellä levitä maatalousekosysteemien

ulkopuolelle. Lannan mukana leviävillä mikrobilääkejäämillä voi olla haitallisia vaikutuksia eliöihin, ja ne voivat valikoida ja kehittää resistenttejä mikrobikantoja ympäristössä. Lisäksi tuotantoeläimissä kehittyneet ja valikoituneet resistentit suolistomikrobit voivat päätyä lannan välityksellä luonnon eliöihin sekä elintarviketuotantoketjussa tai suoraan ympäristöstä ihmisiin. Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistomikrobien leviämisreittejä maataloudesta muualle ympäristöön on jo kartoitettu muualla maailmassa. Kaikki tutkimustieto ei kuitenkaan ole sovellettavissa Suomen oloihin, sillä mm. sekä eläinten että kasvien tuotanto-olosuhteet ja -tavat, tautitorjunta, tuotantoeläinten mikrobilääkkeiden käyttö ja lannan käsittelytavat vaihtelevat eri maissa.

Suomessa lannan käsittelytavat tulevat todennäköisesti muuttumaan nykyisestä, sillä lannan prosessointia ja sikäli ravinneriiktojen tehostamista tavoitellaan erilaisin keinoin. Uusilla käsittelytavoilla voi olla vaikutusta resistenttien suolistomikrobien ja mikrobilääkejäämien leviämiseen sekä myös lannan elinkaariin ympäristövaikutuksiin. Luken ja SYKEN arvioiden mukaan Suomessa muodostui 15,5 miljoonaa tonnia tuotantoeläinten lantaa vuonna 2017 (Luostarinen ym., 2018; Käytännön maamies 6/2018). Tällä hetkellä lannasta prosessoidaan vain 5 % (Marttinen ym. 2017), mutta tavoitteena on, että vuoteen 2025 mennessä puolet muodostuvasta lannasta saadaan kehittyneen prosessoinnin piiriin (Hallitusohjelma, 2015). Prosessointien vaikutuksia mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin suolistomikrobeihin ei kuitenkaan tunneta vielä kunnolla. Huolena onkin, että väkilannoitteiden korvaaminen kierrätyslannoitteilla voi levittää resistenttejä suolistomikrobeja ja mikrobilääkejäämiä nykyistä enemmän. Toisaalta prosessoinnit voivat myös tuhota mikrobeja ja hajottaa mikrobilääkkeitä, eli vähentää mikrobilääkeresistenssin uhkaa. Mikrobiologisten prosessointitekniikoiden kannalta lannassa olevat mikrobilääkejäämät saattavat myös häiritä prosessia. Siitä, missä mikrobilääkepitoisuuksissa prosessit alkavat häiriintyä, ei ole kovin yksiselitteistä tietoa.

Tämän projektin tavoitteena oli selvittää tilamittakaavan tutkimuksilla, miten mikrobilääkkeille resistentit suolistobakteerit ja mikrobilääkejäämät kulkeutuvat Suomen olosuhteissa lääkitystä nautoista lantaan ja lantavarastojen kautta peltoon, ja millaisia pitoisuuksia resistenttejä suolistobakteereita esiintyy karjasuojassa. Lisäksi tuotettiin riskiprofiili, jossa kirjallisuuden perusteella arvioitiin mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien mahdollista leviämistä nautatilojen ulkopuolelle sekä vaikutuksia eliöstöön Suomen olosuhteissa. Tavoitteena oli myös tutkia laboratoriomittakaavassa lannan prosessoinnissa yleistyvän biokaasutuotannon vaikutuksia niihin erilaisissa pitoisuuksissa. Projektissa myös vertailtiin kirjallisuuden perusteella erilaisten lannan prosessointitekniikoiden ympäristövaikutuksia toisiinsa ja nykyisiin käytäntöihin sekä näiden prosessointitekniikoiden vaikutuksia mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin suolistobakteereihin.

Tarkasteltaviksi mikrobeiksi valittiin ihmisten ja eläinten suolistoon normaaliin mikrobistoon kuuluva *Escherichia coli* sekä merkittävä zoonoottinen taudinaiheuttajabakteeri *Campylobacter jejuni*. *E. coli* -bakteereista osa on myös tautia aiheuttavia. Tarkasteltavat mikrobilääkkeet puolestaan olivat eläinten ja ihmisten lääkinnässä yleisesti käytetyt tetrasykliinit sekä WHO:n ihmiselle kriittisen tärkeiksi luokittelemat fluorokinolonit (WHO, 2016). Kirjallisuuskatsaus keskittyy pääosin näihin bakteereihin ja mikrobilääkkeisiin.

2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Nautakarjatalous Suomessa

Suomen kotieläintuotanto painottuu voimakkaasti naudantuotantoon. Vuonna 2017 Suomessa oli 10 200 nautatilaa, 610 sikatilaa, 440 siipikarjatilaa, 2 250 muuta laidunkarjatilaa (lampaat, vuohet ja hevoset) ja 2 150 sekamuotoista tuotantoa (Luke, 2018a). Pääosa nautatiloista suuntautuu maidontuotantoon. Toukokuussa 2018 nautoja oli kaikkiaan reilu 882 000, joista lypsylehmiä noin 271 400, hiehoja 146 000, sonneja 106 000, emolehmiä 60 000 ja vasikoita 299 000.

Lypsykarjatiloilta oli keskimäärin 39 lypsylehmää (Luke, 2018b). Maatalouden rakennemuutoksen myötä tilakoko on kuitenkin kasvussa ja laajentavien lypsykarjatilojen eläinmäärä on merkittävästi suurempi. Ennusteiden mukaan vuoteen 2030 mennessä lypsykarjatilojen määrä tulee vähenemään, tilakoko kasvamaan ja parsinavetat korvautuvat suurelta osin pihattonavetoilla (Lehtonen ym., 2017).

2.2 Nautojen mikrobilääkintä ja mikrobilääkeresistenssi Suomessa

2.2.1 Mikrobilääkkeiden käyttö

Suomessa käytetään eläinten mikrobilääkkeitä vähän muihin Euroopan maihin verrattuna (EMA, 2017). Suomessa myös suositaan kapeakirjoisia mikrobilääkkeitä ja pyritään antamaan lääkkeet kohdennettuna eläinyksilöön ryhmälääkityksen sijaan (Kivilahti-Mäntylä, 2017). Eroa maiden väliseen kulutukseen tuovat tuotantoeläinrakenne ja tuotantojärjestelmät sekä eri lääkityskäytännöt niin käytettyjen mikrobilääkeryhmien kuin annoskokojen suhteen (EMA, 2017).

Suomessa vuotuinen eläinten mikrobilääkkeiden kokonaismyynti on ollut 2010-luvun alkupuolella tasaista. Myynti on laskenut vuoden 2014 jälkeen noin 16 % ja se oli vuonna 2016 noin 11 200 kg vaikuttavaa ainetta (Kivilahti-Mäntylä, 2017). Suomessa ihmisille ja eläimille käytetyistä mikrobilääkkeistä käytetään tuotantoeläimille arviolta 19 % ja kaikille eläimille arviolta 25 % (Oikkola, 2016). Vuonna 2015 Suomessa eniten eläimille käytetyt mikrobilääkeryhmät olivat penisilliinit (48 %), tetrasykliinit (18 %) sekä sulfonamidit ja trimetopriimi (20 %). Ihmiselle kriittisen tärkeiksi mikrobilääkkeiksi luokiteltujen fluorokinolonien osuus oli 0,8 % ja kolmannen polven kefalosporiinien osuus 0,06 %. Käytetyistä penisilliineistä 73 % oli G- penisilliiniä ja 25 % aminopenisilliinejä (FINRES-Vet, 2017). G-penisilliini on eläimille eniten käytetty injektiovalmiste, 3 500 kg eli 68 % injektiovalmisteiden kokonaiskulutuksesta (Kivilahti-Mäntylä, 2017).

Suomessa sekä suurimmassa osassa muita EU-maita ei toistaiseksi kerätä tietoja mikrobilääkkeiden käytöstä eläinlajikohtaisesti vaan ainoastaan eläinpopulaatiotasolla. Suomalaisille eläinlääkäreille tehdyn kyselytutkimuksen perusteella suurin osa, arviolta 59 %, eläinten mikrobilääkkeistä käytetään nautoille (Thomson ym., 2008). Vuoden 2016 käyttömäärästä se on arviolta 6 600 kg vaikuttavaa ainetta. Eniten nautoille käytettiin beetalaktaameja (~86 %). Aminoglykosideja käytettiin hieman yli 5 % ja trimetopriimi-sulfonamideja, tetrasykliinejä ja fluorokinoloneja yhteensä alle 10 %. Yleisimmin mikrobilääkkeitä

käytettiin akuuttiin utaretulehdukseen (52 %), umpeenpanohoitoihin (21 %), piilevään utaretulehdukseen (6 %) sekä akuuttiin suolistotulehdukseen (4 %).

2.2.2 Mikrobilääkejäämät lannassa

Mikrobilääkkeet on suunniteltu farmakokinetiikaltaan sellaisiksi, etteivät ne keräänny pysyvästi elimistöön (Thiele-Bruhn, 2003). Eläimille annostellut mikrobilääkkeet aineenvaihduntatuotteineen erittyvät lopulta pääosin sonnan ja virtsan mukana, minkä vuoksi lääkittyjen eläinten lanta sisältää runsaasti mikrobilääkejäämiä. Myös aineenvaihduntatuotteilla voi olla antimikrobista aktiivisuutta (Thiele-Bruhn, 2003). Eritymisaste vaihtelee mikrobilääkeryhmittäin, mutta arviolta 30–90 % päättyy lääkittyjen tuotantoeläinten lantaan (Sarmah ym., 2006; Marshall & Levy, 2011). Esimerkiksi tässä tutkimuksessa tarkasteltu enrofloxasiini ja sen aineenvaihduntatuote siprofloksasiini erittyvät naudalla lähes täysin sonnan ja virtsan mukana (Gagliano & McNamara, 1998). Tavallisesti naudanlannasta mitatut oksitetrasykliini- ja fluorokinolonipitoisuudet ovat olleet keskimäärin 1–10 mg/kg kuivapainoa kohti; oksitetrasykliinillä lääkittyjen vasikoiden sonnasta on kuitenkin mitattu jopa 871,7 mg/kg oksitetrasykliiniä (Taulukko 1).

Taulukko 1. Esimerkkejä naudanlannasta mitatuista enrofloxasiini-, siprofloksasiini ja oksitetrasykliinipitoisuuksista.

Maa	Näyttemateriaali	Lääkityshistoria	<i>n</i>	Lääke	Min-max [mg/kg] kuivapainoa kohti	Keskiarvo +/- keskihajonta	Lähde
Espanja	Lihakarjan ja maitokarjan kuivikelanta	Ei tiedossa	8	OTC	0,7–10,0	5,39±3,67	Carballo ym. (2013)
Italia	Lääkittyjen vasikoiden sonna	5 vrk OTC-kuuri	3	OTC	-	871,70	De Liguoro ym. (2003)
Italia	Lääkittyjen vasikoiden lanta, varastoitu 30 vrk	5 vrk OTC-kuuri	3	OTC	-	19,00	De Liguoro ym. (2003)
Kanada	Lääkityn naudan lanta	3 vrk OTC-kuuri	1	OTC	-	0,68	Kyselkova ym. (2013)
Kiina	Lihakarjan lietalanta	Ei tiedossa	28	ENR CIP OTC	1,72–46,70 0,49–29,58 0,32–59,59	6,79* 3,44* 1,24*	Zhao ym. (2010)
Kiina	Ulosteet karjasuojan lattioilta	Ei tiedossa	18	ENR CIP OTC	0,46–4,17 0,28–0,84 0,21–10,37	1,18 0,53 5,10	Li ym. (2013)
Turkki	Lypsykarjan lanta	Kertainjektio OTC	1	OTC	-	10 (märkäpainoa kohti)	Ince ym. (2013)
USA	Lihakarjan varastoitu lietalanta	OTC-injektioita näytejaksolla	8	OTC	1,9–24,6	-	Zhang ym. (2013)
USA	Lääkittyjen vasikoiden lanta	5 vrk OTC-kuuri	5	OTC	-	64 (märkäpainoa kohti)	Arikan ym. (2006)

Naudanlanta on seos, jossa voi sonnan ja virtsan lisäksi olla mukana kuivikkeita, antibioottimaitoa sekä pesuvesiä. Näiden suhteelliset osuudet vaihtelevat lantatyypin välillä. Lietalanta on sekoitus kaikista edellä mainituista massoista, kun taas kuivikelanta koostuu pääosin sonnasta ja karjasuojassa käytetyistä kuivikkeista, johon virtsa on imeytetty.

Osa erittyneestä mikrobilääkkeestä voi sitoutua sonnan orgaaniseen ainekseen, kuivikkeisiin tai maa-ainekseen. Sitoutuminen vaihtelee mikrobilääkeryhmittäin ja maalajeittain (Kumar ym., 2005a). Enrofloxasiinista jopa 85 % voi sitoutua naudanlantaan ja 99 % maa-ainekseen; tetrasykliineillä sitoutumisaste on samaa tasoa (Gagliano & McNamara, 1998; Thiele-Bruhn ym., 2003; Sarmah ym., 2006). Osa sitoutuneesta mikrobilääkkeestä voi kuitenkin myöhemmin vapautua uudelleen (Gagliano & McNamara, 1998). Mikrobilääkkeen sitoutumisalttiudella voi olla

vaikutusta sen biologiseen saatavuuteen bakteereille sekä kulkeutumiseen ympäristössä (Kumar ym., 2005a; Subbiah ym. 2016), jota käsitellään osiossa 2.3.

Mikrobilääkkeet hajoavat lannassa ja ympäristössä pääasiassa biologisesti, mutta myös ei-biologisilla mekanismeilla, kuten valokemiallisesti (Boxall ym., 2004). Mikrobilääkkeiden hajoamisnopeuteen ympäristössä vaikuttavat mm. niiden fysikaalis-kemialliset ominaisuudet, mikrobiologinen aktiivisuus, maaperän ominaisuudet sekä sääolot (Kumar ym., 2005a; Pan & Chu, 2016). Gaglianon & McNamaran (1998) mukaan enrofloksasiinin ja siprofloksasiinin passiivinen hajoaminen hapellisissa olosuhteissa maaperässä on hyvin hidasta. Heidän tutkimuksissaan enrofloksasiinin puoliintumisaika oli 359–696 vuorokautta ja siprofloksasiinilla hajoaminen oli niin vähäistä, ettei puoliintumisaikaa laskettu. Oksitetrasykliinistä taas 50 % hajoaa passiivisesti lietelannassa sekä peltomaassa, jolle on levitetty lantaa; puoliintumisaika on 18–79 vuorokautta (Sarmah ym., 2006). Erilaisilla biologisilla, kemiallisilla ja fysikaalisilla prosessoinneilla voi kuitenkin olla vaikutusta mikrobilääkkeiden hajoamiseen lannassa, eivätkä mikrobilääkkeiden passiiviset puoliintumisajat kuvasta prosessoinneissa tapahtuvaa aktiivista hajoamista (Masse ym., 2014). Lannan prosessoointeja käsitellään tarkemmin osioissa 2.4 ja 7, ja niiden vaikutuksia mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin suolistomikrobeihin osioissa 2.5 sekä 8.

2.2.3 Mikrobilääkeresistenssi nautoilla

Mikrobilääkeresistenssillä tarkoitetaan mikrobien kykyä vastustaa mikrobilääkkeiden vaikutusta, joko luontaisesti tai hankituilla ominaisuuksilla. Ihmisten ja eläinten terveydenhuollon kannalta merkittävää on hankittu mikrobilääkeresistenssi, jossa aiemmin herkkä bakteeri voi kehittyä mikrobilääkkeelle vastustuskykyiseksi mutaation tai mutaatioiden kautta tai saamalla liikkuvan geneettisen elementin toiselta mikrobilta tai ympäristöstä. Mikrobilääkeresistenssin leviämisen kannalta bakteerin perimän pistemäisiä mutaatioita merkittävämpiä ovat siirtyvät resistenssitekijät, jotka voivat levitä horisontaalisesti bakteerilta toiselle.

Bakteerin mikrobilääkeherkkyyttä kuvataan MIC-arvolla (*minimum inhibitory concentration*), joka on pienin mikrobilääkepitoisuus, joka estää mikrobien kasvua. Bakteerit voidaan luokitella herkkiin ja resistentteihin sekä epidemiologisten että kliinisten raja-arvojen perusteella. Yleisesti ottaen resistenssin lisääntyminen riippuu siitä, kuinka paljon mikrobipopulaatiot altistuvat mikrobilääkkeille. Valikoitumista ja resistenssin kehittymistä voi kuitenkin tapahtua myös hyvin alhaisissa mikrobilääkepitoisuuksissa ja pienet mikrobilääkepitoisuudet voivat edistää resistenttien kantojen säilymistä populaatiossa (Gullberg ym., 2011; Andersson & Hughes, 2012; Sandegren, 2014). Bakteerikannat voivat säilyä resistentteinä myös ilman mikrobilääkealtistusta, jollei resistenssin aiheuttava geeni tai mutaatio heikennä liiaksi niiden kilpailukykyä muuhun bakteeripopulaatioon nähden (Andersson & Hughes, 2010).

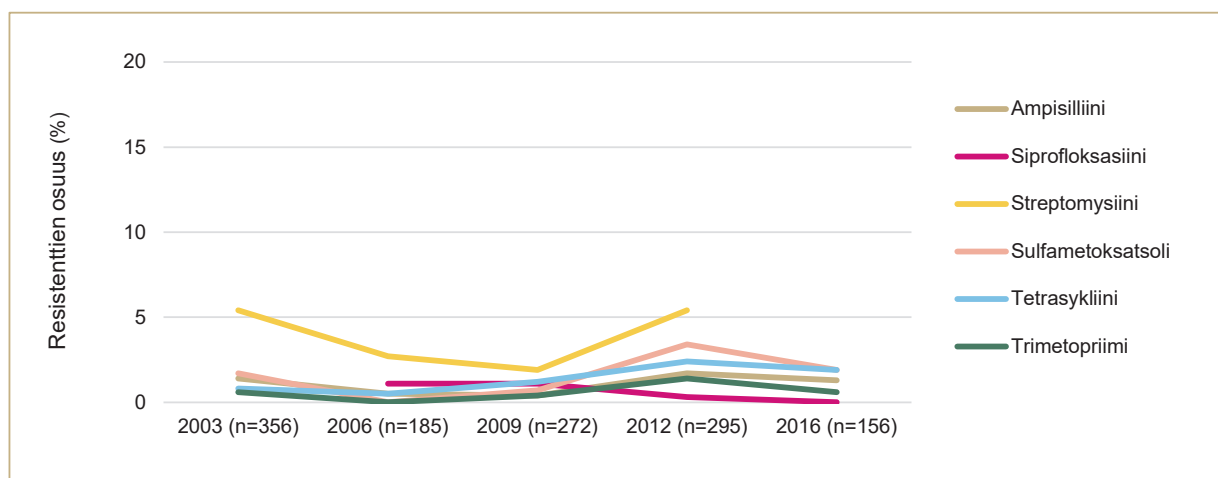
Mikrobilääkeresistenssin kehittymiseen ja leviämiseen vaikuttavat mikrobilääkkeiden käytön ohella monet muut tekijät, kuten bakteerin mutatoitumisnopeus, horisontaalisen geenisiirron määrä, resistenssigeenin vakaus bakteerissa sekä bakteerien altistuminen stressiä aiheuttaville ympäristötekijöille, kuten kylmyydelle (Andersson & Hughes, 2010; Miller *et al.*, 2014). Horisontaalisessa geenisiirrossa voi siirtyä samanaikaisesti useita resistenssigeenejä, joten resistenssi voi lisääntyä usealle mikrobilääkkeelle käytettäessä vain yhtä mikrobilääkettä (Andersson & Hughes, 2010). Mikrobilääkkeiden lisäksi myös muut tuotantoeläintiloilla ja eläimille käytettävät aineet, kuten karjasuojien desinfektioaineet ja rehuun lisättävät metallihivenaineet, voivat edistää resistenssin kehittymistä ja valikoitumista (Wales & Davies, 2015).

Tässä tutkimuksessa tarkastelluilla *E. coli* - ja *C. jejuni* -bakteereilla tetrasykliiniresistenssi on seurausta bakteerin kantamista tet-geeneistä (Roberts, 2005). Ne sijaitsevat usein liikkuvissa geneettisissä elementeissä, joissa voi olla myös resistenssitekijöitä, jotka tekevät bakteerit resistenteiksi muillekin mikrobilääkkeille (Roberts, 2005; Shin ym., 2015). Naudoista eristettyjen *E. coli* -bakteerien on todettu voivan helposti siirtää tetrasykliinille resistenssin antavia geenejä toisilleen, jolloin tetrasykliiniresistenssi voi myös helposti levitä nautakarjassa (Shin ym., 2015).

E. coli -bakteerin fluorokinoloniresistenssi taas on tavallisesti seurausta bakteerin kromosomissa tapahtuvista pistemutaatioista, jotka alentavat bakteerin herkkyyttä kinoloni-ryhmän mikrobilääkkeille asteittain. *E. coli* -bakteerilla esiintyy kuitenkin muiden enterobakteerien ohella myös plasmidivälitteistä resistenssigeeneistä aiheutuvaa, bakteerista toiseen siirtyvää fluorokinoloniresistenssiä (Veldman ym., 2011). *C. jejuni* -bakteereilla fluorokinoloniresistenssin on seurausta pistemäisistä mutaatioista bakteerin kromosomissa, eikä liikkuvissa geneettisissä elementeissä kulkevia resistenssigeenejä toistaiseksi tunneta (Olkola, 2016).

Kaikella mikrobilääkkeiden käytöllä, myös ohjeistuksen mukaisella, on vaikutusta mikrobilääkeresistenssin kehittymiseen ja esiintyvyyden lisääntymiseen. Vasikoilla enrofloxasiinin terapeuttisen käytön on tilatasolla todettu olevan yhteydessä niiltä eristettyjen bakteerien alentuneeseen fluorokinoloniherkkyyteen (Pereira ym., 2014). Euroopassa on havaittu tilastollisesti merkittävä yhteys tuotantoeläinten fluorokinolonien käytön ja niistä eristettyjen *E. coli* -indikaattoribakteerien ja *C. jejuni* -bakteerien fluorokinoloniresistenssin välillä. Samanlainen korrelaatio todettiin sikojen ja siipikarjan tetrasykliinien käytön ja tetrasykliiniresistenssin välillä. Tetrasykliini on vanha mikrobilääke, mikä osaltaan selittää eläimistä eristettyjen bakteereiden tetrasykliiniresistenssin yleisyyttä. Tuotantoeläinten mikrobilääkkeiden kokonaiskäytöllä puolestaan on havaittu negatiivinen korrelaatio niistä eristettyjen bakteereiden täydellisen herkkyyden kanssa (ECDC/EFS/EMA, 2017).

Suomen FINRES-Vet -seurantaohjelmassa (2013/652/EU ja kansalliset päätökset) on seurattu naudoista eristettyjen *E. coli* - ja *C. jejuni* -bakteerien mikrobilääkeresistenssiä vuodesta 2003 lähtien. Seurantaohjelmassa tutkittavat bakteerit eristetään terveiden teurasnautojen ulosteista. Naudoilta eristettyjen *E. coli* -bakteerien resistenssi tutkituille mikrobilääkkeille on pysynyt tasaisen alhaisina vuosina 2003–2016, eikä nousevaa trendiä ole havaittavissa (Kuva 1).



Kuva 1. Suomalaisista naudoista eristettyjen *E. coli* -bakteerien resistenssi vuosina 2003, 2006, 2009, 2012 ja 2016. Resistenttien osuus laskettu 25.1.2019 voimassa olleiden ECOFF-arvojen mukaan.

Lähteet: FINRES-Vet 2002–2003, FINRES-Vet 2004, FINRES-Vet 2005–2006, FINRES-Vet 2007–2009, FINRES-Vet 2010–2012, FINRES-Vet 2013–2015 ja FINRES-Vet 2016–2017.

Suomalaisten nautojen resistenssitilastot eivät ole suoraan vertailukelpoisia suurimpaan osaan muita Euroopan maita, sillä niissä *E. coli* -bakteerien resistenssiä on tutkittu vuodesta 2015 sekakarjan sijaan juottovasikoista, joita Suomessa ei kasvateta. Belgiassa, Alankomaissa, Itävallassa ja Sveitsissä on kuitenkin tutkittu muita kuin juottovasikoita vuosina 2011–2013. Näihin maihin verrattuna suomalaisilla nautoilla esiintyi resistenssiä vähän (Taulukko 2).

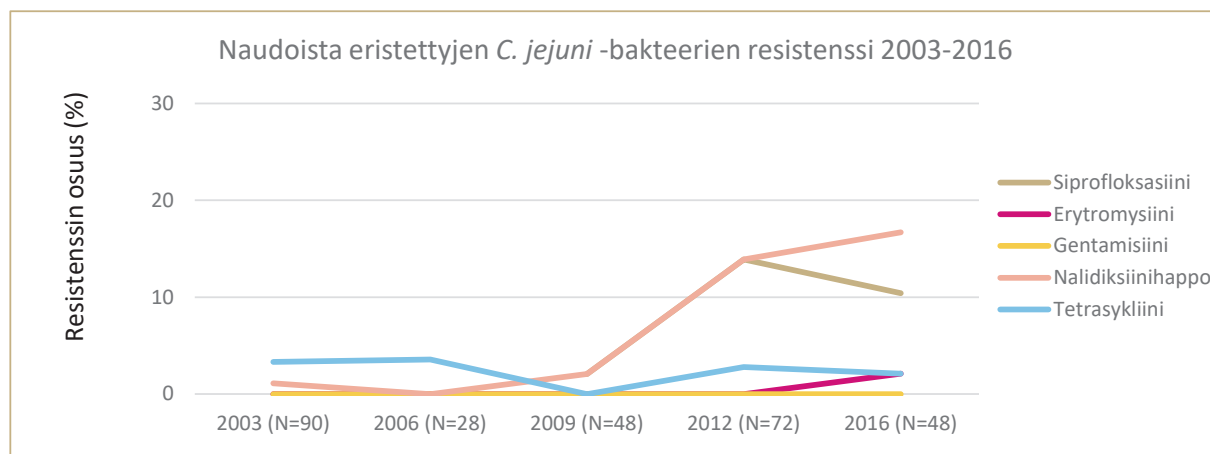
Taulukko 2. Mikrobilääkeresistenssi sekakarjalta eristetyillä *E. coli* -bakteereilla eräissä Euroopan maissa vuosina 2011–2013.

Maa	Vuosi	Tutkitut naudat	<i>n</i>	Ampisilliini	3. polven kefalosporiinit	Kloramfenikoli	Fluorokinolonit	Gentamisiini	Nalidiksiinihappo	Sulfonamidit	Tetrasykliinit
Belgia	2012	Sekakarja	364	56,0	8,8	31,0	33,8	6,0	28,6	59,3	58,2
Alankomaat	2011	Lypsylehmät	265	1,1	0,0	1,1	1,1	0,0	0,4	0,8	1,5
	2012		274	1,1	0,4	0,7	0,7	0,4	0,4	0,7	1,5
	2013		271	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	9,3
Itävalta	2011	Aikuiset naudat (> 2 vuotta)	125	1,6	0,0	0,8	4,0	0,0	3,2	6,4	8,8
	2012		49	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	4,1	4,1
	2013		86	2,3	0,0	2,3	2,3	4,3	2,3	5,8	38,1
Suomi	2012	Sekakarja	295	1,7	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	3,4	2,4
Sveitsi	2011	Lypsylehmät	18	27,8	0,0	5,6	0,0	0,0	0,0	16,7	11,1

Lähteet: FINRES-Vet 2010–2012; EFSA/ECDC, 2013; EFSA/ECDC, 2014; EFSA/ECDC, 2015.

Suomalaisista nautoista eristetyillä *C. jejuni* -bakteereilla resistenssitaso on viime vuosina ollut jonkin verran korkeampi kuin indikaattori-*E. coli* -bakteereilla (Kuva 2). Vuonna 2016 koholla olivat etenkin siprofloksasiiniresistenssi (10,4 %) ja nalidiksiinihapporesistenssi (16,7 %), jotka olivat nousseet huomattavasti vuoden 2009 jälkeen.

Suomessa aikuisilta nautoilta eristetyillä *C. jejuni* -bakteereilla esiintyi resistenssiä vuosina 2011–2012 vähemmän kuin Itävallassa ja suunnilleen saman verran kuin Alankomaissa (Taulukko 3). Myös Itävallassa ja Alankomaissa *C. jejuni* -bakteereilla esiintyi enemmän resistenssiä kuin *E. coli* -bakteereilla.



Kuva 2. Suomalaisista nautoista eristettyjen *C. jejuni* -bakteerien resistenssi vuosina 2003, 2006, 2009, 2012 ja 2016. Resistenttien osuus laskettu 25.1.2019 voimassa olleiden ECOFF-arvojen mukaan.

Lähteet: FINRES-Vet 2002–2003, FINRES-Vet 2004, FINRES-Vet 2005–2006, FINRES-Vet 2007–2009, FINRES-Vet 2010–2012, FINRES-Vet 2013–2015 ja FINRES-Vet 2016–2017.

Taulukko 3. Mikrobilääkeresistenssi aikuisilta nautoilta eristetyillä kampylobakteereilla Alankomaissa, Itävallassa ja Suomessa vuosina 2011–2012.

Maa	Vuosi	Tutkitut naudat	<i>n</i>	Siprofloksasiini	Erytromysiini	Gentamisiini	Nalidiksiinihappo	Tetrasykliinit
Alankomaat	2011	Lypsylehmät	41	22,0	0,0	0,0	24,4	19,5
	2012		41	7,3	0,0	0,0	7,3	7,3
Itävalta	2011	Aikuiset naudat (> 2 vuotta)	109	35,8	0,9	0,9	34,9	15,6
Suomi	2012	Sekakarja	72	13,9	0,0	0,0	13,9	2,8

Lähteet: FINRES-Vet 2010–2012; EFSA/ECDC, 2013; EFSA/ECDC, 2014.

FINRES-Vet -seurantaohjelma antaa tietoa resistenttien bakteerien esiintyvyydestä teurasnautojen suolistossa, mutta ei tilaympäristössä ja lannankäsittelyketjussa tai niiden mahdollisesta leviämisestä ympäristöön. Resistenttejä bakteereita voi kuitenkin mahdollisesti kehittyä ja valikoitua nautatiloilla edelleen myös eläinten suoliston ulkopuolella. Sonnan, virtsan ja maidon mukana karjasuojan lattioille päätyy eläimestä peräisin olevia mikrobeja, mutta myös lääkittyjen eläinten erittämiä mikrobilääkejäämiä ja niiden aineenvaihduntatuotteita, joille bakteerit edelleen altistuvat (Thiele-Bruhn, 2003). Suolistobakteerit ja mikrobilääkejäämät kulkeutuvat samoja reittejä karjasuojan lattioiden kautta lantavarastoihin, mahdolliseen lannan prosessointiin ja lopulta peltomaahan, jonne lanta levitetään kasvinravinteeksi. Näin ollen resistenttejä bakteerikantoja voi kehittyä ja valikoitua missä tahansa lantaketjun vaiheessa aina lääkitystä eläimestä peltomaahan asti (Sengeløv ym., 2003; Sarmah ym., 2006; Lowrance ym., 2007; Call ym., 2013). Lannan lannoitekäytön osuudesta resistenssin yleistymiseen tarvitaan kuitenkin edelleen lisää tietoa.

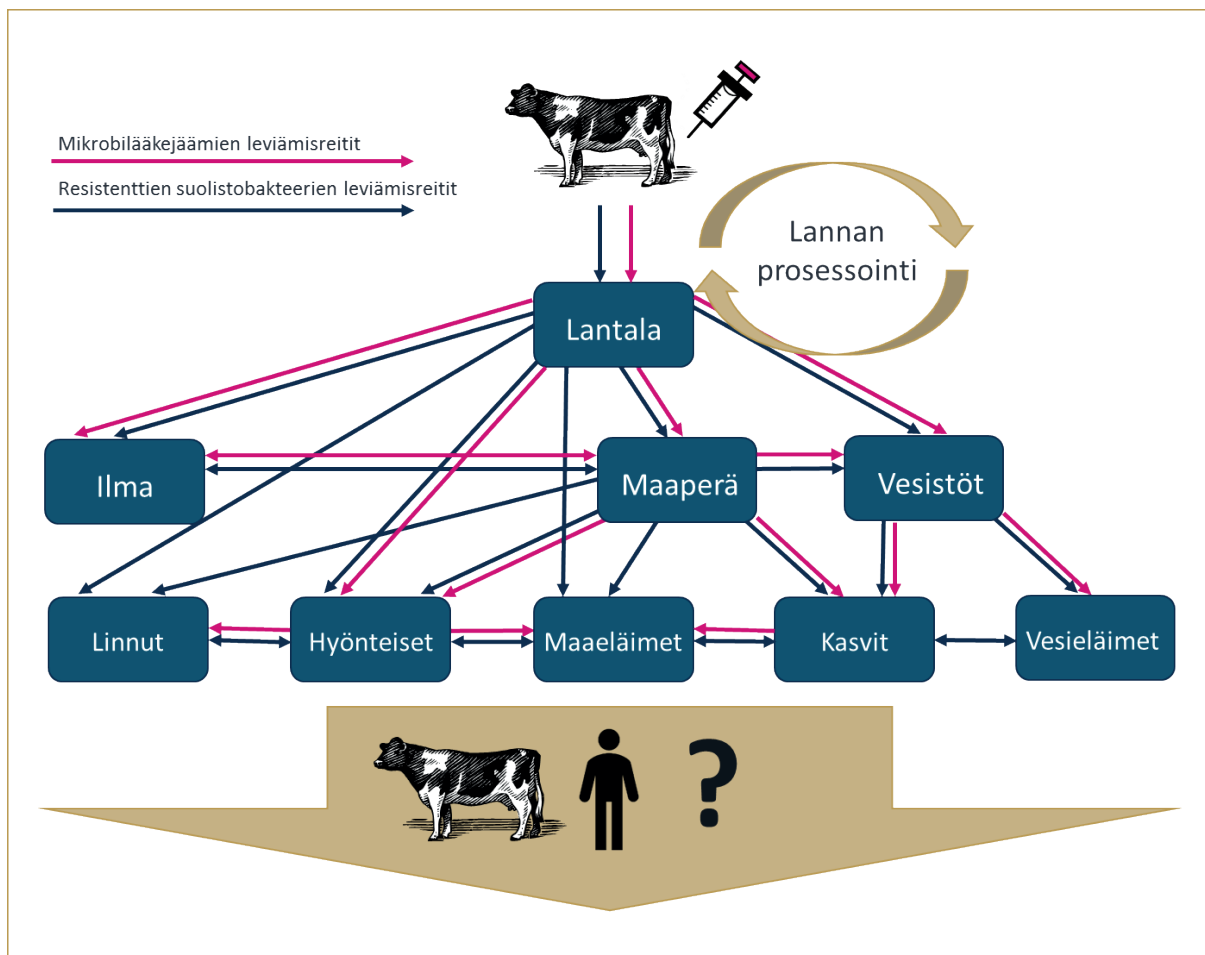
2.3 Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviäminen eläintiloilta ympäristöön

2.3.1 Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviäminen maaperään, vesistöihin ja ilmaan

Ympäristössä esiintyy luontaisesti pieniä pitoisuuksia mikrobilääkkeitä, joita mikrobien ajatellaan tuottavan mm. viestiäkseen keskenään, solutoiminnan säätelyä ja kilpaillakseen elintilasta toisia mikrobeja vastaan (Davies, 2006; Martinez, 2009). Suuri osa käytössä olevista mikrobilääkkeistä onkin alun perin eristetty tai muokattu niitä tuottavista ympäristöbakteereista (Dantas & Sommer, 2012).

Mikrobilääkkeiltä suojautuakseen mikrobit ovat kehittäneet myös erilaisia keinoja vastustaa niitä. Ympäristömikrobien kantamia resistenssigeenejä kutsutaan ympäristön resistomiksi, joka on ollut olemassa jo kauan ennen kuin ihminen alkoi tuottaa ja käyttää mikrobilääkkeitä (Dantas & Sommer, 2012; Surette & Wright, 2017). Ympäristön resistomi on paljon monimuotoisempi kuin tautia aiheuttavien mikrobien, ja se voi toimia resistenssigeenien varastona tautia aiheuttaville mikrobeille (Surette & Wright, 2017).

Lannan peltolevitysten mukana ympäristöön voi levitä suurempia mikrobilääkemääriä kuin siellä luontaisesti esiintyy. Lisäksi osa mikrobilääkkeistä on valmistettu täysin synteettisesti, eikä niitä siten ole aiemmin esiintynyt luonnossa. Lääkittyjen eläinten lannan mukana voi myös levitä resistenttejä suolistobakteereja, jotka ovat valikoituneet tai kehittyneet jossain vaiheessa lannankäsittelyketjua. Kuvassa 3 on esitetty mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien mahdollisia leviämisreittejä nautatilalta ympäristöön ja elioihin. Myös ihmiset ja tuotantoeläimet voivat mahdollisesti altistua niille leviämisreittien eri vaiheissa.



Kuva 3. Kaaviokuva mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien mahdollisista leviämisreiteistä nautatiloilta ympäristöön.

Mikrobilääkkeiden käyttäytyminen ja pysyvyys ympäristössä riippuvat niiden liukoisuudesta ja muista fysikaalisista sekä kemiallisista ominaisuuksista, maaperän ominaisuuksista, ilmasto-olosuhteista ja vaikuttavien lääkeaineiden määristä (Marttinen ym., 2014; Tasho & Cho, 2016). Heikosti orgaaniseen ainekseen ja maapartikkeleihin sitoutuvat mikrobilääkkeet kulkeutuvat helpommin vesien mukana vesistöihin, kun taas tiukasti sitoutuvat säilyvät pidempään maaperässä (Masse ym., 2014).

Tässä tutkimuksessa tarkastellut fluorokinolonit ja tetrasykliinit ovat kahtaisioneja eli molekyylissä on sekä positiivisesti että negatiivisesti varautuvia kohtia. Ionisoituminen on pH-riippuvaista ja elektrostaattisten vuorovaikutusten vuoksi ne sitoutuvat tiukasti maapartikkeleihin sekä orgaaniseen ainekseen (Kumar ym., 2005). Sorptio on siten todennäköinen poistumismekanismi sekä tärkeä biosaattavuutta vähentävä mekanismi. Voimakkaan sitoutumisen vuoksi tutkittavien mikrobilääkkeiden valuminen pellolta vesistöön ei ole todennäköistä. Ne ovat hyvin kestäviä

ympäristössä verrattuna muihin mikrobilääkeryhmiin (Kumar ym., 2005a, Golet ym., 2003, Rabolle ja Spliid, 2000). Kyseiset lääkkeet ovat valohajoavia ja oksitetrasykliini voi hydrolysoitua vedessä α -apo-oksitetrasykliiniksi, β -apo-oksitetrasykliiniksi sekä 4-epi-oksitetrasykliiniksi. Myös hydrolysoituminen on pH riippuvaista.

Maaperässä mikrobilääkejäämät voivat hajota biologisten prosessien lisäksi kemiallisesti. Wang ja Yates (2008) tutkimuksessa havaittiin kolme hajoamistuotetta (yhteensä alle 10 % oksitetrasykliinistä) ja oksitetrasykliinin puoliintumisaika oli 8–56 päivää. Havaittuja hajoamistuotteita muodostuu oksitetrasykliinin hydrolyysissä, joten todennäköisesti kyseessä oli kemiallinen hajoaminen. Oksitetrasykliini hajoaakin pellolla verrattain nopeasti pääasiassa abioottisesti hydrolyysin ja valon vaikutuksesta (Slana ja Dolenc 2011). Giraldi ym. (2012) tutkimuksessa suuri osa siprofloksasiinista sitoutui maahan ja vain 0,9 % siprofloksasiinista mineralisoitui hiilidioksidiksi ja vedeksi.

EMA on asettanut eläinlääkkeille maaperäpitoisuuden riskirajaksi 100 µg/kg, ja jos se ylittyy, on tehtävä riskinarviointi (Marttinen ym., 2014). Mikrobilääkkeiden ympäristöriskinarvioinnissa ei kuitenkaan huomioida mikrobilääkeresistenssin kehittymistä (Virtanen, 2016). Taulukossa 4 on esitetty esimerkkejä lannalla lannoitetuilta pelloilta mitatuista tetrasykliini- ja fluorokinolonipitoisuuksista.

Taulukko 4. Lannalla lannoitetusta peltomaasta mitattuja oksitetrasykliini- ja fluorokinolonipitoisuuksia.

Maa	Näyttemateriaali	n	Lääke	Max [µg/kg] kuivapainoa kohti	Syvyys (cm)	Lähde
Brasilia	Siipikarjan lannalla lannoitettu viljelysmaa	11	ENR CIP	27 ND	0–20	Leal ym. (2012)
Italia	OTC-lääkittyjen vasikoiden lannalla lannoitettu peltomaa	3	OTC	7 (< 10*)	0–60	De Liguoro ym. (2003)
Italia	Maa karjatalouden lähistöltä	7 5	ENR ENR	51 29	0–5 10–15	Sturini ym. (2012)
Itävalta	Viljelymaa	30	ENR+CIP OTC	370 ND	0–30	Martinez-Carballo ym. (2007)
Kiina	Naudanlannalla lannoitettu viljelymaa	13	ENR CIP	4 12	0–20	Zhang ym. (2016)
Kiina	Naudanlannalla lannoitettu viljelymaa	18	ENR CIP	5,8 14	20–60	Wei ym. (2016)
Kiina	Orgaanisilla lannoitteilla (mm. naudanalannalla) lannoitettu	69	ENR CIP	24 42	0–20	Wu ym. (2014)

Ympäristöön levitessään mikrobilääkejäämät voivat valikoida resistenttejä bakteerikantoja ja edistää niiden kehittymistä, mitä tapahtuu myös pienissä mikrobilääkepitoisuuksissa. Alankomaissa ja Tanskassa on tutkittu 1940-luvulta lähtien otettuja peltomaanäytteitä, ja havaittu, että resistenssigeenien määrä lannalla lannoitetuissa peltomaissa alkoi runsastua merkittävästi sen jälkeen, kun mikrobilääkkeitä alettiin käyttää eläinten lääkintään (Knapp ym., 2010; Graham ym., 2016).

Useiden, ihmisten taudinaiheuttajissa esiintyvien resistenssigeenien alkuperän epäillään olevan ympäristömikrobeissa (Surette & Wright, 2017). Peltujen lannoittaminen lannalla mahdollistaa ympäristön ja suolistobakteerien resistomien sekoittumisen keskenään, jolloin niiden välillä voi tapahtua geeninvaihtoa ja resistenssigeenejä voi siirtyä ympäristömikrobeista taudinaiheuttajiin (Surette & Wright, 2017). Esimerkiksi enterobakteereilla esiintyvien, fluorokinoloneille vastustuskyvyn antavien *qnr*-geenien oletetaan olevan peräisin *Shewanella*-suvun ympäristömikrobeista (Poirel ym., 2005). Ympäristömikrobeja pidetäänkin todennäköisenä resistenssitekijöiden varastona, mutta niiden siirtymisalttius ihmisten ja eläinten taudinaiheuttajiin on vielä epäselvä (Surette & Wright, 2017).

Lannalla lannoitettujen peltomaiden vähittäisen resistenssigeenien lisääntymisen lisäksi useissa tutkimuksissa on raportoitu, että resistenttien bakteerien ja resistenssigeenien suhteellinen osuus kasvaa heti lannan peltolevitysten jälkeen (Sengeløv ym., 2003; Heuer ym., 2011; Ruuskanen ym., 2016; Sandberg & LaPara, 2016; Muurinen ym., 2017). Resistenttien bakteerien esiintyvyyden pellossa on todettu olevan sitä korkeampi, mitä suurempi määrä lantaa on levitetty (Sengeløv ym., 2003). Resistenssin voimakkaan runsastumisen peltomaassa on kuitenkin havaittu olevan lyhytaikaista: resistenttien bakteerien ja resistenssigeenien osuus peltomaassa on palannut lähtötasolle viikkojen tai kuukausien kuluessa (Sengeløv ym., 2003; Ruuskanen ym., 2016; Sandberg & LaPara, 2016). Runsastumisen syynä oletetaan olevan lannassa olevat mikrobilääkejäämät. Toisaalta on viitteitä myös siitä, että mikrobilääkejäämiä sisältämättömänkin lannan levittäminen pelloille voi aiheuttaa resistenssigeenien suhteellista runsastumista peltomaassa (Udikovic-Kolic ym., 2014). Ilmiön selityksenä voivat olla esimerkiksi lannassa olevat metallit, jotka valikoivat resistenttejä bakteerikantoja (Udikovic-Kolic ym., 2014). Lannalla lannoituksen on myös todettu kiihdyttävän yleisesti maaperän mikrobitoimintaa ja hetkellisesti muuttavan bakteerien lajikoostumusta (Hammersfahr ym., 2008; Fox ym., 2017). Voi siis olla, että lannassa olevat ravinteet myös suosivat resistenttien bakteerilajien kasvua ja mikrobilääkejäämät vain voimistavat valikoitumista.

Lannalla lannoitetuilta pelloilta mikrobilääkejäämiä ja resistenttejä bakteereita sekä resistenssitekijöitä voi päätyä edelleen vesistöihin. Runsastuneita osuuksia resistenssitekijöitä on todettu esimerkiksi pelto-ojista (Muurinen ym., 2017) ja maatalousalueiden läpi virtaavasta joesta - etenkin sateisina kuukausina (Keen ym., 2018). Vastaavaa mikrobilääkejäämien aiheuttamaa resistenttien bakteerikantojen valikoitumista kuin maaperässä voi tapahtua myös vesistöjen sedimenteissä, joissa elää runsas bakteeristo (Surette & Wright, 2017). Esimerkiksi Koreassa sianlannan kompostointialueen viereisen joen sedimentistä on mitattu tetrasykliiniä 0,5 µg/kg (Awad ym., 2015). Yleisesti ottaen, mitä heikommin mikrobilääkkeet sitoutuvat maapartikkeleihin ja orgaaniseen ainekseen, ja mitä vesiliukoisempia ne ovat, sitä helpommin ne kulkeutuvat vesifaasissa ja voivat päätyä vesistöihin (Tasho & Cho, 2016). Toisaalta myös voimakkaasti sitoutuvat mikrobilääkkeet voivat päätyä vesistöihin pintavalumien mukana (Rabolle & Spliid, 2000; Tasho & Cho, 2016).

Lantaloista ja pelloilta mikrobilääkejäämiä ja resistenttejä bakteereita saattaa kulkeutua eläintilojen ulkopuolelle myös ilman hiukkasiin takertuneena (Thiele-Bruhn, 2003). Yhdysvaltalaisilta nautatiloilta - sekä luomu- että perinteisen tuotantosunnan tiloilta - on todettu leviävän ilmateitse lähiympäristöön resistenttejä bakteereita, resistenssigeenejä (McEachran ym., 2015; Sanchez ym., 2016) sekä lihakarjatiloilta myös mikrobilääkejäämiä (McEachran ym., 2015).

2.3.2 Mikrobilääkejäämien ekotoksikologiset vaikutukset eliöstöön

Mikrobilääkejäämille altistuminen voi aiheuttaa eliöissä korkeissa pitoisuuksissa ilmenevää akuuttia toksisuutta tai pienemmissä pitoisuuksissa kroonista haittaa (Kumar ym., 2005a). Vedessä mikrobilääkkeet voivat olla toksisempia suuremman biosaataavuuden vuoksi. Toksisuus mikrobeille on voitu havaita heikentyneestä asetaatin hajoamisesta (Giraldi ym. 2012). Lisäksi, vaikka ympäristöön päätyvillä mikrobilääkejäämillä ei olisikaan toksista vaikutusta eliöstöön, niillä voi olla vaikutuksia ekosysteemien prosesseihin (Kumar ym., 2005a; Radhouani ym., 2014). Monet ekosysteemien prosessit, kuten orgaanisen aineksen hajotus ja suolessa ravintoaineiden ottoon liittyvät toiminnot, ovat ainakin osittain mikrobiologisia. Esimerkiksi hyönteisissä elävällä mikrobistolla on todettu olevan vaikutusta hyönteisten elinkykyyn, ravinteiden ottoon ja kestävyteen taudinaiheuttajia vastaan (Douglas, 2015). Ympäristöön päätyessään mikrobilääkkeet voivat vaikuttaa eliöissä, maaperässä ja vesistöissä oleviin mikrobiyhteisöihin, jolloin niiden tavanomainen dynamiikka ja ravintoketjut saattavat häiriintyä (Kumar ym., 2005a; Radhouani ym., 2014). Laboratoriokokeissa on esimerkiksi havaittu, että lannassa olevat mikrobilääkejäämät voivat muuttaa lantaa hajottavien hyönteisten suolen normaalia mikrobistoa, mikä voi häiritä hajotusprosesseja (Hammer ym., 2016). Naudan mikrobilääkityksen on todettu voivan myös lisätä lannan metaanipäästöjä, mahdollisesti suolen ja lannan mikrobiston suhteellisissa osuuksissa tapahtuvien muutosten takia (Hammer ym., 2016). Laajakirjoiset mikrobilääkkeet, kuten tetrasykliinit ja fluorokinolonit, voivat myös vähentää typen kiertoon maaperässä kuuluvaa nitrifikaatiota (Kumar ym., 2005a).

Useiden mikrobilääkkeiden on osoitettu kertyvän kasvualustasta sekä viljakasveihin että sellaisenaan syötäviin kasviksiin (Tasho & Cho, 2016). Esimerkiksi tetrasykliinien on havaittu voivan kertyä lannoitteesta viljelykasveihin (Marttinen ym., 2014) ja enrofloxasiinin porkkanan juureen ja kuoriosaan maasta, johon oli lisätty mikrobilääkkeitä (Boxall ym., 2006). Tällaisten kasvien syömisen on ajateltu voivan aiheuttaa ihmiselle esimerkiksi allergisia reaktioita sekä haittavaikutuksia ruoansulatuskanavan mikrobiomiin (Zhang ym., 2017). Lisäksi kasvualustassa olevien mikrobilääkejäämien on todettu voivan häiritä kasvin kasvua, mutta vaikutukset vaihtelevat mikrobilääkkeittäin, kasvilajeittain, kasvinosittain, maalajeittain ja mikrobilääkkeiden pitoisuuksittain (Kumar ym., 2005a; Tasho & Cho, 2016).

Mikrobilääkkeiden on todettu voivan kertyä kasveihin maasta, jossa mikrobilääkepitoisuus on ollut tasoa ~300–3 600 µg/l tai kg märkäpainoa kohti (Kumar ym., 2005b; Boxall ym., 2006; Dolliver ym., 2007). Kasveista mitatut mikrobilääkepitoisuudet ovat tällöin olleet 2–100 µg/kg märkäpainoa kohti (Kumar ym., 2005b; Boxall ym., 2006; Dolliver ym., 2007; Zhang ym., 2017). Mikrobilääkkeiden kertymisen on havaittu olevan riippuvaista kasvualustan mikrobilääkepitoisuudesta (Kumar ym., 2005b; Dolliver ym., 2007).

Mikrobilääkejäämät voivat päätyä ympäristöön erilaisina seoksina sisältäen useita eri mikrobilääkkeitä. Monissa ympäristöriskinarvioinneissa keskitytään kuitenkin yksittäisten mikrobilääkkeiden vaikutuksiin tiettyä mikro-organismia kohtaan ja pitoisuudet ovat paljon korkeampia kuin luonnossa todellisuudessa esiintyvät pitoisuudet. Todellisen tilanteen arvioiminen onkin erittäin haastavaa mikrobilääkkeiden koostumus- ja pitoisuusvaihtelun takia. Lisäksi mikrobilääkkeiden vuorovaikutussuhteet voivat muuttua suhteellisten pitoisuuksien muuttuessa. Samalla toimintamekanismeilla toimivien mikrobilääkkeiden vaikutusten oletetaan summautuvan. Mikrobilääkkeiden toisiaan vahvistavan vaikutuksen lisäksi ne voivat olla myös toisiaan heikentäviä (Marx ym., 2015).

2.3.3 Mikrobilääkeresistenssin leviäminen eliöstöön ja sen välityksellä

Eläintiloilla ja niiden läheisyydessä elävät linnut, pieneläimet, maaperäeliöt ja hyönteiset voivat altistua lannan mukana kulkeutuville resistentille bakteerikannoille sekä resistenssitekijöille. Lisäksi suolistobakteerien on todettu voivan selviytyä jonkin aikaa pelloilla lannan levitysten jälkeen, vaikka ne eivät todennäköisesti lisäänty suoliston ulkopuolella lannassa (Unc & Goss, 2004).

Nauta- ja sikatiloilta pyydetyillä kärpäsillä on todettu geno- ja fenotyypiltään samanlaisia bakteerikantoja ja resistenssigeenejä kuin tilan lannasta, mikä antaa olettaa, että ne ovat peräisin eläinten ulosteesta (Literak ym., 2009; Rybarikova ym., 2010; Ahmad ym., 2011). Kanadassa taas sikatilojen läheisyydestä pyydetyillä piennisäkkäillä todettiin suolistossa merkittävästi enemmän resistenttejä *E. coli* -bakteereita kuin kaukana ihmistoiminnoista pyydetyillä (Allen ym., 2011). Yleisesti ottaen vaikuttaa siltä, että mitä enemmän asutusta, maataloutta ja muita ihmistoimintoja alueella on, sitä enemmän villieläimiltä eristetyillä bakteereilla esiintyy mikrobilääkeresistenssiä (Allen ym., 2010; Surette & Wright, 2017). Linnuilla ja afrikkalaisilla villieläimillä resistenssiä on havaittu esiintyvän enemmän veden äärellä elävillä yksilöillä, mikä viittaisi leviämisen tapahtuneen mahdollisesti veden välityksellä (Jobbins & Alexander, 2015; Surette & Wright, 2017).

Resistenttien bakteerien kantajuudesta ei todennäköisesti ole villieläimille tai hyönteisille itselleen haittaa, sillä mikrobilääkeresistenssi ei vaikuta bakteerien taudinaiheuttamiskykyyn, eikä luonnoneläimiä hoideta mikrobilääkkein. Mikrobilääkeresistenssin leviämisen kannalta niiden kantajuudella kuitenkin on merkitystä, sillä ne voivat levittää resistenttejä bakteereita ulosteidensa mukana tai ulkopinnallaan tuotantoeläinten välillä ja myös tilojen ulkopuolelle (Ahmad ym., 2007; Radhouani ym., 2014). Jotkut eläimet ja hyönteiset voivat liikkua pitkiä matkoja ja lähelle ihmisasutusta, jolloin ihmiset voivat altistua niiden kantamille resistentille bakteerille. Nautatiloilla kärpäset on todettu todennäköisemmäksi resistenssin levittäjäksi kuin tilalla elävät pääskyt - oletettavasti koska ne ovat läheisemmin kosketuksissa eläinten lantaan (Rybarikova ym., 2010). Toisaalta etenkin lannalla lannoitetuille peltomaille ruokailemaan laskeutuvat linnut voivat altistua sinne lannan mukana levinneille resistentille suolistobakteereille.

Hyönteisillä ja linnuilla voi olla merkittävä rooli resistenttien bakteerien levittämisessä eläintiloilta muihin ympäristöihin ja lähelle ihmistä (Zurek & Ghosh, 2014; Wang ym., 2017b). Yhdysvalloissa esimerkiksi ravintolaruoasta on todettu resistenttejä bakteereita, jotka vaikuttavat olevan kärpästen levittämiä (Zurek & Ghosh, 2014). Kiinassa taas kaupunkien sairaalapotilailta todettiin resistenttejä bakteerikantoja, jotka hyvin todennäköisesti olivat peräisin eläintiloilta ja päätyneet kaupunkeihin kärpästen sekä muuttolintujen mukana (Wang ym., 2017a; Wang ym., 2017b).

Resistenttejä suolistobakteereita voi siirtyä myös kasviksiin, ja etenkin sellaisenaan syötävien kasvien välityksellä myös ihmiset voivat altistua niille. Belgiassa 11 % salaattista eristetyistä *E. coli* -bakteereista oli resistenttejä vähintään yhdelle mikrobilääkeryhmälle (Holvoet ym., 2011). Bakteerit olivat todennäköisesti siirtyneet salaatin pinnalle kasteluveden mukana tai kosketustartuntana kasvualustasta. Lisäksi kasvien sisä rakenteisiin voi myös päästä bakteereita, jotka ovat resistenttejä tai voivat tulla resistenteiksi mikrobilääkkeille altistuessaan niille kasvin sisällä (Zhang ym., 2017).

Resistenttejä suolistobakteereita voi teoriassa päätyä myös rehuun, jos rehukasvipeltoja on lannoitettu lannalla liian lähellä sadonkorjuuaikaa. Tällöin myös tuotantoeläimet voisivat altistua resistentille suolistobakteereille rehun välityksellä.

2.4 Lannan käsittelyn ja lannoitekäytön ympäristövaikutukset

2.4.1 Huomio elinkaariin ympäristövaikutuksiin

Lanta on arvokas orgaaninen lannoite ja maanparannusaine, jonka tehokas hyödyntäminen vähentää epäorgaanisten lannoitteiden tarvetta. Lantaravinteiden hyödyntämisen haasteena on mm. lannan alhainen typpipitoisuus suhteessa fosforipitoisuuteen ja suuret vaihtelut ravinteiden määrissä ja muissa ominaisuuksissa (Luostarinen ym. 2011a). Myös kotieläintuotannon keskittyminen alueellisesti voi olla haastavaa lantaravinteiden tehokkaan hyödyntämisen kannalta (Marttinen ym., 2017; Luostarinen ym. 2018).

Lannasta voi aiheutua merkittävää ympäristökuormitusta, sillä lantamäärä voi tilakohtaisesti tai alueellisesti olla merkittävä, se on ravinnepitoista eivätkä sen ominaisuudet ole kasvinviljelyn kannalta ihanteelliset. Lannan lannoitehyödyntämistä voi rajoittaa alueen peltomaan korkeat fosforipitoisuudet. Lisäksi sen käsittelystä aiheutuu kustannuksia, joiden minimointi voi lisätä lannan epäasiallisen käytön riskiä.

Suomen kotieläintuotannossa muodostui vuonna 2017 lantaa 15,5 miljoonaa tonnia (lanta varastoinnin jälkeen, pois lukien laitumelle jäävä lanta), josta 57 % on lietelantaa, 36,5 % kuivia lantoja (kuivikelanta, kuivalanta ja kuivikepohjalanta) ja 6,5 % virtsaa. Lannan kokonaismäärä jakaantui vuonna 2017 seuraavasti: 75,5 % naudat, 16 % siat, 2 % siipikarja ja loput 6,5 % hevoset, lampaat, vuohet ja turkiseläimet (Luostarinen ym. 2018). Arvio on tehty perustuen Luken ja SYKEN Suomen normilanta -järjestelmään (Luostarinen ym., 2017).

Elinkaarisilla ympäristövaikutuksilla tarkoitetaan tuotteen tai palvelun tuottamisesta aiheutuvia välittömiä ja välillisiä ympäristövaikutuksia, jotka syntyvät tuotteen tai palvelun koko elinkaaren ajalta, alkaen raaka-aineiden hankinnasta ja jatkuen varsinaisen tuotantoprosessin kautta tuotteen käyttöön, käytöstä poistoon ja loppusijoitukseen. Ympäristövaikutuksilla tarkoitetaan ilmaan, maaperään ja vesiin kohdistuvista päästöistä aiheutuvia muutoksia ympäristössä.

Lannan elinkaarisilla ympäristövaikutuksilla tarkoitetaan ympäristövaikutuksia, jotka syntyvät lannankäsittelyn aikana, alkaen lannan muodostumisesta eläinsuojassa ja päättyen lannan tai siitä valmistettujen tuotteiden loppukäyttöön tai loppusijoitukseen. Huomioon otetaan paitsi itse lannankäsittelystä muodostuvat vaikutukset, myös sitä tukevista tuotejärjestelmistä, kuten esimerkiksi polttoaineiden ja sähkön tuotannosta, aiheutuvat vaikutukset.

Jos lannankäsittelyä muutetaan, saattaa syntyä hyvityksiä. Hyvityksillä tarkoitetaan lannankäsittelyssä tapahtuvien muutosten vaikutuksia toiseen tuotejärjestelmään, jonka seurauksena sen aiheuttamat vaikutukset pienenevät (esimerkiksi fossiilisten polttoaineiden käytön väheneminen ja siitä seuraava ilmastovaikutuksen pieneneminen). Tämä vaikutusten pieneneminen voidaan laskea lannankäsittelymuutoksen hyödyksi, jolloin sen nettovaikutus pienenee suhteessa muutosta edeltävään tilanteeseen.

2.4.2 Lannankäsittelystä aiheutuvat päästöt ilmaan ja vesiin

Lannankäsittelyn eri vaiheissa syntyvät päästöt ilmaan ja vesiin aiheuttavat muun muassa happamoitumis-, rehevöitymis- ja ilmastovaikutuksia.

Kaasumaisena ilmaan vapautuva ammoniakki (NH_3) on muodostuvista päästöistä monivaikutuksellisin. Happamoitumisen, rehevöitymisen ja epäsuoran ilmastovaikutuksen lisäksi se on eläinsuojassa suurina pitoisuuksina eläimille ja niiden hoitajille haitallista. Eläinsuojien läheisyydessä korkeilla ammoniakkipitoisuuksilla on myös suoria kasvillisuusvaikutuksia. Lisäksi ammoniakista muodostuvat sekundaariset pienhiukkaset ovat ihmisten terveydelle haitallisia.

Nykytilanteessa lähes kolmasosa kotieläinten lannan tyyppistä haihtuu ilmaan ammoniakkina eri käsittelyvaiheissa. Noin 45 % ammoniakkitappioista tapahtuu eläinsuojassa, vajaa 20 % lannan varastoinnissa, vajaa 30 % lannan levityksessä ja vajaa 10 % laidunnuksen ja jaloittelun yhteydessä (Grönroos 2017).

Ammoniakin lisäksi tietyt muut haisevat ilmaan vapautuvat yhdisteet, kuten rikkivety, aiheuttavat hajuhaittaa lähiympäristössä. Rikkivety voi myös aiheuttaa tukehtumisvaaraa, jos lietesäiliöön mentäessä ei tähän osata varautua esimerkiksi säiliön riittävällä tuuletuksella.

Lannan aiheuttama ilmastovaikutus on pääosin peräisin lannasta vapautuvista metaani (CH_4) ja dityppioksidipäästöistä (N_2O). Lannan tyyppipitoisuus vaikuttaa dityppioksidipäästöihin. Lannan käsittelyn ja varastoinnin aikana tapahtuvat denitrifikaatio- ja nitrifikaatioprosessit tuottavat dityppioksidia. Lietelannasta syntyvät metaanipäästöt ovat huomattavasti suuremmat verrattuna kuivikelantaan (IPCC 2006).

Eloperäisenä materiaalina lanta on myös osa hiilen kiertoa. Lannan käsittelytavoilla on merkitystä siihen, kuinka pitkään lannan hiili on sidoksissa lannan orgaaniseen ainekseen (hiilinielu) eikä vapaudu hiilidioksidina ilmakehään voimistamaan ilmastomuutosta.

Lannan ravinteita voi päätyä myös pinta- ja pohjavesiin. Vesistöihin päätyvät rehevöittävät päästöt riippuvat pitkälti lannan levityskäytännöistä (levitysmäärä, ajankohta ja levitysmenetelmä) sekä lannan ominaisuuksista. Lannan oikealla käsittelyllä ja käytöllä haittoja voidaan vähentää ja samanaikaisesti parantaa lannan sisältämien ravinteiden hyödynnettävyyttä (ks. seuraava osio).

Maaperän tiivistymisen kannalta huonoin aika levittää lantaa on aikaisin keväällä juuri roudan sulettua sekä myöhään syksyllä sateiden kasteltua maan, koska maa on märkää syvältä. Peltöajo lantaa levittäessä voi rikkoa maan rakenteen aiheuttaen haittoja maaperässä. Tiivistyminen ja maan hiertyminen renkaiden alla vaurioittavat maaperän suuria huokoisia (halkaisija $\geq 0,03$ mm.), minkä seurauksena juuriston kasvu ja maaperän vedenpidätyskyky heikkenevät lisäten ravinteiden huuhtoutumisriskiä. Maaperän huono ilmanvaihto lisää myös typen kaasumaisia päästöjä (Palva ym., 2009).

Lannan prosessoinnilla voidaan vaikuttaa peltomaan tiivistymisriskiin tuottamalla jakeita, joita voidaan levittää maan tiivistymisriskiä vähentävillä levitystekniikoilla ja kasvien ravinnetarpeen kannalta oikeaan aikaan ja vastaavasti aikana, jolloin maan tiivistymisriski on pienimmillään. Prosessoinnilla voidaan vähentää myös levitettävän lannan kokonaismäärää.

2.4.3 Lannankäsittelytekniset ratkaisut päästöjen pienentämiseksi

Lannasta aiheutuviin ympäristövaikutuksiin pystytään vaikuttamaan melko yksinkertaisillakin lannankäsittelyn ratkaisuilla.

Eläinsuojassa haihtuviin typpiyhdisteisiin voidaan vaikuttaa mm. kuivikevalinnoilla ja tehokkaalla lannan poistolla. Lannan varastointitavalla ja -ajalla voidaan vaikuttaa merkittävästi syntyviin kaasumaisiin päästöihin ja välillisesti myös lannasta huuhtoutuviin ravinteisiin. Lietelannan ammoniakkipäästöjä voidaan vähentää esimerkiksi varastoimalla lanta katetussa varastossa. Typpiyhdisteiden haihtuminen alentaa lannan liukoisen typen määrää ja heikentää siten lannoitusvaikutusta, mutta samalla vähentää typen huuhtoutumisriskiä.

Lannanlevitysmenetelmien ja -ajankohdan valinta ovat olennaisia asioita lannankäytön kokonaisympäristövaikutusten kannalta. Lannan sisältämä fosfori on kasveille yhtä käyttökelpoisessa muodossa kuin väkilannoitefosfori. Fosfori kulkeutuu sekä liukoisena että maahiukkasten mukana suurelta osin pintavalunnassa. Osa lantatypistä on liukoisessa muodossa heti kasvien käytettävissä. Osa on sitoutuneena orgaanisen aineeseen. Levitettävä määrä määräytyy lannan ravinnepitoisuuden, viljeltävän kasvin ja peltomaan ominaisuuksien perusteella. Levitysmäärää säädellään lainsäädännön (erityisesti VnA 1250/2014) ja vapaaehtoisten järjestelmien (ympäristökorvausjärjestelmä) avulla.

Levityksen ajankohta ja levitystapa vaikuttavat lannan levityksen aiheuttamiin ympäristövaikutuksiin. Kun lantaa levitetään pellolle, lantaravinteet pyritään saamaan kasvien käyttöön. Olosuhteista ja toimista riippuen osa lannan sisältämistä ravinteista saattaa huuhtoutua vesistöihin ja osa haihtua ilmaan, kuten muistakin lannoitteista. Optimaalisesti lanta levitetään kylvöä ennen tai kasvustoon (kevät ja kesä), jolloin kasvi pystyy hyödyntämään liukoiset lantaravinteet heti ja vapautuvat ravinteet niiden vapautuessa maaperän mikrobitoiminnan myötä. Syyslevitystä ilman kylvettävää syysviljaa tulisi huuhtoumariskin vuoksi välttää. Ravinnetappioiden (vesiin huuhtoutuminen ja ilmaan haihtuminen) rajoittamiseksi on tärkeää, ettei lantaa jää levityksen jälkeen maan pintaan, vaan se joko mullataan tai sijoitetaan maahan (Palva ym., 2009). Lannan levityksen yhteydessä on tärkeää välttää myös maan tiivistymistä, koska tällöin ravinnetappioita on yhä vaikeampi estää.

Ammoniakkipäästöt lisääntyvät lämpötilan, ilmavirran nopeuden ja haihtumispinta-alan noustessa. Myös lannan pH vaikuttaa ammoniakin haihtumiseen. Alhainen pH vähentää ammoniakkipäästöjä pitäen lannan ammoniakin ammoniummuodossa, joka ei haihdu. Lietteen pH:ta voidaan alentaa happolisäyksellä. Happoa voidaan lisätä jo eläinsuojassa, varastoinnin aikana tai levityksen yhteydessä (Salo ym., 2015). Suomessa menetelmää ei kuitenkaan toistaiseksi käytetä.

2.4.4 Lannan hyödyntämistä voidaan tehostaa prosessoinnilla

Lannan käytettävyyttä lannoitteena voidaan parantaa lantaa prosessoimalla. Liete- ja kuivien lantojen sekä muiden orgaanisten syötteiden hyödyntämiseen ja ympäristökuormituksen vähentämiseen on olemassa monia biologisia, kemiallisia ja fysikaalisia prosesseja. Käyttökelpoisten lopputuotteiden saaminen voi edellyttää eri teknologioiden yhdistämistä. Lisäksi tarvitaan myös hyviä lannankäsittelyn käytäntöjä, jotta prosessoinnilla saavutettuja ympäristöetuja ei menetetä lopputuotteiden huonossa käsittelyssä.

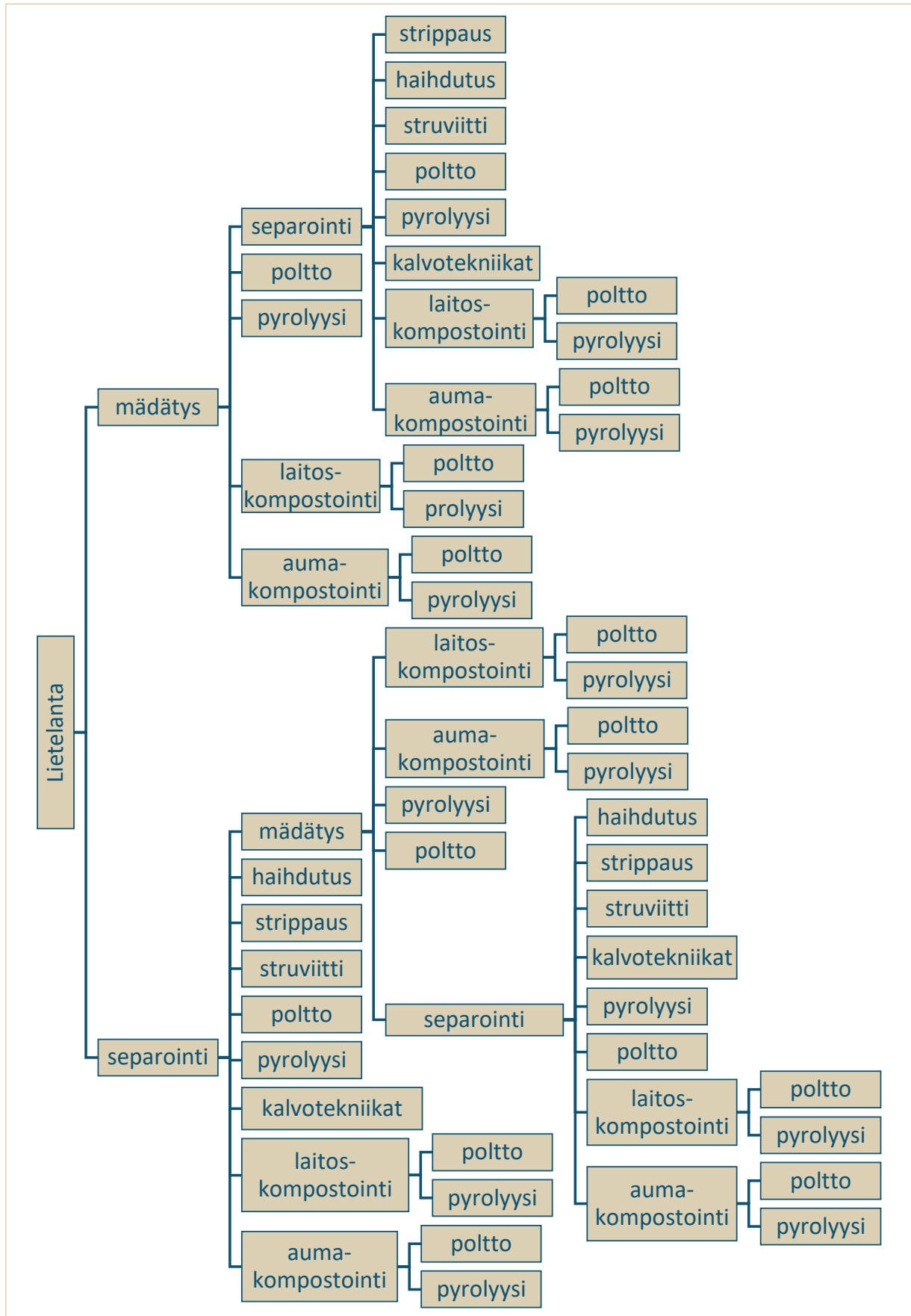
Lannan ravinnepitoisuudet ja lopputuotteiden käyttökohteet ovat ensisijaisena lähtökohtana lannan prosessoinnin suunnittelussa. Ravinteiden määrä vaihtelee lantatyypeittäin ja eläinlajeittain ja siihen vaikuttaa myös tuotantoeläinten ruokinta. Lisäksi ravinteiden määriin ja niiden käyttökelpoisuuteen vaikuttavat lannan talteenotto-, varastointi- ja käsittelymenetelmät.

Erilaisia prosessiyhdistelmiä on lukuisia. (Kuva 4). Niillä voidaan vaikuttaa mm. lannan käsiteltävyyteen ja joissain tapauksessa myös määrään, hajun muodostukseen ja ravinteiden käyttökelpoisuuteen ja alentaa siten myös lannan aiheuttamia elinkaarisia ympäristövaikutuksia, jos lopputuotteet osataan käsitellä ja hyödyntää oikein. Lisäksi käsittelyllä voidaan tuottaa lannasta energiaa ja siten korvata fossiililla polttoaineilla tuotettua energiaa (esim. mädätys). Yleensä kuitenkin lannan prosessointi kuluttaa energiaa.

Prosessoimalla voidaan lannasta erottaa esimerkiksi ravinnesuhteiltaan erilaisia jakeita separoimalla. Jakeet voidaan levittää viljelykasvien ravinnetarpeiden mukaisesti, jolloin esimerkiksi fosforia runsaasti sisältävä kuivajae on helpompi kuljettaa alueille, missä fosforin käytölle on suurempi tarve. Typpipitoinen nestejake voidaan hyödyntää tilan lähipelloilla, jonne fosforia ei mahdollisesti voi levittää maan korkean viljavuusfosforipitoisuuden takia (Palva ym., 2009, Luostarinen ym., 2011a; 2011b). Toisaalta prosessointi voidaan viedä tätä paljon pitemmälle, jolloin lopputuotteet muistuttavat väkilannoitteita ravinnesuhteiltaan ja kuljetettavuudeltaan.

Mitä suurempi osa lannan ravinteista päätty kasvien hyödynnettäväksi, sitä vähemmän päätty kuormittamaan ympäristöä, ja sitä suuremmassa määrin lanta voi korvata energiantensiivisesti tuotettua mineraalityypilannoitetta ja neitseellisten fosforivarantojen käyttöä. Näin voidaan saavuttaa myös epäsuoria positiivisia ympäristövaikutuksia. Prosessoinnissa ravinteiden liukoistuesssa riskit kasvaviin päästöihin saattavat myös lisääntyä, mutta näihin voidaan vaikuttaa lannan varastoinnin ja levityksen hyvillä käytännöillä.

Lannan prosessointimenetelmien elinkaarisia ympäristövaikutuksia käsitellään tarkemmin luvussa 7.



Kuva 4. Esimerkkejä lietelannan prosessointi- ja jatkojalostustekniikoista.

2.5 Naudanlannan varastoinnin ja prosessoinnin vaikutukset mikrobilääkejäämiin ja resistenssiin

2.5.1 Biologiset prosessoinnit

Biologiset prosessoinnit perustuvat lannan mikrobiologiseen hajottamiseen joko hapellisissa tai hapettomissa olosuhteissa. Hapellisissa oloissa tapahtuvan kompostoinnin aikana vapautuu hiilidioksidia, lämpöä ja vettä. Mädätys taas tapahtuu hapettomissa olosuhteissa ja sen aikana vapautuu hiilidioksidia, metaania sekä orgaanisia happoja, alkoholeja ja humus-aineita (Silva & Naik, 2007).

Kompostoinnin ja mädätyksen aikana tapahtuu lajiston vähittäistä muuttumista, jossa eri mikrobilajit toimivat orgaanisen hajotusprosessin eri vaiheissa ja muuttavat mikroympäristön aina uusille lajeille sopivaksi. Kompostoinnissa lajiston muuttuminen perustuu lämpötilan vaihteluihin neljässä vaiheessa, joissa vallitseva mikrobiyhteisö koostuu joko psykoofiilisista mikrobeista (+0-15°C), mesofiilisista mikrobeista (+0-44°C) tai termofiilisista mikrobeista (+45-70°C). Myös mädätyksessä on neljä vaihetta, joiden lajiston muuttuminen perustuu mikrobien tuottamiin hajoamistuotteisiin, joita seuraava mikrobiryhmä voi hyödyntää. Nämä neljä mikrobiryhmää ovat hydrolysoivat ja fermentoivat mikrobit sekä asetogeenit ja metanogeenit (Silva & Naik, 2007). Mädätys voi tapahtua joko mesofiilisessa (+25-37°C) tai termofiilisessa (+55-65°C) lämpötilassa ja joko jatkuvatoimisena tai panostoisena (Manyi-Loh ym., 2016).

Vaikutukset mikrobilääkkeisiin

Mikrobilääkkeiden vähenemiseen biologisissa prosesseissa liittyy useita abioottisia tekijöitä, kuten lämpötila, pH:n muutokset, hydrolyysi sekä sitoutuminen orgaaniseen ainekseen (Youngqist ym., 2016). Myös mikrobit voivat hajottaa mikrobilääkejäämiä, jos ne ovat niille biologisesti saatavilla. Mikrobilääkkeiden biologinen saatavuus riippuu niiden fysikaalis-kemiallisista ominaisuuksista ja sitoutumisalttiudesta orgaaniseen ainekseen (Thiele-Bruhn, 2003). Yleisesti ottaen tiiviisti orgaaniseen ainekseen ja maapartikkeleihin sitoutuvat mikrobilääkkeet ovat bakteereille heikommin biologisesti saatavilla, jolloin ne myös hajoavat vähemmän biologisissa prosesseissa (Masse ym., 2014).

Vaikutukset mikrobistoon

Suolistomikrobien selviytymiseen lannassa vaikuttavat lannan kemiallinen koostumus, pH, kuiva-ainepitoisuus ja ravinteiden saatavuus, lämpötila, happipitoisuus, vesipitoisuus, aika sekä mikrobiston lajikoostumus ja tiheys lannassa (Manyi-Loh ym., 2016). Biologisissa prosesseissa elävien suolistobakteerien, myös resistenttien, määrä ja osuus voi alentua korkean lämpötilan vaikutuksesta, muuttuneiden ympäristöolosuhteiden seurauksena (aineenvaihduntatuotteet), tai jos ne häviävät elintilakilpailussa nopeakasvuisemmille ja paremmin prosessin mikroympäristöön sopeutuneille (herkille) mikrobilajeille (Youngqist ym., 2016). Suolistobakteerit ovat huomattavasti sopeutuneita elämään suoliston ulkopuolella kuin ympäristöbakteerit, jolloin niiden voidaan olettaa pärjäävän huonosti kilpailussa ympäristöbakteereille (Manyi-Loh ym., 2016).

Tärkeimpänä elävien taudinaiheuttajabakteerien selviämiseen lannassa vaikuttavana tekijänä pidetään kosteuden lisäksi lämpötilaa (Sahlström, 2003; Manyi-Loh ym. 2016), jonka vaikutusta mikrobistoon käsitellään termisten prosessointien yhteydessä (ks. 2.5.2). Kompostoinnissa

hajoavan biomassan lämpötila nousee hajotusprosessin seurauksena (Manyi-Loh ym., 2016), mutta esimerkiksi mädätyksessä sitä voidaan myös nostaa lämmittämällä.

Liian korkeat mikrobilääkepitoisuudet lannassa voivat häiritä biologista hajotusprosessia tai pysäyttää sen, sillä mikrobilääkkeet voivat inhiboida myös hajottajamikrobeja. Inhibition vaikuttavat hajottajamikrobien vastustuskyky mikrobilääkkeille, lannan koostumus, prosessissa toimivan mikrobiomin lajikoostumus, mikrobilääkkeiden sitoutuminen orgaaniseen ainekseen ja hajoaminen prosessoinnin edetessä (Masse ym., 2014).

2.5.2 Termiset prosessoinnit

Kuumennus korkeassa lämpötilassa voi tuhota sekä mikrobilääkejäämät, elävät resistentit bakteerit että resistenssigeenit. Elävät bakteerit ja itiöt tuhoutuvat sterilisaatiolämpötiloissa (+121°C, 15 min).

DNA:n pilkkoutuminen lyhimpiä resistenssigeenejä (~300 bp [GenBank: GU327538.1]) lyhyemmiksi pätkiksi taas on laboratoriokokeissa todettu vaativan kuumennuksen vähintään +70°C:een hapellisissa oloissa tai yli +85°C:een hapettomissa oloissa (Zhang & Wu, 2005).

Sterilisaatiolämpötilassa oksitetrasykliini hajoaa käytännössä täysin (Hassani ym., 2008). Siprofloksasiinin on todettu hajoavan täysin +250 °C lämpötilassa (Svahn & Björklund, 2015). Kuumennettujen (100 tai 120 °C) liuosten antibioottinen ominaisuus kuitenkin säilyi vaihtelevasti, viitaten siihen että myös antibiootin kuumennuksessa syntyvillä hajoamistuotteilla olisi antimikrobisia ominaisuuksia (Hsieh ym., 2011). Vesiliuoksessa tehtyjä hajoamiskokeita ei voi kuitenkaan suoraan verrata poltto-olosuhteisiin, joissa lämpötilat ovat korkeita ja prosessi on optimoitu orgaanisten molekyylien mahdollisimman täydelliselle palamiselle.

2.5.3 Fysikaaliset prosessoinnit

Erottelu eli separointi kuivajakeeksi ja nestejakeeksi ei oletettavasti vaikuta mikrobilääkejäämien, resistenttien suolistobakteerien tai resistenssitekijöiden määrään lannassa. Ne voivat kuitenkin jakautua lannan eri faaseihin. Mikrobilääkkeet jakautuvat nestefaasiin ja kiinteään faasiin fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksiensa ja varaustensa perusteella. Perinteisesti orgaanisten kemikaalien sitoutuminen (sorption) riippuu hydrofobisuudesta. Mitä hydrofobisempi yhdiste, sitä enemmän se sitoutuu partikkeleihin. Lääkeaineet ovat yleensä vesiliukoisia ja ionitoituvia, joten niiden sorptio perustuu ionisiin vuorovaikutuksiin ja on pH-riippuvaista. Erityisesti kationit (positiivisesti varautuneet yhdisteet) sitoutuvat herkästi negatiivisesti varautuneeseen orgaaniseen ainekseen (Tolls, 2001).

Bakteerisolut hakeutuvat tavallisesti kiinteille pinnoille solujensa varausten ja värekarvojensa avulla (Unc & Goss, 2004). Näin ollen ne kulkeutuvat todennäköisemmin kiinteän faasin mukana, mutta myös nestefaasi voi sisältää resistenttejä bakteereita ja resistenssitekijöitä.

Erilaisten lannan prosessointimenetelmien vaikutuksia mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin bakteereihin arvioidaan tarkemmin osiossa 8.

3 Tutkimuksen tavoitteet ja toteutus

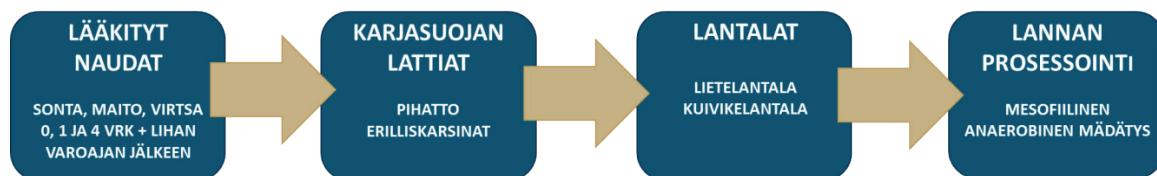
Hankkeen tavoitteet olivat seuraavat:

1. Selvittää toiminnassa olevan lypsykarjatilän mikrobilääkeresistenssi ja -jäämätilanne.
2. Tutkia mikrobilääkkeiden erittymistä ja resistenttien bakteerien kehittymistä sekä valikoitumista lääkittyjen nautojen sontaan, maitoon ja virtsaan.
3. Tutkia, miten mikrobilääkkeille resistentit bakteerit ja resistenssigeenit sekä mikrobilääkkeet ja niiden aineenvaihduntatuotteet kulkeutuvat lypsykarjatilalla lääkityistä naudoista lannankäsittelyketjun kautta tilaympäristöön.
4. Selvittää simuloituilla laboratorioskokeilla, miten lannan prosessointi mädättämällä vaikuttaa mikrobilääkeresistenssiin ja -jäämiin sekä toisaalta myös sitä, miten mikrobilääkkeet vaikuttavat mädätysprosessiin, esimerkiksi sen metaanin tuottoon.
5. Koota yhteenveto kirjallisuuden perusteella erilaisista lannankäsittelymenetelmistä ja niiden ympäristövaikutuksista.
6. Arvioida mikrobilääkkeiden käyttöön liittyviä välillisiä terveysriskejä.
7. Tuottaa tietoa kotieläinten mikrobilääkkeisiin ja resistenssiin liittyvään riskiarviointiin ja -hallintaan.
8. Ymmärtää paremmin mikrobilääkkeiden käytön ja mikrobilääkeresistenssin välistä yhteyttä.

Tutkimus toteutettiin yhteistyössä Ruokaviraston (entinen Evira), Luonnonvarakeskuksen (Luke) ja Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) kanssa. Koetilana oli Luken Minkiön tutkimusnavettatila Jokioisissa.

4 Aineisto ja menetelmät

Projektin kokeellinen osa koostui kahdesta työpaketista: mikrobilääkeresistenssin ja -jäämien määrittämisestä tilamittakaavassa sekä simuloidussa lannankäsittelyketjussa. Tilamittakaavan tutkimuksessa selvitettiin tavanomaisen suomalaisen lypsykarjatilän mikrobilääkeresistenssi ja -jäämätilanne. Simuloidussa lannankäsittelyketjussa taas tutkittiin laboratoriomittakaavassa lannan prosessoinnin vaikutusta mikrobilääkeresistenssiin ja -jäämiin. Valittu prosessointiteknikka oli mesofiilinen mädätys. Yhdessä tutkimuspaketit toivat tietoa mikrobilääkeresistenssin ja -jäämien kulkeutumisesta lantaketjussa mikrobilääkityistä nautoista lantaloiden kautta prosessoitavaan lantaan (kuva 5).



Kuva 5. Esimerkkejä lietelannan prosessointi- ja jatkojalostustekniikoista.

4.1 Työpaketti 1: tilamittakaavan tutkimus ja näytteenotot

Tutkimustilalla oli 209-paikkainen karjasuoja, johon kuului pihatto-osa sekä erillisiä karsinoita vasikoille sekä poikiville ja sairaille eläimille. Pihatto-osassa oli kolme ruokintapöytää, joiden yhteydessä oli kaksi toisiinsa yhteydessä olevaan käytävää sekä ulkoilutarha. Lehmät eivät päässeet liikkumaan ruokintapöytien välillä, mutta tilaa ei oltu eroteltu väliseinin. Karjasuoja pestiin vuosittain kesäkuun alussa.

Lietelantalaan kertyi pääosin terveiden lypsylehmien ja hiehojen lietelantaa pihatosta. Pihatossa saattoi olla myös mikrobilääkkeitä saaneita, hyväkuntoisia eläimiä. Lisäksi lietelantalaan johdettiin karsinoista helposti erottuva virtsa, lypsyaseman, tilatankin ja navetan pesuvedet sekä mikrobilääkejäämiä sisältävät lypsylehmien maidot (lääkityksen varoajalta) johdettiin lietelantalaan. Tilalla oli kaksi tilavuudeltaan 1 600 m³ kattamatonta lietesäiliötä, joihin liete kulkeutui pihaton ja karsinoiden alla sijaitsevan lietekuilun kautta.

Sairaiden, lääkittyjen ja poikivien lehmien sekä vasikoiden lanta kerättiin karsinoista kuivikelantana erilliseen 190 m³, katettuun kuivalantalaan (Kuva 6). Virtsa imeytettiin karsinoissa pääasiassa kuivikkeena käytettyyn turpeeseen, mutta osa siitä päätyi lietekuilun kautta lietelantalaan.

Molempia lantatyyppejä hyödynnettiin lannoitteena peltoviljelyssä. Lietelannan levitys tapahtui pääosin keväällä (68 %) ennen kylvöä viljoille tai nurmille. Loput levitettiin kesällä tai syksyllä (32 %). Myös kuivikelanta hyödynnettiin lannoitteena.

Tarkastelujakson aikana (6.5.2010–3.12.2016) tutkimustilalla käytettiin nautojen sairauksien hoidossa ja toimenpiteissä mikrobilääkkeitä ja muita lääkevalmisteita, kuten tulehduskipulääkkeitä. Eläimet saivat 1–6 eri lääkevalmistetta sairaudesta ja sen vakavuudesta riippuen. Eniten käytettiin penisilliinejä sisältäviä mikrobilääkkeitä (79,1 %, 5 258 lääkkeen

antopäivää). Laajakirjoista penisilliiniä, ampisilliiniä, käytettiin 0,3 % lääkeshoidoista. Kokonaislääkekulutuksesta 3,6 % sisälsi tetrasykliinejä ja 2,6 % fluorokinoloneja. Tarkastelujakson aikana ei käytetty kolmannen polven kefalosporiineja, jotka on luokiteltu kriittisesti tärkeiksi mikrobilääkkeiksi ihmisten hoidossa. Niitä oli kuitenkin käytetty ennen tarkastelujaksoa. Koko tarkastelujakson lisäksi selvitettiin vuositason tilan eri mikrobilääkeryhmien käyttöä.

Yhteensä yhdeksän mikrobilääkkeillä hoidettua nautaa tutkittiin vuosina 2015–2016. Niistä seitsemän oli lääkitty fluorokinoloneihin kuuluvalla enrofloksasiinilla ja kaksi oksitetrasykliinillä (Taulukko 5).



Kuva: Pertti Koivisto

Kuva 6. Tutkimustilan kuivalantala.

Taulukko 5. Tutkittujen yhdeksän nautan oireet ja mikrobilääkitykset.

Nauta	Oireet	Lääkitys	Kesto
1	<i>E. coli</i> -mastiitti	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml	3 vrk
2	<i>E. coli</i> -mastiitti	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml	3 vrk
3	<i>E. coli</i> ja <i>S. uberis</i> -mastiitti	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml, penisilliini Penovet	3 vrk (ENR), 5 vrk (PEN)
4	<i>E. coli</i> -mastiitti	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml	1 vrk
5	<i>Klebsiella</i> -mastiitti, kuume	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml	3 vrk
6	Ruokahaluttomuus, kuume	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml	5 vrk
7	Niveltulehdus kintereessä	Oksitetrasykliini Terramycin 100 mg/ml ja Terramycin LA 200 mg/ml inj.	6 vrk
8	Jälkeisistä aiheutunut kohtutulehdus	Oksitetrasykliini Terramycin 100 mg/ml ja Terramycin LA 200 mg/ml inj.	6 vrk
9	<i>E. coli</i> -mastiitti, kuume	Enrofloksasiini Baytril 100 mg/ml	4 vrk

Tutkituista naudoista otettiin sonta- ja maitonäytteet ennen mikrobilääkehoidon aloittamista (0 vrk), 1 vrk ja 4 vrk hoidon aloittamisen jälkeen sekä käytetylle mikrobilääkevalmisteele asetetun lihan varoajan jälkeen. Lisäksi jokaiselta tutkitulta naudalta otettiin vähintään yksi virtsanäyte jossain hoidon vaiheessa.

Navetasta otettiin yhteensä 19 ympäristönäytettä kahdella eri näytteenottokerralla keväällä ja syksyllä 2016 (Taulukko 6).

Taulukko 6. Näytteenotot navetasta keväällä ja syksyllä 2016.

Näytteenottokohde	Näytetyyppi	Kevät 2016	Syksy 2016
Pihatto	Tossunäytteet	6 näytettä; 1 jokaiselta käytävältä	6 näytettä; 1 jokaiselta käytävältä
Erilliskarsinat	Ympäristönäytteet	2 sairaskarsinaa + vasikoiden karsina	2 sairaskarsinaa
Jaloittelutarha	Tossunäyte + yhteissontanäyte	2 näytettä	Ei näytteitä

Pihatosta näytteet otettiin vetämällä joustavat kangaspalat tehdaspuhtailla muovipusseilla peitettyjen kumisaappaiden päälle ja kävelemällä ne jalassa käytävät päästä päähän. Lisäksi molemmilla näytteenotto-kerroilla otettiin näytteet kahdesta erillisestä sairaskarsinasta sekä ensimmäisellä myös vasikoiden karsinasta ja jaloittelutarhasta. Erilliskarsinoiden ja jaloittelutarhan näytteet kerättiin karsinan lattialta ja seiniltä lapiolla purkkeihin. Toinen jaloittelutarhan kahdesta näytteestä otettiin tossunäytteenä samaan tapaan kuin pihatosta.

Lantaloista otettiin yhteensä kahdeksan näytettä vuosina 2015–2016: neljä lietelantanäytettä ja neljä kuivikelantanäytettä. Puolet näytteistä otettiin keväällä ja puolet syksyllä. Lietelantanäytteet otettiin lannan peltolevitysten yhteydessä, kun lietelantasäiliöt tyhjennettiin.

4.2 Työpaketti 2: simuloidun lannankäsittelyketjun koeasetelmat ja näytteenotot

Mikrobilääkkeiden vaikutuksia lannan prosessoinnissa käytettävään mädätykseen (biokaasuprosessi) ja mikrobilääkkeiden käyttäytymistä (hajoaminen/säilyminen) prosessissa tutkittiin laboratoriomittakaavassa. Kokeisiin valittiin tutkittaviksi mikrobilääkkeiksi tutkimustilalla käytetyt oksitetrasykliini ja enrofloxasiini sekä sen pääasiallinen hajoamistuote siprofloxasiini. Kokeet toteutettiin kahdessa osiossa. Ensin selvitettiin mikrobilääkkeiden vaikutusta lietelannan metaanintuottoon panoskokeella ja sitten simuloitiin jatkuvatoimista biokaasuprosessia.

Mikrobilääkkeiden vaikutus lietelannan metaanintuottopotentiaaliin – panoskokeet

Panostoimisilla biokemiallisen metaanintuottopotentiaalin (BMP) kokeilla voidaan selvittää erilaisten orgaanisten materiaalien hajoavuutta biokaasuprosessissa. Kokeessa haluttu määrä tutkittavaa materiaalia lisätään yhdessä mikrobiympin kanssa astiaan, astia suljetaan ja hajoamista seurataan kaasufaasiin muodostuvana metaanina. Koe päättyy, kun metaanintuotto pysähtyy. Yleensä se kestää noin 30 vrk.

Tässä kokeessa selvitettiin, miten ja millä pitoisuuksilla mikrobilääkkeet vaikuttavat metaanintuottoa alentavasti, kun käsiteltävänä materiaalina oli lietelanta. Lääkeainepitoisuuksien valinnassa käytettiin hankkeen aiemmissa osioissa selvitettyjä navettaympäristössä ja lannoissa havaittuja tetrasykliinin, enrofloksasiinin ja siprofloksasiinin pitoisuuksia. Kyseisten lääkkeiden vaikutusta biokaasuprosessin mikrobiologiaan ts. metaanintuottoon tutkittiin eri pitoisuuksilla erikseen ja lääkeaineiden seoksina.

Tutkimus toteutettiin kahdella erillisellä (kokeet A ja B) 30 vrk panostoisella kokeella käyttäen automatisoitua metaanintuottopotentialin mittauslaitteistoa (AMPTS II, Bioprocess Control AB, Ruotsi). Kokeissa seurattiin Luken Minkiön navetan lypsykarjan lietelannan hajoamista ja mikrobiympyminä oli Luken Maaningan noin 120 lypsylehmän lietelantaa käsittelevän biokaasulaitoksen mädäte.

Koe suoritettiin kolmena rinnakkaisena käsittelynä 500 ml lasipulloissa. Pulloihin valmistettiin mikrobiympin ja lietelannan seos, jossa lannan ja mikrobiympin VS/VS -suhde oli 0,75. Käsittelylämpötila oli 37 °C. Mikrobilääkkeet lisättiin lannan ja ympin seokseen vesiliuoksina. Pullot täytettiin ionivaihdetulla vedellä ja/tai mikrobilääkeliuoksella kokeessa keskenään samaan nestetilavuuteen (koe A: 400 ml; koe B: 380 ml), jolloin kaikissa käsittelyissä oli sama orgaanisen kuiva-aineen konsentraatio. Pulloihin lisättiin pH:n puskuroimiseksi natriumbikarbonaattia (NaHCO_3) annostuksella 3 g/l. Molemmissa kokeissa oli mikrobilääkekäsiteltyjen pullojen lisäksi koejäsenenä lietelantakontrolli ilman mikrobilääkeliuosta sekä pelkkä mikrobiympyminä. Kaasutiiviisti suljetut pullot huuhdeltiin hiilidioksidilla hapettomien olosuhteiden aikaansaamiseksi ennen kokeen aloittamista. Pullojen sisältöä sekoitettiin kerran tunnissa mekaanisella sekoittimella nopeudella 84 rpm. Kokeen aikana muodostuva metaani johdettiin hiilidioksidin sitouttamisen jälkeen nesteensyrjäytykseen perustuvaan kaasun tilavuusmittaukseen.

Ensimmäisessä kokeessa (A) mikrobilääkkeiden pitoisuustasoiksi valittiin Minkiön navettaympäristössä ja lannoissa havaittuja pitoisuuksia sekä kirjallisuudessa esitettyjä pitoisuuksia, jotka olivat havaitsemiamme korkeampia. Koejäseniä oli yhteensä 23 kpl, joista 21 oli mikrobilääkekäsitelyjä (Taulukko 7). Oksitetrasykliinipitoisuudet vaihtelivat välillä 100–10 000 µg/kg, enrofloksasiinipitoisuudet välillä 10–2 000 µg/kg ja siprofloksasiinipitoisuudet välillä 10–2 000 µg/kg. Lisäksi koejäsenissä oli yhdeksän erilaista mikrobilääkkeiden seosta.

Panoskoe uusittiin myöhemmin samana vuonna korkeammilla mikrobilääkepitoisuuksilla (koe B). Kokeessa B oli 14 koejäsentä, joista 12 sisälsi mikrobilääkkeitä (Taulukko 8). Enrofloksasiini päätettiin jättää pois tästä kokeesta, koska se hajoaa siprofloksasiiniksi. Siprofloksasiinin pitoisuudet nostettiin välille 2 000–50 000 µg/kg ja tetrasykliinin välille 10 000–500 000 µg/kg. Lisäksi mukana oli neljä mikrobilääkkeiden seosta, joissa siprofloksasiinipitoisuus oli 10 000–20 000 µg/kg ja oksitetrasykliinipitoisuus 50 000–100 000 µg/kg.

Taulukko 7. Panoskokeen A koejäsenet (1–23) ja suunnitellut mikrobilääkepitoisuudet seoksissa.

			Suunnitellut pitoisuudet seoksessa		
Koejäsen	Ympäri	Naudan lietalanta	ENR (µg/kg)	CIP (µg/kg)	OTC (µg/kg)
A-1	x				
A-2	x	x			
A-3	x	x	10		
A-4	x	x	100		
A-5	x	x	1 000		
A-6	x	x	2 000		
A-7	x	x		10	
A-8	x	x		100	
A-9	x	x		1 000	
A-10	x	x		2 000	
A-11	x	x			100
A-12	x	x			1 000
A-13	x	x			3 000
A-14	x	x			10 000
A-15	x	x	100	100	1 000
A-16	x	x	1 000	1 000	3 000
A-17	x	x	100	100	
A-18	x	x	1 000	1 000	
A-19	x	x	100	1 000	
A-20	x	x	1 000	100	
A-21	x	x	100		1 000
A-22	x	x	1 000		3 000
A-23	x	x		1 000	3 000

Taulukko 8. Panoskokeen B koejäsenet (1–14) sekä suunnitellut ja toteutuneet antibioottien pitoisuudet (µg/kg).

			Suunniteltu pitoisuus		Analysoitu pitoisuus	
Koejäsen	Ympäri	Naudan lietalanta	CIP (µg/kg)	OTC (µg/kg)	CIP (µg/kg)	OTC (µg/kg)
B-1	x					
B-2	x	x				
B-3	x	x	2 000		2 260	
B-4	x	x	10 000		9 690	
B-5	x	x	20 000		19 100	
B-6	x	x	50 000		47 000	
B-7	x	x		10 000		13 900
B-8	x	x		50 000		69 400
B-9	x	x		100 000		138 000
B-10	x	x		500 000		726 000
B-11	x	x	10 000	50 000	10 800	67 000
B-12	x	x	20 000	100 000	21 200	112 000
B-13	x	x	10 000	100 000	10 400	127 000
B-14	x	x	20 000	50 000	22 800	65 200

Kokeessa A mikrobilääkepitoisuudet määritettiin näytteistä kokeen jälkeen. Kokeen alkupitoisuuksia ei analysoitu. Kokeessa B mikrobilääkepitoisuudet määritettiin sekä koejakson alussa että lopussa. Määritetyt OTC-pitoisuudet olivat noin 33 % korkeampia kuin laskennalliset pitoisuudet. Syynä voi olla OTC-kantaliuoksen valmistuksessa tapahtunut mittavirhe, mutta toisaalta ero selittyy osittain OTC-analyysin laajennetulla mittausepävarmuudella.

Tilakohtaisen biokaasulaitoksen simulaatio - jatkuvatoimiset kokeet

Lietelantoihin perustuvat maatilojen biokaasulaitokset ovat yleensä mesofiilisiä (37 °C) märkäprosesseja, joissa uutta syötettä lisätään biokaasureaktoriin säännöllisesti ja samalla mädätettä poistetaan. Osa syöttestä voi olla myös esim. kuivaa lantaa. Tämän vuoksi tehtiin kokeet, joissa simuloitiin tutkimustilan lannan prosessointia tilakohtaisessa biokaasulaitoksessa.

Jatkuvatoimisissa reaktorikokeissa tutkittiin kahden mikrobilääkkeen, oksitetrasykliinin ja siprofloksasiinin, vaikutusta anaerobiseen hajotusprosessiin sekä niiden hajoamista prosessin aikana. Lisäksi kokeessa seurattiin prosessoinnin vaikutusta syötteenä käytetyn lantaseoksen indikaattori *E. coli* -bakteerin pitoisuuksiin ja tutkituille mikrobilääkkeille resistenttien *E. coli* -bakteerien prosentuaalisiin osuuksiin.

Jatkuvatoimiset reaktorikokeet toteutettiin neljällä 1l litran laboratorioreaktorilla. Kokeen alussa kaikki neljä reaktoria täytettiin 1l litran maksimitilavuuteen mikrobiympillä (Luke Maaningan biokaasulaitoksen mädäte, kuten panoskokeessakin), johon ei ollut lisätty mikrobilääkettä.

Reaktoreiden 1–4 (R1–R4) syötteet erosivat toisistaan siten, että R1 oli kontrollireaktori, johon syötettiin tutkimustilan lietelannan ja kuivikelannan seosta sellaisenaan ja R2–4 saivat lannan mukana erikseen lisättyjä mikrobilääkkeitä (Taulukot 9, 10 ja 11). Syötemäärä oli vakio, mistä syystä R1:en lisättiin mikrobilääkeseoksen sijaan 22 g vettä. Syöttömateriaaleista (lietelanta ja kuivikelanta) sekä kokeessa käytetyistä syöttöseoksista määritettiin myös metaanintuottopotentialit ilman mikrobilääkelisäyksiä. Reaktoreiden sisällöstä tehtiin myös jälkikaasuuntumiskokeet panostoisesti (sama menetelmä kuin panoskokeissa) reaktorikokeiden jälkeen.

Taulukko 9. Jatkuvatoimisen kokeen syöttöjen mikrobilääkepitoisuudet.

R1	R2	R3	R4
Kontrolli, ei lisättyä mikrobilääkettä	OTC 20 000 µg/kg märkäpainoa kohti	CIP 20 000 µg/kg märkäpainoa kohti	CIP 20 000 + OTC 20 000 µg/kg märkäpainoa kohti

Taulukko 10. Ympin ja syötössä käytettyjen lantojen ominaisuudet.

	TS (g/kg)	VS (g/kg)	NH ₄ -N (g/kg)	Ntot (g/kg)	Ptot (g/kg)	Metaanipotentiaali (m ³ CH ₄ /tVS)
Ympä	54,0	40,1	1,13	2,92	0,56	N/A
Lietelanta	75,0	60,5	0,70	2,84	0,56	234
Kuivikelanta	229,0	210,0	0,13	5,77	0,57	58

TS = kuiva-aine, VS = orgaaninen kuiva-aine, NH₄-N = ammoniumtyppi, Ntot = typpi, Ptot = fosfori.

Taulukko 11. Syöttöseosten koostumus sekä seosten TS- ja VS-pitoisuudet.

	Lietelanta (g/d/reaktori)	Kuivikelanta (g/d/reaktori)	Vesi- ja antibioottiliuos yhteensä (ml)	Syöttöseoksen TS-pitoisuus (g/kg)	Syöttöseoksen VS-pitoisuus (g/kg)	Metaani- potentiaali (m ³ CH ₄ /tVS)
Seos 1, koepäivät 0–27	415 (78,5 % tuorepaino- osuus)	113,5 (21,5 % tuorepaino- osuus)	22	104	89,8	140
Seos 2, koepäivät 28–84	449 (85 % tuorepaino- osuus)	79,2 (15 % tuorepaino- osuus)	22	94,3	80,0	151

Tutkimuksessa tehtyjen panoskokeiden ja kirjallisuuden perusteella reaktoreiden 2–4 syötteiden mikrobilääkepitoisuuksiksi valittiin 20 000 µg/kg per lääkeaine (Taulukko 9). Siprofloksasiinin pitoisuus 20 000 µg/l heikensi havaittavasti metaanituottoa tehdyissä panoskokeissa. Oksitetrasykliinin pitoisuus 10 000 µg/kg ei panoskokeessa inhiboinut metaanintuottoa, mutta seuraava tutkittu pitoisuustaso 50 000 µg/kg inhiboi. Tästä syystä valittiin myös oksitetrasykliinin pitoisuudeksi 20 000 µg/kg.

Reaktorit syötettiin arkipäivisin ja mädätysjäännöksen poisto reaktoreista tapahtui painovoimaisesti u-putken kautta. Reaktoreiden lämpötila oli 37 °C, ja sisältöä sekoitettiin pysty akselin ympäri pyörivällä sekoittimella viiden sekunnin sykleissä 60 sekunnin välein, sekoitusnopeus 32 rpm. Koe kesti kolme laskennallista massan viipymää (hydraulic retention time, HRT), eli 3 x 28 vrk -> 84 vrk. Tällöin prosessin oletettiin saavuttaneen tasaisen toiminnan. Reaktoreiden kuormitus (organic loading rate, OLR) koepäivinä 0–27 oli 3,21 kgVS/m³d ja loppukokeen ajan (koepäivät 28–84) 2,86 kgVS/m³d. Muutos johtui päivästä 28 eteenpäin tehdyn lietelannan ja kuivikelannan määrän keskinäisen suhteen muutoksesta (lietelannan osuuden lisäämisestä), joka toteutettiin koereaktoreiden teknisen toiminnan takaamiseksi.

Muodostuvan biokaasun määrä mitattiin kaasukellolla (RITTER Apparatebau GmbH & Co. KG, Saksa). Kaasun metaanin, hiilidioksidin, hapen, rikkivedyn ja vedyn pitoisuudet mitattiin kannettavalla Combimass GA-m kaasuanalysaattorilla (Binder Engineering GmbH, Saksa). Kaikki kaasumäärät on ilmoitettu normaalitilassa (NTP, paine 100 kPa, lämpötila 0 °C = 273,15 K).

Kokeen aikana kaikkien reaktoreiden mädätysjäännöksistä otettiin näytteet viikoittain (12 x 4 näytettä). Lisäksi 28 päivän välein otettiin näytteet reaktoreihin syötettävästä lantaseoksesta (3 näytettä). Kokeen alussa otettiin myös yksi näyte mikrobiympäristä, jolla reaktorit täytettiin.

Mädätysjäännöksistä analysoitiin prosessin toiminnan seuraamiseksi joka toinen viikko pH, kuiva-aine (TS), orgaaninen kuiva-aine (VS), ammoniumtyppi (NH₄-N), haihtuvat rasvahapot (VFA) sekä ravinteista typpi, fosfori, kalium, kalsium ja magnesium. Kemiallisia analyysejä varten näytteet lähetettiin kokeen päätyttyä pakastettuina Ahma Ympäristö Oy:n laboratorioon. Mikrobiologiset ja mikrobilääkejäämämäärityksiin tulevat näytteet lähetettiin tutkittaviksi Eviraan joko pakastettuina (vain kemialliset analyysit) tai tuoreina (mikrobiologiset ja kemialliset määritykset) kylmävaraajilla varustetuissa kylmälaukuissa. Kaikkien reaktorien syötteistä otettiin näytteet jokaisen viipymän alussa, mutta mikrobiologiset analyysit tehtiin vain reaktorin 1 syötteelle (jossa ei lääkeainelisiä).

4.3 Kemialliset analyysit

Maidon fluorokinoloni- ja tetrasykliinipitoisuudet määritettiin Eviran validoiduilla menetelmillä, joita käytetään kansallisessa vierasainevalvonnassa. Analyysimenetelmä lannassa olevien mikrobilääkkeiden pitoisuuksien mittaamiseen kehitettiin tutkimuksen aikana ja se validoitiin enroflokasiinin, siproflokasiinin ja oksitetrasykliinin osalta. Kehitettyä menetelmää käytettiin myös virtsanäytteiden analysointiin. Menetelmässä kinolonit ja tetrasykliinit uutettiin matriisista kelatoivalla uutolla, uute puhdistettiin kiinteäfaasiuutolla ja se analysoitiin nestekromatografia-massaspektrometrialla (UPLC-MS/MS). Menetelmä soveltui kinoloneille pitoisuusalueella 3–850 µg/kg ja tetrasykliinille 3–350 µg/kg. Menetelmän laajennettu mittauserpävarmuus on 20 %. Näytettä punnittiin analyysiin 1,0–3,0 ± 0,03 g ja virtsaa otettiin 3 ml. Mikäli näytteen mikrobilääkepitoisuus ylitti kalibroitalueen, vain osa uutteesta otettiin jatkokäsittelyyn tai näytettä otettiin analyysiin vähemmän.

Laboratoriomittakaavan biokaasukokeissa kemialliset analyysit tehtiin Luken Jokioisten laboratoriossa sekä Ahma Ympäristö Oy:llä (Taulukko 12). Biokemiallisen metaanipotentiaalin määrittämisen panoskokeissa (BMP) näytteistä määritettiin kuiva-aineen (TS) sekä orgaanisen kuiva-aineen (VS) pitoisuudet standardin SFS 3008 mukaisesti (Suomen standardisoimisliitto, 1990). pH mitattiin VWR pH100 pH-mittarilla.

Taulukko 12. Jatkuvatoimisten kokeiden seuranta-analyysien menetelmät (Ahma Ympäristö Oy).

Analyysi	Menetelmä	Kuvaus	Lähde
Kuiva-aine (TS)	ISO 11465:1993	kuivaus 105 °C	ISO, 1993
Orgaaninen kuiva-aine (VS)	SFS-EN 12879:2000	hehkutus 550 °C	Suomen standardisoimisliitto, 2000
Ammoniumtyppi (NH ₄ -N)	SFS-EN 13652:2002	1:5 vesiuutto, fotometrinen määrittäminen	Suomen standardisoimisliitto, 2002a
Kokonaistyyppi (N _{tot})	SFS-EN 13654-1: 2002	Kjeldahl-menetelmä	Suomen standardisoimisliitto, 2002b
Kokonaisravinteet (P, K, Ca, Mg)	EPA3051 sekä SFS-EN ISO11885:2009	HNO ₃ /HCl -liuotus mikroaaltoavusteisesti, määrittäminen ICP-OES	USEPA, 1994; Suomen standardisoimisliitto, 2009
Haihtuvat hapot (VFA)		vesiuutto 1:10, määrittäminen uuttoluoksesta HPLC/UV	

4.4 Mikrobiologiset analyysit

Tilan mikrobilääkeresistenssilannetta ja resistenttien suolistobakteerien kulkeutumista lannankäsittelyketjussa tutkittiin indikaattori *E. coli*-bakteerin sekä ihmiselle tautia aiheuttavan *C. jejuni*-bakteerin avulla. Kyseisiä bakteerilajeja käytetään eläimistä eristettyjen bakteerien resistenssin seurantaan myös FINRES-Vet-ohjelmassa. Lisäksi *E. coli*-bakteeria käytetään lannoitevalmisteiden hygieenisyyttä kuvaavana indikaattorina (MMM 24/11) sekä yleisesti ulosteperäisen saastumisen indikaattorina.

E. coli määritettiin kaikista navetan näytteistä, lääkittyjen nautojen sonta- ja maitonäytteistä, kaikista lantaloiden lantanäytteistä sekä jatkuvatoimisessa biokaasukokeessa kahdesta

syötteestä (R1 toisen ja kolmannen viipymän alussa) sekä kaikista neljästä reaktorista noin kahden viikon välein (42, 56, 63, 70 ja 84 vrk). *C. jejuni* -bakteerit taas määritettiin osasta karjasuojanäytteitä, lääkittyjen nautojen sonta- ja maitonäytteistä sekä lietalantanäytteistä.

Näytteistä eristettiin *C. jejuni* -bakteerit muunnellulla ISO 10272-1:2006 -viljelymenetelmällä. Mikrobilääkkeille resistenttien *E. coli* -bakteerien suhteelliset osuudet määritettiin viljelemällä näytteet rinnakkain mikrobilääkettä sisältämättömille, ei-valikoiville agarmaljoille sekä siprofloksasiinia, tetrasykliiniä, kefotaksiimia tai ampisilliinia sisältäville valikoiville agarmaljoille. Lääkittyjen nautojen sontanäytteille määrittäminen tehtiin MPN-menetelmällä (most probable number) (Jarvis ym., 2010) Lantalasta, navetasta sekä lannan jatkuvatoimisesta biokaasukokeesta otetuille näytteille määrittäminen tehtiin pesäkelaskentatekniikalla. Peltomaa- ja maitonäytteistä resistentit *E. coli* -bakteerit puolestaan tutkittiin osoitusmenetelmällä. Ei-valikoivilta ja valikoivilta maljoilta eristettiin enintään viisi isolaattia maljatyyppiä kohden.

Eristettyjen bakteerikantojen mikrobilääkeherkkydet määritettiin nestelaimennusmenetelmällä. *E. coli* -bakteerien herkkydet testattiin sulfametoksatsolille, trimetopriimille, siprofloksasiinille, tetrasykliinille, meropenemille, atsitromysiinille, nalidiksiinihapolle, kefotaksiimille, kloramfenikolille, tigesykliinille, keftatsidiimille, ampisilliinille ja gentamysiinille. *C. jejuni* -bakteerien herkkydet testattiin siprofloksasiinille, nalidiksiinihapolle, streptomysiinille, gentamysiinille tetrasykliinille ja erytromysiinille. Resistenssin raja-arvona käytettiin pääsääntöisesti EUCAST:n (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) määrittämiä bakteerilaji- ja mikrobilääkekohtaisia ECOFF-arvoja (ecological cut-off value) (vuosi 2018). ECOFF-arvo jakaa bakteeripopulaation ns. villityyppiin sekä resistenttiin tyyppiin, jolla on hankittuja, vastustuskykyä lisääviä geneettisiä ominaisuuksia.

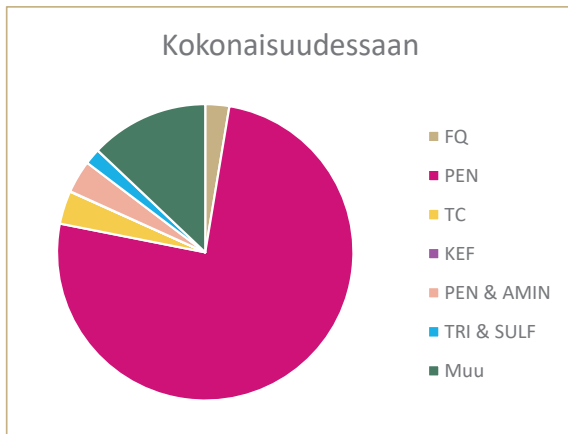
Viiden *E. coli* -bakteerikannan, joilla oli yhtenevät resistenssiprofiilit, DNA eristettiin ja kokogenomisekvensoitiin. Kyseiset *E. coli* -kannat oli eristetty fluorokinolonilla lääkityn naudan sonnasta, erilliskarsinasta, kuivikelannasta sekä mädätysprosessin syötteestä ja lopputuotteesta. Sekvenssianalyysin avulla määritettiin tutkituilla *E. coli* -kannoilla esiintyvät resistenssigeenit, fluorokinoloniresistenssiä aiheuttavat pistemutaatiot, plasmidit ja MLST-tyyppi (Multi Locus Sequence Type).

5 Tulokset ja tulosten tarkastelu

5.1 Tilamittakaava

5.1.1 Tilalla käytetyt mikrobilääkkeet ja tehdyt hoitotoimenpiteet

Tarkastelujakson 6.5.2010–3.12.2016 aikana tutkimustilalla käytettiin eniten penisilliinejä sisältäviä mikrobilääkkeitä (79,1 %, 5 258 lääkkeen antopäivää). Käytetyistä penisilliinilääkkeistä 98,3 % sisälsi kapeakirjoista bentsyylipenisilliiniä, 1,3 % penisillinaasia kestävää kloksasilliiniä ja 0,4 % laajakirjoista ampisilliiniä. Kaikista lääkkeiden antokerroista 3,6 % sisälsi tetrasykliinejä ja 2,6 % fluorokinoloneja. Kolmannen polven kefalosporiineja ei käytetty tarkastelujakson aikana. Niitä oli kuitenkin käytetty tilalla ennen tarkastelujakson alkua. Tilalla tarkastelujakson aikana käytettyjen mikrobilääkkeiden suhteelliset osuudet on esitetty kuvassa 7.



Kuva 7. Tutkimustilalla mikrobilääkkeiden* ja muiden lääkevalmisteiden käyttö (lääkkeiden arvioituna määränä, annoskokoa ei huomioitu) kokonaisuudessaan tarkastelujaksolla 6.5.2010–3.12.2016.

*FQ=fluorokinolinit, PEN=penisilliinit, TC=tetrasykliinit, PEN&AMIN=penisilliiniä ja aminoglykosidiä sisältävä, KEF=kefalosporiinit (I. polven), TRI&SULF=trimetopriimiä ja sulfonamidia sisältävä, Muu=muut kuin mikrobilääkkeet.

Mikrobilääkkeitä vaatineita hoitotapauksia oli yhteensä 1 026. Osa hoitotapauksista oli toimenpiteitä eikä varsinaisia sairaustapauksia, kuten pötsifistelöinti ja umpeenpanohoito. Yleisimmät mikrobilääkkeitä vaativat hoidontarpeet olivat äkillinen kliininen utaretulehdus (41,1 %, 422 tapausta), umpeenpanohoito (28,6 %, 293), napatulehdus (5,3 %, 54) ja pötsifistelöinti (4,6 %, 47). Yhdelle lehmälle ei ole kirjattu mikrobilääkkeiden käytön syytä. Kahdessa tapauksessa hoitajakson pituutta ei ilmoitettu.

5.1.2 Lääkityt eläimet: mikrobilääkejäämät ja -resistenssi

Mikrobilääkityistä naudoista otettiin sonta- ja maitonäytteitä neljänä eri ajankohtana sekä virtsanäytteitä ainakin yksi lääkittyä nautaa kohden jossain hoidon vaiheessa. Enrofloxasiinilla tai oksitetrasykliinillä lääkittyjen nautojen (9 kpl) enrofloxasiini- (ENR) ja siprofloxasiini- (CIP) sekä oksitetrasykliinipitoisuudet (OTC) sonnassa, virtsassa ja maidossa on esitetty taulukossa 13. Taulukossa enrofloxasiinin ja siprofloxasiinin pitoisuudet on esitetty yhdessä. Enrofloxasiinia erittyi kuitenkin suhteellisesti enemmän ulosteeseen ja siprofloxasiinia virtsaan.

Taulukko 13. Mikrobilääkepitoisuuksien vaihteluväli (min-max) nautojen sonnassa, virtsassa ja maidossa ennen hoidon aloittamista (0 vrk), 1 vrk ja 4 vrk hoidon aloittamisen jälkeen sekä lihan varoajan jälkeen (LVA). Suluissa on ilmoitettu näytteiden lukumäärä aikapisteittäin. Selitykset ENR= enrofloxasiini, CIP=siprofloxasiini, OTC=oksitetrasykliini, ww=märkääpainoa kohti. ND=tulos alle havaitsemisrajan, <X=tulos alle määrittämissä. *Yhdestä 0 vrk maitonäytteestä mitattiin korkea ENR+CIP -pitoisuus (3 900 µg/kg). On todennäköistä, että näyte on merkitty virheellisesti tai se on otettu hoidon aloittamisen jälkeen. Tämän vuoksi kyseistä tulosta ei ole ilmoitettu taulukossa.

	Enrofloxasiinilla lääkityt naudat			Oksitetrasykliinillä lääkityt naudat		
Näyte	ENR + CIP			OTC		
	Sonta (n = 7)	Virtsa (n = 2-3)	Maito (n = 7)	Sonta (n = 2)	Virtsa (n = 1)	Maito (n = 1-2)
	[µg/kg] ww	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg] ww	[µg/kg]	[µg/kg]
0 vrk	ND–110	ND	ND–470*	ND	32	ND
1 vrk	2 400–13 000	37 000–130 000	53–3 900	7 400–11 000	610 000	1 400–2 800
4 vrk	300–5 300	1 300–2 300	68–270	7 400–8 200	-	1 400
LVA	ND–43	< 3–66	ND	22	210	< 33

Enrofloxasiinilla lääkittyjen nautojen sontra- ja virtsanäytteistä todettiin korkeimmat pitoisuudet enrofloxasiinia (ENR) ja sen hajoamistuotetta siprofloxasiinia (CIP) yksi vuorokausi mikrobilääkehoidon aloittamisen jälkeen. Sonnassa enrofloxasiinin ja siprofloxasiinin yhteispitoisuus oli korkeimmillaan noin 13 000 µg/kg (märkääpainoa kohti) ja vastaavasti virtsassa kymmenen kertaa korkeampi 130 000 µg/kg. Liha varoajan jälkeen pitoisuudet olivat jo häviävän pieniä: virtsassa enrofloxasiinin ja siprofloxasiinin yhteispitoisuus oli enimmillään 66 µg/kg; sonnasta niitä ei enää todettu. Maidossa yhteispitoisuus oli korkein 1 vrk kohdalla, 3 900 µg/kg. Liha varoajan jälkeen otetuissa maitonäytteissä sen sijaan ei havaittu enro- ja siprofloxasiinijäämiä.

Oksitetrasykliinillä lääkittyjen nautojen sonnassa korkeimmat oksitetrasykliinipitoisuudet (OTC) mitattiin niin ikään 1 vrk hoidon aloittamisen jälkeen 11 000 µg/kg. Myös virtsanäytteissä korkein mitattu oksitetrasykliinipitoisuus oli vuorokausi hoidon aloittamisen jälkeen otetussa näytteessä, noin 610 000 µg/kg. Maitonäytteissä korkein mitattu pitoisuus oli 2 800 µg/kg vuorokausi hoidon aloittamisen jälkeen otetussa näytteessä. Oksitetrasykliinipitoisuudet olivat matalampia kuin De Liguoron ym. (2003) tutkimuksessa, jossa oksitetrasykliinillä lääkittyjen vasikoiden sonnasta mitattiin heti kuurin jälkeen 871 700 µg/kg ja kuivikkeista 366 820 µg/kg.

Tutkituista naudoista 5/9 eritti hoitoon käytetylle mikrobilääkkeelle resistenttejä *E. coli* -bakteereita sonnaan jossain hoidon vaiheessa; fluorokinolonilääkityistä 4/7 ja tetrasykliinilääkityistä 1/2 (Taulukko 14).

Taulukko 14. Resistentit *E. coli* -bakteerit fluorokinoloni- ja tetrasykliinilääkittyjen nautojen sonnassa ja maidossa ennen hoidon aloittamista (0 vrk), 1 vr, 4 vrk hoidon aloittamisen jälkeen sekä lihan varoajan jälkeen (LVA).

Enrofloxasiinilla lääkityt naudat (n = 7)					Oksitetrasykliinillä lääkityt naudat (n = 2)			
Näyte	Sonta		Maito		Sonta		Maito	
	<i>E. Coli</i> MPN/g (min-max)	CIP-R % (min-max)	<i>E. coli</i> todettu / 25 ml	CIP-R <i>E. coli</i> todettu / 25 ml	<i>E. coli</i> MPN/g (min-max)	TCY-R % (min-max)	<i>E. coli</i> todettu / 25 ml	TCY-R <i>E. coli</i> todettu / 25 ml
0 vrk	42–430 000	0–1	2/7	0/7	930 000–11 000 000	0–0,2	1/2	½
1 vrk	0–2,3	0–100	0/7	0/7	1 500 000–11 000 000	0–0,3	0/2	0/2
4 vrk	0–92	0–100	3/7	0/7	todettu–42 000	0	0/2	0/2
LVA	0,36–4 300	0–0,1	5/7	1/7	2 300*	0*	0/1	0/1

LVA = lihan varoajan jälkeinen näyte; MPN = todennäköisin pesäkelukumäärä; R = resistentti.

ENR = enrofloxasiini; CIP = siprofloksasiini; OTC = oksitetrasykliini; TCY = tetrasykliini.

* toinen tutkituista tetrasykliinillä lääkityistä naudoista lopetettiin ennen varoajan näytteen ottamista.

Fluorokinolonilla lääkityillä naudoilla resistenttien *E. coli* -bakteerien eritysvaihtelu hoidon eri vaiheissa ja eri eläinten välillä. Kaksi seitsemästä fluorokinolonilla lääkitystä naudasta alkoi erittää siprofloksasiinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita hoidon aikana ja toisella niitä todettiin vielä lihan varoajan jälkeen otetusta näytteestäkin. Oksitetrasykliinillä lääkityistä naudoista toinen lopetettiin ennen lihan varoajan jälkeisen näytteen ottamista, jolloin tetrasykliinille resistenttien *E. coli* -bakteerien pidempiaikaisesta erittymisestä ei saatu tietoa kyseiseltä naudalta. Toisen oksitetrasykliinillä lääkityn naudan ulosteista taas ei todettu tetrasykliinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita yhdestäkään näytteestä.

Kaikkiaan siprofloksasiinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita todettiin siprofloksasiiniresistenttejä valikoivilla maljoilla 25 %:ssa tutkituista enrofloxasiinilla lääkittyjen nautojen sontanäytteistä (n = 28). Niiden todennäköisin suhteellinen osuus yksittäisissä näytteissä vaihteli välillä 0,1–100 %. Toisaalta silloinkin, kun resistenttien *E. coli* -bakteerien todennäköisin suhteellinen osuus oli 100 %, niiden todennäköisin lukumäärä yksittäisessä näytteessä oli pieni (2,3–9,2 MPN/g). Oksitetrasykliinillä lääkityiltä naudoilta todettiin tetrasykliinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita tetrasykliiniresistenttejä valikoivilla maljoilla kaikkiaan 3/7 tutkitusta sontanäytteestä. Niiden todennäköisin suhteellinen osuus oli kuitenkin pieni, vain 0,2–0,3 %, ja todennäköisin *E. coli* -bakteerimäärä vaihteli välillä 1 500–4 200 MPN/g.

Vain kahdessa 35 tutkitusta mikrobilääkittyjen nautojen maitonäytteistä todettiin hoitoon käytetylle mikrobilääkkeelle resistenttejä *E. coli* -bakteereita. Toinen oli fluorokinolonilääkityltä naudalta lihan varoajan jälkeen otettu näyte ja toinen tetrasykliinilääkityltä naudalta ennen hoidon aloittamista otettu näyte.

Fluorokinolonilääkittyjen nautojen sonta- ja maitonäytteistä eristettiin valikoivilla maljoilla kaikkiaan 33 siprofloksasiinille resistenttiä *E. coli* -bakteerikantaa. Suurin osa (27/33) eristetyistä *E. coli* -kannoista oli resistenttejä siprofloksasiinin lisäksi nalidiksiinihapolle (CIP-NAL), mikä viittaa resistenssin kehittyneen kromosomaalisen pistemutaation seurauksena. Viiden *E. coli* -bakteerikannan herkkyys siprofloksasiinille oli vain vähän alentunut (MIC 0,12 µg/ml), eivätkä ne olleet resistenttejä muille tutkituille mikrobilääkkeille. Tetrasykliinillä lääkittyjen nautojen sonta- ja

maitonäytteistä eristettiin valikoivilla maljoilla kaikkiaan 20 tetrasykliinille resistenttiä *E. coli* -kantaa, joista 18 oli resistenttejä lisäksi ampisilliinille (AMP-TCY) ja kaksi myös trimetopriimille (AMP-TCY-TRI).

Fluorokinolonilla lääkityiltä nautoilta *C. jejuni* -bakteereita todettiin kahdesta, ennen mikrobilääkehoidon aloittamista otetusta sontanäytteestä (n = 26), mutta ei yhdestäkään maitonäytteestä (n = 26). Sontanäytteistä eristettiin ei-valikoivilla maljoilla yhteensä yhdeksän *C. jejuni* -kantaa, jotka olivat herkkiä kaikille testatuille mikrobilääkkeille. *C. jejuni* -bakteerit tutkittiin vain toisen oksitetrasykliinillä lääkityn naudan sonta- ja maitonäytteistä (molemmat n = 3). *C. jejuni* -bakteereita todettiin ennen mikrobilääkehoidon aloitusta otetusta sontanäytteestä. Näytteestä eristettiin ei-valikoivilla maljoilla yhteensä viisi *C. jejuni* -kantaa, jotka olivat herkkiä kaikille testatuille mikrobilääkkeille.

Tutkittujen nautojen sonnessa *E. coli* -pitoisuus vaihteli huomattavasti jo ennen mikrobilääkehoidon aloittamista, välillä $4,2 \times 10^1$ – $1,1 \times 10^7$ MPN/g. Osa näytteistä jouduttiin kuitenkin tutkimaan pakastamisen jälkeen, mikä osaltaan selittää vaihtelua, sillä pakastamisen on todettu alentavan sonnan *E. coli* -pitoisuutta noin kahdella kymmenkertaisella logaritmiyksiköllä. Toisaalta myös yhdessä tuoreena tutkituista sontanäytteistä todettiin *E. coli* -bakteeria vain 420 MPN/g, joten näytteiden erilainen käsittely ja pakastaminen ei yksin selitä sonnan *E. coli* -pitoisuuden vaihtelua. Resistenttien bakteerien osuuteen pakastamisella ei sen sijaan tiedetä olevan vaikutusta.

Maitonäytteet pyrittiin ottamaan välttämällä ympäristöstä tulevaa kontaminaatiota. Ei voida kuitenkaan sulkea pois mahdollisuutta, että maidon *E. coli* -bakteerit olivat peräisin vetimen ulkopinnalla olleesta sonnasta eivätkä maidosta.

Lisäksi mikrobilääkejäämä- ja resistenssituloksia tarkasteltaessa on huomioitava, että lääkeannoksen koko ja hoitopäivien lukumäärä vaihtelivat eläimillä. Enrofloksasiinia annettiin 2–4 vuorokautta ja oksitetrasykliiniä neljä tai viisi vuorokautta. Näytteenotto aloitettiin kaikilla juuri ennen hoidon aloittamista. Näin ollen 4 vrk -näytteen ottamisen aikana joidenkin nautojen lääkekuuri on jo päättynyt, mutta toisilla se jatkui vielä.

5.1.3 Navetta: mikrobilääkeresistenssi

Navetassa todettiin joko siprofloksasiinille, tetrasykliinille tai ampisilliinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita 17/19 otetuista näytteistä, mutta niiden suhteelliset osuudet olivat yleisesti hyvin pieniä (< 1 %) (Taulukko 15).

Taulukko 15. Navetasta todettujen *E. coli* -bakteerien kokonaismäärä sekä siprofloksasiinille, tetrasykliinille, kefotaksiimille ja ampisilliinille resistenttien suhteelliset osuudet.

Näytteet	<i>n</i>	kok. <i>E. coli</i> pmy/g	CIP ^a -R %	TCY ^b -R %	CTX ^c -R %	AMP ^d -R %
Pihatto	12	1,1 x 10 ⁵ –2,8 x 10 ⁷	0,0–0,006	0,001–1,9	0,0*	0,001–0,5**
Erilliskarsinat	5	4,0 x 10 ³ –1,2 x 10 ⁹	0,0–0,025	0,0–3,9	0,0*	0,08–0,2**
Jaloittelutarha	2	3,4 x 10 ⁵ –1,3 x 10 ⁶	0,0–todettu	0,0	0,0	ei tehty

CIP = siprofloksiini; TCY = tetrasykliini; CTX = kefotaksiimi; AMP = ampisilliini; NAL = nalidiksiinihappo;

SU = sulfametoksatsoli; TRI = trimetopriimi; pmy = pesäkelukumäärä; R = resistentti.

a alustalla siprofloksasiinia 0,06 µg/ml (*E. coli* ECOFF vuonna 2016).

b alustalla tetrasykliiniä 8,0 µg/ml (*E. coli* ECOFF vuonna 2016).

c alustalla kefotaksiimia 1,0 µg/ml (EUCAST, humaanipuolen seulontaraja 2016).

d alustalla ampisilliinia 8,0 µg/ml (*E. coli* ECOFF vuonna 2016).

*n = 6, kefotaksiimille resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus tutkittiin vain kuudesta pihattonäytteestä.

**n = 6, ampisilliinille resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus tutkittiin vain kuudesta pihattonäytteestä.

Ainoastaan kahdesta erilliskarsinanäytteestä ei todettu yhdellekään tutkitulle mikrobilääkkeelle resistenttejä *E. coli* -bakteereita. Siprofloksasiinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita todettiin 10/19 navettanäytteestä, tetrasykliinille resistenttejä 16/19 navettanäytteestä ja ampisilliinille resistenttejä kaikista kahdeksasta navettanäytteestä, joista ne määritettiin valikoivilla maljoilla. Korkeimmillaan resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus oli yhdessä sairaskarsinoista, 3,9 %. Pihatossa, jossa suurin osa naudoista oli, resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus oli enimmillään 1,9 %.

Navetan lattioilta valikoivilla ja ei-valikoivilla agarmaljoilla eristetyillä *E. coli* -bakteereilla todettiin herkkyysmääryksissä resistenssiä siprofloksasiinin, tetrasykliinin ja ampisilliinin lisäksi sulfametoksatsolille (SU), nalidiksiinihapolle (NAL) ja trimetopriimille (TRI), ja ne edustivat kuutta eri resistenssiprofiilia. Resistenssiä meropenemille, atsitromysiinille, kefotaksiimille, kloramfenikolille, tigesykliinille, keftatsidiimille ja gentamisiinille ei todettu.

C. jejuni -bakteereita todettiin kaikista pihatto-osasta otetuista näytteistä sekä toisesta jaloittelutarhasta otetusta näytteestä. Kaikki *C. jejuni* -kannat eristettiin mikrobilääkettä sisältämättömillä ei-valikoivilla maljoilla. Jaloittelutarhasta eristetyillä *C. jejuni* -bakteereilla todettiin herkkyysmääryksissä resistenssiä kinoloneille (siprofloksasiini ja nalidiksiinihappo). Muut eristetyt *C. jejuni* -bakteerikannat olivat herkkiä kaikille tutkituille mikrobilääkkeille eli siprofloksasiinille, nalidiksiinihapolle, streptomysiinille, gentamisiinille tetrasykliinille ja erytromysiinille.

5.1.4 Lantalat: mikrobilääkejäämät ja -resistenssi

Lantavarastoista otetuista lietelanta- ja kuivikelantanäytteistä todettiin tilalla käytettyjen mikrobilääkkeiden jäämiä sekä niille resistenttejä *E. coli* -bakteereita, mutta pitoisuudet ja määrät olivat hyvin pieniä (Taulukko 16).

Taulukko 16. Liete- ja kuivikelantaloista otettujen näytteiden fluorokinoloni- (ENR+CIP) ja oksitetrasyklinipitoisuudet sekä niille resistenttien *E. coli* -bakteerien suhteelliset osuudet.

Näyte	n	AB-pitoisuus [µg/kg] ww min-max		Resistenttien <i>E. coli</i> -bakteerien suhteellinen osuus [%]				Kokonais <i>E. coli</i> [pmy/g]
		ENR + CIP	OTC	CIP ^a -R %	TCY ^b -R %	CTX ^c -R %	AMP ^d -R %	
Lietelanta	4	< 3	4–7	0,0–0,3	0,0–todettu	0,0*	ei tehty	8 200–120 000
Kuivikelanta	4	ND-137	31–91	0,0–0,03	0,0–2,7	0,0*	3,0**	330 000–860 000

AB = antibiootti; ww = märkápainoa kohti; R = resistentti; pmy = pesäkeä muodostavaa yksikköä.

ENR = enrofloxasiini; CIP = siprofloxasiini; OTC = oksitetrasykliini; TCY = tetrasykliini; CTX = kefotaksiimi;

AMP = ampisilliini

a alustalla siprofloxasiinia 0,06 µg/ml (*E. coli* ECOFF vuonna 2016).

b alustalla tetrasykliiniä 8,0 µg/ml (*E. coli* ECOFF vuonna 2016).

c alustalla kefotaksiimia 1,0 µg/ml (EUCAST, humanipuolen seulontaraja 2016).

d alustalla ampisilliinia 8,0 µg/ml (*E. coli* ECOFF vuonna 2016).

*n = 3

**n = 1

Oksitetrasykliiniä (OTC) todettiin kaikista tutkituista liete- ja kuivikelantanäytteistä, mutta mitatut pitoisuudet olivat kuivikelantanäytteissä reilusti korkeampia kuin lietelantanäytteissä. Lietelannassa enrofloxasiinin ja siprofloxasiinin pitoisuudet märkápainoa kohti olivat joko alle määritysrajan tai niitä ei todettu. Sama tulos oli kuivikelannalla, paitsi yhdessä näytteessä, jossa enrofloxasiinia ja siprofloxasiinia mitattiin yhteensä 137 µg/kg märkápainoa kohti.

Molemmista lantaloista todettiin sekä tetrasyklinille (TCY), siprofloxasiinille (CIP) että ampisilliinille (AMP) resistenttejä *E. coli* -bakteereita. Kefotaksiimille (CTX) resistenttejä *E. coli* -bakteereita ei todettu. Kaikista lietelantanäytteistä ja 3/4 kuivikelantanäytteistä todettiin jollekin tutkitulle mikrobilääkkeelle resistenttejä *E. coli* -bakteereita. Osalla näytteistä tulokset on ilmoitettu kvalitatiivisina (todettu), koska menetelmäkehitys oli ensimmäisiä näytteitä otettaessa vielä kesken.

Vaikka 7/8 tutkituista lantanäytteissä esiintyi jollekin testatulle mikrobilääkkeelle resistenttejä *E. coli* -bakteereita, niiden suhteelliset osuudet olivat kuitenkin hyvin pieniä; lietelantanäytteissä resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus oli korkeimmillaan 0,3 % ja kuivikelantanäytteissä noin 3 %. Siprofloxasiinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita todettiin 4/7 ja tetrasyklinille resistenttejä 5/7 tutkituista lantanäytteistä. Ampisilliinille resistentit *E. coli* -bakteerit eristettiin ainoastaan yhdestä kuivikelantanäytteestä, jossa niitä todettiin noin 3 %.

C. jejuni -bakteereita todettiin kaikista neljästä tutkitusta lietelantanäytteestä, mutta ei kolmesta tutkitusta kuivikelantanäytteestä. Lietelantanäytteistä eristetyistä 17 *C. jejuni* -kannasta yksi oli resistentti siprofloxasiinille ja nalidiksiinihapolle muiden ollessa herkkiä kaikille testatuille mikrobilääkkeille.

Lantanäytteiden mikrobilääkejäämä- ja -resistenssituloksia tarkastellessa on huomioitava, että lietelanta on pääosin peräisin lääkitemättömistä eläimistä. Lisäksi lietelantalaan johdetaan muun muassa lypsylaitteiston pesuvedet, mikä laimentaa edelleen mikrobilääkejäämiä. Toisaalta lääkittyjen lehmien maito johdetaan lietelantaan. Kuivikelanta taas muodostuu erilliskarsinoista, joihin on erotettu sairast eläimet, poikivat lehmät sekä vasikat. Kuivikelantaa muodostuu

lietelantaa paljon vähemmän, koska karsinoiden eläinmäärä on pienempi. Se ei myöskään laimene pesuvesillä, kuten lietelanta, joten siellä on korkeammat mikrobilääkejäämäpitoisuudet. Kuivikkeet ainoastaan tarttuvat sonnan ulkopinnalle, mutta eivät varsinaisesti laimenna sitä. Sairaiden eläinten karsinoista otetuissa kuivikelantanäytteissä mikrobilääkepitoisuudet voisivat teoriassa olla lähes yhtä korkeita kuin mikrobilääkittävän eläimen sonnassa. Näin ollen kuivikelannan mikrobilääkejäämäpitoisuuksissa voi olla huomattavaa paikallista vaihtelua ja edustava näytteenotto on vaikeaa.

5.1.5 Resistenssiprofiilit

Navetasta, lantaloista ja lääkityiltä naudoilta eristetyillä *E. coli* -bakteereilla todettiin ampisilliini-, siprofloksasiini- ja tetrasykliiniresistenssin lisäksi resistenssiä myös sulfametoksatsolille, trimetopriimille ja nalidiksiinihapolle. Kaikkiaan tutkimustilalta eristetyillä *E. coli* -bakteereilla esiintyi 11 eri resistenssiprofiilia (Taulukko 17). Taulukossa on esitetty myös prosessoidusta lannasta todettujen *E. coli* -bakteerien resistenssiprofiilit. Lannan prosessointikokeiden muut tulokset esitetään osiossa 5.2.2.

Tutkimuksessa todettiin yksi moniresistentti fenotyyppi, jota esiintyi sekä yhdessä lääkityssä eläimessä että navetassa ja lantalassa (AMP-CIP-TCY-TRI). Kyseisen fenotyypin resistenssiprofiili viittasi plasmidivälitteiseen kinoloniresistenssimekanismiin (CIP-R, NAL-S), joten resistenssimekanismin varmistamiseksi ja kannan tai resistenssitekijän mahdollisen leviämisen selvittämiseksi neljä bakteerieristystä tutkittiin tarkemmin kokogenomisekvensoinnin avulla. Sekvenssianalysissa bakteerieristysten todettiin edustavan samaa MLST-tyyppiä ja kantavan plasmidivälitteistä kinoloniresistenssiä koodaavaa *qnr*-geeniä.

Taulukko 17. Lääkittyjen nautojen sonnasta ja maidosta, navetasta, lantaloista ja laboratoriokokeen mädätysjäännöksistä eristetyillä *E. coli* -bakteereilla todetut resistenssiprofiilit

Resistenssiprofiili	Lääkityt naudat	Navetta	Lantalat	Prosessoitu lanta
AMP	X	X	X	
CIP	X			
TCY		X		
AMP-TCY	X	X	X	X
SU-TCY		X	X	X
CIP-NAL	X	X	X	
AMP-CIP-TCY				X
AMP-SU-TCY			X	
AMP-TCY-TRI	X			
SU-TCY-TRI			X	
AMP-CIP-TCY-TRI	X	X	X	X

AMP=ampisilliini, CIP=siprofloksasiini, NAL=nalidiksiinihapo, SU=sulfametoksatsoli, TCY=tetrasykliini, TRI=trimetopriimi

5.1.6 Yhteenveto: tutkimustilan mikrobilääkeresistenssi ja -jäämätilanne

Tutkimustila oli keskimääräistä suomalaista tilaa suurempi lypsykarjapihatto, mutta kuitenkin kokoluokkaa, joka yleistyy maitotilojen laajentuessa. Siellä muodostuvasta lietelannasta mitattiin hyvin pieniä pitoisuuksia tilalla käytettyjä oksitetrasykliiniä ja fluorokinoloneja; mitatut pitoisuudet olivat korkeintaan 7 µg/kg tai jäivät määritysrajan alapuolelle. Kuivikelannasta taas mitattiin korkeampia pitoisuuksia tutkittuja mikrobilääkkeitä, enimmillään 137 µg/kg enrofloksasiinia ja siprofloksasiinia yhteensä. Lietelannasta mitattuja matalampia mikrobilääkepitoisuuksia selittää sen sekoittuminen ja laimentuminen pesuvesillä. Lisäksi on huomattava, että tutkimustilalla

ylivoimaisesti eniten käytetty mikrobilääkeryhmä oli penisilliinit (80 % lääkkeen antokerroista), kun taas tetrasykliinejä (3,6 %) ja fluorokinoloneja (2,6 %) käytettiin huomattavasti vähemmän. Näin ollen penisilliinipitoisuudet lannassa voivat olla korkeampia kuin oksitetrasykliini- ja fluorokinolonipitoisuudet, mutta niitä ei tässä tutkimuksessa mitattu.

Suomessa Ruuskanen ym. (2016) tutkivat mm. bentsyylipenisilliini ja tetrasykliinijäämiä kahden suomalaisen nauta- ja kahden sikatilan lietalannasta, eivätkä he todenneet niitä. Tutkimustulosten erojen syynä voivat olla mm. tutkimustilojen väliset erot mikrobilääkkeiden käyttömäärissä, erot käytetyissä tutkimusmenetelmissä sekä erot lantojen varastointiajoissa ennen näytteenottoa. Muualla maailmassa Kiinassa on mitattu lihakarjan lietalannasta keskimäärin 6 790 µg/kg enrofloxasiinia, 3 440 µg/kg siprofloxasiinia ja 1 240 µg/kg oksitetrasykliiniä (geometrisen keskiarvo) (Zhao ym., 2010). Espanjassa taas lihakarjan ja maitokarjan kuivikelannasta on mitattu keskimäärin 5 390 µg/kg oksitetrasykliiniä (Carballo ym., 2013).

Valtaosassa tutkimustilan karjasuojasta otetuissa näytteissä (17/19) ja lantaloista otetuissa näytteissä (7/8) todettiin siprofloxasiinille, tetrasykliinille tai ampisilliinille resistenttejä *E. coli* -bakteereita. Kefotaksiimille resistenttejä *E. coli* -bakteereita ei todettu. Resistenttien *E. coli* -bakteerien suhteellinen osuus yksittäisissä näytteissä oli kuitenkin hyvin alhainen: lantaloissa korkeintaan 3,0 % ja navetan ympäristönäytteissä korkeintaan 3,9 %. Myös eläimissä resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus oli lääkintäjakson ulkopuolella (0 vrk ja varoajan jälkeen) enimmillään 1 %. Resistenttien *E. coli* -bakteerien osuudet pysyivät siis suunnilleen samalla tasolla lannankäsittelyketjun eri vaiheissa.

Resistentit *E. coli* -bakteerikannat vaikuttivat kulkeutuvan tutkimustilan lannankäsittelyketjussa. Yhdestä lääkitystä naudasta, yhdestä sairaskarsinanäytteestä, kahdesta vuoden välein otetusta kuivikelantanäytteestä sekä jatkuvatoimisen mädätyskokeen lantasyötteestä ja mädätysjäännöksestä eristettiin samaa resistenssiprofiilia ja MLST-tyyppiä edustavat moniresistentit *E. coli* -isolaatit, joilta todettiin plasmidivälitteinen kinoloniresistenssigeeni. Plasmidivälitteinen resistenssi voi siirtyä helposti bakteerien välillä ja levitä tilalla.

Hyvin matalien oksitetrasykliini- ja siprofloxasiinipitoisuuksien on todettu valikoivan resistenssiä. Gullberg ym. (2011) totesivat siprofloxasiinin valikoivan resistenttejä *E. coli* -kantoja 0,1 µg/l pitoisuudella. Pintaveden oksitetrasykliinijäämien taas todettiin valikoivan tetrasykliiniresistenssigeenejä 20 µg/l pitoisuudella (Knapp, 2008). Koska tutkimustilan kuivikelannassa todettiin fluorokinolonijäämiä (enro- + siprofloxasiini) korkeimmillaan 137 µg/kg, on mahdollista, että ainakin kuivikelannan fluorokinolonijäämät ovat voineet valikoida resistenssiä. Myös kuivikelannan oksitetrasykliinijäämät - korkein todettu pitoisuus 91 µg/kg - ovat todennäköisesti suosineet tetrasykliiniresistenssiä välittävien geenien valikoitumista. Nestefaasissa tehdyissä kokeissa kuitenkin kaikki mikrobilääke on bakteereille biologisesti saatavassa muodossa, kun taas lannassa suurin osa enro- ja siprofloxasiinista sekä tetrasykliinistä osa on sitoutuneena orgaaniseen ainekseen tai mineraaleihin (Gagliano & McNamara, 1998; Thiele-Bruhn, 2003; Sarmah ym., 2006). Tällöin ne eivät myöskään ole täysin bakteereille saatavilla, minkä vuoksi nestefaasissa tehtyjen kokeiden tulokset eivät välttämättä ole suoraan sovellettavissa mikrobilääkejäämiin lannassa ja maa-aineksessa.

Suomessa FINRES-Vet-seurantaohjelmassa naudoista eristetyillä *E. coli* -bakteereilla on esiintynyt resistenssiä samoille mikrobilääkkeille kuin tutkimustilalla (ks. Kuva 1, s. 14). Osaa tässä tutkimuksessa todetuista resistenssiprofiileista ei kuitenkaan ole tullut ilmi FINRES-Vet-

seurantaohjelmassa (AMP-CIP-TCY-TRI, SU-TCY-TRI, AMP-TCY-TRI, AMP-CIP-TCY). Syynä saattaa olla se, ettei seurantaohjelmassa käytetä valikoivia maljoja, jotka tuovat herkemmin esille resistentit *E. coli* -kannat.

Tilalta eristetyillä kampylobakteereilla todettiin resistenssiä siprofloksasiinille ja nalidiksiinihapolle, joiden resistenssi on ollut nousussa myös FINRES-Vet-seurantaohjelmassa naudoilta eristetyillä kampylobakteereilla (ks. Kuva 2, s. 15).

Muilta osin tämän tutkimuksen tuloksia ei voi suoraan verrata nautojen FINRES-Vet-tuloksiin, sillä seurantaohjelman on tarkoitus kuvata tilatason sijaan koko maan resistenssitilannetta.

5.2 Simuloitu lantaketju: lannan prosessoinnit

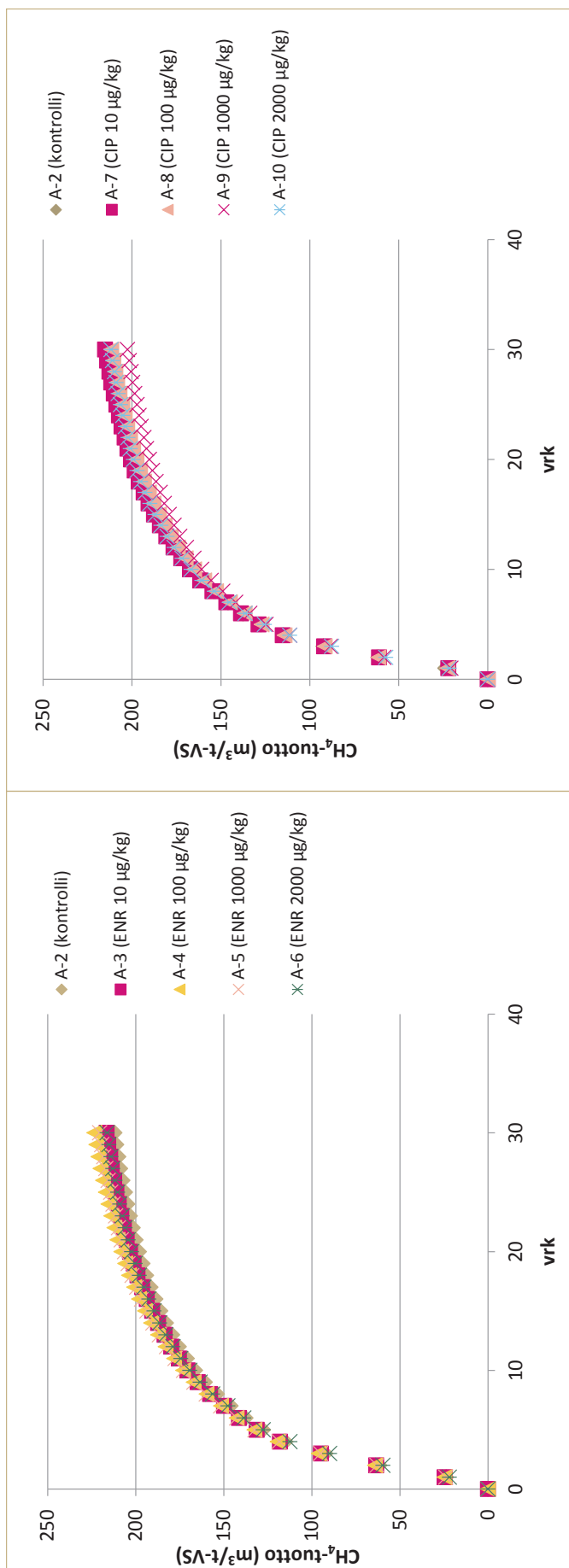
5.2.1 Mikrobilääkkeiden vaikutus metaanintuottopotentialiin – panoskokeet

Panoskokeessa A mikrobilääkkeiden pitoisuutta ei mitattu kokeen alussa, siten pitoisuuden vähenemä perustuu laskennalliseen alkupitoisuuteen. Enrofloksasiinin pitoisuus väheni 30–40 %, siprofloksasiinin 60–70 % ja oksitetrazykliinin noin 50 % (Taulukko 18). Joissakin koejäsenissä pitoisuus oli kokeen lopussa suurempi kuin teoreettisesti, mikä saattaa johtua epähomogeenisesta näytteestä tai kokeen alussa tapahtuneesta annosteluvirheestä. Enrofloksasiini ei muuntunut siprofloksasiiniksi kokeen aikana. Tulosten perusteella antibiootit eivät vaikuttaneet toistensa poistumiseen.

Ensimmäisessä koejaksossa (A) ei havaittu metaanintuoton alentumista tai hidastumista millään tutkitulla lääkepitoisuudella ja/tai -yhdistelmällä (Kuva 8; Taulukko 18). Panosreaktorit ilman lääkeainelisyästä tuottivat lietelannasta 212 m³ metaania lisättyä orgaanista ainetta kohti (m³CH₄/tVS), kun lääkeaineita sisältäneissä panosreaktoreissa metaanintuotto oli välillä 202–243 m³CH₄/tVS.

Taulukko 18. Mikrobilääkejäämien pitoisuudet ($\mu\text{g/kg}$), vähenemä (%) sekä lietelannan kumulatiiviset metaanintuotot (30 vrk) kokeessa A eri mikrobilääkekäsittelyillä (ENR = enrofloksasiini, CIP = siprofloksasiini, OTC = oksitetrasykliini). Mikrobilääkepitoisuus on laskettu märkäpainoa kohti ja metaanintuotto orgaanista kuiva-ainetta (VS) kohti. ($\pm$ = keskihajonta). * Teoreettinen alkupitoisuus. ** n=6

Koejäsen	ENR [$\mu\text{g/kg}$]			CIP [$\mu\text{g/kg}$]			OTC [$\mu\text{g/kg}$]			Metaanin tuotto
	aloitus *	lopetus (n=1)	vähennemä	aloitus *	lopetus (n=1)	vähennemä	aloitus *	lopetus (n=1)	vähennemä	CH_4 ($\text{m}^3/\text{t-VS}$) (n=3)
A1 (ympäri)										37 $\pm$ 1,0
A2 (lanta)										212 $\pm$ 1,3
A-3	10	5	-50 %							217 $\pm$ 9,7
A-4	100	49	-51 %							224 $\pm$ 4,5
A-5	1 000	611	-39 %							220 $\pm$ 2,2
A-6	2 000	1 870	-7 %							216 $\pm$ 1,7
A-7				10	5	-50 %				215 $\pm$ 2,0
A-8				100	40	-60 %				212 $\pm$ 2,1
A-9				1 000	375	-63 %				202 $\pm$ 2,3
A-10				2 000	669	-66 %				212 $\pm$ 1,7
A-11							100	157	+57 %	213 $\pm$ 0,9
A-12							1 000	381	-62 %	217 $\pm$ 5,6
A-13							3 000	3 270	+109 %	219 $\pm$ 2,3
A-14							10 000	4 410	-56 %	210 $\pm$ 1,7
A-15	100	57	-43 %	100	37	-63 %	1 000	936	-6 %	243 $\pm$ 2,3
A-16	1 000	724	-27 %	1 000	284	-72 %	3 000	1 520	-50 %	229 $\pm$ 14,3
A-17	100	58	-42 %	100	33	-67 %				243 $\pm$ 3,4
A-18	1 000	599	-40 %	1 000	296	-60 %				224 $\pm$ 13,0
A-19	100	56	-44 %	1 000	336	-66 %				224 $\pm$ 6,0
A-20	1 000	601	-60 %	100	30	-70 %				224 $\pm$ 5,7
A-21	100	67	-33 %				1 000	1 010	+7 %	220 $\pm$ 5,8 **
A-22	1 000	686	-31 %				3 000	1 290	-57 %	228 $\pm$ 9,7 **
A-23				1 000	272	-73%	3 000	1 640	-55 %	233 $\pm$ 9,7



Kuva 8. Lielatannan kumulatiiviset metaanintuotot (30 vrk) kokeessa A eri mikrobilääkekehäsitteilyillä (ENR = enrofloxasiini, CIP = siprofloksasiini, OTC = oksitetrasykliini) orgaanista kuiva-ainetta (VS) kohti laskettuna ($\pm$ = keskihajonta, $n=3$, paitsi A-21 ja A-22 $n=6$).

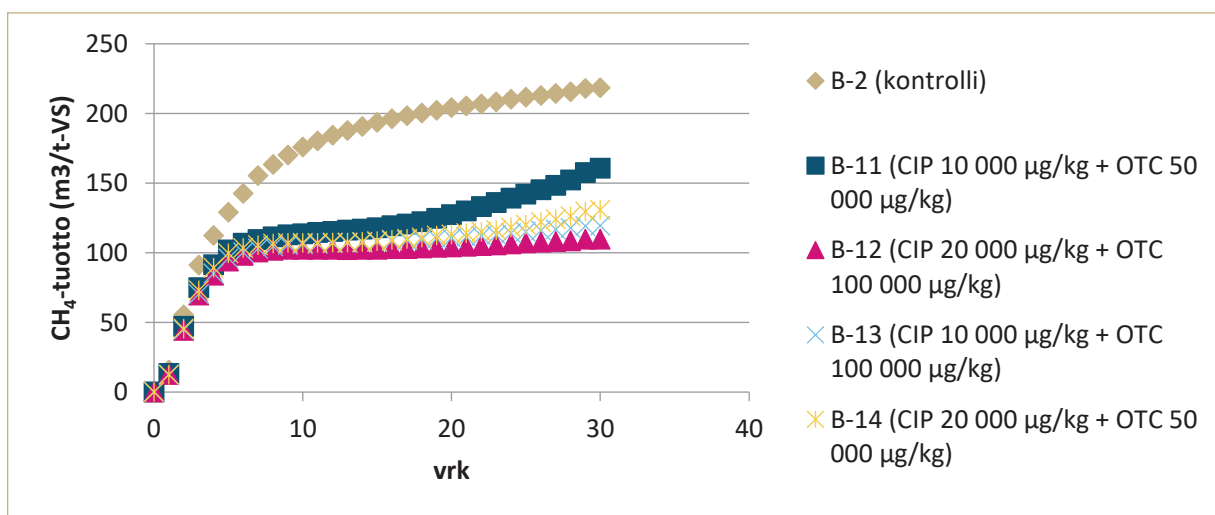
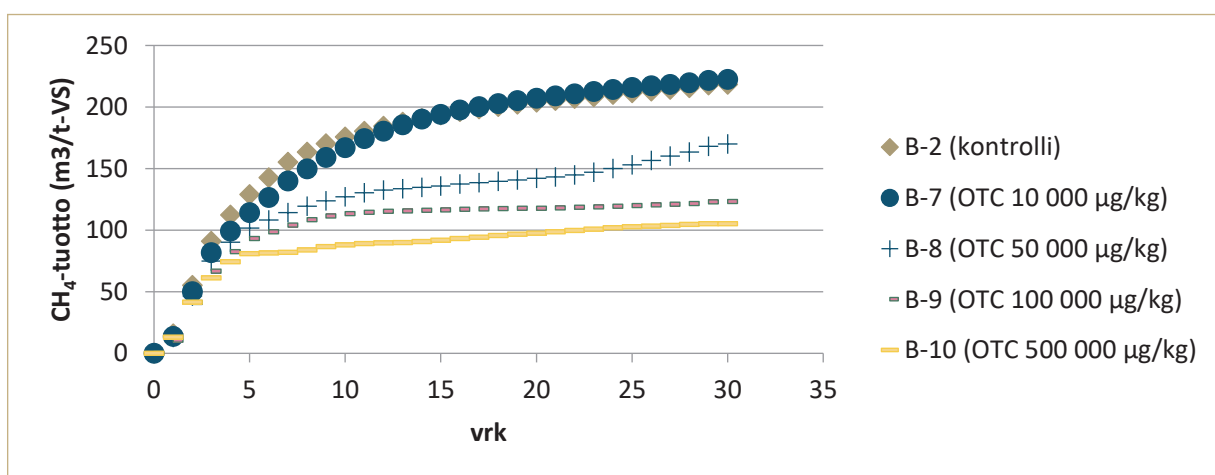
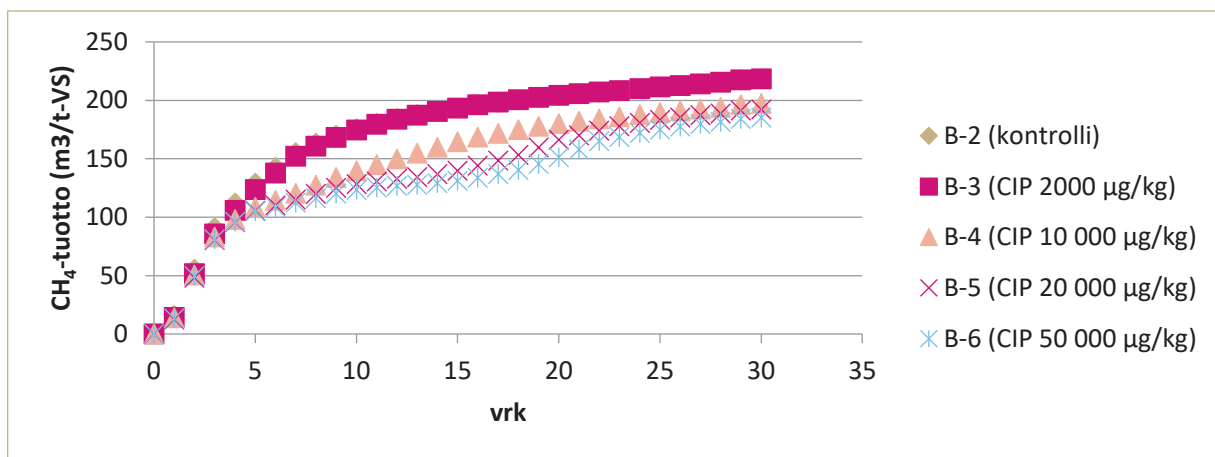
Koska tarkoituksena oli mahdollisen metaanintuoton inhibition lisäksi selvittää myös mikrobilääkkeiden pitoisuudet, joilla inhibitiota muodostuu, päätettiin koetta jatkaa toisella vastaavalla panoskokeella (B) käyttäen korkeampia mikrobilääkepitoisuuksia. Samalla päädyttiin jättämään enrofloxasiini pois koeasetelmasta, koska sen pääasiallinen hajoamistuote on siprofloxasiini.

Oksitetrasykliinin alkupitoisuus oli kaikissa koejäsenissä suurempi kuin suunniteltu (+12–45 %) (Taulukko 19). Pitoisuudella ei vaikuttanut olevan vaikutusta siprofloxasiinin vähenemiseen, joka oli myös tässä kokeessa 60–70 %. Oksitetrasykliinin pitoisuuden muutos oli hieman vähäisempää kuin kokeessa A, noin 40 %. Koeasetelmat eivät kuitenkaan ole aivan vertailukelpoisia, sillä panoskokeessa A vähenemä on laskettu teoreettisella alkupitoisuudella ja kokeesta B voitiin todeta suhteellisen suuri ero suunnitellun ja mitatun pitoisuuden välillä.

Kokeessa B mikrobilääkkeiden vaikutus metaanintuottonopeuteen oli nähtävissä jo kokeen alussa (Kuva 9). Mitä suurempi mikrobilääkeannostus oli, sitä vähemmän metaania muodostui. Lietelannan metaanipotentiali kontrollinäytteessä oli tässä kokeessa $218 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{tVS}$. Oksitetrasykliinin pitoisuudella $10\,000 \text{ } \mu\text{g/kg}$ ei havaittu vaikutusta metaanintuottoon, mutta seuraavaksi suuremmalla annoksella $50\,000 \text{ } \mu\text{g/kg}$ metaanintuotto heikkeni selvästi ($170 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{tVS}$). Inhiboiva raja käytetyillä ympillä ja lietelannalla oli siis jossain välillä $10\,000$ – $50\,000 \text{ } \mu\text{g/kg}$. Eniten lannan hajoamista inhiboi korkein oksitetrasykliinipitoisuus, $500\,000 \text{ } \mu\text{g/kg}$, jolla käsittely tuotti metaania $105 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{tVS}$, eli 48 % kontrollia vähemmän (Taulukko 19).

Taulukko 19. Mikrobilääkejäämien pitoisuudet ($\mu\text{g/kg}$), vähenemä (%) sekä lietelannan kumulatiiviset metaanintuotot (30 vrk) kokeessa B eri mikrobilääkekäsittelyillä (CIP = siprofloxasiini, OTC = oksitetrasykliini). Mikrobilääkepitoisuus on laskettu märkäpainoa kohti ja metaanintuotto orgaanista kuiva-ainetta (VS) kohti. ($\pm$ = keskihajonta)

Koejäsen	CIP [$\mu\text{g/kg}$]				OTC [$\mu\text{g/kg}$]				Metaanin tuotto $\text{CH}_4 \text{ (m}^3/\text{t-VS (n=3))}$
	suunniteltu	mitattu aloitus (n=1)	mitattu lopetus (n=1)	vähennemä	suunniteltu	mitattu aloitus (n=1)	mitattu lopetus (n=1)	vähennemä	
B-1 (ympä)									$31 \pm 1,4$
B-2 (lanta)									$218 \pm 8,8$
B-3	2 000	2 260	490	-78 %					$218 \pm 0,5$
B-4	10 000	9 690	2 840	-71 %					$197 \pm 2,0$
B-5	20 000	19 100	6 610	-65 %					$192 \pm 4,9$
B-6	50 000	47 000	18 100	-61 %					$185 \pm 2,5$
B-7					10 000	13 900	9 060	-35 %	$223 \pm 3,7$
B-8					50 000	69 400	38 900	-44 %	$170 \pm 12,5$
B-9					100 000	138 000	80 100	-42 %	$123 \pm 0,6$
B-10					500 000	726 000	433 000	-40 %	$105 \pm 1,9$
B-11	10 000	10 800	3 600	-67 %	50 000	67 000	39 000	-42 %	$161 \pm 6,2$
B-12	20 000	21 200	7 630	-64 %	100 000	112 000	72 900	-35 %	$110 \pm 4,6$
B-13	10 000	10 400	4 390	-58 %	100 000	127 000	91 100	-28 %	$119 \pm 5,5$
B-14	20 000	22 800	9 450	-59 %	50 000	65 200	44 500	-32 %	$131 \pm 3,3$



Kuva 9. Lietelannan kumulatiiviset metaanintuotot (30 vrk) kokeessa B eri mikrobilääkekäsittelyillä (CIP = siprofloksasiini, OTC = oksitetrasykliini; ensin suunniteltu pitoisuus, suluissa mitattu pitoisuus) orgaanista kuiva-ainetta (VS) kohti laskettuna ($\pm$ keskihajonta, $n=3$).

Kirjallisuuteen verrattuna OTC:n inhiboiva vaikutus alkoi kokeissa vasta hieman korkeammilla pitoisuuksilla. Esimerkiksi Arian ym. (2006) tutkimuksessa mikrobilääkittyjen nautojen lannalla tehdyssä panoskokeessa metaanintuoton selvä alenema, 27 % kontrollista, esiintyi jo OTC-pitoisuudella 9,8 mg/kg. Álvarez ym. (2010) mukaan metaanintuotto inhiboitui 56,5 % verrattuna kontrolliin tetrasykliinien yhteiskäsittelyssä, jossa sekä OTC- että CTC-pitoisuus oli 50 mg/l. Vastaavasti tämän tutkimuksen kokeessa käsittely B-9 (100 000 µg/kg OTC) inhiboi metaanintuottoa 44 %. Tosin erisuuntaisiakin tuloksia on aiemmissa tutkimuksissa havaittu; Lallai ym. (2002) eivät havainneet OTC-pitoisuuksien 125 mg/l ja 250 mg/l häiritsevän metaanintuottoa panostomisissa kokeissa sianlannalla. Termofiilisenä (55 °C) toteutetussa kokeessa OTC:n vaikutukset naudanlannan metaanintuottoon olivat varsin lähellä kokeemme vastaavia; OTC-pitoisuuden 30 mg/kg inhibitio oli 20,9 %, pitoisuuden 60 mg/kg 29,7 % ja pitoisuuden 90 mg/kg 31,4 % (Beneragama ym. 2013a).

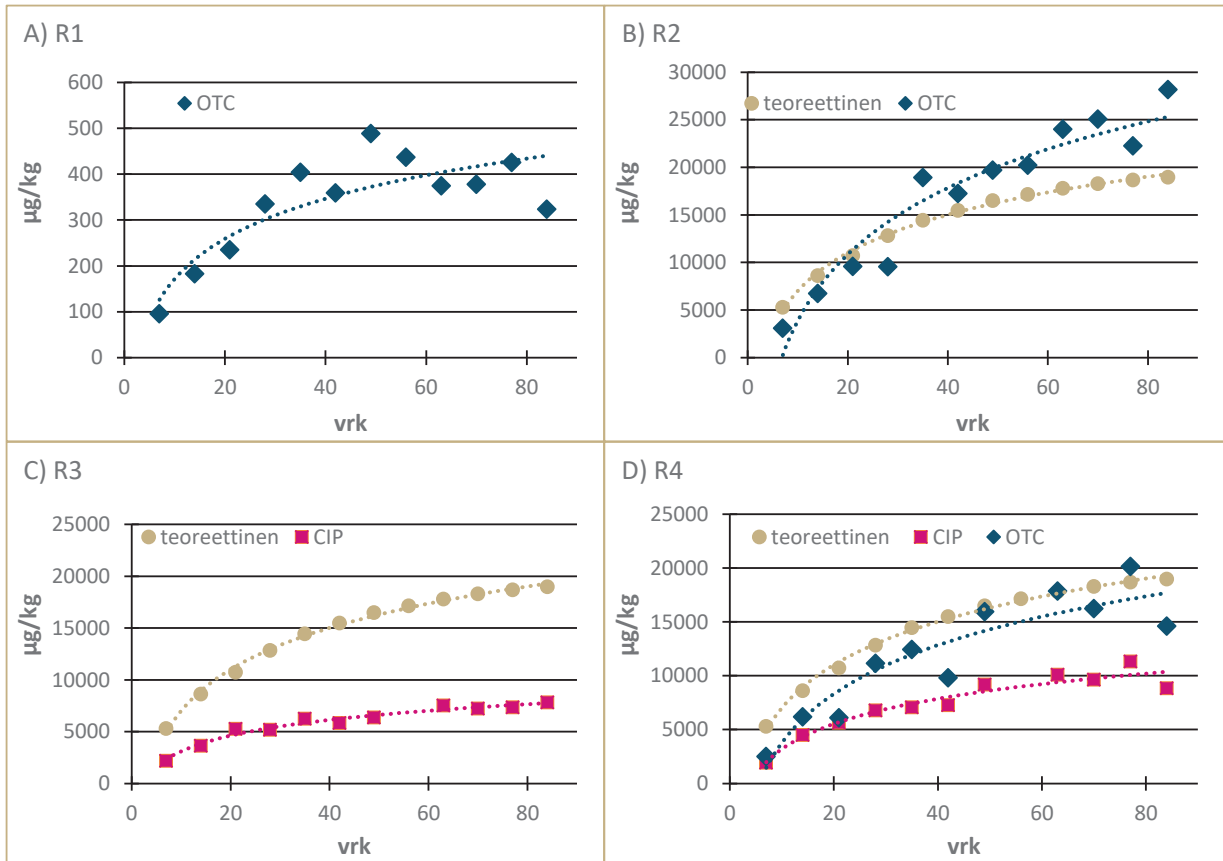
Samoin kuin oksitetrasykliinillä, siprofloksasiinin pienimmällä annoksella 2 000 µg/kg ei vaikutusta havaittu (BMP 218 m³CH₄/tVS), mutta seuraavaksi suurin annos 10 000 µg/kg vähensi metaanintuottoa (197 m³CH₄/tVS). Fluorokinolonien vaikutuksia metaanintuottoon on tiettävästi tutkittu vähemmän kuin oksitetrasykliinin, mutta esimerkiksi Liu ym. (2013) tutkivat panoskokeissaan siprofloksasiinin vaikutusta nimenomaan metanogeneesiin. Metanogeneesin inhibitio oli merkittävä pitoisuuksilla 80–100 mg/l. Alle 50 mg/l CIP-annostuksella kumulatiivinen metaanintuotto ei juuri heikentynyt ja metaanintuotto oli kokeen alussa niillä jopa kontrollia nopeampaa.

Seoskäsittelyiden pienimmällä tutkitulla pitoisuusyhdistelmällä (oksitetrasykliini 50 000 µg/kg + siprofloksasiini 10 000 µg/kg) metaanintuotto oli 161 m³CH₄/tVS. Lääkkeiden metaanintuottoa estävä yhteisvaikutus oli siis voimakkaampi kuin niiden vaikutus erikseen.

5.2.2 Tilakohtaisen biokaasulaitoksen simulaatio – jatkuvatoimiset kokeet

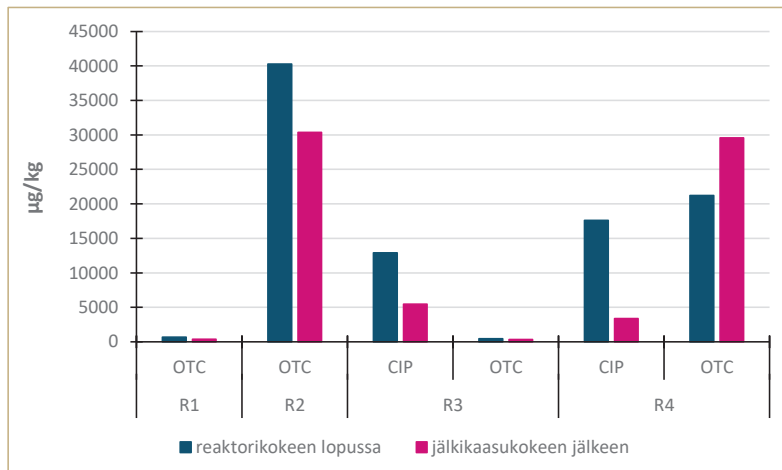
Mikrobilääkejäämät reaktorikokeessa

Jatkuvatoimisissa kokeissa oksitetrasykliinin ja siprofloksasiinin pitoisuudet mädätysjäännöksessä mukailivat hyvin teoreettista pitoisuutta (Kuva 10). Teoreettinen pitoisuus on laskettu lisättävän ja poistettavan syötteen määrän sekä syötteen mikrobilääkepitoisuuden perusteella. Reaktoreihin lisätty syöte sisälsi keskimäärin 160 µg/kg oksitetrasykliiniä, joka aiheutti taustapitoisuutta kaikkiiin reaktoreihin. Mädätysjäännöksen taustapitoisuus oli lopussa noin 400 µg/kg (Kuva 10 A). R2- sekä R4-reaktoreissa OTC-pitoisuus oli lopussa noin 148 % ja 77 % teoreettisesta. Tulosten vaihtelu oli melko suurta erityisesti viimeisessä mittauspisteessä, mutta OTC ei vaikuta merkittävästi hajonneen tai sitoutuneen jatkuvatoimisissa kokeissa. Siprofloksasiinin pitoisuus mädätysjäännöksessä oli kokeen lopussa reaktorissa R3 41 % ja R4 47 % teoreettisesta, joten reaktoreiden välillä ei ollut havaittavissa eroja. Siten noin puolet siprofloksasiinista vaikuttaa sitoutuneen tai hajonneen kokeen aikana, mikä on samaa suuruusluokkaa panoskokeiden kanssa.



Kuva 10. Jatkuvatoimisten reaktoreiden mädätysjäännösten mikrobilääkepitoisuudet µg/kg. A) R1 = kontrolli, B) R2 = oksitetrasykliini, C) R3 = siprofloksasiini, D) R4 = molempien mikrobilääkkeiden seos. X-akselilla aika koepäivinä kokeen alusta.

Jälkikaasutuksen todentamiseksi reaktorien sisältöä siirrettiin panoskoepulloihin ja kaasuntuottoa seurattiin. Siten mikrobilääkepitoisuus jälkikaasutuksen alussa vastasi pitoisuutta reaktorissa jatkuvatoimisen kokeen lopussa. Jatkuvatoimisen kokeen aikana oksitetrasykliinin pitoisuus mädätysjäännöksessä oli reaktorissa R4 alhaisempi kuin reaktorissa R2 (Kuva 10, kuvaajat B ja D), ja siten myös jälkikaasutuskokeen alkupitoisuudessa oli eroa. Jälkikaasutuksen jälkeen oksitetrasykliinin pitoisuus oli molemmissa reaktoreissa noin 3 000 µg/kg (Kuva 11). Oksitetrasykliini väheni R2-reaktorissa noin 24 %, mutta lisääntyi reaktorissa R4 noin 40 %. Jälkikaasutuksen aikana siprofloksasiinin pitoisuus laski 60–80 %, mikä vastasi panoskoekiden vähenemää.



Kuva 11. Jatkuvatoimisten reaktoreiden mikrobilääkepitoisuudet µg/kg jälkikaasutuksessa. R1 = kontrolli, R2 = oksitetrasykliini, R3 = siprofloksasiini, R4 = molempien mikrobilääkkeiden seos.

Mikrobilääkejäämien vaikutus jatkuvatoimiseen biokaasuprosessiin

Jatkuvatoimisessa reaktorikokeessa seurattiin biokaasuprosessin metaanituottoa, mädätysjäännöksen laatua ja sen mikrobilääkkeiden pitoisuuksien sekä mikrobilääkeresistenssin esiintymistä. R1 käsitteli pelkkää tutkimustilan lietalannan ja kuivikelannan seosta (kontrolli), R2-syötteeseen lisättiin oksitetrasykliiniä (20 000 µg/kg), R3-syötteeseen siprofloksasiinia (20 000 µg/kg) ja R4-syötteeseen em. lääkeaineiden seosta (20 000 µg/kg OTC + 20 000 µg/kg CIP). Reaktoreiden sisällä lääkeaineiden pitoisuudet kasvoivat kokeen kuluessa ollen kokeen viimeisen viipymän aikana R2:ssa 28 200 µg/kg OTC, R3:ssa 7 820 µg/kg CIP ja R4:ssa 14 600 µg/kg OTC + 8 830 µg/kg CIP.

Biokaasun ja metaanin tuotot olivat samankaltaiset kaikissa reaktoreissa (124–133 m³CH₄/t-VS, 56–58 % CH₄; Taulukko 20). Myös mädätysjäännösten pH oli samanlainen vaihdellen välillä 8,21...8,35. Mikrobilääkelisäykset reaktoreissa 2–4 eivät siis häirinneet hajoamisprosessia verrattuna pelkän lantaseoksen mädätykseen.

Taulukko 20. 84 vrk:n kokeen keskimääräiset ominaismetaanintuotot, metaanipitoisuudet ja mädätysjäännöksen pH:t reaktoreittain.

	R1 (kontrolli)	R2 (OTC)	R3 (CIP)	R4 (OTC + CIP)
Metaanintuotto (m ³ /t-VS)	132	124	129	133
Biokaasun metaanipitoisuus (%)	57	56	57	58
Mädätysjäännöksen pH	8,21	8,22	8,35	8,31

CIP = siprofloksasiini; OTC = oksitetrasykliini.

Jatkuvatoimisten reaktoreiden metaanintuottoa voidaan verrata myös syöttönä käytettyjen materiaalien metaanintuottopotentiaaleihin. Käytetyllä lietalannalla se oli 234 m³CH₄/tVS ja kuivikelannalla 58 m³CH₄/tVS. Päivinä 0–27 käytetyn syöttöseoksen metaanintuottopotentiaali oli 140 m³CH₄/tVS ja päivinä 28–84 käytetyn seoksen 151 m³CH₄/tVS (panoskokeen kesto 55 vrk). Jatkuvatoimisissa kokeissa metaanintuotto oli noin 80–90 % panoskokeilla määritetystä potentiaalista, mikä on tavanomaista.

Syötteseoksessa käytetyn lietalannan metaanintuottopotentiaali on suomalaiselle naudan lietalannalle tavanomainen (esim. Luostarinen ym., 2013: 196–227 Nm³CH₄/tVS; Lehtomäki ym., 2007: 100–250 Nm³CH₄/tVS), mutta kuivikelannan metaanintuottopotentiaali oli varsin matala. Tästä syystä reaktoreiden syöttöseosten metaanintuottopotentiaali oli naudanlannaksi melko alhainen. Laboratoriokoetta varten kerätty kuivikelantanäyte ei selvästikään ollut erityisen edustava, vaan sisälsi ilmeisesti pääosin kuivikkeena käytettyä turvetta ja vain vähän lantaa, mikä selittää sen huonoa metaanintuottopotentiaalia. Tällä oletuksella saavutettu metaanipotentiaali on linjassa Korhosen (2010) tekemien kokeiden kanssa, joissa turvekuivikkeen metaanintuottopotentiaali oli 50 m³CH₄/tVS. Samassa Korhosen kokeessa turve-olki-virtsalannan metaanintuottopotentiaali oli 180 m³CH₄/tVS ja turvelannan 200 m³CH₄/tVS, joita voidaan pitää tavanomaisempina kuivikelannan metaanintuoton tasona.

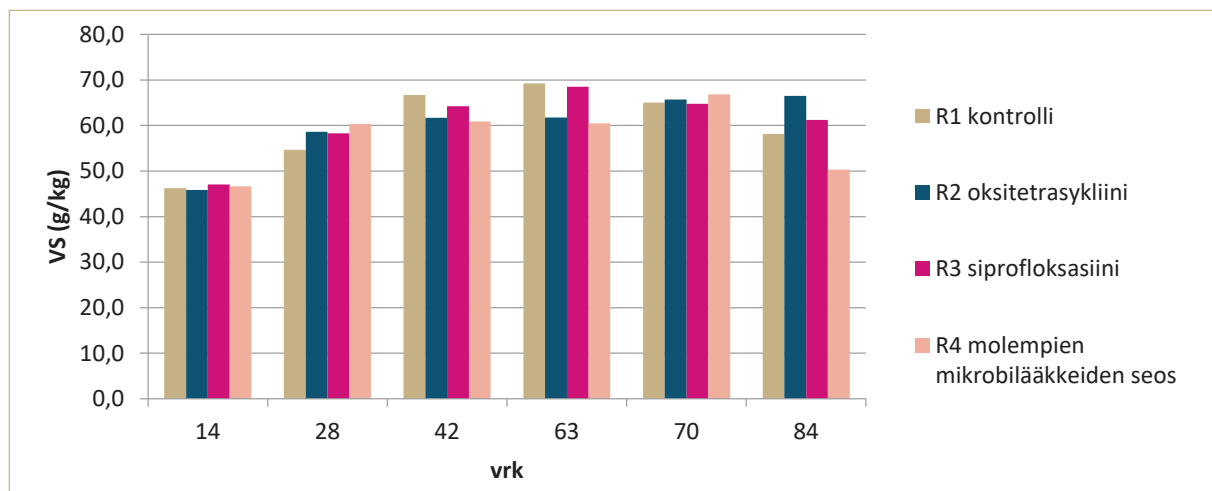
Reaktoreiden mädätysjäännösten korkeat orgaanisen kuiva-aineen (VS) ja haihtuvien rasvahappojen (VFA) pitoisuudet kertoisivat ylikuormituksesta tai hajoamisen häiriöistä (inhibitiosta). Haihtuvat rasvahapot ovat monivaiheisen hajoitusprosessin välituotteita ja

niiden pitoisuuden tulee olla mädätysjäännöksessä alhainen. Orgaanista ainesta puolestaan hajotetaan prosessissa välivaiheiden kautta metaaniksi ja vähäinen muutos sen pitoisuudessa syötteen ja jäännöksen välillä tarkoittaisi käsiteltävän materiaalin heikkoa hajoamista. Tässä kokeessa käytetyllä orgaanisella kuormituksella ei tällaista vaaraa pitäisi olla (OLR lantaprosessille tavanomainen noin 3 kgVS/m³d), vaan mahdollisten korkeiden pitoisuuksien voitaisiin arvioida johtuvan lisätyistä mikrobilääkkeistä, etenkin jo metaanintuotto olisi myös alhainen.

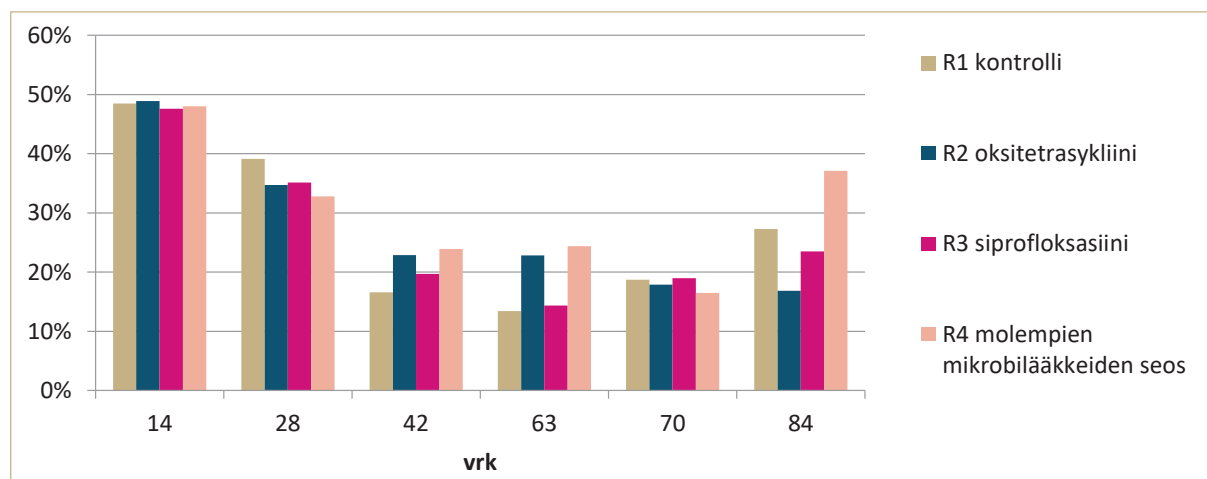
Mädätysjäännösten VS-pitoisuudet olivat kuitenkin koejaksolla (84 vrk) pääosin samankaltaisia reaktoreiden välillä. Kokeen alussa reaktorit oli täytetty jo kertaalleen mädätetyllä lannalla eli Luke Maaningan biokaasulaitoksen mädätteellä (ymppi), jonka VS-pitoisuus oli 40 g/kg. Syöttöseoksen VS oli 90 g/kg koepäivien 0–27 aikana ja 80 g/kg koepäivien 28–84 aikana. Kokeen ensimmäisen viipymän (0–28 vrk) ajan reaktoreiden sisältö vaihtui ja mädätysjäännöksen VS oli tämän vuoksi alhaisempi (46–60 g/kg) kuin loppukokeen aikana (50–69 g/kg; Kuva 12). VS-vähennys (% syöttöseoksen VS-pitoisuudesta) oli keskimäärin g/kg (Kuva 13). Suuria eroja kontrollin ja mikrobilääkelisää saaneiden reaktoreiden mädätysjäännösten VS-pitoisuuksien tai VS-vähennyksen välillä ei havaittu. Vähäinen vaihtelu menee todennäköisimmin jäännösten poiston teknisen toimivuuden ja näytteenoton piikkiin eikä riipu lääkaineiden vaikutuksesta syöttöseoksen hajoamiseen.

Vastaavan havainnon biokaasuprosessin stabiilisuudesta mikrobilääkkeille havaitsivat tutkimuksissaan Spielmeyer ym. (2015), jotka tutkivat mikrobilääkkeistä mm. tetrasykliinilisäystä. CSTR-reaktoreihin syötettiin naudan lietelannan ja maissisäilörehun seosta, johon oli lisätty tetrasykliiniyhdistelmä: tetrasykliini 15 mg/kg + klooritetrasykliini 15 mg/kg. Kyseisellä mikrobilääkeyhdistelmän lisäyksellä ei havaittu vaikutusta reaktorin pH-tasoon, kuiva-ainepitoisuuteen tai metaanisaantoon.

Bauer ym. (2014) havaitsivat tekemissään jatkuvatoimisissa kokeissa klooritetrasykliinin ja enroflokasiinin häiritsevän metaanintuottoa ja metaanintuottoa häiritsevä vaikutus kasvoi molemmilla mikrobilääkkeillä pitoisuuksia nostettaessa. Sekä metaanin- että biokaasuntuotto vähenivät myös pienimmällä pitoisuudella, joka oli kuitenkin kaksinkertainen omassa kokeessa käyttämämme. Heidän testaamansa pitoisuudet olivat kaikki korkeampia kuin tekemässämme kokeessa (meillä 20 mg/l, Bauer 40–8 000 mg/l).

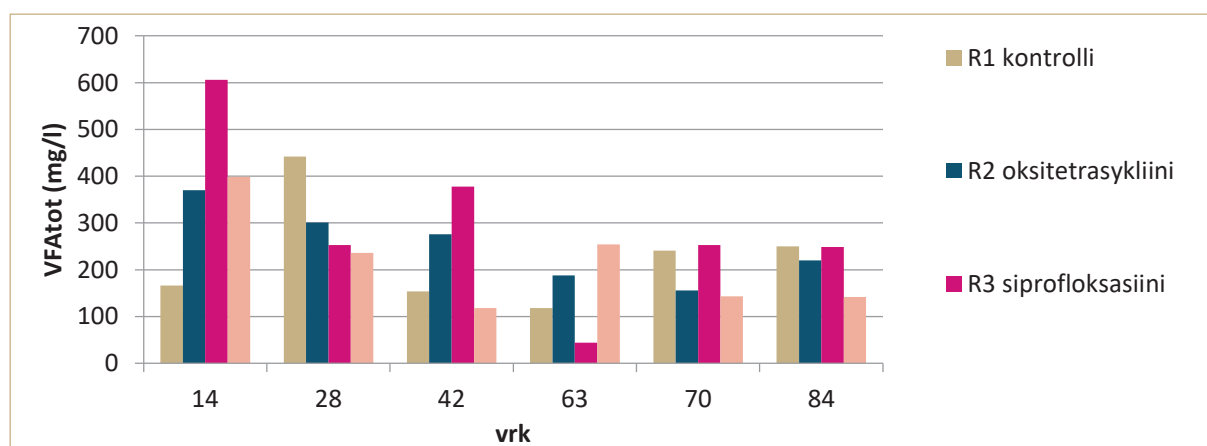


Kuva 12. Jatkuvatoimisten reaktoreiden mädätysjäännösten VS-pitoisuudet. X-akselilla on aika koepäivinä kokeen alusta.

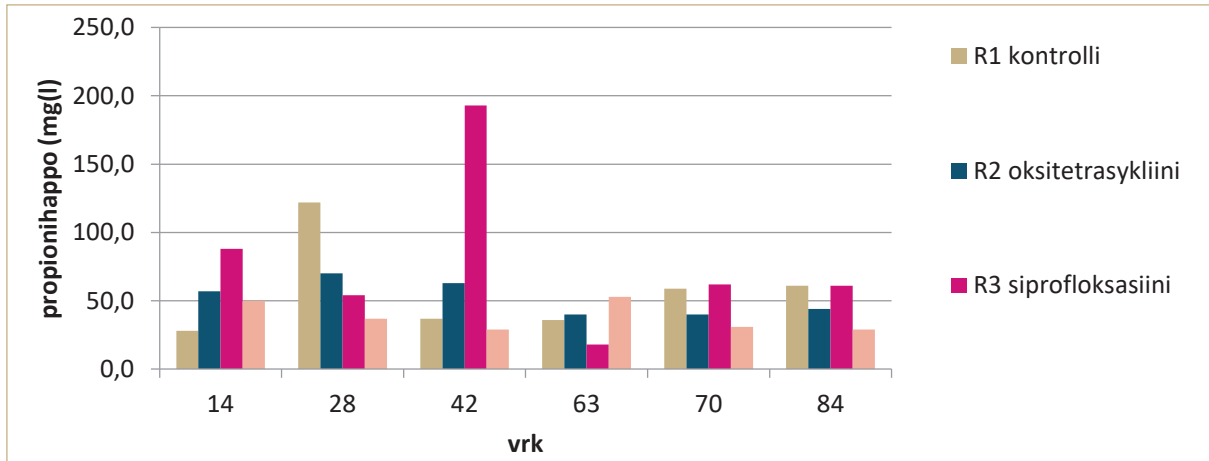


Kuva 13. VS-vähenemät prosentteina syöttöseoksen VS-pitoisuudesta. Näytteiden 14 ja 28 vrk vähenemät laskettu koepäivien 0–27 syöttöseoksesta, loput koepäivien 28–84 syöttöseoksesta. X-akselilla on aika koepäivinä kokeen alusta.

Haihtuvien rasvahappojen (VFA, tässä tapauksessa etikka-, propioni-, isobutaani- ja voihiappo) pitoisuudet mädätysjännöksissä määritettiin myös kuusi kertaa kokeen kuluessa (yhteenlasketut pitoisuudet kuvassa 14). Kokeen alussa mikrobilääkkeitä saaneissa reaktoreissa R2-4 VFA-pitoisuudet ovat korkeammat kuin kontrollireaktorissa R1. Tämä voi kertoa vähäisestä inhibitiosta prosessin käynnistämismuutoksessa (1. viipymä, koepäivät 0–27). Pitoisuudet ovat kuitenkin tällöinkin alhaisia kaikissa reaktoreissa eikä lääkelaikojen voi katsoa häiriintyneen hajoamisprosessissa missään koepäiväsiirteisessä. Häiriintyneestä hajoamisesta indikoivan propionihapon pitoisuuksissa voidaan havaita kolme piikkiä (Kuva 15). Toinen niistä on kontrollireaktorin (1) ensimmäisen viipymän lopussa mahdollisesti kertoen reaktorin sopeutumisvaiheesta uuteen syöttöseen. Kaksi muuta piikkiä ovat siprofloksasiinia saaneen reaktorin (3) ensimmäisen ja toisen viipymän aikana, mikä puolestaan voi kuvata prosessin mikrobikannan siprofloksasiiniin sopeutumista.

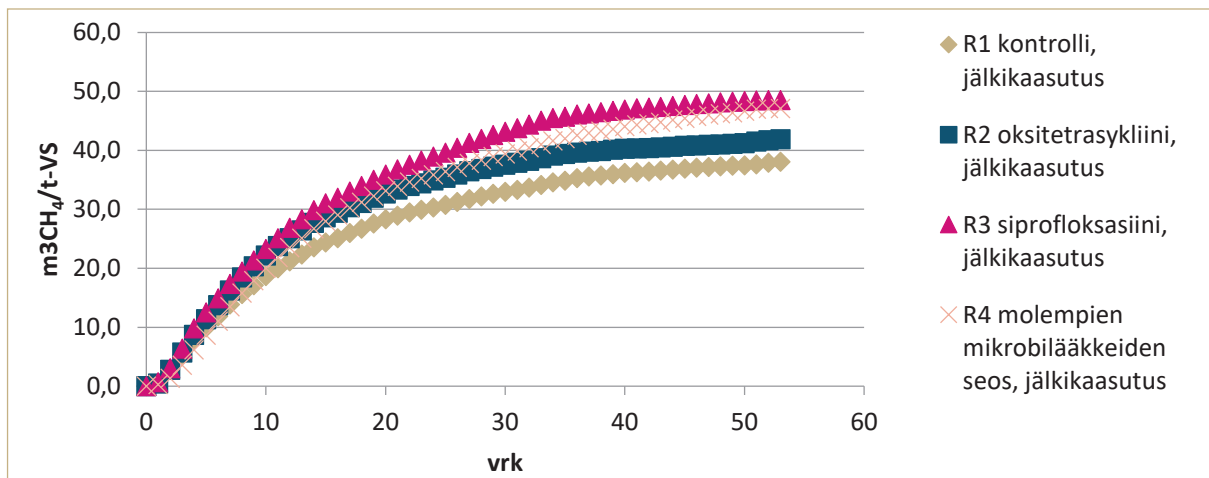


Kuva 14. Haihtuvien rasvahappojen (VFA, tässä tapauksessa etikka-, propioni-, isobutaani- ja voihiappo) yhteenlasketut pitoisuudet reaktoreiden poistoissa kuutena eri näytteenottopäivänä. X-akselilla on aika koepäivinä kokeen alusta.



Kuva 15. Propionihapon pitoisuudet reaktoreiden poistoissa kuutena eri näytteenottopäivänä. X-akselilla on aika koepäivinä kokeen alusta.

Vaikka itse jatkuvatoimisessa kokeessa mikrobilääkkeiden vaikutuksesta biokaasuprosessiin ei havaittu mainittavia eroja, mädätysjäännösten jälkikaasutuksessa esiintyi eroja reaktoreiden välillä. Varsinaisen reaktorikokeen jälkeen tehdyssä jälkikaasukokeessa mikrobilääkkeitä saaneiden reaktoreiden (R2-4) mädätysjäännösten jälkikaasupotentiaali oli kontrollia (R1) korkeampi, mikä viittaa heikompaan orgaanisen aineksen käyttöön varsinaisen reaktorikokeen aikana. Kontrollin jälkikaasupotentiaali oli $38,1 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{t-VS}$, mikä on alhaisempi kuin muilla reaktoreilla; R2: $41,9 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{t-VS}$; R3: $48,5 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{t-VS}$ ja R4: $47,1 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{t-VS}$ (Kuva 16).



Kuva 16. Jatkuvatoimisen reaktorikokeen mädätysjäännösten jälkikaasukokeen metaanintuotot.

Tuloksen perusteella voidaan todeta, että kontrollireaktorissa mikrobit olivat hyödyntäneet hajotettavissa olevan orgaanisen aineksen jo jatkuvatoimisen kokeen aikana tehokkaasti. Sen sijaan mikrobilääkkeitä saaneissa reaktoreissa käyttökelpoista orgaanista ainesta on jäänyt enemmän hajottamatta, mahdollisesti mikrobitoiminnan tai jonkun sen osan häiriintyessä. Panostoisessa, 53 vuorokautta kestäneessä jälkikaasukokeessa tämä orgaaninen aines on alkanut hajota. Syynä voi olla se, ettei prosessiin enää lisätty uutta mikrobilääkettä. Siten mädätysjäännöksessä jäljellä olleiden lääkeaineiden biosaatava pitoisuus laski hajoamisen tai sitoutumisen vuoksi ja näin ollen mikrobit pystyivät jälleen hajottamaan tarjolla ollutta orgaanista ainesta.

Resistenttien *E. coli* -bakteerien määrä ja osuus

Syötteen *E. coli* -pitoisuus oli tasoa 106 pmy/g ja reaktoreissa se vaihteli tasolla 103–105 pmy/g (Taulukko 21). Kaikissa mädätysjäännöksissä *E. coli* -pitoisuus oli laskenut vähintään yhdellä logaritmiyksiköllä verrattuna syötteeseen. Siprofloksasiinille ja tetrasykliinille resistenttien *E. coli* -bakteerien osuudet syötteessä olivat alle 0,5 %, kontrollireaktorissa korkeintaan n. 5 % ja mikrobilääkelisän sisältävissä reaktoreissa 0,1–6,2 %. Nousevaa tai laskevaa trendiä ei ollut havaittavissa yhdessäkään reaktorissa.

Taulukko 21. *E. coli* -pitoisuudet sekä siprofloksasiinille ja tetrasykliinille resistenttien osuudet jatkuvatoimisten biokaasureaktoreiden mädätysjäännöksissä sekä syöttöseoksessa.

Reaktori	<i>E. coli</i> -pitoisuus pmy/g (min-max)	CIP-resistenttejä % (min-max)	TCY-resistenttejä % (min-max)
Syöttöseos: ei mikrobilääkelisää	3,1–5,3 x 10 ⁶	0,1–0,4	0,1–0,4
R1 mädätysjäännös: ei mikrobilääkelisää	1,3 x 10 ⁴ –2,4 x 10 ⁵	0,3–4,8	0,3–5,1
R2 mädätysjäännös: OTC 20 000 µg/kg	4,8 x 10 ⁴ –7,7 x 10 ⁵	ei määritetty	0,3–1,1
R3 mädätysjäännös: CIP 20 000 µg/kg	6,4 x 10 ³ –3,1 x 10 ⁵	0,3–6,2	ei määritetty
R4 mädätysjäännös: OTC 20 000 + CIP 20 000 µg/kg	6,7 x 10 ⁴ –2,3 x 10 ⁵	0,1–1,1	0,1–1,1

pmy = pesäketä muodostavaa yksikköä; CIP = siprofloksasiini; TCY = tetrasykliini; OTC = oksitetrasykliini.

Jatkuvatoimisen biokaasukokeen mikrobiologisia tuloksia voidaan pitää ainoastaan suuntaa antavina, sillä näytteitä otettiin tässä pilottitutkimuksessa vain yksi jokaisessa näytteenottopisteessä. Lisäksi syöttöseoksessa on voinut olla paikallista vaihtelua *E. coli* -bakteerien määrässä sekä siprofloksasiinille ja tetrasykliinille resistenttien bakteerien osuudessa, mikä saattaa osaltaan selittää vaihtelua mädätysjäännöksissä. Myös syöttöseoksessa käytetty kuivikelanta osoittautui ei-edustavaksi sen sisältäessä lähinnä turvekuiviketta eikä sontaa ja imeytyynyttä virtsaa.

Syöttöseoksesta ja kaikkien reaktorien viimeisestä mädätysjäännöksestä (84 vrk) eristetyillä *E. coli* -bakteerikannoilla todettiin herkkyysmäärityksissä sama CIP-AMP-TCY-TRI -resistenssiprofiili kuin navetasta, kuivalantalasta ja yhden lääkityn naudan sonnasta (ks. Taulukko 17 s. 45). Kontrollireaktorista 1 ja siprofloksasiinilisän sisältävästä reaktorista 3 eristetyillä *E. coli* -bakteereilla ei todettu muita resistenssiprofiileja. Oksitetrasykliinilisän sisältävästä reaktorista 2 todettiin lisäksi SU-TCY ja AMP-TCY -resistenssiprofiilit ja sekä siprofloksasiini että oksitetrasykliinilisän sisältävästä reaktorista 4 myös CIP-AMP-TCY -resistenssiprofiili.

5.2.3 Yhteenveto: mikrobilääkkeiden ja resistenttien suolistobakteerien kohtalot lannan prosessoinnissa ja vaikutukset prosessiin

Mikrobilääkkeiden vaikutukset prosessiin

Panoskokeessa myös korkeiden mikrobilääkejäämien vaikutus prosessin mikrobitoimintaan ja sitä kuvaavaan metaanintuottoon oli nähtävissä heti kokeiden alusta lähtien: mitä enemmän lisättyä mikrobilääkettä oli, sitä vähemmän metaania muodostui. Oksitetrasykliini ja siprofloksasiini

pitoisuudella 50 000 µg/kg heikensivät metaanintuottoa selvästi ja suunnilleen saman verran; yhdessä enemmän kuin kumpikaan erikseen. Oksitetrasykliinin alin inhiboiva pitoisuus on välillä 10 000–50 000 µg/kg, siprofloksasiinin välillä 2 000–10 000 µg/kg. Nämä pitoisuudet ovat kuitenkin varsin korkeita.

Tutkitut mikrobilääkkeet erittyvät suurimmaksi osaksi virtsaan. Osalla mikrobilääkkeistä pääasiallinen eritysureitti on sonnan välityksellä, jolloin sonnan lisääminen reaktoriin voisi aiheuttaa prosessin hidastumista. Tutkitussa navetassa lääkittyjen eläinten sonta ja virtsa kuitenkin sekoittuvat toisiinsa, jolloin niistä muodostuvassa lannassa voi myös olla prosessia häiritseviä pitoisuuksia mikrobilääkkeistä. Vaikutukset ovat kuitenkin todennäköisesti mikrobilääke- ja reaktorin lajikoostumuksesta riippuvaisia (Van Epps & Blaney, 2016).

Mikrobilääkkeiden väheneminen lannasta prosessoinnin seurauksena

Lannan metaanintuottopotentialia mittaavissa panoskokeissa siprofloksasiinipitoisuudet pienenevät 58–78 %). Vastaava siprofloksasiinin vähenemä todettiin myös jatkuvatoimisessa kokeessa (53–59 %), jossa väheneminen jatkui myös jälkikaasutuksen aikana (60–80 %). Oksitetrasykliinin pitoisuuksissa oli suurempaa vaihtelua eri koejäsenten välillä sekä koejäsenten sisällä. Panoskokeessa oksitetrasykliinipitoisuus laski 28–44 %, mutta jatkuvatoimisessa kokeessa reaktorien välinen ero oli suurta. Keskimäärin vähenemää ei ollut havaittavissa. Toisaalta jälkikaasutuksen jälkeen oksitetrasykliinipitoisuus oli molemmissa reaktoreissa samaa suuruusluokkaa. Oksitetrasykliinin pH-riippuvainen sitoutuminen aiheuttaa haasteita sekä koeasetelmissa että analyttisesti, jolloin pienet muutokset olosuhteissa (kuten pH tai ionivahvuus) voivat vaikuttaa voimakkaasti analysoitavaan pitoisuuteen. Vaihtelevat tulokset erityisesti jatkuvatoimisessa kokeessa voivat siten olla peräisin pienistä olosuhte-eroista reaktoreiden välillä tai epähomogeenisesta reaktorin sisällöstä. Myös esimerkiksi Spielmeyer ym. (2015) reaktorikokeessa on havaittavissa melko suurta vaihtelua tetrasykliinipitoisuudessa näytteenotosta toiseen. Turker ym. (2013) havaitsivat mesofiilisen (+37 °C) mädätyksen vähentävän oksitetrasykliinin määrää lannassa 55–75 %, kun lähtöpitoisuus oli 20 mg/l. Loke ym. (2003) havaitsivat oksitetrasykliinin sitoutuvan hyvin voimakkaasti anaerobisessa panoskokeessa. Biohajoamista tai hajoamistuotteita ei tutkimuksessa havaittu.

Koeasetelman perusteella ei voida päätellä lääkkeiden poistumismekanismia, sillä biohajoavuuden tutkimiseen olisi tarvittu mm. steriilit koeyksiköt. Kokeen tarkoituksena oli erityisesti tutkia mikrobilääkkeiden vaikutusta anaerobiseen prosessiin, kuten metaanintuottoon, eikä koeasetelman kasvattaminen ollut resurssien puitteissa mahdollista. Kirjallisuuden perusteella (mm. Girardi ym., 2012; Golet ym., 2003; Loke ym., 2003; Rabolle ja Spliid, 2000; Slana ja Dolenc, 2013) oksitetrasykliini, enrofloksasiini ja siprofloksasiini sitoutuvat voimakkaasti partikkeleihin ja sorptio oli siten todennäköinen poistumismekanismi myös tässä tutkimuksessa. Jatkotutkimuksissa tulisi selvittää mikrobilääkkeiden sitoutumisen ja biohajoamisen lisäksi muodostuvat hajoamistuotteet ja niiden määrä, jotta hajoamisen aste ja hajoamistuotteiden vaikutukset mädätykseen kävisivät selviksi.

Mikrobilääkkeet vähenivät mesofiilisessa mädätyksessä, mutta prosessin tekniikka ja operointi vaikuttavat poistumiseen. Jatkuvatoimisessa prosessissa uutta syöttömateriaalia lisätään säännöllisesti. Prosessi on täyssekoitteinen, mikäli tuore syöte reaktorissa sekoittuu pitempään olleeseen massaun ja molempia poistuu syötön yhteydessä. Täyssekoitteisen prosessin yhteydessä puhutaan ohivirtauksesta, joka paitsi laskee hieman saavutettavaa

metaanintuottoa teoreettisesta, myös mahdollistaa mikrobien ja mikrobilääkkeiden ohivirtauksen mädätysjäännökseen ilman täyttä mädätystä. Jatkuvatoimisissa laitoksissa onkin yleensä jälkikaasuallas, jossa reaktorin mädätysjäännös hajoaa vielä lisää ja saavutetaan tasalaatuisempaa jäännöstä loppukäyttöön.

Panostoimisessa mädätyksessä taas prosessoitava materiaali lisätään reaktoriin (tai koetoiminnassa koeastiaan) kerralla yhdessä käytetyn ympin kanssa, reaktori suljetaan ja materiaalin annetaan hajota haluttu aika ilman uuden syötteen lisäämistä. Toisaalta tässä käytetty panoskoemenetelmä metaanintuottopotentialin määrittämiseen ei vastaa laitosmittakaavan tekniikoita toteutukseltaan. Panostekniikkaa käytetään yleensä kuiville massoille (TS >20 %) joko siten, että uutta käsiteltävää massaa sekoitetaan aiemmin mädätettyyn (ymppi), seos suljetaan reaktoriin halutuksi ajaksi ja reaktori avataan ja tyhjennetään lopuksi, tai siten, että mädätettävä massa suljetaan reaktoriin, sen läpi suodatetaan perkolaationestettä, joka sisältää tarvittun mikrobiston (ympin) ja prosessin annetaan toimia näin haluttu aika, kunnes reaktori avataan ja tyhjennetään. Erillistä sekoitusta ei kummassakaan tapauksessa käytetä. Metaanintuottopotentialia määritettäessä tutkittavan materiaalin VS-määrä panosastiassa suhteutetaan lisättävän ympin VS-määrään siten, että ymppiä on vähintään saman verran kuin tutkittavaa materiaalia. Hankalasti hajoavaksi epäiltyjen tutkimuksissa ymppiä laitetaan enemmän. Koeastian nestetilavuus täytetään haluttuun vedellä ja astioiden sisältöä sekoitetaan mikrobien ja tutkittavan massan tehokkaan kontaktin varmistamiseksi. Olosuhteet hajoamiselle näin ollen optimoidaan teoreettisen metaanintuoton selvittämiseksi, kun taas laitosmittakaavan panostekniikoilla vastaavaan ei päästä. Näin ollen tässä esitetyt panostoimisen hajoamisen tulokset edustavat teoreettista maksimia käytetyllä ympillä, eikä niitä saa olettaa saavutettavan kaikilla muilla panostoimisilla laitoksilla, joilla hajoaminen on yleensä todettu epätäydelliseksi mm. vaikeasti varmistettavan mikrobien ja prosessoitavan materiaalin kontaktin vuoksi. Täyssekoitteisissa jatkuvatoimisissa märkäprosesseissa (kuten tässä tutkimuksessa käytettiin) kontaktin varmistaminen onnistuu paremmin.

Kokeiden ja kirjallisuuden perusteella voidaan todeta, että mesofiilinen jatkuvatoiminen märkämädätys ei ole sellaisenaan erityisen tehokas tutkittujen lääkeaineiden poistaja ja sikäli niiden ja mikrobilääkeresistenssin riskienhallintamenetelmä. Mikrobilääkkeiden vähenemä sitoutumisen kautta ei poista mahdollista resistenssi- tai ympäristöriskiä, sillä olosuhteiden muutokset, esimerkiksi peltovetyksen aikana, saattavat aiheuttaa mikrobilääkkeiden vapautumisen biosaatavaan muotoon.

Prosessoinnin vaikutukset resistentteihin *E. coli* -bakteereihin

Resistenttien *E. coli* -bakteerien määrä tai osuus ei merkittävästi vähentynyt tai lisääntynyt jatkuvatoimisessa mesofiilisessa mädätysprosessissa. Reaktorin mikrobilääkellisellä ei vaikuttanut myöskään olevan juuri vaikutusta resistenttien *E. coli* -bakteerien määrään tai osuuteen. Siprofloksasiinin ja oksitetrazykliinin voimakkaasta sitoutumistaipumuksesta johtuen voi olla, etteivät ne ole olleet bakteereille myöskään biologisesti saatavilla. *E. coli* -bakteerien kokonaismäärä kuitenkin laski 1–2 logaritmiyksikön verran prosessin aikana kaikissa reaktoreissa. Schauss ym. (2016) totesi ESBL *E. coli* -bakteerien pitoisuuden laskevan mesofiilisessa biokaasuprosessissa 2–4 logaritmiyksikköä. Resenden ym. (2014) kokeissa *E. coli* -bakteerit selvisivät mesofiilisesta jatkuvatoimisesta biokaasuprosessista, mutta niiden määrä oli alhaisempi lopputuotteessa kuin syötettävässä materiaalissa. Panostoimisesta prosessista resistenssiä ei tutkittu.

6 Riskiprofiili

Suomalaisilla nautatiloilla esiintyvien resistenttien suolistobakteerien ja mikrobilääkejäämien leviämiseen liittyvät uhat on tunnistettu ja kuvattu saatavilla olevan tiedon perusteella. Tässä osiossa arvioidaan uhkien toteutumisen todennäköisyyttä ja tuodaan esiin aiheeseen liittyviä tutkimustarpeita.

6.1 Mikrobilääkeresistenssi- ja jäämätilanne suomalaisilla nautatiloilla

Suomessa kaksi kolmasosaa tuotantoeläintiloista on nautatiloja ja naudoille myös käytetään määrällisesti eniten mikrobilääkkeitä muihin tuotantoeläimiin verrattuna, sillä nauta on suuri ja pitkäikäinen eläin (ks. osiot 2.1 ja 2.2). Tästä johtuen nautatilat ovat merkittävässä roolissa, kun arvioidaan mikrobilääkkeiden ja resistenttien suolistobakteerien leviämistä eläintuotantotiloilta muualle ympäristöön.

FINRES-Vet-seurantaohjelman tulosten mukaan suomalaisista naudoista eristettyjen suolistobakteerien resistenssitilanne on pysynyt toistaiseksi hyvänä, eikä selkeää nousevaa trendiä ole ollut havaittavissa (ks. Kuva 1, s. 14). Esimerkiksi vuonna 2016 kaikille tutkituille mikrobilääkkeille herkkien *E. coli* -bakteerien osuus naudoilla oli jopa 97,4 % (FINRES-Vet 2016–2017)). Koska resistenttien suolistobakteerien kehittymistä ja valikoitumista voi tapahtua myös nautojen suoliston ulkopuolella, resistenttien suolistobakteerien osuus nautojen ulosteessa ei kerro niiden osuudesta ja määrästä navettaympäristössä ja lantaloissa (ks. osio 2.2.3).

Koetilalla ei vaikuttanut tapahtuvan merkittävää resistenttien suolistobakteerien rikastumista lannankäsittelyketjussa. Resistenttien suolistobakteerien suhteellinen osuus lantaloiden lannassa ei ollut korkeampi kuin navetan lattioilta otetuissa näytteissä tai naudoista ennen mikrobilääkehoidon aloittamista tai sen jälkeen otetuissa näytteissä. Yleisesti ottaen resistenttien suolistobakteerien osuus tällä tilalla oli hyvin pieni, enimmillään vain 4 %, vaikka tässä projektissa käytettiin resistenttejä suolistobakteereita seulovaa menetelmää, joka on herkempi kuin FINRES-Vet-seurannassa käytetty menetelmä. Prosessoidussakin tilan lannassa resistenttien *E. coli* -bakteerien osuus oli enimmillään 6 %. Toisaalta tällä tilalla esiintyi jopa neljälle eri mikrobilääkkeelle resistenttejä suolistobakteereita sekä siirtyvää fluorokinoloniresistenssiä, joka voi levitä helposti tilaympäristössä - etenkin, jos tilan mikrobilääkekäyttö tulevaisuudessa syystä tai toisesta lisääntyy.

Tässä tutkimuksessa lietelannasta mitatut oksitetrasykliini- ja siprofloksasiinipitoisuudet olivat hyvin pieniä ($<10 \mu\text{g/kg}_{\text{ww}}$). Toisessa suomalaistutkimuksessa tutkittuja mikrobilääkejäämiä ei todettu naudan- ja sian lietelannasta lainkaan (Ruuskanen ym., 2016). Sen sijaan lääkittyjen eläinten kuivissa lannoissa paikalliset mikrobilääkepitoisuudet voivat olla teoriassa hyvin korkeita, sillä kuivalanta ei sekoitu ja laimene pesuvesillä sekä lääkitsemättömien eläinten lannalla samaan tapaan kuin lietelanta. Tässä tutkimuksessa kuivikelannasta, joka sisälsi enemmän lääkittyjen eläinten lantaa kuin lietelanta, mitattiin siprofloksasiinipitoisuus, joka on tarpeeksi korkea vaikuttaakseen resistenttien mikrobikantojen kehittymiseen ja valikoitumiseen lantaloissa ja lannan peltolevitysten seurauksena muualla ympäristössä

(ks. osio 5.1.6). Teoriassa lääkittyjen eläinten kuivissa lannoissa voi esiintyä vielä tätäkin korkeampia paikallisia mikrobilääkepitoisuuksia, jos lanta on hyvin huonosti sekoittunutta. Tässä tutkimuksessa oksitetrasykliinillä lääkittyjen nautojen virtsasta ja lannasta mitattiin hyvin korkeita mikrobilääkepitoisuuksia: virtsassa todettiin enimmillään oksitetrasykliiniä 610 000 µg/kg, sonnassa 11 000 µg/kg.

Toisaalta pientenkin mikrobilääkepitoisuuksien on todettu voivan kehittää ja valikoida resistenttejä bakteerikantoja; niiden roolin mikrobilääkeresistenssin yleistymisessä on arvioitu voivan olla jopa merkittävämpi kuin korkeiden mikrobilääkepitoisuuksien (UN Environment 2017 -raportti). Näin ollen myös lietelannan mukana kulkeutuviin pieniin mikrobilääkepitoisuuksiin on syytä suhtautua kriittisesti.

On myös huomattava, että tässä tutkimuksessa tarkasteltiin tilannetta vain yksittäisellä tilalla, eikä mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien esiintymistä tuotantoeläintilojen lannoissa ole kartoitettu laajemmin. Monet tekijät voivat lisätä mikrobilääkkeiden käyttöä ja näin ollen myös resistenttien suolistobakteerien esiintymistä tiloilla, jolloin myös molempien leviäminen tilojen ulkopuolelle voi lisääntyä. Näitä tulevaisuuden uhkia on koottu osioon 9.

6.2 Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviäminen maaperään vesistöihin ja ilmaan Suomessa

Resistenttejä suolistobakteereita ja mikrobilääkejäämiä voi levitä lannan ja lantaa sisältävien lannoitevalmisteiden välityksellä maaperään, vesistöihin ja ilmaan (ks. osio 2.3.1). Suomessa leviämistä näiden reittien välityksellä on tutkittu vasta hyvin vähän, eivätkä kaikkien ulkomaisten tutkimusten tulokset ole sovellettavissa Suomeen.

6.2.1 Maaperä

Mikrobilääkejäämät

Suomessa ei ole tutkittu peltomaiden mikrobilääkepitoisuuksia heti lannan peltolevitysten jälkeen. Tässä tutkimuksessa koetilan lietelannasta mitatut enrofloxasiini-, siprofloxasiini- ja oksitetrasykliinipitoisuudet olivat hyvin pieniä, joten sen peltolevitysten välityksellä maaperään kulkeutui oletettavasti vain pieniä määriä kyseisiä mikrobilääkejäämiä. Sen sijaan lääkittyjen eläinten kuivikelantojen välityksellä peltomaahan on voinut kulkeutua korkeampia paikallisia mikrobilääkepitoisuuksia, sillä yhdestä kuivikelantanäytteestä mitattiin hieman korkeampi siprofloxasiinipitoisuus ja lääkittyjen eläinten sonnassa ja virtsassa mikrobilääkepitoisuudet olivat hyvin korkeita. Mikrobilääkkeiden maaperäpitoisuuksia ei kuitenkaan mitattu heti lantojen peltolevitysten jälkeen. Peltomaahan kulkeutuvien mikrobilääkemäärien lisäksi niiden maaperäpitoisuuteen vaikuttaa myös niiden pysyvyys maaperässä (ks. 2.3.1), minkä vuoksi pelkkien leviämismäärien perusteella ei voi tehdä arviota mikrobilääkepitoisuuksista tutkimustilan peltomaissa. Yleisesti ottaen vaikuttaa kuitenkin siltä, että lääkittyjen eläinten kuivien lantojen mukana maaperään voi levitä suurempia mikrobilääkepitoisuuksia kuin lietelannan. Mikrobilääkejäämien leviämisen nykytilannetta eri lantatyyppeiden, tuotantosuuntien, kuten lihakarjan, sekä muidenkin tuotantoeläinten kuin nautojen lannan välityksellä tulisi tutkia tarkemmin Suomessa.

Mikrobilääkeresistenssi

Tässä tutkimuksessa tarkastellulla lypsykarjatilalla resistenttien *E. coli* -bakteerien suhteellinen osuus liete- ja kuivikelannassa oli pieni, korkeintaan 3 %, mikä antaisi olettaa myös tilalta lannan peltolevitysten mukana leviävien resistenttien suolistobakteerien määrän olevan vähäinen. Toisaalta eläintilalta leviävien resistenttien suolistobakteerien määrän lisäksi myös niiden resistenssi-profiililla on merkitystä. Tutkimustilalla esiintyi myös moniresistenttiä *E. coli* -bakteerikantaa. Kattavampaa tietoa resistenttien suolistobakteerien esiintymisestä nautatilojen tai muiden tuotantoeläintilojen lannoissa ei toistaiseksi ole ja aiheutta olisi tarpeen tutkia tarkemmin Suomessa.

Suomessa on tutkittu myös lannalla lannoituksen vaikutuksia resistenssigeenien suhteelliseen osuuteen peltomaan mikrobiyhteisössä. Tutkimuksissa havaittiin resistenssigeenien suhteellisen osuuden runsastuvan peltomaassa lannalla lannoittamisen jälkeen, mutta laskevan lähelle lähtötasoa jo kuuden viikon kuluttua lannoituksesta (Ruuskanen ym., 2016; Muurinen ym., 2017). Vastaava väliaikainen runsastuminen on havaittu myös muissa maissa tehdyissä tutkimuksissa (ks. kohta 2.3.1).

Väliaikaisen runsastumisen lisäksi Tanskassa ja Alankomaissa on havaittu tapahtuneen myös resistenssigeenien pysyvää, vähittäistä runsastumista lannalla lannoitetuilla pelloilla vuosikymmenten kuluessa (Knapp ym., 2010; Graham ym., 2016). Suomessa vastaavaa tutkimusta ei ole tehty. Muurisen ym. (2017) tutkimuksissa ennen kevätlevityksiä otetuissa näytteissä resistenssigeenien osuus oli samaa tasoa kuin lannalla lannoittamattomissa pelloissa, mikä viittaa siihen, ettei pysyvää, vähäistä runsastumista tapahtunut. Tämä yksittäinen tutkimustulos ei kuitenkaan poissulje sitä, etteikö vähittäinen runsastuminen olisi mahdollista myös Suomessa.

Resistenssigeenien pysyvää runsastumista peltomaassa Suomessa voivat ehkäistä maaperän jäätyminen ja sulaminen talven aikana sekä lannan levityksen rajoittuminen kasvukaudelle (pääsääntöisesti 1.4.–31.10.) (Muurinen ym., 2017). Toisaalta on huomattava, että myös Tanskassa lämpötila laskee talvella nollan alapuolelle, mutta resistenssigeenien vähittäistä runsastumista peltomaissa tapahtui silti. Lisäksi ennusteiden mukaan ilmastomuutoksen myötä myös Suomessa pakkasjaksot tulevat vähenemään tulevina vuosikymmeninä (Molarius ym., 2010).

Lisäksi resistenssigeenien ja resistenttien suolistobakteerien lyhytaikaisellakin runsastumisella peltomaassa voi olla merkitystä resistenssin leviämisessä maatalousekosysteemien ulkopuolelle, luonnon eliöihin, minkä vuoksi tätä leviämisreittiä tulisi tutkia tarkemmin myös Suomessa (ks. kohta 6.4).

6.1.2 Vesistöt

Mikrobilääkejäämät

Mikrobilääkkeiden kulkeutumista pelloilta vesistöihin ei ole tutkittu Suomessa. Tässä tutkimuksessa mitattujen mikrobilääkkeiden pitoisuudet tutkimustilan lypsykarjan lietelannassa olivat pieniä. Koska niiden kulkeutumiseen kuitenkin vaikuttavat monet tekijät (ks. 2.3.1), tämän tutkimuksen perusteella ei voida arvioida, mikä mikrobilääkkeiden kulkeutumisriski lietelannan lannoitekäytöstä vesistöihin on. Lannoittamisessa käytetään erilaisia keinoja ravinnepäästöjen

minimoimiseksi (esim. levitys ennen kylvöä tai kasvustoon, jotta kasvi ottaisi vapautuvat ravinteet heti käyttöönsä). Vaikuttavatko nämä toimet mitenkään mikrobilääkkeiden mahdolliseen huuhtoutumiseen, on epäselvää. Lietelannassa mikrobilääkkeet laimenevat lypsykarjatiloiilla pesuvesiin ja levitysmääriä rajoitetaan, joten oletettavasti huuhtoumariski peltomaasta vesiin ei ole suuri, jollei tilalla esiinny erillistä suurta lääkintätarvetta.

Mikäli lääkittyjen eläinten lantaa kerätään erikseen kuivana lantana, kuten tällä tutkimustilalla sairaskarsinoista kuivikelantana, siinä voi olla korkeita pitoisuuksia mikrobilääkejäämiä. Tällaisen lannan käsittelyssä ja lannoitekäytössä mikrobilääkkeiden huuhtoumariski vesistöihin kasvaisi. Mikrobilääkejäämien huuhtoutumista vesistöihin lääkittyjen eläinten lannalla lannoitetuilta pelloilta tulisi tutkia tarkemmin.

Mikrobilääkeresistenssi

Suomessa resistenssitekijöiden on havaittu kulkeutuvan vain vähäisessä määrin sian ja naudan liotelannalla lannoitetuilta pelloilta läheisten ojen vesiin (Muurinen ym., 2017). Aihetta ei ole kuitenkaan tutkittu Suomessa juuri lainkaan ja esimerkiksi vaihtelevilla sääoloilla voi olla suuri vaikutus resistenssitekijöiden kulkeutumiseen vesistöihin (ks. 2.3.1), minkä vuoksi kulkeutumista on vaikea arvioida nykytiedoin.

6.1.3 Ilma

Yhdysvaltalaisilla perinteisen tuotantosuunnan lihakarjatiloiilla on todettu resistenssigeenien, resistenttien bakteerien ja mikrobilääkejäämien leviävän ilman mukana (McEachran ym., 2015; Sanchez ym., 2016). Lääkejäämien osalta tulokset ovat kuitenkin huonosti sovellettavissa suomalaiseen lypsykarjaan, sillä tuotantomuoto ja nautakarjojen koot eroavat suomalaisesta merkittävästi. Suomalaisia nautoja ei tavallisesti ryhmälääkitä lääkerehulla, josta mikrobilääkkeitä voisi pölistä ilmaan. Lääkittyjen nautojen kuivissa lannoissa mikrobilääkkeiden pöliseminen voisi tulla kyseeseen.

Resistenssigeenejä on todettu ilmanäytteistä yhdysvaltalaisella luomutuotantosuunnan lihanautatilalla (Sanchez ym., 2016). Ainakin mikrobilääkekäytön osalta luomutuotantosuunnan lihanautatila on paremmin verrannollinen suomalaisiin nautatiloihin kuin perinteisen tuotantosuunnan lihanautatila, sillä yhdysvaltalaisessa luomutuotannossa mikrobilääkkeiden käyttö kasvunestäjinä on kielletty; Euroopassa niiden käyttö on kielletty kaikissa tuotantomuodoissa. Näin ollen ei ole poissuljettua, etteikö suomalaistenkin nautatilojen pölyssä esiintyisi resistenttejä suolistobakteereita ja resistenssigeenejä. Aihetta tulisi tutkia tarkemmin Suomessa.

Kiinassa resistenssigeenejä sekä niitä mahdollisesti kantavia *E. coli* -bakteereita on todettu termofiilisesti prosessoidun, valmiin kompostin pakkaushuoneen ilmasta (Gao ym., 2018). Näin ollen myös prosessoidun lantatuotteen pöly voi levittää resistenssitekijöitä ilman välityksellä ja tällöin myös kaupallisia lannoitevalmisteita ostavat kuluttajat voivat mahdollisesti altistua niille. Suomessa prosessoidun lannan pölynäytteitä ei ole tutkittu, mutta ei ole poissuljettua, etteikö vastaavaa leviämistä ilman välityksellä voisi tapahtua myös Suomessa. Taulukkoon 22 on koottu arvio mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviämisestä maaperään, vesistöihin ja ilmaan sekä johtopäätöksiä ja tutkimustarpeita.

Taulukko 22. Arvio mikrobilääkejäämien ja resistanttien bakteerien leviämisteistä ja leviämisen toteutumisesta Suomessa sekä johtopäätöksiä ja tutkimustarpeita.

UHKA: mikrobilääkejäämien ja resistanttien suolistobakteerien leviäminen maaperään, vesistöihin ja ilmaan		Johtopäätökset ja tutkimustarpeet
Leviämis- reitti	Arvio uhan toteutumisesta Suomessa	
Maaperä	Mikrobilääkejäämät - Tähän mennessä suomalaisen lypsykarjan lietalannasta on todettu hyvin pieniä pitoisuuksia mikrobilääkejäämiä. Leviämismäärien perusteella ei kuitenkaan voi tehdä arviota mikrobilääkepitoisuuksista peltoomassa, joten uhan toteutumista ei voi arvioida nykytiedoin. - Lääkittyjen nautojen sonnassa ja virtsassa mikrobilääkepitoisuudet ovat hyvin korkeita, jolloin erityisesti niistä muodostuvassa kuivikelannassa pitoisuudet voivat olla korkeita. - Kuivikelannassa mikrobilääke voi olla hyvin epätasaisesti jakautunut ja siten aiheuttaa paikallisesti korkean pitoisuuden maaperässä. Mikrobilääkeresistenssi - Tässä tutkimuksessa tarkastellulla lypsykarjatilalla resistanttien suolistobakteerien suhteellinen osuus liete- ja kuivikelannassa oli pieni, mutta tilalla esiintyvi useita moniresistentejä suolistobakteerikantoja, jotka voivat levitä pelloille lannanlevitysten mukana. - Resistenssigeenien on todettu hetkellisesti runsastuvan lannalla lannoitetussa peltoomassa Suomessa. Pitkäaikaista runsastumista ei ole tutkittu. - Resistenssigeenien on todettu runsastuvan lannassa varastoinnin aikana Suomessa.	- Oletettavasti suurin uhkatekijä on laimenematon lääkittyjen eläinten (kuiva)lanta, jonka lannoitekäyttö voi levittää korkeita paikallisia pitoisuuksia mikrobilääkkeitä peltoomaahan. Sen peltolevitysten vaikutuksia mikrobilääkejäämien, resistenttien suolistobakteerien ja resistenssigeenien pitoisuuksiin ja osuuksiin peltoomassa tulisi tutkia tarkemmin Suomessa. - Lyhytaikainenkin resistenssitestijöiden ja resistanttien suolistobakteerien runsastuminen peltoomassa voi altistaa luonnoneliöt niille. Resistanttien suolistobakteerien esiintymistä tuotantolähtien pelloille levitetävissä lannoissa tulisi tutkia kattavasti Suomessa eri eläimillä. - Lääkittyjen eläinten (kuivasta) lannasta voi teoriassa valua ja huuhtoutua paikallisesti sekä korkeampia mikrobilääkepitoisuuksia että resistentejä suolistobakteereita. Lietelannalla merkittävien mikrobilääkepitoisuuksien kulkeutuminen vesistöihin vaikuttaa epätodennäköisemmältä, mutta uhan poissulkemiseksi aihetta tulisi tutkia tarkemmin Suomessa. - Resistenssigeenien kulkeutuminen lannalla lannoitetulta pelloilta vesistöihin vaikuttaa vähäiseltä, mutta esimerkiksi vaihtelevien sääolojen (sateisuus) vaikutuksia kulkeutumiseen Suomessa ei tunneta.
Vesistöt	Mikrobilääkejäämät - Mikrobilääkejäämien pitoisuudet jäävät lietalannassa laimenemisen vuoksi alhaisiksi, mutta kulkeutumista vesistöihin on silti nykytiedoilla vaikea arvioida; se voi olla mikrobilääkekohtaista ja riippuu tautitilanteesta ja tilan lääkitysmistatuksesta. Uhan toteutumista ei voi arvioida nykytiedoin. - Lääkittyjen nautojen sonnassa ja virtsassa mikrobilääkepitoisuudet ovat hyvin korkeita, jolloin niistä muodostuvassa (kuivassa) lannassa ne voivat myös olla korkeita. Tällöin niitä voi lannoitekäytössä teoriassa valua ja huuhtoutua suurempia määriä vesistöihin. Uhan toteutuminen ei ole poissuljettua. Mikrobilääkeresistenssi - Suomessa nautaan lietalannalla lannoitettujen peltujen oja- ja vesistöissä resistenssigeenien osuuden on todettu runsastuneen vain vähän. Muualla tehtyjen tutkimusten mukaan sateisuudella on vaikutusta resistenssigeenien kulkeutumiseen vesistöihin. Uhan toteutumista ei voi arvioida nykytiedoin.	Resistenssigeenien kulkeutuminen lannalla lannoitetulta pelloilta vesistöihin vaikuttaa vähäiseltä, mutta esimerkiksi vaihtelevien sääolojen (sateisuus) vaikutuksia kulkeutumiseen Suomessa ei tunneta.
Ilma	Mikrobilääkejäämät - Yhdysvalloissa mikrobilääkejäämien on todettu leviävän ilman välityksellä, mutta tutkimus on huonosti sovellettavissa Suomeen. Suomessa aihetta ei ole tutkittu. Uhan toteutuminen epätodennäköistä, muttei poissuljettua. Mikrobilääkeresistenssi - Yhdysvaltalaisilla nautatiloilla resistentejä bakteereita ja resistenssitestijöitä on todettu ilmasta ja tutkimus on jossain määrin sovellettavissa Suomeen. Suomessa aihetta ei ole tutkittu. Uhan toteutuminen ei ole poissuljettua. - Kinassa resistenssitestijöitä on todettu valmiin kompostin pakkaamon ilmasta, eikä ole poissuljettua, etteikö vastaavaa kulkeutumista voisi tapahtua myös Suomessa. Suomessa aihetta ei ole tutkittu. Uhan toteutuminen on mahdollista.	- Mikrobilääkejäämien leviämistä ilman hiukkasten mukana voidaan pitää epätodennäköisenä lietalantajärjestelmissä. Kuivien lantojen käsittelyn yhteydessä pölyäminen on teoriassa mahdollista. - Resistanttien suolistobakteerien leviäminen ilman hiukkasten välityksellä kuivaa lantaa ja lannoitevalmisteita käsitellessä voi teoriassa olla mahdollista myös suomalaisilla nautatiloilla, minkä vuoksi aihetta tulisi tutkia tarkemmin Suomessa.

6.3 Mikrobilääkejäämien ekotoksikologiset vaikutukset eliöstöön Suomessa

Lannan peltolevitysten mukana ympäristöön leviävistä mikrobilääkejäämistä voi aiheutua ekotoksikologisia vaikutuksia eliöstöön. Akuutin toksisuuden vaaraa kasveille ja maaperäeliöille pidetään kuitenkin pienenä, sillä yleisesti ottaen ympäristöön lannan mukana levinneet mikrobilääkepitoisuudet ovat olleet matalia ja lanta laimenee maaperään sekoittuessaan (Kumar ym., 2005a; Marttinen ym., 2014). Krooniset haitat eivät kuitenkaan ole poissuljettuja.

Suomalaistutkimuksessa lypsykarjan lietelannasta toistaiseksi mitatut mikrobilääkepitoisuudet ovat olleet niin matalia, että niiden aiheuttama akuutin toksisuuden vaara eliöille voidaan arvioida epätodennäköiseksi. Toisaalta ne saattavat kuitenkin vaikuttaa eliöiden mikrobiomiin, millä voi olla arvaamattomia vaikutuksia esimerkiksi niiden tarjoamille ekosysteemipalveluille (ks. 2.3.2). Lääkittyjen eläinten huonosti sekoittuneissa, kuivissa lannoissa pitoisuudet voivat kuitenkin teoriassa olla niin korkeita, että paikallisen haitan syntyminen eliöstölle on mahdollista. Lisäksi on huomioitava, ettei lantojen mikrobilääkepitoisuuksia ole erilaisissa tuotantosunnissa ja erilaisissa olosuhteissa Suomessa juurikaan tutkittu, vaan tulokset perustuvat rajalliseen määrään näytteitä ja tiloja.

6.3.1 Vesi- ja maaeläimet

Kuten osiossa 6.1.2 todettiin, mikrobilääkejäämien kulkeutumista pelloilta vesistöihin ei ole tutkittu Suomessa. Vesistöihin voi kuitenkin teoriassa huuhtoutua mikrobilääkkeitä, kun lääkittyjen eläinten (kuivaa) lantaa levitetään pelloille. Tällöin ne voivat aiheuttaa ekotoksikologisia vaikutuksia vesieliöihin, jotka ovat muutenkin erityisen alttiita ympäristön haitta-aineille. Tällöin myöskään maaeläinten altistuminen mikrobilääkejäämille niiden juoman veden välityksellä ei ole poissuljettua. Mikrobilääkkeiden huuhtoutumista lääkittyjen eläinten lannalla lannoitetulta pellolta vesistöihin tulisi tutkia tarkemmin Suomessa, jotta voitaisiin arvioida niistä aiheutuvia riskejä vesi- ja maaeläimille.

6.3.2 Hyönteiset

Lantaa hajottavat ja siinä lisääntyvät hyönteiset altistuvat lannassa oleville mikrobilääkkeille, jotka vaikuttavat niiden mikrobistoon (Hammer ym., 2016). Uhan vakavuus voi vaihdella riippuen lantatyypistä ja sen sisältämistä mikrobilääkemääristä. Toistaiseksi lietelannasta mitatut pitoisuudet ovat olleet pieniä, mutta lääkittyjen eläinten (kuivissa) lannoissa ne voivat teoriassa olla korkeita. Myös laiduntavien lääkittyjen eläinten sonta ja virtsa voivat vaikuttaa laitumen hyönteisiin. Hyönteisten altistumista lääkittyjen eläinten lannalle tulisi pyrkiä estämään, jotta niiden tarjoamat ekosysteemipalvelut eivät vaarantuisi.

6.3.3 Kasvit

Mikrobilääkejäämien kertymistä kasveihin lypsykarjan lietelannalla lannoitetusta peltomaasta ei ole tutkittu Suomessa. Suomalaisen lypsykarjan lietelannasta mitatut mikrobilääkepitoisuudet ovat kuitenkin olleet toistaiseksi hyvin pieniä, ja lannan sekoittuessa kasvualustaan sen mikrobilääkepitoisuus edelleen laskee. Lisäksi mikrobilääkkeiden kertymisaste vaikuttaa olevan pieni. Esimerkiksi Kumar ym. (2005b) kokeessa kertymisaste oli 0,3–1 %, (2–17 µg/kg), kun kasvualustan klooritetrasyklinipitoisuus oli 300 µg/kg ja lannoitteena käytetyn lannan mikrobilääkepitoisuus korkea, 25 000–125 000 µg/kg. Kertymisasteen ollessa näin pieni, on

todennäköisyys korkeiden mikrobilääkejäämäpitoisuuksien päätymisestä syötäviin kasveihin normaalissa tautitilanteessa olevan suomalaisen lypsykarjatilän lietelannan lannoitekäytössä vähäinen.

Lääkittyjen eläinten lantaa käytetään lannoitukseen ja myös orgaanisten lannoitevalmisteiden raaka-aineena Suomessa. Lääkittyjen eläinten (kuivissa) lannoissa ja erilliskerätyssä virtsassa mikrobilääkepitoisuudet voivat kuitenkin olla niin korkeita, että merkittävä kertyminen kasveihin on lannoitekäytön myötä mahdollista. Tässä projektissa oksitetrasykliinillä lääkityn naudan virtsassa oksitetrasykliiniä todettiin 610 000 µg/kg, sonnassa 11 000 µg/kg, jolloin niistä muodostuvassa lannassa mikrobilääkepitoisuus voi olla hyvin korkea. Lääkittyjen eläinten lannan lannoitekäytöstä aiheutuvia riskejä tulisi tutkia tarkemmin Suomessa kaikessa kotieläintuotannossa.

On myös huomattava, että mikrobilääkkeiden kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet vaihtelevat mikrobilääkeryhmittäin. Koska ominaisuuksilla on vaikutusta mikrobilääkkeiden kulkeutumiseen vesifaasissa (ks. 2.3.1), myös mikrobilääkkeiden kertyminen kasveihin voi vaihdella mikrobilääkeryhmittäin ja kasvilajeittain.

Kuluttajien terveyden näkökulmasta merkityksellisimpiä ovat ruoan mikrobilääkejäämien mahdollisesti aiheuttamat allergiset reaktiot sekä vaikutukset suoliston mikrobiomiin (Zhang ym., 2016). Kasvinviljelijöiden näkökulmasta taas on syytä huomioida myös mikrobilääkkeiden kasvua heikentävät vaikutukset (Kumar ym., 2005a; Tasho & Cho, 2016). Taulukkoon 23 on koottu arvio mikrobilääkejäämien ekotoksikologisista vaikutuksista eliöstöön sekä johtopäätöksiä ja tutkimustarpeita.

Taulukko 23. Arvio mikrobilääkejäämien ekotoksikologisista vaikutuksista eliöstöön ja sen toteutumisesta Suomessa sekä johtopäätöksiä ja tutkimustarpeita.

UHKA: mikrobilääkejäämien ekotoksikologiset vaikutukset eliöstöön		
Uhan kohde	Arvio uhan toteutumisesta Suomessa	Tutkimustarpeet ja johtopäätökset
Vesi- ja maaeläimet	Aihetta ei ole tutkittu Suomessa. Lypsykarjan lietelannan lannoitekäytöstä ei aiheutune akuutin toksisuuden vaaraa. Vesistöihin voi kuitenkin teoriassa huuhtoutua paikallisesti korkeahkoja pitoisuuksia mikrobilääkkeitä, kun lääkittyjen eläinten (kuiva) lantaa levitetään pelloille. Tällöin on mahdollista, että etenkin vesieliöille voi aiheutua ekotoksikologisia vaikutuksia. Uhan toteutuminen Suomessa on mahdollista.	Mikrobilääkkeiden huuhtoutumista lääkittyjen eläinten lannalla lannoitetulta pelloilta vesistöihin tulisi tutkia tarkemmin Suomessa.
Hyönteiset	- Toistaiseksi suomalaisen lypsykarjan lietelannasta mitatut mikrobilääkepitoisuudet ovat olleet pieniä. On kuitenkin mahdollista, että pienetkin mikrobilääkepitoisuudet vaikuttavat hyönteisten mikrobistoon. - Lääkittyjen eläinten (kuiva) lannassa mikrobilääkepitoisuudet voivat olla korkeita ja niiden aiheuttaman uhan vakavuus ja todennäköisyys ovat vastaavasti suurempia. Myös laiturille jäävän sonnan ja virtsan vaikutus on epäselvä.	Hyönteisten altistumista lääkittyjen eläinten lannalle tulisi pyrkiä estämään, jotta niiden tarjoamat ekosysteempipalvelut eivät vaarantuisi.
Kasvit / kasveja syövät ihmiset ja eläimet	- Toistaiseksi suomalaisen lypsykarjan lietelannasta mitatut mikrobilääkepitoisuudet ovat olleet niin pieniä, että niiden kertymistä kasveihin merkittävässä määrin voi pitää epätodennäköisenä. Uhan toteutuminen Suomessa vaikuttaa epätodennäköiseltä. - Lääkittyjen eläinten (kuivissa) lannoissa mikrobilääkepitoisuudet voivat teoriassa olla niin korkeita, että niitä voi kertyä merkittävässä määrin kasveihin. Uhan toteutuminen Suomessa mahdollista, mutta vaatii lisätutkimusta.	Mikrobilääkejäämien kertymistä kasveihin lääkittyjen eläinten (kuivista) lannoista tulisi tutkia tarkemmin Suomessa ja niiden käyttöä lannoitukseen tulisi arvioida kriittisesti.

6.4 Mikrobilääkeresistenssin leviäminen eliöstöön ja sen välityksellä Suomessa

Resistentit suolistobakteerit voivat levitä luonnoneläinten, hyönteisten ja kasvien välityksellä maatalousekosysteemeissä ja niiden ulkopuolella, jolloin myös ihmiset ja tuotantoeläimet voivat altistua niille (ks. 2.3.3). Suomessa aihetta on kuitenkin tutkittu vasta vähän.

6.4.1 Maaeläimet ja hyönteiset

Etenkin hyönteisillä ja linnuilla voi olla merkittävä rooli resistenttien suolistobakteerien levittämisessä eläintiloilta muihin ympäristöihin ja lähelle ihmistä (Zurek & Ghosh, 2014; Wang ym., 2017b). Suomalaisessa HAITTAELÄIN-hankkeessa (Ruokavirasto, Luke, 2017–2019) tutkitaan zoonoottisten patogeenien ja resistenttien suolistobakteerien esiintymistä tuotantoeläintiloilta pyydytyillä jysijöillä ja hyönteisillä. Hanke on vielä kesken, mutta jo nyt on havaittu, että suurilta tiloilta on jäänyt ppydyksiin enemmän jysijöitä kuin pieniltä, mikä osoittaa, etteivät suurempien tilojenkaan hygieniakäytännöt estä haittaeläinten pääsyä tiloihin (Maaseudun Tulevaisuus, 23.5.2018). Ilmastomuutoksen myötä Suomeen voi levitä myös uusia eläintauteja (Molarius ym., 2010), joita haittaeläimet voivat edelleen levittää.

Resistenttien suolistobakteereihin leviämistä luonnon eläinten ja hyönteisten välityksellä voidaan pyrkiä torjumaan estämällä niiden pääsy eläinsuojiin ja lantaloihin. Ympäristösyistä nitraattidirektiiviä toimeenpanemaan asetukseen (VnA 1250/2014) on lisätty vaade uusien lantaloiden kattamisesta, mikä voi myös ehkäistä eläinten ja hyönteisten altistumista lannan resistentille suolistobakteereille. Kuivalantaloiden kattaminen tosin tarkoittaa pääasiassa vain muutoin avointa sadesuojaa, jonka alle eläimet pääsevät edelleen. Lietelantalat voidaan kattaa tiiviimmin. Mikäli mahdollista, katteiden valinnassa on suositeltavaa huomioida myös eläinten ja hyönteisten pääsyn estäminen lantaloihin.

Linnut voivat altistua resistentille suolistobakteereille myös pelloilla, joille on levitetty lantaa. Suomessa lantaa levitetään pelloille lintujen muuttoaikaan huhti-toukokuussa ja syys-lokakuussa. Lannan levittämisen yhteydessä multaaminen ja kylvö houkuttavat lintuja pelloille ruokaa etsimään. Altistuneet linnut voivat levittää resistenttejä suolistobakteereita ulosteidensa mukana edelleen lähemmäs ihmisasutusta. Lisäksi muuttolinnut voivat kantaa ja levittää resistenttejä suolistobakteereita, jotka ovat peräisin ulkomaisilta eläintiloilta.

Llarena ym. (2015) tutkivat kampylobakteereita ja niiden resistenssiä Helsingin seudulla valkuposkivanhanhista, jotka tavallisesti laskeutuvat pelloille. Niistä eristettyjen kampylobakteerien todettiin eroavan geneettisesti suomalaisista tuotantoeläimistä ja ihmisistä eristetyistä kannoista. Jopa 25 %:ssa eristetyistä kampylobakteereista todettiin alentunutta herkkyyttä siprofloksasiinille, mutta kannoilta ei kuitenkaan löytynyt varmistustesteissä geneettistä mutaatioista aiheutuvaa selitystä. Helsingin yliopiston eläinlääketieteellisessä tiedekunnassa on parhaillaan käynnissä tutkimus, jossa kartoitetaan useille mikrobilääkkeille resistenttien, laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä tuottavien ESBL-bakteerien esiintymistä hanhien ulosteissa.

6.4.2 Kasvit

Lannan peltolevitysten seurauksena resistenttejä suolistobakteereita voi teoriassa päätyä rehuihin, jos lanta on levitetty kasvustoon liian lähellä sadonkorjuuta tai levitys on tehty siten, että lantaa jää kasvin pintaan. Resistenssin leviämistä pelloilta rehun välityksellä voidaan kuitenkin pitää epätodennäköisenä tartuntareittinä verrattuna eläinten välillä eläinsuojassa tapahtuviin tartuntoihin.

Suomessa ympäristö- ja hygieniasyistä sovellettavat lannanlevityksen rajoitukset ja suositukset voivat vähentää myös resistenttien suolistobakteerien päätymistä viljoihin ja nurmikasveihin. Lannoitus suositellaan tehtäväksi keväällä tai syksyllä ennen kylvöä pintalevitystä välttämällä. Kasvustolevityksessä letkulevityskin vähentää kasvuston likaantumista lannalla.

On olemassa tieteellistä näyttöä, että ihmiset voivat saada resistenttejä bakteereita kasviksista (FAO/WHO, 2018). Evisa tutki ESBL/AmpC *E. coli* -bakteerien esiintymistä vähittäismyynnin sellaisenaan syötävissä, pakatuissa lehtivihanneksissa vuonna 2017 toteutetussa projektissa (Zoonosikeskus, 2019). Yhteensä tutkittiin 102 vähittäismyynnistä otettua näytettä, joiden joukossa oli sekä kotimaassa että ulkomailla kasvatettuja ja pakattuja kasviksia. Yhdestä näytteestä (1 %) todettiin ESBL:n kaltainen AmpC *E. coli*. Vaikka resistenttien suolistobakteerien esiintyminen oli hyvin vähäistä, tutkimus osoitti, että sellaisenaan syötävät kasvikset voivat teoriassa toimia niiden välittäjänä ihmisiin myös Suomessa. Projektissa ei kuitenkaan määritetty kasviksissa olevaa ESBL-bakteerien määrää, eikä niille toisaalta ole määritetty kantajuuteen johtavaa annosta, jolloin niistä aiheutuvaa vaaraa kuluttajalle on vaikea arvioida. Myöskään saastumisen alkuperä ei ole tiedossa.

Suomessa kasvatettujen, sellaisenaan syötävien kasvien kasteluun käytettävälle vedelle on asetettu alkutuotantoasetuksessa (MMM 1368/2011) laatuvaatimukset, joiden mukaan vesi ei saa sisältää *E. coli* -bakteeria yli 300 pmy/100 ml ja suolistoperäisiä enterokokkeja yli 200 pmy/100 ml, paitsi jos kasvatus tehdään altakasteluna. Tämä vähentää resistenttien suolistobakteerien leviämistä kasteluveden mukana kasvien pinnoille, mutta ei poista leviämisen uhkaa täysin. Lisäksi kasvien sisäosiin voi myös päätyä resistenttejä bakteereita kasvualustasta (Zhang ym., 2017).

Ulkomailla myös saastuneita pintavesiä saatetaan käyttää kasteluun, jolloin tuontikasvien pinnoilla voi esiintyä resistenttejä suolistobakteereita. Resistentsien bakteerien esiintymistä kolmansista maista tuotavissa elintarvikkeissa tutkitaan tarkemmin Helsingin yliopiston, Eviran ja Tullilaboratorion vuonna 2018 käynnistyneessä hankkeessa.

Kasvualustojen valmistamiseen voidaan käyttää lantaa, joka ennen hygienisointikäsittelyä usein sisältää resistenttejä suolistobakteereita. Lannoitevalmisteasetuksen (MMM 24/11) mukaan valmiissa kasvualustassa saa esiintyä *E. coli* -bakteereita enintään 1 000 pmy/g tai 100 pmy/g ammattimaiseen kasvihuoneviljelyyn käytetyissä tuotteissa. Resistentsien suolistobakteerien esiintymistä lannoitevalmisteissa ei kuitenkaan valvota tai ole tutkittu Suomessa. Taulukko 24 on koottu arvio mikrobilääkeresistenssin leviämisestä eliöstöön sekä johtopäätöksiä ja tutkimustarpeita.

Taulukko 24. Arvio mikrobilääkeresistenssin leviämisestä eliöstöön ja sen toteutumisesta Suomessa sekä johtopäätöksiä ja tutkimustarpeita.

UHKA: mikrobilääkeresistenssin leviäminen eliöstöön ja sen välityksellä		
Leviämisreitti	Arvio uhan toteutumisesta Suomessa	Tutkimustarpeet ja johtopäätökset
Maaeläimet	- Haittaeläimillä voi olla merkitystä resistenttien suolistobakteerien leviämiseen eläintilojen ulkopuolelle myös Suomessa, sillä niitä pääsee karjasuojien sisätiloihin ja kosketuksiin lannan kanssa. Suomessa niiden kantamista resistentteistä suolistobakteereista ei kuitenkaan ole vielä julkaistua tutkimustietoa. Uhan todennäköisyyttä ei voi arvioida nykytiedoin. - Maailmalla muuttolintujen on todettu leviävän resistenttejä suolistobakteereita. Suomessa muuttolinnuista on tutkittu toistaiseksi vain <i>C. jejuni</i> -bakteerin mikrobilääkeresistenssiä, eikä sitä todettu. Uhan todennäköisyyttä ei voi arvioida nykytiedoin.	- Haittaeläinten leviämistä resistentistä suolistobakteereista ja zoonoosista on käynnissä tutkimusta Suomessa. Niiden pääsyn estäminen eläinsuojiin ehkäisee myös niiden altistumista resistentteille suolistobakteereille. - Muuttolintujen leviämät resistentit suolistobakteerit ovat tunnistettu uhka, josta on parhaillaan käynnissä tutkimusta Suomessa.
Hyönteiset	Maailmalla hyönteisten on todettu leviävän mikrobilääkeresistenssiä eläintiloilta ihmisiin; Suomen tilanteesta ei toistaiseksi ole tietoa. Uhan todennäköisyyttä ei voi arvioida nykytiedoin.	- Resistenttien suolistobakteerien leviäminen eläintiloilta hyönteisten välityksellä on tunnistettu uhka, josta on parhaillaan käynnissä tutkimusta myös Suomessa. - Lantaloiden tiivis kattaminen voi vähentää hyönteisten altistumista resistentteille suolistobakteereille.
Kasvit	Tuotantoeläimet - Suomessa lannanlevityksen rajoitukset ja suositukset voivat vähentää resistenttien suolistobakteerien päätymistä rehukasveihin ja niiden välityksellä tuotantoeläimiin. Aihetta ei ole kuitenkaan tutkittu Suomessa. Uhan todennäköisyyttä ei voi arvioida nykytiedoin. Kuluttajat - Lantaa ja yhdyskuntajätevesilietettä sisältävät kasvuvalustat voivat sisältää resistenttejä suolistobakteereita ja olla mahdollinen uhka elintarviketurvallisuudelle, kun niissä kasvatetaan sellaisenaan syötäviä kasviksia. Resistenttien suolistobakteerien esiintymistä lannoitevalmisteissa ei ole tutkittu Suomessa. Uhan todennäköisyyttä ei voi arvioida nykytiedoin. - Suomessa lehtivihanneksista on todettu AmpC <i>E. coli</i>, mutta bakteerisaastutuksen määrä tai alkuperä ei ole tiedossa. Uhka on olemassa myös Suomessa.	- Mikäli lannanlevitykseen liittyviä suosituksia ja rajoituksia noudatetaan, resistenttien suolistobakteerien päätymistä rehujen kautta tuotantoeläimiin voidaan pitää epätodennäköisenä ja tartuntareittiä verrattain vähäisenä. - Resistenttien suolistobakteerien päätyminen sellaisenaan syötäviin kasviksiin ja ihmisten altistuminen niiden kautta on tunnistettu uhka, jonka todennäköisyys Suomessa on toistaiseksi pieni. Kierätyksilannoitteiden käytön lisääminen voi kuitenkin lisätä uhan todennäköisyyttä. Uhan vakavuutta ei ole toistaiseksi pystytty arvioimaan.

7 Lannan vaihtoehtoisten käsittelytapojen elinkaariset ympäristövaikutukset

Tässä osiossa esitellään yhteenveto lannan vaihtoehtoisista prosessointitavoista ja niiden elinkaarisista ympäristövaikutuksista, pääpainon ollessa lietelannassa. Prosessointimenetelmien vaikutuksia verrataan tavanomaiseen lannankäsittelyyn, jossa lanta eläinsuojasta poistamisen jälkeen varastoidaan lietealtaassa, ja keskimäärin noin puolen vuoden varastointiajan jälkeen levitetään peltoon. Tarkastelussa keskitytään lannan tyypillisimpiin prosessointimenetelmiin, kuten separointiin, mädätykseen ja kompostointiin, koska niistä on ympäristövaikutustietoja parhaiten saatavilla ja ne ovat yleisimmin käytettäviä käsittelymenetelmiä.

Kuten luvussa 2.4.4 esitettiin, prosessointimenetelmiä voi olla myös useita peräkkäin, ja prosessointiketjun loppupäässä voi olla hyvin pitkälle vietyjä ravinteiden erottelumenetelmiä. Täten erilaisia prosessointikombinaatioita voi olla lukuisia erilaisia. Tässä yhteydessä keskitytään vain tilatasolla yleisimpiin kombinaatioihin.

7.1 Biologiset prosessit

Näissä prosesseissa hyödynnetään mikrobeja hajottamaan, poistamaan, stabiloimaan ja/ tai muuntamaan eloperäistä materiaalia toiseen, haluttuun muotoon hallituissa olosuhteissa. Yleisimmät käytettävät menetelmät ovat mädätys ja kompostointi.

7.1.1 Mädätys eli biokaasutus

Mädätys on orgaanisen aineksen anaerobisissa eli hapettomissa olosuhteissa tapahtuvaa hajoamista. Se voidaan toteuttaa esimerkiksi jatkuvatoimisena, täyssekoitteisena märkäprosessina. Kuivemmille materiaaleille on myös tarjolla omat tekniset ratkaisunsa, kuten tulppavirtaukseen perustuva menetelmä. Yleensä märkäprosessia seuraa jälkikaasutusallas, josta otetaan talteen muodostuvaa jälkikaasua ja estetään samalla metaanin pääsy ilmakehään (Luostarinen ym., 2011b).

Mädätyksessä syntyy pääasiassa humusta sisältävää kiintoainetta eli mädätysjäännöstä sekä biokaasua, hiilidioksidin ja metaanin seosta, joka voidaan hyödyntää energiana. Käsitteltävän materiaalin orgaanisesta aineesta hajoaa tyypillisesti 40–70 % biokaasuprosessin aikana riippuen materiaalin hajoavuudesta ja mädätysolosuhteista.

Mädätysjäännös sisältää syötteiden alkuperäiset ravinteet ja hivenaineet. Fosfori, kalium ja muut hivenaineet eivät juuri muunnu prosessissa. Merkittävin muutos on, kun osa lannan orgaanisesta tyydestä muuttuu kasveille helposti hyödynnettäväksi ammoniumtypeksi. Lantojen liukoisien typen määrä lisääntyy keskimäärin noin 20–30 % (Luostarinen ym., 2011b).

Koska liukoisien typen osuus on suurempi mädätysjäännöksessä, se tulee varastoida katetussa varastossa tai levittää nopeasti peltoon, jotta typen haihtuminen ilmaan voidaan minimoida ja kasveille käyttökelpoisen typen osuus pysyy mahdollisimman suurena. Levityksessä tulee käyttää typen haihtumista minimoivia menetelmiä. Jäännöksen korkeampi liukoisien typen pitoisuus voi

vähentää lisätyppilannoituksen tarvetta ja siten alentaa mineraalilannoitteiden käyttötarvetta. Lantatypen mineralisoituminen biokaasuprosessissa nostaa huuhtoutumiselle välittömästi alttiin typen määrää. Tästä syystä erityisesti jäännöksen syyslevitystä on syytä välttää, varsinkin mikäli levityksen jälkeen ei kylvetä syyskylvöistä kasvia. Toisaalta lannan typen liukoistuminen vähentää typpikuormitusriskiä vesiin, koska lannan liukoisen typen määrän lisääntyessä korvataan mineraalityppeä, ja koska peltoon levitetyn mineraalityppikilon huuhtoutumisriski on pienemmän typen haihtumisen takia liukoista lantatyppikiloa suurempi (Luostarinen ym., 2016). Biokaasuprosessi vähentää lannankäsittelyn elinkaarisia ilmastovaikutuksia (esim. Luostarinen ym., 2011a; Luostarinen ym., 2016) vähentämällä lannan metaanipäästöjä. Prosessoimattoman lietelannan metaanipäästöt tonnia kohden ovat suuremmat kuin jäännöksen päästöt samalla varastointijaksolla. Mädätysprosessista vapautuvat metaanipäästöt on mahdollista hallita hyvillä käytännöillä (riittävän pitkä viipymä biokaasuprosessissa ja metaanivuotojen hallinta), eivätkä ne siten nosta merkittävästi kokonaisilmastovaikutuksia. Olennainen biokaasulaitoksen metaanipäästöihin vaikuttava tekijä on katettu jälkikaasutus, sillä noin 10–20 % maatilakohtaisen biokaasulaitoksen metaanintuotosta voidaan saavuttaa varastoimalla jäännös katetussa, kaasunkeräyksellä varustetussa jälkikaasutusaltaassa (Lehtomäki ym. 2007; MTT Raportti 113). Tuotetulla biokaasulla voidaan korvata fossiilisia polttoaineita ja niillä tuotettua lämpöä, sähköä ja/tai liikennepolttoainetta. Päästösäästö riippuu siitä, kuinka hyvin biokaasu voidaan hyödyntää energiantuotannossa, mitä fossiilista polttoainetta biokaasu korvaa, ja kuinka hyvin biokaasulla tuotettu energia saadaan hyötykäyttöön. Mädätys vähentää myös lannasta aiheutuvia hajuhaittoja. Taulukkoon 25 on koottu mädätyksen positiivisia ja negatiivisia ympäristövaikutuksia.

Taulukko 25. Lannan mädätyksen eli biokaasutuksen ympäristövaikutuksia verrattuna raakalannan käsittelyyn.

Ympäristövaikutus	Positiiviset vaikutukset ympäristöön	Negatiiviset vaikutukset ympäristöön
Ilmastovaikutus	+ jäännöksen lyhyempi varastointiaika ja stabiilimpi orgaaninen aines vähentää kasvihuonekaasupäästöjä + jos biokaasu pystytään hyödyntämään tehokkaasti ja se korvaa fossiilisia polttoaineita, syntyy positiivisia ilmastovaikutuksia + raakalantaa suurempi liukoisen typen määrä voi korvata mineraalilannoitteita	- jos viipymä prosessissa ei ole riittävän pitkä ja/tai jälkikaasutus ei ole toteutettu asianmukaisesti, menetelmä saattaa lisätä ilmastovaikutusta
Rehevöityminen	+ orgaanisen typen määrä vähenee prosessissa, jolloin kasvukauden ulkopuolella mineralisoituvan typen määrä vähenee	- riski kasvaa, koska välittömästi huuhtoutumiselle ja haihtumiselle alttiin typen määrä kasvaa varsinkin, jos levitys suoritetaan aikana, jolloin kasvit eivät liukoisia ravinteita pysty hyödyntämään -> oikea-aikaisella levityksellä huuhtoutumisriski minimoitavissa
Happamoituminen		- riski ammoniakkipäästöjen kasvuun, koska liukoisen typen osuus on raakalantaa suurempi ja pH korkeampi -> oikeilla varastoinnin ja levityksen ratkaisuilla typpihävikki minimoitavissa
Energiankulutus	+ prosessi tuottaa energiaa	
Viihiytyisyys	+ lannan varastoinnin ja levityksen hajuhaitta pienenee	

7.1.2 Kuivien lantojen tai lietelannasta erotetun kuivajakeen kompostointi

Kompostoituminen on mikrobiologinen prosessi, jossa monilajinen mikrobien muodostama eliöyhteisö hajottaa eloperäistä materiaalia sopivan kosteissa, aerobisissa ja riittävän lämpöeristetyissä olosuhteissa siten, että lopputuotteiksi syntyy hiilidioksidiä, vettä, stabiilia humusainetta ja epäorgaanisia suoloja sisältävää kompostituotetta. Mikrobitoiminnan vaikutuksesta kompostoitavan materiaalin lämpötila kohoaa, mikä nopeuttaa hajoamisprosessia. Lämpöhuipun aikana saattaa haihtua huomattavia määriä ammoniakkia ja hiilidioksidiä. Prosessi vapauttaa orgaaniseen ainekseen sitoutuneita ravinteita ja tekee lannan helpommin käsiteltäväksi. Eläinperäisiä materiaaleja kompostoitaessa lämpötilan tulisi olla 70 °C koko massassa vähintään tunnin ajan hygienisoitumisen varmistamiseksi (Luostarinen ym., 2011b).

Lantaa voidaan kompostoida aumoissa tai suljetuissa kompostireaktoreissa, kuten tunneli- ja rumpukomposteissa. Suljettujen prosessien poistoilma on mahdollista ottaa talteen ja käsitellä esim. biosuotimessa haju- ja/tai ammoniakkipäästöjen ehkäisemiseksi. Ammoniakkityppi voidaan ottaa talteen kaasupesurissa. Kompostoinnin tavoite on tuottaa stabiilia, kypsää ja humusmaista kompostia. Valmis komposti ei haise, ei tuota kaasuja pakattuna eikä hajoa ja kuluta tyypeä merkittävästi sekoitettaessa esimerkiksi maaperään (Luostarinen ym., 2011b). Lietelantaan on lisättävä kuiviketta esimerkiksi turpeen ja silputun oljen seosta sen verran, että saavutetaan kompostoitumisen edellyttämä vähintään 20 %:n kuiva-ainepitoisuus, jolloin prosessi vastaa kuivalannan kompostointia (Palva ym., 2009). Näin ei yleensä kuitenkaan enää toimita, vaan kompostointia käytetään kuiville lannoille. Kompostoitumista edistää, kun käytetyt kuivikkeet tekevät lannan rakenteesta ilmavaa (Palva ym., 2009). Tarvittaessa voidaan käyttää myös erikseen tukiainetta.

Riittävä biohiilen lisääminen kompostoitavan massan sekaan saattaa vähentää kompostoinnista aiheutuvia ammoniakkipäästöjä ja nostaa samalla kompostin ammoniumtyypen määrää (mm. Malinska ym., 2014M; Vandeastele ym., 2016; Mäkinen, 2017). Taulukkoon 26 on koottu kompostoinnin positiivisia ja negatiivisia ympäristövaikutuksia.

Taulukko 26. Kuivien lantojen tai lietelannasta erotetun kuivajakeen kompostoinnin ympäristövaikutuksia verrattuna raakalannan käsittelyyn

Ympäristövaikutus	Positiiviset vaikutukset ympäristöön	Negatiiviset vaikutukset ympäristöön
Ilmastovaikutus		- lisää kasvihuonekaasupäästöjä
Rehevöityminen		- riski nitraattityypen huuhtoutumiselle kasvaa kompostin lannoitekäytössä
Happamoituminen	+ laitosmaisissa ratkaisuihin ammoniakkityppi otettavissa talteen	- ammoniakkipäästöt lisääntyvät, jollei ammoniakkia oteta talteen
Energiankulutus	+ lämpöenergiaa otettavissa talteen, mutta harvoin käytetty	- mahdolliset kaasupesurit ja ilmastus kuluttavat energiaa - massan sekoittaminen ja kääntäminen kuluttavat energiaa
Viihtyisyys	+ vähentää levityksestä aiheutuvaa hajuhaittaa	- huonosti toimiessaan kompostointi aiheuttaa hajuhaittoja

7.1.3 Ilmastus eli nestekompostointi

Ilmastusprosessit ovat yleisiä jätevesien käsittelyssä, ja niitä on käytetty myös lietelannan käsittelyyn. Prosessityyppejä on useita (Luostarinen ym., 2011b). Lietelannan ilmastuksella pyritään orgaanisen aineen hajottamiseen lannan tasalaatuistamiseksi. Ilman johtaminen lietteeseen käynnistää hajotustoiminnan, jonka päätuotteina syntyy hiilidioksidia, vettä ja lämpöä (Palva ym., 2009). Samalla hajut saattavat vähentyä, rikkakasvin siemenet tuhoutua ja kasvitoksisuus pienentyä. Ilmastus kuitenkin lisää typen hävikkiä ammoniakkipäästöjen muodossa (Luostarinen ym., 2011b). Ilmastus voidaan toteuttaa joko jatkuvatoimisesti tai panoksittain. Ilmastus tulee toteuttaa kannellisessa lietesäiliössä, josta poistoilma johdetaan suodattimeen ammoniakin talteen ottamiseksi. Prosessissa lannan lämpötila ei saa nousta yli +30 °C (Palva ym., 2009). Taulukkoon 27 on koottu ilmastuksen positiivisia ja negatiivisia ympäristövaikutuksia.

Taulukko 27. Lietelannan ilmastuksen eli nestekompostoinnin ympäristövaikutuksia verrattuna raakalannan käsittelyyn.

Ympäristövaikutus	Positiiviset vaikutukset ympäristöön	Negatiiviset vaikutukset ympäristöön
Ilmastovaikutus		- ilmastovaikutus kasvaa - orgaanisen aineksen hajoaminen prosessissa alentaa hiilinieluvaiikutusta, eli maahan potentiaalisesti varastoituvan hiilen määrää
Rehevöityminen		- riski nitraattityypin huuhtoutumisesta kasvaa lannoitekäytössä
Happamoituminen		- ammoniakkipäästöt lisääntyvät, jollei oteta talteen
Energiankulutus		- ilmastus kuluttaa energiaa
Viihtyisyys	+ vähentää levityksestä aiheutuvaa hajuhaittaa	- lisää varastoinnin aikaista hajuhaittaa

7.2 Kemialliset prosessit

7.2.1 Terminen kaasutus eli pyrolyysi

Pyrolyysissä biomassassa lämmitetään nopeasti pyrolyysilämpötilaan vähähappisissa olosuhteissa ja lopputuotteena syntyy biohiiltä, bioöljyä ja kaasuja. Menetelmää on käytetty hiilen ja puun muuntamiseksi kaasumaiseksi energiaksi, mutta prosessia kehitetään myös lannan ja muiden eloperäisten materiaalien käyttöön. Lietemäiset materiaalit, kuten lietelanta, separoidaan ensin mekaanisesti kuiva- ja nestejakeiksi. Kuivajakeita kuivataan edelleen esimerkiksi pelleteiksi (Luostarinen ym., 2011b). Pyrolyysissä biomassan tyyppiä vapautuu kaasuina, jotka voivat muodostaa NO_x-yhdisteitä (Raiko ym., 2002; Tian ym., 2013). Fosfori sitoutuu biohiileen ja sen määrä nousee pyrolyysilämpötilan kasvaessa (Azura ym., 2013). Maanparannusaineena biohiili voi vähentää maaperän N₂O-päästöjä (Cao & Pawlowski, 2013). Pyrolyysiprosessin hiilijalanjälkeä voidaan alentaa talteenottamalla pyrolyysissä muodostuva lämpö, käyttämällä pyrolyysikaasut prosessin lämmöntuotantoon ja korvaamalla bioöljyllä prosessin polttoöljyn tarvetta (Hospido ym., 2005). Taulukkoon 28 on koottu pyrolyysin positiivisia ja negatiivisia ympäristövaikutuksia.

Taulukko 28. Lietelannan termisen kaasutuksen eli pyrolyysin ympäristövaikutuksia verrattuna raakalannan käsittelyyn.

Ympäristövaikutus	Positiiviset vaikutukset ympäristöön	Negatiiviset vaikutukset ympäristöön
Ilmastovaikutus	+ massan kuljettamisesta aiheutuvat kasvihuonekaasupäästöt pienenevät	- prosessi aiheuttaa N ₂ O-päästöjä - käsiteltävän massan tyyppi (pääosin) menetetään ja fosforin käyttökelpoisuus kasveille voi heiketä, mikä lisää mineraalilannoitteiden tuotannon tarvetta - kokonaisuutena ilmastovaikutus kasvaa
Rehevöityminen	+ välitön riski voi aleta, koska lopputuotteessa on niukasti typpeä ja fosforin liukoisuus voi heiketä, tällöin puuttuvat ravinteet yleensä korvataan mineraalilannoitteilla, joiden käytöstä aiheutuva ravinnekuormitusriski on tyypillisesti orgaanisia lannoitteita pienempi	
Happamoituminen	+ varastoitavan ja levitettävän massan ammoniakkipäästöt vähenevät	- prosessista aiheutuu ammoniakkipäästöjä
Energiankulutus	+ massan kuljettamisen energiankulutus vähenee	- prosessi kuluttaa energiaa - massan kuivaus kuluttaa energiaa
Viihtyisyys	+ varastoitavan ja levitettävän massan haisevien yhdisteiden päästöt vähenevät	- prosessi saattaa aiheuttaa hajuja ympäristöön
Muuta		- käsiteltävän massan tyyppi (pääosin) menetetään ja fosforin käyttökelpoisuus kasveille voi heiketä, minkä takia mineraalilannoitteiden tuotantoa pitää lisätä -> ilmastovaikutuksen lisäksi monia negatiivisia heijastevaikutuksia ympäristöön, ml. uusiutumattomien luonnonvarojen käytön lisääntyminen

7.3 Fysikaaliset prosessit

7.3.1 Separointi eli erotusprosessit

Erotusprosesseissa lannan nestemäinen ja kiinteä aine erotetaan toisistaan mekaanisesti. Valtaosa lannan tyydestä jää nestemäiseen ja valtaosa fosforista kiinteään jakeeseen. Separoinnin jälkeen jakeet voidaan joko kuljettaa suoraan pellolle tai ohjata jatkoprosessointeihin (Paavola ym., 2016; Luostarinen ym. 2011a, 2011b; Lehtomäki ym., 2007). Lietelannan lisäksi voidaan separoida muitakin lietemäisiä massoja, kuten biokaasulaitoksen mädätysjännöstä. Jakeiden suhteelliset osuudet sekä niiden kuiva-ainepitoisuudet ja ravinnemäärät riippuvat oleellisesti käytetystä separointitekniikasta. Näitä prosesseja on useita ja ne voidaan jakaa kolmeen ryhmään toimintaperiaatteensa mukaan. Ominaispainoeroihin perustuvat menetelmät (laskeutus ja linkous), partikkelikokoon perustuvat menetelmät (seulat, suotonauhat, ruuvikuivaimet ja kalvotekniikat) sekä haihdutukseen ja kuivaukseen perustuvat menetelmät (Luostarinen ym., 2011b).

Separointi lisää riskiä varastoinnista syntyviin ammoniakkipäästöihin, sillä lietelantaan verrattuna ammoniakkipäästöpotentiaali on suurempi kuivajakeen kompostoitumisen vuoksi. Kuivajakeen varastointi esimerkiksi peitettynä aumassa vähentää ammoniakin haihtumista. Jos ammoniakkia pääsee haihtumaan kuivajakeen varastoinnista merkittäviä määriä (katetut/kattamattomat lantalat), peltoon levitettävän kuivajakeen ammoniumtyyppipitoisuus alenee, jolloin lannan levityksessä syntyvät typpihävikit voivat vähentyä. Toisaalta kuivajakeen lannoitusarvo on tällöin alhaisempi ja lisätyypeä voi tarvita mineraalilannoitteena.

Separoinnilla voidaan saavuttaa ilmastohyötyjä. Suurin muutos aiheutuu varastoinnissa tapahtuvissa päästöissä. Metaania muodostuu selvästi vähemmän kuivajakeesta kuin lietemäisistä lannoista. Vaikka separoitua lantaa kuljetettaisiin pidempiäkin matkoja, ei sen vaikutus koko lannankäsittelyketjun elinkaariin ilmastovaikutuksiin ole kovin merkittävä (Luostarinen ym., 2011a; Paavola ym., 2016).

Separoinnin elinkaarisia ympäristövaikutuksia voidaan edelleen alentaa ohjaamalla separoitu kuivajae biokaasuprosessiin. Tällöin separoidun kuivajakeen varastoinnissa tapahtuva kompostoituminen ja siitä aiheutuvat päästöt jäävät pois. Kuivajae on kuitenkin saatava laitokseen mahdollisimman tuoreeltaan. Biokaasulaitoksen käsittelyjäännöksessä liukoisen typen osuus on suurempi kuin raakalannassa, mutta jäännöksen separoitu kuivajae ei kompostoidu käsittelemättömän kuivajakeen tavoin, mikä vähentää ammoniakkin haihtumispotentiaalia. Samalla syntyy biokaasua, joka voi korvata fossiililla polttoaineilla tuotettua energiaa (Paavola ym., 2016). Taulukkoon 29 on koottu separoinnin positiivisia ja negatiivisia ympäristövaikutuksia.

Taulukko 29. Lannan separoinnin eli erotusprosessin ympäristövaikutuksia verrattuna raakalannan käsittelyyn.

Ympäristövaikutus	Positiiviset vaikutukset ympäristöön	Negatiiviset vaikutukset ympäristöön
Ilmastovaikutus	+ metaania muodostuu vähemmän	
Rehevöityminen	+ kuivajakeen varastoinnista haihtuva typpi pienentää huuhtoutumiselle alttiin typen määrää levityksen jälkeen. Vaikka typpivaje tyypillisesti korvataan mineraalilannoitteilla, nettovaikutus voi silti jäädä positiiviseksi mineraalilannoitteiden yleensä pienemmän huuhtoutumisriskin takia + fosforirikas kuivajae voidaan kuljettaa raakalietelantaa kauemmas ja levittää fosforiköyhille pelloille, jolloin fosforin huuhtoutumisriski pienenee	
Happamoituminen		- riski ammoniakkipäästöjen kasvusta varastoitessa ja levitettäessä
Energiankulutus		- kuluttaa jonkin verran energiaa
Viihtyisyys		- hajuvaikutus riippuu tuotettujen lantajakeiden käsittelytavoista

7.3.2 Poltto

Kuivia lantoja, kuten broilerin- ja hevoselantaa polttamalla voidaan ratkaista lannan loppusijoittamiseen liittyviä ongelmia, koska poltettaessa lannan määrä pienenee murto-osaan alkuperäisestä. Samalla lannan typpi menetetään, millä myös voi tietyillä alueilla olla loppusijoittamista helpottava vaikutus. Fosfori ja muut kivennäisaineet jäävät tuhkaan, joten lannoitteena tuhka voi näiden osalta korvata mineraalilannoitteita. Lantaa polttamalla voidaan tuottaa energiaa ja näin korvata muita energianlähteitä. Lannan poltosta aiheutuviin suoriin päästöihin vaikuttaa polttotekniikka ja savukaasujen puhdistustekniikka. Lannan poltolla voidaan välttää lannankäsittelyketjusta aiheutuvia päästöjä ilmaan ja vesiin. Poltettaessa lannan orgaaninen aines ja siten maanparannusvaikutus menetetään. Taulukkoon 30 on koottu polton positiivisia ja negatiivisia ympäristövaikutuksia.

Taulukko 30. Kuivan lannan polton ympäristövaikutuksia verrattuna raakalannan käsittelyyn.

Ympäristövaikutus	Positiiviset vaikutukset ympäristöön	Negatiiviset vaikutukset ympäristöön
Ilmastovaikutus	+ lannankäsittelystä aiheutuvat khk-päästöt vältetään + tuotetulla energialla voidaan korvata fossiilisia polttoaineita	- poltossa menetetetyt ravinteet on korvattava mineraalilannoitteilla, joiden tuotannosta aiheutuu khk-päästöjä - orgaaninen aines ei lisää peltomaan hiitä
Rehevöityminen	+ lannasta aiheutuvat välittömät päästöt vältetään + poltossa hävitetyt ravinteet korvataan mineraalilannoitteilla, joiden ravinteiden huuhtoutumisriski on yleensä lantaa pienempi.	
Happamoituminen	+ lannankäsittelystä aiheutuvat happamoittavat päästöt vältetään	- poltosta aiheutuvat päästöt riippuvat polttotekniikasta ja savukaasujen käsittelytekniikasta
Energiankulutus	+ tuottaa energiaa	
Viihtyisyys	+ vältetään lannankäsittelystä aiheutuvat hajuhaitat	- poltto- ja savukaasujen käsittelytekniikasta riippuu, millainen on polton hajuvaikutus

7.4 Elinkaaristen ympäristövaikutusten yhteenveto

Lannankäsittely kuluttaa energiaa ja aiheuttaa suoria päästöjä lähinnä ilmakehään, mutta tehokkaan prosessoinnin avulla lannasta voidaan parhaimmillaan myös tuottaa energiaa, parantaa lannan hyödynnettävyyttä lannoitevalmisteena ja näin tuottaa myös ympäristöhyötyjä. Prosessoinnilla voidaan myös lisätä lannasta aiheutuvien päästöjen riskiä, joten prosessin aikaisiin päästöihin ja lopputuotteiden jatkokäsittelyyn on kiinnitettävä erityistä huomiota.

Prosessoinnilla saavutetaan ilmastohyötyjä, mikäli tuotetaan energiaa, joka korvaa fossiilisia polttoaineita. Mikäli peltoon päätyvien ravinteiden käyttökelpoisuus on suurempi verrattuna raakalantaan, prosessoidun lannan ravinteet korvaavat mineraalilannoitteiden käyttöä enemmän, mikä myös tuottaa ilmastohyötyjä.

Lannankäsittelyketjun ilmastovaikutus on kuitenkin usein suhteellisen pieni verrattuna ketjun muihin ympäristövaikutuksiin. Esimerkiksi lannan kuljetuksen ja konetyön merkitys on vähäinen kokonaisuuden kannalta. Tästä syystä ympäristömielessä lannan kuljettaminen saattaa olla kannattavaa, mikäli sillä saavutetaan muita ympäristöhyötyjä, kuten ravinnekuormituksen alenemista (Luostarinen ym., 2011a).

Huomioitavaa on, että prosessointi saattaa lisätä lannan liukoisen typen osuutta, joka peltoon päätyessään voi kasvattaa haihtuvien ja huuhtoutuvien typpiyhdisteiden päästöriskiä verrattuna raakalantaan. Hyvillä levityskäytännöillä levityksen aiheuttamat päästöt ovat kuitenkin hallittavissa ja arvokas, heti kasville käyttökelpoinen typpi saadaan tehokkaasti hyödynnettyä.

Ympäristön kannalta epäedullisimpia lannan prosessointitapoja ovat sellaiset, joissa menetetään lannan typpi ja orgaaninen aines kokonaan samalla, kun fosforin käyttökelpoisuus kasveille heikkenee. Näin käy poltossa. Termisistä prosesseista pyrolyysi saattaa myös aiheuttaa em. haittoja, mutta toisaalta oikeilla operointiparametreilla (esim. hiiltämisen lämpötila) osa tyydestä voidaan saada talteen ja orgaanisen aineksen sitoutuminen biohiilen maksimoitua. Pyrolyysissä energiatase saattaa kuivaustarpeen vuoksi jäädä negatiiviseksi, jolloin se kuluttaa energiaa enemmän kuin tuottaa.

8 Lannan prosessointien vaikutukset mikrobilääkejäämiin ja resistentteihin bakteereihin

Tässä osiossa arvioidaan saatavilla olevan tiedon ja tässä tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella niiden soveltuvuutta mikrobilääkejäämien, resistenttien suolistobakteerien ja resistenssitekijöiden vähentämiseen lannasta.

Mikrobilääkkeiden mittaamiselle lantamatriiseista ei ole standardoituja menetelmiä (Masse ym., 2014), mikä on huomioitava vertailtaessa eri tavoin varastoiduista ja prosessoiduista lannoista mitattuja mikrobilääkepitoisuuksia. Lisäksi kaikissa tutkimuksissa ei ole huomioitu mikrobilääkkeiden sitoutumista orgaaniseen ainekseen, minkä vuoksi havaittu väheneminen ei välttämättä ole hajoamisen vaan sitoutumisen seurausta (Masse ym., 2014).

8.1 Lannan varastointi

Suurimman osan mikrobilääkejäämistä arvioidaan sitoutuvan lannan orgaaniseen ainekseen ja säilyvän muuttumattomina varastoinnin ajan (Masse ym., 2014).

Elävien ulosteperäisten taudinaiheuttajabakteerien on todettu selviytyvän varastoidussa naudanlannassa 7–196 vuorokautta, kun varastointilämpötila on +5–30 °C (Manyi-Loh ym., 2016). Kylmät olosuhteet voivat parantaa joidenkin ulosteperäisten taudinaiheuttajabakteerien selviytymistä lannassa varastoinnin aikana (Manyi-Loh ym., 2016), mikä oletettavasti pätee myös niiden resistentteihin kantoihin. Myös lannan korkean kosteuspitoisuuden, alhaisen kuiva-ainepitoisuuden sekä neutraalin tai emäksisen pH:n oletetaan edistävän elävien ulosteperäisten taudinaiheuttajien selviytymistä (Manyi-Loh ym., 2016), jolloin myös resistentit bakteerikannat voivat selvitä paremmin lietelannassa kuin kuivikelannassa. Elävien suolistoperäisten taudinaiheuttajien on todettu vähentyneen myös kuivien lantojen kasavarastoinnin aikana; pinnalla vähenemistä aiheuttaa mm. korkeampi lämpötila ja sisäosissa vapautuvat metaboliatuotteet, kuten haihtuvat hapot (Manyi-Loh ym., 2016). Lisäksi väheneminen on tehokkaampaa panosmaisessa käsittelyssä, jossa kasaan ei lisätä jatkuvasti uutta lantaa (Manyi-Loh ym., 2016).

Suomessa resistenssigeenien suhteellisen osuuden lannassa on kuitenkin havaittu lisääntyneen karjanlannan talvivarastoinnin aikana (Ruuskanen ym., 2016; Muurinen ym., 2017). Syynä voi olla mm. bakteerien välinen geeninvaihto tai muutokset mikrobilajistossa, jotka kantavat resistenssigeenejä (Muurinen ym., 2017).

8.2 Biologiset prosessit

8.2.1 Kuivien lantojen kompostointi

Kompostoinnissa mikrobilääkejäämien väheneminen voi olla voimakkaampaa kuin pelkän varastoinnin aikana. Kompostoinnissa hajoamisprosessi on hallitumpi kuin varastoinnissa, kompostoitumisen olosuhteet pyritään optimoimaan ja täten saavutetaan korkeampi lämpötila kuin spontaanissa varastoinnin aikaisessa kompostoitumisessa (palaminen). Mikrobilääkkeiden

vähentäminen vaikuttaakin olevan tehokkainta kompostoinnin termofiilisen vaiheen aikana (Van Epps & Blaney, 2016).

Naudanlannan kompostoinnilla on havaittu oksitetrasykliin 91–100 % vähentäminen (28–182 vrk; laboratorio- ja kenttäkokeet) ja siansonnan kompostoinnilla siprofloksasiin 69–83 % vähentäminen (56 vrk; laboratoriokokeissa) (Van Epps & Blaney, 2016). Vähentäminen vaikuttaa kuitenkin olevan pääosin seurausta abioottisista prosesseista, kuten mikrobilääkkeiden sitoutumisesta orgaaniseen ainekseen (Van Epps & Blaney ym., 2016; Youngquist ym., 2016). Biologista hajoamista voi kuitenkin tapahtua vesifaasissa oleville mikrobilääkkeille (Van Epps & Blaney, 2016). Lannan mikrobilääkejäämien ei ole pääsääntöisesti todettu häiritsevän kompostoitumisprosessia (Van Epps & Blaney, 2016).

Kompostoinnissa saavutetut korkeat lämpötilat (+55–70 °C) vaikuttavat vähentävän indikaattoribakteereita (*E. coli*) ja resistenssitekijöitä sekä niiden vaihtoa bakteerien välillä lannassa tehokkaasti (Turner 2005; Youngquist ym., 2016; Liao ym., 2018). Hypertermofiilisen kompostoinnin, jossa lämpötila nousee +90 °C:een ilman ulkopuolista lämmitystä, on todettu vähentävän resistenssigeenejä lietteestä vielä tehokkaammin kuin termofiilisen (+60 °C) (Liao ym., 2018). Tosin sekä perinteisessä että hypertermofiilisessa kompostoinnissa resistenssigeenien määrä on noussut jälleen termofiilisen vaiheen jälkeisen varastoinnin aikana (Liao ym., 2018) - hypertermofiilisessa kompostissa kuitenkin vähemmän kuin perinteisessä (Liao ym., 2018). Liikkuvien geneettisten elementtien määrä ei kuitenkaan lisääntynyt varastointivaiheen aikana, mikä viittaa siihen, että resistenssigeenien runsastuminen oli seurausta niitä kantaneiden tiettyjen ympäristömikrobilajien runsastumisesta eikä horisontaalisesta geenien leviämisestä (Liao ym., 2018).

8.2.2 Ilmastus eli nestekompostointi

Tutkimustietoa nestekompostoinnin vaikutuksesta mikrobilääkkeisiin, resistentteihin bakteereihin ja resistenssitekijöihin ei ole.

8.2.3 Biokaasutus eli mädätys

Mikrobilääkkeiden vähentäminen mädätyksessä vaihtelee voimakkaasti; joidenkin mikrobilääkkeiden on todettu häviävän täydellisesti mesofiilisessa mädätyksessä (33–64 vrk), kun taas toisilla vähentäminen ei ole todettu (Van Epps & Blaney, 2016). Tässä tutkimuksessa siprofloksasiin havaittiin vähenevän 58–78 % jatkuvatoimisessa mesofiilisessa mädätyksessä ja 60–80 % jälkikaasutuksessa; oksitetrasykliinillä taas vähentäminen ei keskimäärin tapahtunut.

Korkeammat lämpötilat voivat tehostaa mikrobilääkkeiden vähentämistä myös mädätyksessä (Van Epps & Blaney, 2016). Mädätyksessä on havaittu muodostuvan mikrobilääkkeiden metaboliitteja, mikä viittaa siihen, että varsinaista biohajoamista tapahtuu; mikrobilääkekohtaisia eroja voi tosin olla (Van Epps & Blaney, 2016). Liuenneet mikrobilääkkeet ovat enemmän biosaatavia kuin sitoutuneet ja näin ollen ne voivat hajota herkemmin biologisissa prosessoinneissa (Masse ym., 2014). On kuitenkin mahdollista, että - kuten kompostoinnissa niin myös mädätyksessä - mikrobilääkkeiden vähentäminen on suurimmaksi osaksi seurausta sitoutumisesta mm. orgaaniseen ainekseen. Lisäksi varsinaisessa biohajoamisessa muodostuneilla metaboliiteilla voi myös olla antimikrobista aktiivisuutta.

Tässä tutkimuksessa resistenttien *E. coli* -bakteerien määrä tai osuus ei merkittävästi muuttunut mesofiilisessa jatkuvatoimisessa mädätyksessä. Termofiilisen mädätyksen on todettu vähentävän eläviä suolistoperäisiä taudinaiheuttajia, indikaattori *E. coli* -bakteereita, resistenttejä bakteereita ja resistenssitekijöitä nautalannasta tehokkaammin kuin mesofiilisen mädätyksen tai jopa tuhoavan resistentit bakteerit kokonaan (Pandey & Soupir, 2011; Beneragama ym., 2013b; Manyi-Loh ym., 2016; Sun ym., 2016; Youngquist ym., 2016). Pääasiallinen mekanismi vähenemisen taustalla vaikuttaa olevan lajiston vähittäinen muuttuminen, kun resistenttien mesofiilisten ja aerobisten bakteerien osuus vähenee ja termofiilisten ei-resistenttien suurenee prosessin edetessä (Sun ym. 2016). Myös korkealla lämpötilalla ja muuttuvilla ympäristöolosuhteilla on vaikutusta vähenemiseen (ks. 2.5.1).

Lannan korkeat mikrobilääkepitoisuudet voivat häiritä mädätysprosessia (Van Epps & Blaney, 2016), kuten tämänkin tutkimuksen tulokset osoittivat. Vaikutus voi kuitenkin olla mikrobilääkkeistä ja reaktorin mikrobilajistosta riippuvaista (Van Epps & Blaney, 2016). Prosessien mikrobit voivat myös sopeutua korkeampiin mikrobilääkepitoisuuksiin.

Panostoimisessa mädätyksessä koko lantamassan prosessointiaikaa on sikäli helpompi kontrolloida kuin jatkuvatoimisissa reaktoreissa, että panosreaktori täytetään, suljetaan ja avataan halutun ajan jälkeen. Sen onkin todettu vähentävän suolistopatogeeneja lannasta tehokkaammin kuin jatkuvatoimisen, jota täytetään tasaisin väliajoin (Salhström, 2003). Tämän tutkimuksen tulosten mukaan hajoamiselle optimoidussa panoskokeessa mädätys vähensi mikrobilääkejäämiä, mutta väheneminen saattoi johtua sitoutumisesta eikä biohajoamisesta. On kuitenkin syytä muistaa, että laitosmittakaavan panosprosessien operointi ei vastaa BMP-kokeen olosuhteita. Resistenttien bakteerien tuhoutumista ei tässä tutkimuksessa tarkasteltu. Taulukkoon 31 on koottu arvioita lannan biologisten prosessointien vaikutuksista mikrobilääkejäämiin sekä resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin.

Taulukko 31. Lannan biologisen prosessoinnin mahdollisia vaikutuksia mikrobilääkejäämiin sekä resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin.

LANNAN BIOLOGISET PROSESSOINNIT		
Prosessointitapa	Arvio vaikutuksista mikrobilääkejäämiin	Arvio vaikutuksista resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin
Varastointi	Suurin osa mikrobilääkejäämistä sitoutuu lannan orgaaniseen ainekseen ja säilyy muuttumattomana varastoinnin ajan.	Olosuhteet - Elävät (resistentit) suolistobakteerit voivat säilyä lannassa. Kylmät olosuhteet ja kosteus parantavat selviämistä. - Resistenssigeenit voivat lisääntyä varastoinnin aikana. Varastointitapa - Elävät (resistentit) suolistobakteerit voivat mahdollisesti vähentyä tehokkaammin panosmaisessa käsittelyssä kuin lisäämällä jatkuvasti uutta lantaa kompostiin.
Kompostointi	Lämpötila - Mikrobilääkejäämien väheneminen tehokkaampaa kompostoinnin termofiilisen vaiheen aikana. Mikrobilääkkeet - Lannan mikrobilääkkeet eivät pääsääntöisesti häiritse kompostointia Hajoaminen vs. sitoutuminen - Pääasiallinen väheneminen syy vaikuttaa olevan sitoutuminen eikä hajoaminen.	Lämpötila - Perinteinen termofiilinen kompostointi (+55–70 °C) vähentää eläviä (resistenttejä) suolistobakteereita ja resistenssitekijöitä tehokkaasti, kunhan riittävän korkea lämpötila saavutetaan. Myös resistenssitekijät vähenevät perinteisessä termofiilisessa kompostoinnissa. - Hypertermofiilinen kompostointi (+90 °C) vähentää resistenssitekijöitä tehokkaammin kuin perinteinen termofiilinen. Myös elävät (resistentit) suolistobakteerit tuhoutuvat.
Neste-kompostointi	Vaikutuksesta mikrobilääkejäämiin ei ole tietoa.	Vaikutuksesta resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin ei ole tietoa.
Mädätys	Lämpötila - Korkeampi lämpötila voi tehostaa vähenemistä. Hajoaminen vs. sitoutuminen - Varsinaista biohajoamista vaikuttaa tapahtuvan, mutta vähenemisen taustalla voi olla myös mikrobilääkkeiden sitoutuminen mm. orgaaniseen ainekseen. - Biohajoamisessa muodostuneilla metaboliiteilla voi olla antimikrobista aktiivisuutta. Prosessointitapa - Panostimisen prosessin viipymä kattaa koko käsiteltävän massan, joten käsittely on hallitumpi kuin jatkuvatoimisessa prosessissa, jossa tapahtuu oikovirtausta täyssekoittisuuden vuoksi, ts. osa syöttestä poistuu nopeammin kuin laskennallinen viipymä. Mikrobilääkkeet - Korkeat mikrobilääkepitoisuudet voivat häiritä prosessia tai pysäyttää sen. - Liuenneet mikrobilääkkeet (vesifaasissa) voivat biohajota tehokkaammin kuin voimakkaasti sitoutuvat.	Lämpötila - Mesofiilisessa (+37 °C) mädätyksessä lämpötila ei riitä tuhoamaan eläviä (resistenttejä) suolistobakteereita tai resistenssigeenejä. Ne voivat kuitenkin vähentyä mm. uloskilpailun kautta. - Termofiilisessa (+55 °C) mädätyksessä lämpötila voi riittää tuhoamaan elävät (resistentit) suolistobakteerit, muttei resistenssigeenejä. Ne voivat kuitenkin vähentyä mm. uloskilpailun kautta. Prosessointitapa - Panostimisen prosessin viipymä kattaa koko käsiteltävän massan, joten käsittely on hallitumpi kuin jatkuvatoimisessa prosessissa, jossa tapahtuu oikovirtausta täyssekoittisuuden vuoksi, ts. osa syöttestä poistuu nopeammin kuin laskennallinen viipymä.

8.3 Kemialliset ja termiset prosessit

8.3.1 Hygienisointi

Patogeenisten, ei-itiöivien suolistobakteerien tuhoamiseen lannasta käytetään hygienisointikäsittelyä (Manyi-Loh ym., 2016), joka oletettavasti vähentäisi myös elävien resistenttien bakteerien määrää lannasta. Hygienisoinnissa lanta kuumennetaan +70 °C:een 30–60 minuutiksi riippuen käsittelystä, johon se yhdistetään; mesofiilinen käsittely vaatii pidemmän hygienisointiajan kuin termofiilinen (Sahlström ym., 2003; Manyi-Loh ym., 2016). Sivutuoteasetuksen (EY/1069/2009) vaateena oleva +70 °C / 60 min / partikkelikoko 12 mm on yleisesti biokaasulaitoksissa käytetty hygienisointi. Hygienisointi voidaan toteuttaa joko ennen mädätystä tai sen jälkeen, mutta ennen on suositeltavampi vaihtoehto mahdollisen jälkikontaminaation vuoksi (Sahlström, 2003; Manyi-Loh ym., 2016). Resistenssigeenien tuhoutuminen vaatii kuitenkin hygienisointia korkeampia lämpötiloja. Kuumennuksen vähintään +85 °C:een on laboratoriokokeissa havaittu hajottavan DNA:n resistenssigeenejä lyhyemmiksi paloiksi (Zhang & Wu, 2005).

8.3.2 Pyrolyysi ja polttaminen

Termisessä kaasutuksessa eli pyrolyysissa sekä poltossa orgaaninen aines kuumennetaan satojen asteiden lämpötilaan, joissa mikrobilääkkeet oletettavasti alkavat hajota. Esimerkiksi siprofloksasiinin on todettu hajoavan täysin +250 °C:ssa poltettaessa ja oksitetrasykliinin sterilisaatiolämpötilassa (ks. 2.5.2). Verrattaessa polton ja pyrolyysin lämpötiloja sterilisaatioon, voitaneen olettaa, että mikrobilääkkeet tuhoutuvat täysin polton ja pyrolyysin aikana. Pyrolyysin vaikutuksia mikrobilääkejäämiin jätevesilietteissä on tutkittu PProduct-hankkeessa (Luke, SYKE, Evira; 2015–2018).

Kuumennus vähintään +85 °C:een oletettavasti vähentää resistenssigeenien määrää. Toisaalta pyrolyysikokeissa kuumennus alle +300 °C asteessa ei riittänyt tuhoamaan kaikkia resistenssigeenejä, mutta pyrolyysin vähintään +300 °C:ssa todettiin vähentävän niiden määrän alle toteamisrajan (Kimbell ym., 2018). Myös elävät (resistentit) suolistobakteerit tuhoutuvat tässä lämpötilassa. Taulukkoon 32 on koottu arvioita lannan termisten prosessointien vaikutuksista mikrobilääkejäämiin sekä resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin.

Taulukko 32. Lannan termisten prosessien mahdollisia vaikutuksia mikrobilääkejäämiin sekä resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin.

LANNAN TERMISEISET PROSESSOINNIT		
Prosessointi-tapa	Arvio vaikutuksista mikrobilääkejäämiin	Arvio vaikutuksista resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin
Hygienisointi	Hygienisointi voi osittain hajottaa mikrobilääkejäämiä, mutta kattavaa tutkimustietoa ei ole.	- Hygienisointi ennen tai jälkeen mädätyksen vähentää elävien (resistenttien) suolistobakteerien määrää. - Resistenssigeenien tuhoutumiseen hygienisoinnin lämpötila on oletettavasti liian matala.
Pyrolyysi ja poltto	Pyrolyysi ja poltto hajottavat mikrobilääkejäämiä, mutta täydellisen tuhoutumisen aiheuttavista käsittelylämpötiloista ja -kestoista ei ole kattavaa tutkimustietoa.	Elävät resistentit bakteerit ja resistenssitekijät tuhoutuvat.

8.4 Fysikaaliset prosessit

Separointi oletettavasti ei vähennä mikrobilääkkeiden kokonaispitoisuutta tai resistenttien bakteerien määrää tai osuutta lannassa, vaan ne päätyvät joko kuivajakeeseen tai nestefaasiin vesiliukoisuutensa ja varaustensa perusteella (ks. 2.5.3). Suomalaisilla biokaasulaitoksilla mikrobilääkkeiden on havaittu kulkeutuvan suurimmaksi osaksi kuivajakeen eikä rejektiveden mukana (Marttinen ym., 2014) – tämä kuitenkin riippuu yhdisteen kemiallisesta rakenteesta ja ominaisuuksista ja on siten mikrobilääkekohtaista. Lisäksi Wallace ym. (2018) havaitsivat, että mekaaninen separointi voi konsentroida antibioottijäämiä kiintoaineeseen. Mikäli erilliskerättyä virtsaa konsentroidaan lannoitteeksi, liukoisessa muodossa olevien mikrobilääkkeiden pitoisuus konsentraatissa saattaa nousta.

Resistentit bakteerit ja resistenssigeenit kulkeutuvat separoidussa lannassa todennäköisemmin kuivajakeen mukana, sillä bakteereilla on taipumus tarttua kiinteille pinnoille (ks. 2.5.3). Myös nestefaasi voi kuitenkin sisältää resistenttejä bakteereita ja resistenssitekijöitä.

Lannan kuivatusta kuivajakeesta valmistetaan Suomessa myös kuivikkeita karjasuojiin. Mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien sekä resistenssitekijöiden säilymistä lantakuivikkeissa ja niiden vaikutusta tilan resistenssilanteeseen olisi syytä tutkia, mikäli kyseinen käytäntö yleistyy Suomessa. Taulukkoon 33 on koottu arvioita lannan fysikaalisten prosessointien vaikutuksista mikrobilääkejäämiin sekä resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin.

Taulukko 33. Lannan fysikaalisten prosessointien mahdollisia vaikutuksia mikrobilääkejäämiin sekä resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin.

LANNAN FYSIKAALISET PROSESSOINNIT		
Prosessointi-tapa	Arvio vaikutuksista mikrobilääkejäämiin	Arvio vaikutuksista resistentteihin suolistobakteereihin ja resistenssitekijöihin
Separointi eli erotus-prosessit	- Ei vähennä mikrobilääkejäämien kokonaispitoisuutta. Liukoisessa muodossa olevat mikrobilääkkeet kulkeutuvat nestefaasin mukana nestejakeeseen ja sitoutuneet kuiva-aineen mukana pääasiassa kuivajakeeseen. - Separointi voi konsentroida mikrobilääkejäämiä kiintoainekseen. - Erilliskerätyn virtsan konsentroiminen voi nostaa liukoisessa muodossa olevien mikrobilääkkeiden pitoisuutta. - Erotuskyky jakeisiin riippuu käytetystä menetelmästä.	- Ei vähennä resistenttejä bakteereita ja resistenssitekijöitä. - Resistentit bakteerit kulkeutuvat oletettavasti kuiva-aineen mukana pääasiassa kuivajakeeseen, mutta niitä voi esiintyä myös vapaina tai pienimpiin kiintoainepartikkeleihin sitoutuneena nestejakeessa. Kulkeutumista ja selviytymistä eri jakeissa tuoreena sekä edelleen käsiteltynä, esim. kuivauksen jälkeen, olisi syytä tutkia tarkemmin. - Erotuskyky jakeisiin riippuu käytetystä menetelmästä.

8.5 Lannan prosessointien vaikutusten yhteenveto

Termofiilinen mädätys sekä kompostointi, jossa saavutetaan vastaava lämpötila (+55-70 °C) vähentävät eläviä resistenttejä suolistobakteereita sekä resistenssigeenejä lannasta tehokkaammin kuin mesofiiliset biologiset prosessoinnit. Mesofiilissakin prosessoinneissa niiden määrä voi kuitenkin vähentyä uloskilpailun seurauksena, minkä voi katsoa olevan ympin lajikoostumuksesta riippuvaista.

Resistenssigeenien määrän merkittävä väheneminen puolestaan vaikuttaa vaativan vielä termofiilistakin korkeampia, hypertermofiilisia (+90 °C) lämpötiloja. Toisaalta hypertermofiilisesti käsitellyllä lannallakaan resistenssigeenien väheneminen ei ole pysyvää, vaan niiden määrä nousee jälleen varastointivaiheen aikana. Näiden resistenssigeenien voi kuitenkin olettaa sijaitsevan ympäristöbakteereissa, sillä suolistobakteerit pärjäävät huonosti kilpailussa ympäristöbakteereille suoliston ulkopuolella (ks. 2.5.1). Ei kuitenkaan vielä tiedetä, miten suuri merkitys kuolleissa mikrobisoluissa tai ympäristömikrobeissa olevien resistenssigeenien leviämisellä ympäristöön on.

Biologiset prosessoinnit saattavat vähentää mikrobilääkejäämiä lannasta merkittävästi, mutta eri mikrobilääkeryhmien välillä on suurta vaihtelua vähenemisessä (Van Epps & Blaney, 2016). Biologisissa prosessoinneissa mikrobilääkejäämien väheneminen voi kuitenkin olla seurausta niiden sitoutumisesta orgaaniseen ainekseen - etenkin kompostoinnissa (Van Epps & Blaney, 2016), mutta myös mädätyksessä. Tällöin varsinaista hajoamista ei voi katsoa tapahtuneen, sitoutuneet mikrobilääkejäämät leviävät lannan mukana ympäristöön ja voivat vapautua siellä uudelleen. Myös varsinaisen hajoamisen seurauksena syntyvien metaboliittien antimikrobista aktiivisuutta tulisi tutkia. Näistä näkökulmista katsottuna biologiset prosessoinnit eivät vaikuta olevan tehokkaita menetelmiä mikrobilääkkeiden vähentämiseen lannasta.

Pyrolyysi ja poltto korkeassa lämpötilassa sen sijaan toimivat todennäköisesti kaikkia mikrobilääkeryhmiä, eläviä resistenttejä suolistobakteereita sekä resistenssitekijöitä vastaan, minkä vuoksi niitä voidaan pitää mikrobilääkeresistenssin torjumisen kannalta turvallisimpina lannan käsittelymuotoina. Niitä ei kuitenkaan yleensä ole mahdollista käyttää tilatasolla eikä niihin kannata ohjata kaikkea lantaa. Poltto ja pyrolyysi eivät myöskään ole ympäristönäkökulmista katsottuna suositeltavimpia prosessointimuotoja. Tästä johtuen niitä olisi syytä käyttää kohdennetusti erillisissä keskitetyissä laitoksissa ja ainoastaan lääkittyjen eläinten lannalle, jonka tiedetään sisältävän runsaasti mikrobilääkejäämiä ja todennäköisesti myös resistenttejä bakteereita ja resistenssitekijöitä. Muut lannat voitaisiin käsitellä tilatasolla biologisin prosessointimenetelmin, jotka joko sisältävät termofiilisen vaiheen tai mesofiilisin menetelmin hygienisointikäsitteilyyn yhdistettynä.

Lannan separointiprosesseissa puolestaan on syytä huomioida lannassa olevien mikrobilääkkeiden jakautuminen eri faaseihin ominaisuuksiensa perusteella sekä mahdollinen konsentroituuminen.

9 Tulevaisuuden uhkia mikrobilääke-resistenssin leviämisessä

Tulevaisuudessa nautatilojen määrän väheneminen, tilakoon kasvu ja parsinavettojen korvautuminen pihattonavetoilla (ks. 2.1) tulevat lisäämään tautipainetta tiloilla, kun eläinten keskinäiset kontaktit lisääntyvät ja altistuvat populaatiot ovat suurempia. Myös ilmastomuutoksen arvioidaan tuovan Suomeen uusia eläintauteja (Molarius ym., 2010). Sairastavuuden lisääntyminen lisää mikrobilääkkeiden käyttöä, mikä voi heikentää resistenssitilannetta nykyisestä. Taudinaiheuttajien ohella myös harmittomat resistentit bakteerit voivat levitä tehokkaammin suurissa pihattonavetoissa kuin pienissä parsinavetoissa. Näin ollen muodostuvassa naudanlannassa saattaa tulevaisuudessa olla korkeampia pitoisuuksia sekä mikrobilääkkeitä että resistenttejä suolistobakteereita. Tämä tulisi huomioida esimerkiksi lannan kierrätysmenetelmiä kehitettäessä.

Sipilän hallituksen hallitusohjelman (Hallitusohjelma, 2015) mukaan lantojen prosessointia ja kierrätystä tullaan lisäämään lähivuosina merkittävästi. Vuoteen 2025 mennessä puolet lannoista on tarkoitus saada kehittyneen prosessoinnin piiriin. Prosessointimenetelmiä on kuitenkin kehitetty toistaiseksi vain ravinteiden kierrätyksen ja energiantuoton näkökulmasta, eivätkä kaikki prosessoinnit vaikuta mikrobilääkejäämien tai resistenttien suolistobakteerien määrään lannassa. Tällöin on vaarana, että prosessoitujen lantojen mukana resistenttejä suolistobakteereita voi levitä nykyistä laajemmin tilojen ulkopuolelle. Lisäksi lannoitevalmisteissa mahdollisesti olevat mikrobilääkejäämät voivat valikoida resistenttejä mikrobikantoja myös maaperässä. Prosessointien vaikutukset resistentteihin suolistobakteereihin ja mikrobilääkejäämiin tulisi huomioida jo niitä kehitettäessä.

EU:n lannoitevalmisteita koskevaa lainsäädäntöä ollaan uudistamassa kiertotalouden edistämiseksi ja lannoitevalmisteiden sisämarkkina-liikkuvuuden lisäämiseksi (EU-komissio, 2017). Uudistus aloitettiin vuonna 2018 ja uusi asetus tulee korvaamaan nykyisin voimassa olevan lannoiteasetuksen (EY/2003/2003). Uudistuksen seurauksena CE-merkittyjä kierrätyslannoitevalmisteita voisi tuoda Suomeen ulkomailta. Suurimmassa osassa muita EU-maita tuotantoeläimille käytetään enemmän mikrobilääkkeitä ja niillä myös esiintyy enemmän tiettyjä moniresistenttejä bakteereita kuin Suomessa (ECDC/EFSA/EMA, 2017). Mikäli uudessa asetuksessa ei tulla huomioimaan resistenttien suolistobakteerien, resistenssitekijöiden ja mikrobilääkejäämien esiintymistä lantaa sisältävissä kierrätyslannoitevalmisteissa, vaarana on, että niiden leviäminen Suomeen lisääntyy, mikä puolestaan heikentää Suomen verrattain hyvää resistenssitilannetta. Suomessa tulisi myös olla osaamista ja keinoja hallita ulkomailta tuotaviin kierrätyslannoitteisiin liittyviä riskejä.

10 Johtopäätökset

Mikrobilääkeresistenssin yleistymistä tulee torjua kaikilla yhteiskunnan sektoreilla, koska ihmisissä ja eläimissä elää samoja mikrobilajeja ja koska resistentit mikrobit ja resistenssitekijät leviävät eläinten ja ihmisten välillä. Tuotantoeläintiloilla niiden kehittymistä ja valikoitumista voidaan torjua mm. käyttämällä mikrobilääkkeitä maltillisesti, käyttämällä mahdollisimman kapeakirjoisia lääkkeitä sekä ennaltaehkäisemällä infektioita. Suomessa mikrobilääkkeiden käyttö tuotantoeläimille on kansainvälisesti vertailtuna vähäistä ja hallittua.

Mikrobilääkkeet ja mikrobilääkeresistenssi ympäristöpäästöinä

Resistenttejä suolistobakteerikantoja voi kehittyä ja valikoitua myös pienissä mikrobilääkepitoisuuksissa sekä vähäisellä ja tarkoituksenmukaisella mikrobilääkkeiden käytöllä, kuten tämänkin tutkimuksen tulokset osoittavat. Ympäristössä esiintyessään matalien mikrobilääkepitoisuuksien on esitetty olevan jopa merkityksellisempiä resistenssin yleistymistä edistäviä tekijöitä kuin korkeiden pitoisuuksien (UNEP, 2017). Näistä syistä johtuen myös mikrobilääkejäämien ja resistenttien suolistobakteerien leviämiseen tuotantoeläintilojen ulkopuolelle olisi syytä kiinnittää enemmän huomiota haitallisina ympäristöpäästöinä (UNEP, 2017). Suomen kansallisessa mikrobilääkeresistenssin torjuntaohjelmassa (2017–2021) ympäristön merkitys resistenssin torjunnassa nostetaan esiin yleisellä tasolla, mutta käytännön toimia ympäristöpäästöihin liittyen ei esitetä (Hakanen ym., 2017).

Lannan lannoitekäyttö ja resistenssin leviäminen luonnoneläimiin

Lannan suoran lannoitekäytön mukana ympäristöön leviää sekä mikrobilääkejäämiä että resistenttejä suolistobakteereita. Resistenssigeenien on todettu runsastuvan peltomaassa lannan levitysten jälkeen lyhytaikaisesti myös Suomessa, jolloin luonnoneläimet voivat hetkellisesti altistua resistentteille suolistobakteereille. Suomessa lannan peltolevitystä tehdään kesän lisäksi lintujen muuttoaikaan keväisin ja syksyisin. Tällöin ne voivat altistua resistentteille suolistobakteereille ja levittää niitä maatalousekosysteemien ulkopuolelle.

Etenkin hyönteisillä ja haittaeläimillä altistumista voi tapahtua myös eläinsuojissa ja lantaloissa. Niillä sekä linnuilla voi olla merkittävä rooli resistenttien bakteerien levittämisen eläintiloilta muihin ympäristöihin ja lähelle ihmistä. Luonnoneläinten altistumista resistentteille bakteereille ja sen ehkäisemistä suomalaisilla tuotantoeläintiloilla - myös muilla kuin nautatiloilla - tulisi tutkia tarkemmin. Ympäristösyistä nitraattidirektiiviä toimeenpanemaan asetukseen (1250/2014) lisätty vaade uusien lantaloiden kattamisesta voi mahdollisesti myös ehkäistä eläinten ja hyönteisten altistumista lannan resistentteille suolistobakteereille.

Lannan lannoitekäyttö ja mikrobilääkkeiden leviäminen

Lannan lannoitekäytön mukana ympäristöön leviää myös lääkittyjen eläinten erittämiä mikrobilääkejäämiä, sillä lääkittyjen eläinten lannan lannoitekäyttöä ei ole rajoitettu. Mikrobilääkejäämät saattavat olla haitallisia maaperäeliöille, häiritä kasvien kasvua sekä kertyä

niihin, jolloin ne voivat päätyä myös elintarvikeketjuun. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella todetut mikrobilääkepitoisuudet lypsykarjan lietelannassa olivat pieniä, eikä kertymisen vaaraa nykytilanteessa todennäköisesti ole. On kuitenkin huomioitava, että havainto on vain yksittäiseltä tilalta hyvässä tautitilanteessa. Sen sijaan lääkittyjen eläinten erikseen kerätyssä lannassa pitoisuudet saattavat olla niin korkeita, että sen lannoitekäytöstä aiheutuvia riskejä tulisi arvioida tarkemmin.

Kierrätyslannoitteet

Lannan suoran lannoitekäytön lisäksi väkilannoitteiden korvaaminen lantaa sisältävillä kierrätyslannoitteilla voi lisätä mikrobilääke- ja -resistenssipäästöjä ympäristöön. Kierrätyslannoitteita valmistetaan lantaa prosessoimalla, mitä on tarkoitus lisätä Suomessa merkittävästi lähivuosina (Hallitusohjelma, 2015). Tämän tutkimuksen tulosten mukaan jatkuvatoiminen mädätys +37 °C:ssa vähensi *E. coli* -bakteerien kokonaismäärää, mutta ei resistenttien *E. coli* -bakteerien osuutta. Tulevaisuudessa lääkejäämiin ja resistentteihin mikrobeihin liittyviä riskejä tulisi mahdollisesti huomioida ainakin useiden tilojen lantoja yhteiskäsiteltäessä.

Mikrobilääkkeiden vaikutukset lannan prosessointiin

Mikrobilääkkeiden käytön aiheuttamat häiriöt naudan lietelannan mädätysprosessiin ja sen metaanintuottoon havaituilla lietelannan mikrobilääketasoilla ovat epätodennäköisiä. Erikseen lääkitystä eläimistä kerätty lanta sekä antibioottimaito voivat kuitenkin aiheuttaa prosessihäiriöitä.

Lannan prosessoinnin vaikutukset mikrobilääkkeisiin ja resistenssiin

Mädätyksen teknologian ja operointitapojen vaihtoehtoja tulisi tutkia myös mikrobilääkkeiden hajottamisen ja resistenssin hallinnan kannalta, sillä lantaa tullaan joka tapauksessa prosessoimaan. Osaa prosessoinneista tai niiden yhdistelmistä voisi käyttää lannan kustannustehokkaaseen puhdistamiseen mikrobilääkejäämistä ja resistenteistä bakteereista, mikä vähentäisi niiden leviämistä ympäristöön. Esimerkiksi tämän tutkimuksen metaanintuottopotentialimääritysten mukaan mädätys voi vähentää mikrobilääkejäämiä lannasta; resistenssiä ei kuitenkaan tutkittu. Tutkimuksesta ei kuitenkaan selvinnyt, johtuiko väheneminen mikrobilääkkeiden sitoutumisesta vai hajoamisesta. Kirjallisuuden perusteella vaikuttaa siltä, että pääasiallinen vähenemismekanismi on sitoutuminen.

Kirjallisuuden perusteella etenkin korkeissa lämpötiloissa tapahtuvat prosessoinnit voivat vähentää resistenttejä suolistobakteereita ja resistenssitekijöitä lannasta. Mädätyksen lisäksi myös muiden prosessiteknologioiden vaikutusta lannan lääkejäämiin ja mikrobilääkeresistenssiin tulee selvittää toistaiseksi tutkittujen energiantuotannon, ravinteiden kierrätyksen ja ympäristövaikutusten hallinnan ohella. Lannan kierrätys voi jatkossa olla paitsi uhka myös mahdollisuus resistenssin sekä ulosteperäisten patogeenien leviämisen torjunnassa.

Mikrobilääkeresistenssin torjunnan tulevaisuus

Resistenssin yleistymistä tulisi torjua ennaltaehkäisevästi, koska on havaittu, että resistenteistä mikrobeista voi niiden yleistyttyä olla hankalaa tai jopa mahdotonta päästä eroon - esimerkkinä

MRSA-bakteerin leviäminen sikatiloilla. Torjuntatoimia varten kaikki mikrobilääkeresistenssin yleistymiseen vaikuttavat syyt on tunnistettava, mihin tarvitaan tutkimusnäyttöä, jota varten yleistymisen on jo täytynyt tapahtua eikä ennaltaehkäisy ole enää mahdollista. Varovaisuusperiaatteen noudattaminen onkin ensiarvoisen tärkeää juuri mikrobilääkeresistenssin torjumisessa.

Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että jotta ennaltaehkäisy onnistuisi, tulisi torjuntatoimia kohdistaa myös sellaisiin resistenssin kehittymistä ja leviämistä edistäviin tekijöihin, jotka on tunnistettu vasta teorian tasolla tai joiden tutkimusnäyttö ei ole vielä kattavaa. Tällaisia tekijöitä ovat mm. mikrobilääke- ja resistenssipäästöt tuotantoeläimiltä lannan lannoitekäytön välityksellä, joiden on useiden kansainvälisten tutkimusten perusteella arvioitu vaikuttavan mikrobilääkeresistenssin yleistymiseen.

Mikrobilääkkeiden käyttö tuotantoeläimille on ollut Suomessa jo pitkään hyvin maltillista ja vastaavasti myös resistenttien bakteerien osuus verrattain alhainen. Osittain tämän takia ei maatalouden mikrobilääke- ja resistenssipäästöihin ole Suomessa toistaiseksi kiinnitetty juurikaan huomiota. Nykyinen hyvä tilanne ei kuitenkaan välttämättä ole pysyvä, vaan tuotantoeläinten mikrobilääkkeiden käytön lisäämiselle voi olla tarvetta tulevaisuudessa myös Suomessa. Globalisaation myötä uusia resistenttejä mikrobikantoja kulkeutuu Suomeen jatkuvasti eläinten, ihmisten ja elintarvikkeiden mukana. Uuden EU:n lannoitevalmistelainsäädännön myötä Suomeen voidaan myös tuoda kierrätyslannoitevalmisteita, joille mikrobilääkkeisiin ja -resistenssiin liittyviä raja-arvoja ei ole. Resistenttien mikrobikantojen yleistyminen Suomessa lisää eläinten mikrobilääkehoitojen epäonnistumista ja pitkittää hoitoja. Ilmastomuutoksen myötä Suomeen arvioidaan saapuvan lisää eläintauteja. Lisäksi tuotantotilarakenteen muutos Suomessa - tilakokojen kasvu ja pihattonavetoiden yleistyminen - suosii eläintautien ja resistenttien mikrobien leviämistä. Kaikki edellä mainitut tekijät voivat lisätä mikrobilääkkeiden käyttöä tuotantoeläimillä. Myös mikrobilääkevalmisteiden saatavuusongelmat voivat lisätä ihmisille kriittisen tärkeiksi luokiteltujen mikrobilääkkeiden käyttöä tuotantoeläimille, mikä puolestaan voi johtaa niille resistenttien mikrobikantojen yleistymiseen.

Jos mikrobilääkkeiden käyttö tuotantoeläimille Suomessa lisääntyy, myös mikrobilääke- ja resistenssipäästöt maataloudesta ympäristöön lisääntyvät. Tästä johtuen Suomessa tulisikin varautua tulevaan ja aktiivisesti kehittää kustannustehokkaita toimintatapoja sekä teknologiaa maatalouden mikrobilääke- ja resistenssipäästöjen vähentämiseksi. Näille torjuntakeinoille olisi jo nyt käyttöä maissa, joissa mikrobilääkkeitä käytetään eläintuotannossa enemmän ja joissa mikrobilääke- ja resistenssipäästöt ympäristöön ovat suurempia. Viemällä torjuntakeinoja ulkomaille Suomi voi pyrkiä hidastamaan resistenttien mikrobien maailmanlaajuisia yleistymistä, mikä vähentäisi myös niiden kulkeutumista Suomeen.

Viitteet

- Ahmad A, Nagaraja T G & Zurek L (2007). Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 to cattle by house flies. *Preventive Veterinary Medicine* 80:74-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.01.006>
- Ahmad A, Ghosh A, Schal C & Zurek L (2011). Insects in confined swine operations carry a large antibiotic resistant and potentially virulent enterococcal community. *BMC Microbiology* 11:23. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-11-23>
- Allen H K, Donato J, Wang H H, Cloud-Hansen K A, Davies J & Handelsman J (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology* 8:251-259. DOI: 10.1038/nrmicro2312.
- Allen S E, Boerlin P, Janecko N, Lumsden J S, Barker I K, Pearl D L, Reid-Smiths R J & Jardine C (2011). Antimicrobial resistance in generic *Escherichia coli* isolates from wild small mammals living in swine farm, residential, landfill, and natural environments in Southern Ontario, Canada. *Applied Environmental Microbiology* 77:882-888. doi:10.1128/AEM.01111-10.
- Álvarez J, Otero L, Lema J M & Omil F (2010). The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. *Bioresource Technology* 101: 8581-8586.
- Andersson D I & Hughes D (2010). Antibiotic resistance and its costs: is it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology* 8:206-271. DOI: 10.1038/nrmicro2319.
- Andersson D I & Hughes D (2012). Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resistance Updates* 15:162-172. doi:10.1016/j.drug.2012.03.005.
- Arikan O A, Sikora L J, Mulbry W, Khan S U, Rice C & Foster G D (2006). The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry* 41:1637-1643. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.010>.
- Awad Y M, Kim K R, Kim, S-C, Kim K, Lee S R, Lee S S & Ok Y S (2015). Monitoring antibiotic residues and corresponding resistance genes in agroecosystem. *Journal of Chemistry*, ID 974843. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/974843>.
- Azuara M, Kersten S R A, Maarten A & Kootstra J (2013). Recycling phosphorus by fast pyrolysis of pig manure: Concentration and extraction of phosphorus combined with formation of value-added pyrolysis products. *Biomass and Bioenergy* 49:171-180.
- Bauer A, Lizasoain J, Nettmann E, Bergmann I, Mundt K, Klocke M, Rincón M, Amon T, Piringer G & Winckler C (2014). Effects of the antibiotics Chlortetracycline and Enrofloxacin on the anaerobic digestion in continuous experiments. *BioEnergy Research* 7:1244-1252.
- Beneragama N, Lateef S A, Iwasaki M, Yamashiro T & Umetsu K (2013a). The combined effect of cefazolin and oxytetracycline on biogas production from thermophilic anaerobic digestion of dairy manure. *Bioresource Technology* 133:23-30.
- Beneragama N, Iwasaki M, Lateef S A, Yamashiro T, Ihara I & Umetsu K (2013b). The survival of multi-drug resistant bacteria in thermophilic and mesophilic anaerobic co-digestion of dairy manure and waste milk. *Animal Science Journal* 84:426-433. doi:10.1111/asj.12017.
- Boxall A B A, Fogg L A, Kay P, Blackwell P A, Pemberton E J & Croxford A (2004). Veterinary medicines in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 180:1-91.
- Boxall A B A, Johnson P, Smith E J, Sinclair C J, Stutt E & Levy L S (2006). Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:2288-2297.

- Call D R, Matthews L, Subbiah M & Liu J (2013). Do antibiotic residues play a role in amplification and transmission of antibiotic resistant bacteria in cattle populations? *Frontiers in Microbiology* 4:193. doi:10.3389/fmicb.2013.00193.
- Cao Y & Pawlowski A (2013). Life Cycle Assessment of Two Emerging Sewage Sludge-to-Energy Systems: Evaluating Energy and Greenhouse Gas Emissions. *Bioresource Technology* 127:81-91.
- Carballo M, Esperón F, Sacristán C, Gonzáles M, Vázquez B, Aquayo S & de la Torre A (2013). Occurrence of tetracycline residues and antimicrobial resistance in gram negative bacteria isolates from cattle farms in Spain. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 4:295-303. <http://dx.doi.org/10.4236/abb.2013.42A040>.
- Dantas G & Sommer M O A (2012). Ecological and clinical consequences of antibiotic subsistence by environmental microbes. In *Antimicrobial Resistance in the Environment* (Toim. Keen P L & Montforts M H M M). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. ISBN 978-0-470-90542-5.
- Davies J (2006). Are antibiotics naturally antibiotics? *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 33:496-499. doi:10.1007/s10295-006-0112-5.
- de Liguoro M, Cibir V, Capolongo F, Halling-Sorensen B & Montesissa C (2003). Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil. *Chemosphere* 52:203-212. doi:10.1016/S0045-6535(03)00284-4.
- Dolliver H, Kumar K & Gupta S (2007). Sulfamethazine uptake by plants from manure amended soil. *Journal of Environmental Quality* 36:1224-1230. doi:10.2134/jeq2006.0266.
- Douglas A E (2015). Multiorganismal Insects: Diversity and Function of Resident Microorganisms. *Annual Review of Entomology* 60:17-34. doi: 10.1146/annurev-ento-010814-020822.
- EU-komissio, (2017). Lehdistötiedote 826/17. Julkaistu 20.12.2017. Saatavissa: <http://www.consilium.europa.eu/fi/press/press-releases/2017/12/20/eu-fertilisers-council-agrees-terms-of-mandate/pdf>
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA) & European Medicines Agency (EMA), 2017. ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals – Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. *EFSA Journal* 15:4872. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4872.
- European Food Safety Authority (EFSA) ja European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2013. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. *EFSA Journal*, 11:3196. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3196
- European Food Safety Authority (EFSA) ja European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2014. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. *EFSA Journal* 12:3590. DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3590.
- European Food Safety Authority (EFSA) ja European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2015. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. *EFSA Journal*, 13:4036. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4036
- European Medicines Agency (EMA), 2017. Sales of veterinary antimicrobials agents in 30 European countries in 2015. Seventh ESVAC report, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, EMA/184855/2017.
- European Medicines Agency (EMA), 2017b. Guidance on provision of data on antimicrobial use by animal species from national data collection systems [LUONNOS]. EMA/489035/2016 Corr.*
- FAO/WHO (2018). FAO/WHO expert meeting on foodborne antimicrobial resistance: Role of environment, crops and biocides. Summary Report. Saatavissa: <http://www.fao.org/3/CA0963EN/ca0963en.pdf>
- FINRES-Vet 2002-2003. Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents. Eläinlääkintä ja elintarviketutkimuslaitos EELA, Helsinki 2005, 41 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

FINRES-Vet 2004. Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents. Eläinlääkintä ja elintarviketutkimuslaitos EELA, Helsinki 2005, 47 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

FINRES-Vet 2005-2006. Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents. Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2007, 56 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

FINRES-Vet 2007-2009, Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents, Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2011, 62 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

FINRES-Vet 2010–2012. Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents, Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2015, 60 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

FINRES-Vet 2013–2015. Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents. Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2017, 62 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

FINRES-Vet 2016-2017. Finnish veterinary antimicrobial resistance monitoring and consumption of antimicrobial agents. Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Helsinki 2018, 57 s. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/antibioottiresistenssin-seuranta/finres-vet-raportit/>

Fox A, Ikoyi I, Creamer R, Lanigan G & Schmalenberger A (2017). Microbial community structure and function respond more strongly to temporal progression than to the application of slurry in an Irish grassland. *Applied Soil Ecology* 120:97-104. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.07.032>

Gagliano G G & McNamara F T (1998). Environmental assessment for enrofloxacin Baytril 100 injectable solution. Bayer Corporation.

Gao M, Qiu T, Sun Y & Wang X (2018). The abundance and diversity of resistance genes in the atmospheric environment of composting plants. *Environment International* 116:229-238. doi: 10.1016/j.envint.2018.04.028.

Girardi C, Greve J, Lamshöft M, Fetzer I, Miltner A, Schäffer A & Kästner M (2011). Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *Journal of Hazardous Materials* 198:22-30.

Golet E M, Xifra I, Siegrist H, Alder A C, & Giger W (2003). Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental Science Technology* 37:3243-3249.

Graham D W, Knapp C W, Christensen B T, McCluskey S & Dolfing J (2016). Appearance of β -lactam resistance genes in agricultural soils and clinical isolates over the 20th century. *Scientific Reports* 6:21550. DOI: 10.1038/srep21550.

Grönroos, J., 2017. Suomen ympäristökeskus. Suullinen tiedonanto 9/2017

Gullberg E, Cao S, Berg O G, Ilbäck C, Sandegren L, Hughes D & Andersson D I (2011). Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathogens* 7: 1-9. doi: 10.1371/journal.ppat.1002158.

Hakanen A, Jalava J & Kaartinen L, (2017). Mikrobilääkeresistenssin torjunnan kansallinen toimintaohjelma 2017–2021, Sosiaali- ja terveysministeriö, Helsinki, 57 ss. ISBN: 978-952-00-3955-4 (PDF).

Hallitusohjelma, 2015. Ratkaisujen Suomi, Pääministeri Juha Sipilän hallituksen strateginen ohjelma 29.5.2015. Hallituksen julkaisusarja 10/2015. http://valtioneuvosto.fi/documents/10184/1427398/Ratkaisujen+Suomi_FLYHDISTETTY_nettti.pdf/801f523e-5dfb-45a4-8b4b-5b5491d6cc82/Ratkaisujen+Suomi_FLYHDISTETTY_nettti.pdf.pdf

Hammer T J, Fierer N, Hardwick B, Simojoki A, Slade E, Taponen J, Viljanen H & Roslin T (2016). Treating cattle with antibiotics affects greenhouse gas emissions, and microbiota in dung and dung beetles. *Proceedings of the Royal Society B* 283: 20160150. doi: 10.1098/rspb.2016.0150.

- Hammersfahr U, Heuer H, Manzke B, Smalla K & Thiele-Bruhn S (2008). Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40:1583-1591. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.010>.
- Hassani M, Lazaro R, Perez C, Condon S & Paqan R (2008). Thermosability of oxytetracycline, tetracycline, and doxycycline at ultrahigh temperatures. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 26:2676-2680.
- Heuer H, Schmitt H & Smalla K (2011). Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Current Opinion in Microbiology* 14:236-243. doi: 10.1016/j.mib.2011.04.009.
- Holvoet K, Samplers I, Callens B, Dewulf J & Uyttendaele M (2011). Moderate prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from lettuce, irrigation water and soil. *Applied and Environmental Microbiology* 79:6677-6683. doi:10.1128/AEM.01995-13.
- Hospido A, Moreira M T, Martin M, Rigola M & Feijoo G (2005). Environmental Evaluation of Different Treatment Processes for Sludge from Urban Wastewater Treatments: Anaerobic Digestion versus Thermal Processes. *The International Journal of Life Cycle Assessment* 10:336-345.
- Hsieh M K, Shyu C L, Liao J W, Franje C A, Huang Y J, Chang S K, Shih P & Chou C C (2011). Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity. *Veterinárni medicína* 56(6):274-285.
- Ince B, Coban H, Turker G, Ertekin E & Ince O (2013). Effect of oxytetracycline on biogas production and active microbial populations during batch anaerobic digestion of cow manure. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 36:541-546.
- IPCC, 2006. Chapter 10. Emissions from livestock and manure management. 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories.
- ISO, 1993. ISO 11465, Soil quality - Determination of dry matter and water content on a mass basis - Gravimetric method. Kansainvälinen standardisoimisjärjestö, Geneve, Sveitsi. 3 s.
- Jarvis B, Wilrich C & Wilrich P-T (2010). Reconsideration of the derivation of Most Probable Numbers, their standard deviations, confidence bounds and rarity values. *Journal of Applied Microbiology*, 109:1660-1667.
- Jobbins S E & Alexander K A (2015). From whence they came - antibiotic-resistant *Escherichia coli* in African wildlife. *Journal of Wildlife Diseases* 51:811-820. doi:10.7589/2014-11-257.
- Kivilahti-Mäntylä K. 29.8.2017. FIMEA – Mikrobilääkkeiden kulutus eläimillä, http://www.fimea.fi/elainlaakkeet/mikrobilaakkeiden_kulutus_elaimilla.
- Keen P L, Knapp C W, Hall K J & Graham D W (2018). Seasonal dynamics of tetracycline resistance gene transport in the Sumas River agricultural watershed of British Columbia, Canada. *Science of the Total Environment* 628-629:490-498. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.278.
- Kimbell L K, Kappell A D & McNamara P J (2018). Effect of pyrolysis on the removal of antibiotic resistance genes and class I integrons from municipal wastewater biosolids. *Environmental Science Water Research & Technology* 4:1807-1818. doi:10.1039/c8w00141c.
- Knapp C, Engemann C, Hanson M, Keen P, Hall K & Graham D (2008). Indirect evidence of transposon-mediated selection of antibiotic resistance genes in aquatic systems at low-level oxytetracycline exposures. *Environmental Science and Technology* 42:5348-5353.
- Knapp C W, Dolfing J, Ehler P A I & Graham D W (2010). Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environmental Science and Technology* 44:580-587. DOI:10.1021/es901221x.
- Komission täytäntöönpanopäätös 2013/652/EU, annettu 12 päivänä marraskuuta 2013, zoonoottisten ja indikaattoribakteerien mikrobilääkeresistenssin seurannasta ja raportoinnista (EUVL L 303 14.11.2013, s. 26).
- Kumar K, Gupta S C, Chander Y & Singh A K (2005a). Antibiotic use in agriculture and its impacts on the terrestrial environment. *Advances in Agronomy* 87:1-54. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)87001-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)87001-4).

- Kumar K, Gupta S C, Baidoo S K, Chander Y & Rosen C J (2005b). Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *Journal of Environmental Quality* 34:2082-2085. doi:10.2134/jeq2005.0026.
- Kyselková M, Jirout J, Chronáková A, Vrchotová N, Bradley R, Schmitt H & Elhottová D. (2013). Cow excrements enhance the occurrence of tetracycline resistance genes in soil regardless of their oxytetracycline content. *Chemosphere* 93:2413-2418. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.08.058.
- Lallai A, Mura G & Onnis, N (2002). The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresource Technology* 82:205-208.
- Leal R M P, Figueir R F, Tornisiel V L & Regitano J B (2012). Occurrence and sorption of fluoroquinolones in poultry litters and soils from São Paulo State, Brazil. *Science of the Total Environment* 43:2344-2349.
- Lehtomäki A, Paavola T, Luostarinen S & Rintala J (2007). Biokaasusta energiaa maatalouteen – raaka-aineet, teknologiat ja lopputuotteet. Jyväskylän Yliopiston bio- ja ympäristötieteiden laitoksen tiedonantoja 85.
- Lehtonen H, Niskanen O, Karhula T & Jansik C (2017). Maatalouden rakennekehitys ja investointitarve vuoteen 2030 - markkinaskenaarioiden vaikutus tuotantorakenteeseen. Luonnonvarakeskus, Helsinki, 2017. ISBN: 978-952-326-383-3. 57 s. Saatavissa: https://www.luke.fi/wp-content/uploads/2017/04/luke-luobio_19_2017.pdf
- Li Y-X, Zhang X-L & Li W (2013). The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces. *Environmental Monitoring and Assessment* 185:2211-2220. doi:10.1007/s10661-012-2702-1.
- Liao H, Lu X, Rensing C, Friman V P, Geisen S, Chen Z, Yu Z, Wei Z, Zhou S & Zhu Y (2018). Hyperthermophilic composting accelerates the removal of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in sewage sludge. *Environmental Science and Technology* 52:266-276.
- Literak I, Dolejska M, Rybarikova J, Cizek A, Strejckova P, Vyskocilova M, Friedman M & Klimes J (2009). Highly variable patterns of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolates from pigs, sympatric rodents, and flies. *Microbial Drug Resistance* 15:229-237.
- Liu Z, Sun P, Pavlostathis S G, Zhou X & Zhang Y (2013). Inhibitory effects and biotransformation potential of ciprofloxacin under anoxic/anaerobic conditions. *Bioresource Technology* 150:28-35
- Llarena A-K, Skarp-de Haan C P A, Rossi M & Hänninen M-L (2015). Characterization of the *Campylobacter jejuni* population in the barnacle geese reservoir. *Zoonoses and Public Health* 62:209-221. <https://doi.org/10.1111/zph.12141>.
- Loke M-L, Jespersen S, Vreeken R, Halling-Sørensen B & Tjornelund J (2003). Determination of oxytetracycline and its degradation products by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in manure-containing anaerobic test systems. *Journal of Chromatography B* 783:11-23.
- Lowrance T C, Loneragan G H, Kunze D J, Platt T M, Ives S E, Scott H M, Norby B, Echeverry A & Brashears M M (2007). Changes in antimicrobial susceptibility in a population of *Escherichia coli* isolated from feedlot cattle administered ceftiofur crystalline-free acid. *American Journal of Veterinary Research* 68:501-507. doi:10.2460/ajvr.68.5.501.
- Luke 2018a. 17.7.2018a . Luke – Maatalous- ja puutarhayritysten rakenne: Maatalous- ja puutarhayritysten lukumäärä tuotantosunnittain, <http://stat.luke.fi/maatalous-ja-puutarhayritysten-rakenne>.
- Luke 17.7.2018b – Nautojen lukumäärä 1.5.2018 (ennakko), <http://stat.luke.fi/nautojen-lukum%C3%A4%C3%A4r%C3%A4-152018-ennakko.fi>.
- Luostarinen S. Biokaasuteknologiaa maataloilla I - Biokaasulaitoksen hankinta, käyttöönotto ja operointi - käytännön kokemuksia MTT:n maatalakohtaiselta laitokselta. MTT. Raportti 113.
- Luostarinen S, Hellstedt M, Nousiainen J, Grönroos J & Munther J (2018). Missä luuraavat Suomen lannat? Käytännön maamies 6/2018. Terramedia Oy, Helsinki.
- Luostarinen S, Grönroos J, Hellstedt M, Nousiainen J & Munther J (2017). Suomen normilanta - Laskentajärjestelmän kuvaus ja ensimmäiset tulokset. Luonnonvarakeskus. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 47/2017.

Luostarinen S, Pyykkönen V, Winquist E, Kässi P, Grönroos J, Manninen K & Rankinen K (2016). Maatilojen biokaasulaitokset - Mahdollisuudet, kannattavuus ja ympäristövaikutukset. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 11/2016.

Luostarinen S, Logrén J, Grönroos J, Lehtonen H, Paavola T, Rankinen K, Rintala J, Salo T, Ylivainio K & Järvenpää M (2011a). Lannan kestävä hyödyntäminen. MTT. Raportti 21.

Luostarinen S, Paavola T, Ervasti S, Sipilä I & Rintala J (2011b). Lannan ja muun eloperäisen materiaalin käsittelyteknologiat. MTT. Raportti 27.

Maaseudun Tulevaisuus, 23.5.2018. Lutikat ja rotat kaupungistuvat vauhdilla - Maatiloilla loukun laukaisi tutkimuksessa useimmiten metsähiiri. Viitattu 20.8.2018. Saatavissa: <https://www.maaseuduntulevaisuus.fi/ymp%C3%A4rist%C3%B6/artikkeli-1.236521>

Malińska K, Zabochincka-Swiątek M & Dach J (2014). Effects of biochar amendment on ammonia emission during composting of sewage sludge. *Ecological Engineering* 71:474-478.

Manyi-Loh C E, Mamphweli S N, Meyer E L, Makaka G, Simon M & Okoh A I (2016). An overview of the control of bacterial pathogens in cattle manure. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13:843. doi: 10.3390/ijerph13090843.

Marshall B M & Levy S B (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews* 24:718-733. doi: 10.1128/CMR.00002-11.

Martinez-Carballo E, Gonzalez-Barreiro C, Scharf S & Gans O (2007). Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution* 148:570-579.

Martinez J L (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution* 157:2893-2902. doi:10.1016/j.envpol.2009.05.051.

Marttinen S, Suominen K, Lehto M, Jalava T & Tampio E (2014). Haitallisten orgaanisten yhdisteiden ja lääkeaineiden esiintyminen biokaasulaitosten käsittelyjäännöksissä sekä niiden elintarvikeketjuun aiheuttaman vaaran arviointi. BIOSAFE-hankkeen loppuraportti. MTT, Jokioinen 2014. 87 s. ISBN: 978-952-487-519-6. Saatavilla: <http://www.mtt.fi/mttraportti/pdf/mttraportti135.pdf>.

Marttinen S, Venelampi O, Iho A, Koikkalainen K, Lehtonen E, Luostarinen S, Rasa K, Sarvi M, Tampio E, Turtola E, Ylivainio K, Grönroos J, Kauppila J, Koskiahio J, Valve H, Laine-Ylijoki J, Lantto R, Oasmaa A & zu Castell-Rüdenhausen M (2017). Kohti ravinteiden kierrätyksen läpimurtoa. Luonnonvarakeskus, Helsinki, 2017. ISBN: 978-952-326-437-3. 45 s. Saatavilla: https://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/540214/luke-luobio_45_2017.pdf?sequence=10.

Marx C, Mühlbauer V, Krebs P & Kuehn V (2015). Environmental risk assessment of antibiotics including synergistic and antagonistic combination effects. *Science of the Total Environment* 524-525:269-279. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.04.051.

Masse D I, Saady N M C & Yan G (2014). Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: an overview. *Animals* 4:146-163. doi:10.3390/ani4020146.

McEachran A D, Blackwell B R, Hanson J D, Wooten K J, Mayer G D, Cox S B & Smith P N (2015). Antibiotics, bacteria, and antibiotic resistance genes: aerial transport from cattle feed yards via particulate matter. *Environmental Health Perspectives* 123:337-343. doi: 10.1289/ehp.1408555.

Miller J H, Novak J T, Knocke W & Pruden A (2014). Elevation of antibiotic resistance genes at cold temperatures: implications for winter storage of sludge and biosolids. *Letters in Applied Microbiology* 59:587-593. DOI: 10.1111/lam.12325.

Molarius R, Keränen J, Jylhä K, Sarlin T & Laitila S (2010). Suomen elintarviketuotannon turvallisuuden haasteita muuttuvissa ilmasto-olosuhteissa. VTT, Tampere, 2010. Tutkimusraportti VTT-R-2672-10, 2010. 82 s. Saatavissa: <https://www.vtt.fi/inf/julkaisut/muut/2010/VTT-R-2672-10.pdf>.

Muurinen J, Stedtfel R, Karkman A, Pärnänen K, Tiedje J & Virta M (2017). Influence of manure application on the environmental resistome under Finnish agricultural practice with restricted antibiotic use. *Environmental Science and Technology* 51:5989-5999. DOI: 10.1021/acs.est.7b00551.

Mäkinen P (2017). Biohiilen lisäyksen vaikutuksen kompostointiprosessiin laitosmittakaavan tunnelikompostoinnissa.

Oikkola S (2016). Antimicrobial resistance and its mechanisms among *Campylobacter coli* and *Campylobacter upsaliensis* with a special focus on streptomycin. Väitöskirja. Helsingin yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta. 74 s. Saatavissa: <http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-51-2142-4>.

Pan M & Chu L M (2016). Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soil. *Science of the Total Environment* 545-546:48-56. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.12.040.

Pandey P K & Soupir M L (2011). *Escherichia coli* inactivation kinetics in anaerobic digestion of dairy manure under moderate, mesophilic and thermophilic temperatures. *AMB Express*, 1:18. doi:10.1186/2191-0855-1-18.

Paavola T, Winquist E, Pyykkönen V, Luostarinen S, Grönroos J, Manninen K & Rankinen K (2016). Lantaravinteiden kestävä hyödyntäminen tiloilla ja keskitetyssä biokaasulaitoksessa. Luonnonvarakeskus. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 33/2016.

Palva R, Alasuutari S & Harmoinen T (toim.), (2009). Lannan käsittely ja käyttö. Tieto tuottamaan 128. ProAgria Keskusten liitto.

Pereira R V, Siler J D, Ng J C, Davis M A, Grohn Y T & Warnick L D (2014). Effect of on-farm use of antimicrobial drugs on resistance in fecal *Escherichia coli* of preweaned dairy calves. *Journal of Dairy Science* 97:7644-7654. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8521>.

Poirel L, Rodriguez-Martinez J M, Mammeri H, Liard A & Nordmann P (2005). Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49:3523-3525. doi:10.1128/AAC.49.8.3523-3525.2005.

Rabolle M & Spliid N H (2000). Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere* 40:715-722. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00442-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00442-7).

Radhouani H, Siva N, Poeta P, Torres C, Correia S & Igrejas G (2014). Potential impact of resistance in wildlife, environment and human health. *Frontiers in Microbiology* 5:23. doi: 10.3389/fmicb.2014.00023.

Raiko R, Saastamoinen J, Hupa M & Kurki-Suonio I (2002). Poltto ja palaminen, 2. painos, Jyväskylä, Gummerus Kirjapaino Oy, 750 s.

Roberts M C (2005). Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiology Letters* 245:195-203. <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.02.034>.

Ruuskanen M, Muurinen J, Meierjohan A, Pärnänen K, Tamminen M, Lyra C, Kronberg L & Virta M (2016). Fertilizing with animal manure disseminates antibiotic resistance genes to the farm environment. *Journal of Environmental Quality* 45:488-493. DOI: 10.2134/jeq2015.05.0250.

Rybaríková J, Dolejšká M, Materna D, Literák I & Cizek A (2010). Phenotypic and genotypic characteristics of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from symbiotic flies, cattle and sympatric insectivorous house martins from a farm in Czech Republic (2006-2007). *Research in Veterinary Science* 89:179-183. doi:10.1016/j.rvsc.2010.02.016.

Sahlström L (2003). A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresource Technology*, 87:161-166. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00168-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00168-2).

Salo T, Grönroos J, Luostarinen S, Kapuinen P, Manninen K, Rankinen K & Myllyviita T (2015). Lietelannan happokäsittely lannan ravinteiden käytön tehostamisen tukena. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 56/2015. http://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/520282/luke-lubio_56_2015.pdf;sequence=2

Sanchez H M, Echeverria C, Thulsiraj V, Zimmer-Faust A, Flores A, Laitz M, Healy G, Mahendra S, Paulson S E, Zhu Y & Jay J A (2016). Antibiotic resistance in airborne bacteria near conventional and organic beef cattle farms in California, USA. *Water Air & Soil Pollution* 227:280. doi: 10.1007/s11270-016-2979-8.

Sandberg K D & LaPara T M (2016). The fate of antibiotic resistance genes and class I integrons following the application of swine and dairy manure to soils. *FEMS Microbiology Ecology* 92:1-7. doi: 10.1093/femsec/fiw001

Sandegren L (2014). Selection of antibiotic resistance at very low antibiotic concentrations. *Uppsala Journal of Medical Sciences* 119:103-107. DOI: 10.3109/03009734.2014.904457.

Sarmah A K, Meyer M T & Boxall A B A (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65:725-759. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.03.026.

Sengeløv G, Agersø Y, Halling-Sørensen B, Baloda S B, Andersen J S & Jensen L B (2003). Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environment International* 28:587-595.

Slana M & Dolenc M S (2013). Environmental risk assesment of antimicrobials applied in veterinary medicine- A field study and laboratory approach. *Environ Toxicol Pharmacol* 35:131-141.

Spielmeyer A, Breier B, Großmeier K & Hamscher G (2015). Elimination patterns of worldwide used sulfonamides and tetracyclines during anaerobic fermentation. *Bioresource Technology* 193: 307-314. doi: 10.1016/j.biortech.2015.06.081.

Suomen standardisoimisliitto, (1990). SFS 3008, Veden, lietteen ja sedimentin kuiva-aineen ja hehkutusjäännöksen määrittäminen. Suomen Standardisoimisliitto ry, Helsinki. 3 s.

Suomen standardisoimisliitto, 2000. SFS-EN 12879, Lietteen karakterisointi. Hehkutushäviön määrittäminen. Helsinki. 7 s.

Suomen standardisoimisliitto, 2002a. SFS-EN 13652, Maanparannusaineet ja kasvualustat. Vesiliukoisten ravinteiden ja alkuaineiden uuttaminen. 30 s.

Suomen standardisoimisliitto, 2002b. SFS-EN 13654-1, Soil improvers and growing media. Determination of nitrogen. Part 1: Modified Kjeldahl method. 11 s.

Suomen standardisoimisliitto, 2009. SFS-EN ISO 11885:en, Water quality. Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). 32 s.

Shin S W, Shin M K, Jung M, Belaynehe K M & Yoo H S (2015). Prevalence of antimicrobial resistance and transfer of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolates from beef cattle. *Applied and Environmental Microbiology* 16:5560-5566. doi:10.1128/AEM.01511-15.

Silva M R & Naik T R (2007). Review of composting and anaerobic digestion of municipal solid waste and methodological proposal for a mid-size city. Kirjassa: Sustainable Construction Materials and Technologies, Edit. Chun Y M, Claisse P, Naik T R & Ganjian.

Chun, P. Claisse, T. R. Naik & Ganjian). Kustantaja: Taylor & Francis. Saatavissa: https://www.researchgate.net/publication/242651110_Review_of_composting_and_anaerobic_digestion_of_municipal_solid_waste_and_a_methodological_proposal_for_a_mid-size_city

Sturini M, Speltini A, Maraschi F, Profumo A, Pretali L, Fasani E & Albini A (2012). Sunlight-induced degradation of soil-adsorbed veterinary antimicrobials Marbofloxacin and Enrofloxacin. *Chemosphere* 86:130-137.

Subbiah M, Mitchell S M & Call D R (2016). Not all antibiotic use practices in food-animal agriculture afford the same risk. *Journal of Environmental Quality* 45:618-629. doi:10.2134/jeq2015.06.0297.

Sun W, Qian X, Gu J, Wang X-J & Duan M-L (2016). Mechanism and effect of temperature on variations in antibiotic resistance genes during anaerobic digestion of dairy manure. *Scientific Reports* 6:30237. doi:10.1038/srep30237.

Surette M D & Wright G D (2017). Lessons from the environmental antibiotic resistome. *Annual Reviews* 71:309-329. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093420>.

- Svahn O & Björklund E (2015). Thermal stability assessment of antibiotics in moderate temperature and subcritical water using a pressurized dynamic flow-through system. *International Journal of Innovative and Applied Studies* 11:872-880.
- Tasho R P & Cho J Y (2016). Veterinary antibiotics in animal waste, its distribution in soil and uptake by plants: a review. *Science of the Total Environment* 563-564:366-376. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.140.
- Thiele-Bruhn S (2003). Pharmaceutical antibiotic compounds in soils: a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166:145-167. <https://doi.org/10.1002/jpln.200390023>.
- Thomson K, Rantala M, Hautala M, Pyörälä S & Kaartinen L (2008). Cross-sectional prospective survey to study indication-based usage of antimicrobials: results of use in cattle. *BMC Veterinary Research* 4:15. doi: 10.1186/1746-6148-4-15.
- Tian Y, Zhang J, Zuo W, Chen L, Cui Y & Tan T (2013). Nitrogen Conversion in Relation to NH₃ and HCN during Microwave Pyrolysis of Sewage Sludge. *Environmental Science and Technology* 47:3498-3505.
- Tolls J (2001). Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental Science and Technology* 35:3397-3406.
- Turker G, Ince O, Ertekin E, Akyol C & Ince B (2013). Changes in performance and active microbial communities due to single and multiple effects of mixing and solid content in anaerobic digestion process of OTC medicated cattle manure. *International Journal of Renewable Energy Research*, 3.
- Turner C (2002). The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure. *Bioresource Technology*, 84:57-61. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00008-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00008-1).
- Udikovic-Kolic N, Wichmann F, Broderick N A & Handelsman J (2014). Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization. *PNAS* 111:15202-15207. <https://doi.org/10.1073/pnas.1409836111>.
- Unc A & Goss M J (2004). Transport of bacteria from manure and protection of water resources. *Applied Soil Ecology* 24:1-18. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.08.007>.
- U.S. Environmental Protection Agency, 1994. EPA3051, Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils.
- Vandecasteele B, Sinicco T, D'hose T, Vanden Nest T & Mondini C (2016). Biochar amendment before or after composting affects compost quality and N losses, but not P plant uptake. *Journal of Environmental Management* 168:200-209.
- Van Epps A & Blaney L (2016). Antibiotic residues in animal waste: occurrence and degradation in conventional agricultural waste management practices. *Current Pollution Report* 2:135-155. <https://doi.org/10.1007/s40726-016-0037-1>.
- Veldman K, Cavaco L M, Mevius D, Battisti A, Franco A, Botteldoorn N, Bruneau M, Perrin-Guyomard A, Cerny T, De Frutos Escobar C, Guerra B, Schroeter A, Gutierrez M, Hopkins K, Myllyniemi A-L, Sunde M, Wasyl D & Aarestrup F M (2011). International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from animals, humans, food and environment in 13 European countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66:1278-1286. doi:10.1093/jac/dkr084.
- Virtanen V (2016). Eläinlääkkeiden ympäristöriskien arviointi. SIC!, 3/2016. Viitattu 23.5.2018. Saatavissa: https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/131114/3_16_44-48%20EI%C3%A4inl%C3%A4%C3%A4kkeiden%20ymp%C3%A4rist%C3%B6riskien%20arviointi.pdf?sequence=1
- Wallace J S, Garner E, Pruden A & Aga D S (2018). Occurrence and transformation of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes in dairy manure treated by advanced anaerobic digestion and conventional treatment methods. *Environmental Pollution*, 236:764-772.
- Wales A D & Davies R H (2015). Co-selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and its relevance to foodborne pathogens. *Antibiotics* 4:567-604. doi:10.3390/antibiotics4040567.

Wang Y, Tian G-B, Zhang R, Shen Y, Tyrrell J M, Huang X, Zhou H, Lei L, Li H-Y, Doi Y, Fang Y, Ren H, Zhong L-L, Shen Z, Zeng K-J, Wang S, Liu J-H, Wu C, Walsh T R & Shen J (2017a). Prevalence, risk factors, outcomes, and molecular epidemiology of mcr-1-positive Enterobacteriaceae in patients and healthy adults from China: an epidemiological and clinical study. *The Lancet Infectious Diseases* 17:390-399.

Wang Y, Zhang R, Li J, Wu Z, Yin W, Schwarz S, Tyrrell J M, Zheng J, Wang S, Shen Z, Liu Z, Liu J, Lei L, Li M, Zhang Q, Wu C, Zhang Q, Wu Y, Walsh T R & Shen J (2017b). Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nature Microbiology Letters* 2:16260.

Wei R, Ge F, Zhang L, Hou X, Cao Y, Gong L, Chen M, Wang R & Bao E (2016). Occurrence of 13 veterinary drugs in animal manure-amended soils in Eastern China. *Chemosphere* 144:2377-2383. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.126>.

World Health Organization (WHO), 2016. Critically important antimicrobials for human medicine – 5. revision 2016. Geneva 2017. 41 ss. ISBN: 978-92-4-151222-0.

Youngquist C P, Mitchell S M & Cogger C G (2016). Fate of antibiotics and antibiotic resistance during digestion and composting: a review. *Journal of Environmental Quality* 45:537-545. doi:10.2134/jeq2015.05.0256.

UNEP (2017). *Frontiers 2017: Emerging issues of environmental concern*. Yhdistyneet kansakunnat Ympäristöohjelma, Nairobi.

Zhang L & Wu Q (2005). Single gene retrieval from thermally degraded DNA. *Journal of Biosciences* 30:599-604.

Zhang Y, Zhang C, Parker D B, Snow D D, Zhou Z & Li X (2013). Occurrence of antimicrobials and antimicrobial resistance genes in beef cattle storage ponds and swine treatment lagoons. *Science of the Total Environment* 463-464:631-638. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.06.016.

Zhang H, Zhou Y, Huang Y, Wu L, Liu X & Luo Y (2016). Residues and risks of veterinary antibiotics in protected vegetable soils following application of different manures. *Chemosphere* 152:229-237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.111>.

Zhang H, Li X, Yang Q, Sun L, Yang X, Zhou M, Deng R & Bi R (2017). Plant Growth, Antibiotic Uptake, and Prevalence of Antibiotic Resistance in an Endophytic System of Pakchoi under Antibiotic Exposure. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14:1336. doi: 10.3390/ijerph14111336.

Zhao L, Dong Y H & Wang H (2010). Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Science of the Total Environment* 408:1069-1075. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.11.014.

Zoonosikeskus (2019). Laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä tuottavat bakteerit (ESBL). Viitattu 29.10.2019. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/teemat/zoonosikeskus/mikrobilaaakeresistenssi/zoonosibakteerien-resistenssi/laajakirjoisia-beetalaktamaasientsyymeja-tuottavat-bakteerit-esbl/>

Zurek L & Ghosh A (2014). Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits. *Applied and Environmental Microbiology* 80:3562-3567. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00600-14>.



RUOKAVIRASTO

Livsmedelsverket • Finnish Food Authority



Ruokaviraston tutkimuksia 4/2019

ISSN 2490-1180

ISBN 978-952-358-008-4

Kannen kuva: Kirsi Konttinen