



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* στα τρόφιμα**

**Εισηγήτρια: Άντρα Στεφάνα Λιπτσιουκ (ΑΜ 17052)**

**Επιβλέπουσα: Ανθιμία Μπατρίνου**

**ΑΘΗΝΑ 2021**

**Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή**

Αθήνα, 2021

## **ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ**

1. Μπατρίνου Ανθμία, Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.
2. Χούγουλα Δήμητρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.
3. Αντωνόπουλος Διονύσης, μέλος ΕΔΠ, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

## ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του νόμου περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι είμαι η αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας, η οποία δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) που χρησιμοποιήθηκαν για την συγγραφή της περιλαμβάνονται στην βιβλιογραφία. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, σε περίπτωση που αποδειχθεί διαχρονικά ότι η εργασία αυτή αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Λιτσιουκ Άντρα Στεφάνα



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πολλοί άνθρωποι παγκοσμίως επηρεάζονται από διάφορα είδη μικροοργανισμών που υπάρχουν στο περιβάλλον. Αυτοί οι μικροοργανισμοί εμφανίζουν την δυνατότητα πρόκλησης πολλαπλών ασθενειών, μέσα στις οποίες συμπεριλαμβάνονται και οι τροφικές δηλητηριάσεις. Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένας από τους πιο επικίνδυνους παθογόνους μικροοργανισμούς που επηρεάζει τα τρόφιμα, καθώς μέσω της ανάπτυξης του παράγει τοξίνες, οι οποίες όταν καταναλωθούν μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες με ήπια ή σοβαρά συμπτώματα. Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά του *Staphylococcus aureus* είναι η δυνατότητα του να αποκτά με ευκολία ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται εναντίων του. Μέσω της χρήσης της μεθικιλίνης για την καταπολέμηση του, προέκυψε το MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*), το οποίο είναι ένα παθογόνο βακτήριο με μεγάλη επικινδυνότητα. Ακόμη και αν παρατηρήθηκε αρχικά σε νοσοκομειακό περιβάλλον, δεν άργησε να εξαπλωθεί και εκτός αυτού, στην κοινότητα αλλά και σε επιχηρήσεις τροφίμων, επηρεάζοντας έναν μεγάλο αριθμό ανθρώπων και ζώων. Στην ανασκόπηση αυτή, αναφέρονται γενικότερες πληροφορίες σχετικά με τον παθογόνο *Staphylococcus aureus* και τα διάφορα είδη αντιβιοτικών παγκοσμίως. Εκτός αυτού, περιγράφονται πολλαπλές πληροφορίες σχετικά με τον MRSA, όπως για παράδειγμα τα βασικότερα χαρακτηριστικά του, τρόποι απόκτησης αντοχής στα αντιβιοτικά, τρόποι ανίχνευσης και καταπολέμησης, με σκοπό να παρουσιαστεί μία πλήρης εικόνα των πρόσφατων δεδομένων σχετικά με το παθογόνο αυτό.

## **ABSTRACT**

A lot of people worldwide get affected by different type of microorganisms that exist in the environment. These microorganisms are able to provoke multiple diseases, including food poisoning. *Staphylococcus aureus* is one of the dangerous pathogens that affect food products, because through its growth it can produce toxins, which when consumed can cause diseases with mild or severe symptoms. One of the most important characteristics of *Staphylococcus aureus* is its ability to easily acquire resistance to antibiotics used against it. Through the use of methicillin to combat it, MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) emerged, which is a highly dangerous pathogenic bacterium. Even if it was initially observed in a hospital environment, it did not take long to spread outside of it, in the community but also in food businesses, affecting a large number of people and animals. This review provides general information on the pathogen *Staphylococcus aureus* and on the different type of antibiotics used worldwide. In addition, this study analyses the basic characteristics of MRSA, the mechanisms of acquiring antibiotic resistance and the ways of detecting and controlling it, with the aim to present the recent data concerning this pathogen.

<u>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</u> .....	7
<u>Κεφάλαιο 1 : <i>Staphylococcus aureus</i></u> .....	11
1.1 Γενικές πληροφορίες.....	11
1.2 Τοξίνες.....	12
1.2.1 Pore-forming toxins (PFTs) / Τοξίνες που σχηματίζουν πόρους στα κύτταρα 14	
1.2.2 Exfoliative or epidermolytic Toxins (ETs) / Απολεπιστικές ή επιδερμολυτικές τοξίνες 17	
1.2.3 Superantigens (SAGs) / Υπεραντιγόνα .....	17
1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου.....	18
1.4 Επίδραση του παθογόνου <i>Staphylococcus aureus</i> σε ανθρώπους, ζώα και τρόφιμα. ....	22
1.5 Τρόποι καταπολέμησης του <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	26
<u>Κεφάλαιο 2: Αντιβιοτικά</u> .....	29
2.1 Γενικές πληροφορίες.....	29
2.2 Στόχοι χρήσης αντιβιοτικών, θετικά και αρνητικά αποτελέσματα. ....	31
2.2.1 Θετικά αποτελέσματα .....	32
2.2.2 Αρνητικά αποτελέσματα .....	34
2.3 Είδη αντιβιοτικών και μηχανισμοί δράσης.....	39
2.4 Methicillin. ....	42
<u>Κεφάλαιο 3: MRSA</u> .....	44
3.1 Ανθεκτικότητα μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά. ....	44
3.2 Ανθεκτικότητα του παθογόνου <i>Staphylococcus aureus</i> στην Μεθικιλίνη (MRSA/ Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> ). ....	50
<u>Κεφάλαιο 4: Είδη MRSA</u> .....	57
4.1 Hospital-associated Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (HA-MRSA).....	59
4.2 Community-associated Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (CA-MRSA).60	
4.3 Livestock-associated Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (LA-MRSA). ...	62
4.4 MRSA στον κλάδο των τροφίμων. ....	64
<u>Κεφάλαιο 5: Τρόποι ανίχνευσης και καταπολέμηση του MRSA</u> .....	68
5.1 Ανίχνευση του MRSA.....	68
5.2 Καταπολέμηση του MRSA.....	71
<u>Κεφάλαιο 6: Παρουσία του MRSA στον τομέα των τροφίμων</u> .....	75
<u>Κεφάλαιο 7: Νομοθεσία</u> .....	78
<u>Κεφάλαιο 8: Συμπεράσματα</u> .....	81

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κατά την διαδικασία παραγωγής προϊόντων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, υπάρχουν πολλές ανησυχίες. Τα τρόφιμα και τα συστατικά τους είναι ευαίσθητα συστήματα και επηρεάζονται εύκολα από διάφορους παράγοντες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους, που κάνει τα προϊόντα αυτά πλέον μη αποδεκτά από τους καταναλωτές ή θεωρούνται ακόμη και ακατάλληλα για κατανάλωση.

Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες, που προκαλούν την μεγαλύτερη ανησυχία λόγω της πολυπλοκότητας τους, είναι οι μικροοργανισμοί. Είναι ζωντανοί οργανισμοί που δεν μπορούμε να διακρίνουμε με το ανθρώπινο μάτι. Όλοι οι μικροοργανισμοί βρίσκονται παντού στο περιβάλλον, όπως για παράδειγμα στο νερό ή στον αέρα, αλλά και στο ανθρώπινο σώμα και στα ζώα, όπως στο δέρμα ή στο στομάχι. Κάποιοι μικροοργανισμοί προστίθενται στα τρόφιμα κατά την παραγωγή τους, διότι βοηθούν στην δημιουργία συγκεκριμένων χαρακτηριστικών, όπως κατά την ζύμωση, και ονομάζονται ωφέλιμοι μικροοργανισμοί. Αντιθέτως, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί είναι αυτοί που δημιουργούν ανησυχία διότι με την ανάπτυξή τους έχουν την δυνατότητα να προκαλέσουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών.

Υπάρχουν πολλά είδη μικροοργανισμών, επομένως οι απαιτήσεις που έχουν για να αναπτυχθούν μπορεί να διαφέρουν από είδος σε είδος και συνήθως όταν βρεθούν στις κατάλληλες συνθήκες η ταχύτητα ανάπτυξης τους αυξάνεται. Τα τρόφιμα είναι πολύ ευαίσθητα στους μικροοργανισμούς διότι πολλά από τα συστατικά που περιέχουν μπορούν να χρησιμοποιηθούν από αυτούς για να αναπτυχθούν. Όταν ένας μικροοργανισμός επιμολύνει κάποιο τρόφιμο, ανάλογα με τον βαθμό ανάπτυξής του και τις συνθήκες που επικρατούν, τα αποτελέσματα είναι διακριτά ή μη διακριτά. Υπάρχουν κάποιοι μικροοργανισμοί που ακόμα και αν επιμολύνουν κάποιο προϊόν δεν επηρεάζουν τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά με αποτέλεσμα να μην γνωρίζουμε ότι το προϊόν έχει επιμολυνθεί. Αντίθετα, κάποιοι άλλοι μικροοργανισμοί

μπορούν να προκαλέσουν φανερές επιπτώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, επηρεάζοντας την γέυση, την υφή, το άρωμα κλπ. καθιστώντας το προϊόν ακατάλληλο για κατανάλωση.

Η μεγάλη ανησυχία των καταναλωτών προκύπτει διότι η κατανάλωση τροφίμου με έστω και μικρό αριθμό πληθυσμού κάποιων μικροοργανισμών, μπορεί να προκαλέσει σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία τους. Τα συμπτώματα που προκαλούνται, ανάλογα με το είδος του μικροοργανισμού που προκαλεί την επιμόλυνση, κυμαίνονται από ήπια έως πολύ σοβαρά για την υγεία, ακόμη και θάνατο. Το ανοσοποιητικό σύστημα κάθε ανθρώπου είναι διαφορετικό, επομένως ο βαθμός επίδρασης των μικροοργανισμών μπορεί επίσης να διαφέρει. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κάποιοι άνθρωποι να μην επηρεάζονται τόσο εύκολα ή να εμφανίζουν ήπια συμπτώματα, ενώ αντίθετα κάποιοι άλλοι άνθρωποι, όπως για παράδειγμα αυτοί που ανήκουν σε ευπαθείς ομάδες (έγγυες, ανοσοκατεσταλμένα άτομα κλπ.) να είναι πιο ευαίσθητοι και να απαιτείται μεγαλύτερη προσοχή όταν παράγονται και ετοιμάζονται προϊόντα για αυτούς.

Οι καταναλωτές παγκοσμίως έχουν όλο και περισσότερες απαιτήσεις για την διατήρηση της ασφάλειας των τροφίμων, επομένως όλες οι βιομηχανίες ακολουθούν διάφορους κανονισμούς και αρχές υγιεινής σε κάθε στάδιο της διαχείρισης τους. Οι συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον τους, καθώς και τα συστατικά που περιέχουν πρέπει να είναι πάντα σταθερά στις κατάλληλες συνθήκες, έτσι ώστε να διατηρήσουν την ποιότητα και την ασφάλεια τους. Κάποια τρόφιμα είναι πιο ευαίσθητα και επηρεάζονται αρνητικά πιο εύκολα, με αποτέλεσμα να απαιτούνται διαφορετικοί κανονισμοί ανάλογα με το είδος του τροφίμου. Οι άνθρωποι που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα, τα συστατικά τους και τις επιφάνειες εργασίας σε όλα τα στάδια της παραγωγής προϊόντων, θα πρέπει να τηρούν τις απαραίτητες συνθήκες υγιεινής, οι οποίες θα πρέπει να ελέγχονται συστηματικά από ειδικούς, έτσι ώστε να λειτουργούν με τον σωστό τρόπο.

Μέσα στο μεγάλο εύρος μικροοργανισμών που προκαλούν ανησυχίες, είναι και ο *Staphylococcus aureus*. Είναι ένα παθογόνο βακτήριο για το οποίο έχουν διεξαχθεί



πολλές έρευνες και έχει μελετηθεί από πολλούς επιστήμονες, επειδή προκαλεί μεγάλο εύρος ασθενείων και έχει αυξημένη επικυνηδηνότητα. Μπορεί να βρεθεί στο περιβάλλον, καθώς επίσης και στην ανθρώπινη χλωρίδα, όπως και άλλοι μικροοργανισμοί. Καταναλώνει τα θρεπτικά συστατικά του τροφίμου που χρειάζεται, αναπτύσσεται και μπορεί εύκολα να προκαλέσει διάφορες ασθένειες στην υγεία των καταναλωτών. Οι τοξίνες που παράγει ο *Staphylococcus aureus* οφείλονται για τις ασθένειες που προκαλούνται στον ανθρώπινο οργανισμό εξαιτίας του, επομένως το βακτήριο αυτό οφείλεται για τροφτοτοξινώσεις

Ένας βασικός τρόπος για την καταπολέμηση του μικροοργανισμού αυτού, καθώς και άλλων, είναι με την χρήση αντιβιοτικών. Τα αντιβιοτικά είναι ενώσεις με αντιμικροβιακές κλπ. ιδιότητες που δρουν ενάντια στους μικροοργανισμούς και ανάλογα με το είδος τους, παρουσιάζουν και διαφορετικούς τρόπους δράσης. Η χρήση τους ξεκίνησε πριν από δεκαετίες και έχουν αποδείξει την σημαντικότητα τους στο νοσοκομειακό περιβάλλον, στην κτηνοτροφία, στην παραγωγική διαδικασία τροφίμων, αλλά και γενικότερα στο περιβάλλον. Το πιο γνωστό αντιβιοτικό που χρησιμοποιήθηκε για την καταπολέμηση του *Staphylococcus aureus* είναι η μεθικιλίνη. Είναι ένα αντιβιοτικό της κατηγορίας β-λακτάμης και αποτελεί το πρώτο ημισυνθετικό αντιβιοτικό που παράχθηκε από την τροποποίηση της πενικιλίνης. Παρουσιάζει δράση ενάντια θετικών κατά gram βακτηριών, όπως και ο *Staphylococcus aureus*.

Ακόμη και αν η χρήση των αντιβιοτικών είχε πολλά πλεονεκτήματα, ο αριθμός των μειονεκτημάτων είναι εξίσου σημαντικός. Ένα από τα σημαντικότερα μειωνεκτήματα που προκάλεσε η άσκοπη παρατεταμένη χρήση της μεθικιλίνης είναι και η απόκτηση ανθεκτικότητας του *Staphylococcus aureus* σε αυτό. Τα ανθεκτικά στελέχη του μικροοργανισμού έλαβαν την ονομασία MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*). Η καταπολέμηση του βακτηρίου έγινε μια ακόμη πιο δύσκολη διαδικασία και έτσι απαιτήθηκε η παραγωγή άλλων αντιβιοτικών για την καταπολέμηση, εκτός από του γενικού παθογόνου *Staphylococcus aureus*, και του πλέον ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA). Το MRSA αποτελεί και αυτός έναν παθογόνο μικροοργανισμό. Εάν δεν διατηρηθεί υπό έλεγχο, έχει την δυνατότητα να

εξαπλωθεί από ένα περιβάλλον σε κάποιο άλλο και να προκαλέσει πολλές ασθένειες, σοβαρές και μη, σε ανθρώπους και ζώα.

Στην εργασία αυτή, αναλύονται διάφορα θέματα σε σχέση με τον MRSA. Αρχικά περιγράφονται πληροφορίες για τον *Staphylococcus aureus* και την επικινδυνότητα του και στην συνέχεια δίνονται πληροφορίες για τα αντιβιοτικά γενικότερα, αλλά και συγκεκριμένες κατηγορίες τους, αναλύοντας επίσης κάποια από τα βασικότερα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της χρήσης τους. Εκτός αυτού εξηγείται τι ακριβώς σημαίνει MRSA, τις ασθένειες που μπορεί να προκαλέσει αυτός ο παθογόνος μικροοργανισμός, και προτείνονται κάποιοι τρόποι ανίχνευσης και καταπολέμησης του.

## Κεφάλαιο 1 : *Staphylococcus aureus*

### 1.1 Γενικές πληροφορίες.

Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένα βακτήριο του γένους *Staphylococci*, που ανήκει στην οικογένεια *Staphylococcaceae*. Σε αυτό το γένος ανήκουν διάφορα είδη μικροοργανισμών, όπως για παράδειγμα και ο *Staphylococcus intermedius*. Τα είδη της κατηγορίας αυτής μπορούν να διακρίνονται με βάση την δυνατότητα τους να παράγουν πηκτάση. Οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι (noncoagulase-producing strains/ coagulase-negative staphylococci/ CNS) συνήθως χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή ζυμώμενων προϊόντων, όπως προϊόντα γάλακτος. Αντίθετα οι θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι (coagulase-positive staphylococci/ CPS), κατά την ανάπτυξη τους παράγουν προϊόντα, δηλαδή τοξίνες, που προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών. Έχει αποδειχτεί ότι στις περισσότερες περιπτώσεις, οι σταφυλόκοκκοι που είναι αρνητικοί στην πηκτάση δεν παράγουν τοξίνες, αν και υπάρχουν εξαιρέσεις. Ενώ οι θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι, παράγουν πάντοτε τοξίνες και οφείλονται για πολλές τροφικές τοξινώσεις. (Hennekinne et al., 2012)

Ο *Staphylococcus aureus* εντάσσεται στην δεύτερη κατηγορία μικροοργανισμών, δηλαδή των CPS. Είναι, επομένως, ένα παθογόνο βακτήριο και έχει αποδεχτεί ότι είναι η αιτία για πολλές από τις τροφικές δηλητηριάσεις που σημειώνονται κάθε χρόνο. Αποτελεί ένα θετικό κατά gram (Gram+) βακτήριο και θεωρείται ένας από τους πιο κοινούς μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο περιβάλλον. Παρουσιάζεται στην μικροβιακή χλωρίδα του ανθρώπινου σώματος, καθώς και των ζώων. Έχει την δυνατότητα να ζήσει για μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον της επιφάνειας στην οποία βρίσκεται, αποκτώντας αντοχή στις συνθήκες που επικρατούν γύρω του.

Είναι ένας προαιρετικά αναερόβιος μικροοργανισμός, μη σπορογόνος και ακίνητος, ενώ το σχήμα του είναι συνήθως κοκκοϊδες/ σφαιρικό. Ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης του μπορεί να δημιουργήσει καλλιέργειες, το μέγεθος των οποίων

κυμαίνεται από 0.5 έως και 1.5μm. Οι καλλιέργειες αυτές, όταν αναλυθούν στο μικροσκόπιο, εμφανίζονται συνήθως σε ζεύγη, ύπο την μορφή κοντών αλυσίδων ή σαν συσσωματώματα με μορφή σταφυλιού (συστάδες). (Hennekinne et al., 2012)

Το βακτήριο αυτό εμφανίζει ευαισθησία όταν βρίσκεται σε υψηλές θερμοκρασίες, ανάλογα βέβαια με τις υπόλοιπες συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον του, όπως για παράδειγμα η υγρασία. Κατά την διάρκεια επεξεργασίας των τροφίμων, εάν όλοι οι κανόνες υγιεινής ακολουθούνται πλήρως, τα στάδια που πραγματοποιούνται εξασφαλίζουν την μικροβιακή σταθερότητα του τελικού προϊόντος. Η παρουσία του μικροοργανισμού αυτού στα τρόφιμα, ως συνέπεια της λανθασμένης διαχείρισης των τροφίμων, προκαλεί στην συνέχεια την ανάπτυξη του και παραγωγή των αντίστοιχων προϊόντων τους, δηλαδή των τοξινών.

Έχει αποδειχτεί ότι ο *Staphylococcus aureus* οφείλεται για πολλές τροφικές δηλητηριάσεις που συμβαίνουν στους ανθρώπους παγκοσμίως. (Mahros et al., 2021) Ανήκει στο είδος των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε ένα τρόφιμο και ταυτόχρονα παράγουν προϊόντα, δηλαδή τοξίνες, που προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων όταν καταναλωθούν. Αυτού του είδους δηλητηριάσεις ονομάζονται τροφικές τοξινώσεις και δεν είναι ανάγκη, μετά την παραγωγή των τοξινών, ο μικροοργανισμός να είναι ακόμη ζωντανός.

Ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες στο περιβάλλον του μικροοργανισμού αυτού, παράγονται διάφορες τοξίνες. Αυτές οι τοξίνες με την σειρά τους, διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες. Ανάλογα με το είδος και την ποσότητα των τοξινών που καταναλώνονται μέσω του μολυσμένου τροφίμου, υπάρχουν και διαφορετικές συνέπειες στην υγεία του ανθρώπου.

## 1.2 Τοξίνες.

Οι τοξίνες, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, είναι τα προϊόντα της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών. Αυτά τα προϊόντα χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες και προκαλούν προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου, τα οποία μπορεί να έχουν

ήπια έως και πολύ σοβαρά συμπτώματα. Ακόμη και αν έχουν αρχίσει να πραγματοποιούνται μελέτες για τις τοξίνες εδώ και πολλά χρόνια, δεν είναι πλήρως γνωστή η δράση κάποιων από αυτών, και ένας σχετικά μικρός αριθμός των τοξινών έχει πλήρως χαρακτηριστεί και έχουν αναπτυχθεί μεθόδους για την εύκολη εύρεση τους. Ο παθογόνος μικροοργανισμός *Staphylococcus aureus*, παράγει πολλαπλές τοξίνες, που παρουσιάζουν παρόμοια μοριακά βάρη, καθώς επίσης και βιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά.

Εμφανίζουν αυξημένη σημαντικότητα, σε σύγκριση με τις τοξίνες που παράγονται από άλλους μικροοργανισμούς. Αυτό συμβαίνει διότι έχουν αυξημένη σταθερότητα σε υψηλές θερμοκρασίες, επομένως δεν μπορούν να καταστρεφούν πλήρως μέσω της θερμικής επεξεργασίας του τροφίμου. Επιπλέον, αποκτούν με ευκολία αντοχή στις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον, καθώς επίσης και στα πρώετολυτικά ένζυμα του ανθρώπινου οργανισμού. (Denayer et al., 2017) (Mahros et al., 2021)

Η αντοχή των τοξινών σε υψηλές θερμοκρασίες, προκαλεί ανησυχίες σε όλους τους παραγωγούς και καταναλωτές τροφίμων. Αφού υπάρχουν πολλαπλά είδη τοξινών, ο βαθμός της ανθεκτικότητας τους ποικίλει και εξαρτάται και από άλλους παράγοντες, όπως για παράδειγμα το pH του τροφίμου, η περιεκτικότητα του σε NaCl, και άλλα. Όταν όμως βρίσκονται σε αυξημένες ποσότητες, έχει αποδειχτεί ότι έχουν την ικανότητα να αντέξουν στις συνθήκες παστερίωσης των τροφίμων, δηλαδή στους 100 °C για 30 λεπτά. (Denayer et al., 2017)

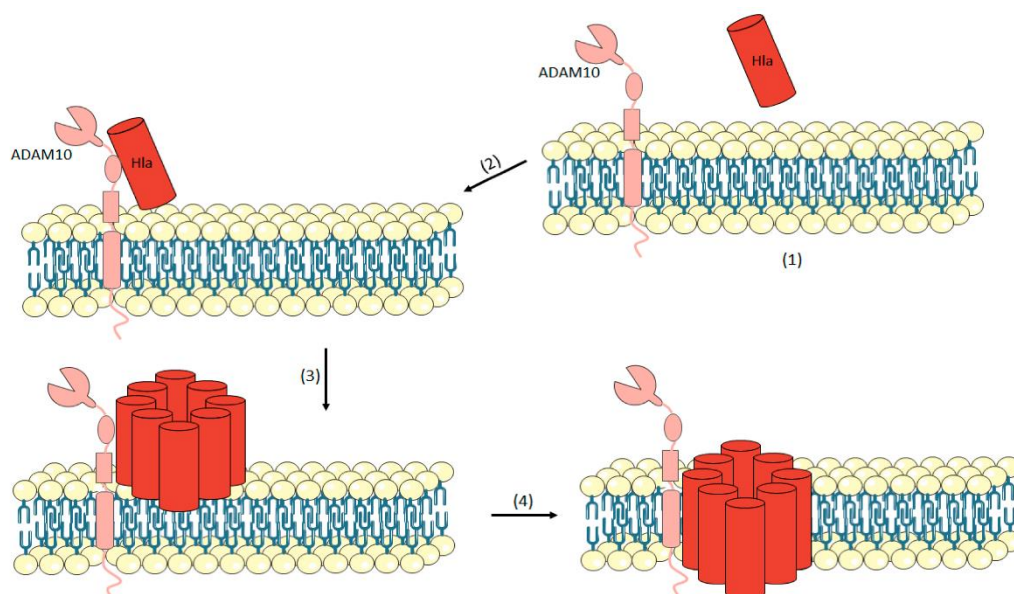
Μετά την κατανάλωση ενός τροφίμου που περιέχει μια ποσότητα τοξινών, οι τοξικές αυτές ουσίες διαπερνούν μέσα από την γαστρεντερική όδο του ανθρώπινου οργανισμού και λόγω της αντοχής τους στα πρωτεολυτικά ένζυμα, έχουν την δυνατότητα να διατηρησουν την δραστηριότητά τους. Ανάλογα με το είδος και την ποσότητα της τοξίνης που έχει καταναλωθεί, επιδρά στον οργανισμό με διαφορετικό τρόπο, όπως για παράδειγμα με την λύση των αιματικών κυττάρων του ανθρώπινου σώματος.

Οι τοξίνες που μπορεί να παράξει ο *Staphylococcus aureus*, διακρίνονται σε τρεις (3) κατηγορίες: 1. τοξίνες που σχηματίζουν πόρους στα κύτταρα (pore-forming toxins), 2. απολεπιστικές τοξίνες (exfoliative toxins), και 3. υπεραντιγόνα (superantigens/ SAg). Αντίστοιχα, οι τοξίνες που σχηματίζουν πόρους μπορούν να διακρίνονται σε τέσσερις (4) κατηγορίες: Αιμολυσίνη-α (Hemolysin-α/ Hla/ α-toxin), Αιμολυσίνη-β (Hemolysin-β), λευκοτοξίνη (leukotoxins) και φαινολο-διαλυτές μοντουλίνες(?) (phenol-soluble modulins/ PSMs). (D. Oliveira et al., 2018)

### 1.2.1 Pore-forming toxins (PFTs) / Τοξίνες που σχηματίζουν πόρους στα κύτταρα

- Αιμολυσίνη-α (Hemolysin-α / Hla or α-Toxin) και Αιμολυσίνη-β (Hemolysin-β / Sphingomyelinase C)

Η αιμολυσίνη-α είναι ένα πολυπεπτίδιο που παράγεται από 95% των κλινικών στελεχών του *Staphylococcus aureus*. Θεωρείται επικίνδυνη τοξίνη λόγω της ικανότητας της να πραγματοποιεί σύνδεση και ολιγομερισμό της δημιουργώντας επταμερικούς πόρους, όταν βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή. Έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να επηρεάσει διάφορα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού, όπως για παράδειγμα επιθήλιακα κύτταρα, Τ-κύτταρα κλπ. (D. Oliveira et al., 2018) Σύμφωνα με διάφορες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, η αιμολυσίνη-α οφείλεται για πολλές από τις λοιμώξεις του ανθρώπινου δέρματος, καθώς και πνευμονίας. (Grumann et al., 2014)



ΕΙΚΟΝΑ 1. Μηχανισμός δράσης της τοξίνης α-αιμολυσίνης.

Στην παραπάνω εικόνα από τους D. Oliveira et al., 2018 περιγράφεται ο μηχανισμός της δράσης της αιμολυσίνης-α (Hla). Στο στάδιο 1 παρατηρούμε ότι η τοξίνη εκκρίνεται ως υδατοδιαλυτό μονομερές. Στο στάδιο 2 η αιμολυσίνη-α συνδέεται με την πρωτεΐνη ADAM10, μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που είναι ένας κυτταρικός υποδοχέας της τοξίνης. Στο 3<sup>ο</sup> στάδιο ολιγομερίζεται η Hla σε επταμερές στην πλασματική μεμβράνη, σχηματίζοντας προ-πόρους και τέλος στο τελευταίο 4<sup>ο</sup> στάδιο ολοκληρώνεται η δημιουργία του διαμεμβρανικού καναλιού.

Η αιμολυσίνη-β είναι μία κυτταροτοξίνη που παρατηρείται συνήθως σε μεγάλη ποσότητα στα ζώα, και συγκεκριμένα σε βοοειδή, που εμφανίζουν μαστίτιδα. Επίσης παρατηρείται και στο ανθρώπινο δέρμα που πάσχει από διάφορες χρονικές ασθένειες. (D. Oliveira et al., 2018)

- ο Λευκοτοξίνες (Leukotoxins)

Η κατηγορία αυτή των τοξινών δημιουργείται με δύο πρωτεϊνικά συστατικά, και συγκεκριμένα την S (slow-eluted) και την F (fast-eluted). Όταν αυτά τα συστατικά συνδέονται μεταξύ τους, σχηματίζουν τους β-barrel πόρους. Από στελέχη του *Staphylococcus aureus*, που έχουν απομονωθεί κυρίως από ανθρώπινες λοιμώξεις, έχουν βρεθεί 4 κατηγορίες λευκοτοξινών. Συγκεκριμένα έχουμε τις εξής: PVL (Panton-Valentine Leukocidin), γ-αιμολυσίνη (gamma (γ)-Hemolysin / HlgA, HlgC, HlgB), Λευκοτοξίνη ED (Leukotoxin ED/ LukE, LukD) και Λευκοτοξίνη AB/GH (Leukotoxin AB/GH / LukAB/LukGH). (D. Oliveira et al., 2018)

Στην ομάδα της γ-αιμολυσίνης ανήκουν οι τρεις πρωτεΐνες HlgAB, HlgCB, HlgACB, οι οποίες έχουν διαφορετικούς συνδυασμούς υπομονάδων. Οι πρωτεΐνες HlgAB και HlgCB αποτελούνται από την ίδια υπομονάδα F, και συγκεκριμένα από την HlgB. Αντίθετα, οι δύο αποτελούνται από διαφορετικές υπομονάδες S, δηλαδή HlgA και HlgC. Η HlgAB, είναι ικανή να προκαλέσει λύση των ανθρώπινων αιματικών κυττάρων και να εμφανίσει κυτταρολυτική δραστηριότητα στα λευκοκύτταρα ανθρώπων και λαγών. Επίσης η HlgCB επηρεάζει μόνο τα αιματικά κύτταρα. Μέχρι στιγμής, δεν είναι απολύτως γνωστή η δράση της HlgACB, αλλά έρευνες υποστηρίζουν ότι συσχετίζεται

με στελέχη του *Staphylococcus aureus* που εμφανίζονται στους ανθρώπους και στα βοοειδή. (D. Oliveira et al., 2018)

Η λευκοτοξίνη ED (LukED) επίσης εμφανίζει παρόμοια δράση με την γ-αιμολυσίνη, δηλαδή κυτταρολυτική δραστηριότητα ενάντια σε αιματικά κύτταρα και λευκοκύτταρα λαγών, ενώ είναι η μόνη τοξίνη που μπορεί να προκαλέσει θάνατο στα φαγοκύτταρα ποντικών. Έχει απομονωθεί σε πολλά στελέχη MRSA στον κόσμο. (D. Oliveira et al., 2018)

Η λευκοτοξίνη AB/GH, είναι γνωστό ότι ενισχύει την επιβίωση του *Staphylococcus aureus*. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, η τοξίνη αυτή παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία του παθογόνου βακτηρίου από φαγοκύτταρα και ουδετερόφιλα (neutrophils). Σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί in vitro, αποδείχτηκε ότι η τοξίνη αυτή επηρεάζει μονοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα και λευκοκύτταρα και μπορεί να συνδυάσει την λειτουργία της με την PVL τοξίνη. (D. Oliveira et al., 2018)

Η PVL είναι μία κυτταροτοξίνη που επηρεάζει τα λευκοκύτταρα και προκαλεί νέκρωση ιστών, καθώς και άλλες ασθένειες όπως για παράδειγμα τα δερματικά αποστήματα. Παρουσιάζεται σε ένα ποσοστό περίπου 5% στα κλινικά στελέχη του *Staphylococcus aureus* και σε ένα ποσοστό 85% στα κοινοτικά στελέχη του MRSA, και συγκεκριμένα στα στελέχη που προκαλούν συνήθως πνευμονία και λοιμώξεις του δέρματος και του μαλακού ιστού. (D. Oliveira et al., 2018)

- ο Φαινολο-διαλυτες μοντουλίνες (Phenol-Soluble Modulins)

Οι τοξίνες αυτές αποτελούνται από τρία (3) πεπτίδια: PSMα, PSMβ και PSMγ και είναι προ-φλεγμονώδης σύμπλοκα που παραλαμβάνονται από την θερμή φαινολική εκχύλιση της καλλιέργειας. Οι PSM τοξίνες επικολλούνται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, με αποτέλεσμα την αποσύνθεση της. Οι αιτίες που καθιστούν αυτές τις τοξίνες ως επικύνδηνες, είναι ότι παρουσιάζουν την ικανότητα να εξαπλώνονται στην επιφάνεια ή και να διαμορφώνουν biofilms, και επίσης εμφανίζουν την τάση να συσσωρεύονται σε ολιγομερή και να σχηματίζουν πόρους που ζούν για σύντομο χρονικό διάστημα. Θεωρείται ότι οι PSM τοξίνες συσχετίζονται με την ικανότητα των



σταφυλόκοκκων να προκαλέσουν λοιμώξεις, διότι έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν λύση των ανθρώπινων ουδετερόφιλα (neutrophils) και διέγερση των φλεγμονωδών αντιδράσεων. (D. Oliveira et al., 2018)

### 1.2.2 Exfoliative or epidermolytic Toxins (ETs) / Απολεπιστικές ή επιδερμολυτικές τοξίνες

Η κατηγορία αυτή των τοξινών, αφορά πρωτεάσες σερίνης που εκκρίνονται από τον *Staphylococcus aureus*. Αποτελούν εξωτοξίνες, οι οποίες προκαλούν διάσπαση των συνδέσεων κερατινοκυττάρων και πρόσφυση κυττάρων στην επιδερμίδα. Αυτή η δράση τους, έχει ως αποτέλεσμα την απολέπιση δέρματος και σχηματισμό κυψελών.

Οι τοξίνες αυτές διακρίνονται σε τοξίνες A, B, C και D. Από αυτές, οι A και B σχετίζονται με ασθένειες που προκαλούνται στο ανθρώπινο δέρμα, ενώ η C δεν έχει εμφανίσει καμία σχέση με ανθρώπινες ασθένειες. Οι ασθένειες που μπορούν να προκληθούν από τις τοξίνες αυτές αφορούν συνήθως την επιδερμίδα, όπως για παράδειγμα το σύνδρομο Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS). Αυτό το σύνδρομο προκαλεί απολέπιση του δέρματος και τα συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν πυρετό, υπερευαισθησία του δέρματος κλπ. Όταν το σύνδρομο αυτός επεκτείνεται σε περισσότερα μέρη του σώματος, χαρακτηρίζεται ως bullous impetigo. Επηρεάζει συνήθως τα βρέφη και τα παιδιά, και το ποσοστό θνησιμότητας τους είναι περίπου 5%, όταν όλες οι υπόλοιπες συνθήκες υγιεινής είναι σωστές. Ενώ αντίθετα όταν ηλικιωμένοι επηρεάζονται από τον σύνδρομο αυτό, και ιδιαίτερα αυτοί που ανήκουν στην ομάδα των ανοσοκατεσταλμένων, η πιθανότητα θανάτου αυξάνεται στο 59%. (D. Oliveira et al., 2018)

### 1.2.3 Superantigens (SAGs) / Υπεραντιγόνα

Αρχικά, τα υπεραντιγόνα θεωρούνταν σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες, αλλά αργότερα διαπιστώθηκε ότι δεν εμφάνιζαν τις ίδιες εμετικές ιδιότητες με τον *Staphylococcus aureus*. Η κατηγορία αυτή των τοξινών χωρίζεται σε τρεις (3) ομάδες: τοξίνες συνδρόμου τοξικού σοκ (TSST-1), σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες (SEA-SEE,

SEG-SEJ, SEL-SEQ, SER-SET) και 11 σταφυλοκοκκικές τοξίνες που είναι παρόμοιες με τα υπεραντιγόνα (SEIK-SEIQ, SEIU-SEIX). Σύμφωνα με έρευνες, οι SAGs τοξίνες ενεργοποιούν ένα μεγάλο ποσοστό T λεμφοκυττάρων ταυτόχρονα, με αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλης ποσότητας προφλεγμονώδων κυτοκίνων. Αυτό οδηγεί στην πρόκληση συμπτωμάτων που ποικιλούν από εμετό μέχρι και ανεπάρκεια πολλαπλών οργάνων. (D. Oliveira et al., 2018)

(ΠΙΝΑΚΑΣ 1.)

## Τοξίνες του *Staphylococcus aureus*

### 1. Τοξίνες που σχηματίζουν πόρους στα κύτταρα:

- Αιμολυσίνη-α: πολυπεπτίδιο, ικανότητα σύνδεσης και ολιγομερισμού της δημιουργώντας επταμερικούς πόρους στην κυτταρική μεμβράνη ξενιστή
- Αιμολυσίνη-β: κυτταροτοξίνη σε ζώα και ανθρώπους
- Λευκοτοξίνες: → Γ-αιμολυσίνη και Λευκοτοξίνη LED: κυτταρολυτική δραστηριότητα ενάντια αιματικών κυττάρων και λευκοκυττάρων, → Λευκοτοξίνη AB/GH: προστασία του *S. aureus*, επηρεάζει αρνητικά διάφορα κύτταρα του σώματος, → PVL: επηρεάζει λευκοκύτταρα και προκαλεί νέκρωση ιστών.
- Φαινολο-διαλυτές μοντουλίνες: προκαλούν αποσύνθεση κυτταροπλασματικής μεμβράνης

2. Απολεπιστικές ή επιδερμολυτικές τοξίνες: Προκαλούν διάσπαση συνδέσεων κερατινοκυττάρων και πρόσφυση κυττάρων στην επιδερμίδα, ως αποτέλεσμα την απολέπιση δέρματος και σχηματισμό κυψέλων

3. Υπεραντιγόνα: ενεργοποιούν T-λεμφοκύτταρα, με αποτέλεσμα την παραγωγή ποσότητας προφλεγμονώδων κυτοκίνων.

### 1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου.

Η ανάπτυξη όλων των μικροοργανισμών, παθογόνων και μη, επηρεάζεται από πολλαπλούς παράγοντες. Αυτοί οι παράγοντες χωρίζονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες, δηλαδή σε εξωγενείς και ενδογενείς. Όπως και άλλοι μικροοργανισμοί, έτσι και ο *Staphylococcus aureus* εμφανίζει μια αυξημένη ανάπτυξη όταν βρίσκεται σε άριστες συνθήκες, όπως για παράδειγμα σε υψηλή ενεργότητας ύδατος ή σε

υψηλή θερμοκρασία. Παρουσιάζει όμως, την δυνατότητα να αναπτύσσεται ακόμη και όταν οι συνθήκες γύρω του δεν είναι πλήρως ευνοϊκές. Αυτό συμβαίνει διότι αποκτά με ευκολία αντοχή στις περιβαλλοντικές του συνθήκες, αν και η ταχύτητα αναπτυξής του στην περίπτωση αυτή είναι μειωμένη. Το χαρακτηριστικό αυτό, καθιστά το βακτήριο αυτό πολύ επικίνδυνο και δύσκολο στην διαχείριση του.

- Ενεργότητα ύδατος ( $a_w$ , water activity) και περιεκτικότητα σε NaCl

Ο *Staphylococcus aureus*, αναπτύσσεται σε ένα σχετικά μεγάλο εύρος τιμών ενεργότητας ύδατος ( $a_w$ ). Είναι ένας από τους μόνους παθογόνους μικροοργανισμούς, που αντέχει σε ξηρότερες συνθήκες. Συνήθως, η ελάχιστη τιμή  $a_w$  για την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών είναι 0,94. Παρ'όλα αυτά, ο *Staphylococcus aureus* παρουσιάζει ελαχιστή τιμή  $a_w$  0.83-0.86, εάν όλες οι υπόλοιπες συνθήκες είναι ευνοϊκές, (Hennekinne et al., 2012) και βέλτιστη τιμή >0.99.

Για την παραγωγή των τοξινών, εμφανίζονται διαφορές στις τιμές της ενεργότητας ύδατος ( $a_w$ ). Κάποιες τοξίνες είναι πιο ευαίσθητες και απαιτούν υψηλές τιμές  $a_w$  για να παραχθούν, όπως για παράδειγμα η SEB που δεν μπορεί να παραχθεί όταν η  $a_w$  είναι κάτω <0,93. Αντίθετα άλλες τοξίνες παράγονται ακόμη και σε μικρότερες τιμές  $a_w$ , όπως για παράδειγμα οι SEA και SED. Υπάρχουν όμως σχετικές διαφορές, ανάλογα και με τις υπόλοιπες συνθήκες που επικρατούν.

Έχει παρατηρηθεί ότι όταν το βακτήριο αυτό αναπτύσσεται σε χαμηλότερη τιμή ενεργότητας ύδατος από το απαιτούμενο, υφίσταται οσμωτικό στρες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών στο εξωτερικό του κυττάρου είναι αυξημένη και το νερό μετακινείται έξω από το κύτταρο, μέσω της πλασματικής μεμβράνης. Είναι λοιπόν απαραίτητη, η συσσώρευση διαλυτών ουσιών στο εσωτερικό του κυττάρου, για να μπορέσει να πραγματοποιηθεί η εξισορρόπηση της οσμωτικής πίεσης. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται συμβατές διαλυτές ουσίες και εμπλέκονται στις λειτουργίες του κυτταροπλάσματος. Η ύπαρξη των συμβατών διαλυτών ουσιών στα τρόφιμα, επιτρέπει σε όλους τους μικροοργανισμούς, όπως και στον *Staphylococcus*

*aureus*, να αντέξουν στην μειωμένη τιμή aw και να πραγματοποιήσουν την πλήρη ανάπτυξη τους. Συγκεκριμένα για τον *Staphylococcus aureus*, οι συμβατές διαλυτές ουσίες που μπορεί να χρησιμοποιήσει είναι οι glycine betaine, L-προλίνη, χολίνη και άλλα. Έχει αποδειχτεί ότι αυτές οι ουσίες βοηθούν και την ανάπτυξη του μικροοργανισμού, αλλά και την σύνθεση των τοξινών. (Hennekinne et al., 2012)

Επιπρόσθετα, παρουσιάζει δυνατότητα ανάπτυξης του μικροοργανισμού σε τρόφιμα ακόμη και όταν αυτά περιέχουν υψηλή συγκέντρωση NaCl (3,5M). Αναπτύσσεται όταν υπάρχει ποσοστό 10% NaCl, αλλά η αναπτυξή του μειώνεται όταν το ποσοστό αυτό αυξηθεί στο >15% NaCl.

- pH (οξύτητα)

Ο μικροοργανισμός αυτός μπορεί να αναπτυχθεί σε τιμές pH που κυμαίνονται μεταξύ 4 και 10, και εμφανίζει άριστη τιμή pH μεταξύ 6 και 7. Όταν όμως οι υπόλοιποι παράγοντες δεν είναι ευνοϊκοί, όπως για παράδειγμα η θερμοκρασία, η περιεκτικότητα σε NaCl κλπ., η άριστη τιμή pH για την επιτυχή αναπτυξή του καθώς και την παραγωγή τοξινών μπορεί να επηρεαστεί. (Hennekinne et al., 2012)

- Θερμοκρασία (T, Temperature)

Ο *Staphylococcus aureus* παρουσιάζει την δυνατότητα ανάπτυξης σε ένα μεγάλο εύρος τιμών θερμοκρασίας, που κυμαίνεται από 7 °C έως και 48 °C. Η μέγιστη τιμή κυμαίνεται από 40 °C έως 48 °C, η ελάχιστη τιμή από 7 °C έως 13 °C (Hennekinne et al., 2012) και η άριστη τιμή από 35 °C έως 40 °C. Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά του παθογόνου αυτού βακτηρίου, είναι ότι παρουσιάζει ευαισθησία σε αυξημένες θερμοκρασίες. Επομένως, η απενεργοποίηση ή και θανάτωση του *Staphylococcus aureus*, είναι δυνατή, εάν η θερμική επεξεργασία των τροφίμων είναι επαρκής.

Για την ανάπτυξη των τοξινών, οι θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 15 έως 38 °C, με μέγιστη από 35 έως 45 °C. (Hennekinne et al., 2012). Όπως αναφέρθηκε και

προηγουμένως, οι τοξίνες που παράγονται από τον παθογόνο αυτό μικροοργανισμό εμφανίζουν αντοχή σε υψηλές θερμοκρασίες. Καταλαβαίνουμε λοιπόν ότι, εάν ένα τρόφιμο έχει μολυνθεί με τοξίνες, η καταστροφή τους ακόμη και με θερμική επεξεργασία δεν θα είναι πλήρης, και δεν θα εξασφαλιστεί η ασφάλεια του τροφίμου.

- Οξειδωαναγωγικό δυναμικό (Eh, Redox potential)

Το παθογόνο αυτό βακτήριο είναι ένας προαιρετικά αναερόβιος μικροοργανισμός. Μπορεί λοιπόν, να αναπτυχθεί με την παρουσία ή την απουσία οξυγόνου. Παρ' όλα αυτά, εμφανίζει αυξημένη ανάπτυξη όταν βρίσκεται σε παρουσία οξυγόνου (περίπου 0-21%). Όταν βρίσκεται κάτω από πλήρως αναερόβιες συνθήκες η ανάπτυξη του μειώνεται αρκετά, παρόμοια και όταν βρίσκεται σε πλήρως αερόβιες συνθήκες. Πρέπει λοιπόν να υπάρχει οξυγόνο στο περιβάλλον γύρω του, για να πραγματοποιήσει την επιτυχή ανάπτυξη του, αλλά όχι σε υπερβολικά υψηλά ποσοστά.

Όλα τα αερόβια βακτήρια παράγουν καταλάση, το οποίο αποτελεί ένα ένζυμο που παράγεται κατά την αερόβια κυτταρική αναπνοή. Μέσω της αερόβιας αυτής αναπνοής, που πραγματοποιείται κατά την ανάπτυξη των βακτηριων, παράγεται υπεροξειδίο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), που είναι τοξικό. Η καταλάση είναι ένα ένζυμο, το οποίο εξουδετερώνει το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Ο *Staphylococcus aureus* είναι θετικό στην δοκιμασία της καταλάσης, και με αυτόν τον τρόπο διακρίνεται εύκολα από τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς του ίδιου γένους. (Hennekinne et al., 2012)

- Θρεπτικά συστατικά και ανταγωνισμός

Ο *Staphylococcus aureus* δεν παρουσιάζει υπερβολικές απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά. Συνήθως τα προϊόντα στα οποία αναπτύσσεται περιέχουν όλα τα απαραίτητα συστατικά που χρειάζεται, αλλά οι ανάγκες του συνδυάζονται πάντα με τις υπόλοιπες συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, κάποια από

τα συστατικά που απαιτεί ο *S. Aureus* για την ανάπτυξή του μπορεί να είναι βιταμίνες της ομάδας Β, καθώς και οργανικό νάτριο. (Asperger H & Zangerl P, 2002)

Η υπόλοιπη μικροβιακή χλωρίδα που υπάρχει σε ένα τρόφιμο, μπορεί επίσης να επηρεάσει την ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus*. Αυτός ο μικροοργανισμός δεν έχει την δυνατότητα να αναπτυχθεί όταν υπάρχει ανταγωνισμός με άλλους μικροοργανισμούς. Για αυτόν τον λόγο, κάποια τρόφιμα που χρησιμοποιούν καλλιέργειες συγκεκριμένων μικροοργανισμών για την παραγωγή τους και την δημιουργία κάποιων απαιτούμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, όπως για παράδειγμα τα γαλακτοκομικά προϊόντα, δεν επηρεάζονται εύκολα από τον *Staphylococcus aureus*. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, οι χρησιμοποιούμενες καλλιέργειες εμποδίζουν την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου, σε συνδιασμό πάντοτε με την επικράτηση όλων των κατάλληλων συνθηκών.

#### 1.4 Επίδραση του παθογόνου *Staphylococcus aureus* σε ανθρώπους, ζώα και τρόφιμα.

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί, έχει αποδειχτεί ότι στις περισσότερες περιπτώσεις τροφικών δηλητηριάσεων παγκοσμίως, υπεύθυνός μικροοργανισμός είναι ο *Staphylococcus aureus*. (Mahros et al., 2021). Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι το βακτήριο αυτό βρίσκεται παντού στο περιβάλλον, και έχει την ικανότητα να αποκτήσει αντοχή στις συνθήκες που επικρατούν γύρω του, όταν αυτές δεν είναι πλήρως ευνοϊκές για την ανάπτυξη του.

Ο *Staphylococcus aureus* αποτελεί μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του ανθρώπινου σώματος, και συνήθως βρίσκεται στην ρινική κοιλότητα, στο δέρμα, στα νύχια, στα μαλιά, κλπ. Οι υγιείς, καθώς και οι μολυσμένοι από τον μικροοργανισμό, άνθρωποι αποτελούν πιθανή πηγή μόλυνσης. Επομένως όταν δεν επικρατούν οι απαραίτητες συνθήκες υγιεινής, η μετάδοση του βακτηρίου από άνθρωπο σε άνθρωπο ή από άνθρωπο στα ζώα ή σε οποιαδήποτε επιφάνεια, είναι πολύ εύκολη. (Asperger H & Zangerl P, 2002)

Ο πιο συχνός τρόπος μεταφοράς του παθογόνου βακτηρίου στα τρόφιμα, είναι μέσω των ανθρώπων που έρχονται σε επαφή με αυτά. Λαμβάνοντας υπόψη ότι ο μικροοργανισμός βρίσκεται επάνω στο δέρμα, εάν οι διαχειριστές των τροφίμων δεν ακολουθούν όλους τους σωστούς κανόνες υγιεινής, τότε μπορεί εύκολα να μεταφερθεί στα τρόφιμα ή στις επιφάνειες διαχείρισης τους.

Όταν εισέρχεται μέσα στο τρόφιμο, και εφόσον όλες οι συνθήκες για την ανάπτυξη του είναι ευνοϊκές, ο *Staphylococcus aureus* αρχίζει να αναπτύσσεται αρχικά με αργό ρυθμό και στην συνέχεια με αυξημένη ταχύτητα. Μέσω της ανάπτυξής του παράγονται τοξίνες, οι οποίες εάν καταναλωθούν μπορούν να προκαλέσουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων. Αυτού του είδους οι τροφικές δηλητηριάσεις, ονομάζονται τροφικές λοιμώξεις. Εφόσον έχουν παραχθεί οι τοξίνες, είναι πολύ δύσκολο να καταστραφούν, και παραμένουν στο τρόφιμο ακόμη και αν το βακτήριο δεν είναι ζωντανό. Μέσω της κατανάλωσης των μολυσμένων τροφίμων, οι τοξίνες εισέρχονται μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό και τον επηρεάζουν με διαφορους τρόπους, ανάλογα με το είδος τους. Οι ασθένειες που μπορούν να προκαλέσουν οι τοξίνες ποικιλούν και εμφανίζονται σε νοσοκομειακό, καθώς και σε κοινοτικό επίπεδο. Κάποιες από αυτές τις ασθένειες είναι λοιμώξεις τις επιδερμίδας, πνευμονία, και άλλα.

Συνήθως, τα συμπτώματα που εμφανίζονται για μία σταφυλοκοκκική τροφική δηλητηρίαση (Staphylococcal food-borne intoxication/ SFI) είναι σχετικά ήπια, όπως για παράδειγμα εμετός, κοιλιακοί πόνοι, ναυτία κλπ., αλλά μπορούν να εμφανιστούν και σοβαρότερα συμπτώματα, όπως είναι η διάρροια και η αφυδάτωση. Εμφανίζονται μέσα σε 30 λεπτά – 8 ώρες (Hennekinne et al., 2012) μετά την κατανάλωση του μολυσμένου προϊόντος.

Το χρονικό διάστημα μέχρι την εμφάνιση των συμπτωμάτων, ο βαθμός με τον οποίον οι τοξίνες επηρεάζουν το ανθρώπινο σώμα, καθώς και η διάρκεια των συμπτωμάτων, εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Τέτοιοι παράγοντες μπορεί να είναι οι εξής: υγεία του ανθρώπινου οργανισμού, ποσότητα του μολυσμένου τροφίμου που έχει καταναλωθεί ή και το είδος της τοξίνης που καταναλώθηκε. Στις περισσότερες

περιπτώσεις, τα συμπτώματα εξαφανίζονται χωρίς κάποια απαραίτητη ιατρική φροντίδα. Αντιθέτως, όταν οι τοξίνες εισέρχονται στο ανοσοποιητικό σύστημα ανθρώπων που ανήκουν σε ευπαθείς ομάδες (βρέφη, παιδιά, έγκυες, ανοσοκατεσταλμένα άτομα), τότε μπορούν να προκληθούν σοβαρές ασθένειες με απαραίτητη την ιατρική περίθαλψη.

Έχει αποδειχτεί ότι, η ποσότητα των τοξινών που απαιτείται να καταναλωθεί για να προκληθούν αρνητικές επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με τοξίνες άλλων μικροοργανισμών. Δεν έχουν ανακαλυφθεί ακόμη οι ακριβείς επικίνδυνες ποσότητες των τοξινών, καθώς επηρεάζονται από πολλαπλούς παράγοντες. Έχει βρεθεί όμως ότι, όταν βρίσκονται σε ποσότητες 20ng με 1 μg ανά γραμμάριο τροφίμου, είναι αρκετό για να προκληθεί δηλητηρίαση. Το ποσοστό θνησιμότητας είναι χαμηλό, και συνήθως είναι 0,03% για τους περισσότερους ανθρώπους, αλλά φτάνει σε ποσοστό 4.4% για ανθρώπους που ανήκουν σε ευπαθείς ομάδες. (Mahros et al., 2021).

Μέσω διάφορων ερευνών, παρατηρήθηκε ότι ένα άλλο χαρακτηριστικό των σταφυλοκοκκικών τροφικών δηλητηριάσεων είναι ότι η εμφάνιση τους εξαρτάται και από την εποχή του χρόνου. Όπως όλοι οι μικροοργανισμοί, έτσι και ο *Staphylococcus aureus* αναπτύσσεται με αυξημένη ταχύτητα όταν βρίσκεται σε υψηλότερες τιμές (35°C -40°C). Επομένως, κατά την διάρκεια του καλοκαιριού παρατηρούνται αυξημένοι αριθμοί περιστατικών από τροφικές δηλητηριάσεις. Επίσης, κατά την διάρκεια των γιορτών, λόγω της παραγωγής αυξημένων ποσοτήτων τροφίμων, πολλές φορές δεν καταναλώνονται όλα φρέσκα, δηλαδή την πρώτη ημέρα της παραγωγής τους, αφήνονται για μεγάλο χρονικό διάστημα στο επικίνδυνο εύρος θερμοκρασιών και δεν τοποθετούνται σε χώρους πλήρης αποθήκευσης. Σε τέτοιες περιπτώσεις, ο *Staphylococcus aureus*, όπως και άλλοι μικροοργανισμοί, βρίσκει την δυνατότητα γρήγορης ανάπτυξης του.

Ο *Staphylococcus aureus*, αποτελεί επίσης μέρος της μικροβιακής χλωρίδας των ζώων, και συγκεκριμένα στο δέρμα, στις θηλές και βλενογόνες μεμβράνες. Συνήθως βρίσκεται στα θηλαστικά, όπως τα εκτρεφόμενα ζώα ή τα σκυλιά, καθώς και διάφορα



είδη πουλιών. Η κύρια ασθένεια που μπορεί να προκαλέσει ο παθογόνος αυτός μικροοργανισμός στα θηλαστικά, είναι η μαστίτιδα. Η μαστίτιδα εμφανίζεται στα βοοειδή και έχει ως αποτέλεσμα την μεταφορά του βακτηρίου στα προϊόντα του γάλακτος που παράγονται από τα ζώα αυτά. Η διάγνωση της ασθένειας αυτής είναι περίπλοκη, γεγονός που καθιστά δύσκολη και την καταπολέμηση της. Η κύρια εντεροτοξίνη που λαμβάνεται από ζωικές πηγές είναι η εντεροτοξίνη C (SEC), από το μαστιτικό γάλα. (Asperger H & Zangerl P, 2002)

Είναι προφανές ότι όταν τα τρόφιμα μολυνθούν από τον *Staphylococcus aureus*, με την ανάπτυξη του αρχίζουν να αλλοιώνονται. Στην αρχή αυτή η αλλοίωση μπορεί να μην είναι εμφανής. Παρ'όλα αυτά, εάν η ανάπτυξη του μικροοργανισμού και η παραγωγή των τοξινών και άλλων προϊόντων συνεχίζεται, τότε οι αλλοιώσεις μπορούν να γίνουν εύκολα διακριτές. Οι αλλοιώσεις συνήθως αφορούν οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, δηλαδή την γεύση, την οσμή, την υφή, την εμφάνιση, και άλλα.

Σχεδόν όλα τα τρόφιμα φέρουν άριστες συνθήκες για την ανάπτυξη μικροοργανισμών, και αποτελούνται από πολλά διατροφικά συστατικά, που είναι απαραίτητα για αυτούς. Εκτός από την προστασία των τροφίμων κατά την επεξεργασία τους, είναι σημαντική και η σωστή αποθήκευση τους. Ανάλογα με το είδος τους προϊόντος, απαιτούνται διαφορετικές συνθήκες, όπως για παράδειγμα ξηρασία, κατάψυξη κλπ.. Επομένως κάποια τρόφιμα εμφανίζουν περισσότερη ευαισθησία σε σύγκριση με άλλα, λόγω των συστατικών που περιέχουν ή και των μεθόδων αποθήκευσης που απαιτούν.

Διάφορες μελέτες που έχουν διεξαχθεί, απέδειξαν ότι ο παθογόνος *Staphylococcus aureus* μπορεί να επηρεάσει μια μεγάλη ποικιλία προϊόντων, όπως για παράδειγμα τα έτοιμα προς κατανάλωση (Read-To-Eat) προϊόντα, κρέας και τα προϊόντα του, γαλακτοκομικά προϊόντα, ζυμώμενα προϊόντα κλπ. (Valero et al., 2009). Τα τρόφιμα τα οποία ετοιμάζονται σε μεγάλο χρονικό διάστημα πριν την κατανάλωση τους, και όταν αυτά βρίσκονται μέσα στην επικίνδυνη ζώνη θερμοκρασιών (4°C - 60°C), τότε εμφανίζουν την μεγάλη ευαισθησία.

Η επιμόλυνση των τροφίμων κατά την διάρκεια της επεξεργασίας και κατανάλωση τους γίνεται με πολλαπλούς τρόπους. Αυτοί οι τρόποι διακρίνονται συνήθως σε άμεσους και έμμεσους. Κάποιοι άμεσοι τρόποι θεωρούνται η επαφή του ανθρώπου, των επιφανειών εργασίας ή του εξοπλισμού με κάποιο τρόφιμο, εφόσον έχουν μολυνθεί από έναν μικροοργανισμό. Αντίθετα κάποιοι έμμεσοι τρόποι μπορούν να θεωρηθούν θραύσματα δέρματος ή σταγονίδια της αναπνοής των ανθρώπων, που μπορούν να μεταφερθούν μέσα στα τρόφιμα ή στις επιφάνειες διαχείρισης τους εάν δεν τηρούνται όλοι οι κανόνες υγιεινής.

### 1.5 Τρόποι καταπολέμησης του *Staphylococcus aureus*.

Η καταπολέμηση των μικροοργανισμών, αποτελεί ακόμη μία σχετικά περίπλοκη διαδικασία. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ανάπτυξη τους επηρεάζεται από πολλαπλούς παράγοντες και πρέπει όλοι να λαμβάνονται υπόψη κατά την παραγωγή ενός προϊόντος προς κατανάλωση. Με την πάροδο του χρόνου, και μέσω της διεξαγωγής πολλών ερευνών, έχουν ανακαλυφθεί διάφοροι μέθοδοι διατήρησης της ασφάλειας των τροφίμων σε ένα απαραίτητο επίπεδο.

Κατά την διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας τους, τα τρόφιμα παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία. Διάφορα στάδια που πραγματοποιούνται για την παραγωγή τους, την δημιουργία συγκεκριμένων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών κλπ., ταυτόχρονα εξασφαλίζουν την προστασία των τροφίμων από μικροοργανισμούς. Τέτοια στάδια μπορούν να θεωρηθούν η θερμική επεξεργασία, η ψύξη, η ζύμωση κλπ. Όλες οι βιομηχανίες τροφίμων απαιτείται να πραγματοποιούν ελέγχους, έτσι ώστε όλα τα στάδια αυτά να λειτούργούν με τον σωστό τρόπο.

Ταυτόχρονα, οι συνθήκες που επικρατούν στο εσωτερικό και εξωτερικό περιβάλλον του τροφίμου είναι εξήσου σημαντικές. Θα πρέπει πάντοτε να βρίσκονται υπό έλεγχο έτσι ώστε ο μικροοργανισμός να μην μπορεί να αναπτυχθεί, και να μην επηρεάζονται αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου. Λόγω της δυσκολίας αυτής της διαδικασίας, έχουν δημιουργηθεί κανόνες και αρχές υγιεινής για διάφορες

ομάδες τροφίμων, όπως για παράδειγμα για προϊόντα ζωικής προέλευσης, που όλες οι επιχειρήσεις τροφίμων είναι υποχρεωμένες να τηρούν.

Κατά την προετοιμασία του προϊόντος, πριν την κατανάλωση, τα τρόφιμα επίσης παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία. Οι άνθρωποι που διαχειρίζονται τα τρόφιμα θα πρέπει να τηρούν με σωστό τρόπο, όλους τους κανόνες προσωπικής υγιεινής. Οι επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα θα πρέπει να είναι ασφαλή, καθαρά και απολυμασμένα εάν απαιτείται. Πολλές φορές, οι κανόνες δεν τηρούνται με άριστο τρόπο, και αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι πολύ άνθρωποι δεν γνωρίζουν ή δεν εκπαιδεύονται για όλες τις αρχές και τους σωστούς κανόνες υγιεινής που πρέπει να ακολουθήσουν. Με βάση ερευνών, έχει αποδειχτεί ότι οι περισσότερες τροφικές δηλητηριάσεις προκαλούνται λόγω της επιμόλυνσης του τροφίμου κατά την προετοιμασία του. (Castro et al., 2016).

Ένας άλλος τρόπος εξασφάλισης της ασφάλειας των τροφίμων, που πραγματοποιείται κατά την διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας τους, από τις πρώτες ύλες έως και το τελικό προϊόν, είναι η χρησιμοποίηση συστατικών που εξασφαλίζουν την απενεργοποίηση ή και καταστροφή των μικροοργανισμών, εάν αυτά καταφέρουν να μεταφερθούν μέσα στο προϊόν. Τέτοια συστατικά είναι και τα αντιβιοτικά. Αυτά χρησιμοποιούνται εδώ και πολλά χρόνια στις βιομηχανίες τροφίμων.

Τα αντιβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προστασία της υγείας των εκτρεφόμενων ζώων, για την καταπολέμηση ασθενειών που έχουν προκληθεί σε αυτά ή ακόμη και ως πρόσθετα στα τρόφιμα προς κατανάλωση για την αντιμετώπιση μολύνσεων. Η χρήση τους έχει αποδειχτεί ωφέλιμη εδώ και πάρα πολλές δεκαετίες. Κάποια από τα πλεονεκτήματα της χρήσης τους είναι η καταπολέμηση διάφορων μικροοργανισμών, η πρόληψη της ανάπτυξης τους στα εκτρεφόμενα ζώα, καθώς και άλλα.

Με την πάροδο του χρόνου όμως, και λόγω της παρατεταμένης χρήσης των αντιβιοτικών, έχουν δημιουργηθεί αρκετές ανησυχίες στους παραγωγούς των

τροφίμων, καθώς και για τους καταναλωτές. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι κάποιοι μικροοργανισμοί, έχουν εξελιχθεί και άρχισαν να εμφανίζουν αντοχή σε κάποια από τα αντιβιοτικά αυτά. Με αυτόν τον τρόπο η καταπολέμηση τους γίνεται όλο και πιο δύσκολη.

Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένας από αυτούς τους μικροοργανισμούς, και παρουσιάζει μια αυξημένη αντοχή σε κάποια αντιβιοτικά με ευρεία χρήση εναντίων του, και συγκεκριμένα στο methicillin. Το χαρακτηριστικό αυτό του μικροοργανισμού, έχει δημιουργήσει πολλά προβλήματα στις βιομηχανίες τροφίμων, και συνεχώς γίνονται προσπάθειες για την εύρεση καινούριων μεθόδων καταπολέμησης του.

## Κεφάλαιο 2: Αντιβιοτικά

### 2.1 Γενικές πληροφορίες.

Τα αντιβιοτικά είναι χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως φάρμακα, λόγω της δυνατότητας τους να δράσουν ενάντια παθογόνων μικροοργανισμών, όπως για παράδειγμα βακτηρίων, μυκήτων, παρασίτων, κλπ. Έμφανίζουν ευρεία χρήση στους κλάδους κτηνιατρικής, ιατρικής και γεωργίας εδώ και πάρα πολλά χρόνια. Η χρήση των αντιβιοτικών ξεκίνησε περίπου στις αρχές του 1930. (Kirchhelle, 2018) και με την πάροδο του χρόνου έδειξαν μεγάλη επιτυχία στην καταπολέμηση και πρόληψη ασθενειών που προκαλούνται στους ανθρώπους και τα ζώα από μικροοργανισμούς που βρίσκονται στο περιβάλλον.

Το πρώτο αντιβιοτικό που χρησιμοποιήθηκε για την καταπολέμηση ανθρώπινων λοιμώξεων, ήταν η πυοκυανίνη. Μέσω ερευνών, διαπιστώθηκε ότι αυτό το αντιβιοτικό μπορούσε να απομονωθεί από ένα βακτήριο, το οποίο αναπτυσσόταν σε επιδέσμους τραυματισμένων ασθενών. (Gould, 2016). Τα αντιβιοτικά που αρχικά χρησιμοποιήθηκαν για γεωργικούς σκοπούς ήταν οι συνθετικές σουλφοναμίδες, και συγκεκριμένα η προντοσόλη. Παράχθηκε το 1935 και χρησιμοποιήθηκε για την καταπολέμηση κυρίως των gram θετικών βακτηρίων. (Kirchhelle, 2018). Στην Μεγάλη Βρετανία, τα αντιβιοτικά αυτής της κατηγορίας εισάχθηκαν στον κλάδο της κτηνοτροφίας περίπου το 1938.

Ένα ιδανικό αντιβιοτικό, θεωρείται ένας αντιβακτηριακός παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει την μείωση της ανάπτυξης ή και την θανάτωση όλων των επικίνδυνων μικροοργανισμών. Δεν θα πρέπει να εμφανίζει τοξικότητα ή να επηρεάζει αρνητικά την φυσική μικροβιακή χλωρίδα του σώματος του ξενιστή. Στην πραγματικότητα όμως, τα αντιβιοτικά δεν είναι πλήρως ιδανικά και διακρίνονται σε αυτά που μπορούν να καταπολεμήσουν αρνητικά κατά Gram βακτήρια ή θετικά κατά Gram βακτήρια ή και τα δύο. Επομένως είναι προφανές ότι δεν υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης ενός μόνο αντιβιοτικού για όλες τις πιθανές ασθένειες. Συγκεκριμένος τρόπος επιλογής του κατάλληλου αντιβιοτικού για την καταπολέμηση

μιας ασθένειας δεν έχει βρεθεί, και συνήθως απλά εξετάζονται τα συμπτώματα που εμφανίζονται σε κάθε ασθενή. (Singh et al., 2017)

Η ποσότητα του συγκεκριμένου αντιβιοτικού που θα χρησιμοποιηθεί είναι εξίσου σημαντική, και αυτό επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Τέτοιοι παράγοντες μπορεί να είναι η σοβαρότητα της ασθένειας, το είδος του μικροοργανισμού που πρέπει να θανατώσουμε, η δυναμικότητα του αντιβιοτικού, καθώς και άλλοι. Σε οποιαδήποτε περίπτωση πρέπει όμως να εξασφαλιστεί ότι η χρησιμοποιούμενη ποσότητα δεν υπερβαίνει το ενδεχόμενο αποδεκτό όριο, γιατί αλλιώς θα θεωρηθεί τοξικό και θα εμφανίζει αρνητικές επιπτώσεις.

Ο αρχικός τρόπος που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή αντιβιοτικών, ήταν η χρήση συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Τα αντιβιοτικά της κατηγορίας αυτής ονομάζονται φυσικά. Μέσω της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, μπορούν να απομονωθούν συγκεκριμένα αντιβιοτικά από αυτούς, που βοηθούν στην προστασία των ανθρώπων, ζώων ή και τροφίμων από άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς. Το πρώτο αντιβιοτικό που παράχθηκε με τον τρόπο αυτόν είναι η στρεπτομυκίνη, μέσω του βακτηρίου *Streptomyces griseus*, που συχνά παρουσιάζεται στα λιπάσματα και εμφανίζει αντιμικροβιακές ιδιότητες. (Gould, 2016)

Παρά το γεγονός ότι η χρήση των φυσικών αντιβιοτικών εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα, σύντομα άρχισαν να παράγονται και τα συνθετικά αντιβιοτικά. Αυτά παράγονται μέσω συγκεκριμένων διαδικασιών, σε συγκεκριμένους χώρους και ταυτόχρονα μπορεί να πραγματοποιηθεί η προσθήκη διάφορων συμπληρωματικών συστατικών που καλυτερεύουν την δράση τους.

Λόγω των προβλημάτων που συνήθως προκαλεί η συνεχόμενη χρήση των αντιβιοτικών, όπως για παράδειγμα η απόκτηση αντοχής σε αυτά των παθογόνων μικροοργανισμών, μειώνεται δραστικά η δράση τους. Πρέπει λοιπόν να πραγματοποιούνται συνεχόμενες έρευνες για την παραγωγή καινούριων αντιβιοτικών, προκειμένου να αντικαταστήσουν τα παλαιότερα. Το περιβάλλον αποτελεί μία άριστη πηγή για την εύρεση αντιβιοτικών, καθώς πολλοί

μικροοργανισμοί βρίσκονται παντού γύρω μας. Το έδαφος, καθώς και τα φυτά αποτελούνται από μικροοργανισμούς που παρουσιάζουν αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, αντιπαρασιτικές, κ.α ιδιότητες. (Sánchez & Demain, 2017)

Εκτός από τα προβλήματα που δημιουργούνται από την χρήση των αντιβιοτικών, η συνεχόμενη αλλαγή των ασθενειών καθώς και η εμφάνιση καινούριων, οδηγεί στην απαίτηση παραγωγής καινούριων ειδών αντιβιοτικών. Εξετάζονται λοιπόν, συνεχώς καινούριοι, γρήγοροι και οικονομικοί τρόποι παραγωγής τους. Ως παράδειγμα μπορεί να αναφερθεί η χρησιμοποίηση της συνδυαστικής βιοσύνθεσης, όπου τεχνικές ανασυνδιασμένου DNA χρησιμοποιούνται για να γίνει εισαγωγή ειδικών γονιδίων σε μικροοργανισμούς, που θα μπορέσουν να συνθέσουν αντιβιοτικά.

## 2.2 Στόχοι χρήσης αντιβιοτικών, θετικά και αρνητικά αποτελέσματα.

Ένας από τους κύριους και σημαντικότερους στόχους των αντιβιοτικών είναι η καταπολέμηση των ασθενειών που προκαλούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί στους ανθρώπους, όπως για παράδειγμα αλλεργίες, δερματικές μολύνσεις, κ.α. Εκτός από τέτοιου είδους λοιμώξεις, και μέσω της εξέλιξης της επιστήμης, σήμερα η χρήση των αντιβιοτικών μπορεί επίσης να βοηθήσει στην πραγματοποίηση περίπλοκων σύγχρονων ιατρικών διαδικασιών, όπως για παράδειγμα θεραπειών καρκίνου, χειρουργικών επεμβάσεων ανοιχτής καρδιάς, κλπ. (Hutchings et al., 2019)

Σύντομα μετά την έναρξη της χρήσης των αντιβιοτικών, διαπιστώθηκε ότι κάποια από αυτά έχουν την δυνατότητα να καταπολεμήσουν ασθένειες που προκαλούνται και στα ζώα από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η καταπολέμηση της μαστίτιδας στα βοοειδή, που πραγματοποιήθηκε το 1940, στην Αμερική, με την χρήση του αντιβιοτικού με το όνομα γραμικιδίνη. Η ασθένεια αυτή είναι πολύ σοβαρή, προκαλείται από το παθογόνο βακτήριο *Staphylococcus aureus* και επηρεάζει την υγεία των ζώων, καθώς και την ποιότητα των τελικών προϊόντων που παράγονται από αυτά. (Kirchhelle, 2018)

Ένα ακόμη χαρακτηριστικό των αντιβιοτικών που εμφάνισε μεγάλη χρησιμότητα όλα αυτά τα χρόνια της χρήσης τους, είναι η δυνατότητα τους να προσφέρουν ταχύτερη ανάπτυξη στα εκτρεφόμενα ζώα. Η ζήτηση για προϊόντα προς κατανάλωση τα οποία προέρχονται από τα ζώα αυτά, δηλαδή τα βοοειδή, τα πτηνά κλπ., αυξάνεται κάθε χρόνο λόγω της υπερβολικής αύξησης του ανθρώπινου πληθυσμού. Οι διαχειριστές των κτηνοτροφιών εκμεταλεύτηκαν, και ακόμη εκμεταλεύουν, την δυνατότητα αυτή των αντιβιοτικών. Παρόμοια δράση έχουν οι χημικές αυτές ενώσεις και σε είδη ψαριών που μεγαλώνουν σε ιχθυοτροφία.

Η χρήση των αντιβιοτικών για οποιονδήποτε σκοπό, παρουσιάζει θετικά καθώς και αρνητικά αποτελέσματα. Τα συστατικά αυτά εμφάνισαν πρόοδο για την απλούστερη αντιμετώπιση ασθενειών, αλλά ταυτόχρονα η αυξημένη χρήση τους είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία διάφορων προβλημάτων, όπως για παράδειγμα ρύπανση του περιβάλλοντος. Παρακάτω, αναφέρονται κάποιες από τις θετικές και τις αρνητικές επιπτώσεις της χρήσης των αντιβιοτικών.

### 2.2.1 Θετικά αποτελέσματα

Απο την αρχή της χρήσης τους, τα αντιβιοτικά αποδείχτηκαν πολύ χρήσιμα. Τα θετικά αποτελέσματα που παρέχουν είναι πολλαπλά, και για αυτό πραγματοποιείται η καθημερινή συνεχόμενη χρήση τους. Λόγω της ποικιλίας των ειδών τους, έχουμε την δυνατότητα να χρησιμοποιήσουμε τα κατάλληλα αντιβιοτικά ανάλογα με τον μικροοργανισμό ή την ασθένεια που προσπαθούμε να καταπολεμήσουμε.

Σύντομα, τα φάρμακα αυτά αποτέλεσαν τον μοναδικό τρόπο θεραπείας για τις διάφορες λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια και άλλους μικροοργανισμούς, και με την πάροδο του χρόνου έχουν σώσει τις ζωές πολλών ανθρώπων παγκοσμίως. Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί, η χρήση των αντιβιοτικών οδήγησε στην αύξηση του μέγιστου χρόνου ζωής του ανθρώπου, και μείωσε δραστικά το ποσοστό θνησιμότητας. (Sánchez & Demain, 2017).



Τα αντιβιοτικά, χρησιμοποιούνται επίσης σε μεγάλες ποσότητες σε πολλά κτηνοτροφία του κόσμου και με τα χρόνια έχουν επιφέρει πολλές θετικές επιπτώσεις στην ζωή των εκτρεφόμενων ζώων. Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενη παράγραφο, εκτός από την καταπολέμηση των ασθενειών, η χρήση των αντιβιοτικών εξασφαλίζει την προστασία της υγείας των ζώων από πολλούς παθογόνους μικροοργανισμούς και παράσιτα που μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες σε αυτά. Ανάλογα με το είδος του ζώου, παρουσιάζεται μια διαφορετική ευαισθησία του οργανισμού του στην επίδραση των επικίνδυνων μικροοργανισμών και παρασίτων, επομένως πρέπει να χρησιμοποιούνται τα κατάλληλα αντιβιοτικά και στις κατάλληλες πάντα ποσότητες. (Hao et al., 2014). Τα φάρμακα αυτά, οδήγησαν στην μείωση της πιθανότητας εμφάνισης ασθενειών στα ζώα και ταυτόχρονα αύξησαν και την διάρκεια ζωής τους.

Τα προϊόντα προς κατανάλωση που παράγονται από τα εκτρεφόμενα ζώα στα οποία χορηγούνται αντιβιοτικά σε καθημερινή βάση στις ζωοτροφές ή το νερό τους για την προστασία της υγείας τους, αποτελούν επίσης έναν έμμεσο τρόπο προστασίας της υγείας των καταναλωτών τους. Όταν τα ζώα παραμένουν ασφαλή καθ'όλη την διάρκεια της ζωής τους, έτσι και τα προϊόντα που παράγονται από αυτά είναι απαλλαγμένα από επικίνδυνους παθογόνους μικροοργανισμούς και ασθένειες. Επομένως, η μετάδοση των ασθενειών από τα ζώα στους ανθρώπους μειώθηκε επίσης δραστικά. (Hao et al., 2014)

Περίπου το 1940, οι παραγωγοί διαπίστωσαν ότι η χρήση συγκεκριμένων αντιβιοτικών κατά την εκτροφή των ζώων για την προστασία τους, πραγματοποιεί ταυτόχρονα καλυτέρευση της ανάπτυξής τους. (Bacanli & Başaran, 2019) (N. A. Oliveira et al., 2020) Αυτό το χαρακτηριστικό αποτελεί μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον για όλους τους παραγωγούς τροφίμων. Κάθως ο ανθρώπινος πληθυσμός συνεχώς αυξάνεται, οι απαιτήσεις τους για προϊόντα προς κατανάλωση επίσης μεγαλώνουν. Για να μπορέσουν οι παραγωγοί να συνεχίζουν να εκπληρώνουν τις προσδοκίες των καταναλωτών, θα πρέπει να εξασφαλίζουν ότι δεν θα υπάρχουν απώλειες στην ανάπτυξη των ζώων και έτσι η παραγωγή των τροφίμων, όπως το γάλα και τα

γαλακτοκομικά προϊόντα ή το κρέας και τα προϊόντα του, θα πραγματοποιηθεί με επιτυχία.

Η καλύτευση της ανάπτυξη των ζώων, γίνεται με την χρήση μικρής ποσότητας συγκεκριμένων αντιβιοτικών, όπως σουλφοναμίδων, κατά την εκτροφή τους. Αυτό συμβαίνει μέσω της αντίδρασης του αντιβιοτικού με το στομάχι των ζώων. (Menkem et al., 2019) Τα αντιβιοτικά έχουν την δυνατότητα:

- Να αραιώσουν τις βλεννογόνους μεμβράνες στο έντερο των ζώων,
- Να επηρεάσουν την κινητικότητα του εντέρου,
- Να δημιουργήσουν συνθήκες ευνοϊκές για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του εντέρου, καταστρέφοντας τα παθογόνα βακτήρια,
- Να επιλέξουν πρωτεΐνες, συγκεκριμένα για την ανάπτυξη του μυός, και
- Να μειώσουν την λειτουργία του συστήματος, για την διατήρηση των θρεπτικών συστατικών και μείωση της παραγωγής τοξινών.

(Bacanli & Başaran, 2019)

Τα κόπρανα των ζώων αποτελούνται από 24% πρωτεΐνες και 6,1-17,96% αμινοξέα. Μέσω της ζύμωσης των συστατικών αυτών, παράγονται διάφορα προϊόντα που μπορούν να προκαλέσουν ρύπανση του περιβάλλοντος, ευτροφισμό ύδατος καθώς και οικολογική ανισορροπία. Τέτοια προϊόντα είναι για παράδειγμα η αμμωνία, το διοξείδιο του άνθρακα, τα αέρια και άλλα. Κάποια από τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται κατά την εκτροφή των ζώων, μπορούν να μειώσουν τον ρυθμό ζύμωσης των περιττωμάτων και παραγωγής των τοξικών αερίων. (Hao et al., 2014) Τα αντιβιοτικά παρουσιάζουν επίσης και την ικανότητα πρόληψης ευτροφισμού του νερού, προστατεύοντας τα ψάρια. Επίσης όταν τα αντιβιοτικά προστεθούν στα λιπάσματα, κάποια φυτά μπορούν να τα απορροφήσουν. Κάποια είδη φυτών εμφανίζουν την ικανότητα βιοσυσσώρευσης κάποιων αντιβιοτικών στις ρίζες και στα στελέχη τους. (Hao et al., 2014)

## 2.2.2 Αρνητικά αποτελέσματα

Ακόμη και αν οι θετικές ιδιότητες που προσφέρουν τα αντιβιοτικά είναι πολλαπλές, διαπιστώθηκε ότι απαιτείται η μείωση της χρήσης τους, λόγω των σοβαρών προβλημάτων που μπορούν να δημιουργήσουν. Οι ανησυχίες των καταναλωτών και παραγωγών, για την χρήση των χημικών αυτών ουσιών σε διάφορους κλάδους είναι υψηλές, και έτσι πολλές χώρες έχουν είδη αρχίσει την προσπάθεια τους για την μικρότερη και συστηματική χρήση των αντιβιοτικών, με ταυτόχρονη διατήρηση της κατάλληλης ασφάλειας των ανθρώπων, ζώων και των προϊόντων που παράγονται από αυτά.

Ένα από τα πιο σημαντικά προβλήματα που διαπιστώθηκαν, είναι ότι η παρατεταμένη χρήση των αντιβιοτικών με λανθασμένους τρόπους προκάλεσε την ανάπτυξη ανθεκτικότητας κάποιων παθογόνων μικροοργανισμών σε αυτά. Το πρόβλημα έγινε διακριτό ακόμη και από την αρχή της χρήσης των αντιβιοτικών, γεγονός που υποχρέωσε τους ειδικούς να συνεχίσουν τις αναζητήσεις τους για καινούρια και διαφορετικά είδη φαρμάκων. Η χρήση των αντιμικροβιακών αυτών παραγώντων στις κτηνιοτροφίες, και συγκεκριμένα για την προώθηση της ανάπτυξης των ζώων, δημιουργεί ένα κατάλληλο περιβάλλον για να μπορέσουν οι επικίνδυνοι μικροοργανισμοί να αποκτήσουν αντοχή. Οι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την ανθεκτικότητα τους είναι η ποσότητα του αντιβιοτικού που χρησιμοποιείται, η χρονική περίοδος έκθεσης του μικροοργανισμού σε αυτό, το είδος του μικροοργανισμού και το αντιβιοτικό καθώς και η κατάσταση υγείας του ζώου. (Menkem et al., 2019)

Το χαρακτηριστικό αυτό των μικροοργανισμών είναι μια φυσική αντιδρασή εξέλιξης. Οφείλεται σε διάφορες γενετικές μεταλλάξεις ή οριζόντια μεταφορά γονιδίων που παρουσιάζουν αντοχή από μικροοργανισμό σε μικροοργανισμό. Αυτό πραγματοποιείται ακόμη και σε μη-φυλογενετικά σχετιζόμενα βακτήρια. Τα γονίδια που παρουσιάζουν αντοχή στα αντιβιοτικά, συχνά συσχετίζονται με κινητα γενετικά στοιχεία που εμπλέκονται στην συζυγιακή μεσολάβησης μεταφορά γονιδίου. (Alduina, 2020)

Ο μικροοργανισμός και το κύτταρο των βακτηρίων, μπορούν να αντιδράσουν με τρεις μηχανισμούς. Αρχικά ο μικροοργανισμός έχει την δυνατότητα να παράξει ένζυμα που κωδικοποιούν και μειώνουν την δράση των αντιβιοτικών. Στην συνέχεια το βακτήριο μπορεί να αποκτήσει αντλίες εκροής, επηρεάζοντας τα αντιβιοτικά με τέτοιο τρόπο που θα αποκληθεί η θέση στόχος τους. Τέλος, τα βακτήρια αποκτούν γονίδια, τα οποία θα αλλάξουν την μεταβολική πορεία, καθώς και την θέση-στόχος των ενζύμων. (Menkem et al., 2019)

Το πρόβλημα αυτό, έχει δημιουργήσει πολλαπλές ανησυχίες στους παραγωγούς και καταναλωτές, κυρίως διότι είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης ασθενειών στους ανθρώπους και τα ζώα. Κάποια αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για την εκτροφή των ζώων, μπορεί να εμφανίσουν επικυδινότητα για τους ανθρώπους διότι τα ανθεκτικά πλέον βακτήρια μπορούν να μεταφερθούν σε αυτούς με πολλαπλούς τρόπους και να προκαλέσουν αποτυχία χρήσης των φαρμάκων για την καταπολέμηση διάφορων ασθενειών. (Hao et al., 2014)

Θεωρείται ότι η αντοχή αυτή των παθογόνων μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά, οφείλεται στην παρατεταμένη χρήση τους, ιδιαίτερα για άσκοπους λόγους. Παρ' όλα αυτά, καθώς οι απαιτήσεις των ανθρώπων σε τρόφιμα αυξάνονται συνεχόμενα, τότε και η παραγωγή των τροφίμων θα πρέπει επίσης να αυξηθεί αναλόγως. Οι παραγωγοί τροφίμων, θεώρησαν τα αντιβιοτικά ως μια απλή και γρήγορη λύση του προβλήματος τους. Σύντομα όμως, παρουσιάστηκαν αυξημένες ποσότητες αποβλήτων αντιβιοτικών στο αίμα και σε άλλους ιστούς των ζώων. Οι ανησυχίες των παραγωγών και καταναλωτών για την τοξικότητα των αντιβιοτικών οδήγησε στην αναγκαιότητα εύρεσης μιας κανούριας στρατηγικής για την αύξηση της ανάπτυξης των εκτρεφόμενων ζώων με ασφάλεια.

Ακόμη και αν πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες για την απόσυρση των αντιβιοτικών από την παραγωγική διαδικασία, πολλοί άνθρωποι παγκοσμίως συνέχισαν να τα χρησιμοποιούν. Απαιτείται λοιπόν, να λάβει μέρος μία επιπλέον διαδικασία κατά την εκτροφή των ζώων, η οποία αποτελεί μια περίοδο απόσυρσης των αντιβιοτικών από τα ζώα. Με την διαδικασία της απόσυρσης εξασφαλίζεται ότι μέσα σε λίγες μέρες, το

ποσοστό των αποβλήτων των αντιβιοτικών στα ζώα δεν θα υπερβεί το επιτρεπτό όριο.

Τα αντιβιοτικά όταν βρίσκονται σε αυξημένες ποσότητες στο σώμα των ζώων, μπορούν στην συνέχεια να βρεθούν με ευκολία στο εσωτερικό των προϊόντων προς ανθρώπινη κατανάλωση, που παράγονται από τα ζώα αυτά. Επομένως εάν δεν αποσυρθούν από τα σώματα τους, οι άνθρωποι θα εκτεθούν στις υψηλές ποσότητες των αντιβιοτικών αυτών, γεγονός που μπορεί να έχει σοβαρά αρνητικά αποτελέσματα. Κάποιες από τις ασθένειες που μπορεί να προκαλέσει η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν απόβλητα αντιβιοτικών, είναι οι αλλεργίες ή άλλες τοξικές αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα ηπατοτοξικότητα, καρκινογένεση, μεταλλαξιγένεση, και άλλα (Menkem et al., 2019) (Bacanli & Başaran, 2019)

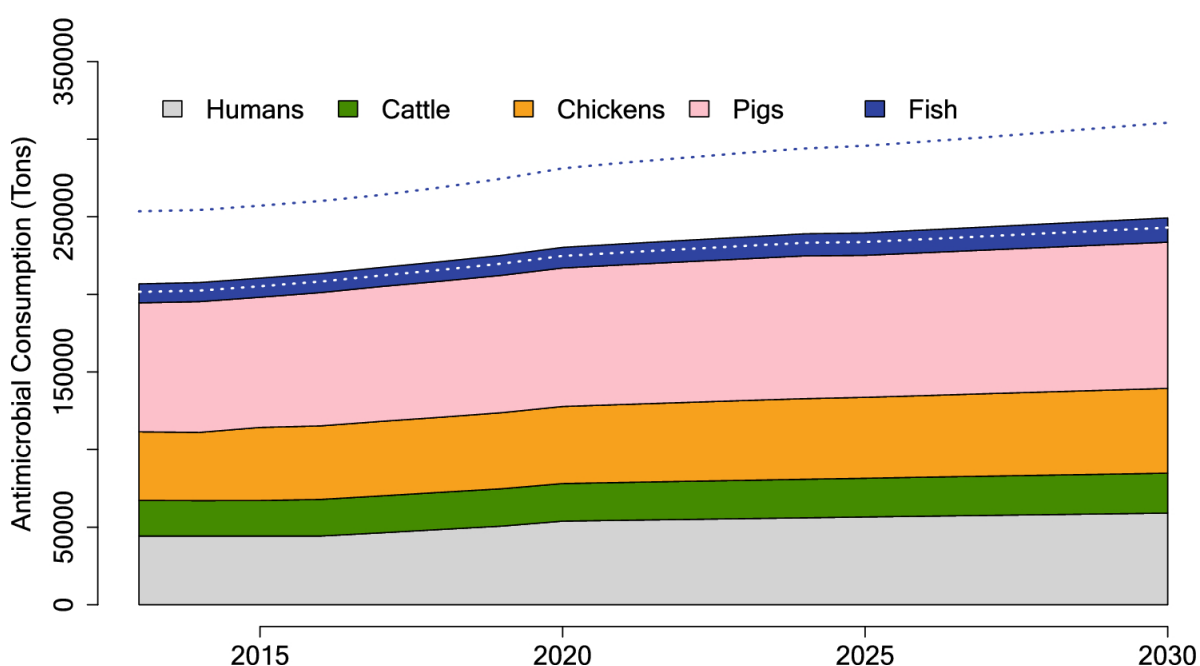
Συγκεκριμένα για τον γεωργικό κλάδο έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες που απέδειξαν ότι υπάρχει η δυνατότητα να προκληθούν σοβαρές ασθένειες στην υγεία των ανθρώπων, λόγω της μεταφοράς σε αυτούς των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά μικροοργανισμών. Οι άνθρωποι μπορούν να μολυνθούν από τους επικίνδυνους μικροοργανισμούς, μέσω της επαφής τους με τα εκτρεφόμενα ζώα στα οποία χορηγούνται ποσότητες αντιβιοτικών. Η μόλυνση μπορεί να πραγματοποιηθεί και μέσω της κατάποσης των παθογόνων μικροοργανισμών από τα προϊόντα προς κατανάλωση που παράγονται από τα εκτρεφόμενα ζώα ή από νερό που έχει μολυνθεί. Η μόλυνση μπορεί ευκολα να μεταφερθεί από άνθρωπο σε άνθρωπο, και αυτοί οι παθογόνοι μικροοργανισμοί έχουν την δυνατότητα να επηρεάσουν αρνητικά την υγεία των ανθρώπων ή να επιζήσουν μέχρι να βρεθούν στις κατάλληλες συνθήκες δράσης τους. Τα γονίδια που παρουσιάζουν αντίσταση στο γεωργικό περιβάλλον, εισάγονται στα ανθρώπινα παθογόνα με οριζόντια μεταφορά γονιδίου. (Chang et al., 2015)

Ένα ακόμη πρόβλημα είναι και η παρουσία των αντιβιοτικών στο περιβάλλον, δηλαδή στο νερό και στο έδαφος, που επίσης οφείλεται στην κακή χρήση τους, καθώς και την λανθασμένη διαχείριση των αποβλήτων που παράγονται. Τα κόπρανα των εκτρεφόμενων ζώων, περιέχουν επίσης ένα ποσοστό των αντιβιοτικών που

χρησιμοποιούνται σε αυτά. Μπορούν λοιπόν, με ευκολία να μολύνουν τα λαχανικά που χρησιμοποιούν κόπρανα ως υλικό λιπάσματος (Bacanli & Başaran, 2019), που είναι πιθανόν να χρησιμοποιηθούν στην συνέχεια κατά τη παραγωγική διαδικασία των προϊόντων προς κατανάλωση. Αυτό δημιουργεί διατάραξη των οικοσυστημάτων, και ρύπανση του περιβάλλοντος.

Σύμφωνα με έρευνες, έχει βρεθεί ότι συγκεκριμένα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται σε πτηνοτροφία σε μερικές χώρες της Ευρώπης, όπως για παράδειγμα Βέλγιο, Ολλανδία, Γαλλία κλπ. Παρομοίως, για την εκτροφή χοιρινών χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά σε χώρες όπως η Γερμανία, η Δανία, το Βέλγιο κλπ. Η χρήση των αντιβιοτικών στις χώρες της Ευρώπης είναι πολύ μικρότερη, και αυτό συμβαίνει λόγω των αυστηρών κανονισμών που πρέπει οι παραγωγοί τροφίμων να τηρούν. (Van Boeckel et al., 2015)

Λόγω των αρνητικών αυτών επιπτώσεων, που είναι ανάγκη να λαμβάνουμε υπόψη κατά την σωστή εκτροφή των ζώων και παραγωγή προϊόντων προς κατανάλωση, έχουν γίνει πολλαπλές προσπάθειες για την μείωση της χρήσης των αντιβιοτικών. Αυτό μπορεί να συμβεί με την υποχρέωση των παραγωγών να τηρούν συγκεκριμένους κανονισμούς, με την δημιουργία ορίων για την ποσότητα των αντιβιοτικών που επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί, καθώς και με την πραγματοποίηση συχνών και σωστών ελέγχων.



Στην παραπάνω εικόνα (ΕΙΚΟΝΑ 2), μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι η χρήση των αντιβιοτικών τα επόμενα χρόνια θεωρείται ότι θα συνεχίσει να αυξάνεται, σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί. Πιστεύεται ότι το ποσοστό της παγκόσμιας χρήσης των αντιβιοτικών για την εκτροφή των ζώων θα αυξηθεί έως και σε 67% μέχρι το 2030. (Van Boeckel et al., 2015) Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι απαιτήσεις για την παραγωγή περισσότερων προϊόντων, λόγω αύξησης του πληθυσμού, συνεχώς μεγαλώνουν. Το ποσοστό αυτό μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή. Συγκεκριμένα θεωρείται ότι οι ασιάτικες χώρες είναι αυτές που θα παρουσιάσουν την μεγαλύτερη αύξηση χρήσης αντιβιοτικών, καθώς και η Αφρική και η Λατινική Αμερική, αντίθετα στην Ευρώπη θεωρείται ότι το ποσοστό αυτό θα μειωθεί.

### 2.3 Είδη αντιβιοτικών και μηχανισμοί δράσης.

Τα αντιβιοτικά χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες με βάση την χημική τους δομή ή τα λειτουργικά τους χαρακτηριστικά. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, χρησιμοποιούνται κυρίως για την καταπολέμηση ή πρόληψη ασθενειών που προκαλούνται από μικροοργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί αυτοί, συνήθως είναι τα παθογόνα βακτήρια, αλλά και μερικοί μύκητες, ζύμες ή παράσιτα.

Η δράση των αντιβιοτικών, συνήθως είναι παρόμοια. Τα περισσότερα είδη έχουν την δυνατότητα να επηρεασουν τα κυτταρικά τοιχώματα ή τις μεμβράνες των παθογόνων μικροοργανισμών, ενώ άλλα αντιβιοτικά επηρεάζουν την πρωτεϊνική σύνθεση, αλληλεπιδρώντας με ριβοσωματικές υπομονάδες των μικροοργανισμών. Κάποιοι άλλοι μηχανισμοί που εμφανίζουν τα αντιβιοτικά είναι η παρέμβαση στην σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων, παρέμβαση στις μεταβολικές λειτουργίες ή διαταραχή της βακτηριακής μεμβράνης. (Sengupta et al., 2013)

Κατάλληλα αντιβιοτικά, θεωρούνται εκείνα που με την χρήση μικρών ποσοτήτων τους, μπορούν να πραγματοποιήσουν τον στόχο τους με επιτυχία. Θα πρέπει να παρουσιάζουν μεγάλη δυνατότητα θανάτωσης των παθογόνων Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων, καθώς και επιθυμητές ιδιότητες, όπως για παράδειγμα άριστη απορρόφηση, απόκριση κλπ. (Singh et al., 2017)

Συγκεκριμένα, κάποιες από τις κατηγορίες στις οποίες μπορούν να διακρίθουν τα αντιβιοτικά είναι οι β-λακτάμες (β-Lactam), γλυκοπεπτίδια (glycopeptides), αμινογλυκοζίδες (aminoglycosides), τετρακυκλίνες (tetracyclines), αμφενικόλες, φθοριοκινολόνες, καθώς και άλλες. Περισσότερες πληροφορίες για κάποιες από τις κατηγορίες αντιβιοτικών, αναλύονται παρακάτω.

- Glycopeptides / Γλυκοπεπτίδια

Γνωστό αντιβιοτικό αυτής της ομάδας αποτελεί η βανκομυκίνη. Έχει την δυνατότητα να επηρεάσει τα θετικά κατά gram βακτήρια, και χρησιμοποιείται από τα παλαιότερα χρόνια ως τελευταία λύση για την καταπολέμηση ασθενειών από μικροοργανισμούς με αντοχή στην μεθικιλίνη, και ιδιαίτερα του *Staphylococcus aureus* (MRSA). Μετά από έρευνες, παράχθηκε η τελαβανκίνη που αποτελεί έναν λιπόφιλο παράγωγο της βανκομυκίνης, και χρησιμοποιείται ευρέως για την καταπολέμηση οξείας βακτηριακής επιδερμίδας και άλλων λοιμώξεων της επιδερμίδας που προκαλούνται από θετικά κατά gram βακτήρια. (Singh et al., 2017)

- Aminoglycosides / Αμινογλυκοζίδες

Οι αμινογλυκοζίδες χρησιμοποιούνται ευρέως για την καταπολέμηση Gram αρνητικών και θετικών βακτηρίων. Αναστέλλουν την σύνθεση των βακτηριακών πρωτεϊνών, αλληλεπιδρώντας με την υπομονάδα 16S rRNA του 30S ριβοσώματος. Ένα μειονέκτημα που παρουσιάζει η ομάδα αυτών των αντιβιοτικών, είναι ότι μπορούν να προκαλούν αναστρέψιμη νεφροτοξικότητα και μη αναστρέψιμη ωτοτοξικότητα. Για τον λόγο αυτό, δεν χρησιμοποιούνται πολύ για την



καταπολέμηση ασθενειών, αλλά έρευνες πραγματοποιούν για την καλύτερη τους. (Singh et al., 2017)

- Tetracyclines / Τετρακυκλίνες

Οι τετρακυκλίνες αποτελούν μία ομάδα αντιβιοτικών που μπορούν επίσης να μειώσουν την σύνθεση της βακτηριακής πρωτεΐνης, επηρεάζοντας την υπομονάδα 16rRNA της 30S ριβοσωματικής ομάδας. Λόγω της αντοχής που έχουν αποκτήσει κάποιοι μικροοργανισμοί, έχει μειωθεί η δράση κάποιων αντιβιοτικών αυτής της ομάδας. Υπάρχουν όμως και εξαιρέσεις, όπως για παράδειγμα η τιγκεκυκλίνη, από την οποία έχει παραχθεί επίσης ένα μεγάλο ποσοστό συνθετικών τετρακυκλίνων με αυξημένη δράση. (Singh et al., 2017) Συνήθως χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση βακτηριακών ασθενειών του δέρματος. (Menkem et al., 2019)

- β-Lactam / β-λακτάμες

Οι β-λακτάμες διακρίνονται σε πενικιλίνη (penicillin), κεφαλοσπορίνη (cephalosporin), καρβαπενέμη (carbapenem) και μονοβακτάμες (monobactam). Αυτού του είδους τα αντιβιοτικά έχουν την δυνατότητα να μειώνουν την ανάπτυξη των βακτηρίων, επηρεάζοντας την σύνθεση των κυτταρικών τοιχωμάτων τους ή μεμβράνης τους. (Menkem et al., 2019) Αναστέλλουν την σύνθεση των κυτταρικών τοιχωμάτων δεσμεύοντας μία σειρά ενζύμων, πρωτεϊνών που δεσμεύουν την πενικιλίνη και που συνθέτουν ή και αναδιαμορφώνουν τις πεπτιδογλυκάνες.

Η αλλαγή της δομής της πενικιλίνης, οδήγησε στην δημιουργία καινούριων και αναβαθμισμένων αντιβιοτικών, όπως είναι η μεθικιλίνη. (Singh et al., 2017) Παρόμοια, από τις κεφαλοσπορίνες παράχθηκε ένα μεγάλο ποσοστό καινούριων αντιβιοτικών με αυξημένη δράση και αντοχή σε παραλλαγές. Η διαδικασία έγινε δυνατή λόγω των αλλαγών που μπόρεσαν να πραγματοποιηθούν σε δυο δομικές τοποθεσίες του μορίου, χαρακτηριζόμενα ως R και R<sub>1</sub>.

Υπάρχουν αντιβιοτικά τα οποία ανάλογα με το είδος τους, παρουσιάζουν εκλεκτικότητα για την καταλέμηση συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, η ιμιπενεμη αποτελεί μέρος της ομάδας καρβαπενέμης και έχει την δυνατότητα δράσης ενάντια θετικών και αρνητικών κατά gram βακτηρίων. Αντίθετα, οι αζτρεοναμες που ανήκουν στις μονοβακτάμες, δρουν μόνο ενάντια στα gram αρνητικά βακτήρια. (Singh et al., 2017)

#### 2.4 Methicillin.

Το πρώτο αντιβιοτικό της κατηγορίας των β-λακταμών αποτέλεσε η πενικιλίνη G (PnG). Αυτό το αντιβιοτικό παρουσιάζει αδύναμη δράση, και συνήθως μπορεί να καταπολεμήσει θετικά κατά gram βακτήρια, όπως για παράδειγμα *Staphylococcus spp* κλπ, ενώ αντίθετα τα αρνητικά κατά gram βακτήρια παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε αυτό. Είναι ασταθές σε αλκαλικό και όξινο περιβάλλον, και εύκολα μπορεί να καταστραφεί από τις σταφυλοκοκκικές β-λακταμάσες ή αλλιώς πενικιλινάσες. Παρόμοια δράση εμφανίζει και η πενικιλίνη V ή αλλιώς φαινοξυ-μεθυλ-πενικιλίνη. Αυτό το αντιβιοτικό εμφανίζεται σε μορφή άλατος Καλίου, διαλυτό στο νερό και σταθερό στο pH του γαστρικού υγρού. (Lima et al., 2020)

Ο *Staphylococcus aureus* άρχισε να αποκτά αντοχή στην πενικιλίνη G, λόγω της δυνατότητας των βακτηριακών πρωτεϊνών του να υδρολύουν τον δακτύλιο της β-λακτάμης της πενικιλίνης G. Με αυτό το φαινόμενο το αντιβιοτικό απενεργοποιείται και δεν μπορεί να δράσει κατάλληλα, που έχει ως αποτέλεσμα την δυσκολότερη ή και αδύνατη καταπολέμηση του *Staphylococcus aureus*. Σύντομα μετά την εμφάνιση της αντοχής του βακτηρίου στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό, οι ανησυχίες των ανθρώπων οδήγησαν στην αναγκαία παραγωγή καινούριων και ικανότερων αντιβιοτικών. (Lima et al., 2020)

Χρησιμοποιώντας την πενικιλίνη G και πραγματοποιώντας τις κατάλληλες αλλαγές, παράχθηκε ένα ημισυνθετικό αντιβιοτικό, η μεθικιλίνη. Συγκεκριμένα για την παραγωγή κάποιων συνθετικών αντιβιοτικών της πενικιλίνης, όπως και η μεθικιλίνη, χρησιμοποιήθηκαν 6-αμινοπενικιλανικά οξέα (6-aminopenicillanic

acids/ 6-APA). Τα οξέα αυτά παράγονται μέσω της πενικιλίνης G (PnG) και πενικιλίνης V (PnV). Η μεθικιλίνη έχει παρόμοια δομή με την πενικιλίνη G (PnG), με δυο μεθοξυ-ομάδες στο 2<sup>ο</sup> και 6<sup>ο</sup> φαινυλο-δακτύλιο. Παρουσιάζει αδυναμία σε όξινες ουσίες, και δεν έχει την δυνατότητα να διαπερνά της εξωτερικές μεμβράνες των αρνητικών κατά gram βακτηρίων με ευκολία. Έχει αυξημένη δράση ενάντια θετικών κατά gram βακτηρίων, όπως των *S. Aureus*, *S. Epidermidis*, κλπ. (Lima et al., 2020)

Κάποια στελέχη των gram θετικών βακτηρίων που αρχικά η μεθικιλίνη μπορούσε εύκολα να καταπολεμήσει, άρχισαν να εμφανίζουν ανθεκτικότητα και έτσι η δράση του αντιβιοτικού μειώθηκε. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα, και ίσως το πιο σημαντικό, αποτελεί το MRSA (Ανθεκτικός στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*) που παρουσιάζει αυξημένη επικινδυνότητα. Το φαινόμενο αυτό οδήγησε στην ανάγκη της υποκατάστασης της μεθικιλίνης με αρχικά την ναφσιλίνη και στην συνέχεια τις ισοξαζολυλοπενικιλίνες. Πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές προσπάθειες για την εύρεση ενός κατάλληλου αντιβιοτικού που θα μπορεί με επιτυχία να καταπολεμήσει αυτόν τον μικροοργανισμό. Αξιοσημείωτο παράδειγμα μπορεί να θεωρηθούν οι κεφταρολίνη και κεφτομπιρόλη. Αυτά τα αντιβιοτικά ανήκουν στην ομάδα της κεφαλοσπορίνης, και συγκεκριμένα αποτελούν τον ενεργό μεταβολίτη του προφαρμάκου κεφταρολίνη fosamil και κεφτομπιρόλη fosamil ανίστοιχα. Και τα δύο αντιβιοτικά έχουν την δυνατότητα να δράσουν ενάντια στα gram θετικά βακτήρια, καθώς και στις εντερικές gram αρνητικές ράβδους, με εξαίρεση συγκεκριμένων παραγωγών β-λακταμάσης εκτεταμένου φάσματος. (Lima et al., 2020)

### Κεφάλαιο 3: MRSA

#### 3.1 Ανθεκτικότητα μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά.

Όπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο, σύντομα μετά την έναρξη της χρήσης των αντιβιοτικών στους κλάδους της ιατρικής, κτηνιατρικής και παραγωγικής διαδικασίας τροφίμων, άρχισαν να παρατηρούνται διάφορα προβλήματα. Το σημαντικότερο από αυτά αποτέλεσε το γεγονός ότι κάποιοι παθογόνοι μικροοργανισμοί άρχισαν να αποκτούν ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένες αντιμικροβιακές ενώσεις που χρησιμοποιούνταν εναντίων τους. Το πρόβλημα αυτό προκαλεί ακόμη και στις μέρες μας ανησυχίες και θεωρείται ότι οφείλεται στην παρατεταμένη χρήση των αντιβιοτικών, ιδιαίτερα για μη-θεραπευτικούς σκοπούς. Ως αποτέλεσμα κάποιες ασθένειες είναι δύσκολο ή ακόμη και αδύνατον να καταπολεμηθούν.

Αναφορικά, και σύμφωνα με τούς C. Lee Ventola, 2015 έχει δημιουργηθεί ο παρακάτω πίνακας (ΠΙΝΑΚΑΣ 2) Στον πίνακα αυτόν, αναγράφονται οι χρονιές στις οποίες πραγματοποιήθηκαν οι σημαντικότερες ανακαλύψεις καινούριων αντιβιοτικών, καθώς και μικροοργανισμών που άρχισαν να παρουσιάζουν αντοχή σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά.

(ΠΙΝΑΚΑΣ 2.)

<b>Χρονιά</b>	<b>Παραγωγή Αντιβιοτικού</b>	<b>Εύρεση αντιβιοτικής αντοχής</b>
1940	-	Ανθεκτικό στην πενικιλίνη Staphylococcus
1943	Πενικιλίνη	-
1950	Τετρακυκλίνη	-
1953	Ερυθρομικίνη	-
1959	-	Ανθεκτική στην Τετρακυκλίνη Shigella
1960	Μεθικιλίνη	-
1962	-	Ανθεκτικό στην μεθικιλίνη Staphylococcus
1965	-	Ανθεκτικό στην Πενικιλίνη Pneumococcus
1967	Γενταμικίνη	-
1968	-	Ανθεκτικό στην Ερυθρομικίνη Streptococcus
1972	Βανκομικίνη	-
1979	-	Ανθεκτικό στην Γενταμικίνη Enterococcus
1985	Ιμιπενέμη και Κεφταζιδίνη	-
1987	-	Ανθεκτικό στην Κεφτεζιδίνη Enterobacteriaceae
1988	-	Ανθεκτικό στην Βανκομισίνη Enterococcus

1996	Λεβοφλοξασίνη	Ανθεκτικό στην Λεβοφλοξασίνη pneumococcus
1998	-	Ανθεκτικό στην Ιμιπενέμη Enterobacteriaceae
2000	Λινεζολιντ	Εκτεταμένα ανθεκτικό στα φάρμακα tuberculosis
2001	-	Ανθεκτικό στο Λινεζολιντ Staphylococcus
2002	-	Ανθεκτικό στην Βανκομισίνη Staphylococcus
2003	Νταπτομισίνη	-
2004/2005	-	PDR Acinetobacter και Pseudomonas
2009	-	Ανθεκτικό στην Κεφτριαξόνη Neisseria gonorrhoeae, PDR Enterobacteriaceae
2010	Κεφταρολίνη	-
2011	-	Ανθεκτικό στην Κεφταρολίνη Staphylococcus

Ανάλογα με το είδος του αντιβιοτικού που χρησιμοποιείται και του μικροοργανισμού που καταπολεμεί, υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί για την απόκτηση ανθεκτικότητας. Ένα χαρακτηριστικό των παθογόνων βακτηρίων, είναι οτι ανάλογα με το είδος τους μπορούν να εμφανίσουν προτίμηση για ένα συγκεκριμένο μηχανισμό. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα θετικά κατά gram και τα αρνητικά κατά gram βακτήρια παρουσιάζουν διαφορές στα κύτταρα τους. Οι μηχανισμοί ποικιλούν, από γενετικές μεταλλάξεις στον μικροοργανισμό, έως και πρόκληση μεταβολών στα ίδια τα αντιβιοτικά, όπως για παράδειγμα χημικές μεταβολές, καταστροφή μορίων τους, αλλαγή σημείου-στόχου, κλπ.

Η αντοχή των μικροοργανισμών σε αντιμικροβιακές ενώσεις, είναι μια φυσική διαδικασία που πραγματοποιείται για πολλαπλούς λόγους. Τα περισσότερα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται είναι φυσικά, γιατί λαμβάνονται από διάφορους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο περιβάλλον. Λαμβάνοντας υπόψη ότι παρόμοια με τους ωφέλιμους οργανισμούς, και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί βρίσκονται παντού στο περιβάλλον, τότε εύκολα έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιήσουν κατάλληλους μηχανισμούς για να αποκτήσουν αντοχή στα αντιβιοτικά και να επιβιώσουν. (Munita & Arias, 2016)

Η ανθεκτικότητα μπορεί να διαχωριστεί σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει την κλινική αντοχή αντιβιοτικών, η οποία συμβαίνει συνήθως λόγω της λανθασμένης χρήσης τους κατά την θεραπεία κάποιας ασθένειας. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει μικροβιολογική αντοχή, η οποία δημιουργείται λόγω της ύπαρξης ενός μηχανισμού αντοχής, γενετικά προσδιορισμένου. (MacGowan &

Macnaughton, 2017) Παρακάτω θα αναλυθούν κάποιοι βασικοί μηχανισμοί, που χρησιμοποιούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, κυρίως τα βακτήρια, για να διαμορφώσουν την ανθεκτικότητά τους.

Ένας από τους κύριους τρόπους που χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί για την απόκτηση αντοχής, αφορά την μετάλλαξη γονιδίων τους ή την μεταφορά γενετικού υλικού μεταξύ βακτηρίων ίδιου ή διαφορετικού είδους, που αλλιώς ονομάζεται οριζόντια μεταφορά γονιδίων (horizontal gene transfer/ HGT) (Munita & Arias, 2016) (MacGowan & Macnaughton, 2017) Στην περίπτωση της μετάλαξης, πραγματοποιείτε μία αλλαγή στα γονίδια ενός αρχικά ευαίσθητου σε αντιβιοτικά βακτηρίου, με αποτέλεσμα την μεταβολή της δράσης του φαρμάκου. Όταν το βακτήριο αποκτήσει πλέον πλήρη αντοχή στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό, και εφόσον όλα τα ευαίσθητα βακτήρια του είδους του καταστρέφονται, γίνεται η μετάδοση της αντοχής του στα επόμενα βακτήρια που αναπτύσσονται. Η δράση του αντιβιοτικού μπορεί να αλλάξει με διάφορους τρόπους, όπως για παράδειγμα απαιτώντας περισσότερη ποσότητα του για να πραγματοποιήσει τον στόχο του, ενεργοποιώντας μηχανισμούς εκροής για να μπορέσει να καταπολεμήσει τα επικίνδυνα μόρια, κλπ. (Munita & Arias, 2016)

Για να πραγματοποιηθεί η μεταφορά του γενετικού υλικού χρησιμοποιούνται κινητά γενετικά στοιχεία (mobile genetic elements/ MGEs), τα σημαντικότερα από τα οποία είναι τα πλασμίδια και τα transposons. Η μετάφορα γίνεται με τρεις (3) μεθόδους: (α) σύζευξη, δηλαδή επαφή κυττάρου-κυττάρου με πλασμιδική μεταφορά, (β) μεταγωγή, δηλαδή μεταφορά του βακτηριακού DNA μέσω ενός βακτηριακού ιου που υπάρχει στο κύτταρο και έχει την δυνατότητα να μεταφέρει ένα κομμάτι του DNA σε ένα σωματίδιο το οποίο θα μεταφερθεί στο επόμενο βακτηριακό κύτταρο, ή (γ) μεταμόρφωση, λαμβάνοντας ένα DNA από το περιβάλλον. (MacGowan & Macnaughton, 2017) Η μέθοδος της σύζευξης είναι αυτή που εμφανίζεται πιο συχνά σε βακτήρια του νοσοκομειακού περιβάλλοντος, και συγκεκριμένα στον γαστρεντερικό σωλήνα ανθρώπων που λαμβάνουν αντιβιοτική θεραπεία. Ένας επιπρόσθετος τρόπος μεταφοράς γενετικού υλικού κατά την σύζευξη, εκτός από τα κινητά γενετικά στοιχεία, είναι και η μεταφορά του από χρωμόσωμα σε χρωμόσωμα. Η τρίτη μέθοδος, δηλαδή η μεταμόρφωση, αποτελεί την πιο απλή μέθοδο αλλά

εμφανίζεται σε ένα σχετικά μικρό ποσοστό νοσοκομειακών βακτηριακών στελεχών. (Munita & Arias, 2016)

Όσον αφορά τους μηχανισμούς απόκτησης αντιβιοτικής αντοχής, ποικιλούν ανάλογα με το είδος του μικροοργανισμού και αντιβιοτικού που αναλύουμε. Όπως αναφέρθηκε, αυτές οι διαφορές μπορεί να υπάρχουν λόγω των χαρακτηριστικών των gram θετικών και gram αρνητικών βακτηριακών κυττάρων, καθώς και χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται. Ως παράδειγμα μπορούμε να θεωρήσουμε το γεγονός ότι τα gram θετικά βακτήρια καταφέρνουν να μεταβάλουν το σημείο-στόχο των αντιβιοτικών της κατηγορίας β-λακτάμης, ενώ αντίθετα τα gram αρνητικά βακτήρια μπορούν να χρησιμοποιήσουν περισσότερους τρόπους, οι οποίοι εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες. Τέτοιοι παράγοντες αποτελούν η ευαισθησία των ενζύμων-στόχων, τα χαρακτηριστικά και η ποσότητα των περιπλασματικών β-λακταμάσεων, η διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης και τέλος η αποδοτικότητα του συστήματος εκροής. (Lima et al., 2020) Εκτός από τις μεθόδους αυτές, και ιδιαίτερα για τα gram αρνητικά βακτήρια, επιπρόσθετος τρόπος είναι και η παραγωγή ενζύμων της κατηγορίας β-λακταμάσεων, που σταματούν την δράση των συγκεκριμένων αντιβιοτικών. (Munita & Arias, 2016)

Συγκεκριμένα οι β-λακταμάσες είναι ένζυμα που παρουσιάστηκαν σε στελέχη του *Staphylococcus aureus*, σύντομα μετά την έναρξη της χρήσης της πενικιλίνης στον κλάδο της ιατρικής. Όταν η κατηγορία β-λακτάμης αντιβιοτικών άρχισε να χρησιμοποιείται, αποτέλεσε μια από τις κύριες αιτίες πρόκλησης βακτηριακής αντοχής. Έχουν δημιουργηθεί διάφοροι τρόποι διάκρισης αυτών των ενζύμων, όπως για παράδειγμα μέσω του μοριακού τους βάρους, δράση εναντίων αντιβιοτικών της κατηγορίας β-λακτάμης, είδη αμινοξέων από τα οποία αποτελούνται, και άλλα. (Lima et al., 2020) Τα ένζυμα αυτά μπορούν να καταστρέψουν τον αμιδικό δεσμό του δακτυλίου της β-λακτάμης, προκαλώντας την πλήρη καταστροφή του αντιβιοτικού. Ακόμη και μετά από πολλές προσπάθειες παραγωγής καινούριων ειδών αντιβιοτικών της κατηγορίας αυτής, που θα μπορούν να επιβιώσουν την δράση των επικίνδυνων ενζύμων, τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά.

Τα βακτήρια, θετικά και αρνητικά κατά gram, παράγουν ένζυμα τα οποία έχουν την δυνατότητα να μεταβάλλουν χημικά τα μόρια των αντιβιοτικών. Ένα παράδειγμα αυτού του μηχανισμού θεωρούνται τα ένζυμα που μεταβάλουν της αμινογλυκοζίδες, αντιβιοτικά της κατηγορίας β-λακτάμης. Τα ένζυμα αυτά, μεταβάλλουν τις υδροξυλ ή αμίνο ομάδες των αμινογλυκοζίδων. Ένα ακόμη παράδειγμα θεωρείται και η μεταβολή της χλωραμφενικόλης. Αυτό πραγματοποιείται μέσω των ακετυλοτρανσφεράσεων, ή αλλιώς CATs (chloramphenicol acetyltransferases), και παρουσιάζονται δύο είδη αυτών των cat μορίων: A, που παρουσιάζει υψηλή αντοχή και B, που παρουσιάζει χαμηλή αντοχή στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό. (Munita & Arias, 2016)

Πολλά είδη αντιβιοτικών έχουν ενδοκυτταρικούς βακτηριακούς στόχους, εισέρχονται στα σημεία αυτά και ασκούν την αντιμικροβιακή τους ικανότητα. Κάποιοι όμως μικροοργανισμούς έχουν βρει διάφορους μηχανισμούς, με τους οποίους σταματούν τα αντιβιοτικά από το να φτάσουν στα σημεία-στόχους τους, μειώνοντας την δράση τους. Αυτό εμφανίζεται πιο συχνά στα αρνητικά κατά gram βακτήρια και αυτό διότι το αντιβιοτικό έχει ως σημείο-στόχο την εσωτερική τους μεμβράνη, αλλά η εξωτερική τους μεμβράνη δρα ως αμυντικός παράγοντας για πολλά τοξικά για αυτούς συστατικά, όπως και τα αντιβιοτικά. Οι αντιμικροβιακές ενώσεις που μπορούν να επηρεαστούν περισσότερο με αυτόν τον τρόπο, είναι αυτές που παρουσιάζουν υδροφυλικά χαρακτηριστικά, όπως οι β-λακτάμες. (Munita & Arias, 2016)

Επιπρόσθετος τρόπος των μικροοργανισμούς, με τον οποίον διώχνουν τα αντιβιοτικά από το κυτταρό τους εάν αυτό έχει καταφέρει να διαπεράσει την εσωτερική μεμβράνη, είναι η δημιουργία αντλιών εκροής. Ακόμη και αυτό το φαινόμενο, μπορεί εύκολα να οδηγήσει σε αντιβιοτική αντοχή. Οι αντλίες εκροής βρίσκονται συνήθως στα χρωμοσώματα ή στα κινητά γενετικά στοιχεία. Οι κατηγορίες των αντλιών εκροής είναι 5 και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την πηγή ενέργειας, τον τύπο του μικροοργανισμού στον οποίον εκτίθονται, την δομή τους καθώς και τα είδη στρωμάτων που μπορούν να εκβάλλουν.



Μηχανισμός απόκτησης αντιμικροβιακής αντοχής των βακτηρίων αποτελεί και η αλλαγή των σημείων στόχων των αντιβιοτικών. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της προστασίας των σημείων αυτών, με την χρήση χρωμοσωμάτων ή κινητών γενετικών στοιχείων. Επίσης, κάποιοι μικροοργανισμοί εμφανίζουν την δυνατότητα μεταβολής του σημείου-στόχου. Συγκεκριμένα, τα παθογόνα βακτήρια συνήθως, μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές, όπως για παράδειγμα μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν αυτά τα συγκεκριμένα σημεία, ενζυμικές αλλαγές του σημείου, ή και αντικατάσταση ή παράκαμψη του αρχικού σημείου- στόχου. (Munita & Arias, 2016)

Τα βακτήρια καθώς και διάφοροι μύκητες, για να μπορέσουν να επιζήσουν στις συνθήκες του περιβάλλοντος δημιουργούν βιοφίλμ (biofilm), που αλλιώς ονομάζονται βιομεμβράνες ή βιοϋμένια. Οι βιομεμβράνες είναι δομημένες ομάδες βακτηρίων σε μία αυτό-παραγόμενη πολυμερή μήτρα, που αποτελείται από πολυσακχαρίδια, πρωτεΐνες και εξωκυττάριο DNA. Το βακτηριακό βιοφίλμ είναι ανθεκτικό σε χημικά απολυπαντικά, αντιβιοτικά και άλλα συστατικά του έμφυτου και προσαρμοστικού φλεγμονώδους αμυντικού συστήματος του σώματος. (Frieri et al., 2017)

Θρεπτικά συστατικά καθώς και οξυγόνο υπάρχει σε όλο το μήκος των βιομεμβρανών, και όταν τα βακτηριακά κύτταρα δεν έχουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, μειώνεται ο μεταβολισμός τους. Αυτά τα κύτταρα αποτελούν μια από τις αιτίες για την εμφάνιση της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά. Καθώς δημιουργούνται τα βιοφίλμ, πραγματοποιείται και ένας αυξημένος αριθμός μεταλλάξεων. Τα βιοφίλμ επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω διάφορων μορίων, τα οποία μόρια ενεργοποιούν γονίδια που πραγματοποιούν την παραγωγή λοιμογόνων παραγόντων και της δομής βιοφίλμ. Αυτό ονομάζεται μηχανισμός διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας και εξαρτάται από την συγκέντρωση των μορίων και των βακτηρίων.(Frieri et al., 2017) Η δημιουργία των βιοφίλμ μπορεί να προληφθεί με την χρήση αντιβιοτικών ή ισχυρή αντιβιοτική θεραπεία και μπορεί να καταπολεμηθεί με την χρονική κατασταλτική αντιβιοτική θεραπεία.

(ΠΙΝΑΚΑΣ 3.)

<b>Μηχανισμοί που χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί για την απόκτηση ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά</b>
○ Μετάλλαξη γονιδίων
○ Μεταφορά γενετικού υλικού μεταξύ βακτηρίων (HGT) με την βοήθεια κινητών γενετικών στοιχείων (MGEs): σύζευξη, μεταγωγή ή μεταμόρφωση.
○ Μεταβολή σημείου-στόχου των αντιβιοτικών
○ Χρήση ενζύμων για την «απενεργοποίηση» των αντιβιοτικών, όπως οι β-λακτάμες
○ Μεταβολή των χημικών μορίων των αντιβιοτικών
○ Αποτροπή των αντιβιοτικών να φτάσουν στα σημεία-στόχοι
○ Δημιουργία ανλιών εκροής
○ Δημιουργία biofilms

### 3.2 Ανθεκτικότητα του παθογόνου *Staphylococcus aureus* στην Μεθικιλίνη (MRSA/ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*).

Η καταπολέμηση του *Staphylococcus aureus* αποτελεί εδώ και πολλά χρόνια μια πολύ δύσκολη διαδικασία. Όπως είναι γνωστό, το παθογόνο αυτό βακτήριο μπορεί εύκολα να αναπτύξει ανθεκτικότητα σε οποιαδήποτε συνθήκη βρίσκεται. Όταν πραγματοποιήσει την πλήρη ανάπτυξη του, παράγει τις τοξίνες, οι οποίες στην συνέχεια όταν περάσουν στους ανθρώπους και τα ζώα με έμμεσους ή άμεσους τρόπους, μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες.

Τα αντιβιοτικά αποτελούν έναν από τους μοναδικούς τρόπους καταπολέμησης του *Staphylococcus aureus*, εκτός από την τήρηση όλων των αυστηρών κανόνων υγιεινής. Με την συνεχόμενη χρήση όμως, των κατάλληλων φαρμάκων για την μείωση της ανάπτυξης ή και της πλήρης θανάτωσης του βακτηρίου του, παρατηρήθηκε αύξηση αντοχής στα αντιβιοτικά. Ως αποτέλεσμα, οι ειδικοί ήταν, και είναι ακόμη, υποχρεωμένοι να συνεχίσουν τις αναζητήσεις τους για καινούρια αντιβιοτικά που θα μπορέσουν να βοηθήσουν στην καταπολέμηση του. Ο *Staphylococcus aureus* όμως, έχει την δυνατότητα να χρησιμοποιήσει διάφορους μηχανισμούς για την απόκτηση της ανθεκτικότητας, οι οποίοι θα αναλυθούν παρακάτω.

Η μεθικιλίνη αποτελεί το πρώτο ημισυνθετικό αντιβιοτικό που παράχθηκε από την πενικιλίνη. Ο κύριος σκοπός του αντιβιοτικού αυτού είναι η καταπολέμηση των σταφυλόκοκκων που παράγουν το ένζυμο β-λακταμάση. Η ανθεκτικότητα του *Staphylococcus aureus* στο αντιβιοτικό αυτό παρατηρήθηκε στις αρχές του 1960 σε νοσοκομειακό περιβάλλον, αλλά σύντομα επεκτάθηκε στην κοινότητα, με αποτέλεσμα να επηρεάσει αρνητικά πολλούς ανθρώπους και ζώα. Το παθογόνο αυτό βακτήριο υπάρχει σε όλων τον κόσμο, αλλά εμφανίζεται συνήθως σε κύματα μόλυνσης. (Turner et al., 2019)

Υπάρχουν τρία είδη ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*, και συγκεκριμένα:

- HA-MRSA/ Health-care-associated MRSA: συνηθές σε νοσοκομειακό περιβάλλον.
- CA-MRSA/ Community-associated MRSA: συνηθές σε περιβάλλον εκτός νοσοκομειακού.
- LA-MRSA/ Livestock-associated MRSA: συνηθές στα εκτρεφόμενα ζώα

Η διαφορά μεταξύ των HA-MRSA και CA-MRSA αρχικά, ήταν ότι η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει μικρότερα SCCmec γονίδια, παράγει μια κυτοτοξίνη που σχετίζεται με λοιμώξεις του δέρματος, την Panton-Valentine Leukocidin, και παρουσίαζε ανθεκτικότητα σε λιγότερα αντιβιοτικά της β-λακτάμης. Μέσω της συνεχόμενης ανάπτυξης του μικροοργανισμού αυτού παρατηρήθηκε η ύπαρξη του CA-MRSA και σε νοσοκομειακό περιβάλλον, με αποτέλεσμα την μείωση της ικανότητας διαφοράς των δύο αυτών μικροοργανισμών μεταξύ τους. (Lee et al., 2018) (Lakhundi & Zhang, 2018)

Η αντοχή του *Staphylococcus aureus* μπορεί να δημιουργηθεί με την βοήθεια κινητών γενετικών στοιχείων, ή αλλιώς MGEs (Mobile genetic elements). Υπάρχουν πολλαπλά είδη τέτοιων στοιχείων, όπως για παράδειγμα SCCs (staphylococcal chromosome cassettes), ICEs (integrative conjugative elements), πλασμίδια, transposons, και άλλα. Τα πιο πολλά κλινικά είδη του παθογόνου αυτού μικροοργανισμού περιέχουν πλασμίδια που περιέχουν συνήθως ένα ή περισσότερα γονίδια με αντιβιοτική ανθεκτικότητα. Τα πλασμίδια διακρίνονται σε μικρά, τα οποία προσδίδουν

ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά των ομάδων ερυθρομικίνη, χλωρομφενικόλη και τετρακυκλίνη, και μεγάλα, που προσδίδουν ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά των ομάδων β-λακτάμη, αμινογλυκοσίδη και μακρολίδη. (Haaber et al., 2017)

Το MGE που παρουσιάζει την μεγαλύτερη σημαντικότητα για την απόκτηση αντοχής του *Staphylococcus aureus* σε μεθικιλίνη είναι το SCC. Σύγκεκριμένα το γονίδιο *mecA* που προσδίδει την ανθεκτικότητα, είναι συνηθισμένο συστατικό του συμπλέγματος SCC, επομένως λαμβάνουμε την ονομασία SCCmec (Staphylococcal cassette chromosome mec). Το σύμπλεγμα αυτό κατάφερνει να προσφέρει στο παθογόνο βακτήριο ανθεκτικότητα στα περισσότερα αντιβιοτικά της κατηγορίας β-λακτάμης. Υπάρχουν 13 διαφορετικά είδη συμπλέγματος SCCmec (SCCmec types I-XIII), τα οποία μπορούν να διαχωριστούν μεταξύ τους με βάση τον τύπο του *ccr* (cassette chromosome recombinase) συμπλέγματος που περιλαμβάνουν (*ccrA*, *ccrB* και *ccrC*), καθώς και της τάξης του συμπλέγματος *mec* (*mecA*, *mecC*, *mecB*, *mecD*, κ.α). Επιπρόσθετα, το σύμπλεγμα SCCmec μπορεί να αποτελείται και από τρία J regions που περιέχουν ψευδογονίδια και αντίγραφα transposons. (Lee et al., 2018) (Lakhundi & Zhang, 2018)

Όλα τα είδη SCCmec περιλαμβάνουν *mecA* γονίδιο, το οποίο μπορεί να ενσωματώνεται στα χρωμοσώματα του σημείου-στόχου και να παράγει πρωτεΐνη 2a δέσμευσης πενικιλίνης (PBP2a). Η πρωτεΐνη αυτή παρουσιάζει μικρή ευαισθησία στα αντιβιοτικά της κατηγορίας β-λακτάμης, σε σύγκριση με τις άλλες πρωτεΐνες που μπορεί να παράξει ο παθογόνος μικροοργανισμός. Επομένως αυτού του είδους ανθεκτικότητα, που προκαλείται από τα *mecA* γονίδια, βοηθάει το παθογόνο βακτήριο στην αντιμετώπιση πολλαπλών αντιβιοτικών της κατηγορίας β-λακτάμης, και μεταδίδεται εύκολα σε διάφορα είδη σταφυλοκοκκικών βακτηρίων. (Lee et al., 2018). (Doulgeraki et al., 2017)

- **Είδη mec και mec gene complex:**

Σύμφωνα με έρευνες, διαπιστώθηκε ότι η ανθεκτικότητα του παθογόνου *Staphylococcus aureus* στην μεθικιλίνη, αλλά και στα cephem, οφείλεται σε μία

καινούρια πρωτεΐνη δέσμευσης πενικιλίνης (PBP) γνωστή ως PBP2' ή PBP2a. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, αυτή η πρωτεΐνη βρίσκεται μέσα στα χρωμοσώματα του βακτηρίου και παρουσιάζεται μόνο στα στελέχη με ανθεκτικότητα. Όταν η ανθεκτικότητα προκαλείται από το γονίδιο *mecA*, που αποτελεί μέρος του κινητού γενετικού στοιχείου *SCCmec*, τότε παρατηρείται μείωση ενζυμικής ακυλίωσης που προκαλείται από την β-λακτάμη, αλλά και μείωση της συγγένειας για τα αντιβιοτικά της κατηγορίας αυτής. Το σημείο-στόχος της πρωτεΐνης που παράγεται, μπορεί να επηρεάσει πολύ λιγότερο από τα αντιβιοτικά β-λακτάμης σε σύγκριση με τις συνηθείς PBP. (Lakhundi & Zhang, 2018)

Παρόμοια με το γονίδιο *mecA*, έτσι και το γονίδιο *mecC* παίζει σημαντικό ρόλο στην δημιουργία της ανθεκτικότητας διάφορων μικροοργανισμών στην μεθικιλίνη και σε άλλα αντιβιοτικά, όπως η οξακυλλίνη ή η κεφοξιτίνη. Παρόλο που εμφανίζει παρόμοια δράση με το γονίδιο *mecA*, αλλά δεν έχουν την ίδια δομή. Για την διαφοροποίηση των δύο γονιδίων μεταξύ τους απαιτούνται συγκεκριμένες τεχνικές ανάλυσης. Τα γονίδια *mecA* και *mecC* εμφανίζονται και σε άλλους μικροοργανισμούς εκτός από τον *Staphylococcus aureus*. (Lakhundi & Zhang, 2018)

Παρατηρήθηκε μια καινούρια ομάδα γονιδίων *mec* που προκύπτει χρωμοσωματικά αλλά και πλασμίδικα στον μικροοργανισμού *Macroccoccus caseolyticus*, που είναι συγγενικός με τον *Staphylococcus*. Ακόμη και αν ανήκει στο γένος *Macroccoccus*, ονομάστηκε *mecB* καθώς εμφανίζει νουκλεοτιδική αλληλουχία ίδια με το γονίδιο *mecA* του *Staphylococcus aureus* κατά ποσοστό 60%, και προκαλεί ανθεκτικότητα σε μεθικιλίνη. Το γονίδιο *mecD* προκαλεί αντοχή σε πολλαπλά είδη αντιβιοτικών β-λακτάμης, ακόμη και σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται κατά του MRSA. (Lakhundi & Zhang, 2018)

Το σύμπλεγμα γονιδίου *mec* αποτελείται από τα διάφορα είδη γονιδίων *mec*, τα ρυθμιστικά συστατικά του, δηλαδή *mecR1* (κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που δημιουργεί σήματα) και *mecI* (κωδικοποιεί μία κατασταλτική πρωτεΐνη), και συσχετιζόμενες IS (Insertion sequences). Σύμφωνα με τις διαφορές τους, διακρίνονται σε 5 ομάδες από A έως και E. (Lakhundi & Zhang, 2018)

- **Είδη ccr και ccr gene complex:**

Στον *Staphylococcus aureus* έχουν βρεθεί γονίδια ccr, που παρουσιάζουν ομοιότητα αλληλουχίας DNA <50%, και συγκεκριμένα τα ccrA, ccrB και ccrC. Όταν όμως οι αλληλουχίες DNA έχουν ομοιότητα του ποσοστού 50% με 85%, τότε ονομάζονται νέοι αλλότυποι του γονιδίου ccr, ενώ για >85% ονομάζονται ίδιοι αλλότυποι. Τα γονίδια ccrA και ccrB κατατάσσονται στην κατηγορία των νέων αλλότυπων, και υπάρχουν πολλαπλές ομάδες (ccrA ή B από 1 μέχρι 7). Το γονίδιο ccrC εντάσσεται στην κατηγορία των ίδιων αλλότυπων αλλά υπάρχει και το είδος ccrC2 της κατηγορίας νέων αλλότυπων. (Lakhundi & Zhang, 2018) (Doulgeraki et al., 2017)

- **J regions:**

Τα J regions προσδίδουν επιπλέον αντιβιοτική αντοχή στους μικροοργανισμούς, αλλά δεν αποτελούν ουσιώδη συστατικά. Ανάλογα με την τοποθεσία τους στο σύμπλεγμα SCCmec διακρίνονται σε: J1, βρίσκεται μεταξύ δεξιάς χρωμοσωμικής διασταύρωσης και γονιδίου ccr, J2, βρίσκεται μεταξύ συμπλέγματος γονιδίου ccr και mec, και τέλος J3, που βρίσκεται μεταξύ συμπλέγματος γονιδίου mec και αριστερής χρωμοσωμικής διασταύρωσης. (Lakhundi & Zhang, 2018) (Doulgeraki et al., 2017)

Η σύζευξη αποτελεί έναν από τους κύριους τρόπους μεταφοράς ανθεκτικών γονιδίων στον *Staphylococcus aureus*. Η μέθοδος αυτή πραγματοποιείται με την χρήση πλασμιδίων ως MGE. Παρ'όλα αυτά, και τα ICEs (integrative conjugative elements) μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτήν την μέθοδο για την μεταφορά των γονιδίων, καθώς μπορούν να κωδικοποιήσουν τις κατάλληλες γενετικές λειτουργίες. Το σημαντικότερο είδος πλασμιδίου που πραγματοποιεί σύζευξη με επιτυχία στον παθογόνο *Staphylococcus aureus* είναι το pSK41. Προσδίδει ανθεκτικότητα κυρίως σε αμινογλυκοζίδες, αλλά και διάφορα άλλα είδη αντιβιοτικών, όπως πενικιλίνη, τετρακυκλίνη, κλπ. (Haaber et al., 2017)

Τα στελέχη του *Staphylococcus aureus* περιλαμβάνουν λειτουργικούς βακτηριοφάγους ενσωματωμένους στα γονίδια τους ως προφάγους, και συμμετέχουν στην εξέλιξη του βακτηρίου αυτού, καθώς και στην μόλυνση των ανθρώπων με αυτόν. Όταν ο μικροοργανισμός έρθει σε επαφή με κάποιο αντιβιοτικό, ή βρίσκεται σε οξειδωτικό στρες, επηρεάζεται αρνητικά το DNA του και έτσι για να μπορέσει να προστατευτεί ενεργοποιεί τους προφάγους. Αυτοί εισέρχονται στον λυτικό κύκλο, προκαλώντας παραγωγή απόγονω-φάγων και λύση του κύτταρου ξενιστή. Στην συνέχεια, στο εσωτερικό του φάγου ενσωματώνεται βακτηριακό DNA, παράγοντας ένα σωματίδιο που με ευκολία μεταφέρει το βακτηριακό DNA από το κύτταρο ξενιστή σε κάποιο άλλο κύτταρο. Η μέθοδος αυτή ονομάζεται γενικευμένη μεταγωγή. Εκτός από τα πλασμίδια, μπορούν να μεταφερθούν και άλλα MGEs με τον μηχανισμό αυτό, όπως για παράδειγμα τα *SSCmec* που αποτελούν και τα σημαντικότερα για την απόκτηση αντοχής κατά της μεθικιλίνης. (Haaber et al., 2017)

Ένας ακόμη μηχανισμός, που χρησιμοποιεί ο *Staphylococcus aureus* για να αποκτήσει αντοχή, αν και σε σπανιότερες περιπτώσεις, αποτελεί και η μεταμόρφωση/transformation. Στην περίπτωση αυτή απαιτούνται να υπάρχουν γονίδια ικανά για την πραγματοποίηση του μηχανισμού αυτού, τα οποία για τον *Staphylococcus aureus* ρυθμίζονται από έναν εναλλακτικό παράγοντα σίγμα, SigH. Το SigH μπορεί να συσσωρεύεται σε έναν κατάλληλο βαθμό έτσι ώστε να προσδίδει στα κύτταρα του βακτηρίου την ικανότητα να μεταμορφωθούν φυσικά με χρωμοσωματικό και πλασμιδικό DNA, συμπεριλαμβάνοντας και το σύμπλεγμα *SCCmecII*. (Haaber et al., 2017)

Η μεταφορά των ανθεκτικών γονιδίων έχει παρατηρηθεί κατά την διάρκεια της μόλυνσης των ανθρώπων ή των ζώων. Ένα άλλο σημείο πραγματοποίησης της μεταφοράς των γονιδίων αυτών, είναι μέσα στα biofilms. Ο σχηματισμός των biofilms του παθογόνου *Staphylococcus aureus* συμβαίνει όταν λαμβάνει μέρος μια λοίμωξη, καθώς και σε ιατρικά εμφυτεύματα. Όταν όμως, υπάρχει έλλειψη επιφανείων, τότε το βακτήριο αδρανοποιείται, με αποτέλεσμα να είναι υποχρεωμένο να χρησιμοποιήσει πρωτεΐνες του ξενιστή. Σύμφωνα με έρευνες, οι μηχανισμοί της

σύζευξης, κινητοποίησης και μεταγωγής είναι ενισχυμένοι κατά την διάρκεια του σχηματισμού των biofilms του *Staphylococcus aureus*. (Haaber et al., 2017)

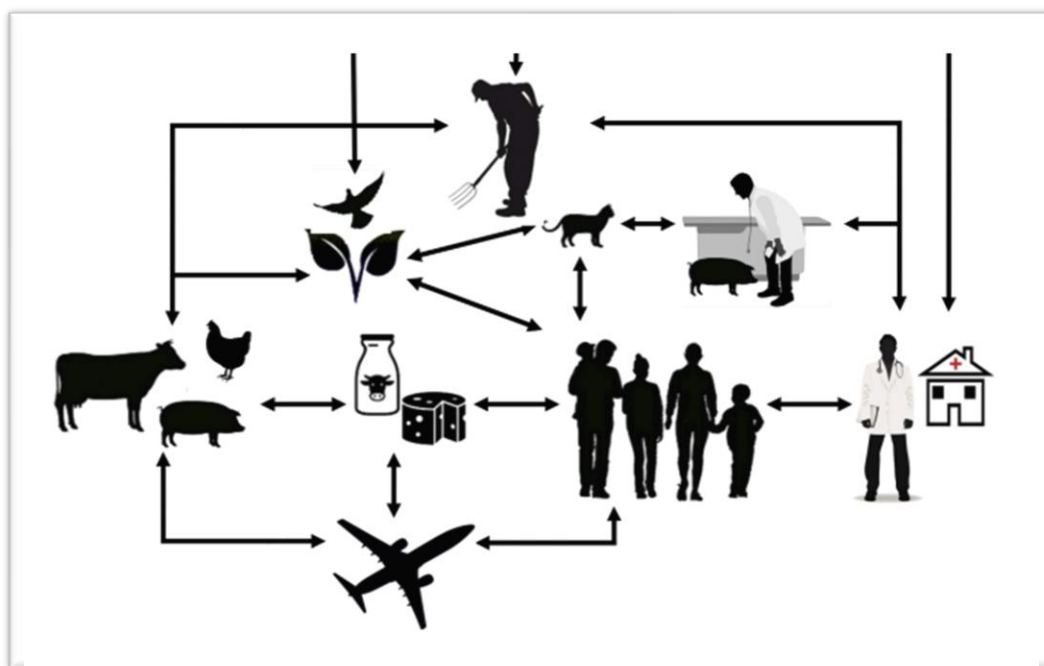
Οι αρνητικές επιπτώσεις του παθογόνου αυτού βακτηρίου είναι πολλαπλές, και το γεγονός ότι έχει την ικανότητα να αποκτά με ευκολία ανθεκτικότητα σε πολλά είδη αντιβιομικροβιακών ενώσεων που χρησιμοποιούνται εναντίων του, τον καθιστά πολύ επικίνδυνο μικροοργανισμό. Τα αρνητικά αποτελέσματα που προκαλούν τα διάφορα είδη του MRSA, αναλύονται στο επόμενο κεφάλαιο.



#### Κεφάλαιο 4: Είδη MRSA

Ακόμη και αν ο ανθεκτικός στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* αρχικά παρουσιάστηκε μόνο σε νοσοκομιακό επίπεδο, δεν άργησε να εξαπλωθεί και στο περιβάλλον εκτός αυτού. Το MRSA είναι ένας παθογόνος μικροοργανισμός που προκαλεί ανησυχίες εδώ και πολλά χρόνια σε πολλούς ανθρώπους, κυρίως λόγω της δυσκολίας καταπολέμησης του. Έχουν, με την εξέλιξη της τεχνολογίας, δημιουργηθεί καινούρια αντιβιοτικά που θα μπορούσαν να μειώσουν την δράση του ή και να τον θανατώσουν, αλλά μετά από κάποιο χρονικό διάστημα παρατηρούνται στελέχη του βακτηρίου αυτού με ανθεκτικότητα στα συγκεκριμένα αντιβιοτικά.

Το αποτέλεσμα αυτού του γεγονότος είναι η πρόκληση πολλαπλών αρνητικών επιπτώσεων στους ανθρώπους, στα ζώα και στην συνέχεια στα τρόφιμα τα οποία παράγονται από εκτρεφόμενα ζώα. Η καταπολέμηση του σε οποιοδήποτε περιβάλλον αποτελεί λοιπόν, μια περίπλοκη διαδικασία. Η ανάπτυξη και η δράση του επηρεάζεται από πολλαπλούς παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από όλους τους ανθρώπους. Η μεταφορά του μικροοργανισμού από το ένα περιβάλλον στο άλλο, μπορεί να πραγματοποιηθεί με πολλαπλούς τρόπους. Όλοι οι οργανισμοί έρχονται σε επαφή μεταξύ τους, και έτσι εάν το βακτήριο καταφέρει να εξαπλωθεί τότε είναι πολύ δύσκολη η μείωση της ανάπτυξης του.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1

Στο παραπάνω σχήμα (ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1) (Oniciuc et al., 2017), αναγράφονται οι πιθανοί τρόποι μετάδοσης του παθογόνου MRSA από οργανισμό σε οργανισμό. Ο πιθανότητες είναι πολλαπλές και εάν δεν επικρατούν όλες οι απαραίτητες συνθήκες υγιεινής, τότε ο μικροοργανισμός θα καταφέρει να εξαπλωθεί και η καταπολέμηση του θα γίνει δυσκολότερη. Παρατηρούμε ότι από τα εκτρεφόμενα ζώα, το βακτήριο μπορεί να μεταφερθεί στα τρόφιμα προς κατανάλωση που παράγονται, στο περιβάλλον γύρω από τα κτηνοτροφία, στους εργάτες των κτηνοτροφιών, καθώς και σε άλλες χώρες λόγω της εξαγωγής των ζώων. Στην συνέχεια από τα τρόφιμα, πραγματοποιείται η μεταφορά του παθογόνου στους ανθρώπους, στα ζώα (λόγω της ζωοτροφής), και σε άλλες χώρες. Οι άνθρωποι με την σειρά τους μεταφέρουν τον μικροοργανισμό σε νοσοκομειακά περιβάλλοντα, σε κατοικίδια ζώα, στο περιβάλλον γύρω τους, κλπ.

Διαπιστώνουμε λοιπόν την εύκολια με την οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της μεταφοράς του μικροοργανισμού, καθώς και οποιουδήποτε άλλου, από περιβάλλον σε περιβάλλον. Προσπάθειες καταβάλλονται από πολλές χώρες του κόσμου, για να διατηρούνται όλα υπό έλεγχο και να πραγματοποιούνται οι απαραίτητοι έλεγχοι. Ανάλογα με την επικινδυνότητα του μικροοργανισμού, υπάρχουν περισσότερο ή λιγότερο αυστηροί κανονισμοί που διαχειριστές εκτρεφόμενων ζώων, τροφίμων, καθώς και οι καταναλωτές πρέπει να τηρούν.

Για την ευκολότερη διαχείριση του MRSA, λαμβάνοντας υπόψη ότι μπορεί να βρεθεί σε διάφορα σημεία του περιβάλλοντος, έχουν ληφθεί ορισμένες ονομασίες για το βακτήριο αυτό. Αυτές οι ονομασίες διαχωρίζουν το είδος του MRSA από περιβάλλον σε περιβάλλον, και έτσι είναι πιο απλό να ανιχνευθεί, να βρεθούν λύσεις για την καταπολέμηση του, και άλλα. Εκτός αυτού, τα είδη του MRSA παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους. Οι τρεις κατηγορίες είναι: HA-MRSA (Hospital-associated Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) ή Νοσοκομειακό MRSA, CA-MRSA (Community-associated Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) ή MRSA που σχετίζεται με την κοινότητα, LA-MRSA (Livestock-associated Methicillin resistant

*Staphylococcus aureus*) ή MRSA που σχετίζεται με την κτηνοτροφία. Πληροφορίες για τις κατηγορίες αυτές, παρουσιάζονται στην συνέχεια.

#### 4.1 Hospital-associated Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA).

Το MRSA αποτελεί ένα συνηθισμένο παθογόνο βακτήριο στο νοσοκομείο περιβάλλον, και επηρεάζει ακόμη και σήμερα ένα μεγάλο αριθμό ανθρώπων. Για να μπορέσει να διαχωριστεί από τα άλλα στελέχη του MRSA που εμφανίζονται εκτός του περιβάλλοντος αυτού, έλαβε την ονομασία HA-MRSA (Νοσοκομειακό Ανθεκτικό στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*). Η δυσκολία της καταπολέμησης του βακτηρίου, οφείλεται κυρίως στην ανθεκτικότητα που παρουσιάζει σε αντιβιοτικές ενώσεις. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την άμεση αρνητική επίδραση των ανθρώπων ή και ζώων, καθώς μπορούν να επηρεαστούν με ευκολία από αυτόν και να αυξήσει την θνησιμότητα και την νοσηρότητα, ενώ ταυτόχρονα υπάρχει και μία έμμεση επίδραση στην οικονομία.

Η περιοχή του σώματος στην οποία εμφανίζονται οι πιο πολλές αποικίες αυτού του μικροοργανισμού είναι τα ρουθούνια, αλλά και τα χέρια, οι πληγές, ο λαιμός, κ.α. Εάν οι συνθήκες υγιεινής δεν είναι οι κατάλληλες, και δεν τηρούνται όλοι οι κανόνες με τον σωστό τρόπο, τότε όταν κάποιος άνθρωπος που είναι μολυσμένος με HA-MRSA έρχεται σε επαφή με υγιείς ανθρώπους ή με αντικείμενα που στην συνέχεια θα χρησιμοποιήσουν υγιείς άνθρωποι, το βακτήριο μπορεί να μεταφερθεί από το ένα σύστημα στο άλλο και να προκαλέσει περαιτέρω μολύνσεις με άμεσο ή με έμμεσο τρόπο. (Hafsat Ali Grema et al., 2015)

Το παθογόνο βακτήριο, εμφανίζει την δυνατότητα επιμόλυνσης νοσηλευμένων ανθρώπων, διότι εμφανίζουν πιο αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα. Όταν ο ανθρώπινος οργανισμός επηρεάζεται από οποιοδήποτε είδος πόνου, πληγής ή και ασθένειες, τότε απαιτείται να μεταβάλει κάποιες λειτουργικές διαδικασίες του για να μπορέσει να καταπολεμήσει το πρόβλημα. Αυτό σημαίνει ότι ένα ποσοστό της ενέργεια που παραλαμβάνει με διάφορους τρόπους, όπως για παράδειγμα μέσω των τροφίμων, πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τον σκοπό της καταπολέμησης του

προβλήματος. Στην κατάσταση αυτή ο παθογόνος MRSA, όπως και άλλοι μικροοργανισμοί, βρίσκει την δυ(Lakhundi & Zhang, 2018)νατότητα να «επιτεθεί» στον ανθρώπινο οργανισμό, να αναπτυχθεί με επιτυχία, και να προκαλέσει διάφορες ασθένειες. Άνθρωποι με αδύναμο οργανισμό, θεωρούνται αυτοί που έχουν δερματικές ασθένειες ή πληγές, αυτοί που λαμβάνουν αντιβιοτική θεραπεία, αυτοί που παραμένουν στο νοσοκομειακό περιβάλλον για εκτεταμένο χρονικό διάστημα, ανθρώπους τρίτης ηλικίας, κλπ.

Η ανάπτυξη του μικροοργανισμού αυτού μπορεί να επηρεάζεται και από τις ασθένειες που είδη εμφανίζουν οι άνθρωποι. Τέτοιες ασθένειες είναι οι αιμοκάθαρση, καρκίνος, πιθανή παλαιότερη μόλυνση από το MRSA, σακχαρώδης διαβήτης, νοσηλεία, χειρουργική επέμβαση, προηγούμενη αντιβιοτική θεραπεία, ή και προσέλευση σε μονάδες εντατικής θεραπείας (ICU/ Intensive care units). Ταυτόχρονα, ακόμη και η δράση του μικροοργανισμού αυτού επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Οι σημαντικότεροι από τους οποίους αποτελούν η ικανότητα του να καταπολεμήσει διάφορες αντιμικροβιακές ενώσεις, να διατηρήσει την ανάπτυξη του σε οποιαδήποτε συνθήκη, και διάφοροι προσδιοριστικοί παράγοντες της μολυσματικότητας. (Lakhundi & Zhang, 2018) Οι ασθένειες που μπορεί να προκαλέσει ο επικίνδυνος HA-MRSA σχετίζονται συνήθως με τον ενδοφλέβιο καθετήρα, την πνευμονία, την ενδοκαρδίτιδα, τις λοιμώξεις απο χειρουργικές πληγές, την δερματίτιδα, τις σηψαιμίες, τα καρδιαγγειακά και αναπνευστικά προβλήματα.

#### 4.2 Community-associated Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA).

Η εξάπλωση του MRSA στον γενικό πληθυσμό, δηλαδή έξω από το νοσοκομειακό περιβάλλον, παρατηρήθηκε περίπου στα μέσα του 1900. Σύντομα, έλαβε την ονομασία CA-MRSA, ακόμη και αν παρουσιάζει παρόμοιες δράσεις με το HA-MRSA, για να μπορεί να πραγματοποιηθεί η σωστή διαφορά μεταξύ τους. Το CA-MRSA σημαίνει Ανθεκτικό στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* που σχετίζεται με την κοινότητα, και παρουσιάζει συνεχόμενη εξέλιξη. Στις αρχές του 2000 αναφέρθηκαν μεγάλοι αριθμοί κρουσμάτων MRSA σε πολλαπλές χώρες, που είτε προκάλεσαν διεθνή επιδημία είτε εμφανίστηκαν μόνο σε συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές,

σε πληθυσμό που βρίσκονταν εκτός του νοσοκομειακού περιβάλλοντος και δεν είχαν καμία επαφή. (Kong et al., 2016)

Υπάρχουν πολλαπλά στελέχη CA-MRSA, και η εμφάνισή τους εξαρτάται από την γεωγραφική περιοχή, αλλά πέντε από τα είδη αυτά κυριαρχούν παγκοσμίως. Αυτά τα είδη είναι τα ST1-IV, ST8-IV, ST30-IV, ST59-IV και ST80-IV. Το CA-MRSA ST30-IV παρουσιάζεται στον Νοτιο-Δυτικό Ειρηνικό, προκαλεί σοβαρές λοιμώξεις αλλά είναι ευαίσθητο στα περισσότερα αντιβιοτικά. Το CA-MRSA ST80-IV είναι ένας κοινός μικροοργανισμός στην Ευρώπη και παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα το 2003, αλλά σύμφωνα με έρευνες, προέρχεται από την Βόρεια Αφρική. Το CA-MRSA ST59-IV και ST59-V, είναι κοινά στις χώρες της Ασίας αλλά έχουν παρατηρηθεί και σε χώρες της Ευρώπης, στην Αμερική και στην Αυστραλία. Άλλα είδη είναι και το ST72-IV στην Νότια Κορέα, ST97-V στο Ηνωμένο βασίλειο, καθώς και άλλα. (Mediavilla et al., 2012)

Το σημαντικότερο CA-MRSA που φαίνεται ότι προκαλεί παγκόσμια απειλή είναι το CA-MRSA USA300 ή αλλιώς CA-MRSA ST8-IV. Εμφανίζεται συχνότερα στην Αμερική, αλλά έχουν βρεθεί κρούσματα και στην Ευρώπη, Αυστραλία, και άλλες χώρες. Δημιουργεί αποικίες σε εξω-ρινικές θέσεις του σώματος, όπως ο πρωκτός. Μπορεί να προκαλέσει ασθένειες όπως η πνευμονία, ενδοκαρδίτιδα κλπ., και έχει παρατηρηθεί ότι μέσω της εξέλιξης του αντικαθιστά το CA-MRSA ST5-II στα νοσοκομεία της Αμερικής ως μικροοργανισμός που προκαλεί λοιμώξεις της κυκλοφορίας του αίματος. (Mediavilla et al., 2012)

Οι ασθένειες που μπορεί να προκαλέσει το CA-MRSA στους ανθρώπους, αφορά δερματικές και μαλακού ιστού λοιμώξεις, καθώς και TSS (Toxic shock syndrome). Σε μερικές περιπτώσεις όμως, έχουν αναφερθεί και πολύ σοβαρότερες ασθένειες, όπως είναι η νεκρωτική πνευμονία ή η νεκρωτική απονευρωσίτιδα, που προκαλούν τα PVL (Panton-valentine leucocidin) γονίδια που περιέχει. Επηρεάζει υγιείς άτομα με πληγές ή κοψίματα, που έρχονται σε επαφή μεταξύ τους, όπως για παράδειγμα φυλακισμένοι, αθλητές, στρατιώτες, παιδιά, και άλλοι. (Kong et al., 2016) (Stefani et al., 2012)

Υπάρχουν κάποια χαρακτηριστικά του CA-MRSA που βοηθούν στην διαφοροποίηση του από το HA-MRSA. Τα στελέχη του CA-MRSA περιέχουν μικρά SCCmec γονίδια, του τύπου IV ή V, και εμφανίζει ευαισθησία σε στενού φάσματος μη-β-λακτάμες. Επίσης τα στελέχη του CA-MRSA περιέχουν PVL (Panton-Valentine leukocidin) γονίδια και θεωρείται ότι οφείλονται για την αυξημένη επικινδυνότητα αυτού του βακτηρίου. Αντίθετα το HA-MRSA περιέχει μεγάλα SCCmec γονίδια I-III, και εμφανίζει ανθεκτικότητα σε πολλές κατηγορίες μη-β-λακταμών αντιβιοτικών. (Kong et al., 2016)

#### 4.3 Livestock-associated Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA).

Η εξάπλωση του MRSA στα ζώα, εκτρεφόμενα και μη, παρουσιάστηκε με σχετική ευκολία. Μεγαλύτερης σημαντικότητας είναι τα μολυσμένα από το βακτήριο αυτό εκτρεφόμενα ζώα, διότι μπορεί στην συνέχεια να μεταφερθεί ο μικροοργανισμός στους ανθρώπους, με άμεσους και έμμεσους τρόπους. Εκτός από τα εκτρεφόμενα ζώα, και άλλα είδη ζώων μπορούν να επηρεαστούν από τέτοιου είδους μικροοργανισμό. Παρόλα αυτά, έχει αποδειχτεί ότι στα κατοικίδια ζώα, η επιδημιολογία είναι διαφορετική και οφείλεται συνήθως στον *Staphylococcus pseudintermedius*, σε κλώνους από τον άνθρωπο και στον MSSA (ευαίσθητο στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*). (Butaye et al., 2016) Το βακτήριο αυτό έλαβε την ονομασία LA-MRSA, που σημαίνει συσχετιζόμενος με την κτηνοτροφία, ανθεκτικός στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*.

Όπως και στις υπόλοιπες περιπτώσεις, η καταπολέμηση του παθογόνου αυτού μικροοργανισμού αποτελεί μια περίπλοκη διαδικασία στα κτηνοτροφία.. Ακόμη και αν αυτό το παθογόνο βακτήριο αποτελεί μία σχετικά καινούρια απειλή στο περιβάλλον αυτό, έχουν είδη παρατηρηθεί εξέλιξη του σε διάφορα είδη κλωνικών συμπλεγμάτων, εκτός από το μονό κλωνικό σύμπλεγμα (CC/ single Clonal Complex). Το LA-MRSA περιέχει SCCmec cassettes (κασέτες) των κατηγοριών Iva εως και V, αλλά σε μερικές περιπτώσεις έχουν βρεθεί και SCCmec XI που περιέχουν mecC. Υπάρχουν πολλαπλά είδη του βακτηρίου αυτού που επηρεάζουν διάφορα ζώα σε διαφορετικό ποσοστό από χώρα σε χώρα. (Butaye et al., 2016)

Σύμφωνα με έρευνες το πρώτο LA-MRSA που παρατηρήθηκε ήταν το LA-MRSA CC398 σε διάφορες χώρες της Ευρώπης, όπως Όλλανδία, Γαλλία, και άλλες, στις αρχές του 21<sup>ου</sup> αιώνα. Το πρώτο κρούσμα αφορούσε την αποίκηση του παθογόνου βακτηρίου στον οργανισμό ενός παιδιού, που ερχόταν σε συχνή επαφή με εκτρεφόμενους χοίρους. Σύντομα όμως ο μικροοργανισμός επεκτάθηκε σε άλλα είδη εκτρεφόμενων ζώων, όπως τα μοσχάρια, τα πουλερικά, τις αγελάδες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος, καθώς και γαλοπούλες. Η μετάδοση του βακτηρίου αυτού μεταξύ των κτηνοτροφιών γίνεται κυρίως με την εμπορία ζώων, όπως τα χοιρίδια, αλλά μπορεί να πραγματοποιηθεί και η μεταφορά του σε άλλους οργανισμούς του ίδιου κτηνοτροφίου, όπως κασίκες, γάτες, σκυλιά ή ακόμη και ανθρώπους που βρίσκονται σε επαφή με αυτά. (Cuny et al., 2015) Οι ανησυχίες των γύρω χωρών της Ευρώπης αυξήθηκαν, με αποτέλεσμα της δημιουργίας συστημάτων για την προσεκτική παρακολούθηση του βακτηρίου για διάφορα εκτρεφόμενα ζώα, αλλά λόγω της μειωμένης δυνατότητας εξέτασης του κατάλληλου και αντιπροσωπευτικού δείγματος, τα αποτελέσματα δεν ήταν βοηθητικά. (Butaye et al., 2016)

Το πιο γνωστό και συχνό LA-MRSA αποτελεί το CC398. Οι τύποι SCCmec που περιέχει είναι Iva και V, και εμφανίζει ανθεκτικότητα σε πολλές κατηγορίες αντιβιοτικών. Κάποια από αυτά τα αντιβιοτικά μπορεί να είναι η τετρακυκλίνη, φαινικόλη, αμινογλυκοσίδες, μακρολίδια, και άλλα. Η δράση του LA-MRSA CC398 εκδηλώνεται μέσω της απόκτησης μολυσματικών γονιδίων, και PVL γονιδίου (Panton-Valentine leucocidin), ενώ δεν εμφανίζει εκλεκτικότητα για ένα συγκεκριμένο είδος ξενιστή. (Butaye et al., 2016) Σύμφωνα με έρευνες, προέρχεται από τους ανθρώπους και παρατηρήθηκε για πρώτη φορά σε χοίρους και μοσχάρια. Άλλα είδη ζώων στα οποία εμφανίζεται πιο συχνά είναι τα πουλερικά και τα άλογα. Το παθογόνο αυτό βακτήριο οφείλεται για ασθένειες όπως μαστίτιδα στα βοοειδή, μολυσμένες αρθρώσεις ποδιών σε γαλοπούλες, και άλλα.

Ένα ακόμη είδος LA-MRSA αποτελεί και το CC97, που είναι γνωστό ότι προκαλεί μαστίτιδα στα βοοειδή παγκοσμίως και είναι ένα επικίνδυνο βακτήριο. Εκτός από τα βοοειδή, εμφανίζεται και σε μηρυκαστικά, χοίρους ή και ανθρώπους. Το LA-MRSA

CC9 ή αλλιώς ST9 (sequence type/ τύπος αλληλουχίας), αποτελεί επίσης έναν επικίνδυνο μικροοργανισμό που επηρεάζει χοίρους και πουλερικά. Μπορεί να προκαλέσει μαστίτιδα στα βοοειδή, και εμφανίζει ανθεκτικότητα σε διάφορα είδη αντιβιοτικών. Τέλος, το LA-MRSA CC1/ST1 προέρχεται από τους ανθρώπους και μπορεί να επηρεάζει χοίρους, αλλά και αγελάδες που χρησιμοποιούνται στην γαλακτοπαραγωγή, αν και πρόσφατα στελέχη έχουν παρατηρηθεί και σε μοσχάρια. Υπάρχουν όμως πολλά άλλα είδη LA-MRSA που επηρεάζουν ζώα και ανθρώπους. (Butaye et al., 2016)

Η μεταφορά του LA-MRSA στους ανθρώπους πραγματοποιείται συνήθως μέσω άμεσης επαφής με αντικείμενα ή ζώα μολυσμένα από το βακτήριο. Οι άνθρωποι που δουλεύουν με μολυσμένα εκτρεφόμενα ζώα, αναπνέουν σκόνη που περιέχει το βακτήριο αυτό, και η σοβαρότητα της μόλυνσης εξαρτάται από το χρονικό διάστημα της έκθεσης και την επαφή με τα ζώα. Σύμφωνα με έρευνες, έχει βρεθεί ότι ρινικός αποικισμός του βακτηρίου εμφανίζεται σε 77% – 86% των ανθρώπων που δουλεύουν σε επηρεασμένα κτηνοτροφία. Η μεταφορά του μικροοργανισμού από μολυσμένους ανθρώπους σε υγιείς, είναι μια απλή διαδικασία που μπορεί να πραγματοποιηθεί. Εκτός από τους εργάτες των κτηνοτροφιών, άλλοι άνθρωποι που επηρεάζονται από τον LA-MRSA είναι άνθρωποι που έρχονται σε επαφή με αυτούς, εργαζόμενοι σφαγείων, κτηνίατροι και χειριστές τροφίμων, όπως για παράδειγμα κρέατος. (Cuny et al., 2015)

Όσον αφορά τις αρνητικές επιπτώσεις που μπορεί να προκαλέσει ο LA-MRSA στους ανθρώπους, είναι παρόμοιες με του *Staphylococcus aureus*. Συνήθως παρουσιάζονται ασθένειες του δέρματος και του μαλακού ιστού, που συχνά απαιτούν χειρουργικές επεμβάσεις. Η είσοδος του LA-MRSA στο νοσοκομειακό περιβάλλον, προκαλεί εξάπλωση του και έτσι πρόκληση λοιμώξεων σε χειρουργία, λοιμώξεις μετά από αρθροπλαστική αρθρώσεων, πνευμονία ή και σηψαιμία. (Cuny et al., 2015)

#### 4.4 MRSA στον κλάδο των τροφίμων.



Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενη παράγραφο, η εξάπλωση του παθογόνου MRSA σε όλους τους κλάδους πραγματοποιήθηκε με ευκολία. Επηρεάζει ανθρώπους και ζώα με διάφορους τρόπους, προκαλώντας πολλές επικίνδυνες ασθένειες. Καταλαβαίνουμε λοιπόν ότι ακόμη και ο κλάδος της τροφικής παραγωγής επηρεάζεται από τον μικροοργανισμό αυτό με διάφορους τρόπους.

Η ανάπτυξη του ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* στα τρόφιμα πραγματοποιείται με παρόμοιο τρόπο, όπως άλλοι οι μικροοργανισμοί. Όταν βρεθεί στις κατάλληλες συνθήκες για την ανάπτυξη του, πολλαπλασιάζεται με επιτυχία και παρουσιάζει την ικανότητα παράγωγης τοξινών. Αυτές στην συνέχεια επηρεάζουν την υγεία των καταναλωτών. Πρέπει να σημειωθεί όμως, ότι η επικινδυνότητα των δηλητηριάσεων δεν συσχετίζονται με την αντιμικροβιακή αντίσταση των μικροοργανισμών (Sergelidis & Angelidis, 2017), άρα δεν προκαλούνται σοβαρότερες δηλητηριάσεις σε σύγκριση με τον κανονικό παθογόνο *Staphylococcus aureus*.

Η παραγωγή τοξινών, όπως αναφέρθηκε, είναι δυνατή από τον MRSA όταν βρεθεί στις απαραίτητες συνθήκες για τον πλήρη πολλαπλασιασμό του. Η τροφικές δηλητηριάσεις προκαλούνται από τις τοξίνες, καθώς μπορούν με διάφορους τρόπους να επηρεάσουν αρνητικά την υγεία των καταναλωτών. Για να αναπτυχθούν στα τρόφιμα απαιτούν συγκεκριμένες συνθήκες, όπως  $a_w$  0,86-0,99, pH 5-9,6, κλπ. Κάποιες από τις τοξίνες που έχουν βρεθεί σε περιπτώσεις τροφικής δηλητηρίασης από MRSA είναι SEC, SED, SEA, και άλλα, σε προϊόντα όπως γαλακτοκομικά προϊόντα, κρέας, και άλλα. (Sergelidis & Angelidis, 2017)

Η κύρια πηγή για την μόλυνση των τροφίμων από τον παθογόνο μικροοργανισμό, αποτελούν τα εκτρεφόμενα και άγρια ζώα, αλλά και οι άνθρωποι που έρχονται σε επαφή με τα ζώα αυτά ή και είδη μολυσμένοι συμμετέχουν στην παραγωγική διαδικασία κάποιου τροφίμου. Όταν πραγματοποιείται χρήση αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία, αναπτύσσονται μικροοργανισμοί ανθεκτικοί στα αντιβιοτικά αυτά και εφόσον δεν γίνονται οι κατάλληλοι έλεγχοι για την προστασία των ζώων, τότε οι ανθεκτικοί μικροοργανισμοί μεταφέρονται με ευκολία στα τρόφιμα προς κατανάλωση. Ταυτόχρονα, όλοι οι εμπλεκόμενοι άνθρωποι στις κτηνοτροφίες ή

γενικότερα στην αλυσίδα της παραγωγής τροφίμων, είναι υποχρεωμένοι να τηρούν πολλαπλούς κανόνες υγιεινής για να αποτρέψουν την δημιουργία αποικιών του μικροοργανισμού στο σώμα τους, με αποτέλεσμα την εύκολη μεταφορά τους σε κάποιο άλλο περιβάλλον.

Από διάφορες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί, βρέθηκαν πολλαπλά στελέχη MRSA σε πολλά είδη τροφίμων. Τρόφιμα που φαίνεται ότι επηρεάζονται πιο συχνά είναι το κρέας και τα προϊόντα που παράγονται από αυτό, αλλά και το γάλα ή γενικότερα τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα εκτρεφόμενα ζώα επηρεάζονται πιο συχνά από τον MRSA. Από τα ζώα, ο μικροοργανισμός παράγει αποικίες στους ανθρώπους που έρχονται σε επαφή με αυτά και στο περιβάλλον γύρω του. Στην συνέχεια μπορεί με ευκολία να μεταφερθεί σε πολλά είδη τροφίμων, είτε αυτά προέρχονται απευθείας από τα εκτρεφόμενα ζώα ή απλά έρχονται σε επαφή με αυτού του είδους τροφίμων για την παραγωγή του τελικού προϊόντος.

Εάν για την καταπολέμηση του MRSA χρησιμοποιείται μία αντιβιοτική θεραπεία, υπάρχει η πιθανότητα ο παθογόνος μικροοργανισμός να επιζήσει στην ευαίσθητη εντερική χλωρίδα, και καθώς πολλαπλασιάζεται να παράξει εντεροτοξίνες, με πρόκληση σοβαρών ασθενειών ως αποτέλεσμα της δράσης του. Η πιθανότητα ανάπτυξης του βακτηρίου εξαρτάται, όπως και για άλλους μικροοργανισμούς, από την ποσότητα του στο τρόφιμο, τις συνθήκες που επικρατούν και εάν τηρούνται όλοι οι απαραίτητοι κανόνες υγιεινής.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι διάφορες χώρες του κόσμου παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους ως προς τον αριθμό των κρουσμάτων MRSA. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε κλιματικούς παράγοντες, ή σε διαδικασίες που ακολουθούν οι άνθρωποι τις κάθε χώρας. Τέτοιες διαδικασίες αποτελούν οι εξής: εκτεταμένη και μη απαραίτητη σε αρκετές περιπτώσεις χρήση αντιβιοτικών, χρήση υποτυπώδη φαρμάκων, λήψη αντιβιοτικής θεραπείας των ίδιων των ανθρώπων αλλά και των ζώων χωρίς προηγούμενη ιατρική εξέταση, χρήση αντιβιοτικών με ευρή φασμα χωρίς την γνώση της ευαισθησίας τους, λανθασμένες συνθήκες υγιεινής και λανθασμένη

εξέταση της συγκεκριμένης κατάστασης ή των ασθενειών που χρειάζεται να καταπολεμηθούν. (Sergelidis & Angelidis, 2017)

Σύμφωνα με έρευνες, η πρώτη περίπτωση τροφικής δηλητηρίασης εξαιτίας του παθογόνου MRSA παρατηρήθηκε στην Ολλανδία αρκετά χρόνια πριν, και προκάλεσε ασθένειες σε 21 ανθρώπους αλλά και θάνατο σε 5 από αυτούς. (Sergelidis & Angelidis, 2017) Με τα χρόνια παρατηρήθηκαν και άλλες παρόμοιες περιπτώσεις στις οποίες συμμετείχε ο MRSA, σε νοσοκομειακό περιβάλλον, αλλά και έξω από αυτόν. Όπως και στις δηλητηριάσεις που προκαλεί ο *Staphylococcus aureus*, παρόμοια και στον MRSA υπάρχει χαμηλή αναφορά σχετικά με την συχνότητα εμφάνισης των τροφικών δηλητηριάσεων. Αυτό συμβαίνει διότι στις περισσότερες περιπτώσεις τα συμπτώματα είναι ήπια και σταματούν μετά από μερικές ώρες. Χωρίς λοιπόν να γνωρίζουμε τα αληθινά ποσοστά κρουσμάτων παγκοσμίως, δεν μπορεί να κριθεί με ακρίβεια η επικινδυνότητα του MRSA.

Στο διάγραμμα 1 του κεφαλαίου αυτού, αναγράφεται και η πιθανότητα μεταφοράς του MRSA από μία χώρα σε κάποια άλλη. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της εξαγωγής ζώων και προϊόντων προς κατανάλωσης μεταξύ ειδικών διαχειριστών τροφίμων, αλλά χαρακτηριστική είναι και η εξαγωγή τροφίμων με παράνομους τρόπους. Ερεύνα για την συγκεκριμένη περίπτωση πραγματοποιήθηκε από μία ομάδα ερευνητών το 2017. Στην ερευνά αυτή για ένα χρονικό διάστημα 3 χρόνων, εξετάστηκαν τρόφιμα, όπως για παράδειγμα κοτόπουλο, πάπια, χοιρινό, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, ψάρι, κλπ. και αναλύθηκαν πληροφορίες για την ποσότητα *Staphylococcus aureus* και MRSA που υπήρχε σε αυτά. Τα τρόφιμα αυτά προήλθαν από διάφορες χώρες, και συγκεκριμένα συλλέχθηκαν στα αεροδρόμια της Βιέννης, του Μπιμπάο καθώς και στα σύνορα της Μολδαβίας με την Ρουμανία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα όμως, σε σχετικά μικρό αριθμό τροφίμων βρέθηκαν ποσότητα *Staphylococcus aureus* και MRSA. Θεωρείται ότι αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι δεν υπήρχαν οι κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης και υγιεινής των τροφίμων, αλλά η μεταφορά του μικροοργανισμού μπορεί να πραγματοποιήθηκε και μέσω των ανθρώπων ή επιφάνειών με τα οποία ήρθε σε επαφή το τρόφιμο. (Rodríguez-Lázaro et al., 2017)

## Κεφάλαιο 5: Τρόποι ανίχνευσης και καταπολέμηση του MRSA

Για να μπορέσουν να προστατευτούν οι άνθρωποι, τα ζώα, καθώς και το περιβάλλον γενικότερα, τηρούνται διάφοροι κανόνες, πραγματοποιούνται συγκεκριμένοι έλεγχοι και ακολουθούνται συγκεκριμένες διαδικασίες από ειδικούς σε περίπτωση που καταφέρει να πολλαπλασιαστεί ή και εξαπλωθεί ο μικροοργανισμός. Συγκεκριμένα στην Ευρώπη, είναι γνωστό ότι οι κανονισμοί για την εξασφάλιση και διατήρηση της ασφάλειας είναι αυστηροί. Όσον αφορά τα τρόφιμα, υπάρχουν πολλαπλοί κανόνες για διάφορες κατηγορίες τροφίμων ξεχωριστά που πρέπει να τηρούνται από τους διαχειριστές των τροφίμων καθ' όλη την διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας.

Εάν όλα διατηρούνται υπό έλεγχο τότε οι μικροοργανισμοί αδυνατούν να αναπτυχθούν, να πολλαπλασιαστούν και επομένως να προκαλέσουν ασθένειες. Στην πραγματικότητα όμως, ακόμη και η τήρηση των πιο απλών κανόνων μερικές φορές δεν πραγματοποιείται, με αποτέλεσμα την εξάπλωση των μικροοργανισμών στο περιβάλλον και την έναρξη της δράσης τους. Με την εξέλιξη της επιστήμης λοιπόν, έχουν βρεθεί διάφοροι τρόποι για να μπορέσει να πραγματοποιηθεί η ανίχνευση των διάφορων μικροοργανισμών και στην συνέχεια αντιμετώπιση τους.

### 5.1 Ανίχνευση του MRSA.

Παγκοσμίως, διεξάγονται συνεχόμενες έρευνες για την ανακάλυψη μεθόδων που θα ανιχνεύουν τον ανθεκτικό στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* με εύκολο, γρήγορο και οικονομικό τρόπο. Ένας από τους πιο συνηθισμένους τρόπους αποτελεί η RT-PCR (Real-time polymerase chain reaction) ή αλλιώς Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο. (Guk et al., 2017) Στην μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες συσκευές, για να εντοπιστεί το DNA του μικροοργανισμού σε ένα επιθυμητό δείγμα. Έτσι οι ειδικοί μπορούν να λάβουν πληροφορίες σχετικά με την ύπαρξη ή όχι του συγκεκριμένου βακτηριακού DNA. Μία ακόμη κλασική μέθοδος που χρησιμοποιείται αποτελεί και η MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization time of flight mass spectrometry). Σε αυτήν την μέθοδο γίνεται η σύγκριση μεταξύ πρωτεϊνών των μικροβιακών κυττάρων, με μία βάση δεδομένων

φάσματος αναφοράς, χρησιμοποιώντας διάφορα συστήματα. (Calderaro et al., 2014) Άλλες μεθόδους αποτελούν η ELISA (Enzyme linked immunosensor assay) ή και διάφορες μεθόδους μοριακής βιολογίας με βάση το νουκλεϊκό οξύ.

Ένα παράδειγμα ανίχνευσης του MRSA μέσω PCR μεθόδου, αποτελεί το πείραμα που διεξάχθηκε από τους (Shahid et al., 2021) Στην έρευνα αυτή, αναλύθηκε ένας συγκεκριμένος αριθμός συσκευών παροχής υπηρεσιών τροφίμων, όπως ποτήρια ή κουτάλια, από ξενοδοχεία και εκτός ξενοδοχείων προς έυρεση των MRSA και VRSA (Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*). Η συντήρηση των συσκευών έγινε με όσο το δυνατόν περισσότερη προσοχή και ακολουθώντας τους κατάλληλους κανόνες, λήφθηκε δείγμα μέσα σε αποστειρωμένο θρεπτικό ζωμό και διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 4°C σε εργαστήριο, όπου στην συνέχεια επώαστηκαν στους 37°C. Την επόμενη μέρα έγινε μεταφορά του δείγματος σε ειδικό άγαρ και ξανά επώαση στους 37°C για 24h. Μετά την επιβεβαίωση των αποικιών που αναπτύχθηκαν, έγινε εξαγωγή του βακτηριακού DNA με την μέθοδο του συμβατικού βρασμού και χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο για την μοριακή ανίχνευση του *Staphylococcus aureus* και των στελεχών του, όπως MRSA και VRSA. Μέσω PCR ενίσχυσης του γονιδίου *nuc*, προέκυψε ότι 50,62% των απομονώσεων ήταν θετικά. Με περαιτέρω ανάλυση των θετικών απομονώσεων με PCR μέθοδο χρησιμοποιώντας *mecA* και *mecC* γονίδια για την ανίχνευση του MRSA, ένα μικρό ποσοστό αυτών βρέθηκαν θετικά στο *mecA* γονίδιο (5 από τα 41). (Shahid et al., 2021)

Καθώς το παθογόνο βακτήριο MRSA έχει την ικανότητα να προκαλέσει ένα μεγάλο αριθμό ασθενειών, όπως για παράδειγμα πνευμονία ή ενδοκαρδίτιδα και άλλα, η γρήγορη ανίχνευση των στελεχών του αποτελεί μια πολύ σημαντική και απαραίτητη διαδικασία. Οι δύο πρώτες μεθόδους που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους, για να εξασφαλίσουν τα σωστά αποτελέσματα απαιτείται να μεσολαβήσει ένα στάδιο καθαρισμού των μικροβίων, έτσι ώστε να γίνει η εξαγωγή του DNA στόχου. Όλες οι αναφερόμενες μεθόδους απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό, συγκεκριμένες διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων, ακριβό εξοπλισμό και συχνά προκύπτουν σφάλματα. (Rubab et al., 2018) Καταλαβαίνουμε

λοιπόν ότι θα πρέπει να βρεθούν ακόμη πιο απλές, σύντομες και οικονομικές μεθόδους, με ταυτόχρονη υψηλή ειδικότητα ανίχνευσης.

Σύμφωνα με διάφορες έρευνες, διαπιστώθηκε ότι η χρήση οπτικών βιοαισθητήρων και συγκεκριμένα SPR (Surface Plasmon Resonance) κατηγορίας, μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση του *Staphylococcus aureus* αλλά και MRSA. Η μέθοδος αυτή αποτελεί ένα φαινόμενο που συμβαίνει μεταξύ θετικών και αρνητικών υλικών διαπερατότητας λόγω προσπίπτοντος φως, μέσα σε μία ειδική μηχανή (Rubab et al., 2018). Συγκεκριμένα για το MRSA μία από τις μεθόδους που αναφέρθηκε είναι η SPR, όπου χρησιμοποιώντας BPT4 βακτηριοφάγο ως στοιχείο βιοαναγνώρισης του βακτηρίου έχει την δυνατότητα να ανιχνεύσει το MRSA και να σταματήσει την αντιγραφή του. Το όριο ανίχνευσης είναι  $10^3$  cfu/mL και η ανάλυση πραγματοποιείται σε λιγότερο από 20 min. Εκτός από το MRSA, η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως και για την ανίχνευση του παθογόνου βακτηρίου E.coli O157:H7. (Tawil et al., 2012)

Σε μία ακόμη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους (Guk et al., 2017) αναφέρθηκε μία μέθοδος, τα αποτελέσματα της οποίας έδειξαν επιτυχία. Έγινε συνδιασμός του FISH (Conventional fluorescence in situ hybridization) πρωτοκόλλου, που αντιπροσωπεύει το συμβατικό φθορισμού επι τόπου υβριδισμού, με τον μηχανισμό CRISPR (Clustered regularly interspaced palindromic repeats), που σημαίνει ομαδοποιημένες τακτικά μεταξύ τους παλινδρομικές επαναλήψεις. Το FISH βασίζεται σε ολιγο-ιχνηλάτες και μπορεί να προσφέρει ανίχνευση συγκεκριμένων κυττάρων DNA που απαιτείται, αλλά χρειάζεται μεγάλο χρονικό διάστημα ανάλυσης και διάφορες περαιτέρω διαδικασίες για την λήψη πλήρης ακρίβειας, άρα δεν χρησιμοποιείται ευρέως. Αντίθετα το CRISPR είναι ένας μηχανισμός των βακτηρίων, που τους βοηθάει να προστατευτούν παίρνοντας ένα μέρος του DNA ενός εισβολέα και εισάγοντας το στο δικό τους βακτηριακό DNA για να μπορέσει να το αναγνωρίσει και υποβιβάσει. Το CRISPR αποτελείται επίσης από ένα σύστημα πρωτεΐνης 9 (Cas9) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία DNA-στόχου, και όταν συνδυάζεται με sgRNA (single guide RNA) αποκτά ειδικότητα για την συγκεκριμένη ακολουθία. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής, όταν δηλαδή χρησιμοποιείται το σύστημα dCas9/sgRNA-SG I με βάση το DNA-FISH, αποδείχθηκαν γρήγορα, απλά,

οικονομικά και μεγάλης ευαισθησίας, με όριο ανίχνευσης του MRSA σε 10 cfu/mL. Επίσης η μέθοδος αυτή εκτός από την ανίχνευση του βακτηριακού DNA του MRSA, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για άλλους μικροοργανισμούς. (Guk et al., 2017)

Οι παραπάνω αναφερόμενες μέθοδο είναι παραδείγματα ελάχιστων μεθόδων ανίχνευσης του MRSA. Συνηθώς χρησιμοποιούμενη είναι η PCR μέθοδος, αλλά πραγματοποιούνται πολλαπλές έρευνες παγκοσμίως για την δημιουργία καινούριων εξειδικευμένων τρόπων ανίχνευσης όλων των ειδών μικροοργανισμών. Το ενδιαφέρον των ειδικών είναι έρευνα μίας μεθόδου που θα έχει απλότητα, τα αποτελέσματα θα παραλαμβάνονται γρήγορα και με μεγάλη ακρίβεια, και ταυτόχρονα ο εξοπλισμός και η όλη διαδικασία θα παρουσιάζει οικονομικό ενδιαφέρον.

## 5.2 Καταπολέμηση του MRSA.

Η καταπολέμηση του παθογόνου ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* είναι μια πολύ δύσκολη διαδικασία. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι αντιμετώπισης οποιουδήποτε επικίνδυνου μικροοργανισμού, που δημιουργήθηκαν με την εξέλιξη της επιστήμης. Ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο αναφερόμαστε, διακρίνονται κανόνες που πρέπει να τηρούνται για την μείωση της ανάπτυξης ή εξάπλωσης των μικροοργανισμών και τεχνικές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν εάν αυτά έχουν καταφέρει να μεταφερθούν από περιβάλλον σε περιβάλλον ή αλλιώς από οργανισμό σε οργανισμό.

Αρχικά προκειμένου να προληφθεί η εξάπλωση οποιουδήποτε είδους μικροοργανισμού, όλοι οι άνθρωποι θα πρέπει να τηρούν τους σωστούς κανόνες προσωπικής υγιεινής. Ως κανόνες προσωπικής υγιεινής θεωρούνται το τακτικό πλύσιμο των χεριών, η διατήρηση καθαρών των διάφορων επιφανειών με τις οποίες έρχομαστε σε επαφή, ο καθαρισμός γενικότερα των αντικειμένων στο περιβάλλον γύρω μας, και άλλα. Εκτός αυτών, στο νοσοκομειακό περιβάλλον απαιτείται και η άριστη απολύμανση όλων των δωματίων, συσκευών, αντικειμένων, κλπ. με τα οποία έρχονται σε επαφή ασθενείς, εργάτες ή και επισκέπτες. Στα νοσοκομεία, είναι

σχετικά εύκολο να προκληθεί εξάπλωση ασθενειών και μικροοργανισμών από άνθρωπο σε άνθρωπο εάν δεν χρησιμοποιούνται οι κατάλληλες τεχνικές και ουσίες απολύμανσης των χώρων. Ταυτόχρονα, για να εξασφαλιστεί ότι πραγματοποιήθηκε ο σωστός καθαρισμός, ειδικοί πρέπει να κάνουν τακτικούς ελέγχους. Στο γενικότερο περιβάλλον, εκτός του νοσοκομειακού, ισχύουν παρόμοιοι κανόνες αλλά δεν τηρούνται τόσο όσο χρειάζεται. Για αυτόν τον λόγο, σε αρκετές περιπτώσεις είναι η υποχρέωση των ανθρώπων να διατηρούν άριστη την προσωπικής τους υγιεινή, έτσι ώστε να παραμένουν ασφάλης.

Γνωρίζοντας ότι στον τομέα των τροφίμων, οι μικροοργανισμοί αποτελούν τους σημαντικότερους «εχθρούς», οι κανόνες που έχουν δημιουργηθεί για κάθε περίπτωση είναι πολύ αυστηροί. Από το αγρόκτημα έως και το τελευταίο στάδιο επεξεργασίας των τροφίμων ή και την κατανάλωση του τελικού προϊόντος, όλοι οι άνθρωποι που διαχειρίζονται τα τρόφιμα θα πρέπει να γνωρίζουν τους σωστούς κανονισμούς για την εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων. Τέτοιοι κανόνες συνήθως αφορούν τα ζώα και τα προϊόντα τους, τα φυτικά προϊόντα, τις συνθήκες του περιβάλλοντος, τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται, τις επιφάνειες και τα εργαλεία που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα, τους χώρους επεξεργασίας και αποθήκευσης των τροφίμων, τους διαχειριστές τους, και άλλα.

Δυστυχώς, ακόμη και αν γίνονται πολλές προσπάθειες για την διατήρηση της ασφάλειας από τους μικροοργανισμούς, στις περισσότερες περιπτώσεις οι μικροοργανισμοί καταφέρνουν να εξαπλωθούν στο περιβάλλον και να επηρεάσουν αρνητικά τους ανθρώπους και τα ζώα. Στην περίπτωση αυτή, υπάρχουν διάφοροι τρόποι για την περαιτέρω καταπολέμηση του βακτηρίου. Παρακάτω αναφέρονται κάποιοι από αυτούς.

Όταν ο παθογόνος *Staphylococcus aureus* απέκτησε αντοχή στην μεθικιλίνη, οι ειδικοί αναγκάστηκαν να συνεχίσουν τις έρευνες τους για την δημιουργία καινούριων αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση του πλέον ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA). Ένα από τα πρώτα βακτήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι η Βανκομυκίνη (Vancomycin). Αποτελεί ένα γλυκοπεπτίδιο και η δράση του



χρησιμοποιείται ενάντια θετικών κατά gram βακτηρίων που εμφανίζουν αντοχή σε αντιβιοτικά της κατηγορίας β-λακτάμης, όπως και ο MRSA. Παρ'όλο που παρουσιάζει εξειδίκευση για την καταπολέμηση του βακτηρίου, πρέπει να χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες ποσότητες και μεθόδους για την σωστή δράση του.

Συγκεκριμένα, η δόση του αντιβιοτικού αυτού θα πρέπει να επιτεύξει έναν φαρμακοκινητικής/φαρμακοδυναμικής (PK/PD, Pharmacokinetics/pharmacodynamics) στόχο και να είναι σύμφωνα με την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC, Minimum inhibitory concentration). (Choo & Chambers, 2016) Εκτός από τις PK/PD και MIC παραμέτρους, έχει αποδειχτεί ότι ο συνδυασμός AUC (area under the curve) ή αλλιώς περιοχή κάτω από την καμπύλη και MIC είναι μία άριστη παράμετρος για να προβλεψουμε την δράση της βανκομυκίνης. (Álvarez et al., 2016) Όταν ο λόγος των AUC/MIC είναι >400, τότε τα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών με βακτηριαίμια και λοιμώξεις αναπνευστικού συστήματος εξαιτίας του *Staphylococcus aureus*, αυξάνονται, όταν όμως είναι >600 τα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών με σηπτικό σόκ αυξάνονται. Η συνεχόμενη χρήση του αντιβιοτικού αυξάνει την δράση σου, και αυτό διότι η αντιβιοτική του δραστηριότητα εξαρτάται από τον χρόνο. (Edwards et al., 2014)

Όπως είναι είδη γνωστό, ένα χαρακτηριστικό του *Staphylococcus aureus* που το καθιστά τόσο επικίνδυνο βακτήριο και προκαλεί ανησυχία σε πολλούς ανθρώπους του κόσμου, είναι η ευκολία απόκτησης αντοχής σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται εναντίων του. Μέσω της χρήσης της βανκομυκίνης, αρχικά χωρίς να γνωρίζουμε τις κατάλληλες δόσης για την άριστη δράση της, και κάνοντας παρατεταμένη χρήση, το MRSA απόκτησε αντοχή στο αντιβιοτικό αυτό. Χρησιμοποιείται ακόμη για την καταπολέμηση των ασθενειών που προκαλεί, αλλά η δράση του αντιβιοτικού έχει μειωθεί αρκετά. (Edwards et al., 2014) (Choo & Chambers, 2016)

Ένα άλλο αντιβιοτικό που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση του MRSA είναι η Δαπτομυκίνη (Daptomycin). Αποτελεί ένα λιποπεπτιδίο, κατάλληλο για την καταπολέμηση ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*, αλλά και

ανθεκτικού στην βανκομυκίνη *Staphylococcus aureus*. Διαταράσσει την λειτουργία της κυτταρικής μεμβάνης του βακτηρίου, μέσω της πραγματοποίησης δέσμησης εξαρτώμενη από ασβέστιο (Ca), και έτσι προκαλεί την βακτηριοκτόνο δράση του. Βοηθάει στην καταπολέμηση της βακτηριαιμίας που προκαλείται από τον *Staphylococcus aureus* αλλά δεν μπορεί να καταπολεμήσει την πνευμονία. Σύμφωνα με κανονισμούς, για την καταπολέμηση βακτηριαιμίας που προκαλεί ο MRSA, η κατάλληλη δόση της δαπτομυκίνης είναι 8-10mg/kg (Choo & Chambers, 2016) Έχουν παρατηρηθεί όμως στελέχη βακτηρίων με πιθανή ανθεκτικότητα στην δαπτομυκίνη, γεγονός που χρειάζεται να ληφθεί υπόψη.

Για την θεραπεία λοιμώξεων που προκαλεί ο MRSA, υπάρχει η δυνατότητα συνδυασμού αντιβιοτικών. Έρευνες έχουν ανακαλύψει ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί συνδυασμός δαπτομυκίνης με αντιβιοτικά της κατηγορίας β-λακτάμης, όπως για παράδειγμα οξασιλίνης, διότι τα αντιβιοτικά αυτά μπορούν να καλυτερεύσουν τον δεσμό της δαπτομυκίνης, μέσω της αύξησης του αρνητικού φορτίου της βακτηριακής κυτταρικής μεμβράνης. Ταυτοχρονά ο συνδυασμός αυτός μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη αντοχής των μικροοργανισμών στην δαπτομυκίνη. (Edwards et al., 2014) Άλλοι συνδυασμοί μπορούν να θεωρηθούν η δαπτομυκίνη με κεφταρολίνη (ceftaroline), δαπτομυκίνη με φωσφομυκίνη, δαπτομυκίνη με ριφαμπίνη, και άλλα.

Υπάρχουν και άλλα είδη αντιβιοτικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην αντιμετώπιση του MRSA στους ανθρώπους και τα ζώα, αλλά οι δύο παραπάνω κατηγορίες που αναφέρθηκαν είναι οι βασικότερες και εμφανίζουν την συνηθέστερη χρήση. Λόγω όμως, της συνεχόμενης εμφάνισης στελεχών που αποκτούν αντοχή σε διάφορα είδη αντιβιοτικών, οι έρευνες για την παραγωγή καινούριων ειδών φαρμάκων πρέπει να συνεχίζονται. Αυτό μπορεί να αφορά την παραγωγή ενός εντελώς καινούριου είδους αντιβιοτικού ή ακόμη και την τροποποίηση των τωρινά χρησιμοποιούμενων αντιβιοτικών για την καλύτερευση της δράσης τους.

## Κεφάλαιο 6: Παρουσία του MRSA στον τομέα των τροφίμων

Η παρουσία του MRSA στον τομέα των τροφίμων, είναι μεγάλης σημαντικότητας όπως και στους υπόλοιπους κλάδους. Η ευκολία της μεταφοράς του παθογόνου μικροοργανισμού στα τρόφιμα, και στην συνέχεια στους ανθρώπους και τα ζώα, προκαλεί πολλές ανησυχίες παγκοσμίως. Όταν η παρουσία του βακτηρίου στα εκτρεφόμενα ζώα, στους ανθρώπους που έρχονται σε επαφή με αυτά ή και στο περιβάλλον γύρω τους, δεν γίνεται αντιληπτή τότε η καταπολέμηση του μικροοργανισμού γίνεται πιο δύσκολη. Καθώς στις βιομηχανίες τροφίμων πραγματοποιούνται τακτικοί έλεγχοι για την εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων, σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να συμβεί κάποιο σφάλμα και έτσι ο MRSA, αλλά και άλλοι μικροοργανισμοί, να αναπτυχθεί και στην συνέχεια μεταφερθεί στους καταναλωτές, προκαλώντας πολλαπλές αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία τους.

**Table 1** Incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods in different countries

Number of sample	Number of isolated	MRSA	Sample	Origin
N/M	846	5 (0.6%)	Cow milk	Michigan, USA
N/M	2132	38 (1.8%)	Cow milk	Wisconsin, USA
444	292	2 (0.7%)	Chicken	Japan
N/M	357	0 (0%)	Cow milk	North Carolina and Virginia, USA
1260	157	30 (19.1%)	Mutton, beef, camel, and poultry	Jordan
79	36	2 (5.5%)	Pork and raw beef	Holland
1634	160	6 (3.8%)	Cow milk and cheese	Italy
318	N/M	5 (1.6%)	Pork, chicken, rabbit, veal, and wild boar	Spain
2217	N/M	264 (11.9%)	Beef, veal, lamb and mutton, pork, chicken, turkey, poultry	Netherlands
79	36	2 (5.5%)	Retail meat	Holland
120	47	6 (12.8%)	Retail meat	USA
N/M	402	31 (7.7%)	Retail meat	Canada
583	N/M	1 (0.2%) 13 (26.5%)	532 human swabs without direct contact with pig breeding and 49 with direct contact	Netherlands
86	N/M	32 (37.2%)	Chicken, chicken meat products, turkey, turkey meat products	Germany
256	N/M	26 (10.15%)	Pork	USA
NM	583	28 (4.8%)	Wild boar meat	Berlin, Germany
100	7	2 (28.6%)	Fish-based ready-to-eat food	Greece
383	35	7 (20%)	Raw milk	Italy
323	85	7 (8.2%)	Nasal swabs of food industry workers	Italy
195	54	16 (29.6%)	Raw milk	China
93	54	19 (35.2%)	Clinical mastitis milk	Cairo, Egypt
3760	484	40 (8.3%)	Milk and milk derivatives	Italy
3290	913	41 (4.5%)	Raw meat	Iowa, USA
N/M	24	9 (37.5)	Milk	Switzerland and Italy
147	40	2 (5%)	Milk and swab	Brazil
372	N/M	36 (9.7%)	Bulk tank milk from conventional	Germany
303	N/M	5 (1.7%)	Bulk tank milk from organic	

Στον παραπάνω πίνακα (da Silva et al., 2020), αναγράφονται ποσοστά κρουσμάτων MRSA, με βάση έρευνων που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορα είδη τροφίμων σε πολλές χώρες. Παρατηρούμε ότι τα μεγαλύτερα ποσοστά MRSA στην Ευρώπη, εμφανίζονται στις έρευνες που διεξάχθηκαν στην Ελβετία και Ιταλία (37,5% στο γάλα), στην Γερμανία (37,2% σε κοτόπουλο, γαλοπούλα και ττα προϊόντα τους), αλλά και στην Ελλάδα (28,6% σε έτοιμα για κατανάλωση προϊόντα με ψάρι). Τα μεγαλύτερα ποσοστά εκτός Ευρώπης αντιστοιχούν στην Αίγυπτο (35,2% σε κλινικό μαστιτικό γάλα) και στην Κίνα (29,6% σε ωμό γάλα).

Πρέπει αρχικά να σημειωθεί ότι όλα τα τρόφιμα που αναλύθηκαν ανήκουν στην κατηγορία προϊόντων ζωικής προέλευσης. Όπως είδαμε και σε άλλη ενότητα αυτής της εργασίας, τα τρόφιμα που παράγοντα από ζώα που μεγάλωσαν σε κτηνοτροφίες και τα οποία έχουν μολυνθεί από τον παθογόνο MRSA, είναι αυτά που εμφανίζουν την μεγαλύτερη επικινδυνότητα. Εάν οι πρακτικές πρόληψης της ανάπτυξης του MRSA δεν είναι σωστές, οι έλεγχοι για την ανίχνευση του στα ζώα αυτά δεν είναι αρκετοί ή έχει προκύψει κάποιο σφάλμα κατά την διάρκεια τους, τότε ο μικροοργανισμός μεταφέρεται με ευκολία στα τρόφιμα προς κατανάλωση που παράγονται από τα συγκεκριμένα εκτρεφόμενα ζώα. Επομένως εάν ο MRSA υπάρχει στα προϊόντα, καταλαβαίνουμε ότι η κύρια πηγή αποτελούν τα εκτρεφόμενα ζώα, αλλά οι άνθρωποι και γενικότερα η μη ύπαρξη των απαραίτητων συνθηκών υγιεινής μπορεί επίσης να αποτελέσουν πιθανά αίτια.

Σύμφωνα με τους (Junghwan et al., 2017), το πιο σημαντικό στάδιο που μπορεί να προκαλέσει την μεγαλύτερη μόλυνση με MRSA, είναι η σφαγή και γενικότερα η επεξεργασία του κρέατος. Περιλαμβάνονται λοιπόν, διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, όπου οι εργάτες είναι απαραίτητο να τηρούν όλους τους αυστηρούς κανόνες υγιεινής, καθώς σε αυτά παρουσιάζεται η πιθανότερη μόλυνση. Διάφορες έρευνες έχουν αποδείξει ότι στα αρχικά στάδια της σφαγής υπάρχουν τα μεγαλύτερα ποσοστά του MRSA, αλλά εάν όλα τα στάδια ολοκληρωθούν με επιτυχία τότε στο τέλος της διαδικασίας αυτής θα υπάρχει ένα μικρό μόνο ποσοστό. Τέτοια στάδια μπορούν να είναι το πλήσιμο, το ζεμάτισμά, η ψηξη, κλπ.

Μία ακόμη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους (Papadopoulos et al., 2018), έδειξε ότι τα ποσοστά του MRSA σε βοοειδές γάλα είναι μικρά, όπως για παράδειγμα 0,3% στην Ουγγαρία, 4,4% στο Ηνωμένο Βασίλειο, και άλλα. Στην Ελλάδα βρέθηκε το παθογόνο MRSA σε ένα ποσοστό 0,7% σε πρόβειο γάλα. Σε χώρες όπως η Δανία, το MRSA εμφανίζεται πιο συχνά σε πρόβατα παρά σε κατσίκια. Η έρευνα των (Tharaliya et al., 2017) μας δίνει πληροφορίες σχετικά με τα ποσοστά του MRSA σε κρέας και προϊόντων του στην Αμερική. Βρέθηκε ότι η παρουσία του MRSA κυμαίνεται από 0,5% σε κρέας κοτόπουλου, έως 4,3% σε κρέας γαλοπούλας, 1.3% έως και 4% σε βόδινο κρέας, καθώς και 3% έως 7% σε χοιρινό κρέας.

Από τα δεδομένα αυτά, καταλαβαίνουμε ότι υπάρχει μια σχετικά μεγάλη διακύμανση στην παρουσία του MRSA στις χώρες του κόσμου, από περιοχή σε περιοχή κάποιας χώρας ή ακόμη και μεταξύ των ειδών των προϊόντων προς κατανάλωση. Κάποιες χώρες, λόγω της οικονομίας τους, έχουν την δυνατότητα να προστατέψουν τα εκτρεφόμενα ζώα και το περιβάλλον γύρω τους, με αποτέλεσμα την εξασφάλιση της άριστης ποιότητας και ασφάλειας των προϊόντων που παράγονται. Αντίθετα, υπάρχουν χώρες στις οποίες η εξάπλωση του MRSA από περιβάλλον σε περιβάλλον μπορεί να συμβεί πιο εύκολα, έχοντας ως αποτέλεσμα την πιο συχνή πρόκληση αρνητικών επιπτώσεων στην υγεία.

## Κεφάλαιο 7: Νομοθεσία

Για την διατήρηση της ασφάλειας των τροφίμων, όπως έχει αναφερθεί, έχουν δημιουργηθεί κανονισμοί που πρέπει να τηρούνται από όλους τους διαχειριστές τροφίμων. Ένας από τους κανονισμούς σχετικά με τους μικροοργανισμούς, είναι ο κανονισμός (2073/2005). Ο κανονισμός αυτός, περιγράφει τρόπους προστασίας των τροφίμων και καταναλωτών. Η παρουσία των μικροοργανισμών δεν επιτρέπεται, ή απαιτείται οι ποσότητες τους, των τοξινών τους ή των μεταβολιτών τους να είναι μικρές έτσι ώστε να μην προκαλέσουν ασθένειες.

Για να διατηρηθεί λοιπόν η πλήρης ασφάλεια των τροφίμων, χρειάζεται όλες οι επιχειρήσεις τροφίμων να έχουν τους σωστούς κανόνες υγιεινής, και να τηρούν διάφορους κανονισμούς σύμφωνα με το σύστημα HACCP (Hazard analysis and critical control point). Εκτός αυτού, έχουν ληφθεί συγκεκριμένα μικροβιολογικά κριτήρια που θέτουν όρια για την επιτρεπτή ποσότητα των μικροοργανισμών στα τελικά τρόφιμα.

Ανάλογα με τον μικροοργανισμό στον οποίον αναφερόμαστε, αυτά τα όρια διαφέρουν. Είναι λογικό ότι οι περισσότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί θα πρέπει να βρίσκονται σε ποσότητα 0, στα τρόφιμα στα οποία μπορούν να αναπτυχθούν. Αντιθέτως σε κάποιες χώρες επιτρέπεται η ύπαρξη συγκεκριμένων μικροοργανισμών αλλά σε πολύ χαμηλές ποσότητες, έτσι ώστε να μην επηρεάσουν αρνητικά την υγεία των ανθρώπων. Κάποιοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τροφίμων, όπως για παράδειγμα τα τυριά, προσδίδοντας τους επιθυμητά χαρακτηριστικά. Ακόμη και στην περίπτωση αυτή, η παρουσία των μικροοργανισμών θα πρέπει να είναι σε συγκεκριμένες αποδεκτές ποσότητες. Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες τροφίμων που έχουν συγκεκριμένα αποδεκτά όρια για μικροοργανισμούς, κάποιες από τις οποίες θα αναφερθούν παρακάτω σχετικά με τον *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Σύμφωνα με τον κανονισμό (Κανονισμός 2073/2005) λοιπόν, οι σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες θα πρέπει να μην είναι ανιχνεύσιμες σε 25g τυριών, σκόνης γάλακτος,

αλλά και σκόνη ορού γάλακτος. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για να παρθεί αυτό το κριτήριο είναι η Ευρωπαϊκή μέθοδος ελέγχου του CRL για το γάλα, και αφορά τα προϊόντα των κατηγοριών που αναφέρθηκαν, όταν διατίθενται στην αγορά κατά την διάρκεια της ζωής τους. Όσον αφορά τα ψάρια στο τέλος της επεξεργασίας τους, και συγκεκριμένα προϊόντα με κέλυφος από μαγειρεμένα οστρακοειδή και μαλακία, ισχύει το όριο 100(minimum)-1000(maximum) cfu/g σε θετικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, σύμφωνα με την μέθοδο του EN/ISO 6888-1 ή 2. (Markos Kyprianou, 2005)

Για τυριά που παράγονται από ωμό γάλα, ισχύει το όριο  $10^4$ (minimum)- $10^5$ (maximum) cfu/g σε θετικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, σύμφωνα με την μέθοδο EN/ISO 6888-2. Επίσης για τυριά που παράγονται από γάλα που έχει υποστεί μικρότερη θερμική επεργασία από της παστερίωσης, αλλά και ώριμων τυριών από γάλα ή ορό γάλακτος που έχει δεχτεί παστερίωση ή επεξεργασία με υψηλότερη θερμοκρασία, έχουν ως όριο 100(minimum)-1000(maximum) cfu/g, σύμφωνα με την μέθοδο EN/ISO 6888-1 ή 2. Για τις δύο κατηγορίες των τυριών που αναφέρθηκαν, τα όρια ισχύουν για την διάρκεια της επεξεργασίας τους, όπου θεωρείτε πιο πιθανή η εμφάνιση των μικροοργανισμών αυτών. (Markos Kyprianou, 2005)

(ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Πληροφορίες σχετικά με την νομοθεσία για συγκεκριμένα είδη τροφίμων (Markos Kyprianou, 2005) )

<b>Κατηγορία μικροοργανισμού, τοξινών και μεταβολιτών του.</b>	<b>Κατηγορία τροφίμου</b>	<b>Όρια</b>	<b>Μέθοδος ελέγχου</b>
Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες	Τυριά, σκόνη γάλακτος και σκόνη ορού γάλακτος	Μη ανιχνεύσιμο σε 25g του τροφίμου	Ευρωπαϊκή μέθοδος του CRL για το γάλα.

Θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι	Τυριά από ωμό γάλα	minimum: 10 <sup>4</sup> cfu/g maximum: 10 <sup>5</sup> cfu/g	EN/ISO 6888-2
Θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι	Τυριά από γάλα που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία μικρότερη από την παστερίωση και ώριμα τυριά από γάλα ή ορό γάλακτος που έχει υποστεί παστερίωση ή επεξεργασία με υψηλότερη θερμοκρασία	minimum: 100 cfu/g maximum: 1000cfu/g	EN/ISO 6888-1 ή 2
Θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι	Προϊόντα με κέλυφος απο μαγειρεμένα οστρακοειδη και μαλακία	minimum: 100 cfu/g maximum: 1000cfu/g	EN/ISO 6888-1 ή 2

Ο κανονισμός αυτός δίνει επίσης πληροφορίες σχετικά με τις μεθόδους που πρέπει να ακολουθήσουν οι ειδικοί για την πραγματοποίηση της ανάλυσης διάφορων τροφίμων. Οι έλεγχοι πρέπει να πραγματοποιούνται σε τακτική βάση, καθώς είναι σχετικά εύκολο να συμβούν σφάλματα κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των προϊόντων, εάν οι εργάτες δεν είναι προσεκτικοί.

Εκτός από τον κανονισμό που αναφέρθηκε, υπάρχουν πολλοί άλλοι για διάφορες κατηγορίες τροφίμων που μπορούν να αφορούν συγκεκριμένους τρόπους σωστής επεξεργασίας τους, οδηγίες για την πραγματοποίηση των σωστών ελεγχών για την εξασφάλιση της ασφάλειας και ποιότητα τους, και άλλα. Η κάθε κατηγορία τροφίμων, εμφανίζει διαφορετική ευαισθησία στους παράγοντες που μπορούν να προκαλέσει αρνητικές επιπτώσεις, και για αυτόν τον λόγο πρέπει να επιλέγονται οι σωστοί κανόνες για την κάθε περίπτωση.



## Κεφάλαιο 8: Συμπεράσματα

Μέσα από την εξής εργασία, μπορούμε να διαπιστώσουμε την σοβαρότητα της μόλυνσης από έναν παθογόνο μικροοργανισμό σαν τον *Staphylococcus aureus*. Οι ασθένειες που προκαλεί μπορεί μεν τις περισσότερες περιπτώσεις να έχουν ήπια συμπτώματα που εξαφανίζονται μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, περίπου 24 με 48 ώρες, αλλά κάποιες φορές το παθογόνο αυτό είναι ικανό να προκαλέσει πολύ σοβαρές ασθένειες που απαιτούν ιατρική περίθαλψη.

Είναι προφανές ότι παγκοσμίως, όλοι οι άνθρωποι προσπαθούν να προστατευτούν όσο το δυνατόν περισσότερο από τέτοιου είδους μόλυνσης, τηρώντας όλους τους κανόνες υγιεινής. Ταυτόχρονα οι διαχειριστές τροφίμων, από το αγρόκτημα έως και την κατανάλωση του τελικού προϊόντος, καταβάλουν επίσης προσπάθειες για την διατήρηση της πλήρους ασφάλειας των εκτρεφόμενων ζώων, των ίδιων των εαυτών τους, αλλά και των πρώτων υλών ή τροφίμων, ανάλογα πάντοτε με το στάδιο της επεξεργασίας τροφίμων στον οποίον αναφερόμαστε.

Ακόμη και αν χρησιμοποιούνται τα αντιβιοτικά ως τρόπο μείωσης της ανάπτυξης του βακτηρίου, πρόληψη της εξάπλωσης τους ή επηρεασμού του περιβάλλοντος αλλά και καταπολέμησης των ασθενειών που προκαλεί, είναι ανάγκη να λαμβάνουμε υπόψη τα μειονεκτήματα τόσο όσο και τα πλεονεκτήματα τους. Η αντοχή που απόκτησε ο μικροοργανισμός αυτός, και ακόμη αποκτά σε διάφορα καινούρια είδη βακτηρίων που χρησιμοποιούνται εναντίων του, είναι ένα φαινόμενο που έχει επηρεάσει πολύ το νοσοκομειακό περιβάλλον, την κοινότητα, τα εκτρεφόμενα και μη ζώα, καθώς και τον κλάδο των τροφίμων.

Συγκεκριμένα για τον κλάδο των τροφίμων, μπορεί να αναφερθεί ότι είναι εξίσου σημαντικό να τηρούνται όλες οι σωστές συνθήκες υγιεινής καθ'όλη την διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας, για να εξασφαλιστεί ότι ο MRSA, ή και οποιοσδήποτε άλλος μικροοργανισμός, δεν θα εξαπλωθεί στους ανθρώπους στο γύρω περιβάλλον, επηρεάζοντας έτσι τα προϊόντα προς κατανάλωση και έχοντας ως αποτέλεσμα την αρνητική επίδραση της υγείας ανθρώπων και ζώων. Όπως αναφέρθηκε και σε

προηγούμενο κεφάλαιο, οι κανονισμοί που αφορούν την ασφάλεια των τροφίμων είναι αυστηροί στις περισσότερες χώρες του κόσμου, και το γεγονός ότι οι διαχειριστές των τροφίμων είναι αναγκασμένοι να τους τηρήσουν βοηθάει στην διατήρηση της ασφάλειας ύπο έλεγχο. Η πιθανότητα εμφάνισης του MRSA στα τρόφιμα εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες, όπως ποσότητα χρησιμοποίησης αντιβιοτικών στα κτηνοτροφία, πιθανή μόλυνση των ανθρώπων από το βακτήριο αυτό και στην συνέχεια επαφή τους με τα τρόφιμα, συνθήκες που επικρατούν στο εσωτερικό και εξωτερικό του τροφίμου, και άλλα

Η δράση κάποιων φαρμάκων απέναντι σε ανθεκτικούς μικροοργανισμούς παρουσιάζεται μειωμένη. Πολλές χώρες του κόσμου θέτουν πλέον κανονισμούς, για τις δόσεις που επιτρέπονται να χρησιμοποιηθούν για τις διάφορες απαιτούμενες διαδικασίες. Λαμβάνοντας υπόψη όμως, ότι η απόκτηση αντοχής σε αντιβιοτικά ξεκίνησε από τα πρώτα χρόνια της χρήσης των φαρμάκων αυτών σε οποιονδήποτε κλάδο, η απόφαση για την θέτηση ορίων έπρεπε να είχε παρθεί μεγάλο χρονικό διάστημα πριν. Με τον τρόπο αυτό, θα μπορούσε να αποφευχθεί η παρατεταμένη χρήση των αντιβιοτικών ενώσεων και έτσι η ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών σε αυτά δεν θα αναπτυσσόταν με τόσο μεγάλη ταχύτητα. Η δράση τους θα παρέμενε καλή και θα μπορούσε να συνεχιστεί η χρήση τους χωρίς μεγάλη ανησυχία.

Η ανακάλυψη καινούριων ειδών αντιβιοτικών ή η τροποποίηση των είδη υπάρχοντων, θα πρέπει να συνεχίζεται προκειμένου να μπορούν να αντιμετωπιστούν όλων των ειδών ασθένειες που προκαλούν οι μικροοργανισμοί. Αυτό όμως μπορεί να προκαλέσει αρνητικές επιπτώσεις στην οικονομία κάποιων χωρών. Πολλές από τις μεγάλες επιχειρήσεις δημιουργίας αντιβιοτικών δεν πραγματοποιούν τόσες έρευνες όσες χρειάζονται, και έχει παρατηρηθεί ότι μικρότερες ή και τρίτων χωρών επιχειρήσεις ερευνούν συνεχόμενα τα θέματα των αντιβιοτικών.

Ακόμη και αν πραγματοποιούνται προσπάθειες για την μείωση της παρατεταμένης και άσκοπης χρήσης των αντιβιοτικών σε όλους τους κλάδους, πολλές χώρες δεν έχουν δείξει μεγάλο ενδιαφέρον για το θέμα αυτό. Λαμβάνουν τα αντιβιοτικά ως έναν εύκολο και προσωρινό τρόπο για την αντιμετώπιση ασθενειών, την πρόληψη

ασθενειών στα ζώα και την αύξηση της ταχύτητας ανάπτυξης τους. Ο τελευταίος αναφερόμενος λόγος έχει οικονομικό όφελος, καθώς με την αύξηση της ανάπτυξης των εκτρεφόμενων ζώων, μπορούν να παραχθούν περισσότερα τρόφιμα σε συντομότερο χρονικό διάστημα.

Κλείνοντας, πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχει ανάγκη για περισσότερη πληροφόρηση των ανθρώπων, και ιδιαίτερα των ενδιαφερόμενων, όπως κτηνοτρόφους, ιατρούς, παραγωγούς τροφίμων, κλπ, για όλες τις σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τα μειονεκτήματα της συνεχόμενης χρήσης των αντιβιοτικών. Ταυτόχρονα, η εκπαίδευση όλων των εργατών, δηλαδή στα κτηνοτροφία, νοσοκομεία, εργοστάσια κλπ, ή και γενικότερα όλων των ανθρώπων για τους σωστούς κανόνες προσωπικής υγιεινής και καθαρισμού, θα μπορούσε να βοηθήσει στην πρόληψη της εξάπλωσης του μικροοργανισμού από περιβάλλον σε περιβάλλον και από οργανισμό σε οργανισμό. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να προστατευτεί η υγεία των ανθρώπων με αυξημένη ευαισθησία σε τέτοιου είδους ασθένειες, των ζώων που παρομοίως εμφανίζουν ευαισθησία, όλων των τροφίμων, καθώς και του γενικότερου περιβάλλοντος.

## Βιβλιογραφία

- Alduina, R. (2020). Antibiotics and environment. *Antibiotics*, 9(4), 10–12.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics9040202>
- Álvarez, R., Cortés, L. E. L., Molina, J., Cisneros, J. M., & Pachón, J. (2016). Optimizing the clinical use of vancomycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(5), 2601–2609. <https://doi.org/10.1128/AAC.03147-14>
- Asperger H & Zangerl P. (2002). *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 2563–2569.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00471-5>
- Bacanlı, M., & Başaran, N. (2019). Importance of antibiotic residues in animal food. *Food and Chemical Toxicology*, 125(October 2018), 462–466.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.033>
- Butaye, P., Argudín, M. A., & Smith, T. C. (2016). Livestock-Associated MRSA and Its Current Evolution. *Current Clinical Microbiology Reports*, 3(1), 19–31.  
<https://doi.org/10.1007/s40588-016-0031-9>
- C. Lee Ventola, M. (2015). *The antibiotic Resistance Crisis*. 40(4), 277–283.
- Calderaro, A., Arcangeletti, M. C., Rodighiero, I., Buttrini, M., Gorrini, C., Motta, F., Germini, D., Medici, M. C., Chezzi, C., & De Conto, F. (2014). Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry applied to virus identification. *Scientific Reports*, 4, 1–10.  
<https://doi.org/10.1038/srep06803>
- Castro, A., Santos, C., Meireles, H., Silva, J., & Teixeira, P. (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health*, 9(2), 153–160.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2015.08.001>
- Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M., & Hanage, W. P. (2015). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: How worried should we be? *Evolutionary Applications*, 8(3), 240–247.  
<https://doi.org/10.1111/eva.12185>
- Choo, E. J., & Chambers, H. F. (2016). Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infection and Chemotherapy*, 48(4), 267–273. <https://doi.org/10.3947/ic.2016.48.4.267>

- Cuny, C., Wieler, L. H., & Witte, W. (2015). Livestock-Associated MRSA: The impact on humans. *Antibiotics*, *4*(4), 521–543.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics4040521>
- da Silva, A. C., Rodrigues, M. X., & Silva, N. C. C. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, *51*(1), 347–356. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00168-1>
- Denayer, S., Delbrassinne, L., Nia, Y., & Botteldoorn, N. (2017). Food-borne outbreak investigation and molecular typing: High diversity of *Staphylococcus aureus* strains and importance of toxin detection. *Toxins*, *9*(12), 1–13.  
<https://doi.org/10.3390/toxins9120407>
- Doulgeraki, A. I., Di Ciccio, P., Ianieri, A., & Nychas, G. J. E. (2017). Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology*, *168*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.08.001>
- Edwards, B., Andini, R., Esposito, S., Grossi, P., Lew, D., Mazzei, T., Novelli, A., Soriano, A., & Gould, I. M. (2014). Treatment options for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection: Where are we now? *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *2*(3), 133–140.  
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.03.009>
- Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, *10*(4), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
- Gould, K. (2016). Antibiotics: From prehistory to the present day. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *71*(3), 572–575.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkv484>
- Grumann, D., Nübel, U., & Bröker, B. M. (2014). *Staphylococcus aureus* toxins - Their functions and genetics. *Infection, Genetics and Evolution*, *21*, 583–592.  
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.013>
- Guk, K., Keem, J. O., Hwang, S. G., Kim, H., Kang, T., Lim, E. K., & Jung, J. (2017). A facile, rapid and sensitive detection of MRSA using a CRISPR-mediated DNA FISH method, antibody-like dCas9/sgRNA complex. *Biosensors and Bioelectronics*, *95*(February), 67–71. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.04.016>

- Haaber, J., Penadés, J. R., & Ingmer, H. (2017). Transfer of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 25(11), 893–905.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.011>
- Hafsat Ali Grema, Yaqub Ahmed Geidam, Galadima Bala Gadzama, Jams Agbo Ameh, A. S. (n.d.). *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): A Review*. 3(2), 79–98. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.2.79.98>
- Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., Dai, M., Wang, Y., Liu, Z., & Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in Microbiology*, 5(JUN), 1–11.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00288>
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815–836. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>
- Hutchings, M., Truman, A., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51(Figure 1), 72–80.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- Junghwan, C., Kidon, S., & Saeed, K. (2017). *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Food-Producing and Companion Animals and Food Products*. 47–102. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/66645>
- Kirchhelle, C. (2018). Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). *Palgrave Communications*, 4(1).  
<https://doi.org/10.1057/s41599-018-0152-2>
- Kong, E. F., Johnson, J. K., & Jabra-Rizk, M. A. (2016). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst Us. *PLoS Pathogens*, 12(10), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005837>
- Lakhundi, S., & Zhang, K. (2018). *crossm*. 32(iv).
- Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(May), 1–23. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
- Lima, L. M., Silva, B. N. M. da, Barbosa, G., & Barreiro, E. J. (2020).  $\beta$ -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European*

- Journal of Medicinal Chemistry*, 208, 112829.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>
- MacGowan, A., & Macnaughton, E. (2017). Antibiotic resistance. *Medicine (United Kingdom)*, 45(10), 622–628. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2017.07.006>
- Mahros, M. A., Abd-Elghany, S. M., & Sallam, K. I. (2021). Multidrug-, methicillin-, and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat meat sandwiches: An ongoing food and public health concern. *International Journal of Food Microbiology*, 346(February), 109165.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109165>
- Markos Kyprianou, (Member of the Commission). (2005). COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005. *Official Journal of the European Union*, 1–26.  
[https://www.fsai.ie/food\\_businesses/micro\\_criteria/reg\\_2073\\_05.html](https://www.fsai.ie/food_businesses/micro_criteria/reg_2073_05.html)
- Mediavilla, J. R., Chen, L., Mathema, B., & Kreiswirth, B. N. (2012). Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Current Opinion in Microbiology*, 15(5), 588–595.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.003>
- Menkem, Z. E., Ngangom, B. L., Tamunjoh, S. S. A., & Boyom, F. F. (2019). Antibiotic residues in food animals: Public health concern. *Acta Ecologica Sinica*, 39(5), 411–415. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.10.004>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*, 6, 481–511.  
<https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch17>
- Oliveira, D., Borges, A., & Simões, M. (2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, 10(6).  
<https://doi.org/10.3390/toxins10060252>
- Oliveira, N. A., Gonçalves, B. L., Lee, S. H., Oliveira, C. A. F., & Corassin, C. H. (2020). Use of antibiotics in animal production and its impact on human health. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 6(1), 40–47.  
<https://doi.org/10.17756/jfcn.2020-082>
- Oniciuc, E. A., Nicolau, A. I., Hernández, M., & Rodríguez-Lázaro, D. (2017). Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the food chain. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.002>

- Papadopoulos, P., Papadopoulos, T., Angelidis, A. S., Boukouvala, E., Zdragas, A., Papa, A., Hadjichristodoulou, C., & Sergelidis, D. (2018). Prevalence of Staphylococcus aureus and of methicillin-resistant S. aureus (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. *Food Microbiology*, *69*, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.016>
- Rodríguez-Lázaro, D., Oniciuc, E. A., García, P. G., Gallego, D., Fernández-Natal, I., Dominguez-Gil, M., Eiros-Bouza, J. M., Wagner, M., Nicolau, A. I., & Hernández, M. (2017). Detection and characterization of Staphylococcus aureus and methicillin-resistant S. aureus in foods confiscated in EU borders. *Frontiers in Microbiology*, *8*(JUL), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01344>
- Rubab, M., Shahbaz, H. M., Olaimat, A. N., & Oh, D. H. (2018). Biosensors for rapid and sensitive detection of Staphylococcus aureus in food. *Biosensors and Bioelectronics*, *105*(November 2017), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.023>
- Sánchez, S., & Demain, A. L. (2017). The amazing world of antibiotics. *Biochemical Pharmacology*, *133*, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.03.008>
- Schar, D., Klein, E. Y., Laxminarayan, R., Gilbert, M., & Van Boeckel, T. P. (2020). Global trends in antimicrobial use in aquaculture. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78849-3>
- Sengupta, S., Chattopadhyay, M. K., & Grossart, H. P. (2013). The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Frontiers in Microbiology*, *4*(MAR), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00047>
- Sergelidis, D., & Angelidis, A. S. (2017). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology*, *64*(6), 409–418. <https://doi.org/10.1111/lam.12735>
- Shahid, A. H., Nazir, K. H. M. N. H., El Zowalaty, M. E., Kabir, A., Sarker, S. A., Siddique, M. P., & Ashour, H. M. (2021). Molecular detection of vancomycin and methicillin resistance in Staphylococcus aureus isolated from food processing environments. *One Health*, *13*, 100276. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100276>
- Singh, S. B., Young, K., & Silver, L. L. (2017). What is an “ideal” antibiotic? Discovery challenges and path forward. *Biochemical Pharmacology*, *133*, 63–73.



<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.01.003>

Stefani, S., Chung, D. R., Lindsay, J. A., Friedrich, A. W., Kearns, A. M., Westh, H., & MacKenzie, F. M. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *39*(4), 273–282.

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.09.030>

Tawil, N., Sacher, E., Mandeville, R., & Meunier, M. (2012). Surface plasmon resonance detection of *E. coli* and methicillin-resistant *S. aureus* using bacteriophages. *Biosensors and Bioelectronics*, *37*(1), 24–29.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.04.048>

Thapaliya, D., Forshey, B. M., Kadariya, J., Quick, M. K., Farina, S., O' Brien, A., Nair, R., Nworie, A., Hanson, B., Kates, A., Wardyn, S., & Smith, T. C. (2017). Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA. *Food Microbiology*, *65*, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.015>

Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(4), 203–218. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>

Valero, A., Pérez-Rodríguez, F., Carrasco, E., Fuentes-Alventosa, J. M., García-Gimeno, R. M., & Zurera, G. (2009). Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology*, *133*(1–2), 186–194.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023>

Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(18), 5649–5654.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>