

Toorpiima kvaliteedistandardi näitajate paketi väljatöötamine kõrgema lisandväärtusega toodete arendamiseks

III osa, Mittesteroidsete põletiku- ja valuvastaste ravimite kasutamine, nende jääkide määramise võimalused toorpiimast, piimatööstuses kasutatavate kiirtestide tundlikkuse määramine enamkasutatavate mittesteroidsete põletiku- ja valuvastaste ravimite jääkide suhtes toorpiimas ning ravimijääkide võimalik mõju bakterikultuuridele piimatoodete valmistamisel.

D. Toorpiimas leiduvate mittesteroidsete põletiku- ja valuvastaste ravimite jääkide võimaliku mõju uuring piimatoodete valmistamisel kasutatavatele erinevatele bakterikultuuridele ja piimatoodete kvaliteedile.

Koostaja: Torrosen OÜ

Tellij: MTÜ Piimaklaster



Euroopa Maaelu Arengu
Põllumajandusfond:
Euroopa investeringud
maapiirkondadesse

Tartu 2020

Sisukord

Sissejuhatus	3
Mikroorganismid kui NSAID võimalikud sihtmärgid.....	5
NSAID mõju mikroobidele	6
Grampositiivsed bakterid ja NSAID toime	7
Gramnegatiivsed bakterid ja NSAID toime.....	8
NSAID mõju gramnegatiivsete bakterite membraansetele pumpadele (<i>efflux pumps</i>).....	9
NSAID mõju inimese mikrobiomile.....	9
Seened ja NSAID võimalik toime.	10
NSAID jääkide võimalik mõju piimatoodete valmistamisel kasutatavatele bakterikultuuridele	10
Kirjanduse loetelu.....	13

Sissejuhatus

Põletiku- ja valuvastases ravis kasutatakse veistel mittesteroidseid põletikuvastaseid aineid nn. NSAIDe (non-steroidal anti-inflammatory drugs). NSAIDe toimel vähenevad põletikutunnused, valu ning alaneb palavik. Seega on nende põletiku ja valuavastane ravi veistele sageli näidustatud ning kasutamine veiste ja vasikate haiguste ravis laialdane.

NSAID'de hulka kuuluvad erinevat tüüpi ravimid, mida jagatakse üheksaks rühmaks. Teatud ravimrühmade toimeainetel on kehtestatud piimakeeluaeg.

Veistel tohib kasutada fenamaatide rühmast tolfenaamhapet ja fluniksiini, millel on 24 tunnine piimakeeluaeg. Oksikaamide rühmast on kasutusel meloksikaam, mille piimakeeluaeg on 60 tundi. Äädikhape derivaatidest on kasutusel diklofenak, millel on 6-päevane piimakeeluaeg. Lisaks NSAID'le toimub veiste haiguste ravi ka glükokortikosteroididega, mida kasutatakse küll harvem, kuid nt. deksmetasoonil on piimakeeluaeg 72 tundi.

Käesoleva projekti üldine eesmärk oli välja selgitada kas ja millised Eestis veiste haiguste ravis kasutavad NSAID'd on piimas pärast keeluaaja lõppu detekteeritavad. Lisaks selgitab uuring, kas ja mil määral on NSAID'd piimas leitavad piimatööstuses peamiseid kiirteste kasutades.

Projekt koosnes kahest osast: olemasolevate andmete ja kirjanduse analüüs ning eksperimentaalne uuring.

Kokkuvõtlikult olid käesoleva projekti **uurimisküsimused ja tegevused** järgmised:

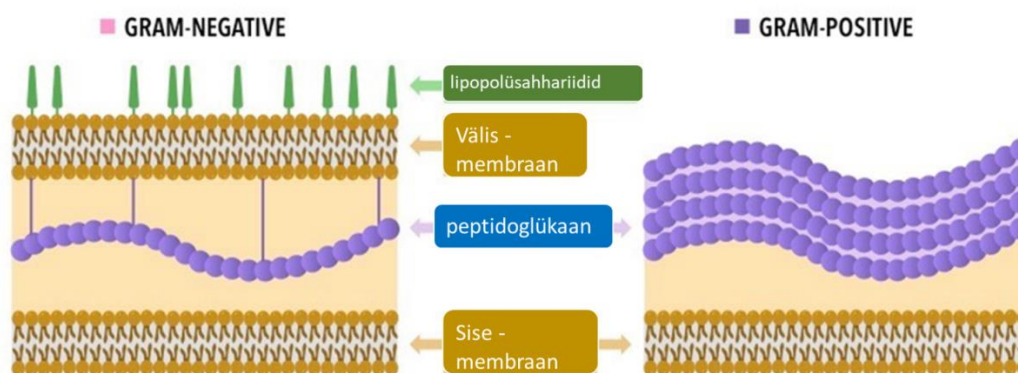
- A. Millised on meetodikad ja võimalused NSAID ühendite jääkide määramiseks piimas? Teaduskirjanduse põhjal koostati ülevaade olemasolevatest meetodikatest NSAID ühendite jääkide määramiseks piimas (põhimõte, määramispiirid, tundlikkus jt. olulisemad näidikud).
- B. Kuidas ja millise meetodikaga on piimatööstustes korraldatud NSAID'i jääkide analüüs toorpiimast? Eesmärgi täitmiseks viidi läbi intervjuud ning küsitlus piimatööstuste laboritega, et uurida NSAID'de jääkide määramise protseduure tööstusesse tulevast toorpiimast.
- C. Kui palju ja milliseid põletiku- ja valuvastaseid toimeaineid farmides kasutatakse? Milliste haiguste korral on NSAID'e ravimrühm kasutusel? Eesmärgi täitmiseks analüüsiti 20 eesti lüpsikarja (loomade arv enam kui 100) eelmise aasta raviandmeid, et kindlaks määrata kasutatud NSAID'de toimeained, nende kogus ning kasutamise näidustus

- D. Kuidas võivad NSAID ühendite jäägid mõjutada piimatoodete valmistamisel kasutatavaid bakterikultuure? Teaduskirjanduse põhjal koostati ülevaade NSAID ühendite jääkide võimalike mõjude kohta erinevatele bakterikultuuridele.
- E. Eksperimentaaluuringu küsimuseks oli: Kas NSAID jäägid mõjutavad tavapäraselt piima analüüsimiseks kasutatavate testide tulemusi? Millised on NSAID ühendite kontsentratsioonid, millest alates on nende jäägid ravitud loomade piimas käesoleval hetkel piimatööstuses kasutusesolevate testidega tuvastatavad? Uuriti 3enamkasutatava toimeaine (fluniksiin, meloksikaam ja ketoprofeen) mõju 12le erinevale testile viiel erineval ravimijäägi kontsentratsioonil piimas, kõik analüüsid teostati kolmes korduses.
- F. Uuriti ravitud loomade piimas leiduvate NSAID jääkide mõju piima testidele , milleks analüüsiti erinevatel lahjendustel 10 ravitud lehma piimaproove.

Mikroorganismid kui NSAID´de võimalikud sihtmärgid

Käesoleva uuringu üks põhieesmärke oli informatsiooni kogumine toorpiimas leiduvate NSAID´de jääkide võimalike mõjude kaardistamine kääritatud piimatoodete valmistamisel kasutatavatele bakterikultuuridele. See informatsioon aitab paremini analüüsida nende toodete tootmisel esinevate probleemide põhjusi ning võtta tarvitusele meetmed nende probleemide ennetamiseks - üheks võimaluseks on nt. juustu tootmiseks kasutatava toorpiima täiendav analüüsimine NSAID´de jääkide suhtes.

Piima töötlemisel kasutatavad mikroorganismid võib üldisemalt jagada bakteriteks ja seenteks. Bakterid jaotuvad omakorda vastavalt nende rakukesta ehitusele grampositiivseteks (näiteks *Bacillus sp*, *Staphylococcus sp*, *Lactobacillus sp*.) või gramnegatiivseteks (näiteks *E. coli*, *Salmonella sp*, *Pseudomonas sp*). Grampositiivsetel bakteritel on lisaks sisemisele plasmamembraanile väljaspool paks, valdavalt peptidoglükaanist koosnev rakukest. Gramnegatiivsetel bakterite peptidoglükaanest on õhuke, kuid lisaks sellele on rakul väljaspool veel plasmamembraan, mis on seotud peptidoglükaanestega erinevate valkude abil (joonis 1). Rakukesta ehitus on peamiseks teguriks, mis määrab, millised ravimainete molekulid nendesse rakkudesse siseneda saavad.



Joonis 1. Bakterite jaotus rakukesta ehituse järgi – gram positiivsed ja gram negatiivsed bakterid.

Piimatoodete fermenteerimises osalevad bakteriliigid on valdavalt grampositiivsed *Lactobacillus* rühma kuuluvad piimhappebakterid (Tabel. 1). Lisaks nendele on juustu valmistamisel olulised ka teised grampositiivsed perekonnad, nagu *Lactococcus sp*, *Propionibacterium sp* ja *Brevibacterium sp* liigid [1]. Võrreldes grampositiivseid baktereid gramnegatiivsetega, on grampositiivsed bakterid reeglina palju tundlikumad erinevatele keemilistele ühenditele

(antibiootikumid, NSAID-d jne), kuna nende rakukest on kergemini läbitav kui gramnegatiivsete bakterite oma [2,3].

Seened on eukariootsed organismid ning siia alla kuuluvad nii pärmseened (näiteks *Saccharomyces sp.*) kui ka erinevad hallitusseened (*Penicillium sp.*). Tuntuimad seeneliigid juustu valmistamisel on *P. camemberti* ja *P. roqueforti* [1].

Tabel 1. Valik piimatööstuses kasutatavaid mikroorganisme [1]

Kasutusala	Bakteriliigid
Cheddar juust	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Gouda juust	<i>Lactobacillus helveticus</i>
Termofiilne juustu starterkultuur	<i>Lactobacillus casei</i>
Šveitsi tüüpi juustud, sekundaarne käärimine,	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
Starterkultuur (keefir)	<i>Lactococcus lactis</i>
	Seened
Valgehallitusjuustud	<i>Penicillium camemberti</i>
Sinihallitusjuustud	<i>Penicillium roqueforti</i>

NSAID-de mõju mikroobidele

Otsest informatsiooni NSAIDde mõju kohta fermenteeritud piimatoodete valmistamiseks kasutatavatele bakteritele teaduskirjandusest ei leitud. NSAIDde mõju nendele bakteritele võib hinnata kaudselt kasutades uuringuid analoogsete perekondade kohta ning arvestades erinevust gram-positiivsete ja gram negatiivsete liikide vahel. Tuleb rõhutada, et valdav enamus viidatud uurimusi on tehtud eesmärgiga leida ja kirjeldada NSAID mõjusid erinevatele bakteritele analoogses võtmes antibiootikumidega – see tähendab, et leida NSAID puhul kontsentratsioonid mille puhul bakteri liigi kasv on täiesti inhibeeritud. Lisaks on testitud NSAID´sid valdavalt patogeensete bakterite suhtes – nii gram-negatiivsed, kui gram positiivsed, ning patogeensed tüved on reeglina oluliselt resistentsamad kui mittepatogeensed tüved nii antibiootikumide kui ka NSAID-de mõjule.

Grampositiivsed bakterid ja NSAID'ide toime

Üheks enam testitud grampositiivseks liigiks on MRSA, ehk metitsilliin resistentne *Staphylococcus aureus*. Levinud NSAID diklofenak'i toime erinevatele MRSA tüvedele oli vahemikus 5–100 µg/ml [4]. Ibuprofeeni toime *S. aureuse* 'le tekkis alates kontsentratsioonist 125 µg (kasutati analoogset testi nagu antibiootikumide puhul: kasutades erineva ibuprofeeni kontsentratsiooniga immutatud paberdiske hinnati tekkivat kasvuvaba tsooni ümber antibiootikumilahusega immutatud punkti) [5]. Ibuprofeeni sünergistilist efekti antibiootikumidele (tsefuroksiim ja klooramfenikool) on kirjeldatud MRSA korral, kus ibuprofeen võimendas tsefuroksiimi/klooramfenikoli toimet erinevatele MRSA tüvedele (4 - 8192 / 4 - 64 korda)[6]. Vedaprofeeni inhibeeriv toime *S. aureusele* on määratud kontsentratsioonil 44 µg/ml, bromfenak'i puhul aga alates kontsentratsioonist 835 µg/ml. Carprofeeni inhibeeriv mõju *S. aureusele* on alates kontsentratsioonist 85 µg/ml, ning flufenaanhappe mõju alates 175 µg/ml [7]. NSAID koostoimet ravimresistentsete MRSA tüvede raviks kasutatavatele antibiootikumidele on hinnatud oksütetratsükliini ja gentamütsiini puhul. Sünergistiline toime saavutati fluniksiini ja oksütetratsükliini koostoimes (32-lt 8-le µg/ml), osaline sünergistiline toime leiti ka meloksikaami/gentamütsiini puhul (16-lt 4-le µg/ml), ning kombinatsiooni fluniksiin/gentamütsiin korral (16-lt 4-le µg/ml) [8].

- ***Bacillus subtilis*** – grampositiivne sporogeenne bakter. *B. subtilis* inhibitsioonitsoonid diskdifusiooni meetodil on ibuprofeeni kontsentratsiooni 62,5 µg/ml juures. [5]. *B. subtilis* tüve nr. 168 tundlikkust hinnati 5 erineva NSAID puhul – kõige tundlikum oli tüvi vedaprofeeni ja tolfenaanhappe suhtes (vastavalt 44 µg/ml ja 82 µg/ml), järgnesid carprofeen ning flufenaanhape (85 µg/ml ja 88 µg/ml). Kõige vähem avaldas *B. subtilisele* mõju bromfenak (418 µg/ml) [7]
- ***Bacillus cereus*** – grampositiivne sporogeenne bakter (lähedane liik *B. subtilisele*). *B. cereus* tüve ATCC 14579 puhul määrati kasvu inhibeerivad kontsentratsioonid nelja NSAID puhul – kõige tundlikum oli tüvi ibuprofeeni ja diklofenaki suhtes (625/1250 µg/ml), apiriini ja mefenaanhape inhibeeriv toime nõudis oluliselt suuremaid kontsentratsioone (vastavalt 2500 ja 5000 µg/ml) [6]

- ***Streptococcus sp.*** Grampositiivne kokk. Kuue erineva *Streptococcus sp* tüve puhul testiti tundlikkust diklofenaki suhtes, inhibitsiooni vahemik sõltuvalt tüvest oli 20-50 µg/ml [4].
- ***Mycobacterium tuberculosis*** – grampositiivne tuberkuloositekitaja. Kuna tuberkuloositekitaja ravimreistentsus on levinud probleem, siis on testitud NSAID toimet ka sellele, ning on demonstreeritud diklofenaki positiivset (sünergistilist) koostoimet antibiootikumi raviga – hiire tuberkuloosi - mudelis, kus koos antibiootikumi streptomütsiini kasutamisega oli diklofenakil ravile teatud sünergistiline toime (Dutta, Mazumdar, et al. 2007)
- ***Listeria monocytogenes***. Grampositiivne, toidumürgistusi tekitav patogeen. *L. monocytogenese* puhul testiti selle 9 erineva tüve tundlikkust diklofenakile, ning inhibeerivad kontsentratsioonid langesid vahemikku 25-50 µg/ml [4].

Gram negatiivsed bakterid ja NSAID toime

- ***Klebsiella pneumonia*** tüvede suhtes on demonstreeritud aspiriini puhul omapärats toimet, mis põhjustab invasiivset sündroomi. Nimetatud tüvede eripäraks on suurenenud lima tootmine, mis maskeerib patogeeni inimese immuunsüsteemi eest. Aspiriini otsene inhibeeriv toime *K. pneumonia* tüvedele jäi tagasihoidlikuks ka kõrgel kontsentratsioonil (300 µg/ml), kuid mõju patogeeni limatootmise pidurdamisel oli märgatav juba kontsentratsioonidel 10 ja 30 µg/ml. Kuna aspiriin vähendas patogeneesiks olulise lima tootmist/viskoossust, siis suurendas aspiriini kasutamine patsientide immuunsüsteemi võimekust [12]. *K. pneumonia* tüve ATCC 10031 tundlikkust testiti nelja NSAID'i suhtes (ibuprofeen, aspiriin, diklofenak ja mefenaam hape) – inhibeeriv kontsentratsioon oli kõigi nelja puhul väga kõrge – üle 5000 µg/ml [6]
- ***Escherichia coli*** – gramnegatiivne pulkbakter. *E. coli* tüve ATCC 25922 puhul määrati tundlikkus 4 NSAID puhul (ibuprofeen, aspiriin, diklofenak ja mefenaam hape) – inhibeeriv kontsentratsioon oli kõigi nelja puhul väga kõrge – üle 5000 µg/ml [6]. *E. coli* tüve K12 tundlikkust hinnati 5 erineva NSAID puhul – carprofeeni ja bromfenaki puhul kulus kasvu inhibitsiooniks 2500 µg/ml, ning vedaprofeeni, tolfenaamhappe ja flufenaamhappe puhul oli vaja 5000 µg/ml. Antud töös selgitati välja ka nende NSAID toimemehhanism – kõik 5 takistasid DNA replikatsiooni [7].
- ***Salmonella enterica serotype Typhimurium***. *Salmonella enterica serotype Typhimurium* NCTC 74 tüve puhul demonstreeriti NSAID diklofenaki toimet

salmonelloosi hiire mudeli korral diklofenaki kasutamine (15-30 µg hiire kehakaalu g kohta) aitas oluliselt vähendada hiirte suremust salmonelloosi, samuti olid patogeenide väljakülvide arvukused haigestunud hiirte organitest oluliselt väiksemad. Lisaks tuvastati diklofenaki sünergiline toime streptomütsiini suhtes [11].

- ***Acinetobacter baylyi***. Gramnegatiivne bakter, oportunistlik patogeen (oht antibiootikumi multiresistentsuse omandamiseks). *Acinetobacter baylyi* tüve ADP1 tundlikkuse testimisel 5 erineva NSAID puhul oli tundlikkus suurem vedaprofeeni ja carprofeeni korral (705 / 340 µg/ml), tundlikkus flufenaam- ja tolfenaamhappele 1400 ja 1300 µg/ml, kõige vähem mõju avaldas vedaprofeen 1410 µg/ml [7].

NSAID-de mõju gramnegatiivsete bakterite membraansetele pumpadele (*efflux pumps*).

Gramnegatiivsed bakterid on tuntud selle poolest, et nende antibiootikumi resistentsuse väljakujunemine on kiirem, kui gram positiivsete patogeenide puhul. Üheks selliseks mehhanismiks on võime antibiootikume rakust välja pumbata kasutades spetsiaalseid poore/transportereid mis asuvad rakukestas. Mitmete gram negatiivsete bakterite, nagu: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica subsp. enterica serotype Typhimurium* ja *Burkholderia cenocepacia* puhul on näidatud, et näiteks salitsülaat (aspiriini metabolismi vaheühend) indutseerib antibiootikumi (kinoloonide) vastase resistentsuse teket, käivitades membraanis MDR (multi drug resistance) tüüpi pumbad, mis vastutavad antibiootikumi resistentsuse tekke eest [2,9].

NSAID mõju inimese mikrobiomile.

Ameerika Ühendriikides läbi viidud uuringus analüüsiti erinevate NSAID´de mõju inimeste mikrobiomile. Selgus, et mitmete valuvaigiste puhul (näiteks aspiriin, celecoxib ja ibuprofeen) kujunes patsientidel välja normaalsest erinev, vastavale valuvaigistile iseloomulik mikrofloora. Mõned valuvaigistid (ketoprofeen, naproxen ja ketorolac) mõjusid mikrobiomi kooslusele agressiivsemalt kui ibuprofeen või celecoxib. Süsteemsed mikrobiomi muutused võivad omakorda kaasa aidata probleemidele, mis on seotud südame veresoonekonna haigustega [10].

Seened ja NSAID'de võimalik toime.

Seente puhul on uuritud NSAID-de mõju patogeensetele seentele – *Aspergillus brasiliensis* ja *Candida albicans*.

- *Candida albicans*. Uuritud on ibuprofeeni inhibeerivat toimet, kasutades diskdifusiooni meetodit (vt 1.1), tulemuseks saadi kasvu inhibitsioon 125 µg puhul [5].
- *Aspergillus brasiliensis*. Testitud ibuprofeeni inhibeerivat toimet, tulemuseks saadi kasvu inhibitsioon alates 31,3 µg (diskdifusiooni meetodil, kirjeldatud eespool) [5].

NSAID jääkide võimalik mõju piimatoodete valmistamisel kasutatavatele bakterikultuuridele

Nagu juba eelnevalt mainitud, otseselt NSAID jääkide esinemist piimas ja nende võimalikku mõju piima mikrobioloogilisele tötlusele (starterkultuuridele) kirjeldatud ei ole. Enamikes viidatud publikatsioonides käsitletakse NSAID bakterite vastast toimet kasvu täieliku inhibitsiooni võtmes, ehk üritatakse selgitada välja NSAID´e analoogset toimet nagu seda on antibiootikumidel. Seetõttu ulatuvad eksperimendis kasutatavate NSAID kontsentratsioonid üle 5000 µg/ml [6] Piimas leiduvate NSAID lubatud kontsentratsioonid on oluliselt madalamad - kokkuvõtlik ülevaade on toodud Tabelis 2. Kuid ka kasvu osaline inhibitsioon võib häirida starterkultuuride tööd – mille üheks ülesandeks on kiire keskkonna hapendamise piimhappega, et muuhulgas takistada gram - negatiivsete bakterite arengut. Kuna gram - positiivsed bakterid (starterkultuurid jms) on reeglina tundlikumad NSAID´le, siis on potentsiaalne oht, et fermentatsiooni protsess võib olla häiritud.

Tabel 2. NSAID piirnормid piimas ja antimikroobne toime. Grampositiivsed bakteriliigid on lillas, gramnegatiivsed liigid roosas, ja seened mustas kirjas

NSAID	Piirnorm piimas	Antimikroobne toime	Lisatoimed
tolfenaamhape	50 µg/kg	<i>S. aureus</i> 163 µg/ml** <i>B. subtilis</i> 82 µg/ml <i>E. coli</i> 1400 µg/ml [7]	ap*
fluniksiin	40 µg/kg	ap	Sünergism oksütetratsükliini ja gentamütsiiniga[8]
meloksikaam	15 µg/kg	ap	Sünergism oksütetratsükliini ja gentamütsiiniga[8]
metamisool diklofenak	50 µg/kg 0,1 µg/kg	ap <i>Staphylococcus aureus</i> 5–100 µg/ml (eri tüved) <i>Streptococcus spp.</i> 20–50 µg/ml (eri tüved) <i>L. monocytogenes</i> (eri tüved) 25-50 µg/ml <i>Salmonella spp</i> 10-100 µg/ml (eri tüved) [4]	ap Sünergiline toime antibiootikumidele (streptomütsiin)[11]
aspiriin	ap*	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10-30 µg/ml (lima tootmise inhibitsioon [12]) <i>E. coli</i> 5000 µg/ml [6] <i>B. cereus</i> 2500 µg/ml,	Sünergiline toime antibiootikumidele (cefuroksiimi/klooramfenikooli) Inhibeerib <i>Kl. pneumonia</i> limatootmist[12] Võib indutseerida G- bakterite ravimresistentsust[2]
vedaprofeen	ap*	<i>S. aureus</i> 44 µg/ml <i>B. subtilis</i> 44 µg/ml <i>E. coli</i> 1400 µg/ml [7]	ap*
bromfenak	ap*	<i>S. aureus</i> 835 µg/ml <i>B. subtilis</i> 418 µg/ml <i>E. coli</i> 835 µg/ml [7]	ap*
karprofeen	ap*	<i>S. aureus</i> 85 µg/ml <i>B. subtilis</i> 85 µg/ml <i>E. coli</i> 660 µg/ml [7]	ap*
flufenaamhape	ap*	<i>S. aureus</i> 175 µg/ml <i>B. subtilis</i> 88 µg/ml <i>E. coli</i> 1400 µg/ml [7]	ap*
ibuprofeen	ap*	<i>B. subtilis</i> 62,5 µg <i>S. aureus</i> 125 µg [5] <i>E. coli</i> 5000 µg/ml <i>Kl pneumoniae</i> 5000 µg/ml <i>Candida albicans</i> 125 µg <i>Aspergillus brasiliensis</i> 31,3 µg [5]	Sünergiline toime antibiootikumidele (cefuroksiimi/klooramfenikooli)[6] Mõju inimese mikrobioomile[10]

* andmed puuduvad **Gramnegatiivsed bakterid on märgitud punaselt, grampositiivsed bakterid siniselt ja seened mustalt

Võrreldes testitud liikide süstemaatilist kuuluvust, ning võrreldes seda kastarterkultuurides kasutatavate liikidega, siis kattuvaid perekondi eriti ei ole (Tabelid 1, 2), Lähimat analoogiat võib leida *Streptococcus spp* liikide testimisel [4], kuna sama perekonna liike kasutatakse ka juustu valmistamisel [1]. Kuid tundlikkus NSAID'le võib olla väga varieeruv, ning varieeruda sama liigi eri tüvede puhul kuni 20 korda [4]. Kuna ka NSAID tundlikkuse hindamise meetodikad on erinevad, siis on viidatud andmetest keeruline teha üheselt mõistetavaid järeldusi.

Teine probleem, mis on oluline madalate NSAID kontsentratsioonide puhul, on kaudne biokeemiline mõju. Näiteks võib väikene kogus aspiriini (10 µg/ml) mõjutada bakteri (*K. pneumonia*) lima tootmist [12], kuid erinevates piima fermentatsiooniprotsessides võib starterkultuuri bakterite erinevate polüsahhariidide/valgulise lima tootmine/mittetootmine osutada (piima-) produkti valmimisel oluliseks [13]. Kuigi NSAID otsene antimikroobne toime madalatel kontsentratsioonidel on tavaliselt nõrk, siis on kirjeldatud NSAID tugevat sünergistilist toimet antibiootikumide suhtes [6,8,11], mille puhul antibiootikumi toime võib võimenduda kuni 4000 korda [6]. **Taolised, tugeva võimendusega protsessid võivad viia selleni, et antibiootikumijäägid (või muud kemikaalid), mis lubatud piirkontsentratsioonidest madalatel kontsentratsioonidel ei pruugi mõju avaldada, võivad koostoimes NSAID-ga tekitada bakterite kasvu inhibitsiooni.**

Kirjeldatud on aspiriini metabolismi vaheprodukti (salitsülaadi) indutseerivat mõju gram negatiivsete bakterite antibiootikumiresistentsuse tekkele [9]. See viitab võimalusele, et erinevate NSAID'e jäägid võivad teoreetiliselt mõjutada täiesti ootamatutes aspektides muuhulgas ka piimatööstuse starterkultuuride biokeemilist käitumist. Kui uuriti erinevate NSAID'e mõju inimese mikrofloorale, siis tulemused olid üheselt mõistetavad, s.t. sõltuvalt kasutatud NSAID'ist toimusid muutused ka inimese seedekulga mikroflooras. Mõnede NSAID'ide puhul (näiteks ibuprofeen) toimusid iseloomulikud muutused ka seedekulga bakterite liigilises koosseisus, mis omakorda võib mõjutada peremeesorganismi (inimese) heaolu [10].

Kokkuvõtteks võib öelda, et vaieldamatult on **NSAID molekulidel mõju erinevatele mikroorganismidele, reeglina on mõju kõige suurem gram-positiivsetele bakteritele. Samas ei saa veel teha lõplikke järeldusi, kuna iga NSAID erinevast keemilisest struktuurist tulenev bioloogiline toime on spetsiifiline.** Ning sama oluline on bioloogiline faktor – sama liigi erinevad tüved võivad reageerida erineva tundlikkusega NSAID'le.

Kirjanduse loetelu

- [1] Beresford, T., and A. Williams. 2004. "The Microbiology of Cheese Ripening." In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80071-X](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80071-X).
- [2] Laudy, Agnieszka Ewa. 2018. "Non-Antibiotics, Efflux Pumps and Drug Resistance of Gram-Negative Rods." *Polish Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-017>.
- [3] Breijyeh, Zeinab, Buthaina Jubeh, and Rafik Karaman. 2020. "Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It." *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>.
- [4] Mazumdar, K., S. G. Dastidar, J. H. Park, and N. K. Dutta. 2009. "The Anti-Inflammatory Non-Antibiotic Helper Compound Diclofenac: An Antibacterial Drug Target." *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1007/s10096-009-0739-z>.
- [5] Obad, Jelena, Jagoda Šušković, and Blaženka Kos. 2015. "Antimicrobial Activity of Ibuprofen: New Perspectives on an 'Old' Non-Antibiotic Drug." *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.02.011>.
- [6] Chan, Elaine Wang Ling, Zong Yang Yee, Iswara Raja, and Jeremy Kean Yi Yap. 2017. "Synergistic Effect of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) on Antibacterial Activity of Cefuroxime and Chloramphenicol against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus." *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.03.012>.
- [7] Yin, Zhou, Yao Wang, Louise R. Whittell, Slobodan Jergic, Michael Liu, Elizabeth Harry, Nicholas E. Dixon, Michael J. Kelso, Jennifer L. Beck, and Aaron J. Oakley. 2014. "DNA Replication Is the Target for the Antibacterial Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs." *Chemistry and Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.02.009>
- [8] Altaf, Muhammad, Muhammad Ijaz, Awais Ghaffar, Abdul Rehman, and Muhammad Avais. 2019. "Antibiotic Susceptibility Profile and Synergistic Effect of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs on Antibacterial Activity of Resistant Antibiotics (Oxytetracycline and Gentamicin) against Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)." *Microbial Pathogenesis*. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103755>.
- [9] Laudy, Agnieszka E., Agnieszka Mrowka, Joanna Krajewska, and Stefan Tyski. 2016. "The Influence of Efflux Pump Inhibitors on the Activity of Non-Antibiotic NSAIDS against Gram-Negative Rods." *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147131>.
- [10] Rogers, M. A.M., and D. M. Aronoff. 2016. "The Influence of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs on the Gut Microbiome." *Clinical Microbiology and Infection*. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.003>.
- [11] Dutta, Noton Kumar, Kaushiki Mazumdar, Sujata G. Dastidar, and Jae Hak Park. 2007. "Activity of Diclofenac Used Alone and in Combination with Streptomycin against Mycobacterium Tuberculosis in Mice." *International Journal of Antimicrobial Agents*. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.04.016>.
- [12] Lee, Chen Hsiang, Lin Hui Su, Jien Wei Liu, Chia Chi Chang, Rong Fu Chen, and Kuender

D. Yang. 2014. "Aspirin Enhances Opsonophagocytosis and Is Associated to a Lower Risk for *Klebsiella Pneumoniae* Invasive Syndrome." *BMC Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-47>.

[13] Mende, Susann, Harald Rohm, and Doris Jaros. 2016. "Influence of Exopolysaccharides on the Structure, Texture, Stability and Sensory Properties of Yoghurt and Related Products." *International Dairy Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.08.002>.