

Antibioottien vaikutus lietalannan metaanintuottoon

Satu Ervasti¹⁾, Sari Luostarinen²⁾, Minna Hartonen³⁾, Iida Loivamaa³⁾, Pertti Koivisto³⁾

¹⁾ Luonnonvarakeskus, Uudet liiketoimintamahdollisuudet, Eteläranta 55, 96300 Rovaniemi, satu.ervasti@luke.fi

²⁾ Luonnonvarakeskus, Uudet liiketoimintamahdollisuudet, Vuorimiehentie 2, 02150 Espoo, sari.luostarinen@luke.fi

³⁾ Elintarviketurvallisuusvirasto Evira, Mustialankatu 3, 00790 Helsinki, etunimi.sukunimi@evira.fi

Mikrobiläkkeille resistenttien bakteerikantojen yleistymisen on kasvava maailmanlaajuinen ongelma. Suomessa antibioottien käyttö tuotantoeläimillä on useisiin muihin maihin nähden vähäistä, mutta silti potentiaalinen riski. Lääkittyjen eläinten lantaan erittyy mikrobilääkejäämiä ja resistenttejä bakteerikantoja, ja lannan lannoitekäyttö voikin olla riski niiden leviämiseen peltoon ja edelleen luontoympäristöön. Lannan tehokas käyttö edistää ravinnekiertoa maataloudessa ja Suomikin tavoittelee lisää lannan prosessointia. Keskitetyistä laitoksista lääkejäämät ja resistentit bakteerikannat voivat levitä entistä laajemmalle. Toisaalta prosessointi voi mahdollistaa lääkejäämien ja resistenttien kantojen tuhoutumisen. Biokaasuprosessi mahdollistaa yhtäaikaisen lannan ravinteiden ja energian hyödyntämisen. Mikrobiläkkeet voivat kuitenkin häiritä sen mikrobiologiaa. Toisaalta lääkeaineet voivat myös hajota täysin tai osin prosessin aikana.

Kahden Suomessa yleisesti eläinlääkityksessä käytetyn antibiootin, oksitetrasykliinin ja siprofloksasiinin, vaikutusta lypsykarjan lietalannan metaanintuottoon tutkittiin eri pitoisuuksina ja seoksina. Kokeella selvitettiin, miten ja millä pitoisuuksilla antibiootit vaikuttavat metaanintuottoa alentavasti.

Tutkimus toteutettiin 30 vrk panostoisella kokeella käyttäen automatisoitua metaanipotentialin mittaustalaitteistoa AMPTS II (Bioprocess Control AB, Ruotsi). Kokeessa seurattiin lypsykarjan lietalannan hajoamista ja ympäristössä oli maatalon biokaasulaitoksen mädäte. Antibiootit lisättiin lannan ja ympäristön seokseen vesiliuoksina. Kokeessa oli 14 koejäsentä. Lietelantakontrollin ja pelkän ympäristön lisäksi oli 12 erilaisia antibioottikäsittelyjä: 4 oksitetrasykliinipitoisuutta (10–500 mg kg⁻¹), 4 siprofloksasiinipitoisuutta (2–50 mg kg⁻¹) sekä 4 seosta, joissa siprofloksasiinipitoisuus oli 10 ja 20 mg kg⁻¹ ja oksitetrasykliinipitoisuus 50 ja 100 mg kg⁻¹.

Lietelannan metaanipotentiali oli 218 m³CH₄ MgVS⁻¹ (kontrolli). Eniten lannan hajoamista esti oksitetrasykliinipitoisuus 500 mg kg⁻¹, joka tuotti metaania 48% vähemmän, 105 m³CH₄ MgVS⁻¹. Oksitetrasykliinin pitoisuudella 10 mg kg⁻¹ ei havaittu vaikutusta metaanintuottoon, mutta seuraavaksi suuremmalla annoksella 50 mg kg⁻¹ metaanintuotto heikkeni selvästi (170 m³CH₄ MgVS⁻¹). Samoin siprofloksasiinin pienimmällä annoksella 2 mg kg⁻¹ ei vaikutusta havaittu, mutta 10 mg kg⁻¹ vähensi metaanintuottoa (197 m³CH₄ MgVS⁻¹). Seoskäsittelyiden pienimmällä tutkitulla pitoisuusyhdistelmällä (oksitektrasykliini 50 mg kg⁻¹ + siprofloksasiini 10 mg kg⁻¹) metaanintuotto oli 161 m³CH₄ MgVS⁻¹.

Antibioottien vaikutus metaanintuottoon oli selkeä tiettyjen pitoisuuksien ylittyessä; mitä suurempi antibioottiannostus oli, sitä vähemmän metaania muodostui. Tutkitut antibioottipitoisuudet olivat kuitenkin selvästi korkeampia kuin suomalaisessa lypsykarjan lietalannassa samassa tutkimuksessa havaittiin (oksitektrasykliini 5 µg kg⁻¹, siprofloksasiini alle määritysrajan 3 µg kg⁻¹). Näillä pitoisuuksilla metaanintuoton ei havaittu häiriintyvän.

Asiasanat: antibiootti, biokaasu, lietalanta

Johdanto

Mikrobiläkkeille resistenttien bakteerikantojen yleistymisen on kasvava maailmanlaajuinen ongelma (WHO 2014). Suomessa antibioottien käyttö tuotantoeläimillä on useisiin muihin maihin nähden vähäistä, mutta silti potentiaalinen riski. Lääkittyjen eläinten lantaan erittyy suuri osuus käytetyistä mikrobiläkkeistä joko sellaisenaan tai metaboliatuotteina ja lisäksi resistenttejä bakteerikantoja (Marshall ja Levy 2011).

Lannan lannoitekäyttö voikin olla riski niiden leviämiseen peltoon ja edelleen luontoympäristöön. Lannan tehokas käyttö kuitenkin edistää ravinnekiertoa maataloudessa ja lannan käytön tehostaminen on keskeisessä roolissa Suomen hallituksen kärkihankkeena olevassa kiertotalouden edistämisessä. Suomikin tavoittelee lannan tehokkaampaa hyödyntämistä, mikä voi tarkoittaa myös suurempia prosessointiyksiköitä. Keskitetyistä lannan prosessointilaitoksista lääkejäämät ja resistentit bakteerikannat voivat levitä entistä laajemmalle alueelle. Toisaalta prosessointi voi mahdollistaa lääkejäämien ja resistenttien kantojen tuhoutumisen.

Biokaasuprosessi mahdollistaa yhtäaikaisen lannan ravinteiden ja energian hyödyntämisen. Se perustuu useiden mikrobiryhmien yhteistyönä tapahtuvaan orgaanisen aineksen hajotukseen lopulta metaaniksi (CH₄). Mikrobilääkkeet voivat kuitenkin häiritä sen mikrobiologiaa, mutta toisaalta lääkeaineet voivat myös hajota täysin tai osin prosessin aikana.

Kahden Suomessa yleisesti eläinlääkityksessä käytetyn mikrobilääkkeen, oksitetrazykliinin (OTC) ja siprofloksasiinin (CIP), vaikutusta biokaasuprosessin mikrobiologiaan, eli metaanintuottoon tutkittiin eri pitoisuuksilla erikseen ja lääkeaineiden seoksina. Panostoimisilla kokeilla selvitettiin, miten ja millä pitoisuuksilla antibiootit vaikuttavat metaanintuottoa alentavasti. Tutkittavana syöttömateriaalina oli lypsykarjan lietalanta, koska nautatiloilla käytetään Suomessa suhteellisen paljon mikrobilääkkeitä verrattuna muihin eläinlajeihin (Thomson ym. 2008). Tutkittavien mikrobilääkepitoisuuksien perustana käytettiin hankkeen aiemmissa osioissa selvitettyjä navettaympäristössä ja lannoissa havaittuja OTC- ja CIP-pitoisuuksia. Lisäksi korkeampia pitoisuuksia lannoissa ja biokaasukokeissa kartoitettiin aiempien tutkimusten perusteella kirjallisuudesta.

Tutkimus toteutettiin osana Nami-hanketta (Mikrobilääkeresistenssi ja -jäämät nautatiloilla - vaikutukset ympäristöön ja terveyteen), MMM 2015–2017. Hankkeessa selvitettiin, miten mikrobilääkkeille resistentit bakteerit ja resistenssigeenit sekä mikrobilääkkeet aineenvaihduntatuotteineen kulkeutuvat Suomen olo-suhteissa lääkityistä naudoista lantaketjun kautta tilaympäristöön ja edelleen muuhun ympäristöön. Antibioottien käyttäytymistä (hajoaminen/säilyminen) biokaasuprosessissa tutkittiin laboratoriomittakaavassa simuloidussa lantaketjussa.

Materiaalit ja menetelmät

Tutkimus toteutettiin kahdella erillisellä 30 vrk panostoimisella kokeella (kokeet A ja B) käyttäen automatisoitua metaanipotentialin mittaustalaitteistoa AMPTS II (Bioprocess Control AB, Ruotsi). Kokeissa seurattiin Luken Minkiön navetan lypsykarjan lietalannan hajoamista metaaniksi ja ympäristössä oli Luken Maaningan 90 eläimen maitotilan biokaasulaitoksen mädäte. Lannan ja mikrobiympin orgaanisen kuiva-aineen (VS) suhde panoskokeessa oli 0.75:1. Metaanipotentialikoe suoritettiin kolmena rinnakkaisena käsittelynä lämpötilassa 37 °C. Muodostuvan metaanin tilavuusmittaus perustui nesteensyrjäytykseen, jonne metaani johdettiin biokaasun hiilidioksidin poiston jälkeen. Antibiootit lisättiin lannan ja ympin seokseen liuoksina, joista OTC oli liuotettu pelkästään veteen ja CIP liuotukseen käytettiin lisäksi 1 molaarista natriumhydroksidia annostuksella 20 g kg⁻¹. Molemmissa kokeissa oli antibiootikkäsitteltyjen pullojen lisäksi mukana lietalantakontrollin ilman antibioottilisäystä sekä pelkkä mikrobiympin.

Ensimmäiseen kokeeseen (A) mikrobilääkekäsittelyt valittiin Minkiön navettaympäristössä ja lannoissa havaittujen pitoisuuksien sekä kirjallisuudessa esitettyjen, havaintoja korkeampien pitoisuuksien perusteella. Minkiön navetalla tehdyissä näytteenotoissa (n=4) lietalannan CIP-pitoisuudet olivat alle määritysrajan (<3 µg kg⁻¹) ja OTC-pitoisuudet 4–7 µg kg⁻¹. Kuivikelantanäytteissä pitoisuudet olivat korkeimmillaan 137 µg kg⁻¹ (CIP + sen aineenvaihduntatuote enrofloksasiini ENR) ja OTC 91 µg kg⁻¹. Sekä siprofloksasiiniä että oksitetrazykliiniä tutkittiin panoskokeessa neljällä eri pitoisuudella sekä yhdellä yhteiskäsittelyllä. Testatut CIP-pitoisuudet pulloissa olivat 0.01; 0.1; 1 ja 2 mg kg⁻¹. OTC-pitoisuudet olivat

0.1; 1; 3 ja 10 mg kg⁻¹. Lisäksi oli yksi yhteiskäsittely, CIP-pitoisuus 1 mg kg⁻¹ ja OTC-pitoisuus 3 mg kg⁻¹.

Panoskoe uusittiin myöhemmin samana vuonna korkeammilla antibioottipitoisuuksilla (koe B). Kokeessa B oli 14 koejäsentä, joista 12 oli erilaisia antibioottikäsittelyjä. Siprofloksasiinin pitoisuudet olivat 2–50 mg kg⁻¹ ja oksitetrasykliinin 10–500 mg kg⁻¹. Lisäksi mukana oli 4 antibioottien seosta. Kokeessa B suunnitellut ja toteutuneet antibioottipitoisuudet on esitetty taulukossa 2. Kyseisessä kokeessa mitatut OTC-pitoisuudet olivat noin 33% korkeampia kuin laskennalliset pitoisuudet. Ero menee kuitenkin OTC-analyysin mittausepävarmuuden piiriin.

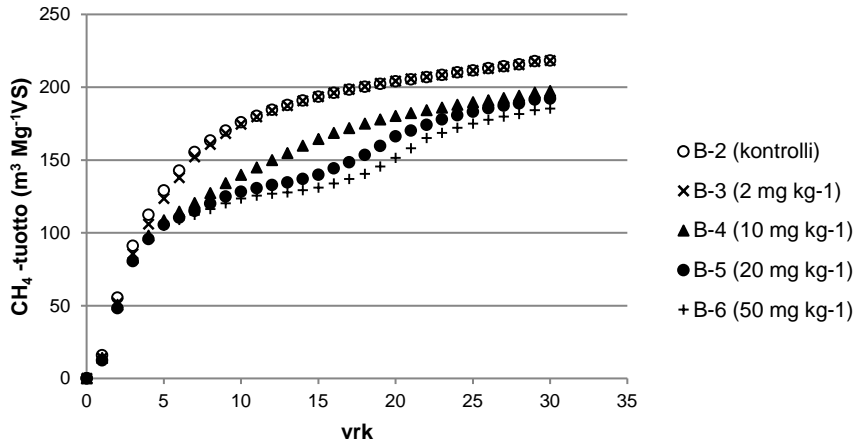
Taulukko 1. Kokeen B käsittelyt (1-14) sekä suunnitellut ja toteutuneet antibioottien pitoisuudet (mg kg⁻¹)

Käsittely	Ymppe	Naudan lietelanta	Suunniteltu pitoisuus (mg kg ⁻¹)		Analysoitu pitoisuus (mg kg ⁻¹)	
			Siprofloksasiini	Oksitetrasykliini	Siprofloksasiini	Oksitetrasykliini
B-1	x					
B-2	x	x				
B-3	x	x	2		2	
B-4	x	x	10		10	
B-5	x	x	20		19	
B-6	x	x	50		47	
B-7	x	x		10		14
B-8	x	x		50		69
B-9	x	x		100		138
B-10	x	x		500		726
B-11	x	x	10	50	11	67
B-12	x	x	20	100	21	112
B-13	x	x	10	100	10	127
B-14	x	x	20	50	23	65

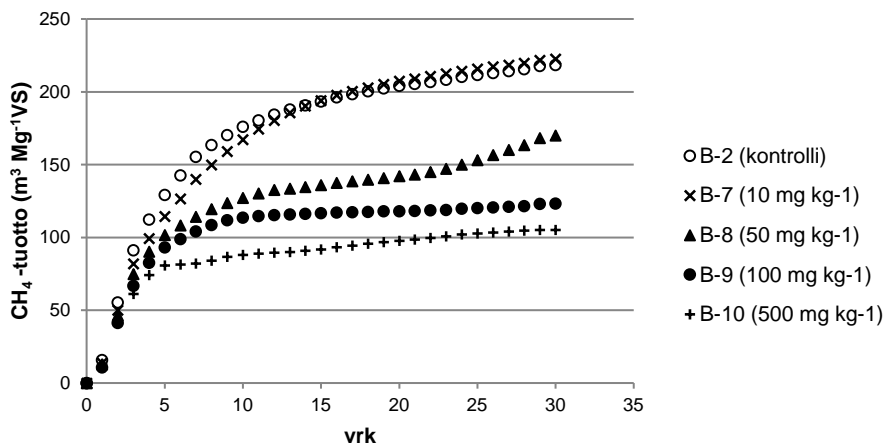
Tulokset

Ensimmäisessä koejaksossa (A) ei havaittu metaanintuoton alentumista tai hidastumista millään tutkitulla mikrobilääkepitoisuudella tai -yhdistelmällä. Panosreaktorit ilman lääkeainelisäystä tuottivat lietelannasta metaania 212 m³ Mg⁻¹VS, ja mikrobilääkkeitä sisältäneissä panosreaktoreissa metaanintuotto oli 202–243 m³ Mg⁻¹VS. Koetta jatkettiin suuremmilla antibioottipitoisuuksilla (koe B), koska haluttiin selvittää, inhihoiko lannassa olevat pitoisuudet prosessia ja millä pitoisuustasolla inhibitiota alkaa tapahtua.

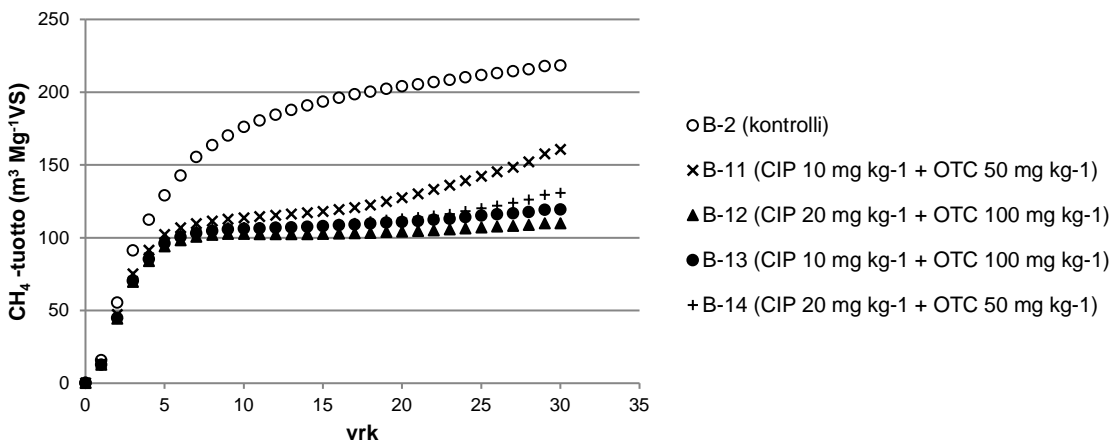
Lietelannan metaanipotentiali kontrollinäytteessä kokeessa (B) oli 218 m³ Mg⁻¹VS. Taulukossa 2 on esitetty lannan metaanintuottopotentialit 30 vrk panoskokeessa eri antibioottikäsittelyillä, ja kuvissa 1–3 on esitetty siprofloksasiini-, oksitetrasykliini- sekä näiden yhteiskäsittelyiden kumulatiiviset metaanintuotot orgaanista ainesta kohti esitettynä. Eniten lannan hajoamista inhihoi käsittely B-10, eli korkein oksitetrasykliinipitoisuus, jossa metaanintuottopotentiali oli vain 105 m³ Mg⁻¹VS.



Kuva 1. Lannan kumulatiivinen VS-kohtainen metaanintuotto eri siprofloksasiinipitoisuuksilla



Kuva 2. Lannan kumulatiivinen VS-kohtainen metaanintuotto eri oksitetrasykliinipitoisuuksilla



Kuva 3. Lannan kumulatiivinen VS-kohtainen metaanintuotto siprofloksasiinin (CIP) ja oksitetrasykliinin (OTC) yhteiskäsittelyissä

Siprofloksasiinin pienimmällä pitoisuudella (käsittely B-3) ei vaikutusta havaittu, mutta seuraavaksi suurin pitoisuus 10 mg kg⁻¹ (käsittely B-4) vähensi metaanintuottoa (197 m³ Mg⁻¹VS). Korkeimmalla tutkitulla CIP-pitoisuudella, käsittely B-6, metaanintuotto oli 185 m³ Mg⁻¹VS. Samoin kuin siprofloksasiinilla, oksitetrazykliinin pienimmällä pitoisuudella, käsittely B-7, ei havaittu vaikutusta metaanintuottoon, mutta seuraavaksi suuremmalla pitoisuudella, käsittely B-8, metaanintuotto heikkeni selvästi (170 m³ Mg⁻¹VS). OTC-käsittelyiden suurimmalla pitoisuudella, käsittely B-10, metaanintuotto oli 105 m³ Mg⁻¹VS. Seos-käsittelyiden pienimmällä tutkitulla pitoisuusyhdistelmällä (käsittely B-11) metaanintuotto oli 161 m³ Mg⁻¹VS, ja vastaavasti suurimmalla pitoisuusyhdistelmällä (käsittely B-12) 110 m³ Mg⁻¹VS.

Taulukko 2. Lietelannan kumulatiiviset metaanintuotot (30 vrk) eri mikrobilääkekäsittelyillä tuorepainoa (FM), kuiva-ainetta (TS) ja orgaanista kuiva-ainetta (VS) kohti laskettuna, keskihajonnat VS-kohtaiselle tulokselle sekä metaanintuottopotentiaalin ja metaanintuoton inhibition osuus kontrollikäsittelyn B-2 tuottoon verrattuna

Käsittely	CH ₄ -tuotto			CH ₄ -tuoton osuus kontrollista	CH ₄ -tuoton inhibitio
	m ³ Mg ⁻¹ FM	m ³ Mg ⁻¹ TS	m ³ Mg ⁻¹ VS	%	%
B-2	9.6	175	218 ± 8.7	100	0
B-3	9.6	175	218 ± 0.5	100	0
B-4	8.7	158	197 ± 1.4	90	10
B-5	8.5	154	192 ± 4.6	88	12
B-6	8.2	148	185 ± 2.0	85	15
B-7	9.8	178	223 ± 3.4	102	-2
B-8	7.5	136	170 ± 12.4	78	22
B-9	5.4	99	123 ± 0.6	56	44
B-10	4.6	84	105 ± 1.3	48	52
B-11	7.1	129	161 ± 6.1	74	26
B-12	4.8	88	110 ± 4.4	50	50
B-13	5.3	96	119 ± 5.3	55	45
B-14	5.8	105	131 ± 3.0	60	40

Tulosten tarkastelu

Antibiootit inhiboivat metaanintuottoa selkeästi tiettyjen mikrobilääkepitoisuuksien ylityttyä. Kokeessa A, jossa pitoisuudet olivat alhaisia, metaanintuoton vähenemistä ei havaittu millään testatulla pitoisuudella. Sen sijaan kokeessa B antibioottien vaikutus metaanintuotonopeuteen havaittiin jo kokeen alussa; mitä suurempi antibioottiannostus oli, sitä vähemmän metaania muodostui. Eniten lannan hajoamista inhiboi käsittely B-10, eli korkein oksitetrazykliinipitoisuus, jossa metaanintuotto oli 52% vähemmän kuin kontrollilla. Metaanintuottojen osuudet verrattuna kontrolliin ovat taulukossa 2.

Siprofloksasiinikäsittelyissä inhibition raja oli CIP-pitoisuuksien 2 ja 10 mg kg⁻¹ välillä; 10 mg kg⁻¹ CIP-pitoisuudella metaanintuotto inhiboitui 10%. CIP-käsittelyissä pitoisuuksilla 20 ja 50 mg kg⁻¹ oli havaittavissa myös metaanintuotannon uudelleen aktivoitumista kokeen kuluessa (Kuva 1). Fluorokinolonien, joihin siprofloksasiini kuuluu, vaikutuksia biokaasuprosessiin on tutkittu huomattavasti vähemmän kuin tetrazykliinien vaikutuksia. Metaanintuoton häiriintymistä on kuitenkin havaittu jatkuvatoimisesta prosessista enrofloksasiinilla pitoisuudella 40 mg kg⁻¹ VS (Bauer ym. 2014). Liu ym. (2013) tutkivat panoskokeissaan siprofloksasiinin vaikutusta nimenomaan metanogeneesiin ja havaitsivat sen inhiboituvan selvästi CIP-pitoisuuksilla 80–100 mg l⁻¹.

OTC:n aiheuttaman metaanintuoton inhibition raja oli pitoisuuksien 14 ja 69 mg kg⁻¹ välillä; 14 mg kg⁻¹ OTC-pitoisuus ei aiheuttanut metaanintuoton vähenemistä, mutta 69 mg kg⁻¹ OTC-pitoisuudella lannan metaanintuotto oli 78% kontrollista (inhibitio 22%). OTC-pitoisuudella 138 mg kg⁻¹ (käsittely B-9) metaanintuotto oli 56 % kontrollista (inhibitio 44%). Havaittu metaanintuoton häiriintyminen OTC:n vaikutuksesta oli pääosin hieman vähäisempää kuin useissa kirjallisuudessa esitetyissä tutkimustuloksissa. Arikan ym. (2006) mukaan mikrobilääkittyjen nautojen lannalla tehdyissä panoskokeissa metaanintuotto laski 27% kontrollista jo OTC-pitoisuudella 9.8 mg kg⁻¹. Sianlannalla tehdyssä kokeessa OTC:n ja klooritetrasykliinin (CTC) yhteiskäsittelyllä (molempien lääkeaineiden pitoisuus 50 mg l⁻¹) metaanintuoton inhibitio oli 56.5% (Alvarez ym. 2010). Beneregaman ym. (2013) raportoimassa termofiilisessä naudanlannan kokeessa metaanintuoton inhibitio oli tätä koetta vastaava, OTC-pitoisuuksilla 30, 60 ja 90 mg l⁻¹ inhibitio oli vastaavasti 20.9; 29.7 ja 31.4% verrattuna kontrolliin. Toisaalta Lallai ym. (2002) kokeessa edes pitoisuuksien 125 mg OTC l⁻¹ ja 250 mg OTC l⁻¹ ei havaittu vaikuttavan metaanintuottoon sianlannalla.

Yhteiskäsittelyillä CIP+OTC metaanintuoton inhibitio oli voimakkaampi kuin kummankaan antibiootin kanssa yksinään samoilla pitoisuuksilla. Tämä oli odotettavissa kokonaisantibioottipitoisuuden noustessa korkeammaksi.

Eroihin biokaasuprosessia häiritsevissä OTC- ja CIP-pitoisuuksissa vaikuttavat ainakin käytetyn ympin ja tutkitun lannan ominaisuudet ja antibiooteille altistumisen historia sekä ympäristösuhteet. Mikrobiston tottuminen, antibioottien hajoaminen prosessin aikana ja mahdolliset vaihtoehdot metaboliareitit voivat myös selittää prosessin selviämistä korkeillakin mikrobilääketasoilla.

Käytännössä kaikki tutkitut mikrobilääkkeiden pitoisuudet olivat selvästi korkeampia kuin suomalaisessa lypsykarjan lietalannassa samassa tutkimuksessa havaittiin (oksitetrasykliini 5 µg kg⁻¹, siprofloksasiini alle määritysrajan 3 µg kg⁻¹). Näillä pitoisuuksilla metaanintuoton ei havaittu häiriintyvän.

Johtopäätökset

Antibioottien käytön aiheuttamat häiriöt naudan lietalannan biokaasuprosessiin ja sen metaanintuottoon Suomessa havaituilla lannan mikrobilääketasoilla ovat näiden panoskokeiden perusteella epätodennäköisiä. Mikäli mikrobilääkejäämiä sisältävä lanta ja esim. antibioottimaito käsitellään erikseen, metaanintuoton häiriöt voisivat olla mahdollisia. Antibiooteilla oli kuitenkin havaittavissa selkeä metaanintuottoa haittaava vaikutus tiettyjen pitoisuustasojen ylittyessä. Vaikka vaikutukset metaanintuottoon vaativat hyvin korkeita mikrobilääkkeiden pitoisuuksia, tulisi mikrobilääkkeiden esiintyminen lannassa ottaa silti vakavasti huomioon, olipa lanta tarkoitus prosessoida tai ei. Mikrobilääkejäämien ja -resistenssin leviäminen ympäristöön voi aiheuttaa odottamattomia vaikutuksia ekosysteemeihin.

Kirjallisuusviitteet

- 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.
- Arikan, O., Sikora, L., Mulbry, W., Khan, S., Rice, C. & Foster, G. 2006. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry* 41: 1637–1643.
- 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. 2013. The combined effect of cefazolin and oxytetracycline on biogas production from thermophilic anaerobic digestion of dairy manure. *Bioresource Technology* 133: 23–30.
- 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.

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

Marshall, B.M. & Levy, S.B. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews* 24: 718–733.

Thomson, K., Rantala, M., Hautala, M., Pyörälä, S. & Kaartinen, L. 2008. Cross-sectional prospective survey to study indication-based usage of antimicrobials in animals: Results of use in cattle. *BMC Veterinary Research* 4:15.

WHO 2014. Antimicrobial resistance: global report surveillance 2014.
<http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>. Viitattu 30.11.2017.