



Euroopa Maaelu Arengu
Põllumajandusfond:
Euroopa investeeringud
maapiirkondadesse

Kaasaegse, interdistsiplinaarse kuluefektiivse toiduohutuse ja toidu kvaliteedi seireprogrammi disainimine toidutööstustele



BioCC
Bio-Competence Center

Epp Songisepp
Vanemteadur
BioCC OÜ

07.06.24



Ewingella americana gen.nov., sp.nov., a new Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens.

P. Grimont, J. J. Farmer, F. Grimont, M. A. Asbury, D. J. Brenner, C. Deval · Biology · Annales de microbiologie · 1983

Ewingella americana: recurrent pseudobacteremia from a persistent environmental reservoir

M. McNeil, B. J. Davis, +5 authors W. Martone · Medicine, Biology · Journal of clinical microbiology · 1987

TLDR Solutions prepared in the hospital may constitute a persistent inanimate environmental reservoir for this uncommon microorganism and result in unnecessary antimicrobial therapy for some patients, incurring the risks of adverse drug reactions, selection of drug-resistant bacteria, and increased health care costs. [Expand](#)

Fatal Waterhouse-Friderichsen Syndrome due to Ewingella americana Infection

M. Tsokos · Medicine · The American journal of forensic medicine and pathology · 2003

TLDR The diagnosis of Waterhouse-Friderichsen syndrome as the cause of death was established post mortem based on autopsy findings, microscopic examination, measurement of serum procalcitonin concentration, and outcome of postmortem bacteriologic cultures that grew *E. americana*. [Expand](#)

Multi-drug resistant Ewingella americana.

S. Z. Bukhari, W. Hussain, M. Fatani, A. Ashshi · Medicine · Saudi medical journal · 2008

TLDR *Ewingella americana* was identified to be the pathogen of pneumonia with clinical signs and symptoms along with positive radiological findings in an Indonesian pilgrim admitted in the Intensive Care Unit of Hera General Hospital, Makkah, Saudi Arabia with severe head injury in a road traffic accident. [Expand](#)

Ewingella Americana: An Emerging True Pathogen

S. Hassan, S. Amer, C. Mittal, Rishi K. Sharma · Medicine · Case reports in infectious diseases · 2012

First Case of Ewingella americana Meningitis in a Term Newborn: A Rare but Real Pathogen

S. Meisler, R. Kamity, Asif Noor, L. Krilov, C. Tiozzo · Medicine · Frontiers in Pediatrics · 2020

TLDR This case highlights that *Ewingella americana* can cause serious invasive infections such as meningitis in the neonatal period with minimal symptomatology and the role of these emerging low virulence organisms in causing infections has to be further elucidated, especially in vulnerable patients such as newborns. [Expand](#)

The First Known Documented Case of Ewingella Americana Urinary Tract Infection

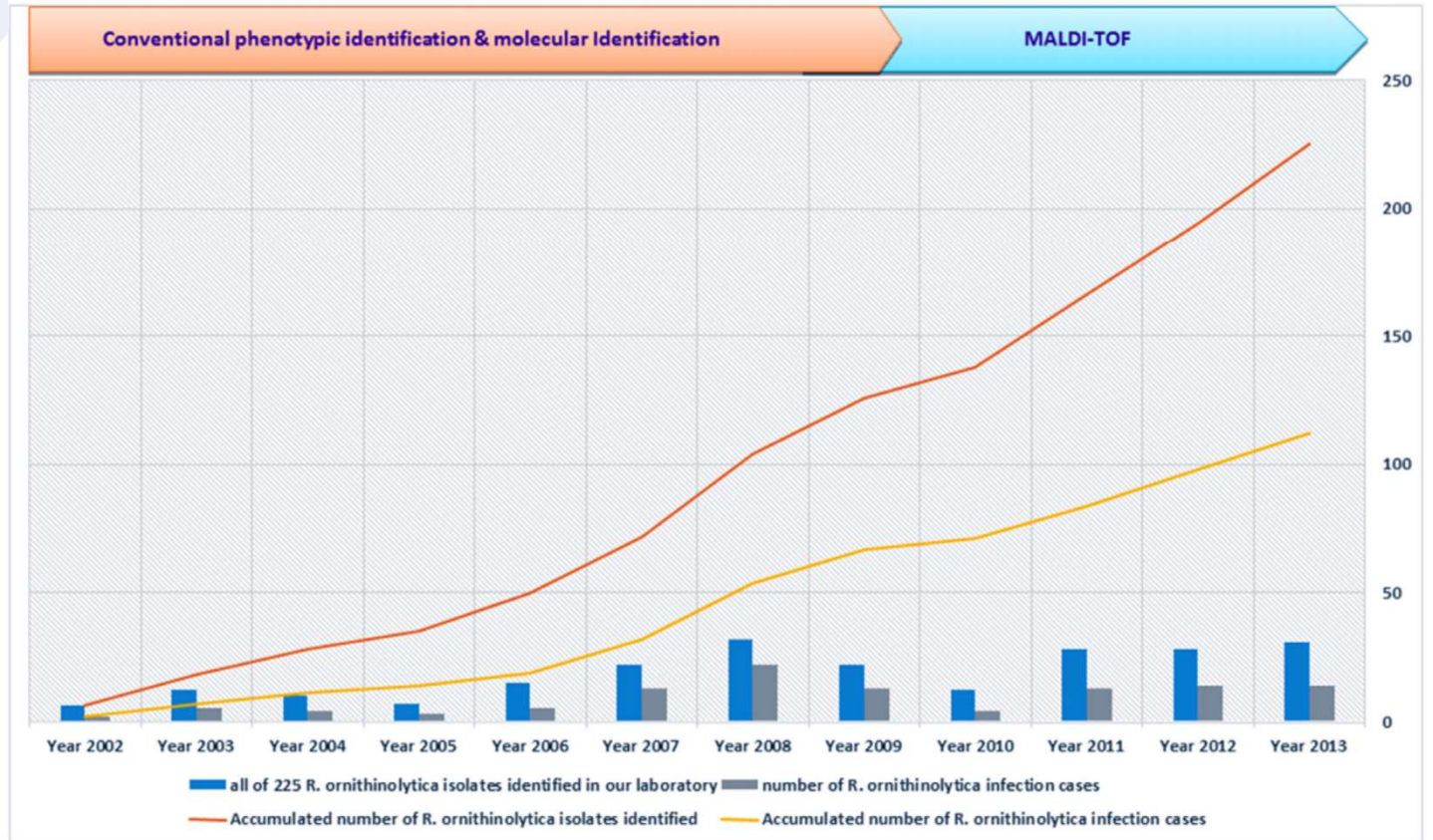
Jason Hourizadeh, Justin Joy, Joseph I Berger, Hanady Zainah · Medicine · Cureus · 2023

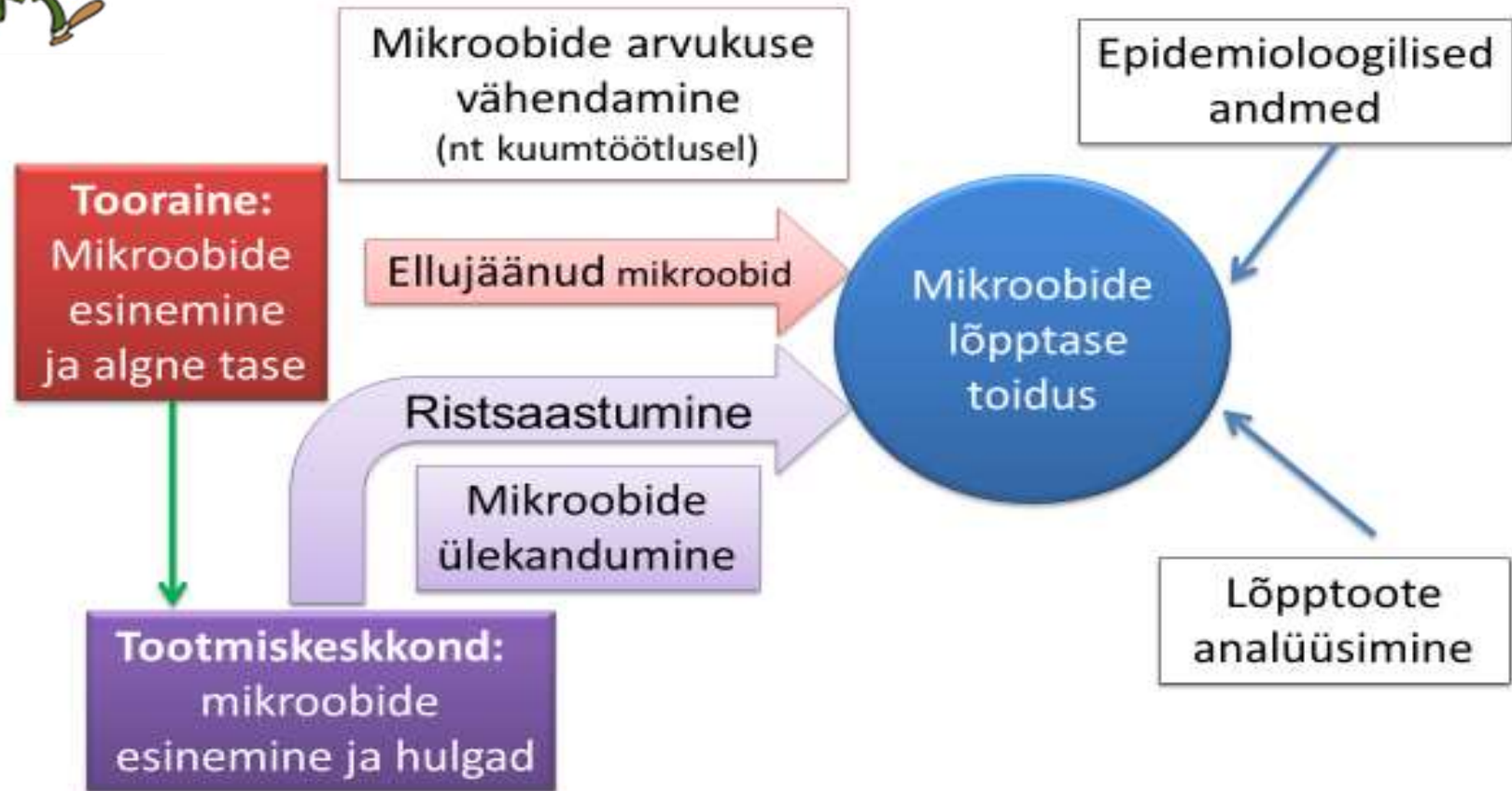
Raoultella ornithinolytica

(*Klebsiella ornithinolytica*), vee- ja mullamikroob

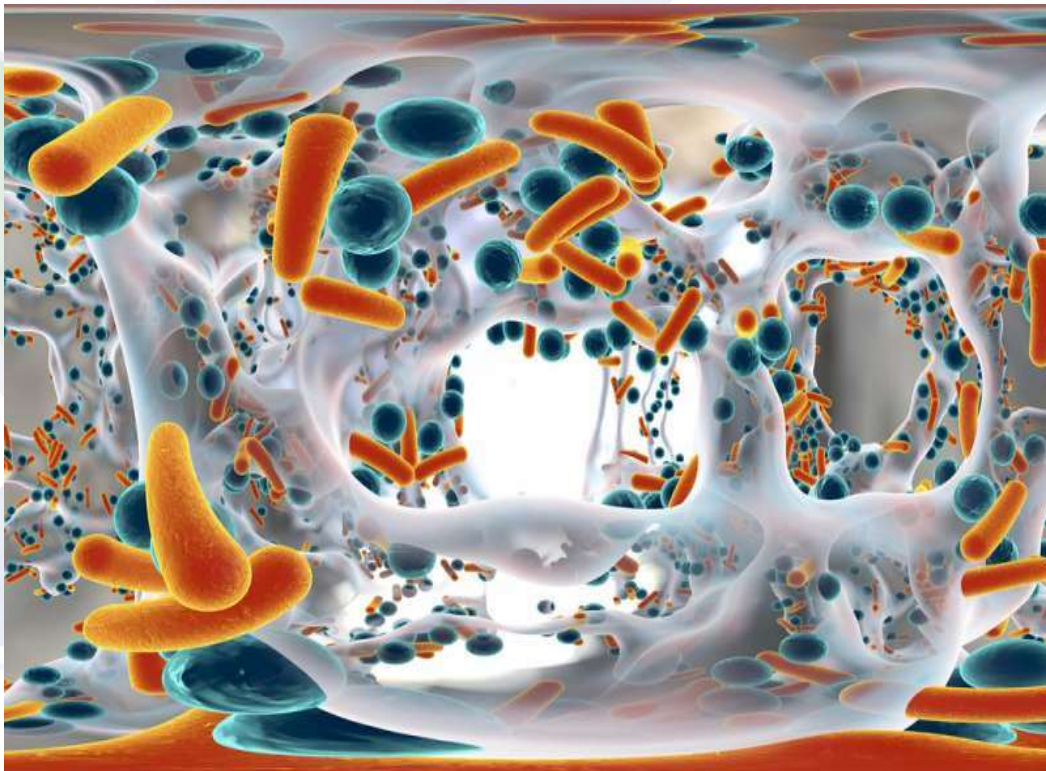
Tõusev patogeen: hingamisteede infektsioonid, UTI, liigesepõletikud, haiglainfektsioonid, Seedeinfektsioonid (enterokoliit, peritontiit, pankreatiit)

Biogeensete amiinide tekitamine valgurikastes toodetes

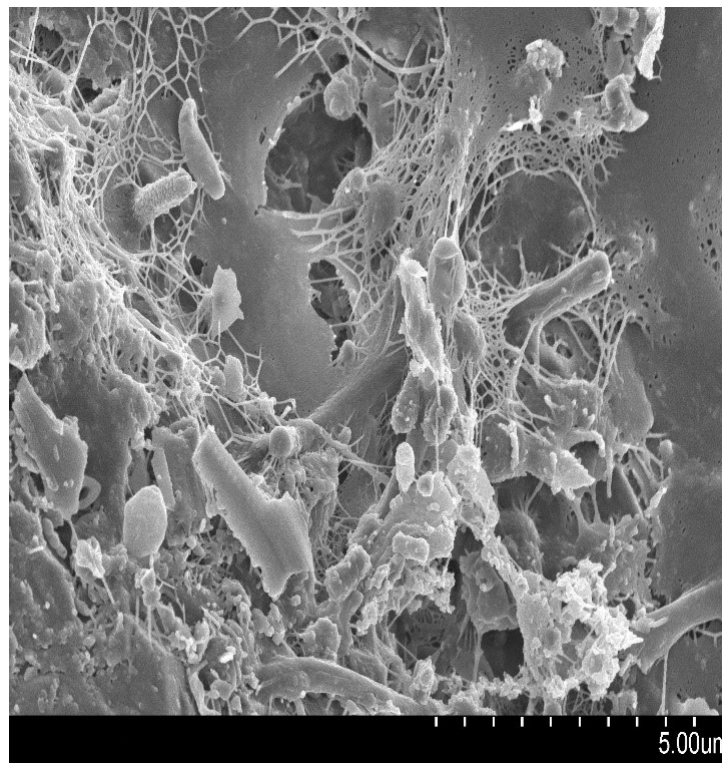




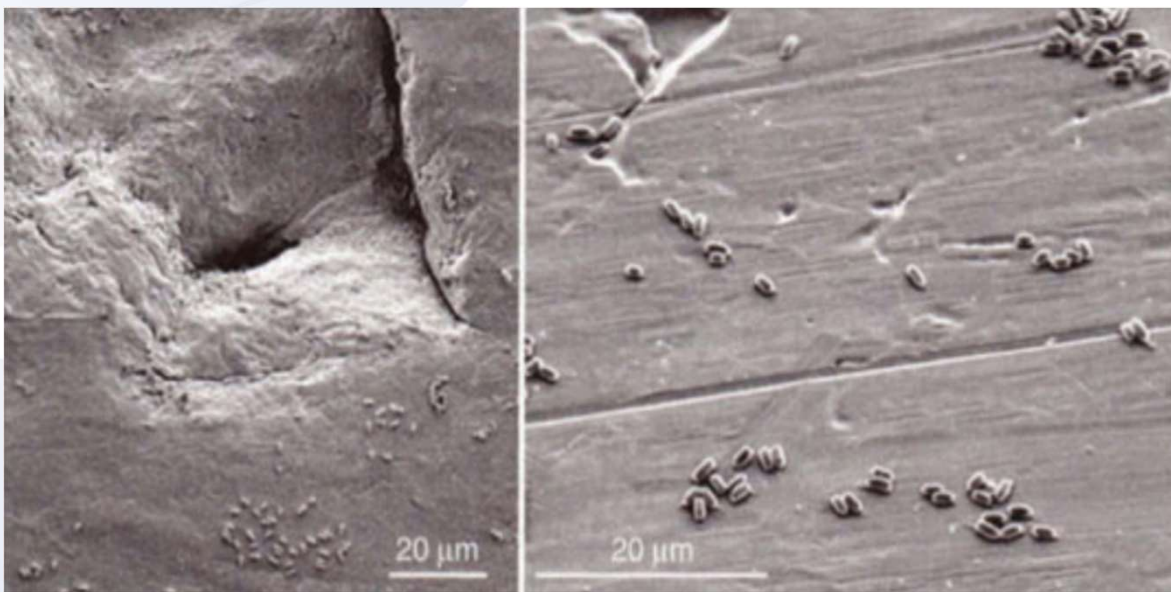
Biokiled on kompleksed mikroobikooslused, mis kinnituvad pindadele ja moodustavad ekstratsellulaarsete polümeersete ainetega kaetud kaitsekihi



Ikuma et al., (2013)



„kohev, heas toonuses“ mitmekihiline biokile:
 10^8 mikroobirakku/cm²
keskmine: 10^1 - 10^5 mikroobirakku /cm²



Marchand et al., 2012

1 μm = 0,001 mm

Pinna topograafia ja materjali koostis

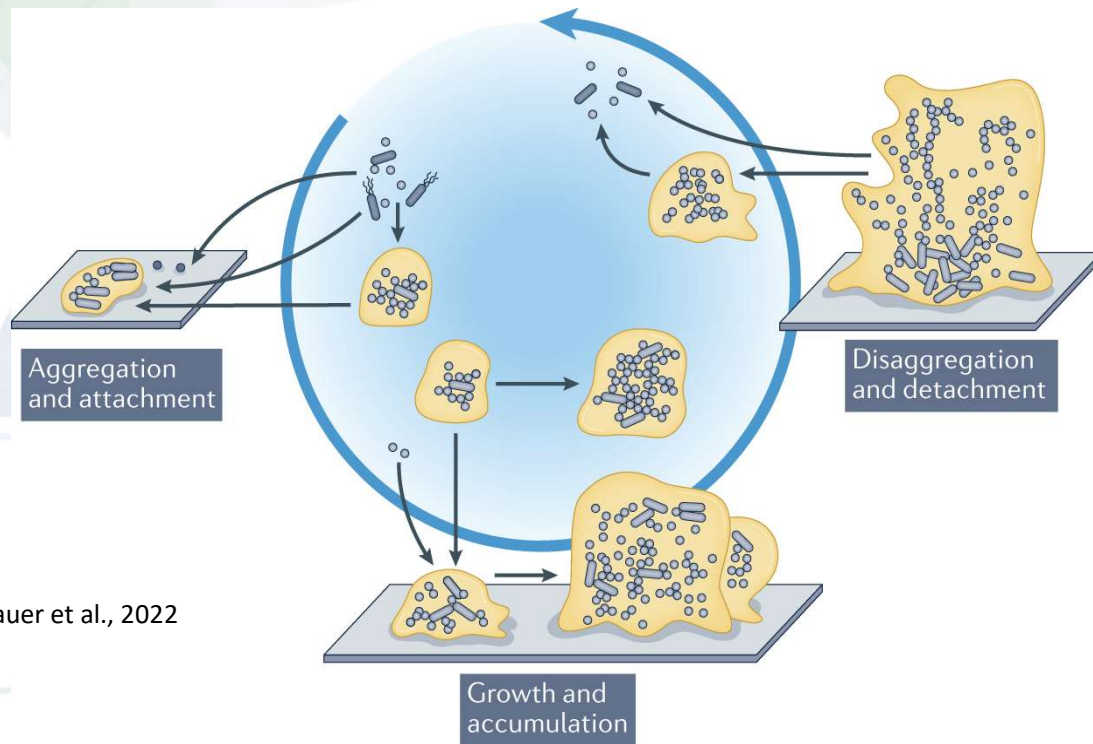
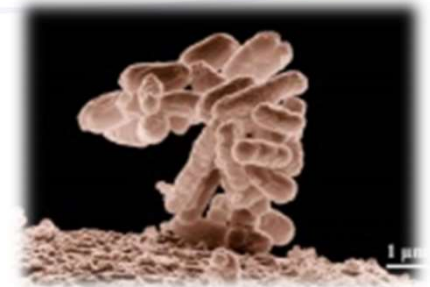
Ebaregulaarsed pinnad, pinnakahjustused (kriimustused) , karedad tekstuurid pakuvad bakterite kinnitumise ja biokile tekkimise kohti.

Halvast ühendatud tootmisliinid+ vilets hügieen (orgaanilised osakesed pinnal soodustavad biokile teket)

Initsiaatormikroobid

- Esmaselt seonduv populatsioon võib muuta pinna omadusi,
- Hilisemad tulijad saavad kinnituda, → suureneb biokile stabiilsus

Erinevate bakteriliikide seondumisjärjestus mõjutab biokile koostist.



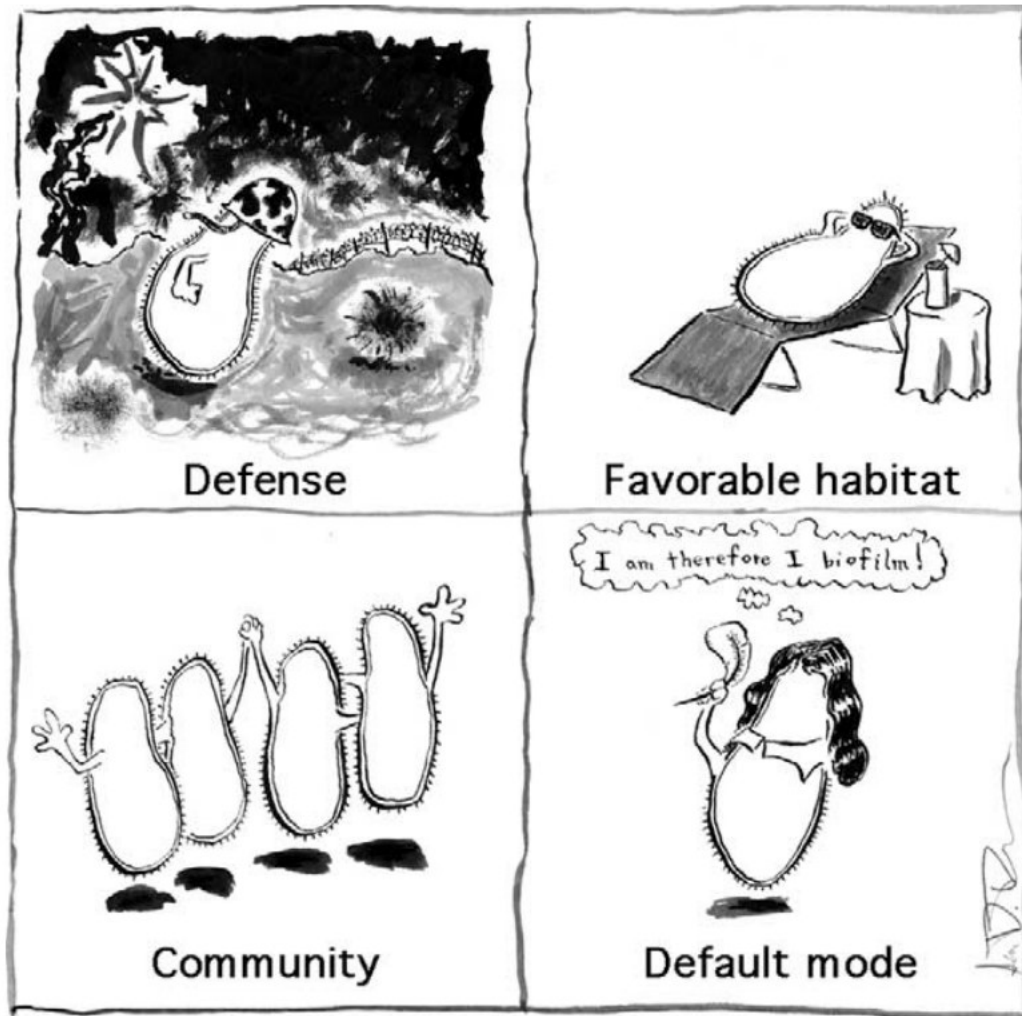
Sauer et al., 2022

1. Mikroobid kleepuvad üksteise külge ja kinnituvad pindadele, moodustades agregate.
2. Agregeerunud ja kinnitunud bakterikolooniate arvukus tõuseb.
3. Sõltuvalt mikroobide mehhanismidest eralduvad kas agregaatidena või üksikutena.

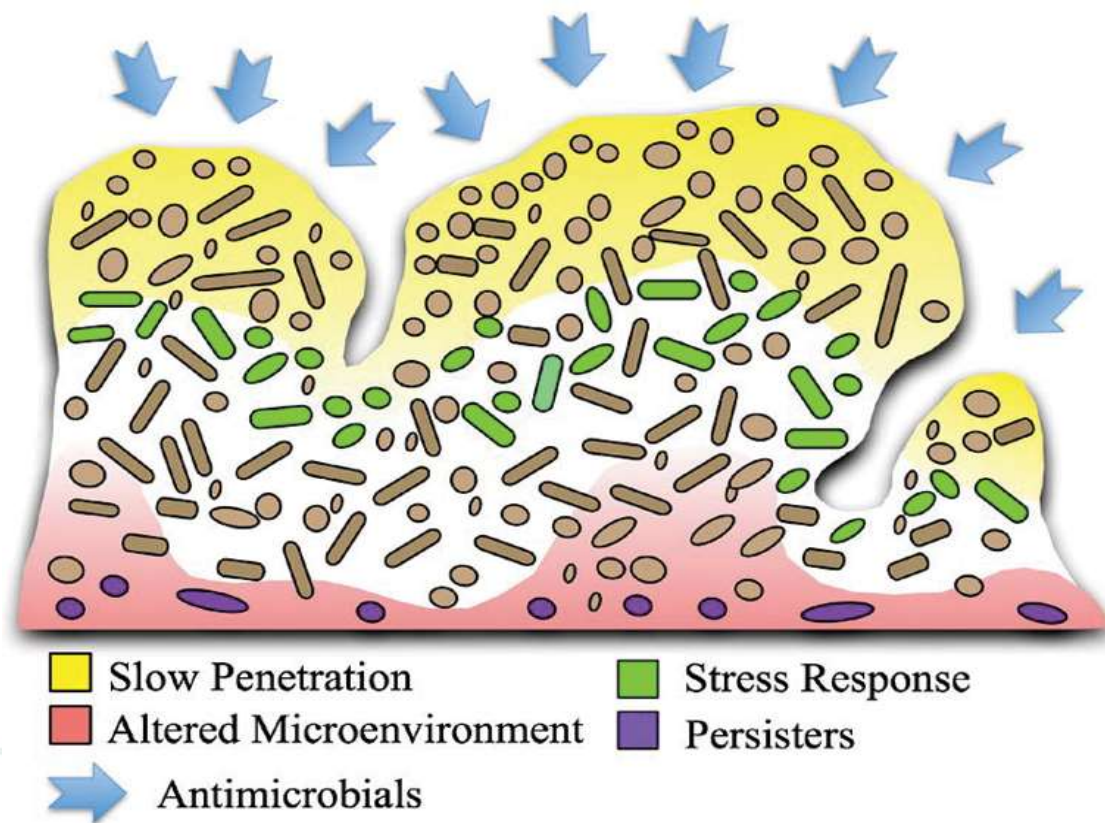
Kas biokile maatriks on alati sama koostisega? – Ei!

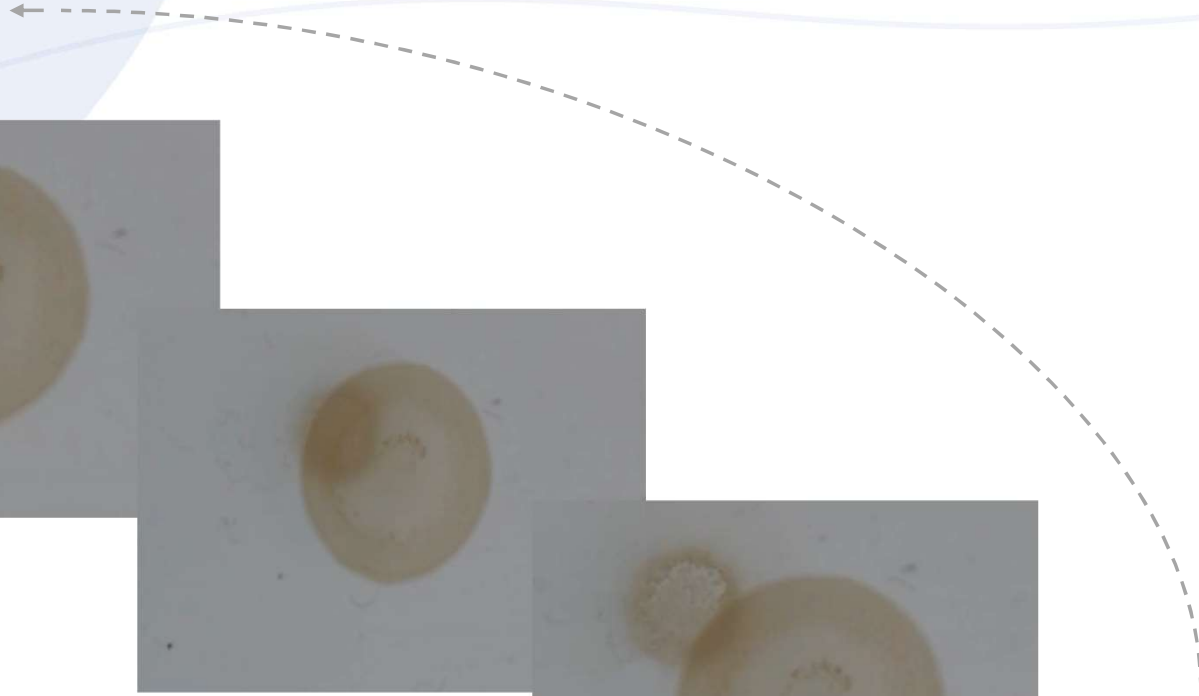
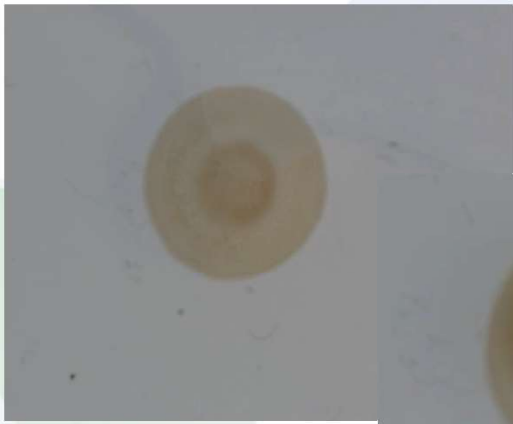
Isegi sama mikroobiliik ehitab biokile üles erinevalt, sõltuvalt olemasolevast „materjalist“ ja tingimustest

Hulgatunnetus (*quorum sensing*):
Mikroobirakkude vaheline suhtlus keemiliste signaalide abil.
Soodustab mikroobde kinnitumist, biokile teket



- Biokile ei käitu barjäärina, **ekstratsellulaarse matriksi komponendid** (ensüümid, valgud, süsivesikud) **mõjutavad biotsiidi efektiivsust.**
- **Hulgatunnetus** reguleerib biotsiidide neutraliseerimiseks oluliste ensüümide aktiveerumist.
- **Effluks pumpade geenide aktiveerumist** on seostatud kõrge resistentsusega biotsiidide vastu.
- **Biokile rakupopulatsiooni heterogeensus** mõjutab desinfektantide efektiivsust.
 - perifeersemates osades asuvad mikroobid pääsevad ligi toitainetele ja hapnikule,
 - biokile sügavamas kihis paiknevad rakud on madalama metaboolse aktiivsusega, stressi vastuse geenid on tugevamalt ekspresseerunud





Püsirakud

Planktooniline populatsioon

Yan et al., 2019 (modif)

Ettevõtete profiilipõhiselt isoleeritud domineerivate mikroobisugukondade osakaalud (%)

Bold

4 domineerivat sugukonda profiilipõhiselt



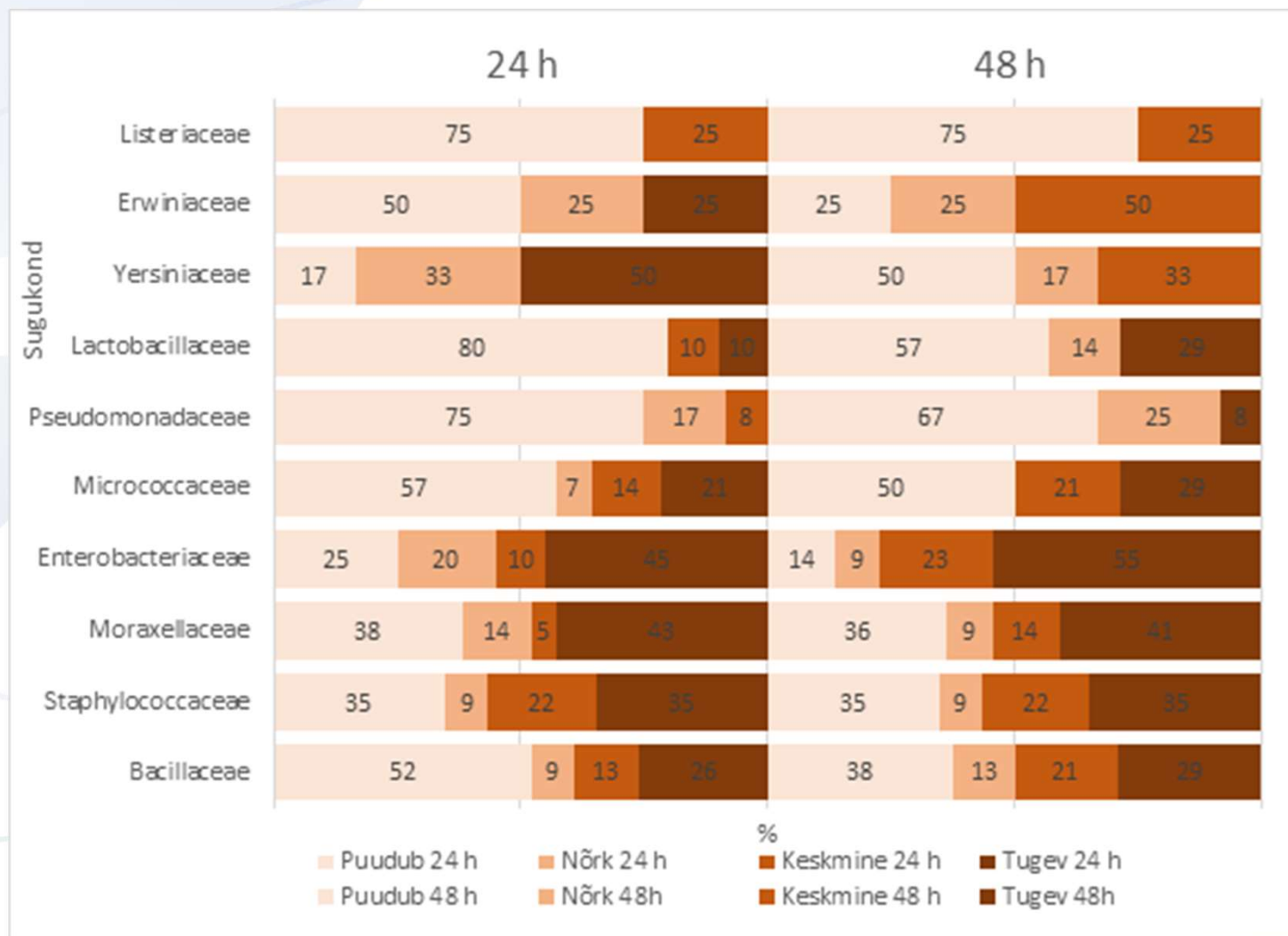
Sugukond	Piim	Puu- ja köögivili	Liha	Pagar
<i>Aeromonadaceae</i>	2			
<i>Debaryomycetaceae</i>			5	
<i>Bacillaceae</i>	8	33	5	21
<i>Carnobacteriaceae</i>			8	
<i>Enterobacteriaceae</i>	22	14		10
<i>Enterococcaceae</i>	3			2
<i>Filobasidiaceae</i>		5		
<i>Erwiniaceae</i>	2			7
<i>Hafniaceae</i>	2			
<i>Lactobacillaceae</i>	7	5	3	10
<i>Listeriaceae</i>	3		5	
<i>Microbacteriaceae</i>	2			2
<i>Micrococcaceae</i>	3	10	15	10
<i>Moraxellaceae</i>	7	14	18	17
<i>Nocardiaceae</i>	2			
<i>Paenibacillaceae</i>	2			
<i>Paracoccaceae</i>				2
<i>Pseudomonadaceae</i>	10		18	
<i>Sphingobacteriaceae</i>	2			
<i>Staphylococcaceae</i>	15	19	10	14
<i>Streptococcaceae</i>	5			
<i>Tsukamurellaceae</i>	2			
<i>Weeksellaceae</i>				5
<i>Yersiniaceae</i>	2		13	

Enamlevinud sugukondade erinevate liikde arv (n) toidumatriksite lõikes

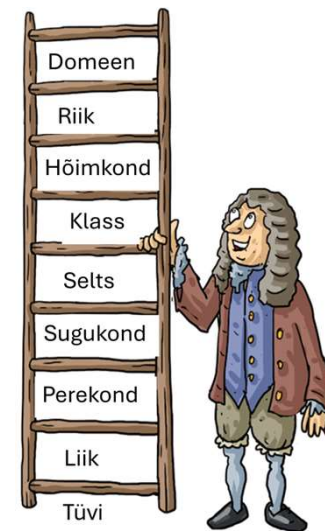
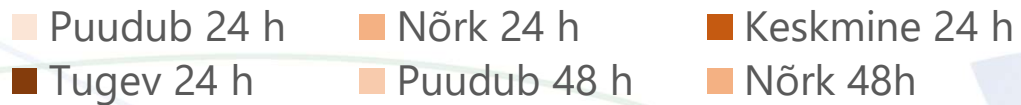
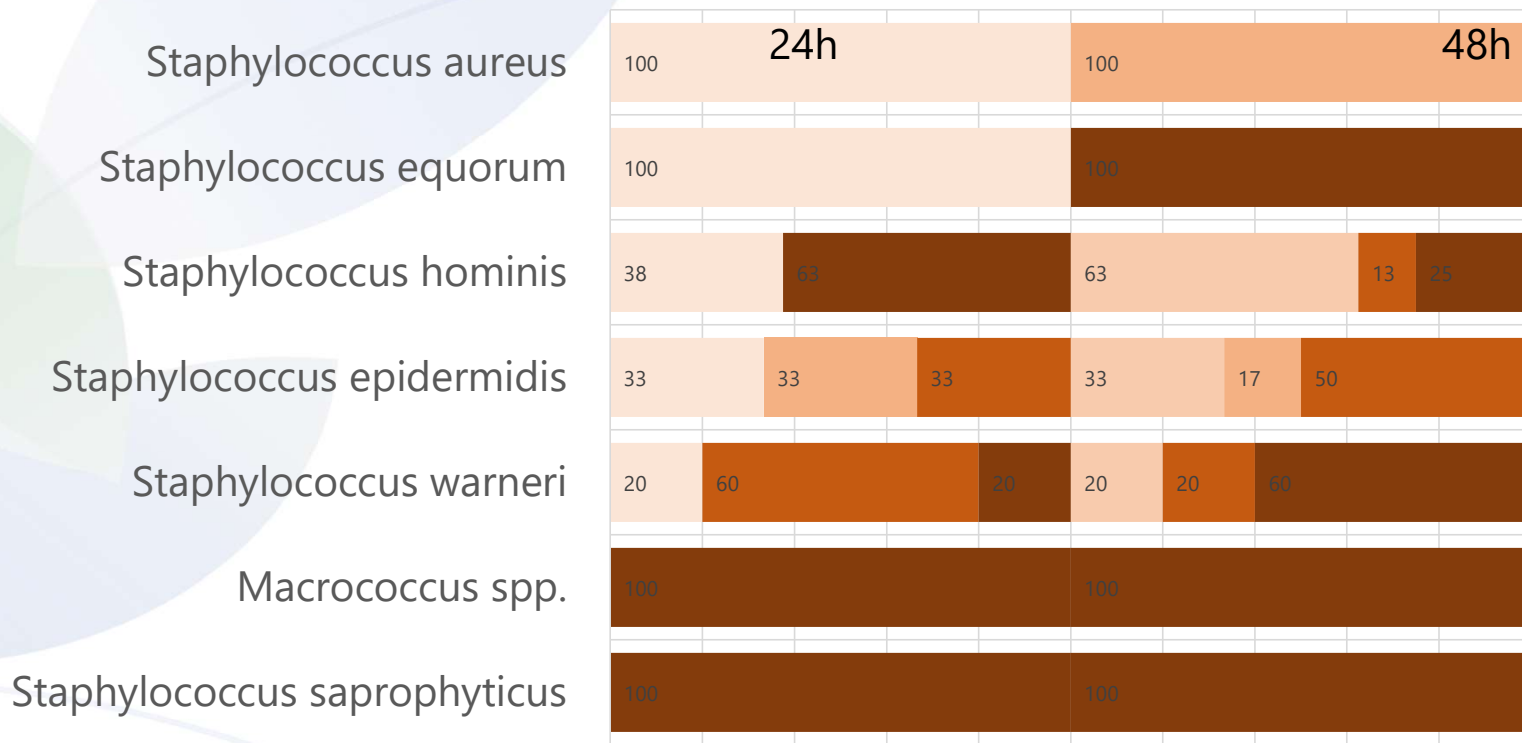
Sugukond	Piim	Puu- ja köögivili	Liha	Pagar
<i>Bacillaceae</i>	4	7	1	2
<i>Enterobacteriaceae</i>	7	2		2
<i>Staphylococcaceae</i>	5	4	3	1
<i>Pseudomonadaceae</i>	5		5	
<i>Moraxellaceae</i>	2	2	4	2
<i>Micrococcaceae</i>	1	1	3	3
<i>Yersiniaceae</i>			4	

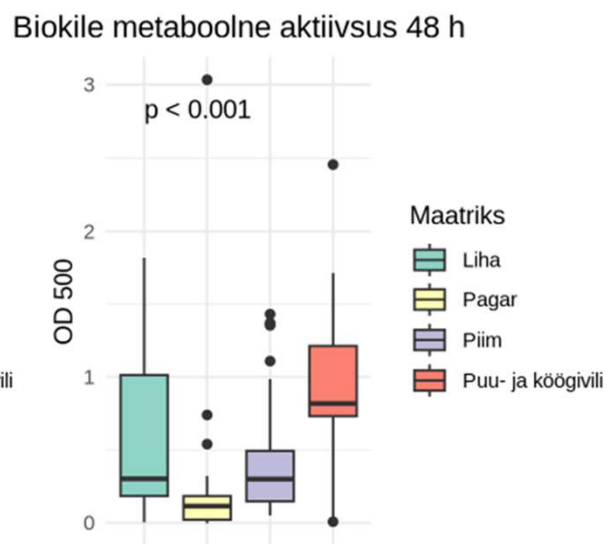
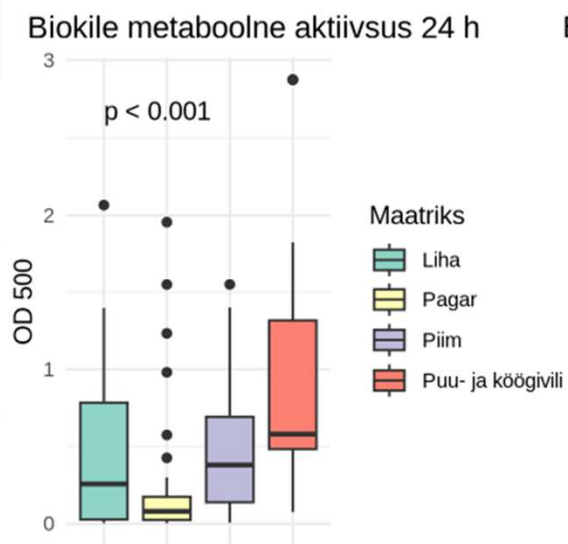
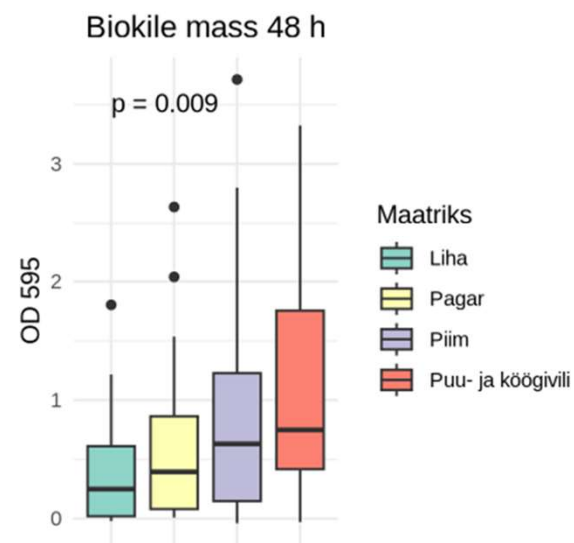
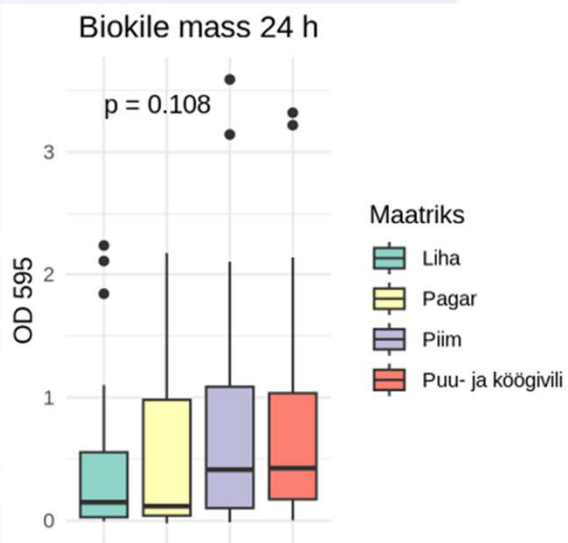
	Kõigis kattuvad liigid	piim/ puuvili	piim/ pagar	puuvili/ pagar	piim/ puuvili/ pagar	piim/ puuvili/ liha	liha/ pagar
<i>Bacillaceae</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. licheniformis</i>					
<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>K. oxytoca</i>	<i>C. braakii</i>	<i>E. cloaceae</i>			
<i>Staphylococcaceae</i>	<i>S. hominis</i>				<i>S. epidermidis</i>	<i>S. warneri</i>	
<i>Pseudomonadaceae</i>							
<i>Moraxelaceae</i>		<i>A. lwoffii</i>				<i>A. johnsonii</i>	
<i>Micrococcaceae</i>	<i>M. luteus</i>						<i>K. rhizophila</i>
<i>Yersiniaceae</i>							

Biokile tekitamise võime



Liik





Biotsiidi mõju biokile massile

Biotsiidi mõju biokile metaboolsele aktiivsusele

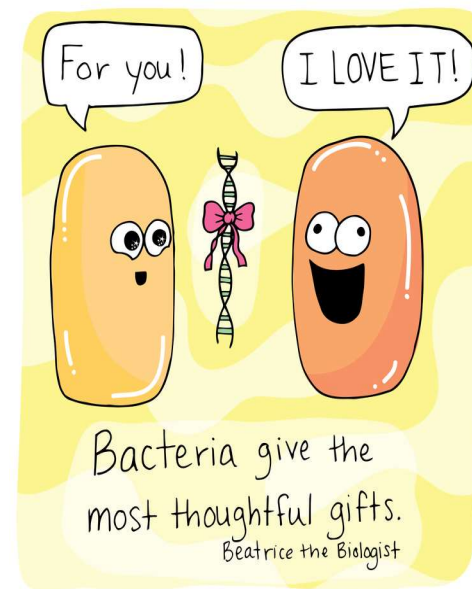


AMR sagedused (%) erinevate sugukondade lõikes

Sugukond	R	I	S
<i>Staphylococcaceae</i>	10	0	90
<i>Bacillaceae</i>	9	19	72
<i>Moraxellaceae</i>	6	0	94
<i>Enterobacteriaceae</i>	11	0	89
<i>Micrococcaceae</i>	17	0	83
<i>Lactobacillaceae</i>	3	1	96
<i>Pseudomonadaceae</i>	15	0	85
<i>Yersiniaceae</i>	10	0	90
<i>Erwiniaceae</i>	0	0	100
<i>Listeriaceae</i>	11	0	89

R – resistentne; I – tinglikult tundlik; S – tundlik; MIC: EUCAST, 2023, 2024

Antibiootikumresistentsuse olemasolu toiduainetööstuses leiduvatel toidu riknemisega seotud mikroobidel ja tinglikel patogeenidel võib mikroobide poolt tekitatud segakultuuriga biokilledes põhjustada resistentusgeenide ülekannet



AMR sagedused (%) bakteritüvede kaupa

Antibiootikum	R	I	S
Gentamütsiin	0	0	100
Kanamütsiin	3	0	97
Streptomütsiin	0	0	100
Neomütsiin	0	0	100
Tetratsükliin	13	0	87
Erütromütsiin	19	0	81
Klindamütsiin	18	0	82
Klooramfenikool	2	0	98
Ampitsilliin	18	0	83
Penitsilliin	20	0	80
Vankomütsiin	9	0	91
Kinupristiin-dalfopristiin	4	0	96
Linesoliid	3	0	97
Trimetoprim	23	0	77
Tsiprofloksatsiin	19	17	63
Rifampitsiin	29	0	71

R – resistentne; I – tinglikult tundlik; S – tundlik

Inimravis ja veterinaarmeditsiinis (WHO, 2024):

kriitilise olulisusega antibiootikumid

rifampitsiin,
tsiprofloksatsiin
erütromütsiin

kõrge tähtsusega antibiootikumid

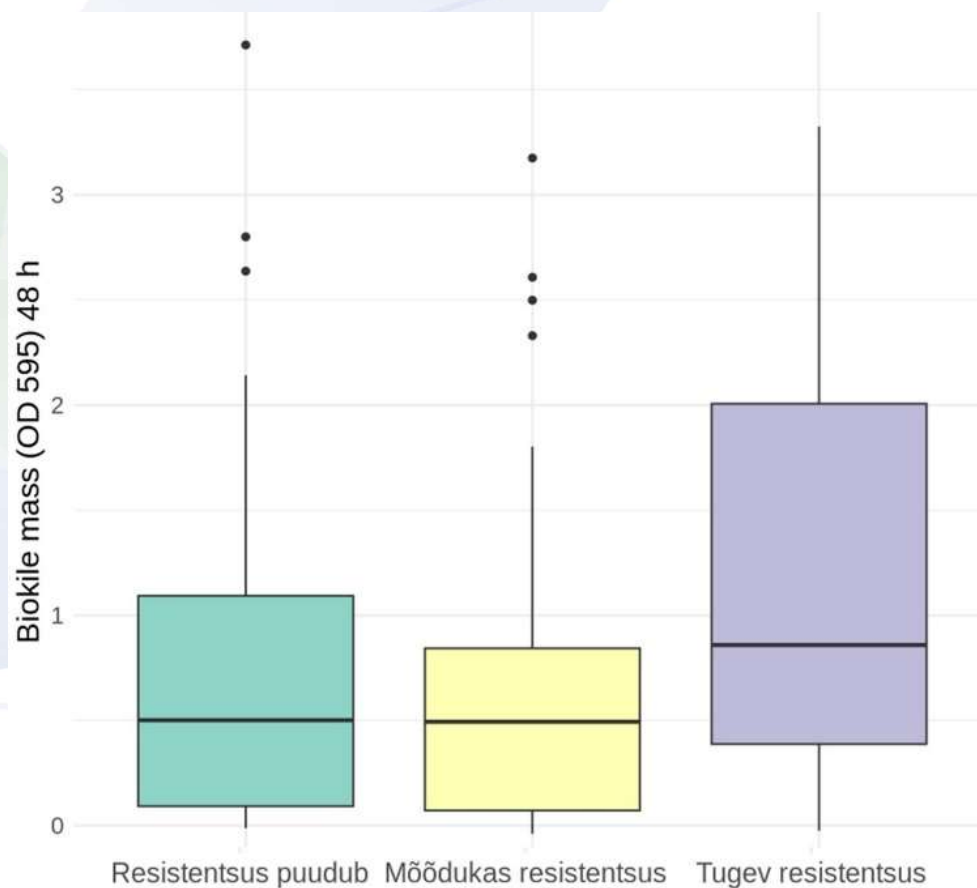
trimetoprim,
penitsilliin,
ampitsilliin
klindamütsiin

AMR sagedused (%) toidukaatriksite kaupa

Toidumaatriks	R	I	S
Piimatooted	14	2	84
Lihatooted	11	1	83
Pagaritooted	11	3	82
Köögi-ja puuviljatooted	20	4	81

R – resistentne; I – tinglikult tundlik; S – tundlik

Seos biokile massi (48h) ja antibiootikumiresistentsuse vahel

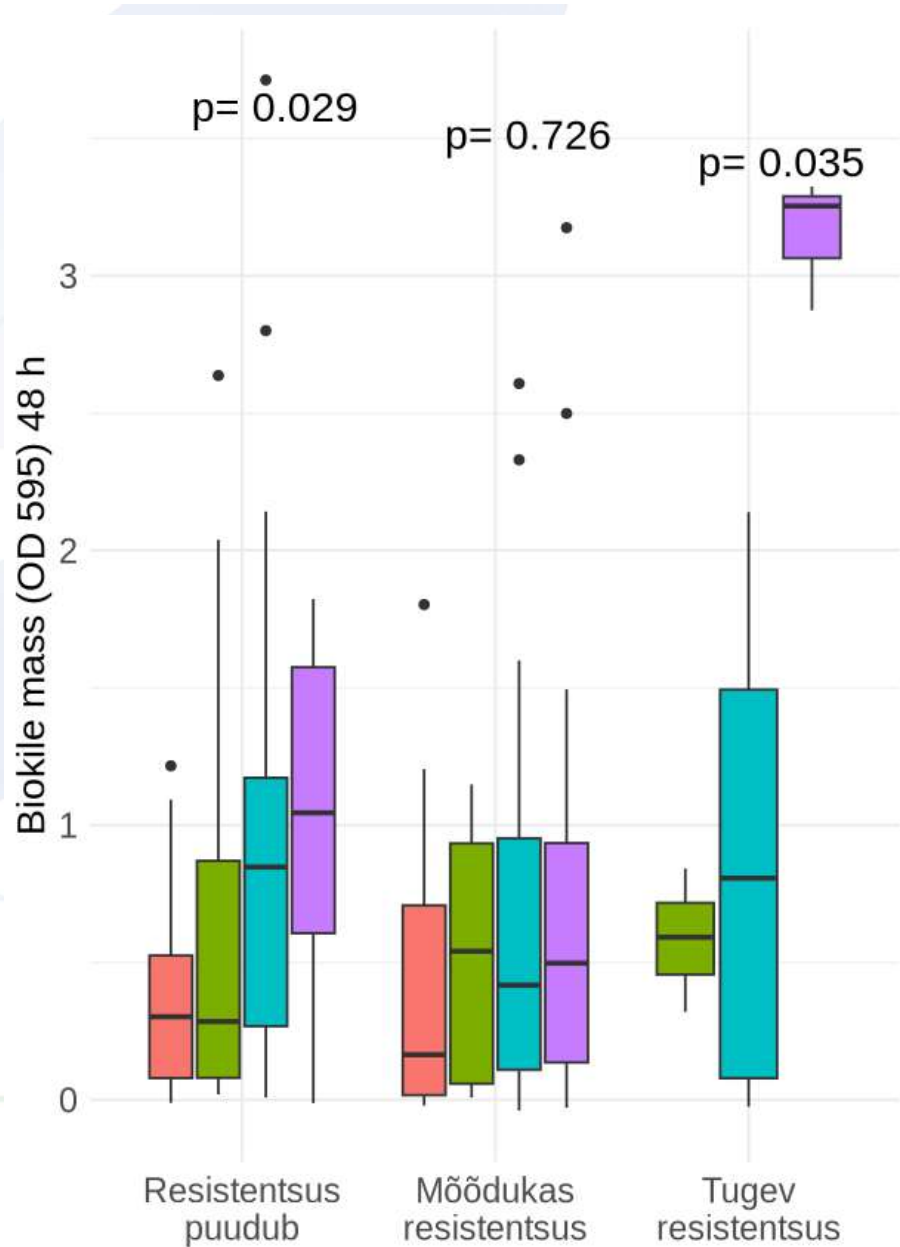


Biokile mass ja antibiootikumiresistentsuse puudmine ($p=0,029$)

Biokile mass ja tugev antibiootikumiresistentsus ($p=0,035$)

Mõõdukas resistentsus:
resistentsus kuni kahe antibiootikumi suhtes

Tugev resistentsus:
resistentsus kolme või enama antibiootikumi suhtes



Maatriks

- Liha
- Pagar
- Piim
- Puu- ja köögivili

Mõõdukas resistentsus:

resistentsus kuni kahe antibiootikumi suhtes

Tugev resistentsus:

resistentsus kolme või enama antibiootikumi suhtes

Kokkuvõtteks

Biokile teke on mikroobidel välja arenenud üks elujäämise strateegiatest

Biokile teket ettevõttes mõjutavad (sh):

Tööstuse profiil + konkreetse ettevõtte eripärad (suurus, pindade omadused, nomenklatuur...)

Toore, selle päritolu

Esimene saabuja

“Tüverulett” ja “kloonide mäng”

Biokile ohjamist mõjutavad paljud faktorid (sh):

Konkreetse ettevõtte eripärad:

- füüsikalised (nt pesusüsteemid), keemilised (pH, kasutatavad biotsiidid),

-mikrobioloogilised. (domineerivad mikroobisugukonnad/liigid..)

Tekkinud biokile

mikrobioloogiline ja keemiline koostis, vanus, kohevus

AMR

...

Mida teha?

Läheneda üldistamiselt üksikule?



Aitäh!

<https://biocc.eu/et/kontaktee/>