



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΛΟΙΜΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΗΜΟΣΙΑ
ΥΓΕΙΑ

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟ ΕΤΟΣ: 2021-2023

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία με Τίτλο:
«Αποτελέσματα Εργαστηριακής Επιτήρησης *Shigella boydii*
στην Ελλάδα»

Δήμητρα-Ευαγγελία Γουάτσον

ΑΜ: mdy21053

Επιβλέπουσα: Γεωργία Μανδηλαρά, Επίκουρη Καθηγήτρια

Αθήνα, Ιούλιος, 2024



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF PUBLIC HEALTH
DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH POLICY**

**POSTGRADUATE PROGRAM IN PUBLIC HEALTH (MSc)
SPECIALIZATION: INFECTIOUS DISEASES – PUBLIC HEALTH
LABORATORIES
ACADEMIC YEAR: 2021-2023**

Master Thesis

“Results of Laboratory Surveillance of *Shigella boydii* in Greece”

Dimitra-Evangelia Gouatson (Watson)

Registration No.: mdy21053

Supervisor: Georgia Mandilara, Assistant Professor

Athens, July, 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΛΟΙΜΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ – ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΗΜΟΣΙΑ
ΥΓΕΙΑ

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟ ΕΤΟΣ: 2021-2023

«Αποτελέσματα Εργαστηριακής Επιτήρησης *Shigella boydii*
στην Ελλάδα»

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Επιβλέποντα

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

A/a	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	ΓΕΩΡΓΙΑ ΜΑΝΔΗΛΑΡΑ	ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ	
2	ΑΡΕΤΗ ΤΣΟΓΚΑ	ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ	
3	ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΠΑΝΑΓΙΩΤΙΔΗ	ΕΔΙΠ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Δήμητρα Ευαγγελία Γουάτσον του Ρόμπερτ-Άλαν Γουάτσον, με αριθμό μητρώου mdy21053, φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Δημόσια Υγεία του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα



Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα

Copyright © , <Δήμητρα-Ευαγγελία Γουάτσον> ,

<2023> Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

All rights reserved.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των απαιτήσεων του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Δημόσια Υγεία του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Η έγκρισή της δεν υποδηλώνει απαραίτητως και την αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας.

Βεβαιώνω ότι η παρούσα Διπλωματική Εργασία είναι αποτέλεσμα προσωπικής μου εργασίας και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές που αναφέρω έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά όπου απαιτείται και έχω παραθέσει τις πηγές τους στο σχετικό τμήμα της βιβλιογραφίας.

Υπογραφή:

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'D' followed by a cursive flourish.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η *Shigella* spp. αποτελεί ένα gram αρνητικό παθογόνο βακτήριο, υπεύθυνο για πρόκληση τροφιμογενών και υδατογενών λοιμώξεων στον άνθρωπο. Παράγοντες όπως η μικρή μολυσματική του δόση, η συνεχώς αυξανόμενη αντοχή του σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στις θεραπείες, καθώς και οι λοιμογόνοι μηχανισμοί που διαθέτει είναι που καθιστούν το μικρόβιο αυτό ένα σοβαρό πρόβλημα για τη Δημόσια Υγεία. Ενώ η *S.boydii* ενδημεί στις χώρες της Νοτιοανατολικής Ασίας, όπως η Ινδία και το Μπαγκλαντές, έχουν καταγραφεί κρούσματα και στην Ελλάδα.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να παρουσιάσει τα αποτελέσματα της εργαστηριακής μελέτης των κλινικών καλλιεργημάτων *S.boydii* που απομονώθηκαν στην Ελλάδα την περίοδο 2013-2022.

Μεθοδολογία: Συνολικά μελετήθηκαν 27 καλλιεργήματα *Shigella boydii*, τα οποία είχαν σταλεί στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Σαλμονελών-Σιγκελών την περίοδο 2013-2022. Ελέγχθηκε η αντοχή τους σε 16 αντιβιοτικά (AST), εφαρμόστηκε η μέθοδος Double Disk Synergy Test-DDST σε καλλιεργήματα τα οποία παρουσίασαν αντοχή σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς. Σε ό,τι αφορά την μοριακή τυποποίηση των καλλιεργημάτων, επιλέχθηκε η μέθοδος PFGE, χρησιμοποιώντας ως περιοριστικά ένζυμα τα XbaI και NotI.

Αποτελέσματα: Το 41% των κρουσμάτων αφορούσε παιδιά ηλικίας 0-5 ετών, ενώ το 59% ήταν άνδρες. Τα κρούσματα προήλθαν από έξι διαφορετικές περιφέρειες της Ελλάδας (οκτώ νομοί). Το 77% των δειγμάτων εμφάνισε αντοχή στην Τριμεθοπρίμη, ενώ τα δύο ESBL στελέχη εμφάνισαν αντοχή σε περισσότερο από τρεις ομάδες αντιβιοτικών. Η PFGE έδειξε ένα κυρίαρχο προφίλ, με τα δύο ESBL δείγματα να έχουν σημαντικές διαφορές.

Συμπεράσματα: Το βακτήριο *S.boydii* χρήζει συνεχούς επιδημιολογικής και εργαστηριακής επιτήρησης από τους φορείς Δημόσιας Υγείας στην Ελλάδα. Έτσι, θα μπορούν να λαμβάνονται έγκαιρα τα απαραίτητα μέτρα για την διασφάλιση της υγείας σε ατομικό αλλά και συλλογικό επίπεδο.

Λέξεις-κλειδιά: *Shigella* spp., *S. boydii*, επιτήρηση, τυποποίηση

ABSTRACT

Introduction

Shigella spp. is a Gram-negative pathogenic bacterium responsible for foodborne and waterborne infections in humans. Factors such as its low infectious dose, the continuously increasing antibiotic resistance of the isolates, and its virulence mechanisms make this microorganism a significant public health concern. While *S. boydii* is endemic in Southeast Asian countries like India and Bangladesh, cases have also been reported in Greece.

Objective

The aim of this study was to present the results of the laboratory analysis of clinical cultures of *S. boydii* isolated in Greece during the period 2013-2022.

Methodology

A total of 27 *Shigella boydii* cultures, sent to the National Salmonella-*Shigella* Reference Center between 2013 and 2022, were studied. Antibiotic susceptibility testing (AST) was performed on 16 antibiotics, and the Double Disk Synergy Test (DDST) was applied to isolates showing resistance to third-generation cephalosporins. For molecular typing, Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) was selected using XbaI and NotI restriction enzymes.

Results

Forty-one percent of cases involved children aged 0-5 years, while 59% were males. Cases originated from six different regions of Greece (eight prefectures). Seventy-seven percent of the samples exhibited resistance to trimethoprim, while the two ESBL strains showed resistance to more than three antibiotic groups. PFGE revealed a predominant profile, with the two ESBL strains showing significant differences.

Conclusions

S. boydii requires continuous epidemiological and laboratory surveillance by public health authorities in Greece. This will allow for the timely implementation of necessary measures to ensure both individual and public health.

Keywords: *Shigella spp.*, *S. boydii*, Surveillance, Typing

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Κατάλογος Πινάκων.....	vii
Κατάλογος Γραφημάτων	viii
Κατάλογος Εικόνων	x
Συντομογραφίες.....	xii
Εισαγωγή	14
Α' Ενότητα-Γενικό Μέρος.....	16
Κεφάλαιο 1 ^ο : <i>Shigella</i> spp. – Βασικές Έννοιες	16
Εντεροβακτηριοειδή	16
1.1. <i>Shigella</i> spp.	16
1.1.1. Ιστορική Αναδρομή	16
1.1.2. Χαρακτηριστικά-Ταξινόμηση.....	17
1.1.3. Τοξίνες.....	18
Κεφάλαιο 2 ^ο : Σιγκέλλωση	21
2.1. Περιγραφή Νοσήματος.....	21
2.2. Μηχανισμοί Δράσης-Παθογένεια	21
2.3. Επιδημιολογική και Εργαστηριακή Επιτήρηση-Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης.....	22
2.5. Κλινική Εικόνα-Συμπτωματολογία.....	24
2.6. Επιπλοκές.....	25
2.7. Διάγνωση.....	27
2.8. Θεραπεία-Αντιβιοτικά.....	27
2.8.1. Αντιμικροβιακή Αγωγή.....	28
2.8.2. Μηχανισμοί ανοχής-B-Λακταμάσες	29
2.9. Πρόγνωση-Πρόληψη.....	31
2.9.1. Μέτρα Πρόληψης και Ελέγχου.....	31
2.9.2. Εμβόλια	33
Κεφάλαιο 3 ^ο : Επιδημιολογικά δεδομένα - Επιδημιολογία <i>Shigella</i> spp.	37
3.1. <i>Shigella</i> spp.	37
3.2. Σιγκέλλωση.....	47
Κεφάλαιο 4 ^ο : <i>Shigella boydii</i>	50
4.1. Ορότυπος-Χαρακτηριστικά.....	50
4.2 Επιδημιολογικά δεδομένα <i>Shigella boydii</i>	50
4.2.1. Επιδημίες	50

4.2.2. Δεδομένα.....	51
Κεφάλαιο 5^ο: Εργαστηριακή Επιτήρηση <i>Shigella</i> spp.	54
5.1. Απομόνωση-Τυποποίηση.....	54
5.2. Τυποποίηση.....	55
5.2.1. Φαινοτυπικές Μέθοδοι.....	55
5.2.2. Μοριακές Μέθοδοι Τυποποίησης.....	59
Β Ενότητα - Ειδικό Μέρος.....	61
Κεφάλαιο 6^ο : Σκοπός-Στόχοι.....	61
Κεφάλαιο 7^ο: Υλικά και Μέθοδοι	62
7.1. Απομόνωση-Ανακαλλιέργειες-Φύλαξη	62
7.2. Φαινοτυπική Τυποποίηση-Αντιβιογράμματα.....	63
7.3. Μοριακή Τυποποίηση	65
7.4. Οροτυποποίηση	68
Κεφάλαιο 8^ο : Αποτελέσματα	70
Κεφάλαιο 9^ο: Συζήτηση	85
Κεφάλαιο 10^ο: Συμπεράσματα.....	88
Βιβλιογραφικές Αναφορές	3

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 3.1.1.: Αριθμός δηλωθέντων περιστατικών και επίπτωση Σιγκέλλωσης (Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, Ελλάδα, 2004-2021)(ΕΟΔΥ, 2022).....σελ.26
Πίνακας 3.2.3.: Επιβεβαιωμένα περιστατικά σιγκελλώσεων και οι τιμές ανά 100.000 πληθυσμό ανά χώρα και έτος, EU/ΕΕΑ,2018–2022 (ECDC, 2022).....σελ.36
Πίνακας 4.2.2: Κατανομή Συχνοτήτων ανά Είδος για το χρονικό διάστημα 2004-2021, ΕΟΔΥ, 2021.....σελ.42
Πίνακας 5.2.1.α: Βιοχημικές εξετάσεις <i>Shigella</i> spp., Π.Ο.Υ., 2010.....σελ.45
Πίνακας 5.2.1.β: Βιοχημικές Ιδιότητες οροτύπων <i>Shigella</i> spp.....σελ.47
Πίνακας 7.1.: Αρίθμηση Δειγμάτων <i>S.boydii</i>σελ.52
Πίνακας 7.3.α : Διάλυμα για Pre-Restriction πέψη.....σελ.58
Πίνακας 7.3.β.: Διάλυμα για Restriction Enzyme πέψη για τις περιοριστικές Ενδονουκλεάσες Xba1/Not1.....σελ.58
Πίνακας 7.3.γ.: Tris-Borate EDTA Buffer (TBE) (10x) διάλυμα.....σελ.59
Πίνακας 7.3.δ.: Βιοχημικές Ιδιότητες Οροτύπων <i>S.boydii</i> , ΠΟΥ, 2010.....σελ.60
Πίνακας 8: Προέλευση κρουσμάτων <i>S.boydii</i> στην Ελλάδα, 2013-2022.....σελ.62

Κατάλογος Γραφημάτων

- Γράφημα 2.8.2.:** Ποσοστά Στελεχών *Shigella* spp. Με ανθεκτικότητα (CDC, 2022).....σελ.17
- Γράφημα 3.1.1.α.:** Διαχρονική εξέλιξη της δηλούμενης επίπτωσης της σιγκέλλωσης στην Ελλάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021 (ΕΟΔΥ, 2022).....σελ.27
- Γράφημα 3.1.1.β.** Μέση μηνιαία δηλούμενη επίπτωση (αριθμός κρουσμάτων/1.000.000 πληθυσμού) της σιγκέλλωσης στην Ελλάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021 (ΕΟΔΥ, 2022).....σελ.27
- Γράφημα 3.1.1.γ:** Ποσοστό απομονώσεων *Shigella* που παρουσίασαν φαινότυπο ή γονότυπο εκτενώς ανθεκτικό σε αντιβιοτικά (XDR) στις Ηνωμένες Πολιτείες, ανά έτος, 2015-2022 (n=239) (CDC, 2023).....σελ.29
- Γράφημα 3.1.2.α.** Μέση ετήσια δηλούμενη επίπτωση (αριθμός κρουσμάτων/1.000.000 πληθυσμού) της σιγκέλλωσης στην Ελλάδα ανά ηλικιακή ομάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021.....σελ.30
- Γράφημα 3.1.2.β.** Μέση Ετήσια Δηλούμενη Επίπτωση (αριθμός κρουσμάτων/1.000.000 πληθυσμού) της Σιγκέλλωσης στην Ελλάδα ανά Φύλο-Atlas of Infectious Diseases (ECDC, 2021).....σελ.30
- Γράφημα 4.2.2.α.:** Κατανομή Περιστατικών *Shigella* spp. Στην Ελλάδα (πορτοκαλί) σε σχέση με την υπόλοιπη Ε.Ε., ECDC, 2021.....σελ.41
- Γράφημα (4.2.2.β.):** Κατανομή περιστατικών ανά οροομάδα στην Ελλάδα (πορτοκαλί) σε σχέση με τις υπόλοιπες χώρες της Ε.Ε. (συμπεριλαμβάνεται και το Ην.Βασίλειο ως το 2019), ECDC, 2021.....σελ.42
- Γράφημα 8.α:** Κατανομή καλλιεργημάτων *S.boydii* ανά φύλο για την χρονική περίοδο 2013-2022.....σελ.61
- Γράφημα 8.β:** Κατανομή καλλιεργημάτων *S.boydii* ανά Ηλικιακή Ομάδα, 2013-2022..σελ.61
- Γράφημα 8.γ:** Καταγραφή αριθμού καταγεγραμμένων περιστατικών *S.boydii* στην Ελλάδα ανά έτος.....σελ.62

Γράφημα 8.δ: Ποσοστά Αντοχής σε Αντιβιοτικά των καλλιεργημάτων *S.boydii* στην Ελλάδα, 2013-2022.....σελ.63

Γράφημα 8.ε: Αποτελέσματα Οροτυποποίησης στελεχών *S.boydii*.....σελ.66

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 2.2.: Στάδια Μόλυνσης και Παθογένεσης των <i>Shigella</i> spp. άνθρωπο. (Matanza X., Clements A.,2023).....σελ.8
Εικόνα 2.9.1.: Μέτρα Προφύλαξης Μετάδοσης της <i>Shigella</i> . (Long S., Prober C. και Fischer M., 2018).....σελ.20
Εικόνα 2.9.2.: Χρονοδιάγραμμα εμβολίων <i>Shigella</i> spp., ΠΟΥ, 2023).....σελ.24
Εικόνα 3.2.3. : Επιβεβαιωμένα κρούσματα <i>Shigella</i> spp. ανά 100 000 πληθυσμού ανά χώρα, ΕΕ/ΕΟΧ, 2022 (ECDC, 2022).....σελ.38
Εικόνα 5.1.: Αποικίες <i>Shigella</i> spp. σε τρυβλίο με XLD, Πανεπιστήμιο της Κοπεγχάγηςσελ.44
Εικόνα 5.2.1.α: Αποτελέσματα Δοκιμασίας Κινητικότητας, Aryal S., 2022.....σελ.45
Εικόνα 5.2.1.β: Αποτελέσματα οροσυγκόλλησης, Π.Ο.Υ., 2010.....σελ.47
Εικόνα 7.2.α Αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη αντιβιοτικών στα καλλιεργήματα <i>S.boydii</i>σελ.54
Εικόνα 7.2.β.: Κλίμακα McFarland, Bioanalytic GmbH.....σελ.55
Εικόνα 8.α Τρυβλίο του δείγματος 59/2022 έπειτα από δοκιμασία διάχυσης διπλού δίσκου (DDST).....σελ.64
Εικόνα 8.β Τρυβλίο του δείγματος 115/2018 έπειτα από δοκιμασία διάχυσης διπλού δίσκου (DDST).....σελ.65
Εικόνα 8.γ: Θετικό αποτέλεσμα Δοκιμασίας Ινδόλης (Indole Test).....σελ.67
Εικόνα 8.δ: Θετικό αποτέλεσμα Δοκιμασίας Ξυλόζης (Xylose Test) σε στέλεχος <i>S.boydii</i> ..σελ.68
Εικόνα 8.ε: Αποτέλεσμα 1 ^{ης} PFGE (με Xba1).....σελ.69
Εικόνα 8.στ: Αποτέλεσμα 2 ^{ης} PFGE (με χρήση Xba1).....σελ.70
Εικόνα 8.ζ: Αποτέλεσμα 3ης PFGE (με χρήση Xba1).....σελ.71
Εικόνα 8.η Αποτέλεσμα 1 ^{ης} PFGE (με χρήση Not1)σελ.72
Εικόνα 8.θ Αποτέλεσμα 2ης PFGE (με χρήση Not1).....σελ.73

Εικόνα 8.1α Αποτέλεσμα 3^{ης} PFGE (με χρήση Not1).....σελ74

Εικόνα 8.1β: Δενδρόγραμμα από την επεξεργασία των μοριακών προφίλ, αφού έγινε πέψη του DNA των δειγμάτων με τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες Xba1 και Not1, καθώς και ηλεκτροφόρησή τους σε παλλόμενο πεδίο. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το πρόγραμμα Bionumerics.σελ.75

Συντομογραφίες

ΕΚΑΣΣ: Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Σαλμονελλών, Σιγκελλών και λοιπών Εντεροπαθογόνων

ΕΟΔΥ: Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας

ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

CDC: Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ

ECDC: Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων

PFGE: Ηλεκτροφόρηση γέλης σε παλλόμενο πεδίο

ESBL: παραγωγί ευρέως φάσματος β-λακταμασών

AST: Έλεγχος ευαισθησίας στα αντιβιοτικά

DDST: Δοκιμή συνέργειας διπλού δίσκου

STX: τοξίνη Σίγκα (Shiga)

HUS: Αιμολυτικό Ουραιμικό Σύνδρομο

MSM: άνδρες που έρχονται σε σεξουαλική επαφή με άνδρες

LMIC: χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος χώρες

FDA: Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ

XDR: εκτεταμένα ανθεκτικά στα αντιβιοτικά

EFSA: Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων

NA: Nutrient Agar

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών στη Δημόσια Υγεία με Κατεύθυνση Εργαστηριακή Δημόσια Υγεία-Λοιμώδη Νοσήματα του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, με επιβλέπουσα την κα. Μανδηλαρά Γεωργία, Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Δημόσιας Υγείας – Μοριακής Μικροβιολογίας και Επιστημονική Υπεύθυνη του Εθνικού Κέντρου Αναφοράς Σαλμονελλών –Σιγκελλών και λοιπών εντεροπαθογόνων (ΕΚΑΣΣ). Θέμα της εργασίας αποτέλεσε η μελέτη των κλινικών καλλιεργημάτων *Shigella boydii* που απομονώθηκαν την περίοδο 2013-2022.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα Επίκουρη καθηγήτρια κα. Μανδηλαρά Γεωργία για τις γνώσεις που μου έδωσε καθ' όλη την διάρκεια της φοίτησής μου, για τις συμβουλές της, για την πίστη και την εμπιστοσύνη της σε εμένα, καθώς και για την πολύτιμη ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω την συγκεκριμένη ερευνητική εργασία σε συνεργασία με εκείνη.

Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να δώσω στην Ντούρο Νταϊάνα και στον Παπαγεωργίου Γεώργιο, οι οποίοι με καθοδήγησαν και με βοήθησαν στην πραγματοποίηση των πειραμάτων μου με αμέριστη υπομονή.

Ακόμη, θέλω να ευχαριστήσω ξεχωριστά τον κο. Πολέμη Μιχάλη στην συμβολή του στην δημιουργία του Δενδροδιαγράμματος της PFGE.

Από μέσα από την καρδιά μου ευχαριστώ όσους μου πρόσφεραν την αμέριστη ηθική στήριξη σε αυτήν την προσπάθειά μου. Ιδιαίτερα τον αδερφό μου, την μητέρα μου, τον σύντροφό μου, και τους φίλους μου για όσο μου στάθηκαν στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Εισαγωγή

Το είδος ονομάστηκε προς τιμήν του Βρετανού βακτηριολόγου John Boyd. Η *S. boydii* εντοπίστηκε και περιγράφηκε για πρώτη φορά στις αρχές του 20ού αιώνα, καθώς οι επιστήμονες άρχισαν να κατανοούν καλύτερα τα βακτήρια που προκαλούν διάφορες ασθένειες. Η *S.boydii* είναι ένα μικρό, ραβδοειδές βακτήριο που δεν σχηματίζει σπόρια και είναι συνήθως ακίνητο. Μπορεί να καλλιεργηθεί σε διάφορα θρεπτικά μέσα, αλλά προτιμά τα επιλεκτικά μέσα που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση των εντεροπαθογόνων βακτηρίων. Το γονιδίωμα της *S. boydii* είναι σχετικά μεγάλο σε σύγκριση με άλλα είδη του γένους *Shigella* και παρουσιάζει μεγάλη γενετική ποικιλομορφία. Υπάρχουν 19 γνωστοί οροτύποι της *S. boydii*, που διαφέρουν ως προς τα αντιγόνα τους.

Η *S. boydii* προκαλεί δυσεντερία, μια σοβαρή μορφή διάρροιας που συχνά συνοδεύεται από πυρετό, κοιλιακούς πόνους και αιματηρά κόπρανα. Μετά την κατάποση, το βακτήριο ταξιδεύει μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα μέχρι να φτάσει στα επιθηλιακά κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, όπου προσβάλλει, προκαλώντας ερεθισμό, φλεγμονή και νέκρωση (οίδημα και καταστροφή των μολυσμένων κυττάρων, που εξαπλώνει τη μόλυνση).

Η *S. boydii* είναι πιο συχνή σε χώρες με χαμηλό ή μεσαίο εισόδημα, ιδιαίτερα στην Ασία και την Αφρική. Η εξάπλωση της σχετίζεται στενά με τις συνθήκες υγιεινής, την ποιότητα του νερού και τις κοινωνικοοικονομικές συνθήκες. Αν και ενδημική σε ορισμένες περιοχές, μπορεί να προκαλέσει sporadικές εξάρσεις σε διάφορες περιοχές του κόσμου, συχνά συνδεδεμένες με εκδηλώσεις ή κοινότητες με χαμηλό επίπεδο υγιεινής. Η μετάδοση γίνεται κυρίως μέσω της κοπρανο-στοματικής οδού, δηλαδή από μολυσμένα τρόφιμα ή νερό.

Η διάγνωση της λοίμωξης από *S. boydii* βασίζεται στην απομόνωση και ταυτοποίηση του βακτηρίου από δείγματα κοπράνων.

Η θεραπεία της λοίμωξης από *S. boydii* περιλαμβάνει την παροχή επαρκούς ποσότητας υγρών για την αποφυγή αφυδάτωσης και, σε σοβαρές περιπτώσεις, τη χορήγηση αντιβιοτικών. Ωστόσο, η αυξανόμενη αντοχή των βακτηρίων στα αντιβιοτικά αποτελεί μια σημαντική πρόκληση για τη θεραπεία της λοίμωξης από *Shigella*.

Η πρόληψη της λοίμωξης από *S. boydii* βασίζεται στην καλή υγιεινή των τροφίμων και του νερού, καθώς και στην αποτελεσματική επεξεργασία των λυμάτων. Ο εμβολιασμός αποτελεί επίσης μια ελπιδοφόρα προοπτική για την πρόληψη της λοίμωξης από *Shigella*.

Η *Shigella boydii* είναι ένα σημαντικό παθογόνο που προκαλεί δυσεντερία, κυρίως σε περιοχές με χαμηλό επίπεδο υγιεινής. Η κατανόηση των βιολογικών χαρακτηριστικών, της παθογένειας και της επιδημιολογίας της *S. boydii* είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διάγνωσης, θεραπείας και πρόληψης της λοίμωξης.

Η εμφάνιση του συγκεκριμένου είδους στην Ελλάδα και η περιγραφή των κρουσμάτων και των καλλιεργημάτων θα απασχολήσει την παρούσα εργασία.

Α' Ενότητα-Γενικό Μέρος

Κεφάλαιο 1^ο : *Shigella* spp. – Βασικές Έννοιες

Εντεροβακτηριοειδή

Η *Shigella* spp. ανήκει στην οικογένεια των *Enterobacteriaceae*. Συνολικά στην οικογένεια των *Enterobacteriaceae* έχουν αναγνωριστεί 53 γένη. Τα 26 είδη και δύο υποείδη από αυτά απασχολούν τον άνθρωπο, με τα έξι αυτών να έχουν επαναταξινομηθεί σε άλλα γένη τα τελευταία χρόνια και τα 10 να έχουν απομονωθεί από κλινικό υλικό.

Τα κοινά τους χαρακτηριστικά είναι ότι έχουν ραβδόμορφο σχήμα (βάκιλοι) με μήκος 1-5μm, είναι προαιρετικά αναερόβια, αρνητικά κατά Gram μικρόβια, καταλάση και ορνιθίνη θετικά και οξειδάση αρνητικά, ενώ μεταβολίζουν ορισμένα σάκχαρα (λ.χ. γλυκόζη), που με την ζύμωσή τους παράγουν είτε οξέα (π.χ. γαλακτικό οξύ) και αερίων. Οι αποικίες των στελεχών αυτών χαρακτηρίζονται ως «ελαφρώς βλεννοειδείς». Δεν σχηματίζουν σπόρια, έχει βρεθεί κάψα σε όσα βακτήρια αυτής της οικογένειας διαθέτουν αντιγόνο K1. Ως προς την κίνησή τους, διαθέτουν πολλαπλά μαστίγια (περιτριχοειδή), με άλλα γένη να μένουν ακίνητα.

Ακόμη, τα βακτηριακά κύτταρα έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται στους ξενιστές τους, μέσω των ινιδίων (fimbriae) που διαθέτουν τα μέλη αυτής της οικογένειας. Αξίζει να σημειωθεί πως πολλά από αυτά τα βακτήρια βρίσκονται φυσιολογικά στην χλωρίδα του εντέρου στα ζώα ή/και στους ανθρώπους, στο νερό, στο έδαφος και στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Υπάρχει ακόμη και μια πιθανότητα να ζουν παρασιτικά σε ορισμένα ζώα και φυτά. (Louisiana Office of Public Health, 2018, Arredondo-Alonso S., 2023, Public Health England, 2013).

1.1. *Shigella* spp.

1.1.1. Ιστορική Αναδρομή

Ο όρος της βακτηριακής δυσεντερίας πρωτοαναφέρθηκε από τα βιβλικά χρόνια, με τον Ιπποκράτη να περιγράφει τη νόσο ως «μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από την έξοδο αιματηρών και βλέννας κοπράνων που συνοδεύονται από καταπόνηση και τεινεσμούς».

Αρχικά το 1888 στο Παρίσι, οι επιστήμονες André Chantemesse και Fernand Widal έδωσαν μία πρώτη περιγραφή ενός μικροοργανισμού από νεκροτομές στρατιωτών που είχαν επιστρέψει από

το Βιετνάμ. Αν και η περιγραφή χαρακτηρίστηκε από ανακρίβειες, τελικά ταυτίστηκε με εκείνη που έδωσε μία δεκαετία αργότερα ο Ιάπωνας γιατρός Kiyoshi Shiga.

Ειδικότερα, ο Shiga απομόνωσε τον βάκιλλο από τα κόπρανα από έναν ασθενή κατά το ξέσπασμα μιας επιδημίας στην Ιαπωνία. Προς τα τέλη του 19^{ου} αιώνα, η επιδημική δυσεντερία στην Ιαπωνία αποτελούσε ένα κοινό φαινόμενο, με το ποσοστό θνητότητας να φτάνει το 25% και με πάνω από 22.000 θανάτους το 1987. Χαρακτηριστικά είναι τα λόγια του ίδιου του Shiga για την δυσεντερία, ότι δηλαδή πρόκειται για «την πιο τρομακτική ασθένεια των παιδιών από την κεραυνοβόλο πορεία της και την υψηλή θνητότητα». Ενώ η απομόνωση ενός εντερικού παθογόνου από κόπρανα ήταν δύσκολο για την εποχή, εκείνος την κατάφερε από τα κόπρανα 34 ασθενών, καθώς και από το τοίχωμα του εντέρου δύο νεκρών ασθενών.

Η ανακάλυψη δημοσιεύτηκε πρώτα σε περιοδικά εθνικού και ύστερα παγκόσμιου επιπέδου. Το στέλεχος που μελετήθηκε τότε ονομάστηκε *Bacillus dysenteriae* από τον Shiga, σήμερα πλέον έχει μετονομαστεί σε *Shigella dysenteriae* ορότυπος 1. Αργότερα αναγνωρίστηκε το *S.flexneri* (1899), το *S.sonnei* (1906) και το *S.boydii* (1921). (The H., Thanh D., Holt K., Thomson N. και Baker S., 2016, Lampel K., Formal S., και Maurelli A., 2018)

1.1.2. Χαρακτηριστικά-Ταξινόμηση

Η Σιγκέλλα (*Shigella* spp.) αποτελεί ένα Gram-αρνητικό, προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο, με διαστάσεις 0,4-0,6μm πλάτος και 1-3μm μήκος, το οποίο εντάσσεται στην οικογένεια των Εντεροβακτηριοειδών και στη φυλή *Escherichia*. Ανάμεσα στα είδη (ή αλλιώς οροομάδες) που ανήκουν στο γένος αυτό, συγκαταλέγονται οι *S. dysenteriae* (Ομάδα A), *S. flexneri* (Ομάδα B), *S. boydii* (Ομάδα C) και *S. sonnei* (Ομάδα D). Από τις παραπάνω, οι τρεις πρώτες (A,B,C) διαιρούνται με την σειρά τους σε 15,15 και 19 οροτύπους και υποτύπους αντίστοιχα, με την χρήση αραβικών αριθμών και μικρών γραμμάτων για την απόδοσή τους (π.χ. *S.flexneri* 2a). Από την άλλη, η *S.sonnei* (Ομάδα D) έχει ένα μοναδικό ορότυπο. Αξίζει να επισημανθεί ακόμη πως η *S.sonnei* ξεχωρίζει από τις άλλες οροομάδες, αφού παρουσιάζει θετικές βιοχημικές αντιδράσεις β-D-γαλακτοσιδάσης και ορνιθινο αποκαρβοξυλάσης.

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι οι υποομάδες αυτές ανήκουν σε κοινό γονιδιωματικό είδος, με εξαίρεση το *S.boydii* 13, το οποίο ταυτίζεται περισσότερο με το *E.albertii*. Σε φυλογενετικό επίπεδο, τα *Shigella* spp. (εκτός του *S.boydii* 13) εντάσσονται σε επτά ομάδες του κλάδου της *E.coli*. (Grimont F. et.al., 2007)

Ακόμη, τα *Shigella* spp. μπορούν να διαχωριστούν από την *E.coli* λόγω του ό,τι οι σιγκέλλες είναι αναερόβιες και αρνητικές στην λακτόζη. (Actor J. K., 2012)

Ως κριτήριο διαφοροποίησης μεταξύ των οροτύπων και υποτύπων χρησιμοποιείται το ειδικό αντιγόνο επιφάνειας, το αντιγόνο του κυτταρικού τοιχώματος (O), ενώ βλεφαριδικά αντιγόνα (H) δεν εντοπίζονται στις σιγκέλλες. (ΕΟΔΥ, 2021, Hale T, Keusch G., 1996, Britannica, T. Editors of Encyclopaedia, 2022)

Πιο αναλυτικά, τα χαρακτηριστικά του *Shigella* περιλαμβάνουν Gram-αρνητικές ράβδοι, που είναι αρνητικές για παραγωγή υδρόθειου, ουρεάσης και αερίου (με εξαίρεση ορισμένων στελεχών *S.flexneri*). Ακόμη έχουν αρνητικό αποτέλεσμα σε δοκιμασίες λυσίνης, ενώ δεν ζυμώνουν την σακχαρόζη (εντός δύο ημερών), την ατονιτόλη, την ινοσιτόλη, την λακτόζη (παρουσιάζουν λευκές αποικίες) και την σαλικίνη. Τέλος, διαπιστώνεται ότι η *Shigella* spp. δεν έχει την ικανότητα ανάπτυξης σε υλικό με κυανιούχο κάλιο (KCN), δεν χρησιμοποιεί το κιτρικό και το μηλονικό ως μοναδική πηγή άνθρακα και ενέργειας, έχουν αρνητική αντίδραση Voges-Proskauer και δεν υγροποιούν την ζελατίνη. Αντιθέτως, παρουσιάζει θετικό αποτέλεσμα στην δοκιμή του κόκκινου του μεθυλίου, στην καταλάση και υδρολύουν την αργινίνη. (Kluwer academic/ plenum publishers, 2003, Andrews W.H., Jacobson A., 2023)

Ορισμένες οροομάδες ή αλλιώς είδη *Shigella* spp. διαφοροποιούνται βάσει των βιοχημικών ιδιοτήτων τους, όπως για παράδειγμα η ευαισθησία που διαθέτουν σε φάγους ή στην κολικίνη. Ακόμη, με την βοήθεια των πολυδύναμων αντιορών, μπορούν να ανιχνευθούν κάποια πολυσακχαριδικά αντιγόνα. Από τις τέσσερις οροομάδες, η *S.dysenteriae* εμφανίζεται ως η πιο επιβλαβής, αφού παράγει μία ισχυρή κυτταροτοξίνη, δηλαδή την Shigatoxin. (Public Health Agency of Canada, 2010)

Για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού αυτού, χρειάζονται αναερόβιες συνθήκες με θερμοκρασία στους 37°C, ενώ για να καταστραφεί αρκεί να βρεθεί σε περιβάλλον 55°C για μία (1) ώρα. Αξίζει να σημειωθεί η ικανότητα της *Shigella* spp. να αντέχει σε όξινο pH (pH= 2,5) για μικρό χρονικό διάστημα, γεγονός που επιβεβαιώνει την ικανότητα του βακτηρίου αυτού να μην επηρεάζεται από τα οξέα του στομάχου. Αντιθέτως, αναπτύσσεται ευκολότερα σε αλκαλικό περιβάλλον, με pH που κυμαίνεται μεταξύ 7-7.4. (Tortora, και συν., 2017, Percival, et al., 2013)

1.1.3. Τοξίνες

Η *Shigella* spp. μελετήθηκε τον 19^ο αιώνα από τους Neisser, Shiga και Conradi. Ανάμεσα στα ευρήματά τους ήταν και το σύμπλεγμα AB5 τοξινών Shiga (STX), το οποία περιλαμβάνει εκείνη της *S.dysenteriae* (STX1). Πρόκειται για ομάδα βακτηριακών τοξινών πρωτεϊνών, τα οποία αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση στα ευαίσθητα ευκαρυωτικά κύτταρα. Η παρεμπόδιση αυτή

επιτυγχάνεται με την δράση της N-γλυκοσιδάσης (υπομονάδα A), τοξίνης που απομονώνει ένα υπόλειμμα αδερίνης από το rRNA 28S του ριβοσώματος 60S. Στη συνέχεια, τα πενταμερή των B υπομονάδων δεσμεύουν την τοξίνη στον κυτταρικό υποδοχέα σφαιροαζυλοκεραμίδη (GB3), όπου και γίνεται ενδοκυττάρωση. Τελικά, απομονώνεται εκ νέου η υπομονάδα A και απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα. (Bergan J. και συν., 2012, Melton-Celsa A., 2014, «Παθογένεια βακτηριακών Λοιμώξεων», 2021)

Μετά τον χαρακτηρισμό των μικροοργανισμών αυτών, η ίδια τοξίνη Shiga εντοπίστηκε σε προϊόντα αυτό-πέψεως (αυτολύσεως) σε *S.dysenteriae* που είχε καλλιεργηθεί. Χαρακτηρίστηκε ως «νευροτοξίνη», αφού προκάλεσε παράλυση στα άκρα και θάνατο σε κουνέλια που χορηγήθηκε ενδοφλεβίως.

Στα επόμενα χρόνια επιχειρήθηκε ανεπιτυχώς να διαχωριστούν η πρωτεϊνική τοξίνη από την λιποπολυσακχαριδική ενδοτοξίνη. Προτού περιγραφεί μία σαφής επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα, καταγράφηκε η προσβολή του αγγειακού ενδοθηλίου από την τοξίνη Shiga, καθώς και οι θανατηφόρες επιδράσεις που έχει σε κύτταρα που έχουν καλλιεργηθεί.

Το 1977, ο Kopowalchuk και οι συνεργάτες διαπίστωσαν ότι κάποια στελέχη από *Escherichia coli* διέθεταν έναν κυτταροτοξικό παράγοντα με θανάσιμο χαρακτήρα σε νεφρικά κύτταρα (Vero) που είχαν προηγουμένως καλλιεργηθεί. Πρόκειται για μία κυτταρική γραμμή, με προέλευση από το επιθήλιο του πράσινου αφρικανικού πιθήκου. Έτσι, η τοξίνη αυτή πήρε το όνομα “Verotoxin”. Σε επόμενη έρευνα, παρατηρήθηκε ότι το στέλεχος O26:H30 του *E.coli* διέθετε δύο μοριακές παραλλαγές της τοξίνης. Ακόμη, όσα στελέχη *E.coli* παράγουν την βεροτοξίνη (VTEC) συνδέθηκαν με την πρόκληση αιματηρής διάρροιας και αιμολυτικού ουραιμικού συνδρόμου (HUS), μιας κατάστασης με χαρακτηριστικά την θρομβοπενία, αιμολυτική αναιμία και νεφρική ανεπάρκεια (αρκούν λιγότερα από 100 κύτταρα για να προκληθεί ασθένεια). (Bergan J. και συν., 2012, Melton-Celsa A., 2014)

Το 1982, ο O'Brian όρισε τις τοξίνες τύπου “Shiga” (SLTS) σε συγκεκριμένα στελέχη *E.coli*, διαπιστώνοντας ότι οι τοξίνες αυτές ήταν ίδιες με τις βέροτοξίνες. Ταυτόχρονα, παρατηρήθηκαν πολλαπλές κυτοτοξίνες σε STEC, αφού στον ορότυπο O157:57 βρέθηκαν δύο βακτηριοφάγοι με ικανότητα να μετατρέπουν τις παραγόμενες τοξίνες. Έτσι, το σύνολο αυτών των τοξινών αναφέρονται ως Shiga toxins (STXs), με την Shiga toxin να είναι η παραγόμενη πρωτεΐνη από το *S.dysenteriae*, ενώ οι δύο μορφές «τύπου Shiga toxin» ή αλλιώς βεροτοξίνες από STECs ονομάζονται Shiga toxin 1 και 2. (Bergan J. και συν., 2012, Γιατροπούλη Α., 2022)

Σε μοριακό επίπεδο, η τοξίνη από το *S.dysenterae* είναι ίδια με την Shiga toxin 1 στο *E.coli*. Από την άλλη, η Shiga toxin 2 διαφέρει περισσότερο, οπότε δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί με έκθεσή της σε αντισώματα έναντι της Shiga toxin/Shiga toxin 1.

Συγκρίνοντας τις δύο οικογένειες τοξινών, τα γονίδια που εκφράζουν την παραγωγή STX/STX1 καταστέλλονται με την παρουσία υψηλών επιπέδων σιδήρου. Από την άλλη, οι ορότυποι *E.coli* που παράγουν STX2 προκαλούν σοβαρότερες ασθένειες από ότι εκείνες που φέρουν STX/STX1.

Εκτός των βασικών τύπων STX1 και STX2, έχουν εντοπιστεί και παραλλαγές αυτών (βλέπε Πίνακα 1). Έτσι, κάποια βακτήρια που παράγουν Shiga toxin έχει παρατηρηθεί ότι εκφράζουν είτε αποκλειστικά έναν τύπο ή συνδυασμό μεταλλαγών του ενός ή και των δύο τύπων.

Με τα ευρήματα αυτά, έχει διαμορφωθεί μία μεγαλύτερη και καθαρότερη εικόνα για τις τοξίνες σε ό,τι αφορά την δομή, τη δέσμευση, την ενδοκυτταρική μεταφορά και τη δράση τους στα κύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, από την έρευνα των Opooli και συν. φάνηκε αποτελεσματική η χρήση υπομονάδων STX1 ως κυτταροτοξικός παράγοντας σε καρκινικά κύτταρα, αφού παρατηρήθηκε αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, καθώς και εξάλειψη ορισμένων κυττάρων. Άρα, θα μπορούσε στο μέλλον η τοξίνη να χρησιμεύσει ως σημαντικό εργαλείο για την παρασκευή εναλλακτικών και ασφαλέστερων αντικαρκινικών φαρμάκων. (Bergan J. και συν., 2012, Oloomi M. και συν., 2018)

Κεφάλαιο 2^ο : Σιγκέλλωση

2.1. Περιγραφή Νοσήματος

Η Σιγκέλλωση (Shigellosis) αποτελεί την λοίμωξη του εντέρου που προκαλείται από την το γένος βακτηρίων της *Shigella* spp. (*S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.boydii* και *S.sonnei*), με μοναδικό υποδόχο τον άνθρωπο. Χαρακτηριστικό στην κλινική εικόνα της νόσου είναι οι συνήθως διαρροϊκές κενώσεις. (Drancourt M., 2017, Litin S., 2020)

Η περίοδος επώασης είναι κυμαίνεται μεταξύ 24 και 48 ώρες, αλλά μπορεί να φτάσει μέχρι και την μία εβδομάδα.(Long S., Prober C. και Fischer M., 2018)

Η νόσος αυτή ευθύνεται για την εμφάνιση ελκών του ορθού και του παχέος εντέρου, δηλαδή όσοι δεν αναπτύσσονται πέρα από το σημείο επαφής του εντερικού επιθηλίου και του χιτώνα (*lamina propria*). Σπανίως έχουν καταγραφεί περιστατικά σήψης από νόσηση από *Shigella* spp., ενώ πιο συχνή είναι η πρόκληση του Αιμολυτικού Ουραιμικού Συνδρόμου (HUS) (Pickering L., 2009).

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η διαρροϊκή εικόνα της σιγκέλλωσης διαφέρει σημαντικά από εκείνη που εμφανίζεται στην χολέρα ή ακόμη και στην εντεροτοξιγονική *E.coli*. Πιο συγκεκριμένα, τα κόπρανα της βακτηριακής δυσεντερίας είναι λιγότερα και περιέχουν αίμα, βλέννα και φλεγμονώδη κύτταρα. Όμως, η εικόνα της διάρροιας μέτριου όγκου σε κάποια άτομα μπορεί να είναι είτε πρόδρομη ή η μοναδική εκδήλωση της νόσου. (Thomas L. Hale T. και Keusch G., 1996)

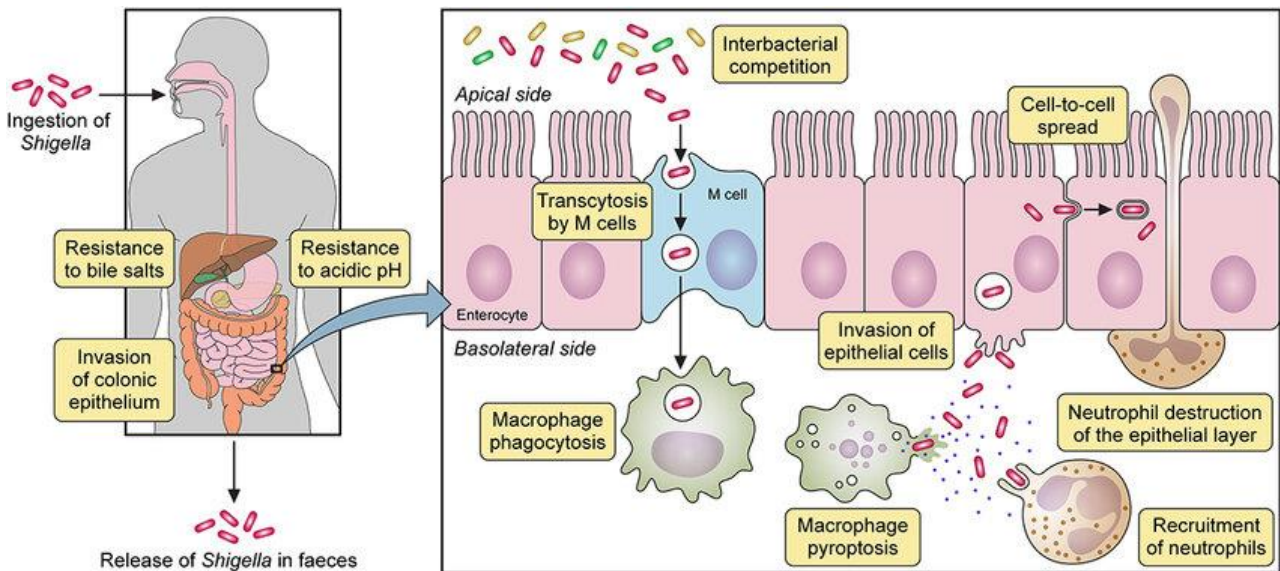
2.2. Μηχανισμοί Δράσης-Παθογένεια

Η Σιγκέλλα αποτελεί ένα από τα βακτήρια με την περισσότερη μελέτη, αφού τα μικρόβια αυτά μπορούν και διεισδύουν απευθείας στα κύτταρα του ξενιστή, διαπερνώντας την πλασματική μεμβράνη. Αντίστοιχα μικρόβια με την ίδια ικανότητα είναι τα Μυκοβακτήρια, η Σαλμονέλλα και η Λιστέρια. (Killackey S.A., Sorbara M.T. και Girardin S.E., 2016)

Αρχικά, γίνεται κατάποση του μικροβίου από το άτομο. Αρκούν μόλις 10-100 μικροοργανισμοί ώστε να προκληθεί λοίμωξη (χαμηλή μολυσματική δόση). Αφού διαπεράσει το δυσμενές περιβάλλον του στομάχου (όξινο pH και βακτηριοκτόνο δράση χολικών αλάτων), εισέρχεται στο έντερο (Εικόνα (2.2)). Έπειτα, η σιγκέλλα μεταφέρεται με τα κύτταρα Μ (εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου) από την κορυφή προς την βασεοπλάγια πλευρά. Εκεί, τα μικρόβια θα φαγοκυτταρωθούν στα μακροφάγα, στα οποία προκαλείται τελικά φλεγμονώδης πυροπρωτικός κυτταρικός θάνατος.

Από την πρόκληση αυτής της φλεγμονής προσελκύονται ουδετερόφιλα, τα οποία με την μετακίνησή τους καταστρέφουν την επιθηλιακή στιβάδα του παχέος εντέρου. Τα μικρόβια *Shigella* spp. απελευθερώνονται από τα μακροφάγα και εισβάλλουν στα επιθηλιακά κύτταρα από την βασεοπλάγια μεριά, όπου πολλαπλασιάζονται ενδοκυτταρικά. Η εξάπλωση των βακτηρίων στα γειτονικά κύτταρα πραγματοποιείται μέσω μιας πρωτεϊνικής ακτίνης που διαθέτουν για την κινητικότητά τους.

Η εξάπλωση αυτή μαζί με την εισβολή στο επιθήλιο, αποτελούν τα κύρια εργαλεία της σοβαρής φλεγμονώδους απάντησης που συνδέεται με τη μόλυνση. Η απελευθέρωση των βακτηρίων *Shigella* από τον ξενιστή γίνεται τελικά μέσω των κοπράνων. (Killackey S. A., Sorbara M. T. και Girardin S.E., 2016, Zaidi M. και Estrada-García T., 2014, Matanza X., Clements A., 2023)



Εικόνα 2.2.: Στάδια Μόλυνσης και Παθογένεσης των *Shigella* spp. άνθρωπο. (Matanza X., Clements A., 2023)

2.3. Επιδημιολογική και Εργαστηριακή Επιτήρηση-Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης

Στην Ελλάδα, η σιγκέλλωση επιτηρείται παθητικά. Συμπεριλαμβάνεται στον κατάλογο με τα Νοσήματα Υποχρεωτικής Δήλωσης της Διεύθυνσης Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης για τα Λοιμώδη Νοσήματα του ΕΟΔΥ. Κάθε κρούσμα σιγκέλλωσης πρέπει να δηλώνεται μέσα στο επόμενο 24ωρο στο σύστημα. Παράλληλα, σε εθελοντικό επίπεδο, για κάθε

δείγμα συντάσσεται και αποστέλλεται ένα δελτίο δήλωσης της νόσου μαζί με το απομονωθέν καλλιέργημα από την Δημόσια Δομή στο ΕΚΑΣΣ, με σκοπό την καταχώρηση και την ανάλυσή του σε μικροβιολογικό και μοριακό επίπεδο. Από τα αποτελέσματα που βγαίνουν, σχεδιάζονται οι απαραίτητες παρεμβάσεις για την προστασία της Δημόσιας Υγείας. Ως επιβεβαιωμένο κρούσμα βάσει του ΕΟΔΥ θεωρείται «κάθε άτομο που πληροί τα κλινικά και τα εργαστηριακά για επιβεβαιωμένο κρούσμα κριτήρια». (ΕΟΔΥ, 2021, 2022)

Σε Ευρωπαϊκό επίπεδο, γίνεται συλλογή, ανάλυση και ερμηνεία όλων των επιδημιολογικών δεδομένων από όλες τις χώρες, με σκοπό τελικά την διατύπωση πολιτικών δημόσιας υγείας, καθώς και απαραίτητες παρεμβάσεις σε επιδημίες ανεξαρτήτου μεγέθους. Για την καλύτερη εξυπηρέτηση των επαγγελματιών υγείας στις διεργασίες αυτές, υπάρχει η διαδικτυακή πύλη “EpiPulse” του ECDC. Τα τελευταία χρόνια, έχει ενσωματώσει το Ευρωπαϊκό Σύστημα Επιτήρησης (TESSy), τις πέντε πλατφόρμες Επιδημικών Πληροφοριακών Συστημάτων Πληροφοριών (Epidemic Intelligence Information System-EPIS), καθώς και το Εργαλείο Παρακολούθησης Απειλών (Threat Tracking Tool-TTT). (ECDC, 2021)

Στις ΗΠΑ, τα κλινικά διαγνωστικά εργαστήρια αποστέλλουν δείγματα *Shigella* σε κρατικά και περιφερειακά εργαστήρια δημόσιας υγείας, στα οποία γίνεται η επιβεβαίωση, καταχώρηση και περαιτέρω τυποποίησή τους. Ύστερα, τα εργαστήρια Δημόσιας Υγείας καταχωρούν τα δεδομένα ηλεκτρονικά στο Εργαστηριακό Σύστημα Επιτήρησης της Εντερικής Νόσου (Laboratory-Based Enteric Disease Surveillance System-LEDS) του CDC. Από τα δεδομένα αυτά, προκύπτουν ετήσιες εκθέσεις, οι οποίες αποτελούν σημαντική πηγή πληροφόρησης για τα είδη και υπότυπους για τα *Shigella* spp. (CDC, 2024)

2.4. Τρόποι Μετάδοσης

Η μετάδοση της νόσου γίνεται κατά κύριο λόγο μέσω της κοπρανο-στοματικής οδού. Περισσότερα κρούσματα καταγράφονται σε χώρους συνωστισμού όπως παιδικοί σταθμοί και σχολεία, ιδρύματα στέγασης, καταστήματα της εστίασης, κατασκηνώσεις, μικροβιολογικά εργαστήρια και νοσοκομεία.

Αρχικά, το άτομο μπορεί να μολυνθεί μέσω της επαφής του με ξένα αντικείμενα ή επιφάνειες, κατά την αλλαγή πάναξ ή ακόμη και μετά από φροντίδα ενός ηλικιωμένου ατόμου.

Επίσης, το μικρόβιο μπορεί να βρεθεί και να μεταδοθεί μέσω της κατάποσης μολυσμένου τροφίμου. Μπορεί να γίνει κατά τον χειρισμό των τροφίμων από ανθρώπους που δεν τηρούν την

απαραίτητη προσωπική υγιεινή. Η κλινική του Κλίβελαντ (Cleveland Clinic) υποστηρίζει ότι είναι συνηθέστερο η σιγκέλλωση να προέρχεται από ωμά τρόφιμα (φρούτα και λαχανικά).

Στις καλλιέργειες μπορεί επίσης να βρεθεί η σιγκέλλα, εάν στα χωράφια αυτά βρεθούν ανθρώπινα λύματα. Ακόμη, υπάρχει η πιθανότητα να έρθει σε επαφή με ένα τρόφιμο μία μύγα που προηγουμένως έχει αναπαραχθεί πάνω σε μολυσμένα με *Shigella* κόπρανα.

Η νόσος αυτή μπορεί να μεταδοθεί ακόμη υδατογενώς μέσω της κατάποσης νερού, είτε πόσιμο ή νερών αναψυχής (π.χ. λίμνες, ποτάμια, πισίνες κ.α.), αλλά και από άτομο σε άτομο, λόγω της χαμηλής μολυσματικής δόσης.

Άξιο να σημειωθεί είναι και η άμεση μετάδοση της *Shigella* κατά την σεξουαλική δραστηριότητα, κυρίως μεταξύ ανδρών που κάνουν σεξ με άνδρες (MSM). (ECDC, 2017, Schneider, 2018, Κλινική Κλίβελαντ, 2022, NSW, 2022, CDC, 2023, Victoria Health, 2024)

2.5. Κλινική Εικόνα-Συμπτωματολογία

Από την στιγμή που θα μολυνθεί το άτομο από *Shigella* spp., τα συμπτώματα της λοίμωξης εμφανίζονται συνήθως μέσα στο πρώτο 48ωρο. Υπάρχουν βέβαια και φορές που περνά διάστημα μέχρι και μίας εβδομάδας για την πλήρη ανάπτυξη του μικροοργανισμού.

Στα χαρακτηριστικά συμπτώματα της νόσου περιλαμβάνονται:

- Υδαρή διάρροια (συχνά περιέχει αίμα ή/και βλέννα),
- Κοιλιακό άλγος ή κράμπες (να δίνεται προσοχή στα μικρά παιδιά),
- Πυρετός και
- Ναυτία ή έμετος.

Εκτός των παραπάνω, υπάρχει περίπτωση να εμφανιστούν τοξιναιμία και τεινεσμός στο έντερο. Τα συμπτώματα μένουν κατά μέσο όρο πέντε με επτά ημέρες, με μερικά περιστατικά να νοσούν για περισσότερες ημέρες. (ECDC, 2017)

Σε περίπτωση όπου διαπιστωθεί αιματηρή διάρροια ή διάρροια σε σημείο που να προκαλεί απώλεια βάρους ή αφυδάτωση, θα πρέπει το άτομο να αναζητήσει άμεσα ιατρική φροντίδα για τον ίδιο ή για το παιδί του.

Ανάλογα με την οροομάδα που ανιχνεύεται, ο ασθενής μπορεί να έχει μία από τις εξής κλινικές εικόνες:

- *S.sonnei*: Εμφανίζεται διάρροια (συχνά αιματηρή), κοιλιακό άλγος, κράμπες και πυρετό. Μπορεί ακόμη να παρουσιαστεί ναυτία, έμετος, απώλεια της όρεξης, κεφαλαλγία και κακουχία.
- *S.flexneri*: Παρόμοια εικόνα με εκείνη της *S.sonnei*, αλλά συχνά πιο σοβαρή μόλυνση συγκριτικά. Εδώ μπορεί να αναπτυχθεί φλεγμονή και έλκος στο κάτω μέρος του εντέρου.
- *S.boydii*: Η διαρροϊκή εικόνα μπορεί να ποικίλει σε σοβαρότητα. Μοιάζει τις περισσότερες φορές με εκείνη της *S.sonnei*.
- *S.dysenteriae*: Το είδος αυτό ευθύνεται για την σοβαρότερη μορφή της ασθένειας σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη. Καταγράφει τα υψηλότερα ποσοστά θανάτων. Τα αιματηρά κόπρανα μαρτυρούν την ανάπτυξη φλεγμονής και έλκους στο κάτω μέρος του εντέρου, κάτι που συμβαίνει στην πλειοψηφία των περιπτώσεων.

Υπάρχει και το ενδεχόμενο να μολυνθεί ένα άτομο με *Shigella* spp., αλλά να μην εμφανίσει τελικά κανένα σύμπτωμα. Ωστόσο, μπορεί και μεταδίδεται η νόσος κανονικά χωρίς να το γνωρίζει το άτομο για εβδομάδες έως και μερικούς μήνες.

Τέλος, τα στελέχη *Shigella* φαίνεται να διαδίδεται με συμπεριφορά ενός Σεξουαλικά Μεταδιδόμενου Νοσήματος (ΣΜΝ) ανάμεσα στους άνδρες που κάνουν σεξ με άνδρες (MSM), κυρίως σε όσους από αυτούς νοσούν με HIV. (ΕΟΔΥ, 2011, Schneider K., Ahn S. and Goodrich-Schneider R., 2015, Litin S., 2020, Π.Ο.Υ., 2021, Minnesota Ministry of Health, 2022)

2.6. Επιπλοκές

Το μεγαλύτερο ποσοστό των ατόμων περνούν τη νόσο χωρίς επιπλοκές. Χρειάζεται βέβαια διάστημα πολλών μηνών ώστε να επανέλθει πλήρως η λειτουργικότητα του εντέρου. Υπάρχει όμως ένα μικρό ποσοστό ατόμων (0.2-2%) που θα παρουσιάσει κάποια στιγμή κάποια από τις παρακάτω επιπλοκές της νόσου:

- Αφυδάτωση: Μπορεί να προκληθεί από τις συχνές κενώσεις. Στα σημεία και συμπτώματα συμπεριλαμβάνονται η ζάλη, η έλλειψη δακρύων στα παιδιά, τα βυθισμένα μάτια, καθώς και οι στεγνές πάνες. Εάν αφεθεί, τότε μπορεί να οδηγήσει σε σοκ ή ακόμη και στον θάνατο.
- Επιληπτικές κρίσεις: Σε παιδιά κυρίως κάτω των δύο (2) ετών, μπορεί να εμφανιστούν σπασμοί, είτε συνυπάρχει πυρετός ή όχι. Δεν έχει αποδειχθεί ακόμη εάν οι κρίσεις αυτές είναι απόρροια του πυρετού ή της ίδιας της σιγκέλλωσης.

- Πρόπτωση του ορθού: Λόγω της υπερκινητικότητας ή της φλεγμονής του παχέος εντέρου, μπορεί να δοθεί εντολή για κίνηση του βλεννογόνου του ορθού μέσω του πρωκτού.
- Αιμολυτικό Ουραιμικό Σύνδρομο (HUS): Αποτελεί μία σπάνια αλλά σοβαρή επιπλοκή της νόσου. Εμφανίζεται πιο συχνά μετά από λοίμωξη από E.coli (συνήθως 157:H7) παρά από σιγκέλλα, κυρίως σε παιδιά κάτω των πέντε ετών. Η ασθένεια αυτή μειώνει σημαντικά τον αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων (θρομβοπενία), τα οποία ακολούθως προκαλούν οξεία νεφρική ανεπάρκεια.
- Τοξικό megacolon: Σπάνια επιπλοκή, όταν δηλαδή το παχύ έντερο παραλύει, παρεμποδίζοντας την κένωση. Στα συμπτώματα περιλαμβάνονται ο πόνος και το οίδημα στο στομάχι, πυρετός, καθώς και γενικότερη αδυναμία. Σε περίπτωση που δεν ληφθεί η απαραίτητη θεραπεία, μπορεί να σημειωθεί διάτρηση του εντέρου, με αποτέλεσμα την πρόκληση περιτονίτιδας. Πρόκειται για μια σοβαρή ασθένεια που χρήζει άμεσα χειρουργική επέμβαση.
- Αντιδραστική Αρθρίτιδα (Σύνδρομο Reiter): Εμφανίζεται κυρίως σε όσα άτομα νοσήσουν από *S.flexneri* και αποκλειστικά σε όσους έχουν γενετική προδιάθεση (HLA B27). Η συμπτωματολογία εμπεριέχει πόνο και φλεγμονή των αρθρώσεων (συνήθως αστράγαλοι, γόνατα, πόδια και γοφοί), καθώς και εμφάνιση επιπεφυκίτιδας και ουρηθρίτιδας. Το σύνδρομο αυτό μπορεί να κρατήσει ορισμένο διάστημα, από μήνες μέχρι και μερικά χρόνια. Υπάρχει όμως και η πιθανότητα να καταλήξει ως μια χρόνια αρθρίτιδα με δύσκολη θεραπεία.
- Λοιμώξεις του αίματος (βακτηραιμία): Σπανίως, τα βακτήρια εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω του αλλοιωμένου βλεννογόνου του εντέρου, προκαλώντας λευκοκυττάρωση, υποθερμία ή θερμοκρασία πάνω από 39.5°C, αφυδάτωση και λήθαργο. Η συχνότητα εμφάνισής της είναι 0-7%, κυρίως σε παιδιά ηλικίας μέχρι 5 ετών ή σε ενήλικες άνω των 65 ετών. Έχει ακόμη διαπιστωθεί ότι η θνησιμότητα αυξάνεται όταν πρόκειται για παιδιά υποσιτισμένα ή σε άτομα με HIV.
- Λευχαιμοειδής Αντίδραση: Παρατηρείται ξαφνική αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων ($\geq 50.000/\text{mm}^3$ ή περισσότερο). Συναντάται στο Μπαγκλαντές περίπου στο 4% όσων νοσούν, κυρίως σε παιδιά ηλικίας 2-10 ετών, ενώ σε παιδιά μικρότερα του ενός έτους δεν εμφανίζεται καθόλου. Ενώ η κατάσταση αυτή μπορεί να μιμείται την λευχαιμία, δεν αποτελεί σημάδι εμφάνισης καρκίνου. Συνήθως μετά την αντιμετώπιση της υποκείμενης πάθησης, επανέρχονται οι φυσιολογικές τιμές των λευκών. (ΕΟΔΥ, 2011, Keith R.

Schneider, Soohyoun Ahn και Renée M. Goodrich-Schneider, 2018, Litin S., 2020, Agha R., Goldberg M., 2023)

2.7. Διάγνωση

Για την αποτελεσματική διάγνωση της σιγκέλλωσης, χρειάζεται να πραγματοποιηθούν ορισμένες εργαστηριακές εξετάσεις για τον εντοπισμό των βακτηρίων υπεύθυνων για τη νόσο. Ειδικότερα, πραγματοποιείται εξέταση και καλλιέργεια κλινικού δείγματος (κοπράνων ή αίματος), καθώς και μέσω ταχείας διαγνωστικής δοκιμής (ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία σε κασέτα). Χρησιμοποιούνται ακόμη ορολογικοί έλεγχοι με τη χρήση αντισωμάτων για την ταυτοποίηση του *Shigella* spp.

Σε ό,τι αφορά τον ακριβή προσδιορισμό του τύπου της σιγκέλλας που έχει προσβάλλει το άτομο, αλλά και για την εύρεση της καταλληλότερης αντιβίωσης, οι εξετάσεις που βοηθούν είναι η πολύ ευαίσθητη μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και ανοσοπροσοφητικές δοκιμασίες (Enzyme Linked Immunosorbent Assays-ELISAs).

Από τη μία, η στροφή σε πιο ειδικές δοκιμασίες γίνεται διότι η *Shigella* spp. δεν αποτελεί μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του παχέος εντέρου, αλλά μπορεί να εμφανιστεί ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα σε καλλιέργεια. Από την άλλη, μοιράζεται πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τα βακτήρια της μικροχλωρίδας, δυσκολεύοντας σημαντικά την απομόνωσή της σιγκέλλας από ένα κλινικό δείγμα. Για τον λόγο αυτό, όσες διαγνώσεις πραγματοποιούνται αποκλειστικά με PCR, καταγράφονται ως «πιθανές διαγνώσεις», για λόγους συλλογής εθνικών δεδομένων. (ΕΟΔΥ, 2011, Schneider K., Ahn S. και Goodrich R., 2018, Cleveland Clinic, 2022, Blacksell S., 2023, CDC, 2023, Victorian Health, 2024)

2.8. Θεραπεία-Αντιβιοτικά

Σε γενικές γραμμές, η σιγκέλλωση αποτελεί μία ήπια, αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη. Σε περίπτωση όπου τα συμπτώματα επιμένουν ή χειροτερεύουν για τον ασθενή, τότε υπάρχει ισχυρή σύσταση για θεραπεία από επαγγελματία υγείας. Ιδιαίτερα για τα μικρά παιδιά και τα βρέφη, θα πρέπει να αναζητηθεί άμεσα ιατρική βοήθεια σε περίπτωση που οι γονείς διαπιστώσουν ό,τι το παιδί τους είναι κρίσιμα αφυδατωμένο ή έχει επίμονη διάρροια. (Public Health Agency of Canada, 2010, Υπουργείο Υγείας Νέας Νότιας Ουαλίας, 2022, CDC, 2023)

Σε περίπτωση αφυδάτωσης, η επανυδάτωση από το στόμα ή η αντικατάσταση των ηλεκτρολυτών βοηθά στην γρηγορότερη ανάρρωση. Ακόμη, τα ανασταλτικά της κινητικότητας του εντέρου (π.χ.λοπεραμίδη) δεν χορηγούνται συνήθως επειδή έχουν την τάση να παρατείνουν την διάρκεια

της νόσου. Εάν πάλι δίνονται για την ανακούφιση των συσπάσεων του κοιλιακού τοιχώματος, καλό είναι να είναι περιορισμένη η χορήγησή τους, σε συνδυασμό με τα κατάλληλα αντιβιοτικά.(ΕΟΔΥ, 2011)

Τέλος, το Ηνωμένο Βασίλειο εξέδωσε το 2022 ένα πιθανό σχήμα αντιμετώπισης λοίμωξης από στέλεχος *Shigella* που θεωρείται «εκτεταμένα ανθεκτικό στα αντιβιοτικά» (XDR). Πιο συγκεκριμένα, συστήνεται η λήψη πιβμεκιλλινάμης και φωσφομυκίνης για όσους ασθενείς έχουν συμπτώματα που επιμένουν ή ως συνέχεια αγωγής μετά από ενδοφλέβια χορήγηση. Εάν το περιστατικό είναι σοβαρό ή παρουσιαστούν επιπλοκές από τη νόσο, συστήνεται να χορηγηθούν ενδοφλέβια καρβαπενέμες και κολιστίνη σε περιβάλλον νοσοκομείου. (Charles H., 2022)

2.8.1. Αντιμικροβιακή Αγωγή

Η συνταγογράφηση αντιβιοτικών γίνεται είτε σε άτομα με σοβαρά συμπτώματα (ιδιαίτερα σε λοίμωξη από *S.dysenteriae*) ή κοντινές επαφές εκείνων όπου υπάρχει μεγάλη πιθανότητα μετάδοσης όπως σε ιδρύματα, βρεφονηπιακούς σταθμούς κ.α. (ΕΟΔΥ, 2011). Με την αγωγή αυτή, επιτυγχάνεται η μείωση της σοβαρότητας, αλλά και της διάρκειας της νόσου και της μολυσματικότητας του ατόμου για τους άλλους. Άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις σε σοβαρά περιστατικά αποτελούν ο μηχανικός αερισμός, καθώς και αντισπασμωδικά και ινότροπα φάρμακα. (Public Health Agency of Canada, 2010, Υπουργείο Υγείας Νέας Νότιας Ουαλίας, 2022)

Για να επιτευχθεί η επιλογή της καταλληλότερης αντιβίωσης, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν το προφίλ ευαισθησίας του μεμονωμένου στελέχους. Σε περίπτωση κάποιας επιδημίας (συνήθως σημειακής) όπου είναι επιτακτική η ανάγκη χορήγησης αντιβίωσης προτού υπάρξουν αποτελέσματα ευαισθησίας, επιλέγεται η θεραπεία βάσει των δεδομένων ανοχής της επιδημικής εστίας.

Ως επιλογή αντιμικροβιακής αγωγής, ως αντιβιοτικά προτιμώνται οι φθοροκινολόνες (π.χ.σιπροφλοξασίνη), η αζιθρομυκίνη και οι κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς (π.χ.κεφτριαξόνη). Σε περίπτωση τεκμηριωμένης ευαισθησίας, δίνεται η τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη και η αμπικιλλίνη.

Εάν πάλι το άτομο συνεχίζει να εμφανίζει διάρροια (δηλαδή να έχει διάρκεια πάνω από τρία 24ωρα), συνιστώνται περαιτέρω καλλιέργειες κοπράνων. (CDC, 2023)

2.8.2. Μηχανισμοί αντοχής-B-Λακταμάσες

Η πρώτη αναφορά για μικροβιακή αντοχή πραγματοποιήθηκε τη δεκαετία του 1990 στην Ασία, την Αφρική και τη Νότια Αμερική. Σήμερα, οι σιγκελλώσεις από ανθεκτικά σε αντιβιοτικά στελέχη αποτελούν συχνή αιτία μέτριας έως σοβαρής διάρροιας στα παιδιά παγκοσμίως.

Με την αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών, αυξάνεται η ανθεκτικότητα των στελεχών *Shigella* spp. απέναντι σε αντιβιοτικές αγωγές. Σε ενδημικές περιοχές ή μέρη με χαμηλή ιατρική περίθαλψη, η αγωγή για σιγκελλωση είναι πολυδάπανη και με αρκετές δυσκολίες. Αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ήδη τα μισά στελέχη *Shigella* έχουν χαρακτηριστεί ως «ανθεκτικά» σε μεγάλο μέρος των διαθέσιμων φαρμάκων παγκοσμίως. Με τους μηχανισμούς αντοχής των στελεχών να αναπτύσσονται, περιορίζεται σημαντικά η επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής για την θεραπεία των λοιμώξεων.

Τα στελέχη *Shigella* spp. μπορούν να αναπτύξουν αντοχή στα αντιβιοτικά με τους εξής μηχανισμούς:

- Εξώθηση φαρμάκων από αντλίες ενεργού εκροής,
- Μείωση της κυτταρικής διαπερατότητας,
- Υπερέκφραση των ενζύμων που τροποποιούν και αδρανοποιούν το φάρμακο
- Τροποποίηση του στόχου με μετάλλαξη. (Ranjbar R. και Farahani A., 2019)

Τα περισσότερα πολυανθεκτικά στελέχη *Shigella* spp. εμφανίζουν αντοχή σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς (π.χ. κεφτριαζόνη, κεφοπεραζόνη, αζιθρομυκίνη και οι φθοριοκινολόνες) συνήθως είτε μέσω σημειακών μεταλλάξεων ή μέσω οριζόντιας μεταφοράς πλασμιδίων που φέρουν μηχανισμούς αντοχής. (Salleh M., 2022)

Εκτός αυτών, σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αντοχής σε αντιβιοτικά είναι και η παρουσία β-λακταμάσων. Έχουν την ικανότητα να υδρολύουν των λακταμικό δακτύλιο που βρίσκονται στις πενικιλίνες και στις κεφαλοσπορίνες πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς. Έτσι, καθίστανται οι πιο συχνοί μηχανισμοί αντοχής στα β-λακταμικά αντιβιοτικά. (Phiri A. et.al., 2021)

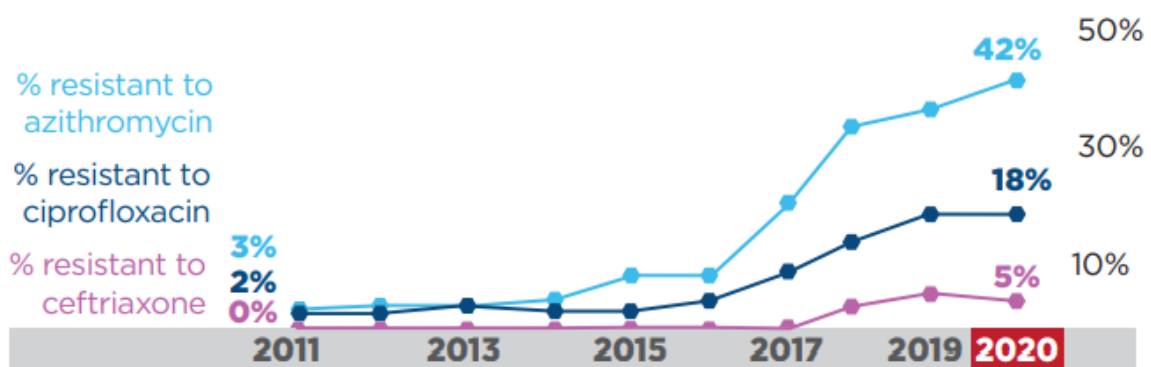
Η ανθεκτικότητα των βακτηρίων *Shigella* σε αντιβιοτικά που σε πρώτη φάση είχαν αποτελεσματικότητα είχε ξεκινήσει να παρατηρείται εδώ και 50 χρόνια. Ιδιαίτερα όμως από το 2016 και μετά, η αύξηση των ανθεκτικών στελεχών είναι ραγδαία. Βάσει του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Η.Π.Α. (CDC), υπολογίζεται ότι 242.000 ανθεκτικές απέναντι σε αντιβιοτικά λοιμώξεις εμφανίζονται ετησίως στη χώρα. Η καταγραφή των πολυανθεκτικών στελεχών αφορά αντιβιοτικά με ευρεία χρήση στον πληθυσμό και με χαμηλό κόστος, όπως η

αμπικιλίνη και η τριμεθοπρίνη/σουλφαμεθαξόλη. Η επιλογή της κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής καθορίζεται από το αντιβιογράμμα που θα προκύψει για το στέλεχος που απομονώνεται. Ειδικότερα, από πρότυπα ευαισθησίας της εκάστοτε περιοχής. (ΕΟΔΥ, 2011, CDC, 2023)

Το 2022, το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Η.Π.Α. (CDC) μελέτησε την συχνότητα εμφάνισης λοιμώξεων *Shigella* και την ύπαρξη ανθεκτικότητάς τους σε αντιβιοτικά σε σχέση με την πανδημία COVID-19. Από την συλλογή και επεξεργασία των δεδομένων τους, το 2020 παρουσιάστηκε αύξηση της τάξεως του 2% στα ανθεκτικά σε αντιβιοτικά στελέχη, σε σχέση με το προηγούμενο έτος Ταυτόχρονα όμως οι καταγραφές των κρουσμάτων σιγκέλλωσης ήταν μειωμένες λόγω της υποδήλωσης που επικρατούσε στην COVID-19 πανδημία, με το 46% των κρουσμάτων να χαρακτηρίζονται ανθεκτικά. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η κεφτριαξόνη αποτελούσε ένα αντιβιοτικό που σπανίως εμφάνιζαν τα βακτήρια αντοχή μέχρι το 2018. Δύο χρόνια αργότερα, εμφάνισε αύξηση 5%. (CDC, 2022)

Το 2019 μάλιστα, η ραγδαία αύξηση των στελεχών με αντοχή στην κεφτριαξόνη, στην σιπροφλοξασίνη και στην αζιθρομυκίνη συμπεριλήφθηκε στην Ετήσια Έκθεση του Κέντρου Ελέγχου Πρόληψης και Νοσημάτων των ΗΠΑ(CDC) για την Αντιμικροβιακή Αντοχή (Antibiotic Resistance Threats in the United States), με χαρακτηρισμό ως «Σοβαρή Απειλή» (βλέπε Πίνακα 2). Τα δεδομένα ανακτήθηκαν από το Εθνικό Σύστημα Παρακολούθησης Αντιμικροβιακής Αντοχής (NARMS), το Δίκτυο Ενεργής Εποπτείας Τροφιμογενών Ασθενειών του CDC, καθώς και το FoodNet. (CDC, 2019,2022)

Γράφημα 2.8.2.: Ποσοστά Στελεχών *Shigella* spp. με αντοχή σε αντιβιοτικά (CDC, 2022)



Σε Ευρωπαϊκό επίπεδο, από τον Απρίλιο του 2023, έχουν καταγραφεί περισσότερα από 300 κρούσματα σιγκέλλωσης στο Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC), πολλά από τα οποία είναι πολυανθεκτικά μικρόβια *S.sonnei*. Τα κρούσματα αυτά έχουν σύνδεση με επτά (7) ομάδες (εθνικό και διεθνές επίπεδο), με παρουσία αλυσίδων μετάδοσης,

χωρίς αυτό να αφορά αποκλειστικά τους MSM. Στις καταγραφόμενες χώρες των κρουσμάτων περιλαμβάνονται το Βέλγιο (26), η Δανία (13), η Γερμανία (33), η Ιρλανδία (50), η Ολλανδία (21), η Ισπανία (> 60) και οι Ηνωμένες Πολιτείες (106), για το διάστημα 2022-2023 (με εξαίρεση μερικών από το 2016). (ECDC, 2023)

2.9. Πρόγνωση-Πρόληψη

Προκαλώντας περίπου 200.000 θανάτους κάθε χρόνο παγκοσμίως, από τους οποίους τα 65.000 αφορούν παιδιά κάτω των 5 ετών, η *Shigella* spp. αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα Δημόσιας Υγείας. Σε αυτό έρχονται να προστεθούν ακόμη η ικανότητα να εκδηλώνει επιδημίες ταχύτατα, η εμφάνιση ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, καθώς και η νοσηρότητα σχετικά με τις επιπλοκές από επαναλοιμώξεις.

Με τα παραπάνω στοιχεία, γίνεται σαφές ότι υπάρχει επιτακτική ανάγκη να τεθούν προληπτικά μέτρα μόλυνσης και εξάπλωσης της νόσου. (Institut Pasteur, 2022)

2.9.1. Μέτρα Πρόληψης και Ελέγχου

Για να ελαχιστοποιηθεί η μετάδοση της σιγκέλλωσης, θα πρέπει να εφαρμόζονται ορισμένα μέτρα πρόληψης σε ατομικό αλλά και συλλογικό επίπεδο.

Το πιο σημαντικό ίσως μέτρο προφύλαξης μόλυνσης αποτελεί η τήρηση της βασικής προσωπικής υγιεινής και το σχολαστικό πλύσιμο χεριών με σαπούνι και νερό ή με απολυμαντικό χεριών. Πιο συγκεκριμένα, το πλύσιμο χεριών θα πρέπει να γίνεται:

- μετά από το μπάνιο, αλλαγής πάνας ή καθαρισμού ατόμου που χρησιμοποιεί το μπάνιο,
- πριν από την προετοιμασία φαγητού και
- πριν την σεξουαλική επαφή.

Στο μέτρο πρόληψης αυτό σημαντικό ρόλο έχουν οι παιδικοί σταθμοί και οι γονείς για την κατάλληλη εκπαίδευση των παιδιών και νηπίων γύρω από το σωστό πλύσιμο των χεριών.

Σε περίπτωση επιβεβαιωμένου κρούσματος σιγκέλλωσης σε παιδί που φοράει ακόμη πάνα, δεν θα πρέπει να έρχεται σε επαφή με άλλα παιδιά μέχρι να υπάρξει πλήρης ίαση. Όποιο άτομο φροντίζει για την αλλαγή της πάνας του παιδιού, θα πρέπει να απορρίπτει την λερωμένη πάνα σε ξεχωριστό και καλυμμένο κάδο απορριμμάτων, να απολυμάνει αμέσως τις επιφάνειες αλλαγής και τελικά να πλύνει τα χέρια του/της αλλά και του παιδιού με σαπούνι και νερό. Αξίζει να καταγραφεί ότι ένα σημαντικό μέτρο πρόληψης μόλυνσης ενός βρέφους από σιγκέλλα αποτελεί ο θηλασμός.

Σε ό,τι αφορά την σεξουαλική επαφή, καλό είναι να αποφεύγεται η οποιαδήποτε επαφή χωρίς την απαραίτητη προστασία. Μετά την επαφή, επιβάλλεται πλύσιμο χεριών/σώματος. Εάν πάλι σε ένα ζευγάρι ο ένας από τους δύο συντρόφους γνωρίζει ότι πάσχει από *Shigella* spp., τότε θα πρέπει να αποφευχθεί η σεξουαλική επαφή για τουλάχιστον δύο εβδομάδες μετά το τέλος των διαρροϊκών συμπτωμάτων. Αποχή από το σεξ καλό είναι να γίνεται ακόμη και σε περίπτωση όπου ένα άτομο έχει ή πρόσφατα είχε διάρροιες χωρίς ξεκάθαρη διάγνωση.

Όταν πρόκειται να ταξιδέψει κανείς σε αναπτυσσόμενη χώρα, όπου η εμφάνιση της *Shigella* spp. είναι συχνότερη, θα πρέπει να τηρούνται τα εξής:

- Αποκλειστική πρόσβαση σε επεξεργασμένο ή βρασμένο νερό,
- Κατανάλωση μαγειρεμένου και ζεστού φαγητού ή ωμών (φρούτων λαχανικών) στα οποία έχει προηγηθεί καλό πλύσιμο και ξεφλούδισμα και
- Σχολαστικό πλύσιμο χεριών.

Σε περίπτωση που ένας άνθρωπος γνωρίζει ότι έχει μολυνθεί με κάποιο είδος *Shigella* spp. ή κάποια άλλη μεταδοτική ασθένεια που προκαλεί διάρροια, θα πρέπει να μην προετοιμάζει κανένα φαγητό ή να μην σερβίρει νερό σε άλλα άτομα στο σπίτι ή στον χώρο εργασίας.

Ακόμη, οι χειριστές τροφίμων που διατρέχουν μεγάλο κίνδυνο μετάδοσης του βακτηρίου, οφείλουν αρχικά να ενημερώνουν όταν νοσούν και να απέχουν από το εργασιακό περιβάλλον μέχρι να περάσουν τουλάχιστον δύο ημέρες από το τέλος των διαρροϊκών συμπτωμάτων τους, αλλιώς μετά από δύο διαδοχικά αρνητικά δείγματα κοπράνων. Όταν επιστρέφει ο εργαζόμενος, θα πρέπει να πλένει τα χέρια του πριν, κατά την διάρκεια και μετά τον χειρισμό των τροφίμων, μετά την χρήση της τουαλέτας και μετά τον χειρισμό των απορριμμάτων.

Άσχετα από την ενεργό νόσο, οι χειριστές οφείλουν να έχουν εκπαιδευτεί κατάλληλα ώστε να ακολουθούν σωστά τις πρακτικές ασφάλειας τροφίμων. Στην περίπτωση της *Shigella*, τα τρόφιμα και ποτά που έχουν μολυνθεί παρουσιάζουν φυσιολογική εικόνα, οσμή και γεύση.

- Χρήση γαντιών, λαβίδων ή άλλων μαγειρικών σκευών για αποφυγή επαφής με έτοιμα προς κατανάλωση τροφίμων (“ready to eat”), όπως για παράδειγμα σαλάτες, σάντουιτς και φρούτα, με γυμνά χέρια.
- Καθαρισμός και απολύμανση των επιφανειών και όσων σκευών χρειάστηκαν για την παρασκευή των τροφίμων.
- Το μαγείρεμα, ο χειρισμός και η αποθήκευση των τροφίμων να γίνεται στις σωστές θερμοκρασίες,

- Να ακολουθείται το πρωτόκολλο των τεσσάρων βημάτων για τον σωστό χειρισμό των τροφίμων:
 - Τακτικός καθαρισμός και απολύμανση στα χέρια και στις επιφάνειες,
 - Απολύμανση των ωμών τροφών (φρούτα- λαχανικά),
 - Διαχωρισμός μεταξύ των μαγειρεμένων και των ωμών τροφίμων (αποφυγή διασταυρούμενης μόλυνσης) και
 - Σωστό ψήσιμο και αποθήκευση υπό ψύξη και σωστή απόψυξη.

Ακολουθώντας, να αποφεύγεται η κατάποση νερού από λίμνες, ποτάμια ή με επεξεργασμένες πισίνες. Εάν το άτομο έχει διαρροϊκές κενώσεις, θα πρέπει να απέχει από το κολύμπι έως ότου υποχωρήσουν τα συμπτώματα.

Τέλος, σημαντικό για να αποφευχθεί η μετάδοση λοιμώξεων μέσω της επικοινωνίας με τις τοπικές αρχές Δημόσιας Υγείας για αναφορά ακάθαρτων εστιατορίων ή χώρων πώλησης τροφίμων, καθώς και σε περίπτωση υποψίας για τροφική δηλητηρίαση από κάποιον χώρο της εστίασης. (Institute of Food and Agricultural Sciences, 2015, Long S., Prober C. και Fischer M., 2018, Κυβέρνηση του Καναδά, 2020, TUV-AUSTRIA, 2020, CDC, 2023, San Francisco Department of Public Health, 2024, Υπουργείο Δημόσιας Υγείας του Ιλλινόις, 2024)



Εικόνα 2.9.1.: Μέτρα Προφύλαξης Μετάδοσης της *Shigella* . (Long S., Prober C. και Fischer M., 2018)

2.9.2. Εμβόλια

Η Σιγκέλλωση αποτελεί συνήθως μία αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη, με εξαίρεση ορισμένων περιπτώσεων όπου μπορεί να χρειαστεί ιατρική βοήθεια. Όμως, με την αύξηση της εμφάνισης στελεχών που διαθέτουν πολυανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά, αυξάνονται σημαντικά οι δείκτες νοσηρότητας και θνησιμότητας. Άρα επιβεβαιώνεται η ανάγκη ανάπτυξης και διάθεσης ενός εμβολίου. Απειλή για τη Δημόσια Υγεία έχει θεωρηθεί το ανθεκτικό σε αντιβιοτικά *Shigella* spp. βάσει του Π.Ο.Υ., γεγονός που συμπεριλαμβάνεται στην Ατζέντα της Ανοσοποίησης 2030 (ΙΑ 2030) που έχει εκδώσει ο ίδιος οργανισμός.

Μέχρι σήμερα, δεν έχει ακόμη αδειοδοτηθεί κάποιο εμβόλιο απέναντι στη *Shigella*, με αρκετά να βρίσκονται σε προκλινικά και κλινικά στάδια ανάπτυξης (βλέπε Εικόνα 2.9.2.). Πρόκειται για πέντε (5) στο σύνολο σκευάσματα, είτε πρωτεϊνικά ή πολυσακχαριδικά που προορίζονται για ενδομυϊκή χορήγηση και τέσσερα (4) σε πόσιμη μορφή που περιέχουν ζώντα εξασθενημένα ή αδρανοποιημένα μικρόβια. (FDA, 2020, Π.Ο.Υ., 2022, Geddes L., 2023)

Τα εμβόλια συνοψίζονται πιο κάτω:

- **ZF0901:** Αποτελείται από ειδικούς Ο-πολυσακχαρίτες, απαλλαγμένους από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) των *S.flexneri* 2a και *S.sonnei*, συζευγμένο με τοξοειδές τετάνου. (Mo Y. et.al., 2021)
- **Shigella 4V:** Τετραδύναμο εμβόλιο, το οποίο περιέχει αντιγόνα *Shigella* Ο-πολυσακχαριτών από τους ορότυπους *S.flexneri* 2a, 3a, 6, καθώς και *S.sonnei*, με ομοιοπολικούς δεσμούς με πρωτεϊνικό φορέα. (Braun M., Follador R. και Kemmler S., 2021)
- **altSonflex 1-2-3:** Τετραδύναμο εμβόλιο βασισμένο σε Ο-Αντιγόνα από *S.sonnei*, *S.flexneri* 1b, 2a, και 3a. Στόχος είναι να επιτευχθεί ανοσοποίηση στους πιο συχνούς ορότυπους *Shigella*. (Necchi, F., 2022)
- **GlycoShig3:** Συζευγμένο εμβόλιο, το οποίο ενσωματώνει ένα συνθετικό ολιγοσακχαρίτη σχεδιασμένο να μιμείται τους ειδικούς Ο-πολυσακχαρίτες του *S.flexneri* 2a (SF2a). (Cohen D. et al., 2021)
- **S.flexneri 2a InvoplexAR:** Εμβόλιο που στοχεύει στον ορότυπο-ειδικό λιποπολυσακχαρίτη, καθώς και τις πρωτεΐνες IpaB και IpaC του *S.flexneri* 2a. (Turbyfill K. et al., 2023)
- **CVD 1208S-122:** Διδύναμο συζευγμένο εμβόλιο, αποτελούμενο από εξασθενημένο στέλεχος *S.flexneri* 2a. Έχει φανεί ότι μπορεί να δωθεί εκτός από *Shigella*, αλλά και σε ETEC. (Medeiros P. et.al., 2020)
- **ShigETEC:** Πρόκειται για ένα εμβόλιο που συνδυάζει προστασία απέναντι σε *Shigella* και ETEC, αφού περιέχει ζων εξασθενημένο στέλεχος *Shigella*, με έκφραση δύο αντιγόνων ETEC. Έχει χρηματοδοτηθεί από το πρόγραμμα Horizon 2020 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, με σκοπό την ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού εμβολίου ιδίως για τα παιδιά των χωρών χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος (LMIC). (Harutyunyan S. et al., 2020, European Vaccine Initiative, 2023)

- **WRSs2 (και WRSs3):** Εμβόλια Β' και Γ' γενιάς (από το WRSs1 ως το πρωτότυπο), τα οποία χορηγούνται από το στόμα με ζώντα εξασθενημένα βακτήρια *S.sonnei*, με αφαίρεση του μολυσματικού πλασμιδίου VirG9IcsA). (Frenck Jr. R. et al., 2018)
- **ShigOraVax:** Τετραδύναμο, από του στόματος χορήγησης εμβόλιο, το οποίο περιέχει τους ορότυπους *S.flexneri* 2a, 3a και 6, μαζί με *S.sonnei*. Αξίζει να σημειωθεί πως το συγκεκριμένο σκεύασμα συνδυάζει την εύκολη κατασκευή με το χαμηλό κόστος. (ERA LEARN, 2019)

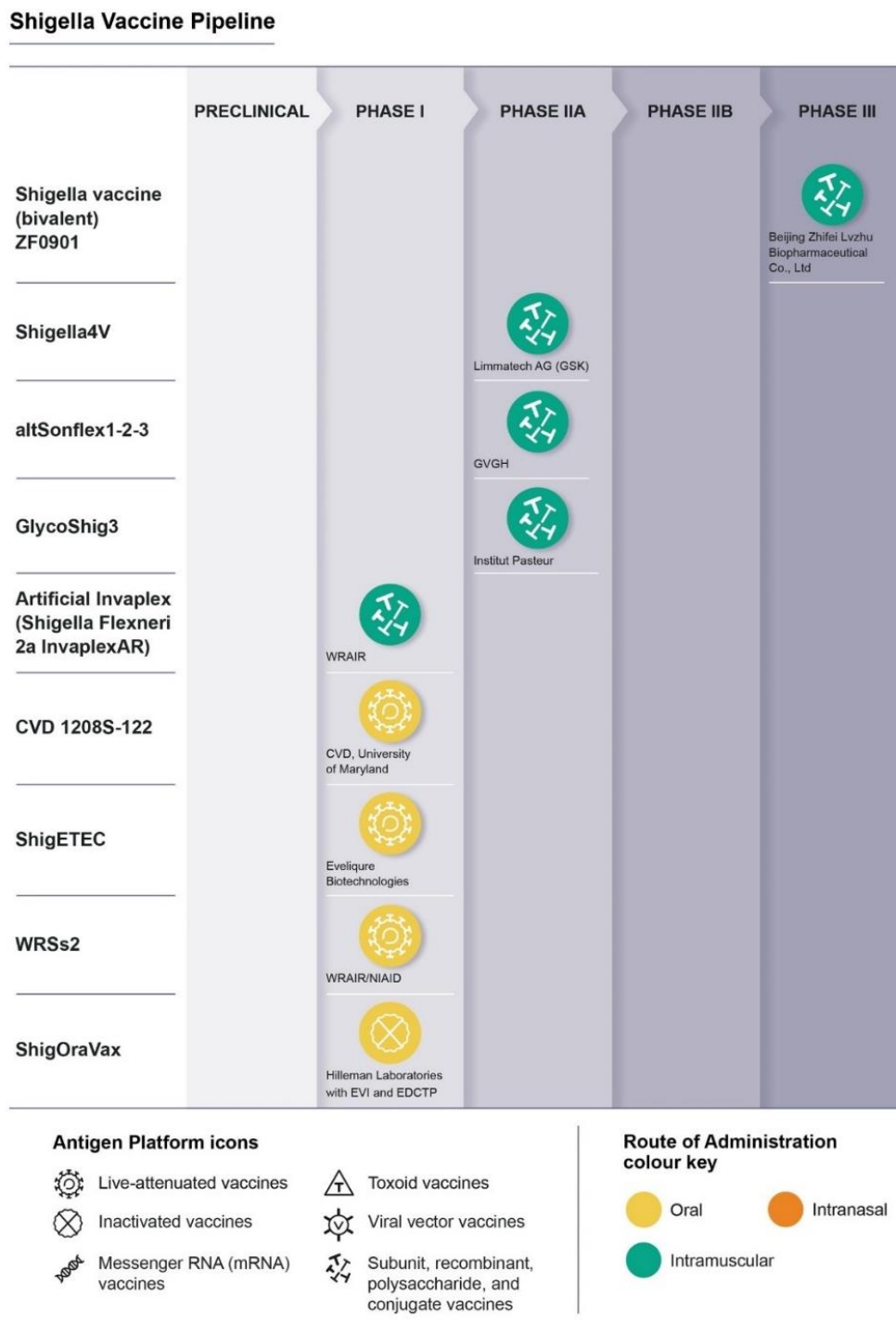
Με βάση την πορεία της επιστήμης προς την επίσημη κυκλοφορία ενός εμβολίου απέναντι της *Shigella* , εκτιμάται ότι δεν θα μπορέσει να κυκλοφορήσει κάποιο πριν το 2030. Οι Barry E.M. et. al. Επισημαίνουν τους εξής παράγοντες που αποτελούν εμπόδια στην ανάπτυξη του εμβολίου:

- Περιορισμένη κατανόηση της παρεχόμενης προστασίας έναντι της νόσου,
- Παρουσία πολλαπλών οροτύπων *Shigella*,
- Έλλειψη επαρκούς ζωικού μοντέλου,
- Ανησυχία για πρόκληση παρενεργειών (αντιδραστική αρθρίτιδα, παθήσεις γαστρεντερικού ή πρόκληση χρόνιων παθήσεων),
- Παρουσία προκλήσεων στη διαδικασία παραγωγής του εμβολίου και
- Προτίμηση χρηματοδότησης για βελτίωση του νερού και των αποχετεύσεων παρά στην μελέτη για εμβόλια.(Barry E.M., 2013)

Από την άλλη, είναι σίγουρα εφικτή με τα πολλά χρόνια έρευνας η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού σκευάσματος για την κύρια αιτία θανάτου από διάρροια στα παιδιά. Με αυτόν τον τρόπο, μειώνεται ο αριθμός των θανάτων, αλλά καταπολεμάται και το φαινόμενο της αύξησης της μικροβιακής αντοχής.

Προτεραιότητα ανάπτυξης εμβολίου για *Shigella* έχει δοθεί από την Συμβουλευτική Επιτροπή Ανάπτυξης Προϊόντων για Εμβόλια του Π.Ο.Υ. για ένα εμβόλιο ασφαλές, αποτελεσματικό, αλλά και οικονομικά προσιτό σε παιδιά ηλικίας κάτω των πέντε (5) ετών που προέρχονται από χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος (LMIC). Εκτός αυτών, θα επωφεληθούν και οι διεθνείς ταξιδιώτες που επισκέπτονται ενδημικές περιοχές. Τέλος, θα βοηθούσε ένα εμβόλιο συνολικά τη Δημόσια Υγεία, αφού ένα ανθεκτικό παθογόνο επιφέρει σημαντικές επιπτώσεις λόγω οικονομικής επιβάρυνσης (FDA, 2020, Π.Ο.Υ., 2022, Geddes L., 2023)

Εικόνα 2.9.2.: Χρονοδιάγραμμα εμβολίων *Shigella* spp., ΠΟΥ, 2023)



Κεφάλαιο 3^ο: Επιδημιολογικά δεδομένα - Επιδημιολογία *Shigella* spp.

3.1. *Shigella* spp.

3.1.1. Επιδημιολογικά Δεδομένα

Σε παγκόσμιο επίπεδο, έχει υπολογιστεί ότι η *Shigella* spp. ευθύνεται για 80-165 εκατομμύρια κρούσματα και 600.000 θανάτους ετησίως, με τα 2/3 από τους θανάτους να αφορούν παιδιά μικρότερα των 10 ετών. Από τα ίδια νούμερα, περίπου τα 20-119 εκατομμύρια περιστατικά και οι 6.900-30.000 θάνατοι οφείλονται σε τροφιμογενή μετάδοση. Σε βρέφη μικρότερα των 6 μηνών δεν συνηθίζεται η εμφάνιση σιγκέλλωσης λόγω της προστασίας που τους παρέχεται μέσω του μητρικού θηλασμού. Από την άλλη όμως, αποτελεί την πιο κοινή αιτία πρόκλησης αιματηρής διάρροιας σε παιδιά με χαμηλό βιοτικό επίπεδο.

Επιδημίες σιγκέλλωσης φαίνεται να εντοπίζονται σε μέρη όπου υπάρχει περισσότερος συγχρωτισμός ή/και όπου δεν ακολουθούνται οι σωστοί κανόνες ατομικής υγιεινής, υπάρχει μολυσμένο νερό και δυσμενής κατάσταση της υγείας και διατροφής. Τέτοιοι χώροι μπορεί να είναι φυλακές, βρεφονηπιακοί ή παιδικοί σταθμοί, ψυχιατρικές κλινικές, εστιατόρια(χώροι εστίασης) και καταυλισμοί προσφύγων. Έχει παρατηρηθεί επίσης μετάδοση μεταξύ αστέγων και ανδρών που έχουν σεξουαλικές επαφές με άλλους άνδρες (MSM).

Από τα τελευταία δεδομένα του ΕΟΔΥ για την περίοδο 2004-2021 (βλέπε Πίνακα 3.1.1.), ο μέσος ετήσιος αριθμός κρουσμάτων που δηλώθηκαν στο Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης υπολογίστηκε στα 61 κρούσματα (με τυπική απόκλιση 30).

Από το Διάγραμμα 3.1.1., φαίνεται ότι η ετήσια δηλούμενη επίπτωση της νόσου κινήθηκε μεταξύ των 1,7 κρουσμάτων (2008) και των 10,9 κρουσμάτων ανά 1.000.000 πληθυσμού (2013). Για την ίδια χρονική περίοδο, υπολογίστηκε στα 5,6 κρούσματα ανά 1.000.000 πληθυσμού (με τυπική απόκλιση 3) η μέση ετήσια δηλούμενη επίπτωση και με μέσο αριθμό δηλωθέντων περιστατικών τα 61 (με τυπική απόκλιση; 30).

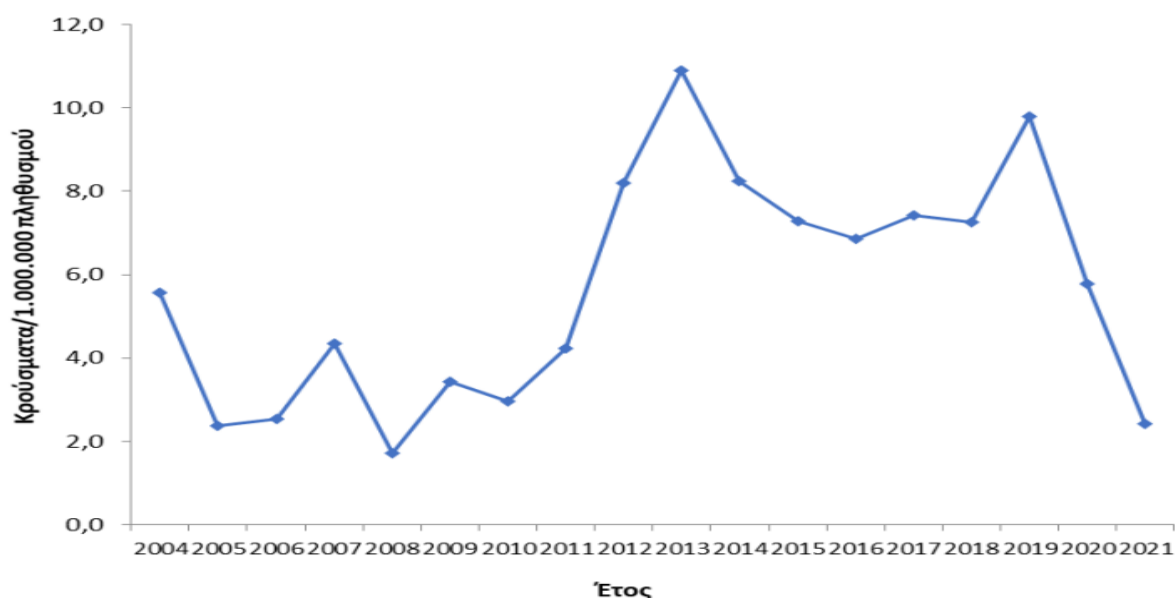
Από τα παραπάνω στοιχεία, διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στην συχνότητα δήλωσης της νόσου για το διάστημα αυτό ($p < 0,001$).

Πίνακας 3.1.1.α.: Αριθμός δηλωθέντων περιστατικών και επίπτωση Σιγκέλλωσης (Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, Ελλάδα, 2004-2021)(ΕΟΔΥ, 2022)

Έτος	Αριθμός κρουσμάτων	Ετήσια δηλωθείσα επίπτωση (ανά 1.000.000 πληθυσμού)
2004	61	5,6
2005	26	2,4
2006	28	2,5
2007	48	4,3
2008	19	1,7
2009	38	3,4
2010	33	3,0
2011	47	4,2
2012	91	8,2
2013	120	10,9
2014	90	8,2
2015	79	7,3
2016	74	6,9
2017	80	7,4
2018	78	7,2
2019	105	9,8
2020	62	5,8
2021	26	2,4
Σύνολο	1105	5,6*

*Μέση ετήσια δηλούμενη επίπτωση για το διάστημα 2004-2021

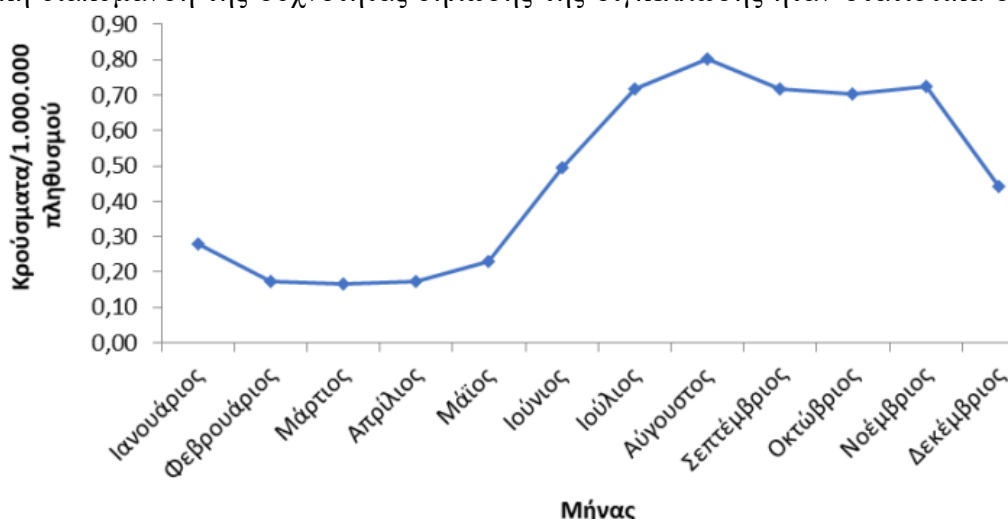
Γράφημα 3.1.1.α: Διαχρονική εξέλιξη της δηλούμενης επίπτωσης της σιγκέλλωσης στην Ελλάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021 (ΕΟΔΥ, 2022)



Σε ό,τι αφορά την εποχικότητα της Σιγκέλλωσης στην Ελλάδα, αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική ($p < 0,001$), αφού η μέση μηνιαία δηλούμενη επίπτωση της νόσου εμφανίστηκε αυξημένη τους καλοκαιρινούς μήνες, με κορύφωση Αύγουστο και συνεχίζοντας σε παρόμοια επίπεδα και μέσα στο φθινόπωρο (βλέπε Γράφημα 3.1.1.β).

Γράφημα 3.1.1.β. Μέση μηνιαία δηλούμενη επίπτωση (αριθμός κρουσμάτων/1.000.000 πληθυσμού) της σιγκέλλωσης στην Ελλάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021 (ΕΟΔΥ, 2022)

Η εποχική διακύμανση της συχνότητας δήλωσης της σιγκέλλωσης ήταν στατιστικά σημαντική



($p < 0,001$). Η μέση μηνιαία δηλούμενη επίπτωση του νοσήματος για το διάστημα 2004-2021, ήταν μεγαλύτερη τους θερινούς μήνες, παρουσίαζε κορύφωση τον Αύγουστο παραμένοντας υψηλή κατά τους φθινοπωρινούς μήνες (Διάγραμμα 3).

Τα τελευταία χρόνια έχουν εμφανιστεί παγκοσμίως στελέχη *Shigella* spp. (συμπεριλαμβανομένης της *S.dysenteriae*), τα οποία εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε πολλαπλά αντιβιοτικά, δυσκολεύοντας σημαντικά την αντιμετώπιση της νόσου. Το συγκεκριμένο φαινόμενο οφείλεται στην αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών, αφού η πλειονότητα των στελεχών εμφανίζει αντοχή, άσχετα από την ορομάδα ή τον ορότυπό τους.

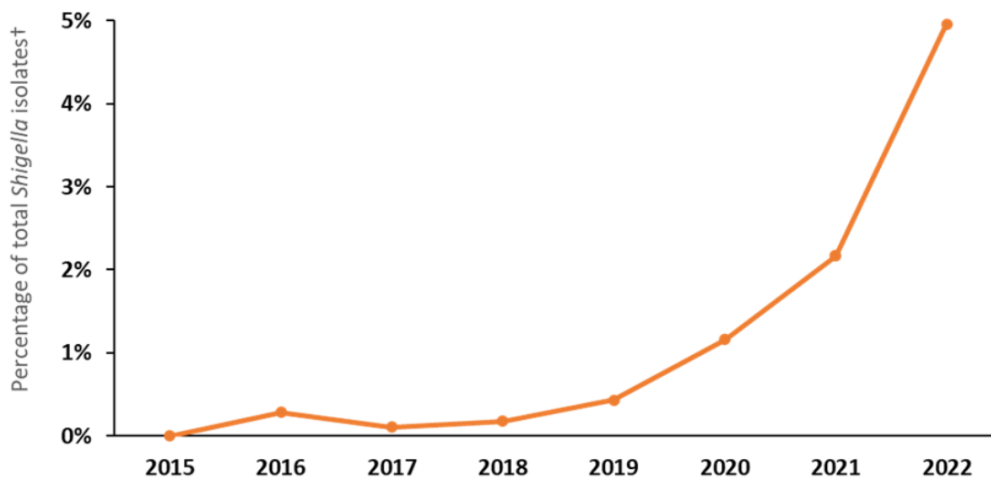
Στην Ασία και την Αφρική το 65-85% των μικροοργανισμών που απομονώνονται εμφανίζουν αντοχή στο ναλιδιξικό οξύ (κινολόνη) και στην τριμεθοπρίνη-σουλφαμεθοξαζόλη. Ακόμη, το 20-30% εμφανίζουν αντοχή στις φθοριοκινολόνες. Στην Αγγλία έχει καταγραφεί αντοχή στο ναλιδιξικό οξύ, ενώ στην αζιθρομυκίνη υπάρχει ανθεκτικότητα στην Ασία και την Ευρώπη. Τέλος, ένας συγκεκριμένος κλώνος στο Βιετνάμ είναι ανθεκτικό σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς και σε φθοριοκινολόνες. (ΕΟΔΥ, 2011, ECDC, 2023, Ayele B. et al., 2023, Department of Health-Victoria, 2024)

Στις ΗΠΑ, το 5% των σιγκελλώσεων που καταγράφηκαν το 2022 στα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών (CDC), οφείλονταν σε στελέχη XDR, δηλαδή αυτά που παρουσιάζουν αντοχή στην αζιθρομυκίνη, τη σιπροφλοξασίνη, την κεφτριαξόνη, την τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη και την αμπικιλίνη.

Κατά την περίοδο 2015-2023, παρουσιάστηκε ραγδαία αύξηση στα XDR στελέχη, σε σύγκριση με το 0% που καταγράφηκε το 2015 (βλέπε Γράφημα 1). Οι κυρίαρχες ορομάδες ήταν η *S.sonnei* (66%) και η *S.flexneri* (34%). Το 82% των περιστατικών αυτών αφορούσε άνδρες, με την πλειοψηφία αυτών να ανέφεραν ότι έχουν σεξουαλικές σχέσεις με άλλους άνδρες (MSM). Η μέση ηλικία των ατόμων ήταν τα 42 έτη (εύρος 1-83 έτη)(βλέπε γράφημα). Παρόμοια στελέχη με αυτά έχουν καταγραφεί ακόμη και στην Ευρώπη (Αγγλία και Γαλλία), κυρίως σε MSM ή σε άνδρες που πρόσφατα ταξίδεψαν στη Νότια Ασία ή στη Νοτιοανατολική Ασία.

Με αφορμή τα παραπάνω, το CDC δημοσίευσε ένα άρθρο με σκοπό την ενημέρωση και συμβουλή του κοινού και των επαγγελματιών υγείας γύρω από το ζήτημα αυτό (Health Alert Network) το 2023. (CDC, 2023)

Γράφημα 3.1.1.γ: Ποσοστό απομονώσεων *Shigella* που παρουσίασαν φαινότυπο ή γονότυπο εκτενώς ανθεκτικό σε αντιβιοτικά (XDR) στις Ηνωμένες Πολιτείες, ανά έτος, 2015-2022 (n=239) (CDC, 2023)



Οι επιδημιολογικές έρευνες του CDC και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) για τα είδη *Shigella* που διενεργούνται από την δεκαετία του 1960 μέχρι σήμερα έχουν συνεισφέρει στην κατανόηση του επιπολασμού τους ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή, τα δημογραφικά στοιχεία των πληθυσμών, καθώς και την ύπαρξη κοινωνικοοικονομικών παραγόντων που να εντείνουν την μόλυνση. (Venkatesan M., Kaminski R.W., Ranallo R.T., 2009)

Σύμφωνα με τα τελευταία δεδομένα του Ευρωπαϊκού Κέντρου Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC), αναφέρθηκαν 4.149 περιστατικά σιγκέλλωσης από 30 χώρες της ΕΕ/ΕΟΧ για το 2022 (βλέπε Πίνακα 3.1.1.β), με το 50,6% του συνόλου να έχει δηλωθεί από την Γαλλία (η πλειοψηφία των κρουσμάτων-31,7%), την Ολλανδία και την Ισπανία. Από την άλλη, η Ισλανδία και το Λιχτενστάιν δεν δήλωσαν κανένα κρούσμα.

Η αναλογία αναφοράς περιστατικών στις χώρες της ΕΕ/ΕΟΧ αντιστοιχεί σε 1,5 κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμό για το 2022. Στην πρώτη θέση στις δηλώσεις βρίσκεται η Γαλλία με ρυθμό 4,3 περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμό. Ακολουθεί το Λουξεμβούργο και η Σλοβακία με 4,2 και 3,3 περιστατικά ανά 100.000 πληθυσμό αντίστοιχα (βλέπε Πίνακα 3.2.3. και Εικόνα 3.2.3.).

Για το 60% (2.492) των κρουσμάτων σιγκέλλωσης, βρέθηκαν στοιχεία σχετικά με το ιστορικό ταξιδιού, από τις οποίες το 48% (1.198) διαπιστώθηκε επιδημιολογική συσχέτιση με προηγούμενο ταξίδι. Μερικές από τις πιο συχνά αναφερόμενες πιθανές χώρες σχετιζόμενες με την μόλυνση ήταν η Αίγυπτος (13,9%-153 κρούσματα), το Μαρόκο (11,5%-127 κρούσματα) και η Τυνησία (10,7%-118 κρούσματα).

Το 13,9% των ατόμων (δηλ. 578 κρούσματα) έδωσαν πληροφορίες σχετικά με τον πιθανό τρόπο μετάδοσης. Η πιο συχνά καταγεγραμμένη μετάδοση ήταν μέσω της τροφής (68,2%-394 περιστατικά). Ακολούθησαν η μετάδοση μέσω της σεξουαλικής επαφής (20,6%-119 περιστατικά, όπου όλα αφορούσαν άνδρες) και άτομο σε άτομο, εξαιρούμενης της άμεσης μετάδοσης από την μητέρα στο παιδί και σεξουαλικής επαφής (10%-58 περιστατικά). Τέλος, τέσσερα από τα περιστατικά ότι μολύνθηκαν από νερά αναψυχής και τρεις δεν μπορούσαν να συσχετιστούν με κάποιο συγκεκριμένο τρόπο μετάδοσης.(ECDC, 2023)

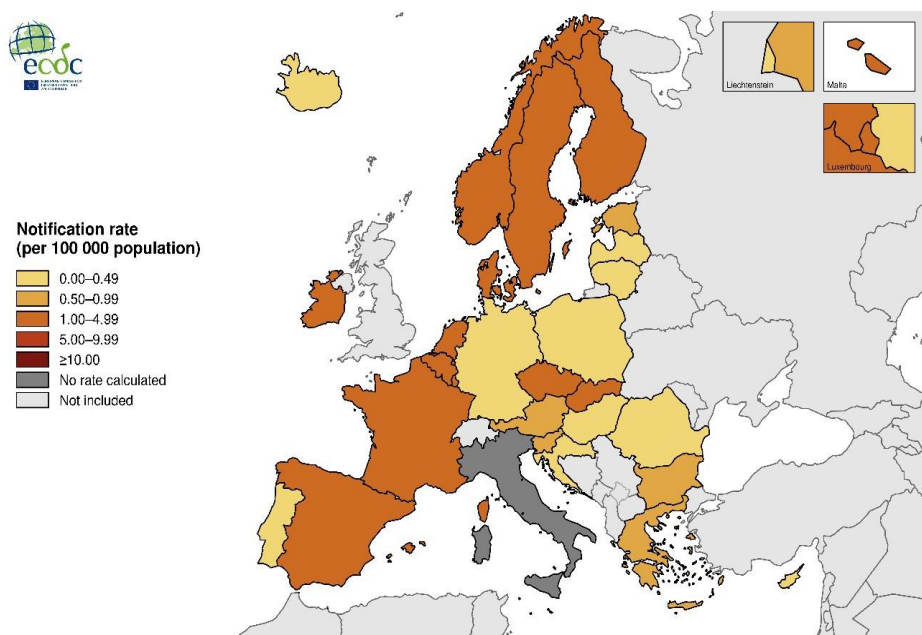
Πίνακας 3.1.1.β: Επιβεβαιωμένα περιστατικά συγκελλώσεων και οι τιμές ανά 100.000 πληθυσμό ανά χώρα και έτος, EU/EEA,2018–2022 (ECDC, 2022)

Country	2018		2019		2020		2021		2022	
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate
Austria	69	0.8	72	0.8	25	0.3	39	0.4	60	0.7
Belgium	427	3.7	423	3.7	115	1.0	199	1.7	307	2.6
Bulgaria	235	3.3	219	3.1	47	0.7	27	0.4	52	0.8
Croatia	29	0.7	17	0.4	1	0.0	3	0.1	2	0.1
Cyprus	4	0.5	2	0.2	0	0.0	0	0.0	1	0.1
Czechia	142	1.3	127	1.2	72	0.7	41	0.4	104	1.0
Denmark	146	2.5	192	3.3	51	0.9	57	1.0	107	1.8
Estonia	17	1.3	29	2.2	4	0.3	2	0.2	10	0.8
Finland	111	2.0	154	2.8	41	0.7	30	0.5	56	1.0
France	1 132	3.8	1 167	3.9	564	1.9	769	2.6	1 290	4.3
Germany	655	0.8	614	0.7	140	0.2	142	0.2	339	0.4
Greece	78	0.7	104	1.0	61	0.6	23	0.2	60	0.6
Hungary	13	0.1	45	0.5	61	0.6	30	0.3	18	0.2
Iceland	4	1.1	4	1.1	1	0.3	1	0.3	0	0.0
Ireland	101	2.1	121	2.5	66	1.3	59	1.2	130	2.6
Italy	32	NR C	40	NRC	14	NRC	14	NRC	21	NRC
Latvia	17	0.9	14	0.7	3	0.2	1	0.1	3	0.2
Liechtenstein	NDR	NR C	NDR	NRC	NDR	NRC	0	0.0	0	0.0
Lithuania	21	0.7	17	0.6	2	0.1	2	0.1	6	0.2
Luxembourg	11	1.8	13	2.1	13	2.1	8	1.3	27	4.2

Malta	4	0.8	9	1.8	0	0.0	0	0.0	5	1.0
Netherlands	484	2.8	516	3.0	187	1.1	202	1.2	419	2.4
Norway	102	1.9	133	2.5	37	0.7	33	0.6	80	1.5
Poland	89	0.2	34	0.1	12	0.0	18	0.0	38	0.1
Portugal	24	0.2	8	0.1	5	0.0	11	0.1	20	0.2
Romania	147	0.8	117	0.6	15	0.1	17	0.1	25	0.1
Slovakia	195	3.6	146	2.7	103	1.9	131	2.4	182	3.3
Slovenia	26	1.3	24	1.2	14	0.7	18	0.9	16	0.8
Spain	455	1.0	512	1.1	72	NRC	309	0.7	598	1.3
Sweden	259	2.6	305	3.0	81	0.8	77	0.7	173	1.7
EU/EEA (30 countries)	5 029	1.6	5 178	1.7	1 807	0.7	2 263	0.8	4 149	1.5
United Kingdom	2 617	3.9	3 270	4.9	NDR	NRC	NA	NA	NA	NA
EU/EEA (31 countries)	7 646	2.0	8 448	2.2	1 807	0.7	NA	NA	NA	NA

Σημείωση: NDR: δεν αναφέρθηκαν δεδομένα./NRC: δεν υπολογίζεται ποσοστό./NA: δεν ισχύει. Δεν αναφέρθηκαν στοιχεία για το 2020–2022 από το Ηνωμένο Βασίλειο, λόγω της αποχώρησής του από την ΕΕ στις 31 Ιανουαρίου 2020. Τα ποσοστά δεν υπολογίζονται για την Ιταλία (2017–2022) ή την Ισπανία (2020), καθώς τα δεδομένα δεν είναι αντιπροσωπευτικά σε εθνικό επίπεδο.

Εικόνα 3.2.3. : Επιβεβαιωμένα κρούσματα *Shigella* spp. ανά 100 000 πληθυσμού ανά χώρα, ΕΕ/ΕΟΧ, 2022(ECDC, 2022)



Administration boundaries: © Esri/DeLorme
The boundaries and names shown on this map do not imply official endorsement or acceptance by the European Union. ECDC. Map produced on 17 January 2024.

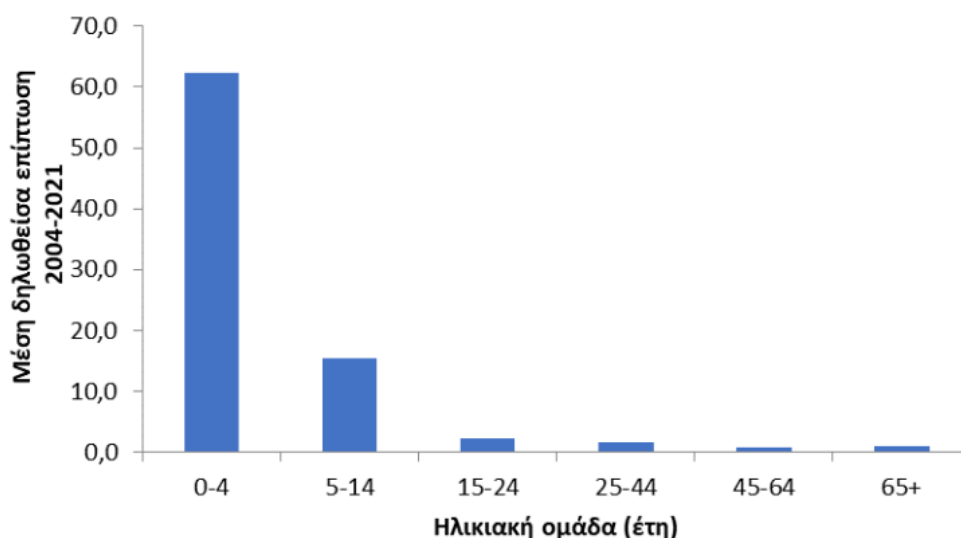
3.1.2. Δημογραφικά-Χώρες Ενδημίας

Η μετάδοση της σιγκέλλωσης δεν εξαρτάται άμεσα από το φύλο ή την ηλικία του ατόμου. Ευνοείται συνήθως όταν σε ένα περιβάλλον υπάρχουν δυσμενείς συνθήκες υγιεινής ή επικρατεί συγχρωτισμός όπως σε σχολεία, παιδικούς σταθμούς, γηροκομεία, δημόσιες πισίνες, φυλακές και στρατώνες.

Από την τελευταία Ετήσια Επιδημιολογική Έκθεση του ECDC για την *Shigella* το 2022, προέκυψε ότι οι περισσότερες αναφορές κρουσμάτων αφορούσαν παιδιά ηλικίας κάτω των πέντε ετών. Ακολουθούν οι άνδρες ηλικίας 25-44 ετών. Σημαντικός παράγοντας στο εύρημα αυτό φαίνεται πως είναι η μετάδοση του βακτηρίου μέσω της σεξουαλικής επαφής ανδρών με άλλους άνδρες (MSM). (New York State-Department of Health, 2023, Aslam A., Hashmi M.F. και Okafor C.N., ECDC, 2024)

Στην Ελλάδα, κατά το διάστημα 2004-2021 βάσει του ΕΟΔΥ, καταγράφηκε υψηλότερη μέση ετήσια δηλούμενη επίπτωση στις ηλικιακές ομάδες 0-4 ετών (62 κρούσματα/1.000.000 πληθυσμού) και 5-14 ετών (15 κρούσματα/1.000.000 πληθυσμού) (βλέπε Διαγράμματα 3.1.2.α. και 3.1.2.β), ενώ οι άνδρες δεν φαίνεται να ξεπέρασαν σημαντικά κατά πολύ τις γυναίκες (άνδρες: 6 περιστατικά/1.000.000 πληθυσμού, γυναίκες: 5,3 περιστατικά/1.000.000 πληθυσμού). (ECDC, 2021, ΕΟΔΥ, 2022)

Γράφημα 3.1.2.α. Μέση ετήσια δηλούμενη επίπτωση (αριθμός κρουσμάτων/1.000.000 πληθυσμού) της σιγκέλλωσης στην Ελλάδα ανά ηλικιακή ομάδα, Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων, 2004-2021



Γράφημα 3.1.2.β. Μέση Ετήσια Δηλούμενη Επίπτωση (αριθμός κρουσμάτων/1.000.000 πληθυσμού) της Σιγκέλλωσης στην Ελλάδα ανά Φύλο-Atlas of Infectious Diseases (ECDC, 2021)



Από το σύνολο των κρουσμάτων που δηλώθηκαν το διάστημα 2004-2021, το 51% (541 κρούσματα) αφορούσε Ρομά. Το 19% (970) των δηλωθέντων είχε σύνδεση με άλλο περιστατικό και το 8% (70) είχε επιστρέψει κατά το διάστημα του χρόνου επώασης της νόσου από ταξίδι στο εξωτερικό. Κρούσματα σιγκέλλωσης εμφανίστηκαν ακόμη στον πληθυσμό προσφύγων-μεταναστών στην Αττική το 2015 και στο Κέντρο Υποδοχής και Ταυτοποίησης της Σάμου το 2019. (Μέλλου Κ., Μανδηλαρά Γ., Χρυσοστόμου Α. et.al., 2019, ΕΟΔΥ, 2022)

Στις χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος (Low and Middle Income Countries-LMIC) συναντώνται περισσότερο τα *S.dysenteriae*, *S.flexneri* και *S.boydii*, ενώ στις αναπτυγμένες χώρες βρίσκεται το *S.sonnei* πιο συχνά. Αριθμητικά, λιγότερα περιστατικά καταγράφονται από *S.boydii* και *S.dysenteriae* παγκοσμίως, με την πλειονότητα αυτών να σχετίζεται με ταξίδι σε ενδημική χώρα. Το *S.boydii* εντοπίζεται σχεδόν αποκλειστικά στην Ινδική υποήπειρο, ενώ το *S.dysenteriae* συναντάται κυρίως στην υποσαχάρια Αφρική και στην Νότια Ασία.

Οι Ayele B. et al. σε μελέτη τους αναφέρουν πως στις αναπτυσσόμενες χώρες είναι πολύ πιθανό να υπάρχει υποδήλωση των κρουσμάτων *Shigella*. Αίτια της υποδήλωσης αποτελούν το περιορισμένο πεδίο των μελετών, της έλλειψης συντονισμένων συστημάτων επιδημιολογικής επιτήρησης, καθώς και η επισκίαση της λοίμωξης αυτής από άλλα νοσήματα που μπορεί να έχουν δοθεί μεγαλύτερο βάρος.

Πλέον όμως με τις μετακινήσεις ανά τον κόσμο να έχουν αυξηθεί κατακόρυφα στις μέρες μας, περισσότερα είναι τα περιστατικά τα οποία μεταδίδουν στελέχη από ενδημικές χώρες. Ο μικροοργανισμός έχει εντοπιστεί σε δείγματα κοπράνων του 5-18% όσων ασθενών εκδήλωσαν διάρροια των ταξιδιωτών. Μελέτες στην Αυστραλία και στον Καναδά επιβεβαιώνουν με τη σειρά

τους την συσχέτιση ταξιδιών με την *Shigella* , αφού το 40-50% των καταγεγραμμένων περιπτώσεών τους αφορούσε διεθνή ταξίδια.

Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, περίπου το 25% των κρουσμάτων σιγκέλλωσης έχει συσχέτιση με πρόσφατο ταξίδι, αντιπροσωπεύοντας το 13% όλων των εντερικών λοιμώξεων που προκαλούνται στους ταξιδιώτες. Σε μελέτη που διεξήχθη σε ταξιδιώτες της χώρας, το μεγαλύτερο ποσοστό των λοιμώξεων από *S.dysenteriae* (56%) και *S.boydii* (44%) σχετιζόταν με προηγούμενο ταξίδι, ενώ όσες λοιμώξεις προκλήθηκαν από *S.flexneri* (24%) και *S.sonnei* (12%) είχαν μικρότερο ποσοστό συσχέτισης με ταξίδι.

Από άλλη μελέτη σε ταξιδιώτες στις ΗΠΑ, καταγράφηκε ότι μεγαλύτερος κίνδυνος διέτρεχε όσοι ταξιδιώτες γυρνούσαν από χώρες της Αφρικής πρωτίστως και ύστερα από την Κεντρική Αμερική, τη Νότια Αμερική και την Ασία. Όσον αφορά τα στελέχη *S.flexneri* και *S.dysenteriae*, τα οποία παράγουν τη Shiga τοξίνη, εντοπίζονται συχνά σε άτομα που έχουν πρόσφατα ταξιδέψει στην Αϊτή και την Δομινικανή Δημοκρατία. (ΕΟΔΥ, 2011, ECDC, 2023, Ayele B. et al., 2023, Department of Health-Victoria, 2024)

3.1.3. Υποδόχο-Περίοδος Επώασης-Περίοδος Μεταδοτικότητας

Βάσει της βιβλιογραφίας, το μοναδικό υποδόχο είναι ο άνθρωπος, με εξαίρεση περιστατικών (κυρίως πρωτεύοντων) σε παρατεταμένες επιδημίες.

Χρειάζεται ελάχιστος αριθμός μικροβίων για την πρόκληση νόσου (από 10 έως 200 μ.ο.), γεγονός που οφείλεται στο εξαιρετικά ευαίσθητο οξύ του στομάχου και στην μείωση της ρύθμισης των αντιβακτηριακών πρωτεϊνών του ξενιστή από τον μικροοργανισμό. Αξίζει να σημειωθεί πως τα περισσότερα είδη *Shigella* μπορούν και επιβιώνουν στην όξινη επεξεργασία σε pH 2,5 για τουλάχιστον 2 ώρες. (ΕΟΔΥ, 2011, Aslam A. και Okafor C., 2022, Sureshababu J., 2023)

Η περίοδος επώασης της σιγκέλλωσης συνήθως είναι 1-3 ημέρες, αλλά μπορεί να φτάσει και τη μία εβδομάδα εάν πρόκειται για στέλεχος *S.dysenteriae*. Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται μεταξύ 12-72 ώρες. Υπάρχει βέβαια και η πιθανότητα της ασυμπτωματικής λοίμωξης, οπότε το άτομο δεν γνωρίζει και μεταδίδει άθελά του.

Η νόσηση διαρκεί 5-7 ημέρες περίπου. Η λοιμώδης περίοδος (ή αλλιώς περίοδος μεταδοτικότητας) όμως συνεχίζεται για όσο εκκρίνεται ο μικροοργανισμός στα κόπρανά του, δηλαδή συνολικά 2-4 εβδομάδες από την έναρξη της νόσου. Με την κατάλληλη θεραπευτική

αγωγή, έχει αποδειχθεί ότι το διάστημα αυτό μειώνεται σε μερικές ημέρες. (Massachusetts Department of Public Health, 2016, Sureshbabu J., 2023, Government of South Australia, 2024)

Για να μπορέσει το άτομο να επιστρέψει στην εργασία του μετά από σιγκέλλωση, θα πρέπει να απομονωθεί από την ημέρα έναρξης των συμπτωμάτων, μέχρι να έχουν περάσει 48 ώρες από το τέλος της διάρροιας (CDC, 2024). Εάν πρόκειται για επαγγέλματα όπως χειριστές τροφίμων, φροντιστές παιδιών ή υγειονομικοί, θα πρέπει να προσκομίσουν δύο αρνητικές καλλιέργειες κοπράνων αφού παρέλθει η διάρροια. Οι δύο λήψεις να έχουν απόκλιση τουλάχιστον ένα 24ωρο μεταξύ τους και η πρώτη λήψη να γίνεται τουλάχιστον 48 ώρες μετά την ολοκλήρωση της θεραπευτικής αγωγής (εάν συνταγογραφηθεί αντιβίωση). Ιδιαίτερα για τους χειριστές τροφίμων, θα πρέπει να απέχουν από την προετοιμασία φαγητού για τουλάχιστον 48 ώρες μετά την παρέλευση της διάρροιας.

Σε περίπτωση που βρεθεί ότι ένα παιδί με σιγκέλλα σε μονάδα φροντίδας παιδιών, τότε θα πρέπει να απομονωθεί μέχρι να συμπληρωθούν 48 ώρες μετά το πέρας της διάρροιας. Εάν χρειαστεί να δοθεί αντιβίωση, θα πρέπει να προστεθεί στο παραπάνω και να έχει παρέλθει ένα 24ωρο από την έναρξη χορήγησής της. (Iowa-Health and Human Services, 2018)

3.2. Σιγκέλλωση

3.2.1. Καταγεγραμμένες Επιδημίες

Συνολικά δύο συρροές κρουσμάτων καταγράφηκαν στην Ευρωπαϊκή πύλη Επιτήρησης Λοιμωδών Νοσημάτων “EpiPulse” το 2022.

Η πρώτη επιδημία αφορούσε την ξαφνική αύξηση στα κρούσματα από *S.sonnei* ST152 στην Γαλλία, το οποίο παρήγαγε ESBL. Κοινή σύνδεση μεταξύ των κρουσμάτων ήταν η επιστροφή από ταξίδι στην Τυνησία. Ειδικότερα, για το διάστημα Ιούλιος-Οκτώβρης του 2022, καταγράφηκαν 152 περιστατικά (64% γυναίκες) στη Γαλλία, από τα οποία το 36,5% είχε ταξιδέψει πρόσφατα στην Τυνησία, χωρίς όμως να βρεθεί κάποια κοινή έκθεση στον μικροοργανισμό ή μέσο μετάδοσης. Μέχρι το τέλος του έτους, διευρύνθηκαν οι χώρες καταγραφής των κρουσμάτων (Τσεχία, Ολλανδία και Νορβηγία) για το ίδιο στέλεχος και με ιστορικό ταξιδιού στην Τυνησία. Ένα μεγάλο μέρος των περιστατικών παρήγαγε ESBL, γεγονός που είχε ως αποτέλεσμα την αντοχή των στελεχών σε κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς.

Μέσα στην ίδια χρονιά, δηλώθηκε μία ακόμη ξαφνική συρροή κρουσμάτων στο EpiPulse από την Ολλανδία. Πρόκειται για λοίμωξη από *S.sonnei* με ιστορικό ταξιδιού στο Κάβο Βέρντε. Τους

επόμενους μήνες, αυξήθηκαν τα κρούσματα σε παγκόσμιο επίπεδο. Η πλειοψηφία των περιστατικών αφορούσε γυναίκες. Τα καλλιεργήματα παρουσίασαν αντοχή στην τριμεθοπρίμη, τη στρεπτομυκίνη και το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Από τις πληροφορίες που δόθηκαν, υπήρξε αναφορά, από πολλά περιστατικά, η κοινή διαμονή (ξενοδοχείο all inclusive μιας περιοχής).

Συνολικά καταγράφηκαν 27 τροφιμογενή περιστατικά σιγκέλλωσης από 11 χώρες της ΕΕ/ΕΟΧ βάσει των δεδομένων που συνέλεξαν η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) για το έτος 2022. Παρατηρήθηκε αύξηση κατά 16 κρούσματα σε σχέση με το προηγούμενο έτος. Τα περιστατικά αφορούσαν κυρίως τις οροομάδες *S.sonnei* και *S.flexneri*. (ECDC, 2022)

Τον Ιανουάριο του 2022, η Υπηρεσία Ασφάλειας Υγείας του Ην.Βασιλείου (UKHSA) ανακοίνωσε αύξηση στα περιστατικά λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη *S.sonnei*.

Η πανδημία COVID-19 και η αποχώρηση του Ηνωμένου Βασιλείου από την ΕΕ το 2020 επηρέασαν σημαντικά τα δεδομένα επιτήρησης για τη σιγκέλλωση το 2020-2021. Παράγοντες που αναφέρονται από τις χώρες που οδηγούν σε μικρούς αριθμούς ήταν π.χ. λιγότερα ταξίδια λόγω ταξιδιωτικού περιορισμού, λιγότερες κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, άτομα που αποφεύγουν να αναζητήσουν ιατρική περίθαλψη για ήπια συμπτώματα λόγω κινδύνου έκθεσης στον COVID-19 σε εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης, περιορισμένη ικανότητα διάγνωσης ήπιων ασθενειών στην υγειονομική περίθαλψη κ.λπ. (ECDC, 2023)

Στις 27 Ιανουαρίου 2022, η Υπηρεσία Ασφάλειας Υγείας του Ηνωμένου Βασιλείου (UKHSA) ανέφερε αύξηση στις εκτενώς ανθεκτικές στα φάρμακα λοιμώξεις *Shigella sonnei*. Έκτοτε, η Αυστρία, το Βέλγιο, η Δανία, η Γαλλία, η Γερμανία, η Ιρλανδία, η Ιταλία, η Νορβηγία και η Ισπανία έχουν αναφέρει περιπτώσεις σιγκέλλωσης με ημερομηνίες δειγματοληψίας από το 2020 έως το 2022 και με απομονώσεις είτε στενά γενετικά σχετιζόμενες με αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος, είτε με την ίδια ή ένα πολύ παρόμοιο προφίλ αντίστασης. Οι περισσότερες περιπτώσεις ήταν σε ενήλικες άνδρες που έκαναν σεξ με άνδρες (MSM). Ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών με διαθέσιμες πληροφορίες αναφέρθηκε ότι μολύνθηκε μέσω σεξουαλικής μετάδοσης. (ECDC, 2022)

Από τον Απρίλιο του 2023, περισσότερες από 300 περιπτώσεις σιγκέλλωσης, πολλές με πολυανθεκτικές λοιμώξεις από *Shigella sonnei*, έχουν αναφερθεί στο Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC).

Τα κρούσματα συνδέονται με επτά εθνικές και διεθνείς διακριτές μικροβιολογικές ομάδες, με αλυσίδες μετάδοσης σε μεγάλο βαθμό, αλλά όχι αποκλειστικά, μεταξύ ομοφυλόφιλων, αμφιφυλόφιλων και άλλων ανδρών που κάνουν σεξ με άνδρες (gbMSM). Έχουν αναφερθεί κρούσματα στο Βέλγιο (26), τη Δανία (13), τη Γερμανία (33), την Ιρλανδία (50), την Ολλανδία (21), την Ισπανία (> 60) και τις Ηνωμένες Πολιτείες (106). Τα περισσότερα κρούσματα έχουν καταγραφεί κατά την περίοδο 2022–2023, αλλά μερικά χρονολογούνται από το 2016. (ECDC, 2023)

3.2.2. Ομάδες Υψηλού Κινδύνου

Από *Shigella* μπορεί να μολυνθεί οποιοδήποτε άτομο, ανεξαρτήτου φύλου ή ηλικίας. Όμως, οι ομάδες που διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο λόγω συνθηκών υγιεινής και διαβίωσης είναι

- παιδιά σε παιδικούς σταθμούς,
- ταξιδιώτες από ενδημικές χώρες/διεθνείς ταξιδιώτες,
- άνδρες που κάνουν σεξ με άνδρες (MSM),
- άτομα σε ανοσοκαταστολή (λ.χ. λόγω θεραπείας HIV ή χημειοθεραπείας),
- άστεγοι,
- κρατούμενοι και
- μετανάστες.

Θα πρέπει όμως να δοθεί προσοχή και από την υπόλοιπη κοινωνία ανεξαρτήτως φύλου ή/και ηλικίας, αφού είναι συχνό να εξαπλώνονται επιδημίες από τις πιο πάνω ομάδες στην κοινότητα.

. (Weir, E., 2002, CDC, 2023)

Κεφάλαιο 4^ο : *Shigella boydii*

4.1. Ορότυπος-Χαρακτηριστικά

Η υποομάδα *S.boydii* (ή αλλιώς υποομάδα C) πήρε το όνομά της από τον Αμερικανό βακτηριολόγο και επιδημιολόγο Μαρκ Φρέντερικ Μπόιντ (Mark Frederick Boyd), ο οποίος απομόνωσε τον μικροοργανισμό το 1931. Το 1940 τελικά συγκροτήθηκαν όλες οι υποομάδες (*dysenteriae*, *flexneri*, *boydii* και *sonnei*). Πρόκειται για ένα ακίνητο (εκτός κάποιων περιπτώσεων που διαθέτουν μαστίγια), αρνητικό κατά Gram βακτήριο, το οποίο δεν παράγει σπόρια.

Διαθέτει 19 ορότυπους, συνολικά, αφού ο *S.boydii* 13 τελικά εντάχθηκε στην *Escherichia* (*E.albertii*), ενώ ζυμώνει αποτελεσματικά την D-μαννιτόλη. Ακόμη, μέσω της πλήρους αλληλούχισης του γονιδιώματος (WGS) του βακτηρίου, εντοπίστηκε σημαντική φυλογενετική σύνδεση των ορότυπων 20 και 1. Από το εύρημα αυτό, συμπεραίνεται ότι ο ορότυπος 20 θα προέκυψε πρόσφατα από τον 1. Αξίζει να αναφερθεί πως προτού επικαιροποιηθεί πλήρως η βάση δεδομένων των αρχών Δημόσιας Υγείας της Αγγλία (Public Health England) για το *S.boydii* 20, είχε ήδη διαπιστωθεί πως ο συγκεκριμένος ορότυπος δεν ήταν πλέον περιορισμένος γεωγραφικά. Υπήρξαν αναφορές σε χώρες όπως η Αίγυπτος, το Αφγανιστάν, η Ινδία και η Σιέρα Λεόνε.

4.2 Επιδημιολογικά δεδομένα *Shigella boydii*

4.2.1. Επιδημίες

Σε γενικές γραμμές, η *S.boydii* είναι ένα είδος που δεν συναντάται στις αναπτυγμένες χώρες, παρά μόνο όταν πρόκειται για ταξιδιώτες από ενδημικές χώρες. Περιορίζεται στην Ινδική υποήπειρο (κυρίως στο Μπαγκλαντές και στην Νοτιοανατολική Ασία), αλλά και στην Κεντρική και Νότια Αμερική. Στις περιοχές αυτές έχουν παρουσιαστεί συρροές κρουσμάτων και επιδημίες, χωρίς όμως να γίνεται η απαραίτητη συλλογή και καταχώρηση των δεδομένων. (Venkatesan M., Kaminski R.W., Ranallo R.T., 2009, Muzembo B.A. et.al., 2023, Clark M., 2024, Hmar E. B. L., Paul S. και Sharma K. S., 2024)

Σε σχέση με τις υπόλοιπες οροομάδες, το *S.boydii* έχει τη χαμηλότερη καταγραφή και επιτήρηση κρουσμάτων παγκοσμίως. Για τον λόγο αυτό, δεν επιτυγχάνεται η ολοκληρωμένη εικόνα της νόσου, ώστε να σχεδιάζονται τα απαραίτητα μέτρα και παρεμβάσεις. δημόσιας υγείας.

Σε έρευνα της Παγκόσμιας Εντερικής Πολυκεντρικής Μελέτης (GEMS), φάνηκε ότι το 5,4% του συνόλου των περιστατικών σιγκέλλωσης (61/1130) ταυτοποιήθηκε ως *S.boydii*. Αν και δεν είναι

ένα μεγάλο ποσοστό αναλογικά με τα άλλα είδη, το *S.boydii* συντελεί στην συνολική επιβάρυνση του πληθυσμού από τα *Shigella* spp. (Livio et.al, 2014, Baker et.al., 2015)

Το 1985 στην Ιταλία, καταγράφηκε μία συρροή 19 κρουσμάτων από τον ορότυπο 2 σε ένα γηριατρικό νοσοκομείο στην Λομβαρδία. Επτά ακόμη περιστατικά *S.boydii* εντοπίστηκαν στην Νότια Ιταλία (περιοχή Μπρίντζι) το 1986, χωρίς όμως με κάποια επιδημιολογική σχέση μεταξύ τους. (Nastasi A., Villafrate M.R., Mammina C., Pontello M. και Ricci M., 1990).

Το 1989 στην Σερβία καταγράφηκαν δύο υδατογενείς επιδημίες βακτηριακής δυσεντερίας που οφείλονταν στον ορότυπο 14. Όλα τα απομονωμένα δείγματα ήταν αρνητικά στην μαννιτόλη, ενώ μεταβόλισαν τη γλυκόζη, καθώς και την αναριβόζη και την σορβιτόλη σε αέριο και οξύ σε 24 και 48 ώρες αντίστοιχα. (Sokolovski B., Sopovski E., Cobeljić M., και Nikolovski B., 1985)

Το 1998 απομονώθηκε ο ορότυπος 18 στις ΗΠΑ σε μία επιδημία σιγκέλλωσης που εμφανίστηκε σε ένα εστιατόριο στο Σικάγο. Εμπλεκόμενα τρόφιμα θεωρήθηκε ο μαϊντανός ή/και το κόλιανδρο, τα οποία εισήγαγαν από το Μεξικό για την Παρασκευή σαλάτας με φασόλια. (Chan Y.C., Blaschek H.P., 2005)

Το 2007, απομονώθηκαν 29 δείγματα *S.boydii* 2 από μία πιθανή συρροή κρουσμάτων στην επαρχία Mrumalanga της Νότιας Αφρικής για το διάστημα Νοέμβρης-Δεκέμβρης. (Smith A.M., Keddy K.H., Sooka A., Ismail H., de Jong G.M. και Hoyland G., 2007)

Από την ανάλυση των Ranjbar, Mammina, Pourshafie και Soltan-Dallal στην Τεχεράνη του Ιράν, ταυτίστηκαν 10 δείγματα *S.boydii* από παιδιά για το διάστημα 2002-2003. Ειδικότερα, τα επτά άνηκαν στον ορότυπο 2, ενώ τα υπόλοιπα τρία στους ορότυπους 14,18 και 19 αντίστοιχα. Άξιο να αναφερθεί πως ανάμεσα στα δείγματα, παρουσιάστηκαν έξι φαινότυποι αντοχής. (Ranjbar R., Mammina C., Pourshafie M.R. και Soltan-Dallal M.M., 2008)

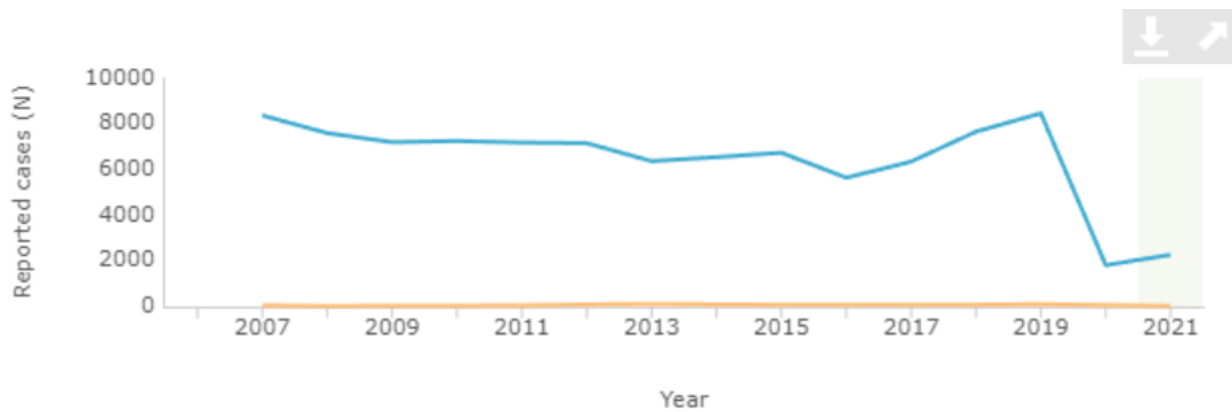
Το 2015, οι αρχές Δημόσιας Υγείας της Αγγλίας ανίχνευσαν επτά κρούσματα σε στρατιωτικό προσωπικό που είχε πρόσφατα επιστρέψει από ταξίδι στην Σιέρα Λεόν. Ύστερα από τις απαραίτητες εξετάσεις, βρέθηκε ότι η συρροή αυτή αφορούσε τον ορότυπο 20. Πιθανό εμπλεκόμενο τρόφιμο θεωρήθηκε η κατανάλωση κοτόπουλου 24-48 ώρες πριν το ταξίδι από όλα τα άτομα. (Todkill D. et. al., 2015)

4.2.2. Δεδομένα

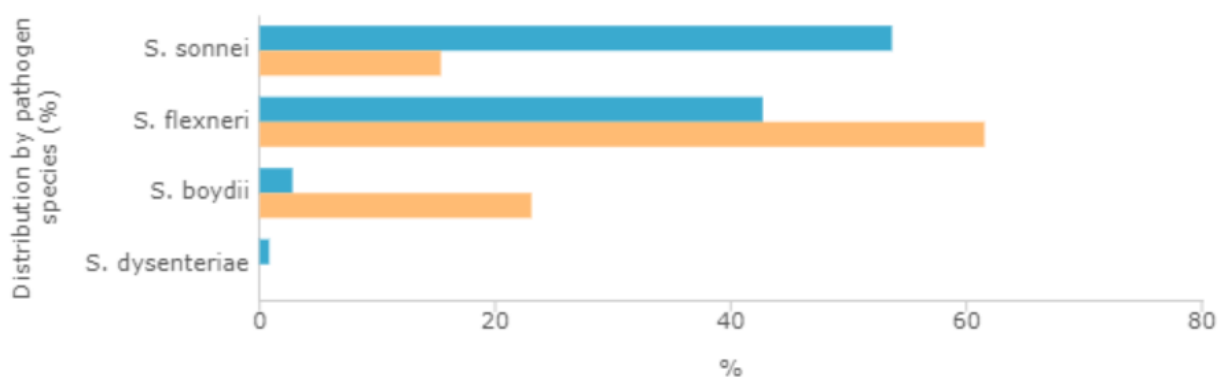
Άξιο αναφοράς αποτελεί η κατανομή *Shigella* spp. της Ελλάδας σε σχέση με την υπόλοιπη Ευρωπαϊκή Ένωση (συμπεριλαμβάνεται και το Ην.Βασίλειο ως το 2019) (βλέπε Γράφημα 4.2.2.α και 4.2.2.β). Από τα γραφήματα, προκύπτει ότι αν και δεν έχει αριθμητικά τόσα

περιστατικά όσο η υπόλοιπη Ε.Ε., το είδος *S.boydii* εμφανίζεται περισσότερο στην Ελλάδα σε συχνότητα από ότι στην υπόλοιπη Ε.Ε. Το 2019 λόγω του εγκλεισμού από την έναρξη της πανδημίας της Covid-19, υπήρξε κατακόρυφη μείωση στη δήλωση των κρουσμάτων, με αποτέλεσμα να υπάρχει έντονη υποδήλωση και τελικά μη έγκυρα επιδημιολογικά στοιχεία. Το τελευταίο φαίνεται από το γεγονός ότι το 2021 παρατηρείται μία αυξητική τάση των κρουσμάτων. Ακόμη, από τον Πίνακα 4.2.2., το ποσοστό που καταλαμβάνουν τα καταγεγραμμένα περιστατικά *S.boydii* από το 2020 και μετά φαίνεται πως έχει αυξηθεί στην Ελλάδα.(ECDC, 2021)

Γράφημα 4.2.2.α.: Κατανομή κρουσμάτων *Shigella* spp. Στην Ελλάδα (πορτοκαλί) σε σχέση με την υπόλοιπη Ε.Ε.(μπλε), ECDC, 2021



Γράφημα (4.2.2.β.): Κατανομή περιστατικών ανά οροομάδα στην Ελλάδα (πορτοκαλί) σε σχέση με τις υπόλοιπες χώρες της Ε.Ε. (μπλε-συμπεριλαμβάνεται και το Ην.Βασίλειο ως το 2019), ECDC, 2021



Πίνακας 4.2.2: Κατανομή Συχνοτήτων ανά Είδος για το χρονικό διάστημα 2004-2021, ΕΟΔΥ, 2021

	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	Άγνωστο	Σύνολο
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
2004	19 (31)	13 (21)	1 (2)	0 (0)	28 (46)	61 (100)
2005	8 (30)	11 (42)	1 (4)	0 (0)	6 (24)	26 (100)
2006	4 (15)	2 (7)	1 (4)	0 (0)	20 (74)	27 (100)
2007	4 (8)	23 (49)	0 (0)	0 (0)	20 (43)	47 (100)
2008	7 (50)	1 (7)	0 (0)	0 (0)	6 (43)	14 (100)
2009	17 (50)	1 (3)	1 (3)	0 (0)	15 (44)	34 (100)
2010	17 (63)	2 (8)	0 (0)	2 (7)	6 (22)	27 (100)
2011	16 (37)	1 (2)	1 (2)	0 (0)	26 (59)	44 (100)
2012	27 (30)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	63 (69)	91 (100)
2013	54 (49)	27 (25)	0 (0)	1 (1)	28 (25)	110 (100)
2014	37 (43)	19 (22)	1 (1)	0 (0)	30 (34)	87 (100)
2015	45 (61)	18 (24)	4 (5)	2 (3)	5 (7)	74 (100)
2016	29 (41)	12 (17)	4 (6)	0 (0)	25 (36)	70 (100)
2017	25 (33)	31 (41)	1 (1)	0 (0)	18 (24)	75 (100)
2018	25 (39)	21 (32)	2 (3)	0 (0)	17 (26)	65 (100)
2019	40 (38)	33 (31)	2 (2)	0 (0)	30 (29)	105 (100)
2020	14 (23)	11 (18)	11 (18)	0 (0)	26 (42)	62 (100)
2021	9 (35)	1 (4)	3 (11)	0 (0)	13 (50)	26 (100)

Κεφάλαιο 5^ο: Εργαστηριακή Επιτήρηση *Shigella* spp.

5.1. Απομόνωση-Ταυτοποίηση

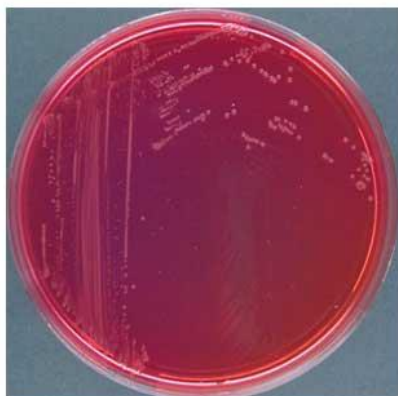
Για να απομονωθεί η *Shigella* , απαραίτητη είναι η αποστολή δειγμάτων κοπράνων σε εργαστήριο, ώστε να γίνουν οι απαραίτητες καλλιέργειες σε εκλεκτικά μέσα, καθώς και βιοχημικές και ορολογικές εξετάσεις. Στις ορολογικές εξετάσεις περιλαμβάνεται η μέθοδος της συγκόλλησης με ειδικούς αντιορούς.

Στην περίπτωση όπου χρειάζεται να ανιχνευθεί η σιγκέλλα σε τρόφιμο ή νερό, θα πρέπει να προστεθεί ένα στάδιο εμπλουτισμού σε ζωμό .

Ανάμεσα στις καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των *Shigella* spp. περιλαμβάνονται τα εξής:

- *MacConkey άγαρ* (MAC-μη ανασταλτικό άγαρ), επώαση στον αέρα στους 35-37°C για 18-24 ώρες. Θα πρέπει να συνδυαστεί με καλλιέργεια σε XLD, DCA ή HE άγαρ, αφού κάποια στελέχη *Shigella* δεν αναπτύσσονται επαρκώς. Εμφανίζει διάφανες ή άχρωμες αποικίες στα τρυβλία.
- *Άγαρ ξυλόζης-λυσίνης-δεσοξυχολικού άλατος* (XLD), επώαση στον αέρα στους 35-37°C για 18-24 ώρες, με κόκκινες αποικίες διαμέτρου 1-2mm, χωρίς μαύρο κέντρο. (βλέπε Εικόνα 5.1.)
- *Κιτρικό δεσοξυχολικό άγαρ* (DCA), επώαση στον αέρα στους 35 έως 37°C για 18 έως 24 ώρες και άχρωμες αποικίες,
- *Εντερικό μέσο Hektoen* (HE), επώαση στον αέρα στους 35 έως 37°C για 18 έως 24 ώρες, Οι αποικίες εμφανίζονται μπλε-πράσινες.
- *Salmonella-Shigella Άγαρ* (SS), επώαση στον αέρα στους 35 έως 37°C για 18 έως 24 ώρες, με αποικίες παρόμοιες με του (HE) και
- *Άγαρ αίματος* (Blood Agar), με επώαση στους 35°C για 16 έως 24 ώρες, με μεγάλες αποικίες χρώματος γκρι (συχνά με κρόσσια). (UK Health Security Agency, 2022)

Εικόνα 5.1.: Αποικίες *Shigella* spp. σε τρυβλίο με XLD, Πανεπιστήμιο της Κοπεγχάγης



***Shigella* on XLD.**

Εκτός της καλλιέργειας, πραγματοποιείται έλεγχος ευαισθησίας σε αντιβιοτικά με την μέθοδο διάχυσης δίσκου Kirby-Bauer σε άγαρ Mueller-Hinton II.(Βαγιάκου Α., 2010)

5.2. Τυποποίηση

5.2.1. Φαινοτυπικές Μέθοδοι

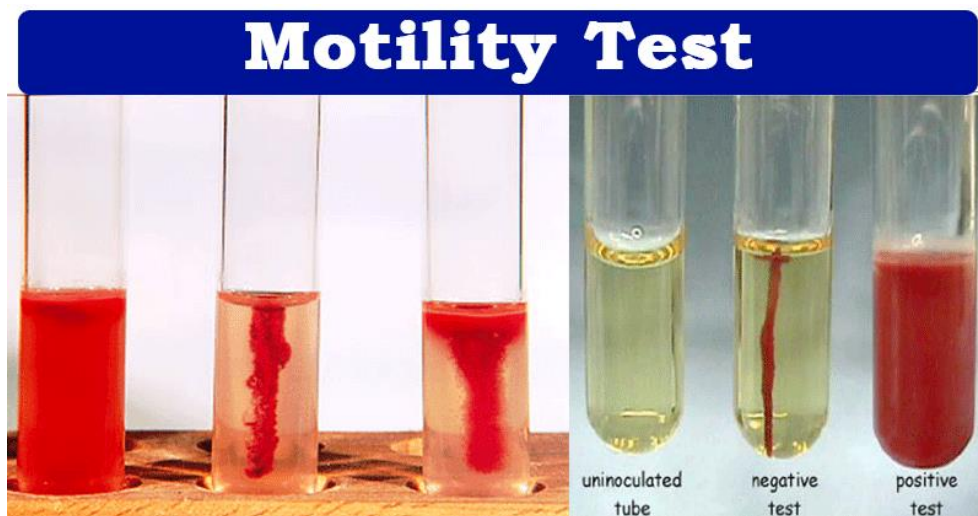
Μετά από τις καλλιέργειες, πραγματοποιούνται ορισμένες τυποποιητικές μέθοδοι για επιδημιολογικούς και διαγνωστικούς λόγους.

Μία από τις μεθόδους αναγνώρισης είναι η ανακαλλιέργεια του δείγματος σε Kligler Iron Agar ή σε Triple sugar iron agar (TSI), με τα *Shigella* spp. να σχηματίζουν μια κόκκινη κεκλιμένη επιφάνεια (ζυμώνουν γλυκόζη δεν ζυμώνουν λακτόζη θρεπτικού υλικού), καθώς και μια κίτρινη βάση, με λίγη ή μηδενική παρουσία αερίου και μηδενική παραγωγή υδρόθειου.

Για την εγκυρότερη ταξινόμηση των στελεχών *Shigella* , δοκιμάζεται η αντίδραση του δείγματος στην D-μαννιτόλη. Τα στελέχη της οροομάδας A (*S.dysenteriae*) δεν ζυμώνουν την D-μαννιτόλη, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες οροομάδες. (UK Health Security Agency, 2022)

Μία ακόμη βιοχημική αντίδραση που χρησιμοποιείται είναι η δοκιμασία κινητικότητας (Mobility Media Test). Εφόσον τα *Shigella* spp. είναι κατά κύριο λόγο ακίνητα, θα είναι αρνητικό το αποτέλεσμα (βλέπε Εικόνα 5.2.1.).

Εικόνα 5.2.1.α: Αποτελέσματα Δοκιμασίας Κινητικότητας, Aryal S., 2022



Εκτός αυτής, παρουσιάζονται στον Πίνακα (5.2.1.) όλες οι βιοχημικές εξετάσεις και τα αποτελέσματα που ταυτοποιούν ότι πρόκειται για ένα δείγμα Σιγκέλλας.

Πίνακας 5.2.1.α: Βιοχημικές εξετάσεις *Shigella* spp., Π.Ο.Υ., 2010

Test or Substrate	<i>Shigella</i> spp. (% positive)
Hydrogen sulfide	- (0)
Glucose (gas)	- (2)
Glucose (acid)	+ (100)
Motility	- (0)
Simmons' citrate	- (0)
Adonitol fermentation	- (0)
Malonate utilization	- (0)
Methyl-red	+ (100)
Voges-Proskauer	- (0)
Arginine dihydrolase	- (5)
Lysine decarboxylase	- (0)
Ornithine decarboxylase	<i>Sh. sonnei</i> + (100) ; other <i>Shigella</i> – (0)
Urea hydrolysis	-
Phenylalanine deaminase	-
Salicin fermentation	-
Lactose fermentation	±*
Sucrose fermentation	-
Xylose fermentation	-
Inositol fermentation	-
Catalase	+ (all species and serotypes except <i>S. dysenteriae</i> 1)

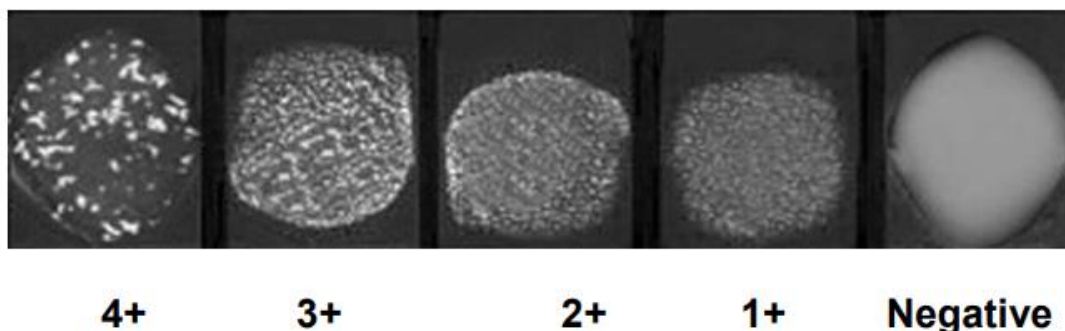
Μία ακόμη δοκιμασία που πραγματοποιείται είναι εκείνη της Ινδόλης. Πρόκειται για εξέταση που ελέγχει την ικανότητα του μ.ο. να παράγει την τρυπτοφανάση (ένζυμο που υδρολύει την

τρυπτοφάνη σε ινδόλη και αλδεύδη). Χρησιμοποιείται πεπτονούχος ζωμός με 1% τρυπτοφάνη και ακολουθεί επώαση 18-24 ώρες με αντιδραστήριο Kovacs. Σε θετικό αποτέλεσμα, σχηματίζεται ένας ροζ δακτύλιος στην επιφάνεια, ενώ άχρωμος στο αρνητικό αποτέλεσμα. (Βρυώνη Γ., Πάγκαλη Α., 2010)

Τέλος, μπορεί να βρεθεί ο ορότυπος της σιγκέλλας. Πρόκειται για μέθοδο υποτυποποίησης, η οποία βασίζεται στην ανοσοαντιδραστικότητα διαφόρων αντιγόνων με την χρήση σωματικών (Ο) αντιγόνων. Ανάλογα με τη δομή του αντιγόνου και το βιοχημικό προφίλ, το στέλεχος μπορεί να καταταχθεί σε μία από τις τέσσερις οροομάδες (A, B, C, D), καθώς και σε περαιτέρω ορότυπους (εξαιρέση αποτελεί το *S.sonnei*). Οι ορότυποι αυτοί συνοψίζονται στον Πίνακα (5.2.1.β). Για τους περαιτέρω ορότυπους στα *Shigella* spp., χρησιμοποιούνται ειδικοί πολυδύναμοι αντιοροί σε αντικειμενοφόρες πλάκες σε ορολογικό επίπεδο. Η σειρά των πολυδύναμων αντιορών καλύπτουν το *S.dysenteriae* (τύποι 1 έως 10), *S.flexneri* (1 έως 6, X και Y), *S.boydii* (1 έως 15) και *S.sonnei* (φάσεις 1 και 2). Για την αποφυγή σύγχυσης του στελέχους *Shigella* με μη κινητικούς ορότυπους *E.coli*, χρησιμοποιείται ένας επιπλέον αντιορός. (ThermoFisher Scientific, 2021) Με βάση την εικόνα που προκύπτει, υπάρχει μία από τις εξής ερμηνείες:

- 4+: Όλοι οι οργανισμοί είναι συσσωματωμένοι και το υπερκείμενο υγρό ή το υγρό εναιώρησης είναι διαυγές,
- 3+ : 75% περίπου συγκόλληση, το υπερκείμενο υγρό είναι ελαφρώς θολό
- 2+ 50% περίπου συγκόλληση, το υπερκείμενο υγρό είναι μέτρια θολό
- 1+ : 25% περίπου συγκόλληση, το υπερκείμενο υγρό είναι θολό
- Tr : Εύρεση ίχνους ποσότητας συγκόλλησης
- Αρνητικό: Καμία εμφανής συγκόλληση, με το εναιώρημα να παραμένει ομοιογενές.(Π.Ο.Υ., 2010)

Εικόνα 5.2.1.β: Αποτελέσματα οροσυγκόλλησης, Π.Ο.Υ., 2010



Τέλος, εφαρμόζεται η μέθοδος λυσιτυπίας με φάγους (phage typing), με σκοπό την ανίχνευση και την διαφοροποίηση των στελεχών. Αυτό προκύπτει από την μόλυνση και την λύση των βακτηριακών στελεχών από τους φάγους.. (Schofield D.A., Sharp N.J. και Westwater C., 2012)

Πίνακας 5.2.1.β: Βιοχημικές Ιδιότητες οροτύπων *Shigella* spp.

Group, serotype	Indol Production	Ornithine Decarboxylase	Mannitol fermentation	Xylose fermentation	ONPG
<i>S. dysenteriae</i> (Group A)					
1	0%	0%	0%	0%	100%
2	100%	0%	0%	0%	2%
3	0%	0%	0%	0%	25%
4	0%	0%	0%	0%	70%
5	0%	0%	0%	0%	0%
6	0%	0%	0%	0%	71%
7	100%	0%	0%	0%	85%
8	100%	0%	0%	76%	0%
9	0%	0%	0%	0%	50%
10	0%	0%	0%	100%	0%
11	0%	0%	0%	0%	63%
12	0%	0%	0%	0%	54%
13	0%	0%	0%	0%	0%
14	0%	0%	0%	0%	0%
15	0%	0%	0%	0%	0%
<i>S. flexneri</i> (Group B)					
1a [I:4]	83%	0%	100%	0%	0%
1b [I:4,6]	33%	0%	100%	0%	0%
2a [II:3,4]	73%	0%	100%	0%	0%
2b [II:7,8]	78%	0%	0%	0%	0%
3a [III:(3,4),6,7,8]	83%	0%	91%	0%	0%
3b [III:(3,4),6]	64%	0%	100%	0%	0%
4a [IV:3,4]	74%	0%	76%	10%	n/a
4b [IV:6]	70%	0%	99%	0%	n/a
5a [V:(3,4)]	31%	0%	96%	4%	0%
5b [V:7,8]	95%	0%	98%	0%	n/a
6 [VI:4], bioserotype Boyd 88	0%	0%	100%	0%	n/a
6 [VI:4], bioserotype Manchester	0%	0%	100%	2%	n/a
6 [VI:4], bioserotype Newcastle	0%	0%	0%	0%	n/a
variant X [-:7,8]	75%	0%	100%	0%	0%
variant Y [-:3,4]	30%	0%	96%	0%	5%

Group, serotype	Indol Production	Ornithine Decarboxylase	Mannitol fermentation	Xylose fermentation	ONPG
S. boydii (Group C)					
1	0%	0%	100%	13%	8%
2	0%	0%	100%	0%	3%
3	0%	0%	100%	18%	22%
4	0%	0%	99%	0%	0%
5	100%	0%	100%	4%	0%
6	0%	0%	71%	0%	0%
7	100%	0%	100%	98%	0%
8	0%	0%	100%	29%	50%
9	100%	0%	93%	0%	75%
10	0%	0%	93%	4%	24%
11	100%	0%	100%	61%	0%
12	0%	0%	100%	0%	0%
13	100%	100%	100%	0%	0%
14	0%	1%	45%	7%	0%
15	100%	0%	91%	0%	33%
16	100%	0%	100%	100%	0%
17	100%	0%	100%	100%	20%
18	0%	0%	100%	18%	18%
19	0%	0%	100%	33%	6%
S. sonnei (Group D)	0%	99%	99%	1%	95%

5.2.2. Μοριακές Μέθοδοι Τυποποίησης

Στις κλασικές μεθόδους γονοτύπησης περιλαμβάνεται η ανάλυση του προφίλ του πλασμιδίου. Παλαιότερα, χρησιμοποιούνταν ευρέως σε επιδημιολογικές μελέτες, αλλά αργότερα αντικαταστάθηκε από πιο σύγχρονες μέθοδοι. Με την ανάλυση αυτή, επιτυγχάνεται η εύρεση ή μη επιδημιολογικής συσχέτισης μεταξύ των στελεχών *Shigella*. Όμως, δεν προσδιορίζεται η πηγή μόλυνσης και έτσι συμπληρωματικά διενεργείται η ανάλυση περιορισμού EcoRI του πλασμιδικού DNA (REAP-typing, Restriction Endonuclease Analysis of Plasmid).

Μία ακόμη μοριακή μέθοδος αποτελεί η αξιολόγηση προφίλ θραυσμάτων DNA μέσω της Ηλεκτροφόρησης Γέλης σε Παλλόμενο Πεδίο (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE). Συνδυάζοντας την PFGE μαζί με τη χρήση ορισμένων περιοριστικών ενζύμων, διερευνώνται τα δομικά χαρακτηριστικά ολόκληρου του γονιδιώματος των στελεχών *Shigella*. Μέχρι και σήμερα, θεωρείται «το χρυσό πρότυπο για την τυποποίηση πολλών βακτηριακών παθογόνων». Για τα στελέχη *Shigella* spp. χρησιμοποιούνται κυρίως τα ένζυμα NotI και XbaI, ώστε να εντοπιστεί η γενετική ετερογένεια μεταξύ στελεχών από διαφορετικές πηγές μόλυνσης.

Αν και η PFGE χρησιμοποιείται ευρέως, παρουσιάζει αρκετούς περιορισμούς σε ό,τι αφορά την υλοποίηση της δοκιμασίας. Τα αποτελέσματα θα εξαρτηθούν από την συγκέντρωση του γενετικού υλικού στο κάθε δείγμα, η συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος και της αгарόζης στο πήκτωμα, καθώς και οι ρυθμίσεις στην ηλεκτροφόρηση (τάση, θερμοκρασία).

Μέθοδοι που βασίζονται στην ενίσχυση του γενετικού υλικού των δειγμάτων *Shigella* αποτελούν ο Ενισχυμένος πολυμορφισμός μήκους θραύσματος (AFLP), η Τυχαία ενίσχυση πολυμορφικού DNA (RAPD), η Επαναλαμβανόμενη εξωγονική παλινδρομική αλληλουχία PCR (REP-PCR), καθώς και η Ανάλυση Διαδοχικής Επανάληψης Μεταβλητού Αριθμού σε Πολλαπλές θέσεις (MLVA).

Στις μεθόδους που βασίζονται στον προσδιορισμό της αλληλουχίας του γενετικού υλικού περιλαμβάνεται η Δακτυλογράφηση ακολουθίας πολλαπλών τόπων (MLST), ο Πολυμορφισμός ενός μοναδικού νουκλεοτιδίου (SNP), καθώς και αλληλουχία ολόκληρου του Γονιδιώματος (Whole Genome Sequencing-WGS). (Svetoch T.E., Dentovskaya S.V. και Svetoch E.A., 2016)

Το 2022, το Ινστιτούτο Παστέρ της Γαλλίας γνωστοποίησε ως μέθοδο τυποποίησης στελεχών *Shigella* spp. την αλληλούχιση του βακτηριακού γονιδιώματος. Πραγματοποιώντας ορισμένες παραλλαγές στο βακτηριακό DNA, επιτυγχάνεται η ακριβής ταξινόμηση και αναλυτική τυποποίηση. Η διαφορά αυτής της προσέγγισης σε σύγκριση με παλαιότερες μεθόδους είναι ότι πλέον οι συγκρίσεις μεταξύ των στελεχών δεν επηρεάζονται από τυχόν μεταφορά γονιδίων.(Institut Pasteur, 2022)

B Ενότητα - Ειδικό Μέρος

Κεφάλαιο 6^ο : Σκοπός-Στόχοι

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως σκοπό την εργαστηριακή μελέτη κλινικών καλλιεργημάτων *Shigella boydii*, τα οποία απομονώθηκαν στην Ελλάδα το διάστημα 2013-2022, με δεδομένα του Εθνικού Κέντρου Αναφοράς Σαλμονελλών, Σιγκελλών και λοιπών Εντεροπαθογόνων (ΕΚΑΣΣ). Τα αποτελέσματα θα προκύψουν από τα επιδημιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, καθώς και τα μοριακά προφίλ των στελεχών *S.boydii*. Σε ό,τι αφορά την ευαισθησία/αντοχή του μικροοργανισμού στα αντιβιοτικά, πραγματοποιήθηκε διάχυση με δίσκους (Kirby Bauer method), καθώς και Δοκιμασία Συνέργειας Διπλού Δίσκου (Double Disk Synergy Test-DDST).

Επιμέρους στόχοι της μελέτης είναι οι ακόλουθοι:

- Καταγραφή της κατανομής των περιστατικών *S.boydii* ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, την γεωγραφική περιοχή, αλλά και κάποια ακόμη χαρακτηριστικά τους.
- Εκτίμηση της μικροβιακής αντοχής του είδους *S.boydii*, καθώς και της πιθανής ύπαρξης πολυανθεκτικών στελεχών στην Ελλάδα.
- Να πραγματοποιηθεί μοριακή τυποποίηση των καλλιεργημάτων
- Να γίνει μελέτη και οροτυποποίηση των καλλιεργημάτων

Κεφάλαιο 7ο: Υλικά και Μέθοδοι

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν 27 δείγματα *Shigella boydii*, τα οποία είχαν σταλεί την περίοδο 2013-2022 στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Σαλμονελλών, Σιγκελλών και λοιπών Εντεροπαθογόνων (ΕΚΑΣΣ) από νοσοκομεία σε όλη την Ελλάδα. Η μέση ηλικία των κρουσμάτων ήταν τα 5,4 έτη σε κλίμακα 0-35 έτη, με το 59% να αφορά άνδρες. Η αποστολή των δειγμάτων γίνεται για επιδημιολογικούς σκοπούς και για την καταγραφή στο σύστημα και όχι για διαγνωστικούς λόγους. Τα δείγματα που εστάλησαν στο ΕΚΑΣΣ ήταν από κόπρανα, αίμα ή ούρα. Τα δείγματα φυλάσσονται σε ελαφριά ψύξη μέχρι την εξέτασή τους.

7.1. Απομόνωση-Ανακαλλιέργειες-Φύλαξη

Η ανάκτηση των δειγμάτων έγινε από την φύλαξή του στην βαθειά κατάψυξη (-80°C) του ΕΚΑΣΣ, ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία της Τυποποίησης με την μέθοδο PFGE. Η λίστα με τα δείγματα φαίνεται στον Πίνακα 7.1.. Από τα φιαλίδια Cryonials ανακαλλιεργήθηκαν σε τρυβλία με XLD θρεπτικό υλικό και επώαση σε κλίβανο στους 37°C για 24 ώρες (overnight). Γίνεται αραίωση με αρκετές γραμμές του καλλιεργήματος, ώστε να υπάρξει καλύτερη απομόνωση των καθαρών αποικιών.

Πίνακας 7.1.: Αρίθμηση Δειγμάτων *S.boydii*

59/2022	135/2020
31/2022	121/2019
9/2022	256/2020
392/2021	133/2020
43/2021	365/2020
35/2021	115/2018
22/2021	520/2016
501/2020	415/2020
485/2020	320/2020
472/2020	313/2020
466/2020	71/2013
417/2020	141/2016
179/2020	255/2015
281/2020	

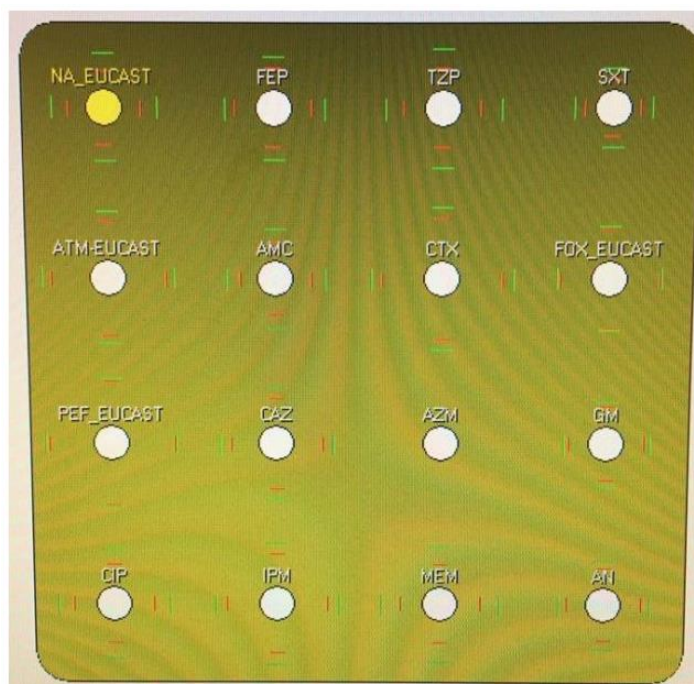
Μετά την απομόνωση των καθάρων αποικιών, πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια από το XLD τρυβλίο σε θρεπτικό υλικό Nutrient Agar (NA) και επώασή τους για 24 ώρες (37°C), με σκοπό την επακόλουθη τυποποίηση των καλλιεργημάτων. Με την ανάπτυξη των αποικιών στα τρυβλία NA, μπορεί να ξεκινήσει η διαδικασία της τυποποίησης, καθώς και η φύλαξη των δειγμάτων σε βαθειά κατάψυξη (σε cryovials του 1ml σε θρεπτικό υλικό Brain Heart Infusion Broth με γλυκερόλη 20%).

7.2. Φαινοτυπική Τυποποίηση-Αντιβιογράμματα

Από τις καλλιέργειες που θα προκύψουν από την επώαση των NA τρυβλίων, προχωρήσαμε σε απομόνωση γενετικού υλικού για να χρησιμοποιηθεί στην φαινοτυπική και μοριακή τυποποίηση.

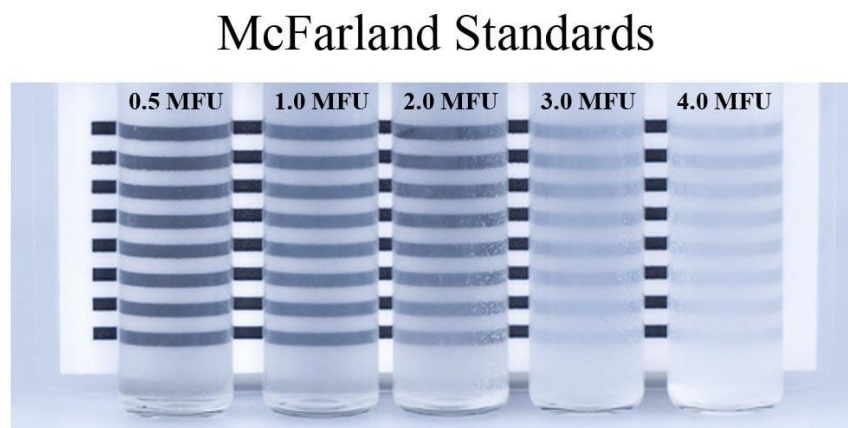
Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αντοχής των 27 καλλιεργημάτων σε 16 αντιβιοτικά (ναλιδιξικό οξύ (Na), κεφεπίμη (Fep), ταζομπακτάμη (TZP), σουλφομεθοξαζόλη (SXT), Αστρεονάμη (ATM), αμοξυκλίνη-κλαβουλανικό (AMC), Κεφοταξίμη (CTX), Κεφοξιτίνη (FOX), πεφλοξασίνη (PEFL), κεφταζιδιμη (CAZ), ιμιπενέμη (IPM), μεροπενέμη (MEM) και αμικασίνη (AN/AK)) με την μέθοδο Διάχυσης Δίσκων Αντιβιοτικών σε τρυβλία Mueller Hinton Agar (Disk Diffusion Method κατά Kirby Bauer). Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε βάσει EUCAST (European Union Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Εικόνα 7.2.α Αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη αντιβιοτικών στα καλλιεργήματα *S.boydii*.



Ειδικότερα, φτιάχνεται εναιώρημα φυσιολογικού ορού με αποικίες του μ.ο. σε δοκιμαστικό σωλήνα. Αναδεύεται με Vortex που ακολουθείται από έλεγχο θολερότητας με την κλίμακα McFarland (δηλ. η θολερότητα να είναι μετά από μέτρηση στο θολοσίμετρο = 0,5McFarland). Εάν η θολερότητα διαπιστωθεί πάνω από 0,5, τότε γίνεται αραιώση με φυσιολογικό ορό, ενώ εάν είναι κάτω από 0,5 τότε συμπληρώνουμε με περισσότερες αποικίες στον σωλήνα. Μόλις επιτευχθεί η σωστή θολερότητα, τότε στρώνεται ομοιόμορφα και από τις τέσσερις πλευρές του τετράγωνου τρυβλίου και τοποθετούνται τα αντιβιοτικά.

Εικόνα 7.2.β.: Κλίμακα McFarland, Bioanalytic GmbH



Ακολουθως, ελέγχθηκε η ύπαρξη συνέργειας στις Β-λακταμάσες εκτεταμένου φάσματος (ESBL) με τη δοκιμασία DDST. Σε τετράγωνα τρυβλία 12mm με Mueller Hinton ως υπόστρωμα, κατασκευάστηκε εναιώρημα με τα δείγματα 59/22 και 115/18, τα οποία ήταν ανθεκτικά σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς, το οποίο απλώθηκε με τον ίδιο τρόπο που περιγράφηκε πιο πάνω. Στη συνέχεια, χωρίστηκε το τρυβλίο σε δύο μέρη, με το πάνω μέρος να αντιπροσωπεύει την παρουσία μικρής συγκέντρωσης αντιβιοτικών, ενώ στο κάτω της μεγάλης συγκέντρωσης. Στην μικρή συγκέντρωση, τοποθετήθηκαν σε απόσταση 15 χιλιοστών τα αντιβιοτικά κεφαζιδίμη (CAZ 10μg), αμοξικιλίνη-κλαβουλανικό οξύ (AMC 30μg) και κεφοταξίμη (CTX 5μg), καθώς και κεφοξιτίμη ξεχωριστά στην μία γωνία του τρυβλίου. Αντίστοιχα, στην μεγάλη συγκέντρωση τοποθετήθηκαν κεφαζιδίμη (CAZ 30μg), αμοξικιλίνη-κλαβουλανικό οξύ (AMC 30μg) και κεφοταξίμη (CTX 5μg), μαζί με κεφεπίμη (FEP30μg).

Μία ακόμη φαινοτυπική τυποποιητική μέθοδος είναι η το τεστ της Ινδόλης (Indole Test). Πρόκειται για μια δοκιμασία βιοχημικού χαρακτήρα, με σκοπό τον προσδιορισμό των βακτηρίων να παράγουν ινδόλη από την τρυπτοφάνη (αμινοξύ).

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες με τρυπτοφάνη, εμβολιάζουμε μία μικροποσότητα του κάθε δείγματος και αναδεύουμε μέχρι να διαλυθεί. Στη συνέχεια, τοποθετούμε τα δείγματα στον επωαστικό κλίβανο στους 37°C για 24-48 ώρες. Μετά την επώαση, προσθέτουμε 3-5 σταγόνες από αντιδραστήριο Kovac's. Εάν είναι θετικό το τεστ, τότε θα έχει σχηματιστεί ένας ερυθρός ή ροζ δακτύλιος στην επιφάνεια του μέσου, άρα επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη ινδόλης. Ειδικά, στο αρνητικό αποτέλεσμα δεν παρατηρείται καμία αλλαγή στο χρώμα ή σχηματίζεται ένας κίτρινος δακτύλιος, ευρήματα που υποδηλώνουν την απουσία της ινδόλης.

Τέλος, τα δείγματα δοκιμάζονται ακόμη στην ικανότητα ζύμωσης της ξυλόζης (Xylose Test), με σκοπό την διαφοροποίηση των *Shigella* spp. από τα υπόλοιπα εντεροβακτηρίδια. Αρχικά, παίρνουμε μία μικροποσότητα βακτηρίων και την ενοφθαμίζουμε σε Purple Broth Base (περιέχει μωβ βρωμοκρεσόλη, ένας δείκτης pH) με ξυλόζη και επωάζουμε για 18-24 ώρες στους 37°C. Εάν το υγρό αλλάξει χρώμα και γίνει κίτρινο, τότε το τεστ είναι θετικό, ενώ αρνητικό εάν παραμείνει το ίδιο ή αλλάξει ελαφρώς χωρίς να κιτρινίσει. Η αλλαγή αυτή συμβαίνει λόγω του ότι πέφτει το pH της βρωμοκρεσόλης, γεγονός που δείχνει ότι παράγεται οξύ λόγω ζύμωσης της ξυλόζης.

7.3. Μοριακή Τυποποίηση

Για την μοριακή τυποποίηση όλων των καλλιεργημάτων, επιλέχθηκε η μέθοδος PFGE βάσει του Πρωτοκόλλου του CDC «Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* (CDC, 2017). Έτσι, επιτυγχάνεται ο έλεγχος του «μοριακού αποτυπώματος» του γενετικού υλικού κάθε δείγματος. Συνολικά για την ολοκλήρωση του πειράματος, χρειάζονται πέντε ημέρες.

Την πρώτη ημέρα, γίνεται καλλιέργεια των δειγμάτων σε τρυβλία XLD και επώαση σε κλίβανο για 24 ώρες στους 37°C. Στα τρυβλία αυτά, προσθέτουμε ως πρότυπο το βακτήριο *Salmonella Braenderup H9812*, ώστε να συγκριθούν τα δείγματα με αυτό. Την δεύτερη ημέρα, ανακαλλιεργούνται τα δείγματα και το πρότυπο σε τρυβλία με NA και επανατοποθετούνται στον επωαστικό κλίβανο για 24 ώρες στους 37°C.

Την τρίτη μέρα, προετοιμάζουμε το TE Buffer (χρήση για την παρασκευή των plugs και για την λύση) και το Seakem Gold agarose (SKG)(χρήση για την κατασκευή των plugs). Για το buffer, προσθέτουμε 10ml Tris (1M) και 2ml EDTA (0,5M) σε 1000ml Ultrapure Clinical Laboratory

Reagent Water (CLRW). Για την αγαρόζη, προσθέτουμε 0,1gr σε 10ml TE Buffer, βράζουμε το διάλυμα και το τοποθετούμε σε υδατόλουτρο στους 56°C για να μην πήξει.

Στη συνέχεια, παρασκευάζουμε εναιωρήματα των δειγμάτων χρησιμοποιώντας το Cell Suspension Buffer (CSB). Για το CSB, αναμειγνύουμε 10ml TRIS (1M) και 20ml EDTA (0,5M) σε 100ml CLRW. Σε cuvettes με CSB, τοποθετούνται αρκετές αποικίες, ανακατεύονται με Vortex και φωτομετρώνται στα 610nm. Σκοπός είναι η οπτική πυκνότητα του κάθε δείγματος να κυμαίνεται από 0,8 έως 1. Σε περίπτωση που είναι λιγότερο από 0,8 προσθέτουμε κι άλλες αποικίες, αναμειγνύουμε με Vortex και φωτομετρούμε, ενώ εάν είναι πάνω από 1, αραιώνουμε με CSB και επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία μέχρι να είναι στο επιθυμητό διάστημα.

Παίρνουμε τρία plug molds και τα αριθμούμε (χρειάζονται δύο plugs ανά δείγμα), και σφραγίζουμε το κάτω μέρος με σελοτέιπ. Σε αριθμημένα Eppendorf, βάζουμε 200μl από τα εναιωρήματα και ύστερα προσθέτουμε 20μl Πρωτεϊνάση K και 200μl SKG. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί να μην παραμορφωθεί το γενετικό υλικό και να διαμοιραστεί η αγαρόζη στα δείγματα προτού πήξει. Μετά τον διαμοιρασμό, αφήνουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 10-15 λεπτά (ή για συντομότερο χρονικό διάστημα στο ψυγείο στους 4°C) έως ότου πήξουν τα plugs.

Στο επόμενο στάδιο, παρασκευάζονται 200ml Cell Lysis Buffer (CLB). Αναμειγνύονται 10ml Tris, 20ml EDTA και 20ml Sarcosyl, και προσθέτουμε CLRW μέχρι τα 200ml. Σε Falcon tubes των 50ml, βάζουμε τα plugs και σε αυτά προσθέτουμε 5ml από το mastermix που έχουμε προετοιμάσει από πριν (5ml/δείγμα= 75ml CLB μαζί με 25μl/δείγμα=375μl). Στο τέλος της ημέρας, τοποθετούμε τα δείγματα στο υδατόλουτρο μέχρι το επόμενο πρωί.

Την τέταρτη μέρα που έχει γίνει η λύση, αφαιρούμε το CLB και πραγματοποιούμε συνολικά έξι πλύσεις. Οι πρώτες δύο πλύσεις γίνονται με υπερκαθαρό νερό (5ml/δείγμα) και οι υπόλοιπες 4 πλύσεις γίνονται με TE Buffer (5ml/δείγμα). Ανάμεσα στα πλυσίματα, τοποθετούνται τα δείγματα σε κλίβανο για 20 λεπτά. Στο τελευταίο πλύσιμο, ολοκληρώνω με προσθήκη TE Buffer και αποθήκευση σε ελαφριά ψύξη (4°C στο ψυγείο).

Την πέμπτη ημέρα, κόβουμε ένα μικρό κομμάτι (2-2,5mm) από ένα plug ενός δείγματος σε τρυβλίο petri και το τοποθετούμε σε αριθμημένο Eppendorf που θα χρειαστεί για την πέψη. Αντίστοιχα κομμάτια κόβουμε και από τα plugs με την S.Braenderup H9812 (Μάρτυρας Πρότυπο) (θα χρειαστούν τρία πρότυπα για την ανάλυση αυτή-δύο για τις άκρες και ένα για τη μέση). Σε αυτά προσθέτουμε από 200μL του Pre-restriction διαλύματος σε κάθε δείγμα και τα αφήνουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά. Τα υπόλοιπα κομμάτια αποθηκεύονται σε Eppendorf με TE Buffer και σε ελαφριά ψύξη για επόμενη PFGE. Χρειάζονται δύο πέψεις

συνολικά (Pre-Restriction Incubation και Restriction Enzyme mastermix), αφού παρασκευαστούν για την καθεμία από ένα mastermix. Η παρασκευή των διαλυμάτων φαίνεται στους Πίνακες 7.3.α. και 7.3.β.

Πίνακας 7.3.α : Διάλυμα για **Pre-Restriction**

Αντιδραστήριο	μL/δείγμα	μL/15 δείγματα
Pre-Rest.Buffer (10x)	20 μL	300 μL
dH₂O	180 μL	2700 μL
Σύνολο	200 μL	3000 μL

Πίνακας 7.3.β.: Διάλυμα για Restriction Enzyme πέψη για τις περιοριστικές Ενδονουκλεάσες **Xba1/Not1**

Αντιδραστήριο	μL/δείγμα	μL/15 δείγματα
Restriction Buffer 10x (CutSmart Buffer)	20 μL	300 μL
Περιοριστική ενδονουκλεάση	2,5 μL	37,5 μL
dH₂O	177,5 μL	2662,5 μL
Σύνολο	200 μL	3000 μL

Μετά την πρώτη πέψη, αφαιρούμε προσεκτικά το Pre-Restriction διάλυμα και προετοιμάζουμε το διάλυμα για την Restriction Enzyme πέψη. Από το διάλυμα που θα προκύψει, βάζουμε σε κάθε Eppendorf 200μL. Όταν έχω ολοκληρώσει, μεταφέρουμε όλα τα Eppendorf σε ένα φενιζόλ στατώ, ώστε να τοποθετηθούν στο υδατόλουτρο στους 37°C για δύο ώρες.

Για την προετοιμασία της γέλης από αγαρόζη, στην οποία θα φορτωθούν τα δείγματά μας, βράζουμε 1γρ. Pulsed Field Certified Agarose σε 100ml Tris-Borate EDTA Buffer (TBE) (10x). Η παρασκευή του TBE φαίνεται στον Πίνακα 7.3.γ. Όταν φτάσει σε βρασμό η αγαρόζη, την αφαιρούμε και την επανατοποθετούμε στον μαγνητικό αναδευτήρα τρεις φορές και μετά το αφήνουμε να κρυώσει καλά πριν το ρίξουμε στην φόρμα γέλης.

Πίνακας 7.3.γ.: Tris-Borate EDTA Buffer (TBE) (10x) διάλυμα

10x TBE	117,5ml
CLRW	2232,5ml
Σύνολο	2350ml

Μετά την πέψη, αφαιρούμε το Restriction Enzyme διάλυμα και βάζουμε στα δείγματα 200μL TBE για πέντε λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, αφαιρούμε το TBE και φορτώνουμε τα plugs στα πηγαδάκια του gel και τοποθετούμε τελικά την αγαρόζη μέσα στο μηχάνημα της PFGE. Οι συνθήκες λειτουργίας του μηχανισμού είναι ως εξής:

- Αρχικός χρόνος: 2,2 s (αλλιώς για Not1: 5 s)
- Τελικός χρόνος: 54,2 s (αλλιώς για Not1: 35 s)
- Volt: 6 V
- Χρόνος τρεξίματος μεθόδου: 17-20 ώρες.

7.4. Οροτυποποίηση

Για να βρεθεί ο ορότυπος του κάθε δείγματος, πραγματοποιήθηκε η μέθοδος της ταχείας οροσυγκόλλησης σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Βασίζεται σε αντίδραση αντιγόνου/αντισώματος, όπου το αντιγόνο αναμιγνύεται με αντιορούς γνωστών ιδιοτήτων. Ανάλογα με την εικόνα που δίνεται από την αντίδραση, καθορίζεται η υποομάδα και ο ορότυπος.

Αφού έχει γίνει καλλιέργεια σε XLD και ανακαλλιέργεια σε NA, τότε παίρνουμε μια αντικειμενοφόρο πλάκα και πάνω σε αυτή σχεδιάζουμε έναν κύκλο με διάμετρο περίπου 2cm. Μέσα στον κύκλο, αναμειγνύουμε 20μL εναιωρήματος αντιγόνου με 20μL αντιορού με έναν κρίκο ενοφθλαμισμού. Για 5-60 δευτερόλεπτα, γέρνουμε την πλάκα με ήπιες κινήσεις πάνω-κάτω και παρατηρούμε το αποτέλεσμα με γυμνό μάτι σε σκουρόχρωμο πεδίο, ειδικά με τη χρήση μεγεθυντικού φακού.

Στα *Shigella* spp., η οροτυποποίηση γίνεται πρώτα με τη χρήση πολυδύναμων αντιορών για να βρεθεί η οροομάδα (δηλ. *S. dysenterae*, *S. boydii*, *S. flexneri* ή *S. sonnei*). Σε περίπτωση εύρεσης της οροομάδας, γίνεται η ίδια διαδικασία για να βρεθεί ο ορότυπος, χρησιμοποιώντας

πολυδύναμους αντιορούς που περιέχουν πολλούς ορότυπους. Οι πολυδύναμοι αντιοροί για την *S.boydii* κυκλοφορούν στην αγορά ως εξής:

- Ομάδα C: τύποι 1-7,
- Ομάδα C1: τύποι 8-11,
- Ομάδα C2: τύποι 12-15 και
- Ομάδα C3: τύποι 16-18.

Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, συμβουλευόμαστε τον Πίνακα 7.3.δ. με τις βιοχημικές ιδιότητες των οροτύπων *Shigella* spp. και αντιστοιχούμε με ορότυπο/-ους.

Πίνακας 7.3.δ.: Βιοχημικές Ιδιότητες Οροτύπων *S.boydii*, ΠΟΥ, 2010

Group, serotype <i>S. boydii</i> (Group C)	Indol Production	Ornithine Decarboxylase	Mannitol fermentation	Xylose fermentation	ONPG
1	0%	0%	100%	13%	8%
2	0%	0%	100%	0%	3%
3	0%	0%	100%	18%	22%
4	0%	0%	99%	0%	0%
5	100%	0%	100%	4%	0%
6	0%	0%	71%	0%	0%
7	100%	0%	100%	98%	0%
8	0%	0%	100%	29%	50%
9	100%	0%	93%	0%	75%
10	0%	0%	93%	4%	24%
11	100%	0%	100%	61%	0%
12	0%	0%	100%	0%	0%
13	100%	100%	100%	0%	0%
14	0%	1%	45%	7%	0%
15	100%	0%	91%	0%	33%
16	100%	0%	100%	100%	0%
17	100%	0%	100%	100%	20%
18	0%	0%	100%	18%	18%
19	0%	0%	100%	33%	6%

Κεφάλαιο 8^ο : Αποτελέσματα

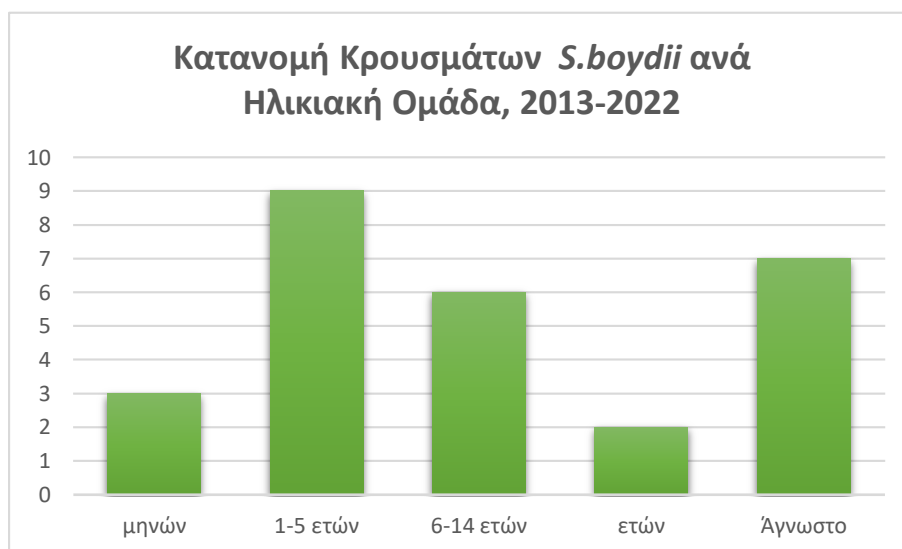
Συνολικά μελετήθηκαν 27 κλινικά καλλιεργήματα *S.boydii*, τα οποία είχαν σταλεί στο ΕΚΑΣΣ την χρονική περίοδο 2013-2022. Το 59% (16) αφορούσε άνδρες, το 37% (10) γυναίκες, ενώ το 3,7% (1) ήταν άγνωστο (Γράφημα 8.α)

Γράφημα 8.α: Κατανομή καλλιεργημάτων *S.boydii* ανά φύλο για την χρονική περίοδο 2013-2022



Η ηλικιακή ομάδα που επικράτησε ήταν εκείνη των 0-5 ετών (βλέπε Γράφημα 8.β.), ενώ λιγότερα περιστατικά ήταν εκείνα ηλικίας άνω των 15 ετών.

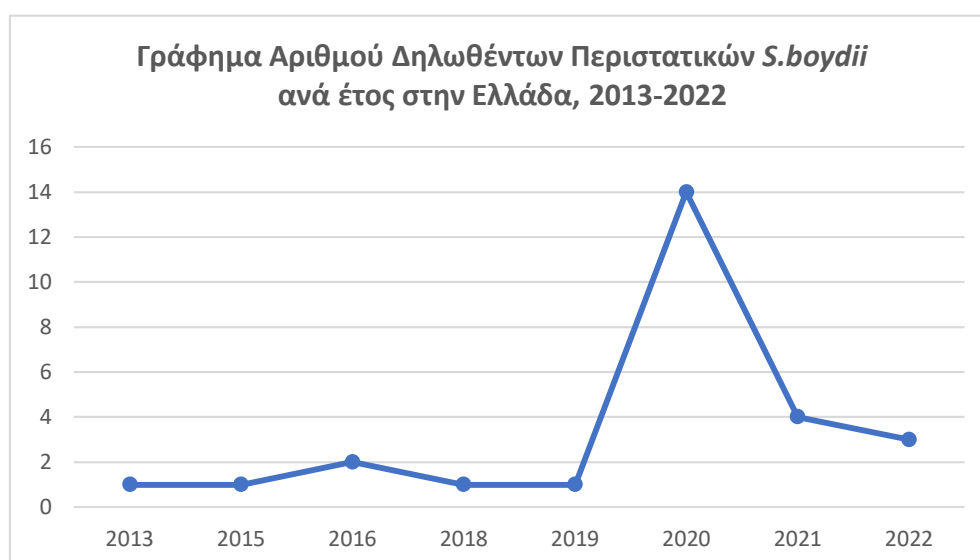
Γράφημα 8.β: Κατανομή καλλιεργημάτων *S.boydii* ανά Ηλικιακή Ομάδα, 2013-2022



Ακόμη, βάσει των ετών δήλωσης των κρουσμάτων (Γράφημα 8.γ), φαίνεται ότι μέχρι το 2018 καταγράφονταν ελάχιστα κρούσματα σιγκέλλωσης από *S.boydii*. Η εικόνα όμως αλλάζει το

2020, που παρατηρείται μία κατακόρυφη αύξηση των κρουσμάτων (πιθανόν λόγω της συσσώρευσης μη δηλωθέντων περιστατικών από την πανδημία της Covid-19). Τέλος, τα δύο τελευταία έτη (2021-2022) μειώνεται ο αριθμός, αλλά μένοντας σε μεγαλύτερο αριθμό από πριν το 2020.

Γράφημα 8.γ: Καταγραφή αριθμού καταγεγραμμένων περιστατικών *S.boydii* στην Ελλάδα ανά έτος



Τα καλλιεργήματα που μελετήθηκαν προήλθαν από οκτώ διαφορετικούς νομούς της Ελλάδας. (Πίνακας 8α). Βάσει επιπλέον δημογραφικών στοιχείων, το 59% αφορούσε άτομα ελληνικής καταγωγής, το 48% διαβίωνε σε ομαδικό επίπεδο και το 51% αυτών ήταν Ρομά. Το μεγαλύτερο ποσοστό δεν είχε συσχέτιση με προηγούμενο ταξίδι (55%). Μόλις ένα άτομο ήταν μετανάστης ή πρόσφυγας (3%) και δύο κρούσματα ήταν εισαγόμενα (7%) (Βλέπε Πίνακα 8β).

Πίνακας 8α: Προέλευση κρουσμάτων *S.boydii* στην Ελλάδα, 2013-2022

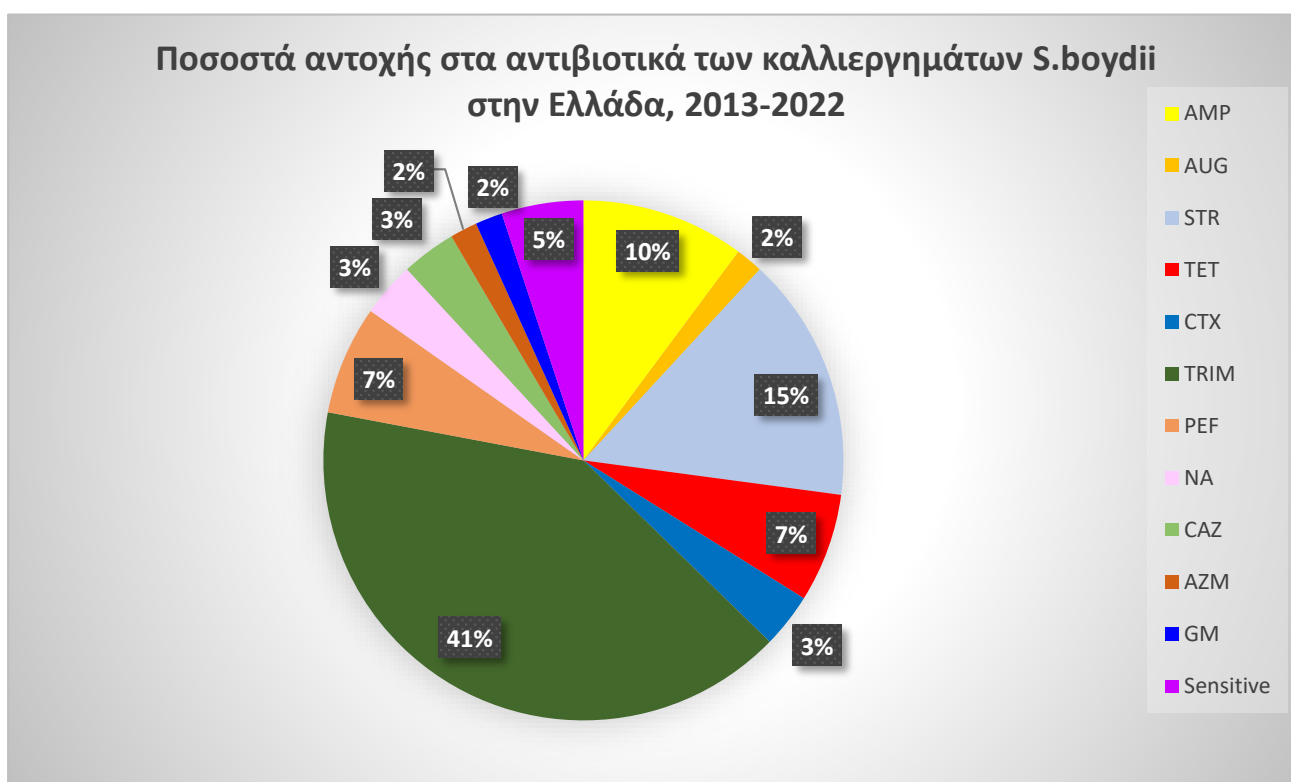
Νομός	Αριθμός Κρουσμάτων
Αττική	12
Αιτωλοακαρνανία	4
Αχαΐα	1
Φθιώτιδα	2
Μαγνησία	4
Ξάνθη	2
Δράμα	1
Ρόδος	1

Πίνακας 8β: Άλλα Δημογραφικά Δεδομένα *S.boydii* στην Ελλάδα, 2013-2022 (σε 17 από τα 27 που υπήρχαν δεδομένα)

Εθνικότητα	Αφγανιστάν 3,7% (1) Ελλάδα 59,2% (16)	
Ομαδική Διαβίωση	Άγνωστο 3,7% (1) Ναι 48,1% (13) Όχι 11,1% (3)	
Ειδική Ομάδα	Ναι 55,5%(15) Όχι 7,4% (2)	Ρομά 51,8% (14) Μουσουλμάνος Ξάνθης 3,7% (1)
Ταξίδι	Ναι 7,4% (2) Όχι 55,5% (15)	
Μετανάστης/Πρόσφυγας	Ναι 3,7% (1) Όχι 59,2% (16)	
Εισαγόμενο κρούσμα	Ναι 7,4% (2) Όχι 55,5% (15)	

Από τα δεδομένα για την αντοχή στα αντιβιοτικά, διαπιστώθηκε ότι ένα μεγάλο ποσοστό των κρουσμάτων (41%) βρέθηκε με αντοχή στην Τριμεθοπρίμη (TRIM), ακολουθούμενα από 16% αντοχή στην Στρεπτομυκίνη (STR) (Αμινογλυκοσίδη) και 10% στην Αμπικιλίνη (AMP) (Πενικιλίνη). Το 7% των περιστατικών εμφάνισε ανθεκτικότητα σε τετρακυκλίνες (TET) και σε πεφλοξασίνη (κινολόνες β' γενιάς). Στα υπόλοιπα αντιβιοτικά που δοκιμάστηκαν βρέθηκαν πολύ χαμηλά ποσοστά, δηλαδή 2% σε αμοξικιλίνη-κλαβουλαικό οξύ (AUG), 3% σε κεφοταξίμη (CTX), 3% σε ναλιδιξικό οξύ (NA), 3% σε κεφταζιδίμη (CAZ), 2% σε αζιθρομυκίνη (AZM) και 2% σε γενταμυκίνη(GM). Τέλος, υπήρξε ένα 5% από τα δείγματα που ήταν πλήρως ευαίσθητα (S). Τα ποσοστά απεικονίζονται σχηματικά στο Γράφημα 8.δ.

Γράφημα 8.δ: Ποσοστά Αντοχής σε Αντιβιοτικά των καλλιεργημάτων *S.boydii* στην Ελλάδα, 2013-2022.



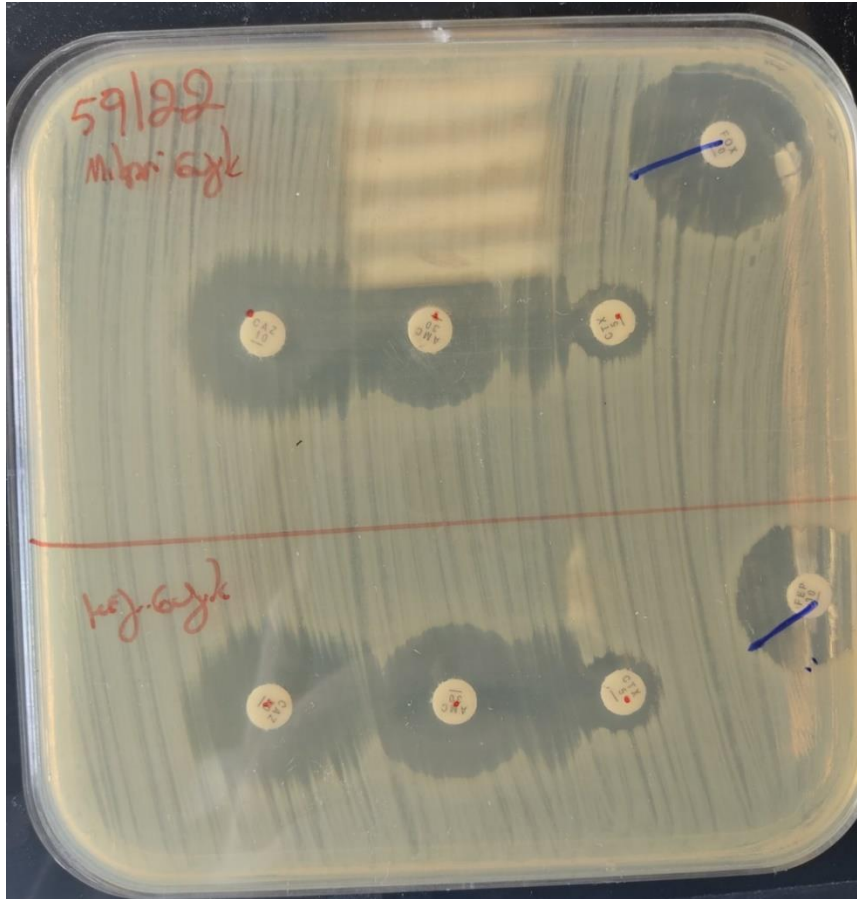
Σε δύο δείγματα με αντοχή σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς που πραγματοποιήθηκε Δοκιμασία διπλής Διάχυσης με δίσκους (DDST), επιβεβαιώθηκε ότι εμφανίζουν φαινότυπο αντοχής ESBL (παραγωγοί ευρέως φάσματος β-λακταμασών), με αντοχή σε πάνω από 3 διαφορετικές ομάδες αντιβιοτικών.

Για το δείγμα με κωδικό 59/2022 (Εικόνα 8.α), παρατηρείται ότι στην μικρή συγκέντρωση (στα 30mm), η κεφοξιτίνη (FOX30) (B γενιάς κεφαλοσπορίνη) παρουσιάζει ζώνη αναστολής $\leq 19\text{mm}$ ($\approx 16\text{mm}$), γεγονός που δεν υποδηλώνει ευαισθησία σε στέλεχος *Shigella* spp. Ακόμη, επιβεβαιώνεται συνέργεια του αναστολέα β-λακταμασών, του κλαβουλανικού οξέος (AMC30) με τις κεφαλοσπορίνες Γ' γενιάς, αφού εντοπίζεται διεύρυνση της ζώνης αναστολής γύρω από την κεφαζιδίμη (CAZ10) με κατεύθυνση προς την AMC30, ενώ υπάρχει σχηματισμός «κλειδαρότρυπας» προς την AMC30 από το CTX5.

Στην μεγάλη συγκέντρωση (στα 20mm), η κεφεπίμη (FEP30) (Δ' γενιάς κεφαλοσπορίνη) που τοποθετείται για την μείωση των ψευδών αρνητικών αποτελεσμάτων (90% ευαισθησία) παρουσίασε ζώνη αναστολής $\leq 19\text{mm}$ ($\approx 12\text{mm}$) κατά EUCAST. Υπάρχει και πάλι συνέργεια της AMC30 με τις κεφαλοσπορίνες Γ' γενιάς (CAZ30 και CTX5), με την παρουσία διεύρυνσης της

ζώνης αναστολής γύρω από την CAZ30 και προς την AMC30 και τον σχηματισμό «κλειδαρότρυπας» προς την AMC30 από την CTX5.

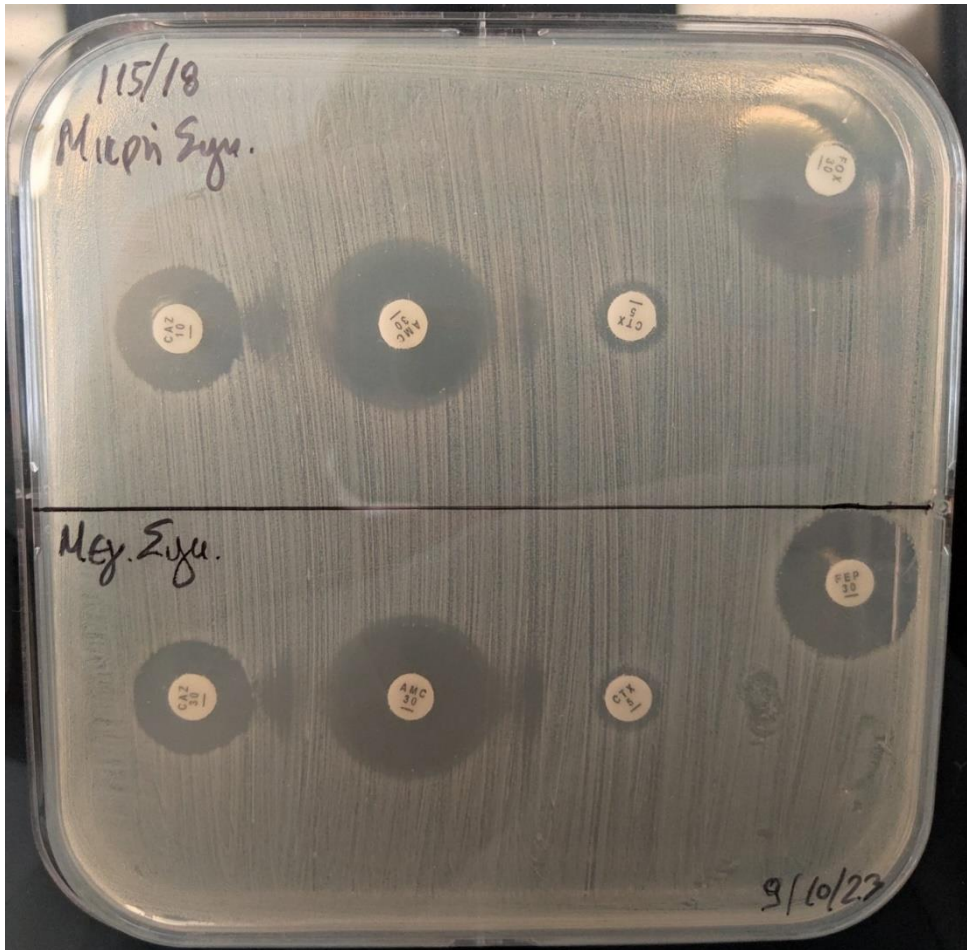
Εικόνα 8.α Τρυβλίο του δείγματος 59/2022 έπειτα από δοκιμασία διάχυσης διπλού δίσκου (DDST)



Για το δείγμα με κωδικό 115/2018 (**Εικόνα 8.β**),στη μικρή συγκέντρωση (30mm), σημειώνεται ότι η κεφοξιτίνη (FOX30) παρουσιάζει ζώνη αναστολής $\leq 19\text{mm}$ ($\approx 18\text{mm}$). Επίσης, διακρίνεται συνέργεια της αμοξικιλίνης με κλαβουλανικό οξύ με τις κεφαλοσπορίνες 3ης γενιάς (CAZ10 και CTX5), αφού έχουν σχηματιστεί οι χαρακτηριστικές «κλειδαρότρυπες» από τις κεφαλοσπορίνες με κατεύθυνση την αμοξικιλίνη.

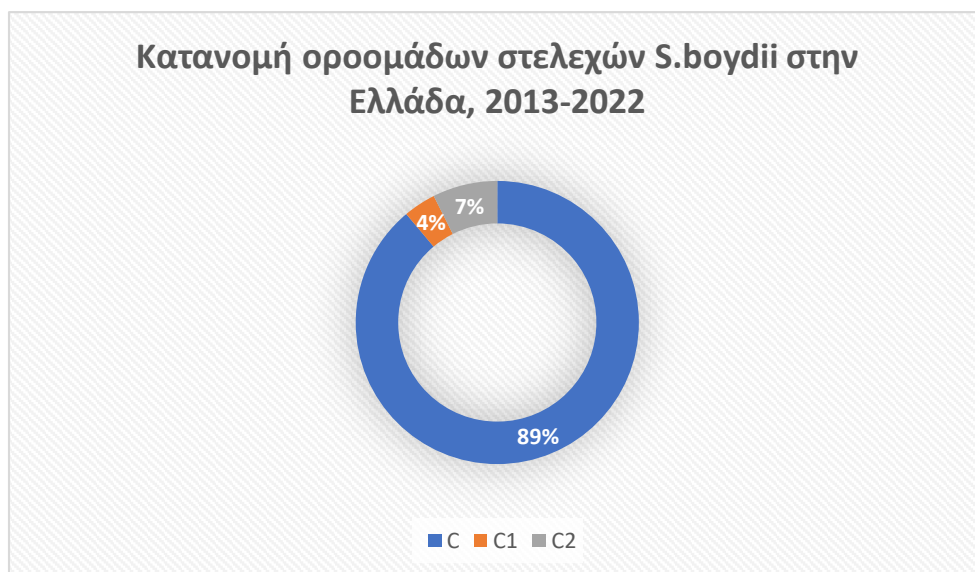
Στην μεγάλη συγκέντρωση (20mm), η κεφεπίμη (FEP30) έχει σχηματίσει ζώνη διαστολής $\leq 19\text{mm}$ ($\approx 13\text{mm}$). Χρησιμοποιείται το αντιβιοτικό αυτό στην δοκιμασία αυτή ώστε να ενισχυθεί το ποσοστό ευαισθησίας (90%). Τέλος, σημειώνεται συνέργεια μεταξύ των κεφαλοσπορινών 3ης γενιάς (CAZ30 και CTX5) με την με το κλαβουλανικό οξύ (AMC30).

Εικόνα (8.β): Τρυβλίο του δείγματος 115/2018 έπειτα από δοκιμασία διάχυσης διπλού δίσκου (DDST)



Από την Οροτυποποίηση με αντιορούς, τα 24 καλλιεργήματα ανήκουν στην Οροομάδα C (89%), δύο στην C2 (7%) και ένα στην C1 (4%) (βλέπε **Γράφημα (8.ε)**). Από τα ευρήματα αυτά, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι τα στελέχη που μεταδίδονται στην Ελλάδα έχουν ένα σταθερό οροτυπικό προφίλ σε γενικές γραμμές, με μερικά μόνο να διαφέρουν σημαντικά.

Γράφημα 8.ε: Αποτελέσματα Οροτυποποίησης στελεχών *S.boydii*



Πραγματοποιώντας την δοκιμασία της Ινδόλης (Indole Test) στα 27 δείγματα, δύο ήταν τα δείγματα που είχαν θετικό αποτέλεσμα από την οροομάδα C (31/22 και 71/13).

Εικόνα 8.γ: Θετικό αποτέλεσμα Δοκιμασίας Ινδόλης (Indole Test)



Από την εκτέλεση της δοκιμασίας της Ξυλόζης (Xylose Test), τέσσερα δείγματα από οροομάδες C και C2 είχαν θετικό αποτέλεσμα (141/16, 121/19, 31/22 και 71/13).

Εικόνα (8.δ): Θετικό αποτέλεσμα Δοκιμασίας Ξυλόζης (Xylose Test) σε στέλεχος *S.boydii*



Συμβουλευμένοι τον Πίνακα των Βιοχημικών Ιδιοτήτων της *S.boydii*, συμπεραίνουμε ότι τα δείγματα 31/22 και 71/13 πρόκειται για δείγματα ορότυπου 5 ή 7 (χρήζει περαιτέρω οροτυποποίησης με μονοδύναμο αντιορό), ενώ τα δείγματα 141/16 και 121/19 ανήκουν στον ορότυπο 14.

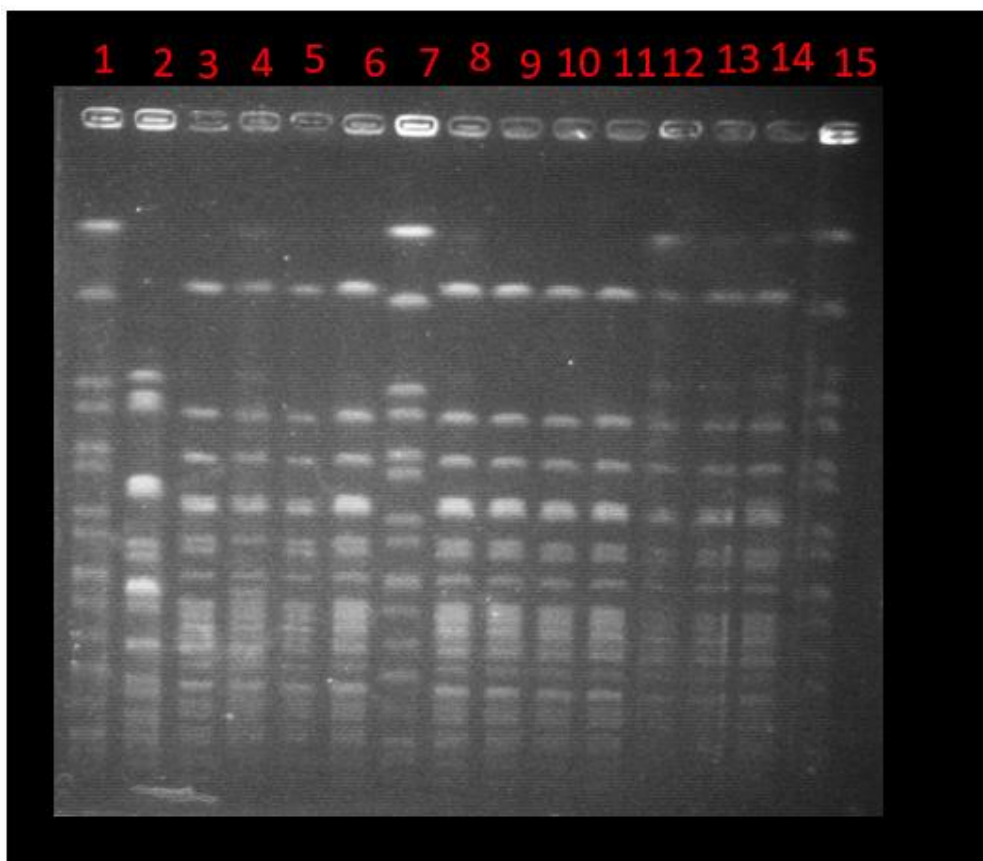
Ακολούθησε η εκτέλεση των πολλαπλών PFGE. Στις θέσεις 1,7 και 15 φορτώθηκε ως Ladder η *S.Braenderup* λόγω των γνωστών μοριακών ζωνών. Στις υπόλοιπες θέσεις, φορτώθηκαν τα δείγματα από αριστερά προς τα δεξιά ως εξής:

1^η PFGE (χρήση Xba1)

1. *S.Braenderup*
2. 59/22
3. 31/22
4. 9/22
5. 392/21

6. 43/21
7. S.Braenderup
8. 35/21
9. 22/21
10. 501/20
11. 485/20
12. 472/20
13. 466/20
14. 417/20
15. S.Braenderup

Εικόνα 8.ε: Αποτέλεσμα 1^{ης} PFGE (με Xba1)

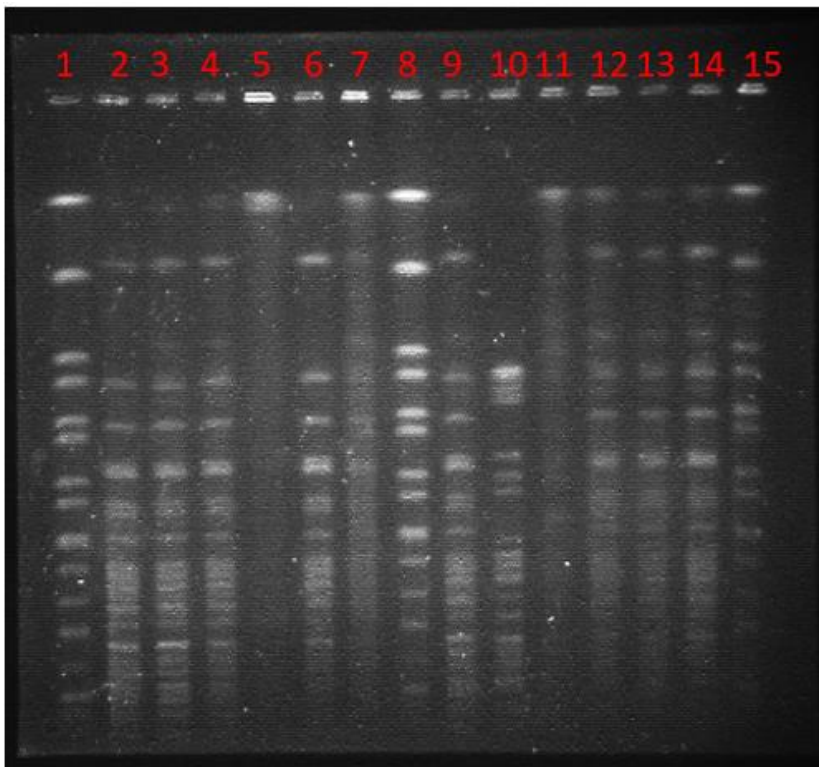


2^η PFGE (χρήση Xba1)

1. S.Braenderup
2. 179/20
3. 281/20
4. 135/20
5. 121/19

6. 256/20
7. 133/20
8. S.Braenderup
9. 365/20
10. 115/18
11. 520/20
12. 415/20
13. 320/20
14. 313/20
15. S.Braenderup

Εικόνα 8.στ: Αποτέλεσμα 2^{ης} PFGE (με χρήση Xba1)

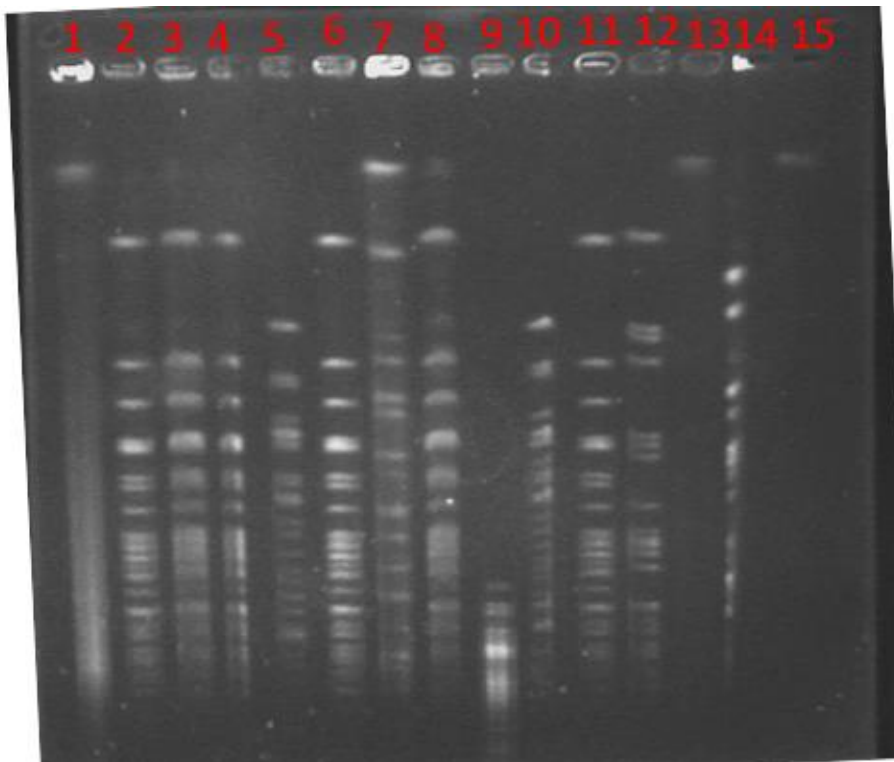


3^η PFGE (με χρήση Xba1)

1. S.Braenderup
2. 466/20
3. 415/20
4. 320/20
5. 121/19
6. 313/20

7. S.Braenderup
8. 417/20
9. 71/13
10. 141/16
11. 133/20
12. 520/16
13. 255/15
14. 45/14
15. S.Braenderup

Εικόνα 8.ζ: Αποτέλεσμα 3^{ης} PFGE (με χρήση Xba1)

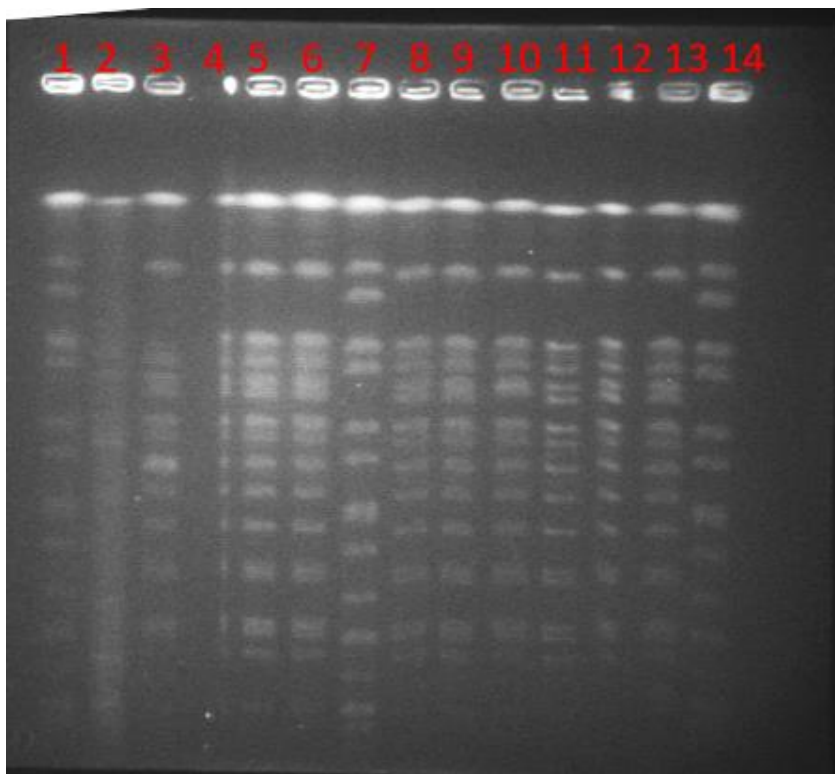


1^η PFGE (με χρήση Not1)

1. S.Braenderup
2. 59/22
3. 9/22
4. 392/21
5. 43/21

6. 35/21
7. S.Braenderup
8. 22/21
9. 501/20
10. 485/20
11. 417/20
12. 466/20
13. 472/20
14. S.Braenderup

Εικόνα 8.η Αποτέλεσμα 1^{ης} PFGE (με χρήση Not1)

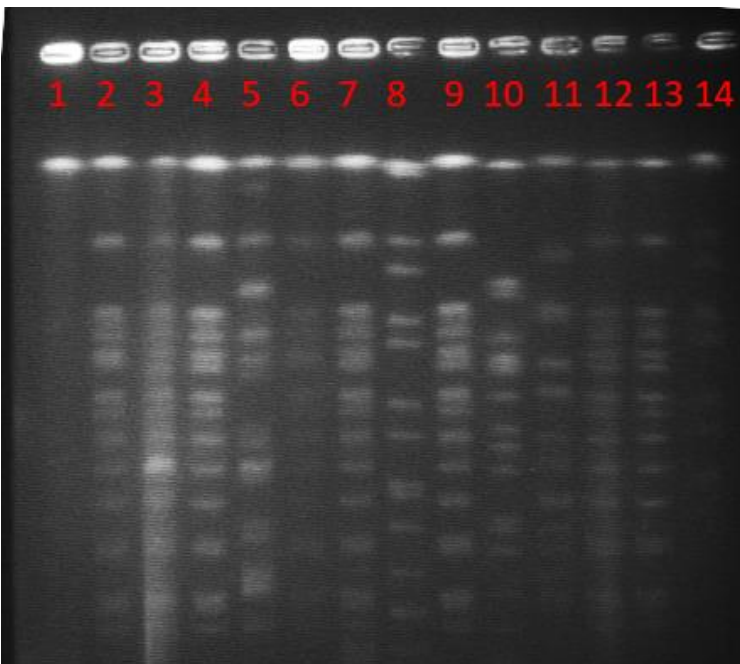


2^η PFGE (με χρήση Not1)

1. S.Braenderup
2. 179/20
3. 281/20
4. 135/20
5. 121/19
6. 256/20
7. 133/20

8. S.Braenderup
9. 365/20
10. 115/18
11. 520/16
12. 415/20
13. 320/20
14. 313/20

Εικόνα 8.θ Αποτέλεσμα 2^{ης} PFGE (με χρήση Not1)

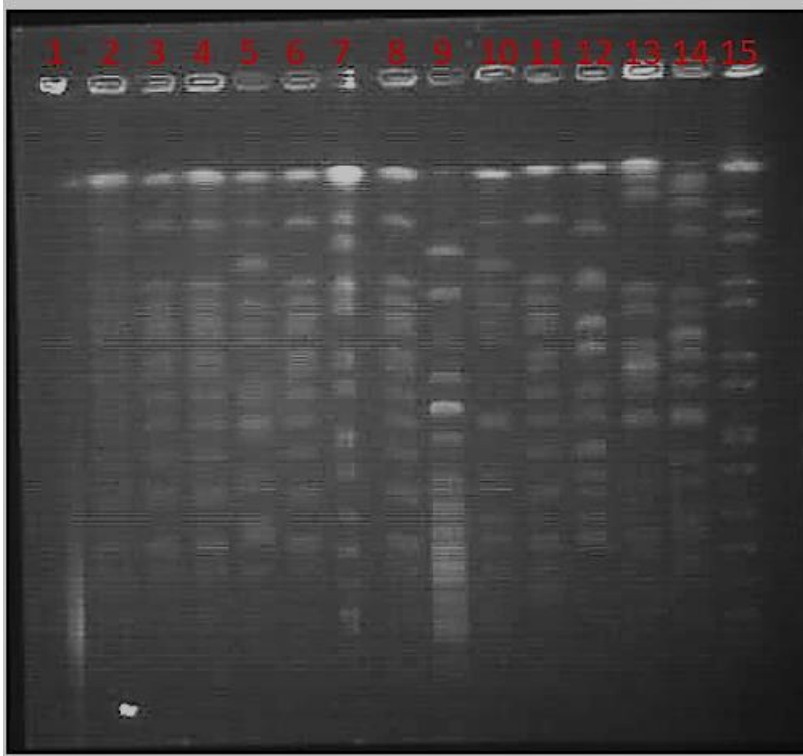


3^η PFGE (με χρήση Not1)

1. S.Braenderup
2. 466/20
3. 415/20
4. 320/20
5. 121/19
6. 313/20
7. S.Braenderup
8. 417/20
9. 71/13
10. 141/16
11. 133/20

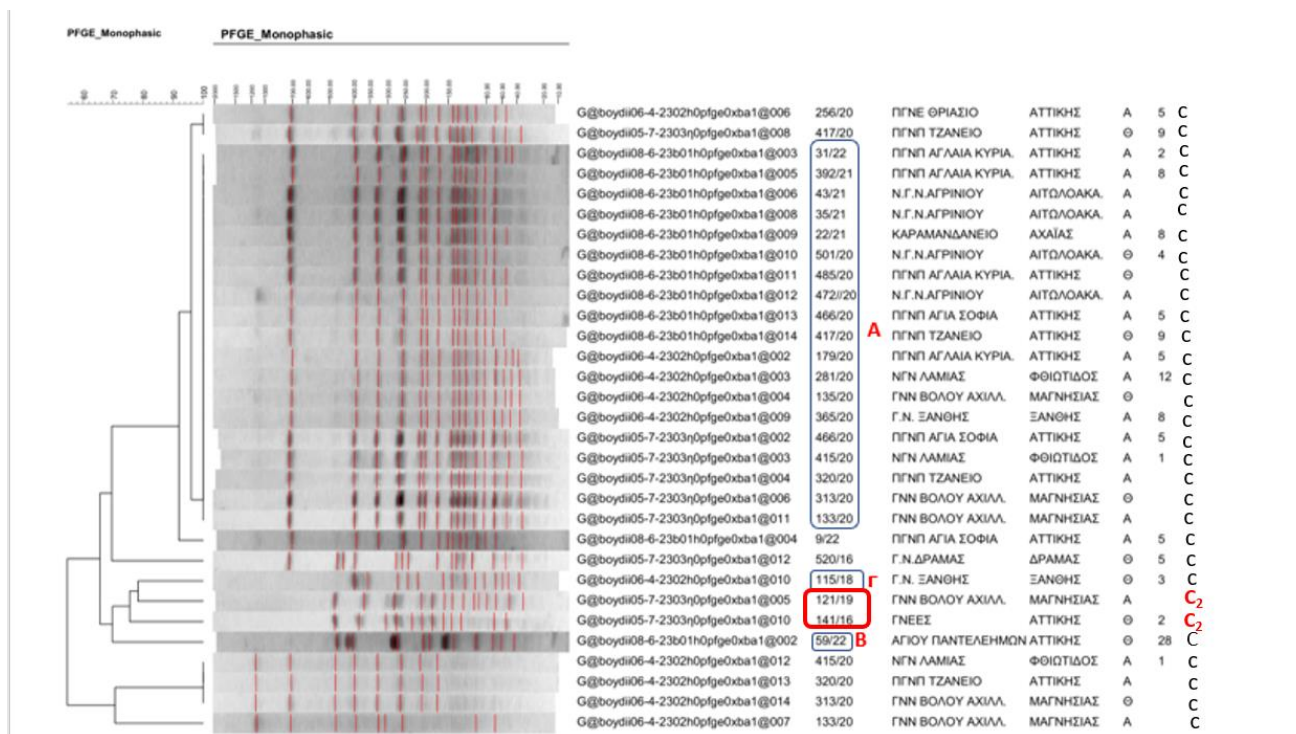
- 12. 520/16
- 13. 255/15
- 14. 45/14
- 15. S.Braenderup

Εικόνα 8.1α Αποτέλεσμα 3^{ης} PFGE (με χρήση Not1)



Το δενδρόγραμμα που προέκυψε από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων με το Πρόγραμμα Bionumerics φαίνεται στην **Εικόνα 8.1β**.

Εικόνα 8.ιβ: Δενδρόγραμμα από την επεξεργασία των μοριακών προφίλ, αφού έγινε πέψη του DNA των δειγμάτων με τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες Xba1 και Not1, καθώς και ηλεκτροφόρησή τους σε παλλόμενο πεδίο. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το πρόγραμμα Bionumerics.



Από τις Εικόνες 8.ε έως 8.ιβ, φαίνεται ότι τα δείγματα 31/22 έως 133/20 μοιράζονται ένα κοινό μοριακό προφίλ (100% ομοιότητα), οπότε μπορεί να θεωρηθεί το στέλεχος A. Πρόκειται για στελέχη που κυκλοφόρησαν σε ολόκληρη τη χώρα σε διάσπαρτες περιοχές τη χρονική περίοδο 2020-2022, χωρίς να ανιχνεύεται κοινή πηγή μόλυνσης.

Εκτός αυτού, παρατηρείται ότι τα δύο ESBL στελέχη (59/22 και 115/18) συνιστούν από μόνα τους ξεχωριστά στελέχη B και Γ αντίστοιχα, αφού έχουν εντελώς διαφορετικές ζώνες και άρα μοριακά προφίλ. Όμως, δεν διαφέρουν σημαντικά βάσει ορότυπου.

Κεφάλαιο 9^ο: Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εργαστηριακής επιτήρησης των κρουσμάτων *S.boydii* στην Ελλάδα, για την χρονική περίοδο 2013-2022. Τα επιδημιολογικά δεδομένα προήλθαν από την Βάση Δεδομένων του Συστήματος Υποχρεωτικής Δήλωσης Κρουσμάτων του ΕΟΔΥ.

Από την αναζήτηση της βιβλιογραφίας, διαπιστώθηκε ότι υπήρχε περιορισμένο υλικό σε ότι αφορά την καταγραφή μελετών γύρω από επιδημίες *S.boydii* είτε σε εθνικό είτε σε παγκόσμιο επίπεδο. Ειδικότερα για την Ελλάδα, δεν βρέθηκε συγκεντρωτική μελέτη της συγκεκριμένης ορομάδας σε εργαστηριακό επίπεδο (φαινοτυπική και μοριακή τυποποίηση των δειγμάτων).

Από την επεξεργασία των δεδομένων, φαίνεται ότι υπερίσχυσε η ηλικιακή ομάδα των 1-5 ετών, ακολουθούμενη από την ομάδα 6-14 ετών, στοιχεία που επιβεβαιώνονται από την μετάδοση του βακτηρίου πιο συχνά σε χώρους όπου επικρατεί συγχρωτισμός όπως για παράδειγμα οι παιδικοί σταθμοί και τα σχολεία. Οι Rodríguez και συν. σε μελέτη των *Shigella* spp. στην Κολομβία το διάστημα 1997-2018, βρήκαν ότι το 47% των δειγμάτων αφορούσε παιδιά κάτω των πέντε ετών (Rodríguez E.C. et. al., 2021)

Βάσει της πορείας δήλωσης της *S.boydii*, επιβεβαιώνεται ότι η νόσος αυτή παρουσιάζει πιθανόν μεγάλη υποδήλωση. Αυτό μπορεί να συμβαίνει διότι η νόσος αυτή τις περισσότερες φορές αντιμετωπίζεται χωρίς την προσέλευση στο νοσοκομείο ή λήψη φαρμακευτικής αγωγής, αφού συγχέεται με μία κοινή γαστρεντερίτιδα. Οπότε, ο πραγματικός αριθμός των κρουσμάτων πιθανόν θα είναι μεγαλύτερος. Σε μελέτη των Shakya G. et.al., στο Νεπάλ το διάστημα 2003-2015, δεν είχε καταγραφεί κανένα κρούσμα *S.boydii* εκτός του ενός κρούσματος που καταχωρήθηκε την περίοδο 2009-2014 (Shakya G. et.al., 2016)

Το 2019 με τον εγκλεισμό λόγω των έκτακτων μέτρων της πανδημίας της Covid-19, υπήρξε υποδήλωση σε όλα τα νοσήματα, συμπεριλαμβανομένης της *S.boydii*, οπότε το 2020 υπήρξε κατακόρυφη αύξηση στην δήλωση κρουσμάτων (μάλλον θα περιλαμβάνονται κρούσματα που δεν είχαν δηλωθεί στο σύστημα). Φτάνοντας στο 2022, ο αριθμός των περιστατικών έχει μειωθεί αλλά είναι μεγαλύτερος από πριν το 2019. Με την επιτήρηση των νοσημάτων να έχει βελτιωθεί σημαντικά σε παγκόσμιο επίπεδο, η συλλογή και καταχώρηση των περιστατικών φαίνεται να έχει καλύτερη εικόνα πλέον.

Τα καλλιεργήματα που τέθηκαν υπό μελέτη είχαν προέλευση από έξι διαφορετικές περιοχές της Ελλάδος (οκτώ νομούς), χωρίς να επιβεβαιώνεται κάποια κοινή πηγή μόλυνσης (απουσία

επιδημίας). Ο μεγαλύτερος αριθμός βρίσκεται στον νομό Αττικής, που αποτελεί και το μεγαλύτερο αστικό κέντρο ως πρωτεύουσα.

Μελετώντας τα προφίλ αντοχής των δειγμάτων στα αντιβιοτικά, το μεγαλύτερο ποσοστό αντοχής (41%) αναπτύχθηκε στην Τριμεθοπρίμη. Ακόμη, επιβεβαιώθηκε σε δύο δείγματα ότι εμφανίζουν φαινότυπο αντοχής ESBL, με αντοχή σε πάνω από τρεις ομάδες αντιβιοτικών (κεφαλοσπορίνες β' και γ' γενιάς, κεφταζιδίμη, αμοξικιλίνη-κλαβουλανικό οξύ,).

Για το λόγο αυτό, είναι σημαντική η επιτήρηση της νόσου, ιδιαίτερα σε χώρους όπου ευνοείται η μετάδοση, ώστε να ανιχνεύεται η παρουσία ή όχι σιγκέλλωσης, καθώς και η σωστή χορήγηση αντιβιοτικού σκευάσματος (εάν χρειάζεται). Έτσι, θα αποφευχθεί η αλόγιστη χρήση και τελικά η εμφάνιση ανθεκτικότητας σε ένα ή πολλαπλά αντιβιοτικά. Επίσης, με την αναγνώριση της συνέργειας των αντιβιοτικών, επιτυγχάνεται η έγκαιρη και σωστή εύρεση και χορήγηση της κατάλληλης θεραπείας σε περίπτωση πολυανθεκτικού στελέχους.

Ένα άλλο σημαντικό εργαλείο αποτελεί ο προσδιορισμός του ακριβούς οροτύπου της *Shigella* spp. Με την οροτυποποίηση των 27 δειγμάτων, η πλειοψηφία (89%) ανήκει στην οροομάδα C, στοιχείο που δηλώνει ότι πιθανόν δεν υπάρχουν πολλά εισαγόμενα κρούσματα από ενδημικές χώρες από διαφορετικούς οροτύπους, χωρίς αυτό να μην αποτελεί σημαντικό κίνδυνο με τις μετακινήσεις που υπάρχουν στις μέρες μας. Βέβαια, για να βεβαιωθούν οι ακριβείς ορότυποι, χρειάζεται περισσότερη ανάλυση για τον ακριβή προσδιορισμό για την σύγκριση σε επιδημιολογικό επίπεδο. Σημαντικές είναι οι δοκιμασίες (π.χ. Ινδόλης, Ξυλόζης κ.α.) για τον ακριβή προσδιορισμό των οροτύπων, ειδάλλως με την εφαρμογή αντιορών. Έτσι, γνωρίζουμε ποιοι ορότυποι ενδημούν περισσότερο στην Ελλάδα, ενισχύοντας την σωστή καταχώρηση των δεδομένων στη Βάση δεδομένων επιτήρησης της νόσου. Στην οροτυποποίησή τους, οι El-Gendy et.al. εντόπισαν ότι το 50% των στελεχών *S.boydii* στην Αίγυπτο ανήκουν στον ορότυπο 2. (El-Gendy A.M., 2011)

Από την μοριακή τυποποίηση των δειγμάτων, ανιχνεύθηκε μία συστάδα (cluster) με μοριακό προφίλ A, ενώ ανεξάρτητα PFGE προφίλ αποτέλεσαν τα δύο ESBL δείγματα. Η μέθοδος PFGE αποτελεί την «Gold Standard» μέθοδο στην επιδημιολογική επιτήρηση των βακτηρίων. Η υψηλή διακριτική ικανότητα της PFGE βοηθά στην αναγνώριση των στελεχών, οπότε διευκολύνεται η επιτήρηση και παρακολούθηση της εξάπλωσης σε επίπεδο κλώνου. Ακόμη, μπορεί και υπάρχει μεγαλύτερη ευκολία στον διαμοιρασμό των αποτελεσμάτων σε εθνικό, ευρωπαϊκό και παγκόσμιο επίπεδο αφού αποτελεί μία ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος, ενισχύοντας την προάσπιση της Δημόσιας Υγείας από όλους τους επίσημους φορείς στον κόσμο. Επιτυγχάνουμε

ακόμη να εντοπίζουμε γρηγορότερα τις εστίες μόλυνσεως, οι τρόποι μετάδοσης (ιδιαίτερα σε πρόκληση τροφιογενών επιδημιών) μέσω των συστάδων (clusters) που απεικονίζονται και να γίνουν τελικά οι απαραίτητες παρεμβάσεις Δημόσιας Υγείας σε αυτές.

Με την συνεχή εφαρμογή PFGE, επιτηρείται επίσης η πορεία της νόσου διαχρονικά. Αυτό μπορεί να μας δώσει περισσότερα στοιχεία αργότερα για την εξέλιξη του μικροοργανισμού, της εμφάνισης παραλλαγών με αντοχή σε αντιβιοτικά, καθώς και της εξάπλωσής του στον κόσμο. Τέλος, η μέθοδος αυτή μπορεί να συνδυαστεί και με άλλες μεθόδους όπως η Whole Genome Sequencing ή MLST, παρέχοντας μία ακόμη γραμμή βοήθειας για την επιβεβαίωση ή ενίσχυση των αποτελεσμάτων.

Κεφάλαιο 10^ο: Συμπεράσματα

Η *Shigella spp.* πρέπει να επιτηρείται στενά στην Ελλάδα, ιδιαίτερα σε μέρη όπου επικρατούν κακές συνθήκες υγιεινής ή συγχρωτισμός. Αυτό ενισχύεται λόγω της ιδιαίτερα χαμηλής μολυσματικής της δόση, η οποία επιτρέπει τη δευτερογενή μετάδοση του μικροβίου ταχύτατα στον πληθυσμό, προκαλώντας σοβαρές εντερικές λοιμώξεις και τελικά επιδημίες που επιβαρύνουν το Σύστημα Υγείας.

Αν και η Ελλάδα δεν αποτελεί μια ενδημική χώρα για *S.boydii*, δέχεται ετησίως χιλιάδες τουρίστες και πρόσφυγες, αυξάνοντας την πληθυσμιακή κινητικότητα του βακτηρίου. Για τον λόγο αυτό, καλό θα είναι να υπάρχει παρακολούθηση των ταξιδιωτών, αλλά και επιτήρηση στα εισαγόμενα κρούσματα. Έτσι, θα προλαμβάνεται η εισαγωγή και εξάπλωση της νόσου στην χώρα.

Με την συνεχή παρακολούθηση της νόσου, επιτυγχάνεται ο έγκαιρος εντοπισμός και μελέτη των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών, αφού η συγκεκριμένη οροομάδα συνδέεται με την ανάπτυξη ανοχής. Οι φορείς δημόσιας υγείας θα μπορούν με αυτόν τον τρόπο να δράσουν αποτελεσματικά, δίνοντας τις κατάλληλες για το στέλεχος θεραπευτικές αγωγές, καθώς και τα απαραίτητα προληπτικά μέτρα στην κοινωνία.

Αξίζει να τονιστεί επίσης και το ότι η επιτήρηση της νόσου είναι ένα σημαντικό εργαλείο για την σωστή και έγκαιρη ενημέρωση του κοινού γύρω από τους τρόπους μετάδοσης, καθώς και τα μέτρα πρόληψης που μπορούν να υιοθετηθούν.

Συνολικά, θεωρείται επιτακτική η ανάγκη συνεχούς επιτήρησης της *S.boydii* στην χώρα μας, με σκοπό τον έγκαιρο εντοπισμό συρροών κρουσμάτων, την καταγραφή των δεδομένων και τελικά την εφαρμογή των σωστών στρατηγικών και πολιτικών δημόσιας υγείας.

Η παρούσα εργασία συμπεριλήφθηκε στο 3ο Πανελλήνιο Διαδικτυακό Συνέδριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας/Εργαστηριακής Ιατρικής.



3ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ

— ΙΑΤΡΙΚΗΣ —
ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ /
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

03-04 ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΥ 2024

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

ΡΟ.30 | ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΑΤΩΝ *Shigella* *boydii*

Δ. Ε. Γουάτσον¹, Νταϊάνα Ντούρο¹, Θεολογία Σιδερόγλου², Ανθή Χρυσοστόμου², Μιχάλης Πολέμης³, Γεωργία Μανδηλαρά

¹ Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Σαλμονελλών-Σιγκελλών (ΕΚΑΣΣ), Σχολή Δημόσιας Υγείας, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα

² Τμήμα Τροφιμογενών και Υδατογενών Νοσημάτων, Διεύθυνση Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης για τα Λοιμώδη Νοσήματα, Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, Μαρούσι

³ Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, Κεντρικό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας, Βάρη Αττικής

ΡΟ.31 | ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΧΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΕ ΚΑΡΒΑΠΕΝΕΜΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ *Klebsiella pneumoniae* ΣΤΟ ΓΕΝΙΚΟΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΤΗΣ ΚΕΡΚΥΡΑΣ ΑΠΟ ΤΟ 2019 ΕΩΣ ΤΟ 2022

Γλ. Σοροβού¹, Σ. Μπάμπαλη¹, Μ. Λοϊσίου¹, Π. Τσόκρης¹, Μ. Χυτήρη¹, Ευφ. Κρικώνα¹, Κ. Καπάδοχα², Ε. Μπόστα¹, Α. Πασχάλη¹

¹ Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γ.Ν. ΚΕΡΚΥΡΑΣ

² Νοσηλεύτρια Λοιμώξεων, Γ.Ν. ΚΕΡΚΥΡΑΣ

ΡΟ.32 | ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΣ ΑΠΟ *CANDIDA AURIS* ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΘ

Δ.-Π. Δροσοπούλου, Β. Παπαιωάννου, Ι. Ζερβός, Α. Δομουχτσίδου,
Α. Τσαντες, Α. Τερτσετη, Ε. Χηνου

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟ, ΓΑΘΝΑ «ο Άγιος Σάββας»

ΡΟ.33 | ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑ ΑΠΟ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ΣΕ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

Φ. Παπαδοπούλου¹, Αικ. Κουκουλάκη¹, Δ. Στουπάκης², Μ. Πατεινιώτη³, Ι. Φέκος³, Γ. Αντωνάκη¹

¹ Μικροβιολογικό, Γ.Ν. Χίου

² Παθολογική Κλινική, Γ.Ν. Χίου

³ Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γ.Ν. Χίου

PO.34 | ΕΞΑΡΣΗ COXSACKIE 2023 ΣΤΗ Β. ΕΛΛΑΔΑ... Ή ΜΗΠΩΣ ΟΧΙ ;
Μ. Χριστοφορίδη, Ε. Λέσι, Ε. Γιώση, Ιφ. Δημοπούλου, Γ. Γκιούλα, Μ. Εξηντάρη
Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής ΑΠΘ

PO.35 | ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΤΙΝΤΑΙΜΙΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΓΕΝΙΚΟΥ
ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΟΥΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΓΙΑ ΧΡΟΝΙΚΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΕΞΙ ΕΤΩΝ (2018-
2023)

Αλ. Ιερωνυμάκη, Γ. Ζαρναβέλη, Δ. Λιαπόπουλος, Α. Καζατζή, Θ. Μπινιάρη
Μικροβιολογικό Τμήμα, Γενικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Κηφισιάς 'Οι Άγιοι Ανάργυροι'

Βιβλιογραφικές Αναφορές

Actor, J.K. (2012) Clinical bacteriology, Elsevier's Integrated Review Immunology and Microbiology (Second Edition). Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323074476000120?via%3Dihub> (Accessed: 21 August 2024).

Agha, R. and Goldberg, M.B. (2023) 'Shigella infection: Epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis'. UptoDate.

Antimicrobial Resistance, 2010. *Shigella* serotyping: final protocol. Available at: https://antimicrobialresistance.dk/CustomData/Files/Folders/6-pdf-protocols/58_23-10-gfn-Shigellaserotyping-final-29-06-10.pdf [Accessed 21 August 2024].

Arredondo-Alonso, S. et al. (2023) Evolutionary and functional history of the escherichia coli K1 capsule, Nature News. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-39052-w> (Accessed: 21 August 2024).

Ashida, H., Ogawa, M. and Sasakawa, C. (2016) 'Shigella infection and host cell...'

Bergan, J., Lingelem, A.B.D. and Simm, R. (2012) Shiga toxins, Science Direct. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041010112005612> (Accessed: 21 August 2024).

Bioanalytic, n.d. McFarland BSS turbidity standards. Available at: <https://www.bioanalytic.de/en/products/product/mcfarland-bss-turbidity-standards> [Accessed 21 August 2024].

Black, S., et al., 2021. Identification and characterization of novel antimicrobial peptides from the human microbiome. Journal of Medical Microbiology, 70(3), pp.1-15. Available at: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000832> [Accessed 21 August 2024].

Blacksell, S.D. et al. (2023) The Biosafety Research Road Map: The search for evidence to support practices in the laboratory-Shigella SPP, Applied biosafety : journal of the American Biological Safety Association. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10278014/> (Accessed: 21 August 2024).

Bruto, M., et al., 2015. Genome sequence of Clostridium difficile strain 630. Genome Announcements, 3(3), pp.1-2. Available at: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/genomea.00393-15> [Accessed 21 August 2024].

Campylobacter jejuni – microtubule-dependent invasion, Trends in Microbiology. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X01021072> (Accessed: 21 August 2024).

Castañeda, L.M., et al., 2021. Epidemiology of Shigella infections in Colombia: a review of the national surveillance system. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 34(1), pp.65-77. Available at:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572021000100065&script=sci_arttext&tlng=en
[Accessed 21 August 2024].

CDC (2024a) Treatment of *Shigella* infection, Centers for Disease Control and Prevention. Available at: https://www.cdc.gov/Shigella/treatment/?CDC_AAref_Val=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2FShigella%2Fdiagnosistreatment.html (Accessed: 21 August 2024).

CDC (2024b) Information for healthcare professionals | *Shigella* – Shigellosis | CDC. Available at: <https://www.cdc.gov/Shigella/audience-medical-professionals.html> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2019). Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2022). COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022. Available at: <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/media/pdfs/covid19-impact-report-508.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2022). Impact of COVID-19 Pandemic on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/covid19-impact-report-508.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2022). COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022. Available at: <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/media/pdfs/covid19-impact-report-508.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2023). HAN Archive - 00486: Extensively Drug-Resistant Shigellosis. Available at: <https://emergency.cdc.gov/han/2023/han00486.asp> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2024). Prevention and Control of *Shigella*. Available at: <https://www.cdc.gov/Shigella/prevention-control.html> (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2024). *Shigella* for Food Service Workers and Managers. Available at: https://www.cdc.gov/Shigella/specific_groups/food_service_and_managers.html (Accessed: 21 August 2024).

Centers for Disease Control and Prevention (2024). Shigellosis. Available at: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/shigellosis> (Accessed: 21 August 2024).

Chapter 22: *Shigella*, Medical Microbiology. 4th edition. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8038/> (Accessed: 21 August 2024).

Charles, H. et al. (2022) Outbreak of sexually transmitted, extensively drug-resistant *Shigella* Sonnei in the UK, 2021–22: A descriptive epidemiological study - the Lancet infectious diseases, The Lancet-Infectious Diseases . Available at: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(22\)00370-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(22)00370-X/fulltext) (Accessed: 21 August 2024).

Cohen, J., 1982. Antibiotic prophylaxis in surgery. *British Medical Journal*, 4(5945), pp.641-643. Available at: <https://www.bmj.com/content/4/5945/641.short> [Accessed 21 August 2024].

Cleveland Clinic (2024). Shigellosis: Causes, Symptoms, and Treatment. Available at: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/17826-shigellosis> (Accessed: 21 August 2024).

Colin, M. et al. (2024). ‘*Shigella* vaccines in clinical development’, *Vaccine*. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X23013919> (Accessed: 21 August 2024).

Copenhagen University, n.d. Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar. Available at: https://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/plating_media/XLD/ [Accessed 21 August 2024].

Dekker, J.P. and Frank, K.M. (2015) *Shigella* vaccine, *Shigella* Vaccine - an overview | ScienceDirect Topics. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/Shigella-vaccine> (Accessed: 21 August 2024).

Department of Health, Victoria (2024). Shigellosis. Available at: <https://www.health.vic.gov.au/infectious-diseases/shigellosis> (Accessed: 21 August 2024).

Diachel A.E. (2024) *Shigella* dysenteriae + shigatoxin combo one step quick card, Diachel A.E. Available at: <https://www.diachel.gr/el-combo-tests-rapid/certest-es-Shigella-dysenteriae--shigatoxin-combo-one-step-quick-card-dx882001v-el> (Accessed: 21 August 2024).

El-Din, M.M.S., Khairy, M.A. and Abouzid, K.A. (2024). ‘Novel therapeutic strategies targeting *Shigella* infections: a review’, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 59. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1186/s43094-024-00676-4> (Accessed: 21 August 2024).

Enterobacteriaceae, Infectious Disease Epidemiology Section. Available at: <https://ldh.la.gov/assets/oph/Center-PHCH/Center-CH/infectious-epi/EpiManual/EnterobacteriaceaeManual.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

European Centre for Disease Prevention and Control (2017) Factsheet about shigellosis, European Centre for Disease Prevention and Control. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/shigellosis/facts> (Accessed: 21 August 2024).

ECDC (2021) Epipulse - the European Surveillance Portal for Infectious Diseases, European Centre for Disease Prevention and Control. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/epipulse-european-surveillance-portal-infectious-diseases> (Accessed: 21 August 2024).

European Centre for Disease Prevention and Control (2022). Shigellosis: Annual Epidemiological Report 2022. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/shigellosis-annual-epidemiological-report-2022> (Accessed: 21 August 2024).

European Centre for Disease Prevention and Control (2023). Rapid Risk Assessment: Increase in Extensively Drug-Resistant *Shigella sonnei*. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-increase-extensively-drug-resistant-Shigella-sonnei> (Accessed: 21 August 2024).

European Centre for Disease Prevention and Control (2023). Spread of Multidrug-Resistant *Shigella* in the EU/EEA among Gay, Bisexual, and Other Men Who Have Sex with Men. Available at:

[https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/spread-multidrug-resistant-*Shigella*-eueea-among-gay-bisexual-and-other-men-who-have-sex](https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/spread-multidrug-resistant-<i>Shigella</i>-eueea-among-gay-bisexual-and-other-men-who-have-sex) (Accessed: 21 August 2024).

European Centre for Disease Prevention and Control (2024). ECDC Surveillance Atlas of Infectious Diseases. Available at: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx> (Accessed: 21 August 2024).

Fabre, L. et al. (2022). ‘Epidemiology and clinical characteristics of extensively drug-resistant *Shigella sonnei* infections in Europe’, *Frontiers in Public Health*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9687025/> (Accessed: 21 August 2024).

Fisher Scientific, n.d. Instructions for use of X7807B. Available at: <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/MBD/Instructions/X7807B.pdf> [Accessed 21 August 2024].

Frech, C. et al. (2024). ‘Challenges and advances in the development of *Shigella* vaccines’, *Vaccine*, 42(3), pp. 1-15. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861723003855#bb0120> (Accessed: 21 August 2024).

Gavi, the Vaccine Alliance (2024). Vaccine Profiles: *Shigella*. Available at: [https://www.gavi.org/vaccineswork/vaccine-profiles-*Shigella*](https://www.gavi.org/vaccineswork/vaccine-profiles-<i>Shigella</i>) (Accessed: 21 August 2024).

Giersing, B.K. et al. (2018). ‘Assessing the feasibility of using a controlled human infection model (CHIM) in Africa for oral *Shigella* vaccine development’, *Vaccine*, 36(46), pp. 1-10. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0264410X18309046> (Accessed: 21 August 2024).

Google Patents (2021). WO2021255684A1 - Vaccine compositions for protection against *Shigella*. Available at: <https://patents.google.com/patent/WO2021255684A1/en> (Accessed: 21 August 2024).

Government of Canada (2023). Prevention of *Shigella* Infection. Available at: [https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/*Shigella*/prevention.html](https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/<i>Shigella</i>/prevention.html) (Accessed: 21 August 2024).

Grimont, F. et al. (2007) Identification of a group of *Shigella*-like isolates as *Shigella boydii* 20, microbiologyresearch.org. Available at: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijcs.0.64854-0> (Accessed: 21 August 2024).

Haksar, D. et al. (2021) Fighting *Shigella* by Blocking Its Disease-Causing Toxin, ACS Publications. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.1c00152> (Accessed: 21 August 2024).

Hale, T.L. (1996) *Shigella*, *Medical Microbiology*. 4th edition. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8038/> (Accessed: 21 August 2024).

Hara, N., 2021. ‘*Shigella sonnei* infections: Clinical features and treatment options’. *Frontiers in Microbiology*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.698213/full> (Accessed: 21 August 2024).

Harutyunyan S. et.al. (2020). Clinical Advances in *Shigella* Vaccine Development. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33207794/> (Accessed: 21 August 2024).

Hill, D., 2016. 'Advances in the diagnostic tools for *Shigella* infection', *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 85(3), pp. 233-237. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889316300216> (Accessed: 21 August 2024).

Horne, A.W., et al., 1991. A prospective study of the microbiology of acute appendicitis. *Journal of Clinical Pathology*, 44(2), pp.148-151. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2662591/> [Accessed 21 August 2024].

Hwang, C.Y., et al., 2012. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Journal of Infection and Public Health*, 5(6), pp.488-495. Available at: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/19749451> [Accessed 21 August 2024].

Illinois Department of Public Health (2024). Shigellosis: Overview and Prevention. Available at: <https://dph.illinois.gov/topics-services/diseases-and-conditions/diseases-a-z-list/shigellosis/overview-prevention.html> (Accessed: 21 August 2024).

Institut Pasteur (2024). Shigellosis: Disease Sheet. Available at: <https://www.pasteur.fr/en/medical-center/disease-sheets/shigellosis> (Accessed: 21 August 2024).

Iowa Department of Health and Human Services (2024). Shigellosis: Reportable Diseases Manual. Available at: <https://hhs.iowa.gov/public-health/center-acute-disease-epidemiology/epi-manual/reportable-diseases/shigellosis-0> (Accessed: 21 August 2024).

Jackson, M., et al., 2022. The role of bacteria in chronic rhinosinusitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(6), pp.1-10. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22009541> [Accessed 21 August 2024].

Kaminski, R.W. et al. (2022). 'Current status of *Shigella* vaccines: a major public health priority', *Frontiers in Immunology*, 13, pp. 1-14. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8780113/> (Accessed: 21 August 2024).

Kasper, D.L. et al. (2020). Immunology of *Shigella* infections. *New England Journal of Medicine*. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1808904> (Accessed: 21 August 2024).

Keusch, G.T. (2006). '*Shigella*', in S. Baron (ed.) *Medical Microbiology*. 4th edn. London: Academic Press, pp. 676-685. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123694089000585> (Accessed: 21 August 2024).

Khalil, I. et al. (2018) Morbidity and mortality due to *Shigella* and enterotoxigenic escherichia coli diarrhoea: The global burden of disease study 1990–2016, Institute for Health Metrics and Evaluation. Available at: <https://www.healthdata.org/research-analysis/library/morb>

Khan, N., et al., 2022. '*Shigella*-related antimicrobial resistance: Insights and developments'. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 60(2), pp. 1-12. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857922000724> (Accessed: 21 August 2024).

Killackey, S.A., Sorbara, M.T. and Girardin, S.E. (2016) Cellular aspects of *Shigella* pathogenesis: Focus on the manipulation of host cell processes, *Frontiers*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2016.00038/full> (Accessed: 21 August 2024).

Kumar, S., et al., 2024. 'Environmental and clinical epidemiology of *Shigella* infections in low-resource settings'. *Journal of Global Health*. Available at: <https://www.jogh.org/article/view/10.7189/jogh.12.02014> (Accessed: 21 August 2024).

Lampel, K.A., Formal, S.B. and Maurelli, A.T. (2021) A brief history of '*Shigella*', *EcoSal Plus*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8559768/> (Accessed: 21 August 2024).

Levine, M.M. et al. (2020). '*Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) vaccines: A comprehensive review', *The Lancet Infectious Diseases*, 20(12), pp. 1-10. Available at: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(20\)30488-6/abstract](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30488-6/abstract) (Accessed: 21 August 2024).

Louisiana Office of Public Health (2018) Enterobacteriaceae, Infectious Disease Epidemiology Section. Available at: <https://ldh.la.gov/assets/oph/Center-PHCH/Center-CH/infectious-epi/EpiManual/EnterobacteriaceaeManual.pdf> (Accessed: 21 August 2024)

Long, S.S., Prober, C.G. and Fischer, M. (2017). *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. 5th edn. Philadelphia, PA: Elsevier. Available at: <https://www.sciencedirect.com/book/9780323401814/principles-and-practice-of-pediatric-infectious-diseases> (Accessed: 21 August 2024).

Mantaza, X.M. and Clements, A. (2023) Pathogenicity and virulence of *Shigella sonnei*: A highly drug-resistant pathogen of increasing prevalence. Available at: https://www.researchgate.net/publication/375874901_Pathogenicity_and_virulence_of_Shigella_sonnei_A_highly_drug-resistant_pathogen_of_increasing_prevalence (Accessed: 21 August 2024).

Marler, B. (2024). *Shigella: About Shigella*. Available at: <https://marlerclark.com/foodborne-illnesses/Shigella/about-Shigella> (Accessed: 21 August 2024).

Massachusetts Department of Public Health (2024). Shigellosis Fact Sheet. Available at: <https://www.mass.gov/doc/shigellosis/download> (Accessed: 21 August 2024).

Mayo Clinic (2020) *Shigella* infection, Mayo Clinic. Available at: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/Shigella/symptoms-causes/syc-20377529> (Accessed: 21 August 2024).

Medline Plus (2022) Leukemoid reaction: Medlineplus medical encyclopedia, MedlinePlus. Available at: <https://medlineplus.gov/ency/article/000575.htm> (Accessed: 21 August 2024).

MedlinePlus (2024). Shigellosis. Available at: <https://medlineplus.gov/ency/article/000575.htm> (Accessed: 21 August 2024).

Melton-Celsa, A.R. (2014) Shiga toxin (STX) classification, Structure, and function, *Microbiology spectrum*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4270005/> (Accessed: 21 August 2024).

Mellou, K., Mandilara, G., Chrysostomou, A. et al. (2021). 'Public health and clinical implications of multidrug-resistant shigellosis cases in a reception centre for refugees/migrants, Greece, October-December 2019', *European Journal of Public Health*, 31(3), pp. 588-590. doi: 10.1093/eurpub/ckaa220. PMID: 33313745.

Microbe Notes, n.d. Motility test: principle, procedure, and results. Available at: <https://microbenotes.com/motility-test-principle-procedure-and-results/> [Accessed 21 August 2024].

Minnesota Department of Health (2009) Shigellosis (*Shigella*) fact sheet, Shigellosis (*Shigella*) Fact Sheet - MN Dept. of Health. Available at: <https://www.health.state.mn.us/diseases/shigellosis/Shigella.html> (Accessed: 21 August 2024).

Murch, S.H. (2015). *Shigella* and Shigellosis. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323188329000304> (Accessed: 21 August 2024).

Nakagami, Y. et al. (2024). *Shigella sonnei*: Epidemiology and resistance patterns. *Journal of Clinical Microbiology*. Available at: <https://jcm.asm.org/content/early/2024/08/20/JCM.00373-24> (Accessed: 21 August 2024).

Nascimento, M.F. et al. (2023). 'A review of *Shigella* vaccine candidates and development', *Vaccine Research and Development*. Available at: <https://www.springer.com/gp/book/9783031295965> (Accessed: 21 August 2024).

Nataro, J.P. et al. (2013). 'The global burden of *Shigella* infections', *Clinical Microbiology Reviews*, 26(3), pp. 434-459. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3747556/> (Accessed: 21 August 2024).

National Center for Biotechnology Information (2024). *Shigella* Infections, StatPearls. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482337/> (Accessed: 21 August 2024).

National Institute of Food and Agriculture (2021). Preventing Foodborne Illness: Shigellosis. Available at: <https://www.nifa.usda.gov/sites/default/files/resource/Preventing-Foodborne-Illness-Shigellosis.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

National Institutes of Health (2023). *Shigella* Vaccines Research. Available at: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-researchers-develop-Shigella-vaccine> (Accessed: 21 August 2024).

NSW Health (2022) Fact sheets - *Shigella* (shigellosis) fact sheet, *Shigella* (shigellosis) fact sheet - Fact sheets. Available at: <https://www.health.nsw.gov.au/Infectious/factsheets/Pages/shigellosis.aspx> (Accessed: 21 August 2024).

New York State (2017) Department of Health-New York State, Hemolytic Uremic Syndrome (HUS). Available at: https://www.health.ny.gov/diseases/communicable/e_coli/fact_sheet.htm (Accessed: 21 August 2024).

New York State Department of Health (2024). Shigellosis Fact Sheet. Available at: https://www.health.ny.gov/diseases/communicable/shigellosis/fact_sheet.htm (Accessed: 21 August 2024).

Oloomi, M. et al. (2018) Anti-tumor activity of escherichia coli shiga toxin A subunit delivered by SF9 insect cells, Journal of Pharmacological Sciences. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1347861318301737> (Accessed: 21 August 2024).

Paget, J., et al. (2021). 'Shigella: Global epidemiology, control, and prevention strategies'. Clinical Microbiology Reviews, 34(2), pp. 1-18. Available at: <https://cmr.asm.org/content/34/2/e00039-20> (Accessed: 21 August 2024).

Pasetti, M.F. et al. (2020). 'New and emerging Shigella vaccines: advances in the clinical development pipeline', npj Vaccines, 5, pp. 1-10. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41541-020-0180-y> (Accessed: 21 August 2024).

Pasteur Institute, 2023. New method for identifying and typing Shigella strains. Available at: <https://www.pasteur.fr/en/research-journal/news/new-method-identifying-and-typing-Shigella-strains> [Accessed 21 August 2024].

Patel, R. (2022). 'Molecular Diagnostics for Shigella Infection'. Molecular Pathology, 3(2), pp. 43-55. Available at: <https://molecularpathology.org/article/2022/molecular-diagnostics-for-Shigella-infection> (Accessed: 21 August 2024).

Perry, S.A. et al. (2021). 'Multidrug-Resistant Shigella sonnei: A Review of Global Trends and Epidemiology', Tropical Medicine and Infectious Disease, 6(2), p. 63. Available at: <https://www.mdpi.com/2414-6366/6/2/63> (Accessed: 21 August 2024).

Pew Charitable Trusts (2024). Antibiotic Resistance Project. Available at: <https://www.pewtrusts.org/en/projects/antibiotic-resistance> (Accessed: 21 August 2024).

Public Health Agency of Canada (2011) Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – Shigella spp, Canada.ca. Available at: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/Shigella.html> (Accessed: 21 August 2024).

Public Health Agency of Canada (2023). Shigella sonnei: Epidemiology and Surveillance. Available at: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/epidemiology-Shigella-sonnei.html> (Accessed: 21 August 2024).

Public Health England (2022). Shigella sonnei: Review of Epidemiology and Resistance Patterns. Available at: <https://www.gov.uk/government/publications/Shigella-sonnei-review-of-epidemiology-and-resistance-patterns> (Accessed: 21 August 2024).

Royal College of Pathologists, 2022. Identification of Shigella species. Available at: <https://www.rcpath.org/static/e2671e77-205a-4ef2-91bd00f25f4192fe/71a286f3-b223-400d-85cfe9a84ce0aebf/uk-smi-id-20i4-identification-of-Shigella-species-april-2022-pdf.pdf> [Accessed 21 August 2024].

Routsias Lab, n.d. Μέθοδοι ελέγχου ευαισθησίας των μικροβίων στα αντιβιοτικά. Available at: [https://www.routsias-](https://www.routsias-lab.gr/files/Download/%CE%9C%CE%AD%CE%B8%CE%BF%CE%B4%CE%BF%CE%B9%20%CE%B5%CE%BB%CE%B5%CE%B3%CF%87%CE%BF%CF%85%20%CE%B5%CF%85%CE%B1%CE%B9%CF%83%CE%B8%CE%B7%CF%83%CE%AF%CE%B1%CF%82%20%CF%84%CF%85%CE%86%CE%82%CE%87%CF%84%CF%85%CF%83%CF%84%CF%85%CF%86%CF%87%CF%88%CF%89%CF%8A%CF%8B%CF%8C%CF%8D%CF%8E%CF%8F%CF%90%CF%91%CF%92%CF%93%CF%94%CF%95%CF%96%CF%97%CF%98%CF%99%CF%A0%CF%A1%CF%A2%CF%A3%CF%A4%CF%A5%CF%A6%CF%A7%CF%A8%CF%A9%CF%AA%CF%AB%CF%AC%CF%AD%CF%AE%CF%AF%CF%B0%CF%B1%CF%B2%CF%B3%CF%B4%CF%B5%CF%B6%CF%B7%CF%B8%CF%B9%CF%BA%CF%BB%CF%BC%CF%BD%CF%BE%CF%BF%CF%C0%CF%80%CF%81%CF%82%CF%83%CF%84%CF%85%CF%86%CF%87%CF%88%CF%89%CF%90%CF%91%CF%92%CF%93%CF%94%CF%95%CF%96%CF%97%CF%98%CF%99%CF%9A%CF%9B%CF%9C%CF%9D%CF%9E%CF%9F%CF%A0%CF%A1%CF%A2%CF%A3%CF%A4%CF%A5%CF%A6%CF%A7%CF%A8%CF%A9%CF%AA%CF%AB%CF%AC%CF%AD%CF%AE%CF%AF%CF%B0%CF%B1%CF%B2%CF%B3%CF%B4%CF%B5%CF%B6%CF%B7%CF%B8%CF%B9%CF%BA%CF%BB%CF%BC%CF%BD%CF%BE%CF%BF%CF%C0%CF%80%CF%81%CF%82%CF%83%CF%84%CF%85%CF%86%CF%87%CF%88%CF%89%CF%90%CF%91%CF%92%CF%93%CF%94%CF%95%CF%96%CF%97%CF%98%CF%99%CF%9A%CF%9B%CF%9C%CF%9D%CF%9E%CF%9F%CF%A0%CF%A1%CF%A2%CF%A3%CF%A4%CF%A5%CF%A6%CF%A7%CF%A8%CF%A9%CF%AA%CF%AB%CF%AC%CF%AD%CF%AE%CF%AF%CF%B0%CF%B1%CF%B2%CF%B3%CF%B4%CF%B5%CF%B6%CF%B7%CF%B8%CF%B9%CF%BA%CF%BB%CF%BC%CF%BD%CF%BE%CF%BF%CF%C0)

lab.gr/files/Download/%CE%9C%CE%AD%CE%B8%CE%BF%CE%B4%CE%BF%CE%B9%20%CE%B5%CE%BB%CE%B5%CE%B3%CF%87%CE%BF%CF%85%20%CE%B5%CF%85%CE%B1%CE%B9%CF%83%CE%B8%CE%B7%CF%83%CE%AF%CE%B1%CF%82%20%CF%84%CF%85%CE%86%CE%82%CE%87%CF%84%CF%85%CF%83%CF%84%CF%85%CF%86%CF%87%CF%88%CF%89%CF%90%CF%91%CF%92%CF%93%CF%94%CF%95%CF%96%CF%97%CF%98%CF%99%CF%9A%CF%9B%CF%9C%CF%9D%CF%9E%CF%9F%CF%A0%CF%A1%CF%A2%CF%A3%CF%A4%CF%A5%CF%A6%CF%A7%CF%A8%CF%A9%CF%AA%CF%AB%CF%AC%CF%AD%CF%AE%CF%AF%CF%B0%CF%B1%CF%B2%CF%B3%CF%B4%CF%B5%CF%B6%CF%B7%CF%B8%CF%B9%CF%BA%CF%BB%CF%BC%CF%BD%CF%BE%CF%BF%CF%C0

89%CE%BD%20%CE%BC%CE%B9%CE%BA%CF%81%CE%BF%CE%B2%CE%AF%CF%89%CE%BD%20%CF%83%CF%84%CE%B1%20%CE%B1%CE%BD%CF%84%CE%B9%CE%B2%CE%B9%CE%BF%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%AC.pdf [Accessed 21 August 2024].

Routsias Lab, n.d. Ταυτοποίηση βακτηρίων. Available at: <https://www.routsias-lab.gr/files/Download/%CE%A4%CE%B1%CF%85%CF%84%CE%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7%20%CE%B2%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%AF%CF%89%CE%BD.pdf> [Accessed 21 August 2024].

Safe Water (2016). *Shigella*: Detailed Fact Sheet. Available at: <https://www.safewater.org/fact-sheets-1/2016/11/18/detailed-Shigella> (Accessed: 21 August 2024).

San Francisco Department of Public Health (2024). *Shigella* infection (shigellosis). Available at: <https://www.sfdcp.org/infectious-diseases-a-to-z/Shigella-infection-shigellosis/> (Accessed: 21 August 2024).

ScienceDirect (2024). *Shigella* Vaccine. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/Shigella-vaccine> (Accessed: 21 August 2024).

Sharma, P., et al., 2021. ‘*Shigella*: An Overview of Clinical, Diagnostic, and Therapeutic Strategies’. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 104(5), pp. 1740-1750. Available at: <https://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.21-0581> (Accessed: 21 August 2024).

ShigETECVax (2024). Our Plan for *Shigella* and ETEC Vaccines. Available at: <https://www.shigetecvax.org/our-plan> (Accessed: 21 August 2024).

Siegfried, C. et al. (2023). ‘Developments in *Shigella* Diagnostics and Surveillance’, Journal of Clinical Microbiology. Available at: <https://jcm.asm.org/content/early/2023/07/12/JCM.01563-23> (Accessed: 21 August 2024).

Schär, C., 1990. Chronic and relapsing infections due to the mycobacteria in humans. Journal of Infection, 21(3), pp.223-234. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0923250890900899> [Accessed 21 August 2024].

Schneider, K.R., Ahn, S. and Goodrich-Schneider, R.M. (2018) FSHN0517/FS128: Preventing Foodborne Illness: Shigellosis, Ask IFAS - Powered by EDIS. Available at: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FS128> (Accessed: 21 August 2024).

Smith, J. (2022). *Shigella* Vaccines: Challenges and Progress. Clinical Vaccine Immunology, 29(3), pp. 1-11. Available at: <https://cvi.asm.org/content/29/3/e00435-21> (Accessed: 21 August 2024).

South Australia Health (2024). *Shigella* Infection - Including Symptoms, Treatment, and Prevention. Available at: <https://www.sahealth.sa.gov.au/wps/wcm/connect/public+content/sa+health+internet/conditions/infectious+diseases/Shigella+infection/Shigella+infection+-including+symptoms+treatment+and+prevention> (Accessed: 21 August 2024).

Taylor, T., et al., 2016. Molecular epidemiology of Salmonella infections: a review. Journal of Clinical Microbiology, 8(4), pp.1-12. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1186/s41043-016-0073-x> [Accessed 21 August 2024].

The Editors of Encyclopaedia Britannica (2022) *Shigella*, Encyclopædia Britannica. Available at: <https://www.britannica.com/science/Shigella> (Accessed: 21 August 2024).

The, H.C. et al. (2016) The genomic signatures of *Shigella* evolution, adaptation and geographical spread, Nature News. Available at: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.10> (Accessed: 21 August 2024).

Tichit, M., Germaud, P., Santoni, D. et al. (2023). 'Efficacy and safety of a novel *Shigella sonnei* vaccine in travellers: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial', Journal of Travel Medicine, 30(1), taac132. Available at: <https://academic.oup.com/jtm/article/30/1/taac132/6798401> (Accessed: 21 August 2024).

Trigilio, J., et al., 2012. Molecular characterization of *Clostridium difficile* in healthcare-associated infections. Journal of Clinical Microbiology, 50(3), pp.1-9. Available at: [URL needed] [Accessed 21 August 2024].'

Tsonas, A., et al., 2014. *Clostridium difficile* infection and the role of the microbiome. Clinical Infectious Diseases, 59(7), pp.933-939. Available at: <https://academic.oup.com/cid/article/59/7/933/2895520> [Accessed 21 August 2024].

Turbyfill K. et.al.(2023). Recent Developments in *Shigella* Vaccines. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37389412/> (Accessed: 21 August 2024).

TÜV AUSTRIA (2020). Guide for the Food Industry and Supply Chain during COVID-19. Available at: https://tuv.austria.hellas.gr/wp-content/uploads/2020/04/TUV-AUSTRIA_%CE%9F%CE%94%CE%97%CE%93%CE%9F%CE%A3-%CE%93%CE%99%CE%91-%CE%A4%CE%97-%CE%92%CE%99%CE%9F%CE%9C%CE%97%CE%A7%CE%91%CE%9D%CE%99%CE%91-%CE%A4%CE%A1%CE%9F%CE%A6%CE%99%CE%9C%CE%A9%CE%9D-%CE%9A%CE%91%CE%99-%CE%A4%CE%9F-SUPPLY-CHAIN_COVID19_GR.pdf (Accessed: 21 August 2024).

UK Health Security Agency (2014) Standards for microbiology investigations (UK SMI). Available at: <https://www.gov.uk/government/collections/standards-for-microbiology-investigations-smi> (Accessed: 21 August 2024).

U.S. Food and Drug Administration (2024). Vaccine for Protection Against *Shigella sonnei* Disease. Available at: <https://www.fda.gov/science-research/licensing-and-collaboration-opportunities/vaccine-protection-against-Shigella-sonnei-disease> (Accessed: 21 August 2024).

Wang, Z., et al., 2008. Molecular epidemiology of bacterial infections in urban settings. BMC Research Notes, 1, p.74. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1186/1756-0500-1-74> [Accessed 21 August 2024].

Weir, E. (2002). '*Shigella*: wash your hands of the whole dirty business', CMAJ: Canadian Medical Association Journal, 167(3), p. 281.

White, L.A., Santillo, M.F., Hinz, M. and Pak, T.R. (2020). 'Impact of multi-drug resistance on the treatment of infections in the context of antimicrobial stewardship programs', Infection and Drug

Resistance, 13, pp. 1155-1165. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.2147/IDR.S219755> (Accessed: 21 August 2024).

World Health Organization (2022). *Shigella*: Global Overview. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Shigella> (Accessed: 21 August 2024).

World Health Organization (2023). *Shigella*: Antimicrobial Resistance Surveillance. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Shigella-antimicrobial-resistance> (Accessed: 21 August 2024).

World Health Organization (2024). *Shigella* Vaccine Research and Development. Available at: <https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals/diseases/Shigella> (Accessed: 21 August 2024).

Zaidi, M.B. and Estrada-García, T. (2014) *Shigella*: A highly virulent and elusive pathogen, Current tropical medicine reports. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4126259/> (Accessed: 21 August 2024).

Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας (2019). Σιγγέλωση (Shigellosis): Περιγραφή νοσήματος. Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/01/sigkelosi-perigr-nosim.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, 2022. Εθνική Στρατηγική για την Αντιμετώπιση των Λοιμώξεων 2004-2021. Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/07/sigkellosi-2004-2021-gr.pdf> [Accessed 21 August 2024].

Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας (2022). Σιγγέλωση στην Ελλάδα, 2004-2021. Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/07/sigkellosi-2004-2021-gr.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

(2022) Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας. ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΡΟΥΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ ΔΗΛΩΣΗ ... Available at: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/04/orismoi-loimodon-nosimaton-20220413.pdf> (Accessed: 21 August 2024).

Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας (2024). Σιγγέλωση Available at: <https://eody.gov.gr/disease/sigkellosi/> (Accessed: 21 August 2024).

Μάθου and Ανθούλα (2022) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των παθογόνων μικροοργανισμών σε τρόφιμα, ΠΟΛΥΝΟΗ. Available at: https://polynoe.lib.uniwa.gr/xmlui/bitstream/handle/11400/4507/Πτυχιακή_εργασία_Παπαδόπουλος_Ηλίας-1.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Accessed: 21 August 2024).

Παθογένεια βακτηριακών λοιμώξεων (2021) Πανεπιστήμιο Πατρών. Available at: <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MED1189/%CE%A0%CE%B1%CE%B8%CE%BF%CE%B3%CF%8C%CE%BD%CE%BF%CE%B9%20%CE%BC%CE%B7%CF%87%CE%B1%CE%BD%CE%B9%CF%83%CE%BC%CE%BF%CE%AF%20%CE%B2%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%AF%CF%89%CE%BD.pdf> (Accessed: 21 August 2024).