

KRYPTOSPORIDIOOSI – NOUSEVA ZOONOOSIUHKA NAUTAKARJOISSA (KRYPTO)

1. Hankkeen tavoitteet

Hankkeen päätavoitteena on nautakarjatalouteen liittyvien eläinten ja ihmisten kryptosporidioositartuntojen ehkäisy ja riskinhallinta.

Sen toteutumiseksi:

1. selvitetään nautatilojen kryptosporidioositartuntojen esiintymistä, tartuntojen lisääntymiseen vaikuttavia tekijöitä sekä suojautumista tartuntojen leviämiseen tiloilla
2. selvitetään ihmisten kryptosporidioositartuntojen lisääntymiseen vaikuttavia tekijöitä
3. selvitetään nautatilojen ja ihmisten *Cryptosporidium parvum* -tartuntojen epidemiologiaa alatyypityksen ja kokogenomisekvensoinnin avulla
4. selvitetään nautatilojen ulosteperäisiä päästöjä vesistöihin ja tilojen talousvesijärjestelmiin
5. laaditaan ohjeistus kryptosporidioosin työterveysriskeistä ja niiltä suojautumiselta (työterveysopas)
6. tiedotetaan kryptosporidioosin tartuntalähteistä ja tartuntojen torjumisesta terveydenhuollon ja terveydensuojelun ammattilaisille, maatalousalan työntekijäryhmille ja kansalaisille
7. jaetaan hankkeen tutkimustieto elinkeinon käyttöön tartuntariskin hallitsemiseksi nautakarjataloudessa

2. Osapuolet ja yhteistyö

2.1. Yhteistyöosapuolet:

Ruokavirasto. Eläinterveystutkimuksen yksikkö (ELTU): Tiina Autio (vastuullinen tutkija, hankkeen johto), Tuulia Enbom, Jenni Suolaniemi, Sinikka Pelkonen, Antti Oksanen. **Riskinarviointi (RISKI):** Leena Seppä-Lassila.

THL. Infektiotautien torjunta (INFE): Ruska Rimhanen-Finne, Kristiina Suominen.

Asiantuntijamikrobiologiayksikkö, Vesimikrobiologian laboratorio (VESI): Ilkka Miettinen, Tarja Pitkänen, Anna-Maria Hokajärvi.

TTL. Työympäristö: Sirpa Laitinen.

Helsingin Yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta (HY): Helena Rautala

Eläinten terveys ETT ry: Olli Ruoho

Valio: Kristiina Sarjokari

European Union Reference Laboratory for Parasites, Istituto Superiore di Sanità (EU-RL): Simone Cacciò

2.2. Eri osapuolten roolit työpaketeittain:

Työpaketti 1: Päävastuu Ruokavirasto (ELTU ja RISKI). Tilakyselyn suunnittelu Ruokavirasto (ELTU ja RISKI), TTL, THL (VESI), Valio, Eläinten terveys ETT ry, HY. Tilojen valinta Ruokavirasto (ELTU ja RISKI) ja Valio. Kyselyn toteutus Ruokavirasto (ELTU ja RISKI) ja Valio. Ulostenäytteiden analysointi Ruokavirasto (ELTU). Tulosten analysointi ja raportointi Ruokavirasto (RISKI ja ELTU).

Työpaketti 2: Päävastuu TTL. Työturvallisuusohjeistuksen laadintaa TTL, THL (INFE ja VESI), Eläinten terveys ETT ry, HY, Valio ja Ruokavirasto.

Työpaketti 3: Päävastuu THL (INFE). Kyselyn suunnittelu THL (INFE ja VESI), TTL, ja Ruokavirasto (ELTU). Toteutus, analysointi ja raportointi (THL (INFE), Ruokavirasto (ELTU) ja TTL).

Työpaketti 4: Päävastuu Ruokavirasto (ELTU). Tutkimuksen suunnittelu, tyyppitettävien näytteiden hankkiminen ja kliinisten laboratoriodien ohjeistaminen THL (INFE) ja Ruokavirasto (ELTU). Kokogenomisekvensointi EU-RL. Toteutus, analysointi ja raportointi Ruokavirasto (ELTU) ja THL (INFE).

Työpaketti 5: Päävastuu THL (VESI). Näytteenottojen toteutus työpaketti 1:n tiloilla tilakäynneillä, joissa mukana Ruokavirasto (ELTU). Kyselyn (opinnäytetyö, XAMK) suunnittelu THL (INFE ja VESI), TTL, Ruokavirasto (ELTU), Eläinten terveys ETT ry ja Valio.

2.3. Yhteistyö

Tutkimushankkeen tutkijaryhmä oli laaja-alainen, mikä oli hankkeelle monella tavoin hyödyllistä. Kaikki osapuolet osallistuivat aktiivisesti ja innostuneesti hankekokouksiin ja tiedonvaihto sujuvaa. Kyselytutkimusten suunnittelu (tila-, potilas- ja vesikyselyt) sekä työturvallisuusohjeen työstäminen tehtiin yhteistyönä. Kaikkiaan koko tutkimusryhmän hankekokouksia järjestettiin 16, joista ensimmäiset ehdittiin pitämään läsnäolokokouksina ennen Covid-19 pandemiaa. Läsnäolokokoukset olivat erittäin tärkeitä tutustumisen ja tehokkaan suunnittelun kannalta, sillä kaikki hankeryhmän jäsenet eivät tunteneet toisiaan aiemmin. Myöhemmin hankekokoukset pidettiin etäkokouksina.

Hankkeen viestintä oli onnistunutta. Ensimmäisissä kokouksissa suunniteltiin hankkeen viestintää yhdessä, jolloin kaikki sitoutuivat hankkeesta tiedottamiseen. Kävimme läpi eri osapuolien sidosryhmiä tavoittavat viestintäkanavat. Hankeryhmän laaja-alaisuus ja hyvät kontaktit omiin sidosryhmiin mahdollistivat tehokkaan tiedottamisen hankkeen aikana. Hankeryhmäläisiä pyydettiin usein puhujiksi eri tilaisuuksiin.

3. Hankkeen toteutus ja tulokset

3.1 Työpaketti 1. Kryptosporidien leviäminen ja hallinta nautatiloilla

Menetelmät ja aineisto

Yli 50 lehmän lypsykarjatilaille toteutettiin tapaus-verrokkitutkimus marraskuun 2019 ja toukokuun 2020 välisenä aikana. Tapaustiloiksi kutsuttiin lypsykarjatilat, joilta oli Ruokaviraston laboratoriossa varmistettu *C. parvum* -tartunta tammikuun 2018 ja huhtikuuhun 2020 välisenä aikana. Vertailukarjoiksi kutsuttiin satunnaisesti valitut Valion lypsykarjatilat, joilla ei Nasevan terveydenhuollon vuosikatsaustietojen perusteella ollut todettu vasikkaripuliongelmaa viimeisen vuoden aikana. Tiloille tehtiin kyselytutkimus, jossa selvitettiin mahdollisia riskitekijöitä sekä tuottajien tietoja, asenteita ja toimintatapoja (KAP, knowledge, attitude, practices). Kyselyn lisäksi tilojen eläinmäärä, eläinliikenne-, tuotos- ja terveydenhuoltotietoja kerättiin nautarekisteristä, ProAgrian ProTerveys tuotosseurannasta sekä Nasevasta. Tutkimustilat saivat halutessaan lähettää vasikoiden ulostenäytteitä laboratoriotutkimukseen *C. parvum* tartunnan varalta.

Tapaus-verrokkitutkimuksen tutkimusaineisto analysoitiin käyttäen tilastollisia menetelmiä (mm. logistisen regressio). Sisällönanalyysimenetelmää käytettiin kolmen avokysymyksen vastausten analysointiin. Kysymykset liittyivät kryptosporidioosin puhkeamiseen, siltä välttymiseen vaikuttaviin tekijöihin ja kliinisen kryptosporidioositartunnan vaikutuksiin tilan toimintaan.

Tulokset

Tavoitteena oli selvittää nautatilojen kryptosporidioositartuntojen esiintymistä, tartuntojen lisääntymiseen vaikuttavia tekijöitä sekä tekijöitä, jotka suojaavat tiloja tartuntojen leviämiseltä. Kaikkiaan 107 verrokkitilaa lähetti vasikoiden ulostenäytteitä tutkittavaksi. Verrokkituloista neljänneksellä todettiin *C. parvum* -tartunta, vaikka tiloilla ei ollut vasikkaripuliongelmaa.

Kyselyyn vastasi 90 tapaustilaa ja 175 verrokkitilaa. Tapaustilat olivat kooltaan merkitsevästi suurempia kuin verrokkitilat, mutta keskituotoksessa niillä ei todettu eroa. Eläinmäärä lisääntyi tapaustiloilla enemmän kuin verrokkituloilla ja niille oli hankittu eläimiä useammasta pitopaikasta kuin verrokkituloille. Tapaus-verrokkitutkimuksessa vasikoiden kliiniselle kryptosporidioosille todettiin useita riskitekijöitä: 1) sairaita vasikoita ei eroteltu terveistä vasikoista, 2) pikkuvasikoille oli käytössä vain yksi ryhmäkarsina, 3) hoitaja koki vasikoiden hoitoon käytettävissä olevan ajan riittämättömäksi, 4) suuri karjakoko ja 5) tilakontaktien lukumäärä.

Avovastausten tekstinsisältöanalyysissä hahmottui useita ylä- ja alakategorioita. Tapaustilat olivat tunnistaneet puutteita hygieniassa tai vasikoiden pito-olosuhteissa. Verrokkitilat kokivat

kryptosporidioosilta välttymisen selitykseksi useimmin tautisulun käytön ja hygieniasta huolehtimisen. Tapaustiloilla yleisin toimintatapoihin tehty muutoskin oli hygieniaan panostaminen.

KAP-tutkimusosiossa todettiin noin puolella vastaajista riittävät tiedot ihmisten tartunnan ehkäisemiseksi. Tuottajat pitivät eläinlääkäreitä tärkeimpänä tietolähteenä eläinten tarttuvista taudeista. Tartuntojen ehkäisemisen näkökulmasta enemmistöllä tuottajista oli suotuisa asenne. Valtaosa piti kryptosporidioosia vakavana tautina, uskoi, että sen esiintymistä vasikoilla voidaan ehkäistä ja katsoi tärkeäksi tiedottaa tilalla vierailevia henkilöitä tilalla esiintyvistä tartunnasta. Kuitenkin vain hieman alle puolet tartuntatilojen vastaajista kertoi aina tiedottavansa tilalla vierailevia henkilöitä tartunnasta. Suojainten käyttö ei ole ollut yleistä ja myös käsienpesukäytännöissä ilmeni puutteita erityisesti ennen navetalla syömistä ja juomista. Suurin osa ilmoitti käyttävänsä henkilökohtaista mobiililaitettaan navetalla päivittäin, ja näistä vain harva kertoi suojaavansa laitteen tai pesevänsä kätensä ennen laitteen käyttämistä. Riittämättömät tiedot ja riskialttiit toimintatavat voivat altistaa kryptosporidioositartunnoille.

Toteutusvaiheen arviointi

Tutkimukseen saatiin hyvin vastaajia ja elinkeinon mukana olo hankkeessa on todennäköisesti lisännyt vastaajien halukkuutta osallistua. Kyselytutkimuksen ajoitettiin talvelle, jolloin tiloilla oli paremmin aikaa vastata kuin maatilan töiden kannalta kiireisten kevät- ja kesäkuukausien aikana. Tämä auttoi osaltaan vastaajien hankintaa. Tapaustilojen mukaan saaminen oli haasteellista ja vaati useita yhteydenottoja sekä sähköpostitse että puhelimitse. KAP-tutkimus yhteistyössä Itä-Suomen yliopiston kanssa mahdollisti uudenlaisen tutkimusnäkökulman osaksi hanketta. Sen avulla saatiin tärkeää tietoa tuottajien tiedoista, asenteista ja toimintatavoista. Kyselyn pilotointi kahdella tartuntatilalla koettiin tärkeäksi. Siinä todettiin muun muassa ettei vasikoiden hoitoon ensisijaisesti keskittyvä henkilö osaa luotettavasti vastata vesihuoltoon liittyviin kysymyksiin, ja siksi vesikysely toteutettiin erillisenä (työpaketti 5).

Julkaisut

Suolaniemi, J.; Autio, T.; Heikkinen, J.; Räsänen, K. Knowledge, Attitudes, and Practices of Finnish Dairy Farmers on Cryptosporidiosis. *J Agromedicine* 2022, 1-12, doi:10.1080/1059924X.2022.2112417.

Suolaniemi Jenni. 2021. Knowledge, attitudes, and practices of Finnish dairy farmers regarding zoonotic cryptosporidiosis. Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta, Lääketieteenlaitos, Kansanterveystiede ja kliininen ravitsemustiede, Pro Gradu tutkielma. <http://urn.fi/urn:nbn:fi:uef-20211067>

Enbom T., et al. Management associated risk factors for cryptosporidiosis in dairy calves in Finland. Käsikirjoitus työn alla, valmistunee keväällä 2023.

Koivukoski Tiina. 2022. Kryptosporidioosin leviäminen, torjunta ja hallinta lypsykarjatiljoilla. Helsingin yliopisto, eläinlääketieteellinen tiedekunta, Tuotantoeläinten terveyden- ja sairaanhoito. Lisensiaatin tutkielma. <http://urn.fi/URN:NBN:fi:hulib-202211153802>

3.2 Työpaketti 2: Parempi työturvallisuuden riskinhallinta

Menetelmät ja aineisto

Työturvallisuusohjeistuksen laatimista varten toteutettiin kirjallisuushaku sekä hyödynnettiin muista työpaketeista saatuja tutkimustuloksia. Työperäisten sairauksien rekisteriä (TPSR) hyödynnettiin työperäisten kryptosporidioositapausten selvittämisessä. Tapaturmavakuutuskeskus (TVK) ja Maatalousyrittäjien eläkelaitos (MELA) toimittavat ammattitauteja ja ammattitautiepäilyjä koskevat tiedot TPSR:iin vuosittain. Lisäksi lääkärien kautta Aluehallintovirastojen työsuojelun vastuualueille tulleiden ammattitauti-ilmoitusten tiedoilla täsmennetään vakuutusyhtiöiltä saatuja tapaustietoja.

Tulokset

Tavoitteena oli laatia ohjeistus kryptosporidioosin työterveysriskeistä ja niiltä suojautumiselta. Tarve ohjeistukselle oli niin suuri nautatiloilla työskentelevien keskuudessa, että työturvallisuusohje laadittiin heti hankkeen alkuvaiheessa ja julkaistiin neljällä kielellä TTL:n verkkosivuilla vuonna 2019. Käännöstyön rahoitti TTL:n Maatalousyrittäjien työterveyshuollon keskusyksikkö. Työturvallisuusohjeen tartunnoilta suojautumisen pääkohdista laadittiin ns. huoneentaulut, jotka ovat vapaasti tulostettavissa TTL:n verkkosivuilta.

Työturvallisuusohjeistuksen myötä lisättiin tiedotusta kryptosporidioosin tartuntalähteistä ja tartuntoja rajoittavista toimenpiteistä myös terveydenhuollon ja erityisesti työterveyshuollon ammattilaisille. Kryptosporidioosin merkitys työperäisenä sairautena on alettu tunnistaa, ja vahvistettujen ammattitautien ja ammattitautiepäilyjen kirjaaminen on lisääntynyt myös TPSR:iin. Viimeisin tieto on saatavilla vuodelta 2019, jolloin vahvistettuja kryptosporidioosiammattitauteja on 46 kpl ja ammattitautiepäilyjä 7 kpl. Tapausmäärät TPSR:ssä ovat selvästi alhaisempia kuin THL:n tartuntatautirekisterissä. Tämä johtuu osittain siitä, että kryptosporidioositapausten työperäisen alkuperän todistamisessa on ollut vaikeuksia, eikä kriteerejä ammattitaudin vahvistamiseksi ole laadittu kryptosporidioosille.

Tämän hankkeen työpakettien tuloksilla osoitettiin, että kryptosporidioosi voidaan yhdistää nautatiloilla työskentelemiseen. Sen perusteella arvioimme nautatiloilla työskentelemiseen liittyvän kryptosporidioosiriskin kohtalaiseksi tai korkeaksi huomioiden seuraavat tekijät: 1) *C. parvum* luokitellaan riskiryhmään 2 STM:n asetuksen 748/2020 luokituksen mukaisesti, 2) Altistuminen on todennäköinen, koska *C. parvum* -alkueläintä esiintyy yleisesti vasikoilla, sen tartuttavat ookystat säilyvät hyvin ympäristössä ja työntekijät voivat altistua ookystille päivittäin nautatilan työtehtävissä. Tartunta tapahtuu

helposti käsien kautta ja pieni määrä ookystia riittää aiheuttamaan infektion. 3) Infektion seuraukset voivat olla kohtalaisia, koska taudin oireet kestävät keskimäärin 12 päivää ja osalla taudinkuva vaikeutuu johtaen sairaalahoidon tarpeeseen.

Ammattitaudin vahvistamiseksi riittäviä edellytyksiä voisivat olla seuraavat seikat: 1) työntekijällä on diagnosoitu *Cryptosporidium*-tartunta; 2) työntekijällä on ollut vasikkakontakti; 3) työssä altistumisaika on sopiva taudin itämisaikaan; eikä 4) ilmene toista todennäköistä tartuntalähdettä.

Toteutusvaiheen arviointi

Työperäisten sairauksien rekisterin tiedot julkaistaan 2–3 vuoden viiveellä sairauksien toteamisesta. Reaaliaikaisempien rekistereiden tietoihin kuten THL:n tartuntatauti-ilmoitukseen henkilön ammatin ja toimialan lisääminen helpottaisi tautitapaustietojen seurantaa ja nopeuttaisi torjuntatoimenpiteiden toteutumista.

Hankkeen alussa pdf-tiedostoina laaditut työturvallisuusohjeet jouduttiin poistamaan saavutettavuusdirektiivin vaatimusten vuoksi TTL:n verkkosivuilta vuonna 2021 toteutetun verkkopalvelu-uudistuksen aikana. Työturvallisuusohje oli käännetty neljälle eri kielelle eikä niitä silloin päästy uudistamaan. Koska kyseistä ohjeistusta tarvitsevat pääasiassa nautojen parissa työskentelevät henkilöt ja heidän terveydenhuoltonsa, päätettiin työturvallisuusohjeet siirtää saataviksi Eläinten terveys ETT ry:n verkkosivustolle.

Julkaisut

Työturvallisuusohjeet kryptosporidioosin torjuntaan (TTL)

<https://www.ett.fi/nauta/taudit/kryptosporidioosi/>

Tulosta eläintiloissa työskentelyyn ohjetaulut (TTL)

<https://www.ttl.fi/teemat/tyoturvaluus/altistuminen-tyoympariston-haittatekijoille/biologiset-altisteet-tyopaikalla>

3.3 Työpaketti 3: Ihmisten kryptosporidioosin tartuntalähteiden tunnistaminen

Menetelmät ja aineisto

Työpaketti 3 toteutettiin tapaus-verrokkikyselytutkimuksena. Tartuntatautirekisteristä poimittiin heinä-joulukuun 2019 ajalta (6 kk) ilmoitetut kryptosporidioositapaukset, joille haettiin Väestötietojärjestelmästä kuusi iän, sukupuolen ja sairaanhoitopiirin suhteen kaltaistettua verrokkia kullekin. Kyselylomakkeella kysyttiin tietoja taudin oirekuvasta ja vakavuudesta sekä erilaisista altisteista (mm. nautakontaktit, elintarvike- ja ympäristöaltisteet).

Tulokset

Tavoitteena oli selvittää ihmisten kryptosporidioositartuntojen lisääntymiseen vaikuttavia tekijöitä. Heinä-joulukuussa 2019 Tartuntatautirekisteriin ilmoitettiin eri puolilta Suomea 291 kryptosporidioositapausta, joista 254:lle lähetettiin kysely. Kliiniset laboratoriot lähettivät 272:n tapauksen näytteet tyypitettäväksi (osatyö 4). Kaikilla kyselyyn vastanneista tapauksista, joista oli potilasnäyte (82 kpl), todettiin *C. parvum*.

Tapausten keski-ikä oli 38 vuotta ja naisia oli 68 %. Yleisimmät oireet olivat ripuli, vatsakipu ja pahoinvointi. Oireet kestivät keskimäärin 12 päivää. Tapauksista noin kolmannes sai suonensisäistä nestehoitoa ja joka kymmenes joutui sairaalahoitoon. Sairastuminen oli yhteydessä nautakontaktiin, perheenjäsenen samanaikaiseen vatsatautiin ja ajan viettämiseen omalla mökillä. Yli puolella tapauksista oli säännöllinen nautakontakti töiden tai opintojen vuoksi.

Toteutusvaiheen arviointi

Hankkeen aloitus viivästyi heinäkuun viimeiselle viikolla THL:n tapauspoimintaan liittyvien IT-ongelmien vuoksi. Postilakko 11.–27.11.2019 hidasti kyselykaavakkeiden toimitusta 2 viikon ajan. Hankkeen alussa havaittiin, että laboratorioista ilmoitetut saman henkilön *Cryptosporidium*-ilmoitukset eivät yhdistyneet automaattisesti yhdeksi tapaukseksi vaan näkyivät rekisterissä duplikaatteina. Tämä korjattiin hankkeen aikana.

Julkaisut

Enbom T., Suominen K., Laitinen S., Ollgren J., Autio T., Rimhanen-Finne R. *Cryptosporidium parvum* poses an emerging occupational risk of zoonotic infection in people working with cattle in Finland. Käsikirjoitus lähetetty arvioitavaksi.

3.4 Työpaketti 4: *Cryptosporidium parvum* -tartuntojen molekyyli-epidemiologia

Menetelmät ja aineisto

Tutkimusaineistona olivat kliinisten laboratorioden heinä-joulukuun 2019 aikana lähettämät potilasnäytteet (työpaketti 3), Ruokavirastoon toimitetut kliiniset vasikkaripulinäytteet sekä verrokkitulojen (työpaketti 1) vasikoiden ulostenäytteet. Potilasnäytteitä kliiniset laboratoriot lähettivät 411 kpl analysoitavaksi *C. parvum* ja *C. hominis* -lajien varalta (real time PCR). Nautatilojen ja ihmisten *C. parvum* -tartuntojen epidemiologiaa selvitettiin näytteiden gp60-alatyypityksen ja kokogenomisekvensoinnin avulla. Gp60-alatyypityksellä analysoitiin *C. parvum* positiivisia näytteitä 76 tapaustilalta, 25 verrokkitalta sekä 124 potilaasta.

Euroopan unionin parasitologian referenssilaboratorioon (EURL) Istituto Superiore di Sanità Italiaan lähetettiin näytteitä heinäkuussa 2020 kokogenomisekvensointia (WGS) varten. Mukana oli *C. parvum*

positiivisia näytteitä potilaista, jotka olivat vastanneet potilaskyselyyn (10 kpl, työpaketti 3); tapaustiloilta (10 kpl, työpaketti 1) ja verrokkituloilta (10 kpl, työpaketti 1). Lisäksi lähetettiin neljä paria näytteitä potilaista ja vasikoista, joilla oli todettu yhteys toisiinsa (työpaketti 3).

Tulokset

Tavoitteena oli selvittää naudatilojen ja ihmisten *C. parvum* -tartuntojen epidemiologiaa alatyypityksen ja kokogenomisekvensoinnin avulla. Zoonoottisen *C. parvum* -lajin todettiin aiheuttavan valtaosan ihmisten kryptosporiditartunnoista. Gp60-alatyypityksen tulosten perusteella Suomessa esiintyy samoja *C. parvum* -alatyyppejä vasikoilla ja kryptosporidioosiin sairastuneilla ihmisillä. Maailmanlaajuisesti vasikoilla yleisesti esiintyvä *C. parvum* -alatyyppejä IlaA15G2R1 oli yleisin myös Suomessa. Se todettiin 58 %:ssa potilasnäytteistä, 68 %:ssa tapaustilojen näytteistä ja 40 %:ssa kontrollitulojen näytteistä. Toinen yleisesti esiintyvä alatyyppejä oli IlaA13G2R1, jota on todettu aiemmin eri maissa sekä vasikoista että ihmisistä. Sitä todettiin 23 %:ssa potilasnäytteistä, 17 %:ssa tapaustilojen näytteistä ja 20 %:ssa kontrollitulojen näytteistä. Nämä kaksi alatyyppejä edustivat suurinta osaa näytteistä todetuista gp60-alatyypeistä. Tutkimustuloksen perusteella vaikuttaa siltä, että Suomessa *C. parvum* leviää zoonoottisesti vasikoista ihmisiin.

Kokogenomisekvensoinnin tulokset eivät ole vielä valmistuneet.

Toteutusvaiheen arviointi

Kliiniset laboratoriot lähettivät innokkaasti potilasnäytteitä, ja niitä saatiin erittäin kattavasti. Osassa potilasnäytteistä oli alatyypityksen onnistumisen kannalta liian vähäinen määrä kryptosporideja. Kaikilta hankkeeseen kutsutuilta tapaustiloilta oli valmiina Ruokavirastossa vasikoiden ulostenäytteet, joissa oli todettu *C. parvum*. Myös verrokkituloilta lähettivät runsaasti näytteitä. Näytteitä saatiin siten kattavasti Gp60-alatyypitystä varten.

Vain rajallinen määrä potilaita ilmoitti mahdollisen altistumisnautatilan tiedot. Näytteitä potilaista ja vasikoista, joilla oli todettu yhteys toisiinsa, saatiin vähän. Osassa tapauksista, joista tilatieto saatiin, ei saatu näytettä joko potilaasta tai kontaktimaatilalta. Kaikkiaan saatiin neljä vasikka-potilasparia, joissa *C. parvum*-alkueläimen määrä sekä vasikoiden että potilaiden näytteissä oli riittävä analysointiin.

Covid-19 pandemia viivästytti näytteiden lähetystä Italiaan kokogenomisekvensointiin lentoliikenteen vähenemisen vuoksi. Kokogenomisekvensointi viivästyi myös siksi, että edelleenkin EU-RL:ssä ei ole kryptosporideille valmista automaattista työvuota sekvenssiaineiston analysointiin, vaikka sen piti olla valmis heti hankkeen alussa. Analyysiä vaikeutti näytteiden haastavuus. Niissä voi olla riittämätön määrä *C. parvum* -DNA:ta, näytteessä voi olla useita eri kryptosporidilajeja tai *C. parvum* -alatyyppejä. Lisäksi näytteet sisältävät usein paljon muita mikrobeja.

Julkaisut

Tieteellisen julkaisun käsikirjoitus valmistunee keväällä 2023. Enbom et al.

3.5 Työpaketti 5: Nautatilojen ulosteperäiset päästöt vesistöihin

Menetelmät ja aineisto

Valumavesien ulosteperäisen saastumisen määrää selvitettiin viidellä tapaustilalla (työpaketti 1). Näytteenotot toteutettiin samoilla tiloilla ensin lumien sulamisaikaan keväällä 2021 (huhtikuu) ja toistamiseen syksyllä sadeaikaan 2021 (loka-marraskuu). Tiloilta kerättiin valumavesi-, lanta-, vesi- ja pintasivelynäytteitä. Valumavesinäytteitä kerättiin ojista, jotka keräävät valumavesiä pääosin peltoalueilta, ja lisäksi yhdeltä tilalta näyte tilallisten omalta uimapaikalta. Näytepisteet pyrittiin pitämään samoina molemmilla näytteenottokerroilla. Valumavesinäytteistä analysoitiin kryptosporidit, ja ulosteperäistä saastumista kuvaavat indikaattoribakteerit. Kryptosporidilöydösten varmistamiseen hyödynnettiin 18S ribosomaalisen RNA geenin sekvensointia. Lisäksi valumavesinäytteistä tutkittiin yleistä suolistoperäistä saastumista kuvaavan geenimarkkerin ja märehitijöille spesifisen geenimarkkerin esiintymistä.

Työpaketissa toteutettiin nautatilallisille kohdennettu kysely, jossa selvitettiin tiloilla esiintyviä riskitekijöitä kryptosporidioosin vesivälitteiseen leviämiseen. Kysely toteutettiin vuodenvaihteessa 2020–2021. Kysely oli vapaasti kaikkien tilojen vastattavissa. Vastauslinkki jaettiin Valion maitotiloille ja se oli saatavilla Valion intranetissä Valmassa sekä ETT ry:n verkkosivuilla ja Nasevan uutissivulla. Kyselyyn saatiin 90 vastausta.

Tulokset

Päätavoitteena oli selvittää nautatilojen ulosteperäisiä päästöjä vesistöihin ja tilojen talousvesijärjestelmien hygieenistä tasoa. Ulosteperäisten indikaattoribakteerien lukumäärät olivat tutkituissa vesinäytteissä pääosin alhaisia. Kaikissa valumavesinäytteissä todettiin geenimarkkeritekniikoilla yleistä ulosteperäistä saastumista kuvaavia bakteereita ja märehitijöille ominaisien suolistobakteerien genomia. Kahden kohdetilan osalta lantanäytteiden kryptosporidilöydökset varmistettiin sekvensoimalla. Molemmista kohteista varmistui *C. parvum* -löydös vähintään jompanakumpana näytteenottoajankohtana. Vaikka kuiva- ja lietelantanäytteissä esiintyi kryptosporideja yleisesti, vain yhdellä tilalla todettiin *Cryptosporidium* spp. yhdestä valumavesinäytteestä sekä kevään että syksyn näytteenotossa. Tätä valumavesinäytteiden kryptosporidilöydöstä ei kuitenkaan saatu varmistettua geenisekvensointeihin perustuvissa jatkotutkimuksissa hankkeen aikana. Kyseinen näyte otettiin ojasta, jonka vieressä oli muutama vuosi aiemmin ollut kryptosporidioosia sairastavia vasikoita iglussa. Kahdessa talousvesikaivoista otetussa näytteessä ei todettu kryptosporideja, mutta havaittiin muita mikrobiologisia laatuongelmia. Kaikissa juoma-astioista otetuissa pintasivelynäytteissä havaittiin esiintyvän yleisesti ulosteperäistä saastumista kuvaavien

bakteerien ja märehitijöille ominaisten suolistobakteerien geenimarkkereita. Yhdestä vasikan juoma-astiasta otetusta pintasivelynäytteessä todettiin kryptosporideja.

Nautatilallisille osoitetussa kyselytutkimuksessa saatiin tietoa sellaisista käytännöistä, jotka voivat edesauttaa kryptosporidien leviämistä ympäristöön. Tällaisia käytäntöjä olivat lannan levitys kosteana vuodenaikana vesistöjen läheisyydessä, lannan varastointi siten, että varastossa ei ole katosta tai kovaa pohjaa, maatalouden toimintojen (laitumet, lannan levitys, lannan varastointi) sijoittuminen vesistön läheisyyteen sekä kiinteistökohtaisten jätevesijärjestelmien yleisyys.

Toteutusvaiheen arviointi

Tiloille tehtiin kysely taustatiedoista vuonna 2020. Covid-19-pandemian takia näytteenottoja jouduttiin siirtämään vuodella eteenpäin. Kyselyä ei sen työläyden takia uusittu vuonna 2021, jolloin näytteenotot todellisuudessa toteutuivat, mikä aiheutti haasteita taustatietojen hyödyntämiselle. Myös kryptosporidioositalanne mukana olleilla tiloilla oli rauhoittunut vuoden aikana.

Tässä tutkimuksessa selvitettiin ensi kertaa Suomessa kryptosporidien esiintymistä nautatilojen ympäristössä. Työn myötä valmius tutkia tätä parasiittia ympäristönäytteistä lisääntyi merkittävästi ja saatiin arvokasta tietoa menetelmien jatkokehitystarpeista. Näytteiden analysoinnissa *Cryptosporidium* -alkueläimen varalle käytetty laboratoriomenetelmä ei ollut riittävän tarkka, sillä se tuotti ainoastaan sukutason tietoa kryptosporideista, eikä valumavesistä saatujen kryptosporidihavaintojen oikeellisuutta saatu sekvensointiin perustuvissa jatkotutkimuksissa hankkeen aikana varmistettua. Jatkohankkeissa myös ympäristönäytteistä tulisi voida tuottaa lajitason tietoa kryptosporideista. Tulevissa tutkimuksissa ympäristönäytetulosten tulkintaa voisi osaltaan auttaa myös kontrollinäytteet kiinteistöistä, jossa ei ole nautatilaa eikä sen myötä nautojen lannasta peräisin olevaa ulosteperäistä kuormitusta vesistöön.

Yhteistyö näytteenottoihin osallistuneiden tilojen kanssa sujui erinomaisesti; suhtautuminen tutkimukseen oli myönteistä ja tilat lähtivät erittäin mielellään mukaan tutkimukseen.

Julkaisut

Simunaniemi Riina. 2021. "Nautatilojen valumavesien vaikutus vesistöihin – riskitekijät kryptosporidioosin vesivälitteiseen leviämiseen". YAMK Ympäristötekniikan koulutusohjelma, Opinnäytetyö, <https://www.theseus.fi/handle/10024/497316>

Hokajärvi A-M, Simunaniemi R, Rytkönen A., Enbom T., Miettinen I.T. Pitkänen T. Effect of runoff waters from dairy cattle farms' on surface waters – risk factors for waterborne cryptosporidiosis . Valmistuneet 2023-2024

4. Tulosten arviointi

4.1 Tulosten käytännön sovellettavuus

Hanke oli tavoitteiltaan käytännönläheinen. Tiedeyhteisön ulkopuolella tutkimustulokset ovat laajasti hyödynnettävissä suunniteltaessa toimenpiteitä sekä vasikoiden että ihmisten *C. parvum* -tartuntojen ehkäisemiseksi. Tutkimustuloksia on viety koko hankkeen ajan aktiivisesti eri alojen toimijoiden käyttöön ja ne ovat siten suoraan hyödynnettävissä. Hankeryhmän jäsenet ovat olleet kysytyjä luennoitsijoita: lähes 40 esitystä tai luentoa on pidetty erilaisissa tilaisuuksissa mm. tuottajille, eläinlääkäreille, terveydenhuollon ammattilaisille ja neuvonta-alan toimijoille. Yleistajuisia kirjoituksia hankkeessa on tuotettu yli 20 kappaletta. Hankkeen lopuksi järjestettiin webinaarina loppuseminaari, johon osallistui n. 350 kuulijaa. Loppuseminaarista tehdyt tallenteet ovat kaikkien saatavilla. Hankkeessa tuotetun materiaalin saatavuus mm. eläinlääkäreiden käyttöön on tärkeää, sillä KAP-tutkimuksessa todettiin eläinlääkärien olevan tuottajien tärkein tietolähde tarttuvista taudeista.

Toimintatapoihin vaikuttaminen on olennaista niin kryptosporidioosin kuin muidenkin zoonoosien hallinnassa. Yhteisten toimintamallien luomiseen ja tautiturvallisten toimintatapojen vakiinnuttamiseen tarvitaan useiden toimijoiden yhteistyötä, tiedon lisäämistä ja viestintää. Tätä työtä edesauttaa hankkeessa tuotettu käytännönläheinen tieto, joka on vapaasti elinkeinon, lainsäätäjien, neuvontajärjestöjen, navettasuunnittelun ja muiden alan toimijoiden hyödynnettävissä.

Tutkimushankkeessa saatiin tietoa *C. parvum* -tartuntojen esiintyvyydestä suomalaisilla lypsykarjatiloilta ja tartuntojen lisääntymiseen vaikuttavista tekijöistä Suomessa. Zoonoottinen *C. parvum* -alkueläin on yleistynyt nautakarjoissamme ripulinaiheuttajana. Tutkimuksessamme totesimme tartuntoja jopa neljäsosalla kontrollitiloista, eli tiloilla, joilla ei esiintynyt merkittävästi vasikkariipulia. Näin sekä ihmisten että eläinten tartunnanhallintakeinojen tunteminen on tärkeää kaikilla tiloilla, ja tilojen täytyy varautua zoonooseihin ja poikkeamatilanteisiin.

Tutkimustulosten perusteella todennäköisiä kryptosporidioosin lisääntymiseen vaikuttavia tekijöitä nautatiloilla ovat kasvanut karjakoko, tilakontaktit ja riskitekijöiksi havaitut vasikoiden hoitokäytännöt. Riittävät, helposti muunneltavat ja puhdistettavat vasikkatilat mahdollistavat niin kryptosporidioosin kuin muidenkin vasikoiden tarttuvien tautien hallinnan. Navettasuunnittelu on keskeisessä roolissa sekä vasikoiden että ihmisten zoonoottisten tartuntojen hallinnassa ja hyvien toimintatapojen mahdollistamisessa.

On syytä selvittää, voidaanko tutkimustuloksia hyödyntää maatalouden tukipolitiikassa. Tällä hetkellä on yleisestä käytössä navetoita, joissa vasikoille on varattu vain jatkuvatäyttöiset ryhmäkarsinat, joita ei voida puhdistaa ja kuivattaa tautitilanteissa. Myöskään sairaskarsinoita tai muita eristystiloja ei ole varattu. Pystytäänkö vasikkatilojen tautihallinnan huomioivia ja hyvät toimintatavat mahdollistavia rakennusosuutuksia sisällyttämään investointituen tuetun rakentamisen ehtoihin? Voidaanko

hyvinvointituen hyvinvointisuunnitelmaan sisällyttää mm. varautumista zoonooseihin ja poikkeamatilanteisiin? Lainsäädännön valmistelussa tulee pohtia myös mahdollisuutta nostaa vasikoiden välityskä, jotta ihmisten sairastumista vasikkavälityksessä ja -kasvattamoissa voidaan vähentää.

Tulosten perusteella kryptosporidioosin lisääntyminen ihmisillä vaikuttaisi liittyvän näiden tartuntojen yleistymiseen myös nautoilla Suomessa. *C. parvum* -tartunnan riski tulee arvioida nautojen kanssa työskentelevien työturvallisuudessa ja tarjota heille sekä tilavierailijoille tarkat hygieni- ja suojautumisohjeet. Hankkeessa tehdyt työturvallisuusohjeet ovat nautatiloilla työskentelevien ja työterveysammattilaisten käytettävissä. Hankkeessa arvioimme nautojen kanssa työskentelevillä kryptosporidioosiriskin olevan kohtalainen tai korkea ja ehdotimme kriteerit kryptosporidioosin ammattitaudiksi vahvistamiselle. Nämä tuotokset ovat suoraan työterveysviranomaisten käytettävissä. Tartuntojen ilmoittaminen terveydenhuollon (sis. työterveyshuollon) ja eläintautiviranomaisten sekä työsuojeluviranomaisten välillä vaatii vielä tartuntatautilain ja työsuojelulainsäädännön tulkintojen yhdenmukaistamista.

Kryptosporidien lajitunnistuksen ja alatyypittämisen todettiin olevan tärkeitä työkaluja ihmisten tartuntalähteiden selvittämisessä. Olisi hyvä, että jatkossa epidemioiden havaitsemiseksi ja tartuntalähteiden selvittämiseksi potilasnäytteiden kryptosporidit tunnistettaisiin lajitasolle ja tarvittaessa alatyypitettäisiin. Tartuntatauti-ilmoituksessa tulee lisätä kohta potilaan ammatista ja toimialasta, jotta saadaan selvitettyä taustatietoja taudin alkuperän tunnistamiseksi.

Osoitimme, että tartuntatilalla kryptosporideja voi päätyä valumavesiin, vaikka se olikin vähäistä. Valumavesistä voi muodostua riski esimerkiksi vesien virkistyskäytön ja talousveden valmistuksen kannalta. Varautuminen vesivälitteisiin epidemioihin on siten tärkeää. Epidemioiden välttämiseksi on tärkeää estää ookekystien pääsy tiloilta ja jätevesistä raakavesilähteisiin mm. noudattamalla annettuja ohjeita liittyen lannan levitykseen ja suojavyöhykkeisiin. Vesivälitteiset kryptosporidioosiepidemiat tulee ottaa huomioon vesihuollon riskinarvioinnissa ja -hallinnassa.

4.2 Tulosten tieteellinen merkitys

Käytännönläheisessä hankkeessa saatiin myös tieteellisesti arvokkaita tuloksia, joita on julkaistu ja pyritään julkaisemaan useammassa kansainvälisessä vertaisarvioidussa "open access" -julkaisussa tiedeyhteisön käyttöön. Tulokset tuottajien asenteista, käytänteistä ja tiedoista zoonoottiseen kryptosporidioosiin on julkaistu arvostetussa kansainvälisessä maatalouden lääketieteen julkaisusarjassa. Käsikirjoitus ihmisten kryptosporidioosin lähteistä ja sen merkityksestä ammattitautina on lähetetty kansainväliseen julkaisuun arvioitavaksi. Näiden lisäksi työn alla on useampi käsikirjoitus. Hankkeesta laadituissa tieteellisissä julkaisuissa käsitellään yksityiskohtaisesti tulosten tieteellistä merkitystä ja suhdetta aiemmin julkaistuun tietoon.

Hankkeessa tehtiin kolme opinnäytetyötä: Koivukoski, liseniaatin tutkielma (Helsingin yliopiston eläinlääketieteellinen tiedekunta), Suolaniemi, Pro Gradu tutkielma (Itä-Suomen yliopiston Terveystieteiden tiedekunta) ja Simunaniemi, YAMK opinnäytetyö (Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulu).

Tilakoot kasvavat, tuotanto keskittyy alueellisesti ja tilojen välinen eläin- ja ihmisliikenne lisääntyy, mikä voi johtaa myös muiden tautiriskien kasvuun. Tarvitaan lisää tietoa tautiriskeistä sekä niiden hallinnasta suurilla tiloilla. Kliinisten tautien lisäksi myös subkliinisten tautien vaikutuksia eläinten terveyteen ja tuotantokykyyn pitäisi selvittää. Hankkeessa jopa neljäosalla verrokkituloista todettiin kryptosporidioosirtunta oireettomilla vasikoilla. Vaikka eläimet eivät oireile, tartunnalla voi olla vaikutuksia niiden elämässä myöhemmin. Lisätietoa tarvitaan myös työntekijöiden osuudesta ja merkityksestä zoonoosien leviämisessä.

Tilojen rakennemuutoksen myötä tilojen muuttuvia ja kehittyviä toimintamalleja ja niiden välisiä verkostoja tulisi tarkastella ja rakentaa mallinnuksia niiden hahmottamiseksi. Esimerkiksi helposti tarttuvan eläintaudin tautipurkauksen yhteydessä on ensiarvoisen tärkeää, että on käytössä ennalta tehdyt mallit verkostoista ja taudin leviämisestä niissä. Näiden avulla voidaan hahmottaa sekä mahdolliset kontaktit menneisyydestä, mutta myös se, miten nopeasti ja laajalle tauti on voinut edetä jo ennen tartunnan toteamista.

Tiloilla voi myös lisääntyä toimintatavat, joista kokemusta on Suomessa vielä vähän. Muun muassa lannan käyttö kuivikkeena voi lisääntyä tilakoon kasvaessa ja kuivikkeiden saatavuusongelmien vuoksi. Lehmät ovat suurilla tiloilla lietelantajärjestelmässä. Sitä voidaan separoida kuivikkeeksi. Tarvitaan tutkimusta ja tietoa lannan kuivikekäyttöön liittyvistä mahdollisista vaikutuksista eläinten ja ihmisten terveydelle, niin kryptosporidien kuin muidenkin sekä zoonoottisten että ei-zoonoottisten taudinaiheuttajien osalta.

Ilmastonmuutoksen mukanaan tuomat aiempaa yleisemmät sään ääri-ilmiöt kuten rankkasateet ja tulvat voivat tulevaisuudessa lisätä eläintiloilta vesistöihin päätyvän ulosteperäisen materiaalin määrää. Tämä tulisi huomioida eläintilojen maankäyttöratkaisuja suunniteltaessa. Lannan välivarastoinnin, kompostoinnin ja muiden käsittely- ja hygienisointimenetelmien sekä lannanlevitysmenetelmien tutkimus olisi tärkeää. Tätä tietoa tarvitaan myös, jotta paikallisia lantaylijäämiä voitaisiin hyödyntää tai edistää kaupallisesti saataviksi orgaanisiksi lannoitevalmisteiksi. Tarvitaan aiempaa parempaa tietoa eläintilojen ympäristövaikutuksista ja haitallisten vaikutusten ehkäisemisestä erilaisten taudinaiheuttajamikrobien ja esimerkiksi antibioottiresistenssin leviämisen näkökulmasta.