



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**
UNIVERSITY OF WEST ATTICA

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των
παθογόνων μικροοργανισμών σε τρόφιμα**

Εισηγήτριες: Ανθούλα Γιατροπούλη (15015)

Ελισάβετ Μάθου (16132)

Επιβλέπουσα: Ανθιμία Μπατρίνου

Αθήνα 2022

Εγκρίθηκε από τριμελή επιτροπή

Αθήνα, 2022

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Ανθμία Μπατρίνου

Βιολόγος MSc, PhD, Επικουρος Καθηγήτρια, Σχολή Επιστημών Τροφίμων,
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

2. Μέλος Επιτροπής

Δήμητρα Χούγουλα

Χημικός, MSc, PhD, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια στην Σχολή Επιστημών,
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

3. Μέλος Επιτροπής

Αναστασία Κανέλλου

Διατροφολόγος MSc, PhD, Καθηγήτρια στην Σχολή Επιστημών Τροφίμων,
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

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

Η ΔΗΛΟΥΣΑ

Ελισάβετ Μάθου



Η ΔΗΛΟΥΣΑ

Ανθούλα Γιατροπούλη



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η τεχνολογία τροφίμων ασχολείται με την παραγωγή ασφαλών προς κατανάλωση τροφίμων για τον καταναλωτή. Ένας από τους βασικούς κινδύνους που αντιμετωπίζει είναι η επιμόλυνση από μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι καταστρεπτικοί ως προς την ποιότητα του τροφίμου και προκαλούν σοβαρές λοιμώξεις στον άνθρωπο μετά από την κατανάλωση των επιμολυσμένων τροφίμων.

Οι μικροοργανισμοί *Escherichia coli*, *Listeria*, *enterococcus faecalis*, *salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* και *Campylobacter* είναι παθογόνοι και από τους σημαντικότερους μικροοργανισμούς στην τεχνολογία τροφίμων. Αποτελούν πρόβλημα στην οικονομία, στις βιομηχανίες τροφίμων καθώς και στην δημόσια υγεία, λόγω της ευκολίας εξάπλωσης και επιμόλυνσης τροφίμων, προκαλώντας σοβαρές λοιμώξεις στον τελικό καταναλωτή, ακόμα και θάνατο. Η τεχνολογία τροφίμων μέσω εργαστηριακών πειραμάτων και κλινικών δοκιμών, προσπαθεί να μειώσει το πρόβλημα της επιμόλυνσης των τροφίμων με μικροοργανισμούς με την χρήση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα, έτσι ώστε να παραμείνουν στείρα μικροβιολογικά και να προληφθεί η όποια επιμόλυνση.

Γνωρίζοντας όμως ότι και η φύση εξελίσσεται, οι μικροοργανισμοί, αμυνόμενοι στην χρήση αντιβιοτικών, ανέπτυξαν μηχανισμούς ανθεκτικότητας έναντι των μικροοργανισμών. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργήθηκαν ακόμα πιο ανθεκτικά στελέχη, πιο επιβλαβή για τον καταναλωτή, εντείνοντας την ανάγκη για προστασία των τροφίμων από οποιαδήποτε επιμόλυνση καθώς και την ανάγκη για θεραπεία και πρόληψη των λοιμώξεων αυτών τόσο για τον άνθρωπο, όσο και για τα παραγωγικά ζώα. Επίσης, είναι σημαντική και η ύδρευση των χωρών, ειδικότερα στις οικονομικά αδύναμες χώρες, η οποία αποτελεί σημαντικό παράγοντα επιμόλυνσης και εξάπλωσης μικροοργανισμών.

Εν κατακλείδι η χρήση αντιβιοτικών στα τρόφιμα, παρότι ήταν ελπιδοφόρα, αποδείχθηκε επικίνδυνη και οι έρευνες έχουν στραφεί στην μελέτη των μηχανισμών άμυνας των μικροοργανισμών και στην πρόληψη της επιμόλυνσης.

ABSTRACT

Food technology is concerned with the production of safe-to-eat food for the consumer. One of the main risks it faces is contamination by microorganisms, which are destructive in terms of the quality of the food and cause serious infections in humans after consuming the contaminated foods.

The microorganisms *Escherichia coli*, *Listeria*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter* are pathogens and among the most important microorganisms in food technology. They are a problem for the economy, the food industries and public health, due to the ease of spreading and contamination of food, causing serious infections in the final consumer and even death. Food technology, through laboratory experiments and clinical trials, tries to reduce the problem of food contamination with microorganisms with the use of antibiotics in productive animals, so that they remain sterile microbiologically and prevent any contamination.

However, knowing that nature is also evolving, microorganisms, defending themselves against the use of antibiotics, have developed mechanisms of resistance against microorganisms. In this way, even more resistant strains were created, more harmful to the consumer, intensifying the need to protect food from any contamination as well as the need for treatment and prevention of these infections for both humans and productive animals. Also important is the water supply of countries, especially in economically weak countries, which is an important factor in the contamination and spread of microorganisms.

In conclusion, the use of antibiotics in food, although promising, proved dangerous and research has turned to the study of the defense mechanisms of microorganisms and the prevention of infection.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή.....	10
Κεφάλαιο 2: Βασικοί παθογόνοι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα.....	12
Κεφάλαιο 3: Η χρήση αντιβιοτικών στην παραγωγή τροφίμων.....	26
3.1) Είδη αντιβιοτικών.....	27
3.2) Χρήση αντιβιοτικών σε παραγωγικά ζώα.....	28
Κεφάλαιο 4: Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των βακτηρίων σε αντιβιοτικά.....	29
4.1) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία.....	29
4.1.1) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>E.Coli</i>	29
4.1.2) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>Listeria</i>	31
4.1.3) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>Campylobacter</i>	37
4.1.4) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>Enterococcus faecalis</i>	40
4.1.5) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>Staphylococcus aureus</i>	42
4.1.6) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>Salmonella</i>	43
4.1.7) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό <i>Shigella</i>	49
4.2) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά.....	59
4.2.1) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό <i>E.Coli</i>	59
4.2.1.1) Ανίχνευση Μηχανισμών Επίκτητης Αντίστασης.....	59
4.2.1.2) Μηχανισμός αντίστασης για <i>tobramycin</i>	62
4.2.1.3) Μηχανισμός αντίστασης για <i>trimethoprim-sulfamethoxazole</i>	63
4.2.1.4) Μηχανισμός αντίστασης για <i>ciprofloxacin</i>	65
4.2.2) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό <i>Campylobacter</i>	66
4.2.2.1) Μηχανισμοί αντίστασης <i>FQ (fluoroquinolone)</i>	67
4.2.2.2) Μηχανισμοί αντίστασης στα <i>macrolides</i>	68
4.2.2.3) Μηχανισμοί αντίστασης <i>florfenicol</i>	70

4.2.2.4) Μηχανισμοί αντίστασης στη β -lactam.....	72
4.2.2.5) Μηχανισμοί αντίστασης στην tetracycline.....	73
4.2.2.6) Μηχανισμοί αντίστασης σε aminoglycosides.....	73
4.2.2.7) Μηχανισμοί MDR.....	74
4.2.3) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό <i>Listeria</i>	79
4.2.4) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό <i>Shigella</i>	83
4.2.4.1) Ρόλος Διαπερατότητας Εξωτερικής Μεμβράνης.....	83
4.2.4.2) Συστήματα εκροής.....	84
4.2.4.3) Αντοχή στα αντιβιοτικά β -lactam.....	85
4.2.4.3.1) Β-λακταμάσες κατηγορίας A.....	85
4.2.4.3.2) Β-λακταμάσες κατηγορίας B.....	86
4.2.4.3.3) Β-λακταμάσες κατηγορίας C.....	87
4.2.4.3.4) Β-λακταμάσες κατηγορίας D.....	88
4.2.4.4) Αντοχή σε quinolone και fluoroquinolone.....	88
4.2.4.5) Αντίσταση στις (fluoro) quinolones λόγω μηχανισμών αντίστασης που διαμεσολαβούνται από plasmids.....	89
4.2.4.6) Αντίσταση στη phosphomycin.....	90
4.2.4.7) Αντοχή σε aminoglycosides.....	90
4.2.4.8) Αντίσταση στην tetracycline.....	91
4.2.4.9) Απομονώσεις <i>Shigella spp</i>	92
4.2.4.10) Αντίσταση Phenicol.....	92
4.2.4.11) Αντίσταση Colistin.....	93
4.2.4.12) Αντίσταση σε sulfonamide και trimethoprim.....	94
4.2.4.13) Αντίσταση στην trimethoprim.....	94
4.2.4.14) Αντοχή στις sulfonamide.....	95
4.2.4.15) Αντίσταση στα Macrolides.....	96
4.2.4.16) Σχηματισμός Βιοφίλμ – Διαμεσολαβούμενη Αντίσταση.....	97
4.2.5) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό <i>Staphylococcus aureus</i>	98
4.2.5.1) Απομονώσεις βακτηρίων.....	99
4.2.5.2) Δοκιμή αντιμικροβιακής ευαισθησίας.....	99

4.2.5.3) Δοκιμή διάχυσης δίσκου oxacillin.....	100
4.2.5.4) Προσδιορισμός γονιδίων μικροβιακής αντοχής και μεταλλάξεων.....	100
4.2.5.5) Δακτυλογράφηση SCCmec.....	100
4.2.5.6) Δοκιμή αντιμικροβιακής ευαισθησίας.....	100
4.2.5.7) Κατανομή γονιδίων αντίστασης.....	102
4.2.5.8) Μεταλλάξεις γονιδίων quinolone και rifampicin.....	102
4.2.5.9) Μηχανισμός αντίστασης στη macrolide.....	104
4.2.5.10) Μηχανισμός αντίστασης στη gentamicin.....	104
4.2.5.11) Μηχανισμός αντίστασης στη tetracycline.....	105
4.2.5.12) Μηχανισμός αντίστασης στη quinolone.....	105
4.2.6) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό Salmonella.....	105
4.2.7) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό Enterococcus faecalis.....	113
4.2.7.1) Εγγενής Ανθεκτικότητα.....	114
4.2.7.1.1) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε β-lactams and cephalosporins.....	114
4.2.7.1.2) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Aminoglycosides.....	115
4.2.7.1.3) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Lincosamides and streptogramins.....	115
4.2.7.1.4) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε β-lactams.....	117
4.2.7.1.5) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Aminoglycosides.....	117
4.2.7.1.6) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Glycopeptides.....	118
4.2.7.1.7) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Streptograms.....	120
4.2.7.1.8) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Linezolid.....	121
4.2.7.1.9) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Daptomycin.....	122
4.2.7.1.10) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Tigecycline.....	123
4.2.7.1.11) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε άλλα αντιβιοτικά.....	124
4.3) Επιδημιολογικά στοιχεία στην ΕΕ και Ελλάδα.....	125
4.3.1) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό Listeria.....	125
4.3.1.1) Είδος και Κατανομή των Ελέγχων - Μικροβιολογικά κριτήρια προς έλεγχο.....	127
4.3.1.2) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων – Συμπεράσματα.....	129
4.3.2.1) Δύναμη και χρονισμός της εποχικής αιχμής.....	130

4.3.2.2) Αποτελέσματα.....	135
4.3.2.3) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων - Συμπεράσματα	136
4.3.3) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό <i>Salmonella</i>	137
4.3.3.1) Ανίχνευση <i>Salmonella spp.</i> σε νοπό κρέας πουλερικών(στη λιανική).....	138
4.3.3.2) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων – Συμπεράσματα.....	140
4.3.4) Επιδημιολογικά στοιχεία στον μικροοργανισμό <i>Staphylococcus aureus</i>	141
4.3.4.1) Αποτελέσματα	142
4.3.4.2) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων - Συμπεράσματα	142
4.3.5) Επιδημιολογικά στοιχεία στην Ελλάδα.....	143
4.3.6)Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό <i>Escherichia coli</i>	144
Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα.....	147
Κεφάλαιο 6: Αρκτικόλεξο.....	148
Κεφάλαιο 7: Βιβλιογραφία.....	149
7.1) Ξένη Βιβλιογραφία.....	149
7.2)Ελληνική Βιβλιογραφία.....	154

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Οι τροφογενείς παθογόνοι μικροοργανισμοί, απασχολούν έντονα τα τελευταία χρόνια την επιστήμη τεχνολογίας τροφίμων, καθώς οι μικροοργανισμοί μολύνουν τα τρόφιμα, τα παραγωγικά ζώα και κατ' επέκταση τον άνθρωπο, ο οποίος αποτελεί και τον τελικό καταναλωτή. Καθότι οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι πάρα πολλοί, στην συγκεκριμένη εργασία θα γίνει πιο λεπτομερής εξέταση σε επτά από αυτούς.

Το βακτήριο *E.coli* είναι ένα αρνητικό κατά Gram, ραβδοειδούς σχήματος κολοβακτήριο, το οποίο συνήθως απαντάται στο έντερο ενδόθερμων ζώων και η ύπαρξη του στα τρόφιμα αποτελεί σημαντικό πρόβλημα. Συναντάται συνήθως σε φρούτα και λαχανικά, λόγω κοπρολοιμώξης, αλλά μπορεί να υπάρξει και σε άλλα τρόφιμα, δηλώνοντας επιμόλυνση τροφίμου. Η μόλυνση από το βακτήριο *E. coli* οδηγεί σε βαριάς μορφής λοίμωξη, η οποία μπορεί να είναι και θανατηφόρα. Γι' αυτόν τον λόγο, η προσπάθεια για πρόληψη, έχει στραφεί στην χρήση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα και συγκεκριμένα στα πουλερικά. Αν δεν αποφευχθεί η νόσηση από τον άνθρωπο, τότε επίσης χορηγούνται διάφορων ειδών αντιβιοτικά έτσι ώστε να προληφθεί κάποια σοβαρή επιπλοκή στην υγεία του ασθενή.

Το βακτήριο *Salmonella* είναι ένα γένος παθογόνων ραβδόμορφων κινητών βακτηρίων, που προκαλεί ποικίλες ασθένειες στο έντερο και το στομάχι. Οι ασθένειες αυτές ονομάζονται *salmonellosis*. Οι δύο κυριότερες κατηγορίες σαλμονέλας είναι η τυφική και η μη τυφική *salmonellosis*. Κυρίως επιμολύνει τροφές που προέρχονται από πουλερικά και αυγά, μπορεί να επιμολύνει όμως και άλλα τρόφιμα. Αποτελεί μείζον πρόβλημα για την δημόσια υγεία, καθώς η λοίμωξη από το βακτήριο *Salmonella* δεν είναι αντιμετωπίσιμη με θεραπεία από αντιβιοτικά, ούτε μπορεί να προληφθεί από τα παραγωγικά ζώα. Μετά την κατάρριψη ότι κάποιου είδους φάρμακα βοηθούν στην αντιμετώπιση της λοίμωξης, οι επιστημονικές έρευνες έχουν στραφεί για την εύρεση θεραπείας και πρόληψης, αφού η λοίμωξη είναι πολύ σοβαρή και επικίνδυνη για τον άνθρωπο και μπορεί να είναι θανάσιμη.

Το βακτήριο *Shigella* είναι ένα γένος βακτηριδίων που είναι αρνητικά κατά Gram, προσθετικά αναερόβια, δε σχηματίζουν σπόρια, μη κινητά, σε σχήμα ράβδου και συνδέονται γενετικά με το *E. coli*. Η επιμόλυνση με το συγκεκριμένο βακτήριο, προκαλεί *sigellosis*, η οποία λοίμωξη είναι πολύ σοβαρή για τον άνθρωπο και σε πολλές περιπτώσεις, οδηγεί στον θάνατο. Η εμφάνιση του βακτηρίου στα τρόφιμα οφείλεται σε λάθος τήρηση των κανόνων υγιεινής τροφίμων και έχει την ικανότητα να αντέχει σε πολλές συνθήκες περιβάλλοντος, καθιστώντας το επικίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Παρότι υπάρχουν αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία σε περίπτωση νόσησης, δεν υπάρχουν αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στα παραγωγικά ζώα και έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε κάποια είδη αντιβιοτικών.

Το βακτήριο *Staphylococcus aureus* είναι ένα παθογόνο Gram-θετικό βακτήριο στρογγυλού σχήματος και ανήκει στην οικογένεια *Micrococcaceae*. Χρηρίζει ιδιαίτερης προσοχής, διότι μπορεί να παρουσιαστεί παντού. Υπάρχει εκ φύσεως στον ανθρώπινο μικροοργανισμό και μπορεί να απομονωθεί από μεγάλη ποικιλία τροφίμων, καθώς και στο έδαφος, νερό και αέρα. Λόγω της εύκολης επιμόλυνσης με το βακτήριο αυτό και λόγω των σοβαρών προβλημάτων υγείας που μπορεί να προκαλέσει κατά την νόσηση, ακόμα και θάνατο, η επιστήμη έχει κάνει σημαντικά βήματα ως προς την χρήση αντιβιοτικών στον άνθρωπο. Επίσης προτείνεται και η χρήση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα ελευθέρως βοσκής για την αποφυγή της επιμόλυνσης.

Το βακτήριο *Campylobacter* είναι ένα γένος αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Το *Campylobacter* εμφανίζεται συνήθως σε σχήμα κόμμα ή s και είναι κινητικό. Ορισμένα είδη *Campylobacter* μπορούν να μολύνουν τον άνθρωπο, προκαλώντας μερικές φορές *campylobacteriosis*, μία λοίμωξη όχι τόσο σοβαρή, μπορεί όμως να προκαλέσει σημαντικά προβλήματα υγείας, καθώς και να καταλήξει σε λοίμωξη απειλητική για την ζωή, σε ευπαθείς ομάδες ατόμων. Κυρίως παρουσιάζεται σε πουλερικά και άλλα κρέατα, αλλά και στο νερό. Λόγω της αυξημένης μεταδοτικότητάς του, αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία. Επομένως συνιστάται η χρήση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα, αλλά και σε ασθενείς με το συγκεκριμένο βακτήριο.

Το βακτήριο *Enterococcus faecalis* είναι ένα Gram θετικό, μη κινητό μικρόβιο, σφαιρικού σχήματος που εμφανίζεται σε ζεύγη ή αλυσίδες. Όλα τα ζωικής προέλευσης τρόφιμα μπορεί να φέρουν τον μικροοργανισμό και επειδή μπορεί να προκληθεί επικίνδυνη για την υγεία λοίμωξη, γίνεται χορήγηση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα για πρόληψη. Σε περίπτωση νόσησης, ο συνδυασμός φαρμάκων χρησιμοποιείται, με θετικά αποτελέσματα.

Το βακτήριο *Listeria* είναι ένα γένος βακτηρίων που δρα ως ενδοκυτταρικό παράσιτο στα θηλαστικά. Η κατανάλωση τροφίμων που είναι επιμολυσμένα με το βακτήριο αυτό, προκαλεί *listeriosis*, μια πολύ σοβαρή λοίμωξη, κυρίως στις ευπαθείς ομάδες. Απαντάται κυρίως σε ζωικής προέλευσης τρόφιμα. Λόγω της αυξημένης θνησιμότητας από επιμόλυνση με το βακτήριο *Listeria*, υπάρχει μεγάλη ποικιλία στα είδη αντιβιοτικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τον άνθρωπο για πρόληψη και θεραπεία και επίσης υπάρχουν αντιβιοτικά για χρήση στα παραγωγικά ζώα.

Μετά από χρόνια χρήσης αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα και ενώ υπήρχε μείωση των κρουσμάτων επιμόλυνσης, παρατηρήθηκε ξανά αύξηση. Έπειτα από έρευνες, παρατηρήθηκε η ύπαρξη ανθεκτικών και υπερανθεκτικών στελεχών των ανωτέρων βακτηρίων. Μέσω της παρατήρησης των μικροοργανισμών, αποκαλύφθηκε ότι λόγω της εξέλιξης, η ανάγκη για επιβίωση των βακτηρίων, οδήγησε στην δημιουργία μηχανισμών ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και προφανώς σε πιο επικίνδυνους για την ανθρώπινη υγεία μικροοργανισμούς. Έτσι αναιρέθηκαν και επανεξετάστηκαν τα

φάρμακα που χρησιμοποιούνταν και τελικά πολλά από αυτά αποδείχθηκαν πλέον άχρηστα.

Στη συγκεκριμένη εργασία θα γίνει ανάπτυξη των μικροοργανισμών αυτών, των απαραίτητων φαρμάκων για την πρόληψη και θεραπεία των αντίστοιχων λοιμώξεων καθώς και μία εκτενής ανάλυση των μηχανισμών ανθεκτικότητας που ανέπτυξαν. Επίσης θα αναπτυχθούν οι επιπτώσεις στην δημόσια υγεία που προκύπτουν, θα υπάρξει στατιστική έκθεση των κρουσμάτων και συμπερασματικά θα δοθούν πιθανοί τρόποι πρόληψης και θεραπείας.

Κεφάλαιο 2: Βασικοί παθογόνοι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα

2.1 *Esherichia Coli*



Εικόνα 2.1.1.: Το βακτήριο *E.coli* (Qi, B., & Han, M., 2018).

Όλα τα βακτήρια που ανήκουν στην οικογένεια *enterobacteeae* ονομάζονται εντεροβακτήρια ή εντεροβακτηριοειδή. Πρόκειται για *Gram*⁻, μη σπορογόνα, αερόβια και αναερόβια βακτήρια. Οι αναπτυσσόμενες τιμές ενεργότητας νερού είναι έως και <0,95 ενώ οι υπόλοιπες δεν αναπτύσσονται. Επιπλέον, τα εντεροβακτήρια έχουν pH: 7.0-7.2, αναπτύσσονται σε θερμοκρασιακό εύρος μεταξύ 7 - 46°C (άριστη τιμή επώασης 30-42°C). Τα εντεροβακτήρια κατατάσσονται σε κολοβακτηριοειδή (τα οποία ζυμώνουν την λακτόζη) και μη κολοβακτηριοειδή εντεροβακτήρια. Τα κολοβακτηριοειδή κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες οι οποίες είναι τα εντερικής προέλευσης (αναπτύσσονται στον εντερικό σωλήνα των ανθρώπων και ορισμένων ζώων) και μη εντερικής προέλευσης (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ. 39).

Σε αυτό το σημείο θα γίνει αναφορά σε ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα των κολοβακτηριοειδών εντερικής προέλευσης, την *Eherichia coli*. Το είδος αυτό προέρχεται σταθερά από τον εντερικό σωλήνα, όπου σαρποφυτεί και πολλαπλασιάζεται. Είναι ο πρώτος μικροοργανισμός που βρίσκεται εντός κοπράνων και αποτελεί δείκτη εντερικής μόλυνσης από τα τρόφιμα. Σχεδόν όλα τα στελέχη του ζυμώνουν τη λακτόζη, αφού παράγουν αέριο και ινδόλη στους 44,5° +/- 0,2°C. Η καταστροφή τους γίνεται με ήπια θερμική επεξεργασία, αφυδάτωση καθώς και κατάψυξη. (Στα επεξεργασμένα τρόφιμα η παρουσία της *E. coli* οφείλεται σε επιμόλυνση) (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ. 39-40).

Τα συμπτώματα που δημιουργεί η *E. coli* είναι κυρίως διάρια και ναυτία, ενώ μεγάλο βαθμό επικινδυνότητας αποτελεί η διάρια που περιέχει αίμα. Όταν κάποιος αρρωσταίνει από τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό νοσεί για 2-15 ημέρες και ανάλογα με την μεταβολή του οργανισμού του κάθε ανθρώπου μπορεί να προκληθεί μέχρι και θανάτωση.

Η *E. coli* (διαρροϊκή) χωρίζεται σε συγκεκριμένες ομάδες με βάση: τους μηχανισμούς παθογένειας, τις μολυσματικές ιδιότητες, τα κλινικά σύνδρομα τους διαφορετικούς ορότυπους. Οι ορότυποι αυτοί είναι: η εντεροπαθογόνος *E. coli* (EPEC), η

εντεροτοξική *E. coli* (ETEC), η εντεροδιδυμική *E. coli* (EIEC), η εντεροδιαχεόμενη *E. coli* (DAEC), η εντεροσυσσωρευόμενη *E. coli* (EAEC), η εντεροαιμορραγική *E. coli* (EHEC).

Εντεροπαθογόνος <i>E. coli</i> (EPEC)	Προκαλούν γαστρεντερίτιδα και σε περιοχές με πολύ κακές συνθήκες υγιεινής προκαλούν διάρροια ,η λεγόμενη και ως «διαρροϊκή <i>E. coli</i> » (diarrheagenic <i>E. coli</i>).
Εντεροτοξική <i>E. coli</i> (ETEC)	Προκαλούν τη λεγόμενη διάρροια των ταξιδιωτών (traveler’s diarrhea) καθώς το παθογόνο αίτιο της διάρροιας είναι τοξίνη ή τοξίνες.
Εντεροδιδυμική <i>E. coli</i> (EIEC)	Τα στελέχη του εντεροεισβάλλοντος <i>E. coli</i> (enteroinvasive <i>E. coli</i> – EIEC) είναι αίτιο πρόκλησης δυσεντερίας (dysentery) παρόμοιας με αυτή της σιγκέλωσης. Τα βακτήρια της ομάδας εισβάλλουν στα (ευκαρυωτικά) κύτταρα του επιθηλιακού ιστού
Εντεροδιαχεόμενη <i>E. coli</i> (DAEC)	Προκαλεί διάρροια σε νεαρά άτομα ηλικίας από 1-5 χρονών. Το αίτιο που τα άτομα της ηλικίας αυτής είναι ευπρόσβλητα δεν είναι γνωστό
Εντεροαιμορραγική <i>E. coli</i> (EHEC)	Ο ορότυπος O157:H7 προκαλεί γαστρεντερίτιδα μέσω τοξινών που παράγει και καλούνται «βεροτοξίνες» (verotoxin – VTI) ή τοξίνες του τύπου «Shiga», διότι εντεροαιμορραγική <i>E. coli</i> (EHEC) (verotoxin – VTI) ή τοξίνες του τύπου «Shiga», διότι μοιάζουν με τις τοξίνες που παράγει το βακτήριο <i>Shigella dysenteriae</i> . Επιπλέον ο ορότυπος μπορεί να προκαλέσει νοσηρές καταστάσεις ακόμα και σε πολύ μικρούς αριθμούς 0.3- 15 cfu/g.

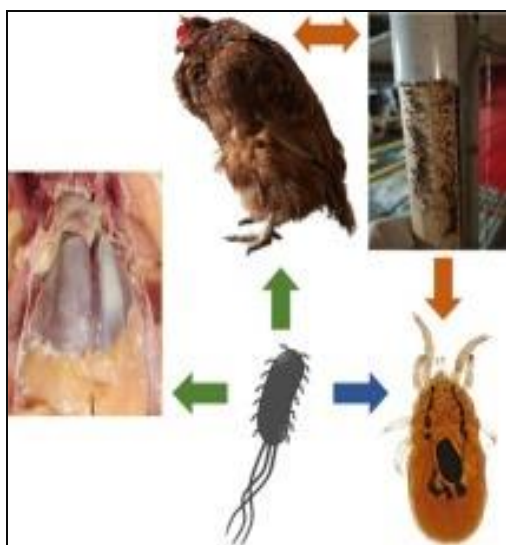
Πίνακας 2.1.1. Παθογένεια ανάλογα με το είδος (Garrine, 2020).

Η *E. coli* O157:H7 εμφανίστηκε το 1982 ως παθογόνος μικροοργανισμός. Τις περισσότερες φορές είναι αβλαβής . Τα πρώτα περιστατικά ασθένειας προκλήθηκαν με την κατανάλωση προϊόντων βοδινού. Ωστόσο, τον τελευταίο καιρό έχει γίνει κάποια συσχέτιση μεταξύ ασθενειών - μολυσμένων φρούτων και λαχανικών (λόγω κοπρολύμωξης από διάφορα λιπάσματα καθώς και περιττώματα ζώων που έχουν επιμολύνει το ίδιο το προϊόν), των μη καλά παστεριωμένων χυμών και γάλακτος και του νερού που χρησιμοποιείται για ψυχαγωγία (λίμνες, πισίνες και υδάτινα πάρκα), Επίσης η μετάδοσή της από άτομο σε άτομο. Ο οργανισμός έχει αποκτήσει πολλά εργαλεία κάποια από τα οποία είναι η παραγωγή της τοξίνης *Stx* (*Shiga-toxin*) και ικανότητα προσβολής και πρόσδεσης του επιθηλίου του εντέρου. Κάτι τέτοιο έχει ως

αποτέλεσμα την διευκόλυνση της επιβίωσής του μέσα σε έναν ξενιστή που μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ασθένεια.

Όλα τα στελέχη *EHEC* παράγουν κυτοτοξικούς παράγοντες για τα νεφρικά κύτταρα (Vero) του πράσινου αφρικανικού πιθήκου. Έτσι, ονομάζονται βεροτοξίνες ή Shiga - τοξίνες (Stxs), λόγω της ομοιότητάς τους με την Stx που παράγεται από τη *Shigella dysenteriae*.

Οι μολύνσεις από *E. coli* που παράγουν *Shiga-toxin (Stx)* συνδέονται με μια πολύ σοβαρή και ορισμένες φορές θανατηφόρα κατάσταση, το αιμολυτικό - ουραιμικό σύνδρομο (*HUS*)(στο οποίο μπορεί να προκληθεί ασθένεια με λιγότερα από 100 κύτταρα).



Η επικινδυνότητα της ασθένειας χαρακτηρίζει την *E. coli* ως ένα από τα πιο σοβαρά, επικίνδυνα, τροφογενή παθογόνα. Η ασθένεια που προκαλείται από αυτό το παθογόνο έχει συνδεθεί με την κατανάλωση μιας ποικιλίας τροφών. Επιπλέον, το νερό πισινών και το πόσιμο νερό είναι επίσης φορείς μετάδοσης μόλυνσης της *E. coli* O157:H7. Τα βοοειδή με τον ελλειπώς μαγειρεμένο βοδινό κιμά να είναι ένας συχνός φορέας μετάδοσης του μικροοργανισμού. (ιδανική θερμοκρασία 160 °F). Τέλος είναι απαραίτητη η πλύση των φρούτων και λαχανικών πριν την κατανάλωση.

Εικόνα 2.1.2. Η επιρροή της *E. coli* στα τρόφιμα

Η ανθεκτικότητα στα οξέα είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό για την καταπολέμηση του παθογόνου αυτού. Τα στελέχη της *EHEC* (εκτός από το O157:H7), συσχετίζονται όλο και περισσότερο με περιστατικά HUS. Η παραγωγή των *Stx* είναι ένα σημαντικό σημείο μολυσματικότητας της *E. coli* O157:H7. Μπορούμε να διαχωρίσουμε εύκολα την *E. coli* O157:H7 από τα υπόλοιπα στελέχη της *E. coli*, βασιζόμενοι σε κάποιο βιοχημικό χαρακτηριστικό, όπως την απουσία παραγωγής β-γλυκουρονιδάσης και την ανικανότητα ζύμωσης της σορβιτόλης.

2.2 Salmonella



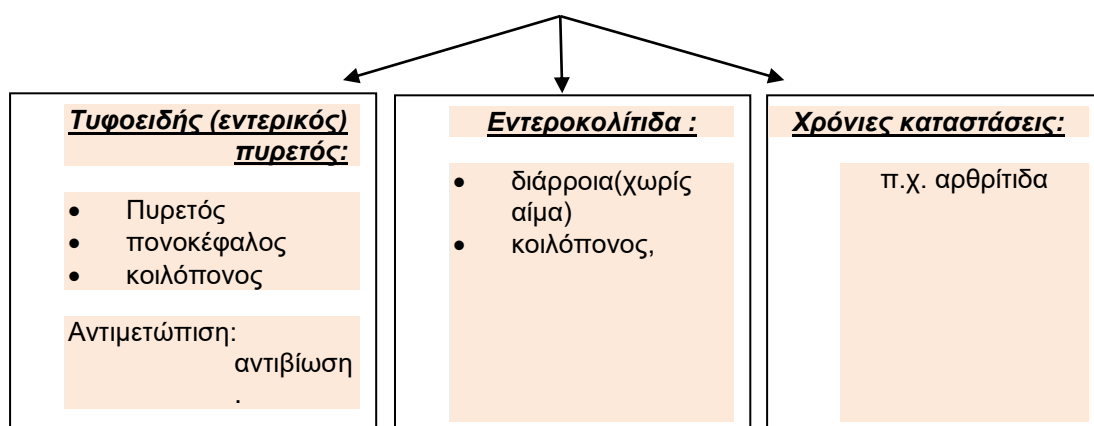
Εικόνα 2.2.1. Το είδος *Salmonella* (Shutterstock, 2018).

Η *Salmonella* κατατάσσεται στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*. Είναι κοκοβακτηρίδιο Gram⁻, κατά βάση αερόβιο ή σε ορισμένες περιπτώσεις προαιρετικά αναερόβιο, μη σπορογόνο. Δεν έχει έλυτρο, είναι κινητό κι έχει περίτριχες βλεφαρίδες. Η *Salmonella* παράγει καταλάση, ενώ συνήθως δεν ζυμώνει την λακτόζη και την σακχαρόζη. (Συχνά χρησιμοποιούν κιτρικά ιόντα ως πηγή άνθρακα). Αναπτύσσεται σε όρια 6 - 45°C, με καταλληλότερη θερμοκρασία ανάπτυξης να αγγίζει τους 37°C, ωστόσο αντέχει ικανοποιητικά και σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Το pH της αναπτύσσεται από 4,1 έως 9,0. Επιπλέον, η ελάχιστη τιμή ενεργότητας ύδατος που απαιτείται για την ανάπτυξη της *Salmonella* διαφέρει ανάλογα με το είδος του προϊόντος, ενώ συνήθως βρίσκεται μεταξύ $a_w = 0,94$ και 0,95. Κάποια από τα πιο γνωστά είδη του γένους *Salmonella* είναι : *S. typhimurium*, *S. enteridis*, *S. anatum* (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ. 93).

Συχνά, έχουμε κρούσματα σε τροφές που προέρχονται από πουλερικά και αυγά, λιγότερα κρούσματα σε άλλα κρέατα (π.χ. κοτόπουλα) καθώς και σε αλλαντικά (π.χ. σαλάμι) και τυριά. Σπάνια παρουσιάζονται κρούσματα σε ψάρια και σε λαχανικά λόγω κακής υγιεινής και μολυσμένου νερού.

Το είδος *Salmonella* προκαλεί τροφικές δηλητηριάσεις. Κάτι τέτοιο εξαρτάται συνήθως από τον αριθμό των βακτηρίων, την μολυσματική ικανότητα του στελέχους και την ανθεκτικότητα του οργανισμού, που έχουν εμφανιστεί με το τρόφιμο. Ένα επιπλέον αίτιο μόλυνσης είναι οι ζωοτροφές με ζωικά υπολείμματα σφαγείων και η υπερεντατική εκτροφή ζώων. Ελάχιστα κύτταρα (1cfu/gr) μπορεί να αρκούν για την πρόκληση ασθένειας ενώ η εμφάνιση των κυττάρων σε λιπώδη μικκύλια έχει ως αποτέλεσμα την προστασία και επιβίωση του μικροοργανισμού σε λιπαρά τρόφιμα. (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ.93-94). Ορισμένες είναι οι φορές που πλήθος τροφίμων είναι δυνατό να περιέχουν ακόμα και μεγάλο αριθμό *Salmonella*, χωρίς να παρουσιάζουν αλλοιώσεις στην εμφάνιση, την οσμή ή την γεύση τους. Επίσης, η *Salmonella* όταν παρουσιαστεί προκαλεί πρόσδεση και εισβολή σε επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου καθώς και προκαλεί έκκριση διαρροϊκών εντεροτοξινών η οποία διακρίνεται σε:

Έκκριση διαρροϊκών εντεροτοξινών



Πίνακας 2.1.1: Διαρρικές Εντεροτοξίνες (Wang & Haixiu, 2019)

Ο μικροοργανισμός *Salmonella* καταστρέφεται με παστερίωση, ή με πολύ καλό μαγείρεμα. Επίσης για την αποφυγή του, πρέπει να προμηθεύουμε ζωτροφές χωρίς ζωικά υπολείμματα σφαγείων. Οι μορφές εκτροφής των ζώων και των ψαριών πρέπει να είναι λιγότερο εντατικές. Τέλος είναι απαραίτητη η καλή ατομική υγιεινή τόσο στον εξοπλισμό, όσο και στην γραμμή παραγωγής και συντήρησης τροφίμων.

2.3 *Shigella*



Εικόνα 2.3.1.: Το είδος *Shigella* (Higgins D. & Oosthuizen J., 2018)

Οι *Shigella* είναι ραβδιά της οικογένειας *Enterobacteriaceae*, παρόμοια με την *Escherichia coli* and *Salmonella*. Το *Shigella* περιλαμβάνει τέσσερις υποομάδες οι οποίες είναι :*S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. dysenteriae* και *S. boydii* (οι οποίες είναι υπεύθυνες για την σιγκέλλωση). Είναι τα μόνα στην οικογένεια *Enterobacteriaceae* που ζυμώνουν την λακτόζη. Είναι Gram⁻, προαιρετικά αναερόβια, μη σπορογόνα . Επίσης επιβιώνουν σε τιμές pH που κυμαίνονται από 2- 6, ενώ η ιδανική τιμή του pH είναι 2-3. Είναι ευαίσθητα σε θέρμανση και ακτινοβολία ενώ επιβιώνουν καλύτερα

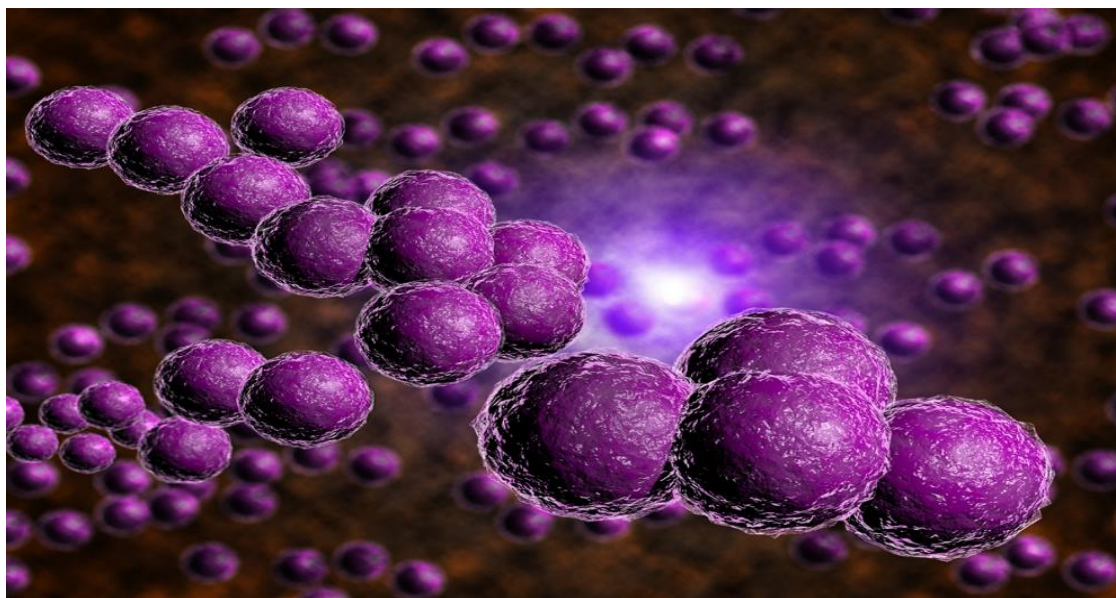
υπό ψύξη και κατάψυξη, παρά σε θερμοκρασία δωματίου. Η θερμοκρασία που αναπτύσσεται είναι μεταξύ 4-40°C, ενώ η βέλτιστη θερμοκρασία είναι 37-40°C. Η ενεργότητα νερού(a_w) είναι 0.96. Ακόμα η *Shigella* είναι ανθεκτική σε οξύ και αλάτι (0,5-9,0%). Η πιθανότητα ανάπτυξης του συγκεκριμένου βακτηρίου επηρεάζεται από την συνύπαρξη των παραπάνω μεταβλητών(αλάτι, θερμοκρασία, pH). Για παράδειγμα αναστέλλεται με 4% NaCl και όξινο pH.

Το βακτήριο *Shigella* εξαπλώνεται μέσω μολυσμένου νερού και τροφής ή μέσω επαφής με μολυσμένα κόπρανα. Τα φαγητά που είναι επιμολυσμένα με *Shigella* είναι εκείνα που ο χειριστής δεν τα έχει προστατέψει με μεθόδους υγιεινής . Επιβιώνει σε έτοιμα φαγητά ,σε φρούτα και λαχανικά χαμηλού pH και σε φαγητά που βρίσκονται σε συσκευασίες με τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Επιπλέον οι μέθοδοι εύρεσης επιμόλυνσης από *Shigella* περιλαμβάνουν συμβατικές μεθόδους της κάθε κουλτούρας, ανοσολογικές μεθόδους και μοριακές μικροβιολογικές μεθόδους.

Τα κυριότερα συμπτώματα της σιγκέλλωσης είναι τα αιματώδη, βλενώδη κόπρανα με κοιλόπονο (δυσεντερία) και αρκετές φορές μαζί με θανατηφόρο τυφοειδή πυρετό με υψηλά ποσοστά θανάτου. Εμφανίζονται εντός 3 ημερών ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις, τα συμπτώματα της λοίμωξης μπορεί να εμφανιστούν έως και μια εβδομάδα μετά την επαφή με το *Shigella*. Τα βακτήρια που ερεθίζουν τα έντερα απελευθερώνουν τοξίνες. Το βακτήριο αυτό ανυχεύεται δύσκολα ,είναι αυτοπεριοριζόμενο αλλά ωστόσο, δεν αποκλείεται χρήση αντιβιοτικών ή και εισαγωγή σε νοσοκομείο σε οξεία περιστατικά.

Για την αποφυγή της είναι πολύ σημαντικό να υπάρχει καλή ατομική υγιεινή καθώς και σωστή χλωρίωση νερού καθώς και πολλαπλά αντιβιοτικά (τα πιο αποτελεσματικά αντιβιοτικά είναι *norfloxacin* ,*ciprofloxacin*). Δυστυχώς, δεν υπάρχει διαθέσιμο εμβόλιο κατά της σιγκέλλωσης παρά τις πολλαπλές και ποικίλες στρατηγικές σχεδιασμού εμβολίων καθώς οι έρευνες είναι υπό εξέλιξη.

2.4 *Staphylococcus aureus*



Εικόνα 2.4.11: Το είδος *Staphylococcus aureus* (Shutterstock, 2003).

Ο *Staphylococcus aureus* ανήκει στην οικογένεια *Micrococcaceae*, στο γένος *Staphylococcus*. Η οικογένεια αποτελείται από τρία γένη τα οποία είναι: ο *Staphylococcus*, ο *Micrococcus* και ο *Planococcus*. Ο *Staphylococcus* έχει κόκκους Gram⁺, παράγει καταλάση, ζυμώνει την γλυκόζη, είναι προαιρετικά αναερόβιος και δεν έχει εύκολη κινητικότητα. Υπάρχουν κάποιες συγκεκριμένες διαφορές μεταξύ τους και με αυτό τον τρόπο διακρίνονται. Ο *Micrococcaceae* έχει κόκκους Gram⁺, παράγει καταλάση, δεν ζυμώνει την γλυκόζη, δεν είναι προαιρετικά αναερόβιος και δεν έχει εύκολη κινητικότητα. Ο *Planococcus* έχει κόκκους Gram⁺, παράγει καταλάση, δεν ζυμώνει την γλυκόζη, δεν είναι προαιρετικά αναερόβιος αλλά έχει εύκολη κινητικότητα (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ.57).

Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένα βακτήριο Gram⁺, δυνητικά αναερόβιο, θετικό σε καταλάση. Ζυμώνει την γλυκόζη και είναι θετικό σε πηκτινάση (*coagulase*). Επίσης έχει μορφή κόκκου και εμφανίζεται σε ζεύγη, μικρές αλυσίδες, ή συσσωματώματα με μορφή τσαμπιών σταφυλιού. Ορισμένα από τα στελέχη του, παράγουν μια ιδιαίτερα θερμοανθεκτική πρωτεϊνική τοξίνη, η οποία είναι ικανή να προκαλέσει τροφικές δηλητηριάσεις στον άνθρωπο. Η θερμοκρασία ανάπτυξης του βακτηρίου αυτού είναι από 10-42°C, με ιδανική θερμοκρασία 35-40°C. Έχει 6,0-7,0 pH και α_w 0,98, ενώ η θερμοκρασία για την ανάπτυξη της τοξίνης είναι 40-45°C, με 7,8-8,6 pH και α_w 0,98. Επιπλέον μπορεί να αναπτύσσεται σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος (έως 20%). Σε συγκεντρώσεις άλατος έως και 10% παράγεται εντεροτοξίνη και αναστέλλεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Οι σταφυλόκοκκοι δεν αναπτύσσονται εύκολα με την παρουσία άλλων μικροοργανισμών όμως πολλά βακτήρια των τροφίμων, εμποδίζουν την ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus* και την ικανότητα τους να παράγει εντεροτοξίνη.

Ο *Staphylococcus aureus* εντοπίζεται σχεδόν παντού. Στον αέρα, στο έδαφος, στο νερό, στα λύματα, στα φυτά και τα προϊόντα τους, στον άνθρωπο, στα θερμόαιμα ζώα αλλά και στα κρέατα και στα προϊόντα τους, σε πουλερικά και σε αυγά, στις σαλάτες με αυγά, σε τόνο, σε κοτόπουλο πατάτες, σε μακαρόνια, σε προϊόντα αρτοποιίας, σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα.

Οι κύριοι υπεύθυνοι των τροφικών δηλητηριάσεων από *Staphylococcus aureus* είναι οι χειριστές τροφίμων, καθώς επίσης και ο μηχανολογικός εξοπλισμός που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία των τροφίμων που έχει ως αποτέλεσμα την ένδειξη ελλιπούς υγιεινής.

Πολλά στελέχη παράγουν τοξίνες που προκαλούν τροφικές δηλητηριάσεις, οι λεγόμενες σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες. Είναι θερμοανθεκτικές, δεν αδρανοποιούνται κατά την παστερίωση, αλλά σε υψηλή θερμοκρασία 100 °C, 30 min. Επιπλέον έχουν νευροτοξική δράση, είναι ανθεκτικές στα πρωτεολυτικά ένζυμα του στομάχου καθώς και απαιτείται πληθυσμός βακτηρίων $\geq 10^6$ /gr τροφίμου .

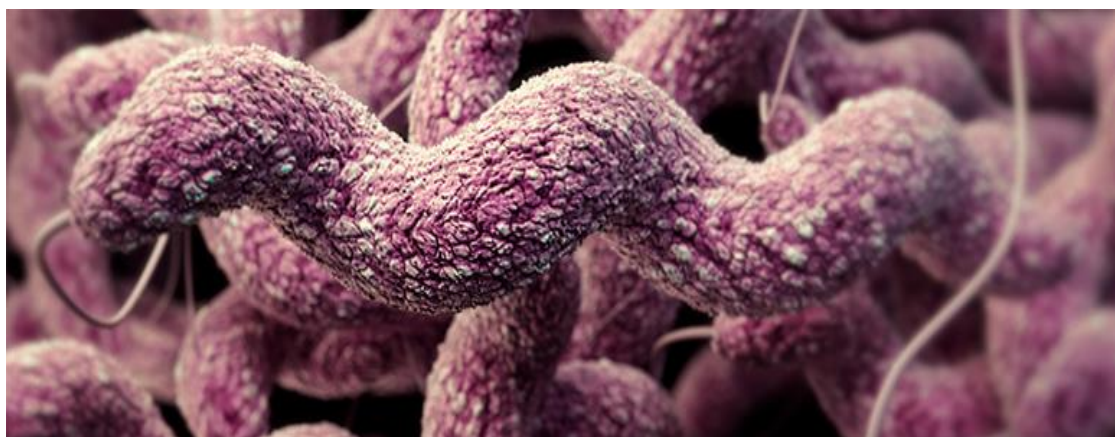
Η τροφική δηλητηρίαση προκαλείται με τη λήψη των εντεροτοξινών που παράγονται από τον *Staphylococcus aureus*. Ο μικροοργανισμός αυτός καταστρέφεται εύκολα με την θερμική επεξεργασία και με τη χρήση απολυμαντικών (χωρίς όμως να καταστρέφεται και η τοξίνη). Η τοξίνη παράγεται όταν το επιμολυσμένο τρόφιμο έχει μείνει εκτεθειμένο σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 4 ώρες.

Τα συμπτώματα δηλητηρίασης από *Staphylococcus aureus* είναι κυρίως ναυτία, εμετός, κοιλιακές κράμπες και σε πιο βαριές περιπτώσεις πονοκέφαλοι, μυϊκοί σπασμοί και ανωμαλίες στην πίεση του αίματος και τον σφυγμό. Εμφανίζονται

ραγδαία μετά την κατανάλωση τροφής που περιέχει την εντεροτοξίνη (συνήθως από 30 λεπτά ως και 8 ώρες), ανάλογα με την ευαισθησία του ατόμου στην τοξίνη, την ποσότητα μολυσμένης τροφής που καταναλώθηκε, και την γενική κατάσταση της υγείας του ατόμου.

Συμπερασματικά, για να αποφύγουμε τον *Staphylococcus aureus* θα πρέπει η θερμοκρασία διατήρησης μαγειρεμένων φαγητών να είναι είτε μικρότερη των 7,2 °C είτε μεγαλύτερη των 60 °C. Τέλος, θα πρέπει να τηρούνται οι ορθοί κανόνες υγιεινής του προσωπικού, του εξοπλισμού καθώς και του χώρου επεξεργασίας των τροφίμων.

2.5 *Campylobacter*



Εικόνα 2.5.1: Το είδος *Campylobacter* (CDC, 2021)

Το *Campylobacter* ανήκει στην οικογένεια *Campylobacteraceae*. Είναι ένα γένος Gram⁻. Εμφανίζεται συνήθως σε σχήμα κόμμα ή s, σαν καμπύλη και κινείται μέσω διπολικής ή μονοπολικής μαστίγας. Αναπτύσσεται στους 0-42°C και ιδανικά μεταξύ 37-42 °C σε μικροαερόφιλο περιβάλλον ενώ έχει ενεργότητα νερού (a_w) : 0.987 και pH 6.5–7.5. Τα περισσότερα είδη *Campylobacter* με τη δοκιμή οξειδάσης είναι θετικά και τη δοκιμή καταλάσης και είναι σε θέση να μειώσουν τα νιτρικά. Ο αριθμός των γνωστών στελεχών *Campylobacter* αυξάνεται και μετατρέπεται σε ανθεκτική σε κινολόνη. Αυτό οφείλεται στην υπερβολική χρήση αντιβιοτικών κινολόνης στη ζωοτροφή.

Ορισμένα είδη *Campylobacter* μπορούν να μολύνουν τον άνθρωπο, προκαλώντας μερικές φορές μια γαστρεντερική λοίμωξη στους ανθρώπους την λεγόμενη *Campylobacteriosis*. Η *Campylobacteriosis* είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη και δεν απαιτείται αντιμικροβιακή θεραπεία συχνά (λόγω του ότι το *Campylobacter* είναι ευαίσθητο στην κανονική παραγωγή υδροχλωρικού οξέος στο στομάχι κι έτσι η μολυσματική δόση είναι σχετικά υψηλή και τα βακτήρια δεν αντιδρούν σε αυτό), εκτός από σοβαρές περιπτώσεις ή ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς.

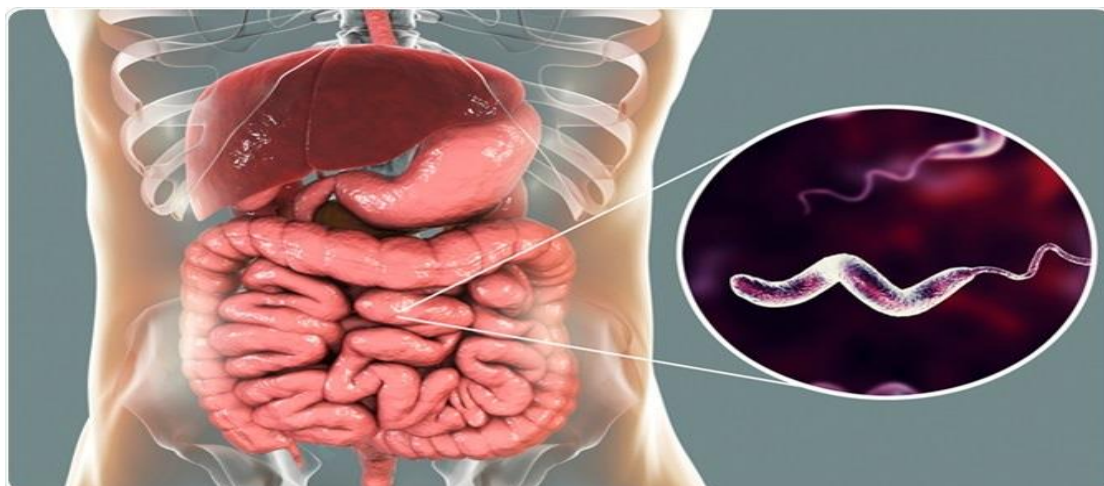
Μια από τις πιο γνωστές πηγές για το *Campylobacter* είναι τα πουλερικά (ωμά ή υπο-μαγειρεμένα), αλλά λόγω της διαφορετικής φυσικής τους δεξαμενής, το *Campylobacter spp.*, πολύ συχνά μπορεί επίσης να μεταδοθεί μέσω νερού. Άλλες γνωστές πηγές μολύνσεων από *Campylobacter* περιλαμβάνουν προϊόντα διατροφής, όπως μη παστεριωμένο γάλα και μολυσμένα φρέσκα προϊόντα. Μερικές φορές η

πηγή μόλυνσης μπορεί να είναι η άμεση επαφή με μολυσμένα ζώα, τα οποία συχνά μεταφέρουν το *Campylobacter* ασυμπτωματικά. Τουλάχιστον δώδεκα είδη *Campylobacter* έχουν εμπλακεί σε ανθρώπινες ασθένειες, με το *C. jejuni* (80-90%) και το *C. coli* (5-10%) να είναι το πιο κοινό.

Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι στο Ηνωμένο Βασίλειο, τον Ιανουάριο του 2013, η Υπηρεσία Προτύπων Τροφίμων του Ηνωμένου Βασιλείου (*FSA*) προειδοποίησε ότι τα δύο τρίτα όλων των ωμών κοτόπουλων που αγοράστηκαν από καταστήματα του Ηνωμένου Βασιλείου ήταν μολυσμένα με αυτό το βακτήριο έχοντας ως συνέπεια την επιρροή περίπου μισών εκατομμυρίων ανθρώπων ετησίως και σκοτώνοντας περίπου 100 από αυτούς. Τον Ιούνιο του 2014, η *FSA* ξεκίνησε μια επαναστάτωση κατά της πλύσης ωμού κοτόπουλου, καθώς το πλύσιμο μπορεί να διαδώσει μικρόβια σε καθαρές επιφάνειες με πιτσίλισμα. Έπειτα, τον Μάιο του 2015, τα αθροιστικά αποτελέσματα για δείγματα που ελήφθησαν από φρέσκα κοτόπουλα μεταξύ Φεβρουαρίου 2014 και Φεβρουαρίου 2015 δημοσιεύθηκαν από την *FSA* και μας έδειξαν ότι το 73% των κοτόπουλων ήταν θετικό για την παρουσία *Campylobacter*.

Το *C. jejuni* είναι μία από τις κύριες αιτίες βακτηριακών τροφιμογενών ασθενειών σε πολλές ανεπτυγμένες χώρες. Το *C. jejuni* όταν βρίσκεται σε ατμοσφαιρικό οξυγόνο είναι σε θέση να μετατραπεί σε κοκκώδη μορφή. Τα περισσότερα στελέχη του *C. jejuni* παράγουν κυτταροπαθική απομακρυνόμενη τοξίνη, η οποία αναβάλλει την διαίρεση του κυττάρου και εμποδίζει την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτό βοηθά ώστε τα βακτήρια να αποφύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα και να επιβιώσουν για περιορισμένο χρονικό διάστημα μέσα στα εντερικά κύτταρα. Η μόλυνση από *C. jejuni* μπορεί να προκαλέσει βακτηριαμία σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, (ενώ το *C. lari* είναι μια γνωστή αιτία επαναλαμβανόμενης διάρροιας σε παιδιά). Το έμβρυο αυτό έχει την δυνατότητα να προκαλέσει αυθόρμητες αμβλώσεις σε βοοειδή και πρόβατα και είναι ευκαιριακό παθογόνο στον άνθρωπο.

Οι βακτηριοφάγοι (ειδικοί για το είδος που είναι τώρα γνωστοί ως *C.coli* και *C. fetus*), απομονώθηκαν για πρώτη φορά από βοοειδή και χοίρους κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1960 και η θεραπεία με βακτηριοφάγο *Campylobacter* είναι ένας συνεχής τομέας έρευνας στην εποχή βακτηριακή αντοχή στα αντιβιοτικά.

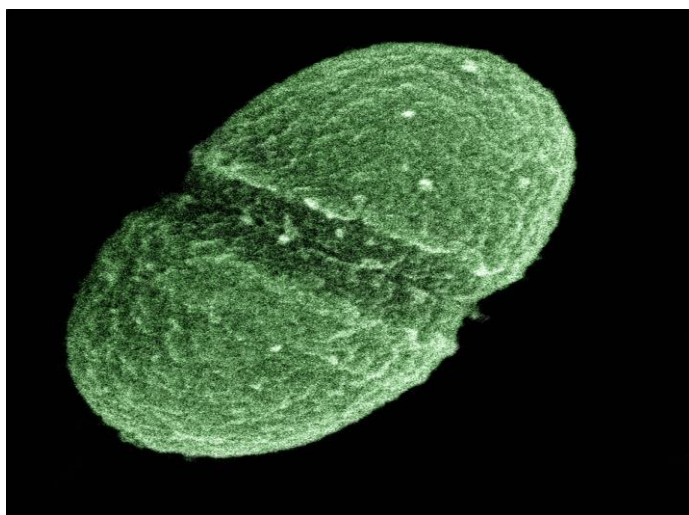


Εικόνα 2.5.2. Επίδραση του μικροοργανισμού *Campylobacter* στον άνθρωπο (Περιοδικό:Με υγεία, 2012)

Σε σπάνιες περιπτώσεις, το *Campylobacter* προκαλεί αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο καθώς και θρομβωτική θρομβοκυτταροπενική πορφύρα (αν και δεν υπάρχουν σαφείς αναφορές περιπτώσεων). Σε ορισμένες περιπτώσεις, μια λοίμωξη από *Campylobacter* μπορεί να είναι η καθοριστική αιτία του συνδρόμου *Guillain-Barré*.

Η μόλυνση από *Campylobacter* είναι συνήθως αυτό περιοριζόμενη. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η συμπτωματική θεραπεία με ηλεκτρολύτες και με αντικατάσταση υγρών είναι αρκετή για τη θεραπεία λοιμώξεων από τον άνθρωπο. Τα συμπτώματα συνήθως διαρκούν 5-7 ημέρες. Η θεραπεία με αντιβιοτικά έχει μικρή επίδραση και αποθαρρύνεται (εκτός από ασθενείς υψηλού κινδύνου). Η διάγνωση της καμπυλοβακτηρίωσης γίνεται με εξέταση δείγματος κοπράνων. Η θεραπεία σε περιπτώσεις υψηλού κινδύνου είναι η αξιθρομυκίνη που είναι ένα αντιβιοτικό μακρολιδίου. Σε περίπτωση συστηματικής λοίμωξης, χρησιμοποιούνται άλλα βακτηριοκτόνα αντιβιοτικά, όπως αμπικιλίνη, αμοξικιλίνη / κλαβουλανικό οξύ ή αμινογλυκοσίδες. Εκτός από τα αντιβιοτικά, τα αφυδατωμένα παιδιά μπορεί να χρειάζονται ενδοφλέβια υγρή θεραπεία σε νοσοκομείο.

2.6 *Enterococcus faecalis*



Εικόνα 2.6.1.: Το είδος *Enterococcus faecalis* (Andrewes & Horder, 2009) .

Το *E. faecalis* ανήκει στην οικογένεια *Enterococcaceae*. Είναι ένα Gram⁺, μη κινητικό μικρόβιο. Ζυμώνει τη γλυκόζη χωρίς παραγωγή αερίου και δεν προκαλεί αντίδραση καταλάσης με υπεροξείδιο του υδρογόνου. Αναπτύσσεται σταθερά σε ολόκληρο το θρεπτικό ζωμό και είναι προαιρετικά αναερόβιο. Καταβολίζει μια ποικιλία πηγών ενέργειας, όπως γλυκερόλη, γαλακτικό, μηλικό, κιτρικό άλας, αργινίνη, αγματίνη και πολλά κετοξέα. Οι εντερόκοκκοι επιβιώνουν σε πολύ σκληρά περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένων εξαιρετικά αλκαλικών pH (9,6) και συγκεντρώσεων αλατιού. Αντέχουν σε χολικά άλατα, απορρυπαντικά, βαρέα μέταλλα, αιθανόλη, αζίδιο και αποξήρανση. Μπορούν να αναπτυχθούν στην περιοχή από 10 έως 45 ° C και να επιβιώσουν σε θερμοκρασίες 60 °C για 30 λεπτά. Η ενεργότητα νερού (a_w) τους κυμαίνεται μεταξύ 0.97-0.997.

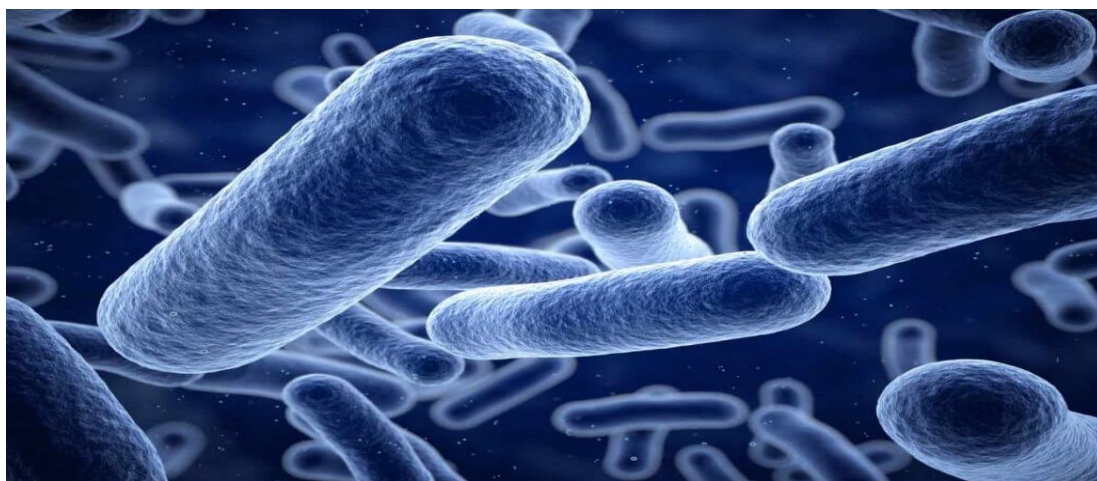
Ο μικροοργανισμός αυτός μπορεί να μεταφερθεί από ασθενή σε ασθενή σε νοσοκομειακό περιβάλλον, είτε να αποκτηθεί από την κατανάλωση μολυσμένου

τροφίμου ή νερού. Μια κύρια πηγή μόλυνσης είναι όλα τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης .

Το *E. faecalis*, όπως και άλλα είδη του γένους *Enterococcus*, βρίσκεται σε υγιείς ανθρώπους, ενώ μπορεί να προκαλέσει απειλητικές λοιμώξεις για τη ζωή. Πιο συγκεκριμένα δημιουργεί ενδοκαρδίτιδα και σήψη, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (ουρολοιμώξεις), μηνιγγίτιδα και άλλες λοιμώξεις στον άνθρωπο. Αρκετοί παράγοντες μολυσματικότητας πιστεύεται ότι συμβάλλουν στις λοιμώξεις του *E. faecalis*.

Σύμφωνα με μια μελέτη, η συνδυασμένη φαρμακευτική θεραπεία έχει δείξει αποτελεσματικότητα σε περιπτώσεις σοβαρών λοιμώξεων, όπως για παράδειγμα λοιμώξεις καρδιακών βαλβίδων, έναντι ευαίσθητων στελεχών του *E. faecalis*. Τα στελέχη *E. faecalis* που είναι ευαίσθητα στην *ampicillin* και την *vancomycin* μπορούν να αντιμετωπιστούν με αντιβιοτικά *gentamicin* και *ampicillin*. Γενικότερα δεν υπάρχουν επιπρόσθετοι τρόποι αντιμετώπισης του συγκεκριμένου μικροοργανισμού, καθώς βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό στάδιο.

2.7 Listeria



Εικόνα 2.7.1.: Το είδος *Listeria* (Knutson K., 2017) .

Το γένος *Listeria* αποτελείται από 17 είδη. Κάποια από αυτά είναι: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. murrayi*, *L. grayi*. Μόνο η *L. monocytogenes* προκαλεί τροφικές δηλητηριάσεις στον άνθρωπο (Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ.104).

Η *L. monocytogenes* είναι βακτήριο Gram⁺, μη σπορογόνο, αερόβιο και προαιρετικά αναερόβιο, με κοκκοειδές σχήμα ή μικρής ράβδου. Είναι κινητό σε θερμοκρασίες 20° - 25°C, ενώ ακίνητο είναι σε θερμοκρασία 37°C. Αναπτύσσεται μεταξύ 1° - 44°C , με ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης μεταξύ 30°C-37°C και pH 7,0 .Είναι αρκετά ανθεκτική σε υψηλή αλατότητα (επιβιώνει σε συγκεντρώσεις άλατος ως και 30,5% για 100 ημέρες, στους 4 °C και έχει a_w : 0,97). Επίσης, αναπτύσσεται αρκετά εύκολα (συνήθως σε θερμοκρασία ψύξης (4°C)) λόγω του ψυχρότροφου χαρακτήρα της (Δ. Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ.105-106).

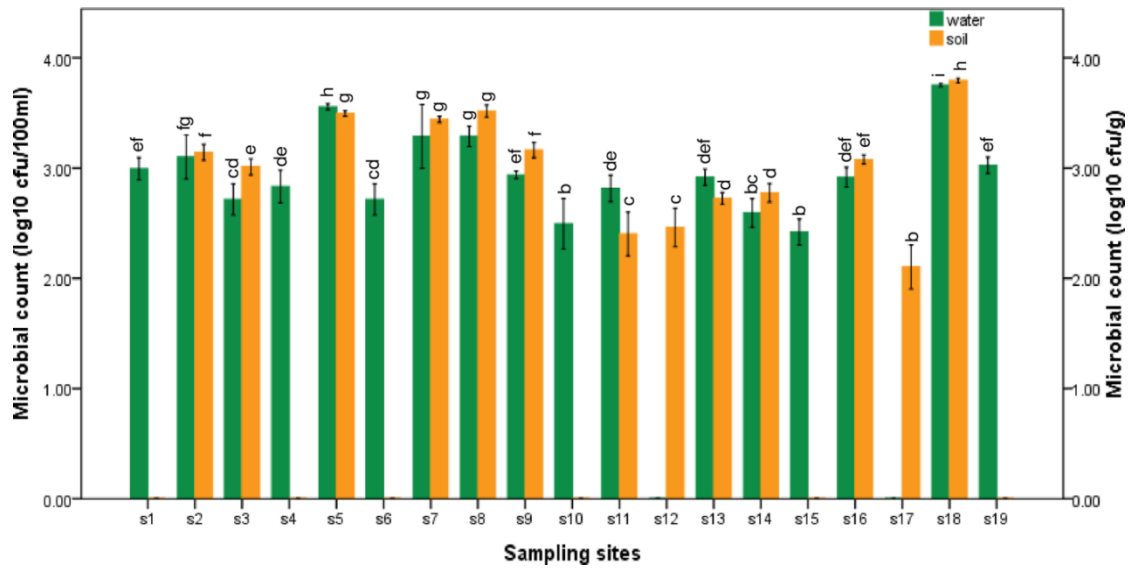
Η παρουσία του συγκεκριμένου είδους βακτηρίου εξαρτάται από το είδος του τροφίμου. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιείται η μέθοδος της *zero tolerance* σε διάφορες τροφές όπως οι παιδικές και αυτό συμβαίνει διότι επιβάλλεται η απουσία του βακτηρίου στα 25g δείγματος και στα σημεία πώλησης του τροφίμου αλλά και σε όλη την διάρκεια της ζωής τους. Τέλος, στα τρόφιμα που δεν μπορούν με κανένα τρόπο να υποστηρίξουν την ανάπτυξη του βακτηρίου, το όριο αποδοχής τους είναι έως 100 cfu/g (στα σημεία πώλησης, σε όλη την διάρκεια ζωής τους). Η ομάδα πληθυσμού που αντιμετωπίζει τον οξύτερο κίνδυνο συγκριτικά με τις υπόλοιπες είναι οι έγκυες και κυρίως το έμβρυο. Έρευνες έχουν δείξει ότι η πιθανότητα παρουσίας συμπτωμάτων λιστερίωσης μία έγκυος είναι 12 φορές μεγαλύτερη από μία γυναίκα που δεν κυοφορεί.

Η λιστερίωση εμφανίστηκε τα τελευταία 25 χρόνια. Ο ελάχιστος αριθμός βακτηρίων, που απαιτείται για την πρόκληση λιστερίωσης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την γενικότερη κατάσταση της υγείας του δέκτη (ξενιστής).

Είναι ιδιαίτερα γνωστή στην φύση η διασπορά της στο περιβάλλον γιατί είναι δυνατόν να απομονωθεί σε μεγάλο πλήθος τροφίμων. Κατά βάση απομονώνεται από έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα διότι τα περισσότερα δεν έχουν υποστεί υψηλή θερμική επεξεργασία και ο βασικός τρόπος συντήρησής τους είναι η ψύξη. Εντοπίζεται συχνά σε νωπό γάλα, κατά κύριο λόγο από τα γαλακτοφόρα ζώα και τις χρησιμοποιούμενες τροφές. Αναπτύσσεται σε όλα τα είδη τροφίμων αλλά επιβιώνει κυρίως στα μαλακά τυριά (0.9%) (κύρια πηγή λιστερίωσης). Αρκετά συχνά παρουσιάζεται και σε κοτόπουλα, σε λουκάνικα καθώς και σε μεγάλο ποσοστό *delicatessen*, ανάλογα πάντα το κρέας (1.8%). Επίσης, εντοπίζεται σε γαρίδες, καραβίδες καθώς και προϊόντα ψαριών (6%), που έχουν ζυμωθεί. Τέλος, λόγω της παρουσίας της στο χόμα και στο νερό, συχνά απομονώνεται από λαχανικά (4.2%), ειδικά από τις ρίζες τους, όπως για παράδειγμα ένα επικίνδυνο λαχανικό είναι το καρότο (Δ. Τυμπής, Πετράκης, & Κοντελής, 2016, Σελ.106).

Τα συμπτώματα της *L. monocytogenes* εμφανίζονται 48-72 ώρες μετά την κατανάλωση τροφής και είναι συνήθως κοιλιακοί πόνοι, διάρροια, πυρετός, μυαλγία, ναυτία, εμετός και άλλες σοβαρότερες μορφές λιστερίωσης όπως σηψαιμία, μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα. Σύμφωνα με μελέτες τα κρούσματα από αυτόν τον μικροοργανισμό τα τελευταία χρόνια πλησιάζουν τα 7,4 ανά 1.000.000 κατοίκους με θνησιμότητα 25-30%.

Σύμφωνα με έρευνες και μελέτες, ο τρόπος αντιμετώπισης της εμφάνισης του συγκεκριμένου μικροοργανισμού είναι εύρεση ενός καλύτερου μοντέλου επεξεργασίας του τροφίμου και συντήρησής αυτού.



Εικόνα 2.7.2.: Κατανομή τεκμαιρόμενου *L. monocytogenes* σε δείγματα νερού άρδευσης (πράσινες ράβδοι) και γεωργικού εδάφους (κίτρινες ράβδοι) που συλλέχθηκαν από τις θέσεις δειγματοληψίας εντός των *DM Amathole* (s1 έως s14) και *Chris Hani* (s15 έως s19), στην επαρχία Eastern Cape της Νότιας Αφρικής. Τα δείγματα σε νερό άρδευσης και γεωργικού εδάφους έγιναν με τη χρήση της τυπικής μεθόδου μέτρησης πλακών, ενώ για την ταυτοποίηση των απομονώσεων χρησιμοποιήθηκε η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). (Iwu and Okoh, 2020).

Μικροοργανισμός (μ/ο)	pH	Ενεργότητα νερού	Θερμοκρασία	Τρόφιμα που εμφανίζεται ο μ/ο.	Συνέπειες μ/ο στον ανθρώπινο οργανισμό	Τρόποι Αντιμετώπισης μ/ο - Θεραπεία
<i>E.coli</i>	7.0 - 7.2	< 0.95	7 - 46 °C	προϊόντα βοδινού, μολυσμένα φρούτα και λαχανικά, μη καλά παστεριωμένοι χυμοί και γάλα, νερό	δυάρια, ναυτία, ασθένεια που μπορεί να καταλήξει σε θανάτωση	μαγείρεμα τροφών σε ιδανικές θερμοκρασίες, καλή ή πλήρη φρούτων, λαχανικών πριν την κατανάλωση
<i>Salmonella</i>	4.1 - 9.0	0.94 - 0.97	6 - 45 °C	πουλερικά, αυγά, λιγότερά κρούσματα από άλλα κρέατα, αλλαντικά, λαχανικά και μολυσμένο νερό	τροφική δηλητηρίαση, τυφοειδής πυρετός, εντεροκολίτιδα, αρθρίτιδα	παστερίωση, καλό μαγείρεμα, ζωοτροφές χωρίς ζωικά υπολείμματα σφαγίων, λιγότερο εντατικές μορφές εκτροφής ζώων, καλή ατομική υγιεινή
<i>Shigella</i>	2.0 - 6.0	0.96	4 - 40 °C	νερό και τρόφιμα, επαφή με μολυσμένα κόπρανα	αιματώδη, βλενώδη κόπρανα, κοιλόπονος, πυρετός	καλή ατομική υγιεινή, σωστή χλωρίωση νερού
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.0 - 7.0	0.98	10 - 42 °C	αέρας, έδαφος, νερό, λύματα, φυτά, κρέατα, πουλερικά, αυγά, σε προϊόντα αρτοποιίας, γαλακτοκομικά προϊόντα	ναυτία, εμετός, κοιλιακές κράμπες, πονοκέφαλος, μυϊκοί σπασμοί, διαφοροποιήσεις στην πίεση του αίματος και στον	θερμική επεξεργασία, χρήση απολυμαντικών
<i>Campylobacter</i>	6.5 - 7.5	0.98	0 - 42 °C	πουλερικά, βοοειδή, νερό μη παστεριωμένο γάλα, μολυσμένα φρέσκα προϊόντα, μολυσμένα ζώα	λοιμώξεις, αιμολυτικός ουραιμικός σύνδρομος, θρομβωτική θρομβοκυτταροπενική ή πορφύρα	συμπτωματική θεραπεία με αντικατάσταση υγρών και ηλεκτρολυτών
<i>Enterococcus faecalis</i>	9.6	0.97 - 0.99	10 - 45 °C	μολυσμένο νερό, τρόφιμα ζωικής προέλευσης	ενδοκαρδίτιδα, σήψη, λοιμώξεις ουροποιητικού συστήματος, μηνιγγίτιδα, λοιμώξεις	---
<i>Listeria</i>	7.0	0.97	1 - 44 °C	έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα, νερό γάλα, μαλακά τυριά, κοτόπουλο, λουκάνικο, λαχανικά, προϊόντα ψαριών που έχουν υποστεί ζύμωση	κοιλιακοί πόνοι, διάρροια, πυρετός, μυαλγία, σηψαιμία, μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα	εύρεση καλύτερου μοντέλου επεξεργασίας του τροφίμου και συντήρησής αυτού

Πίνακας 2.7.1.: Συγκεντρωτικός πίνακας των μικροοργανισμών με τα χαρακτηριστικά τους, όπως παρουσιάστηκαν στο κεφάλαιο 2.

Κεφάλαιο 3: Η χρήση αντιβιοτικών στην παραγωγή τροφίμων

Τα αντιβιοτικά είναι φυσικές, συνθετικές ή ημισυνθετικές ουσίες που χρησιμοποιούνται συχνά για τη θεραπεία ή μερικές φορές την πρόληψη λοιμώξεων σε ανθρώπους και ζώα (O'Neill & WHO, 2015). Τα αντιβιοτικά επίσης, μπορεί να έχουν βακτηριοστατική δράση όταν αναστέλλουν προσωρινά την ανάπτυξη μικροοργανισμών ή είναι βακτηριοκτόνα όταν σκοτώνουν βακτηριακά κύτταρα. Επιπλέον, τα αντιβιοτικά μπορεί να μειώσουν την ανάπτυξη ή τη βιωσιμότητα των βακτηρίων αναστέλλοντας τη σύνθεση κυτταρικού τοιχώματος, πρωτεΐνης ή DNA (Perichon & Courvalin, 2009). Τα αντιβιοτικά ταξινομούνται σε διαφορετικές ομάδες ανάλογα με τη χημική τους δομή ή τον μηχανισμό δράσης τους.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ANTIBIOTIKΩN			
Natural Penicillins	Penicillin G	Sulfonamides	Sulfamethoxazole-trimethoprim
	Penicillin V	Cephalosporins	First Cephalosporin
Semisynthetic Penicillins	Oxacillin		Second Cephalosporin
	Ampicillin		Third Cephalosporin
	Amoxicillin		Fourth Cephalosporin
Carbapenems	Imipenem		Fifth Cephalosporin
Monobactams	Aztreonam	Polyenes	Nystatin
Cephalosporins	Cephalothin		Amphotericin B
	Ceftaroline	Azoles	Clotrimazole
Polypeptide Antibiotics	Bacitracin		Miconazole
	Vancomycin		Ketoconazole
Antimycobacterial Antibiotics	Isoniazid	Allylamines	Terbinafine
	Ethambutol		Naftifine
	Nitrofurantoin	Echinocandins	Caspofugin
	Chloramphenicol		Flucytosine
Aminoglycosides	Streptomycin		Griseofulvin
	Neomycin		Tolnaftate
	Gentamicin		Pentamidine
Tetracyclines	Tetracycline	Maraviroc	Amantadine
	Oxytetracycline		Zimantadine
	Chlortetracycline		Zidovudine (AZT)
Glycylcyclines	Tigecycline		Tenofovir
Macrolides	Erythromycin		Emtricitabine
	Azithromycin		Acyclovir
	Clarithromycin		Ganciclovir
	Tellthromycin		Ribavifin
Streptogramins	Quinupristin		Lamivudine
	Dalfopristin		Adefovir dipivoxil
Oxazolidinones	Linezolid		Dilodohydroxyquin
Pleuromutilins	Mutlin		Metronidazole
	Retpamullin		Tinidazole
Lipopeptides	Daptomycin		Mitedosine
	Polymyxin B		Niclosamide
Rifamycins	Rifampin		Praziquantel
	Quinolones		Pyrantel pamoate
	Fluoroquinolones		Mebendazole
	Nalldixic acid		Albendazole
	Ciprofloxacin		Ivermectin

Πίνακας 3.1.1.:Κατηγορίες αντιβιοτικών σύμφωνα με την δραστική τους ουσία (Tortora, G., J., et al., 2007).

3.1) Είδη αντιβιοτικών

Είδη αντιβιοτικών στους εξής μικροοργανισμούς: *E. coli* (Roth, N. et al,2019), *Salmonella* (Lenchenko, E., et al, 2020), *Shigella* (Bantawa, K., et al, 2019), *Staphylococcus aureus* (Silva, V., et al, 2020), *Cambilobacter* (Yang, Y., et al, 2019) , *Enterococcus faecalis* (Golob, M.,et al, 2019), *Listeria* (Olaimat, A. N., et al, 2018).

ΕΙΔΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ & ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ			
Μικροοργανισμοί	Αντιβιοτικά		
<i>E.coli</i>	<i>amiloglycosides, sulfonamides, penicillins, trimethoprim, fenicols, quinolones, streptomycin, ampicillin,macrolides, polymyxins</i>	<i>*tetracyclines, fluoroquinolones</i> (Εκτός ΗΠΑ)	<i>*third-generation cephalosporins</i> (Εκτός Κίνας και Ευρώπης)
<i>Salmonella</i>	-----		
<i>Shigella</i>	<i>amoxicillin, ceftriaxone, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, nalidixic acid, norfloxacin</i>	<i>*amoxicillin</i> (Εξαιρετικά ανθεκτική σε αυτό το αντιβιοτικό)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>methicillin, daptomycin, lineholide, ceftarolin, ceftoviprol, dalvavancine, ortivansin, tentizolide</i>	<i>*vancomycin, teikoplanin</i> (Πολλά μειονεκτήματα)	<i>telavancin</i> (από 2009 και μετά)
<i>Campylobacter</i>	<i>ciprofloxacin, azithromycin, nalidiacetic acid, cephalothin, ampicillin, erythromycin, gentamicin, nalidiacetic acid, clarithromycin, ceftriaxone, cefalotaxim</i>		
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, daptomycin, erythromycin, gentamicin, linezolid, quinopristine/ dalfopristine, teikoplanin, tetracycline, tagacycline, vancomycin</i>		
<i>Listeria</i>	<i>penicillin, ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, gentamicin, rifampicin, trimethbrim,streptomycin, vancomycin, fusidic acid, trimethoprim, levofloxacin, moxifloxacin, siprofoxacin, erythromycin, amicinamine, tobramycin, cefotaxime, sulfonamide, nalidiacetic acid, phosphomycin, lincosamide</i>		

Πίνακας 3.1.2.: Τα είδη αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη και θεραπεία των αντίστοιχων μικροοργανισμών, για τον άνθρωπο.

3.2) Χρήση αντιβιοτικών σε παραγωγικά ζώα

Χρήση αντιβιοτικών σε παραγωγικά ζώα στους εξής μικροοργανισμούς: *E.coli* (Roth, N. et al,2019), *Salmonella* (Lenchenko, E.,et al, 2020), *Shigella* (Mannion, A. J.,et al, 2018), *Staphylococcus aureus* (Silva, V.,et al, 2020), *Campylobacter* (Duarte, A., et al, 2014), *Enterococcus faecalis* (Golob, M.,et al, 2019), *Listeria* (Olaimat, A. N., et al, 2018).

Χρήση αντιβιοτικών σε παραγωγικά ζώα		
Μικροοργανισμοί	Παραγωγικά Ζώα	Αντιβιοτικά στα παραγωγικά ζώα
<i>E.coli</i>	πουλερικά	<i>aminoglycosides, sulfonamides, penicillins, tetracyclines</i>
<i>Salmonella</i>	χοιροειδή, βοοειδή,γαλοπούλα, κοτοπούλα	-----
<i>Shigella</i>	κοτόπουλα	<i>quinolone, ampicillin, amoxicillin-clavulanic acid, cephalosporins, gentamicin, tetracycline, ciprofloxacin, enrofloxacin, levofloxacin, nalidixic acid</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ζώα ελεύθερης ζωής	<i>Methicillin</i>
<i>Campylobacter</i>	χοίρος, βοοειδή, πουλερικά(κοτόπουλα)	<i>tilicosin, tilosin, macrolides</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	βοειδή, χοιροειδή	<i>daptomycin, linezolid, teikoplanin, vancomycin</i>
<i>Listeria</i>	κατσίκες, πρόβατα και πουλερικά	<i>penicillin, ampicillin, tetracycline, gentamicin</i>

Πίνακας 3.2.1.: Τα είδη αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη και θεραπεία από τους αντίστοιχους μικροοργανισμούς για τα παραγωγικά ζώα.

*Salmonella:

Έπειτα από κλινικές έρευνες και εργαστηριακά πειράματα (Lenchenko, E.,et al, 2020), αποδείχθηκε ότι η χρήση αντιβιοτικών τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα, δεν είναι αποτελεσματικά για την αντιμετώπιση του βακτηρίου της *Salmonella*, αλλά ούτε και για την πρόληψη. Ειδικότερα, λόγω της αγωγής με αντιβιοτικά, παρατηρήθηκε ανάπτυξη της εντερικής *Salmonella* καθώς και άλλων παθήσεων, καθιστώντας την θεραπεία με αντιβιοτικά επικίνδυνη ανά περιπτώσεις. Συμπερασματικά προτείνεται η χρήση ευρέους φάσματος αντιβιοτικών, αν κριθεί απαραίτητο καθώς και η παρακολούθηση και η θεραπεία αποκλειστικά των συμπτωμάτων που πιθανότατα θα προκύπτουν.

Κεφάλαιο 4: Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των βακτηρίων σε αντιβιοτικά

4.1) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία

4.1.1) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *E.Coli*

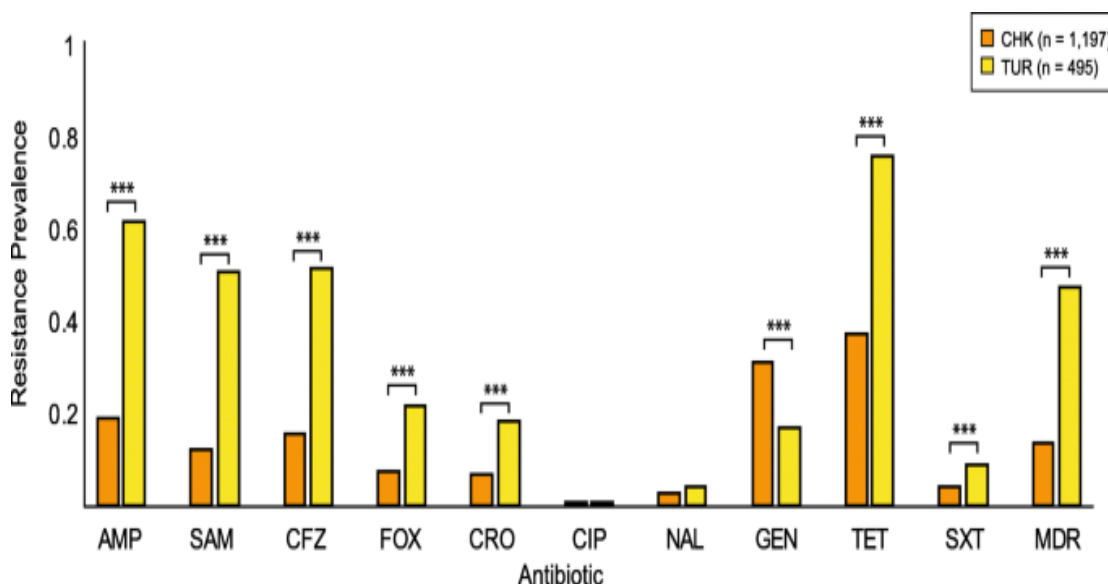
Η χρήση αντιβιοτικών στα ζώα που προορίζονται για παραγωγή τροφίμων, έχει σημαντικές επιπτώσεις στη δημόσια υγεία. Η συνήθης χρήση αντιβιοτικών σε αγροκτήματα - ανεξάρτητα από την ένδειξή τους - επιλέγει και διατηρεί μια δεξαμενή ανθεκτικών βακτηρίων ικανών να προκαλέσουν ανθρώπινες ασθένειες ή να περάσουν καθοριστικούς παράγοντες αντίστασης σε ανθρώπους σε παθογόνους παράγοντες. Στις ΗΠΑ το 2015 πωλήθηκαν ή διανεμήθηκαν για χρήση στην παραγωγή τροφίμων και ζώων αντιβιοτικά αξίας 34,3 εκατομμυρίων σε λίρες, από τα οποία το 62% θεωρήθηκαν ιατρικά σημαντικά για την ανθρώπινη υγεία, υπογραμμίζοντας την συνάφεια της γεωργικής χρήσης αντιβιοτικών για την ανθρώπινη υγεία.

Το *Escherichia coli* είναι ένας κοινός κάτοικος της σπονδυλωτής εντερικής οδού και ένας συχνός μικροβιακός μολυντής των λιανικών προϊόντων κρέατος. Στο πλαίσιο του Εθνικού Συστήματος Παρακολούθησης Αντιμικροβιακής Αντίστασης (NARMS), η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων παρακολουθεί τις τάσεις αντοχής στα αντιβιοτικά μεταξύ των τροφιμογενών *E. coli*. Η αντίσταση αυξάνεται τόσο σε κλινικά όσο και σε τρόφιμα *E. coli* και από το 1950 έως το 2002, η αντίσταση αυξάνεται με ταχύτερο ρυθμό στα στελέχη που έχουν απομονωθεί από τα ζώα από ότι στα στελέχη που έχουν απομονωθεί από τον άνθρωπο. Παρά την γένεση ανησυχιών για τη δημόσια υγεία σχετικά με τη χρήση αντιβιοτικών στην παραγωγή τροφίμων και ζώων, παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση χρόνου με τον χρόνο μεταξύ των ετών 2009 με 2015 στην ποσότητα των αντιβιοτικών που πωλήθηκαν ή διανεμήθηκαν για χρήση σε παραγωγικά ζώα. Πιο πρόσφατα, η ανθεκτικότητα σε *colistin* με τη μεσολάβηση πλασμιδίων ανιχνεύθηκε σε ζώα, σε προϊόντα λιανικής πώλησης κρέατος και σε ανθρώπους. Το αντιβιοτικό *colistin* είναι από τα λίγα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία λοιμώξεων ανθεκτικών στο αντιβιοτικό *carbapenem*. Ωστόσο, χρησιμοποιείται επίσης για την πρόληψη ασθενειών και την προώθηση της ανάπτυξης της κτηνοτροφίας σε ορισμένες χώρες. Η αυξανόμενη επικράτηση της αντίστασης στην *colistin* σε παγκόσμιο επίπεδο αποτελεί σημαντική απειλή για την ασφάλεια του εφοδιασμού τροφίμων στον κόσμο.

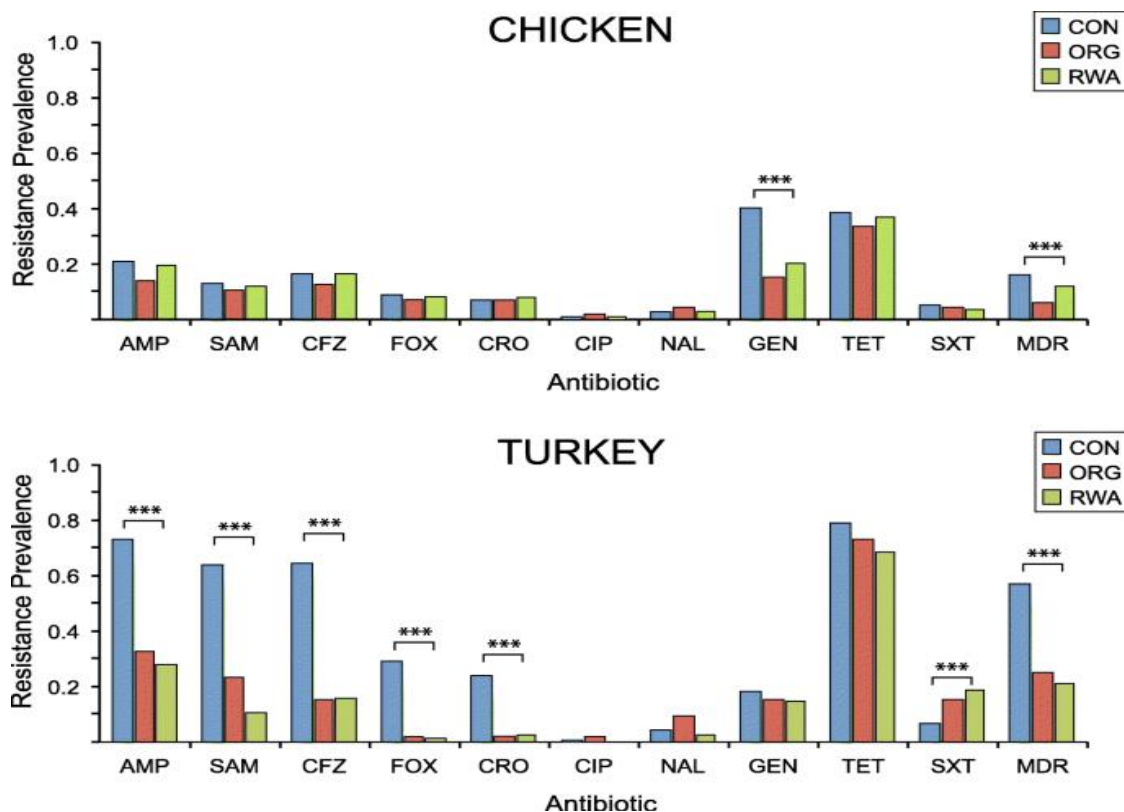
Οι πρακτικές παραγωγής κτηνοτροφίας και οι ετικέτες λιανικής πώλησης κρέατος μπορεί να διαφέρουν ως προς τη χρήση αντιβιοτικών. Για παράδειγμα, οι κανονισμοί για τη χρήση αντιβιοτικών είναι πιο αυστηροί για ζώα που σφάζονται για κρέας με την ένδειξη «εκτρέφονται χωρίς αντιβιοτικά» (RWA) και «βιολογικά» από εκείνα που σφάζονται για συμβατικά προϊόντα. Ωστόσο, ακόμη και τα πρότυπα RWA και οργανικά επιτρέπουν κάποια χρήση αντιβιοτικών. Για παράδειγμα, το βιολογικό πρότυπο για τα πουλερικά ξεκινά τη «δεύτερη ημέρα της ζωής» και επομένως δεν περιορίζει τη χρήση αντιβιοτικών πριν από αυτό το στάδιο. Τα πρότυπα RWA εκτείνονται από τη «γέννηση έως τη συγκομιδή». Επομένως, τόσο τα πρότυπα RWA

όσο και τα βιολογικά πρότυπα επιτρέπουν ενέσεις αντιβιοτικών σε αυγά, ταυτόχρονα, με εμβολιασμούς.

Η ευαισθητοποίηση των καταναλωτών σχετικά με τη χρήση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα και τη αντοχή στα αντιβιοτικά έχει οδηγήσει, εν μέρει, στην αυξημένη ζήτηση της αγοράς για προϊόντα με σήμανση RWA και βιολογικά. Τα βακτήρια που ανακτήθηκαν από συμβατικά εκτρεφόμενα πουλερικά είναι γενικά ανθεκτικά σε περισσότερα αντιβιοτικά και είναι πιο πιθανό να είναι ανθεκτικά σε πολλά φάρμακα, από αυτά που απομονώνονται από προϊόντα που εκτρέφονται χωρίς αντιβιοτικά ή βιολογικά, αν και έχουν γίνει ορισμένες εξαιρέσεις αναφέρθηκε. Στην τρέχουσα μελέτη, πραγματοποιήσαμε συστηματική δειγματοληψία λιανικών προϊόντων πουλερικών κάθε δύο εβδομάδες κατά τη διάρκεια ενός ολόκληρου ημερολογιακού έτους και ρωτήσαμε αν ο επιπολασμός των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά *E. coli* διέφερε ανά πηγή και κατηγορία παραγωγής. Επιπλέον, χαρακτηρίσαμε τις διαφορές που σχετίζονται με τη μάρκα μεταξύ των απομονωμένων προϊόντων *E. coli* που μολύνουν λιανικά προϊόντα κοτόπουλου, καθιστώντας τη μελέτη αυτή μοναδική στην ένταση δειγματοληψίας και στην εξέταση των διαφορών επιπέδου μάρκας στην επικράτηση της αντίστασης (Davis, G. S., et al, 2018).



Πίνακας 4.1.1.3.α: Επικράτηση της αντοχής στα αντιβιοτικά μεταξύ των απομονώσεων *E. coli* που μολύνουν το κοτόπουλο και τη γαλοπούλα λιανικής. Κάθε προϊόν απομόνωσης δοκιμάστηκε έναντι: ampicillin (AMP), ampicillin-sulbactam (SAM), cefazolin (CFZ), cefoxitin (FOX), ceftriaxone (CRO), ciprofloxacin (CIP), nalidixic acid (NAL), gentamicin (GEN), tetracycline (TET), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), amikacin (AMK), και imipenem (IPM). Η ανθεκτικότητα σε πολλά φάρμακα (MDR) ορίστηκε ως αντοχή σε τρεις ή περισσότερες κατηγορίες αντιβιοτικών. Κανένα από τα στελέχη που δοκιμάστηκαν δεν ήταν ανθεκτικό στην amikacin (AMK) ή στην imipenem (IPM), τα οποία εξαιρούνται από το σχήμα. Ο επιπολασμός της αντοχής στα αντιβιοτικά συγκρίθηκε μεταξύ των τύπων κρέατος χρησιμοποιώντας το ακριβές τεστ Fisher με δύο ουρές. (***) $P < 0,001$. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά την διάρκεια του 2012 και τα δείγματα είναι 1367 συσκευασίες με κρέας κοτόπουλου και 546 συσκευασίες με κρέας γαλοπούλας, αγορασμένα από παντοπωλεία στην πόλη Φλάγκσταφ των νοτιοδυτικών ΗΠΑ, στη βόρεια Αριζόνα (Davis, G. S., et al, 2018).

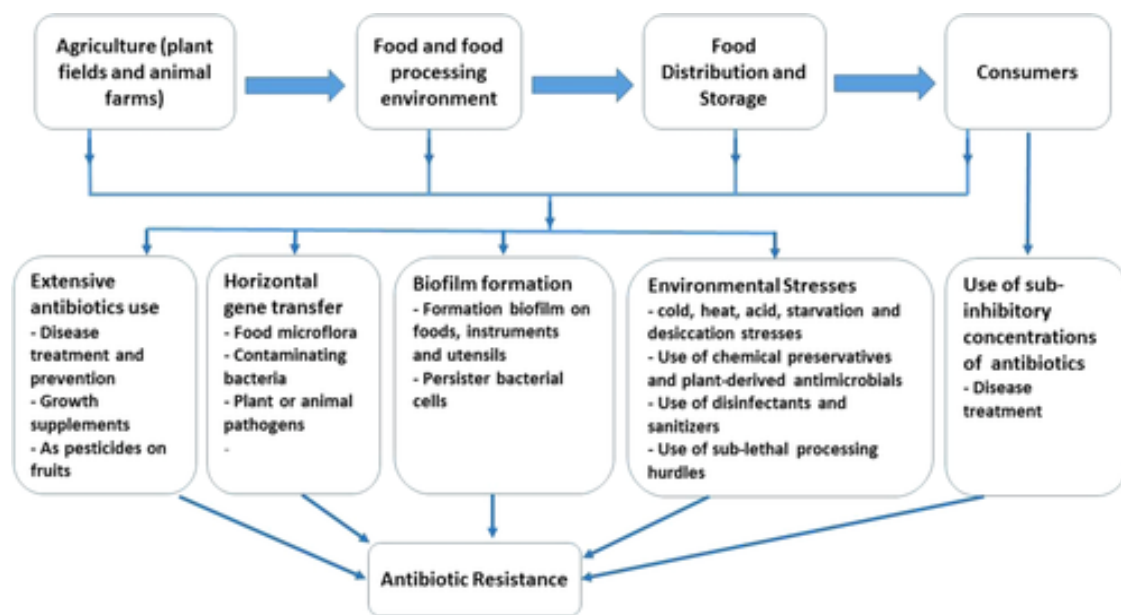


Πίνακας 4.1.1.1.β : Επικράτηση της αντοχής στα αντιβιοτικά μεταξύ των απομονώσεων *E. coli* που μολύνουν τα κρέατα πουλερικών λιανικής που εκτρέφονται συμβατικά (CON), βιολογικά (ORG) ή «εκτρέφονται χωρίς αντιβιοτικά» (RWA). Κάθε προϊόν απομόνωσης δοκιμάστηκε έναντι: ampicillin (AMP), ampicillin-sulbactam (SAM), cefazolin (CFZ), ceftiofloxacin (FOX), ceftriaxone (CRO), ciprofloxacin (CIP), nalidixic acid (NAL), gentamicin (GEN), tetracycline (TET), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), amikacin (AMK), και imipenem (IPM), τα οποία εξαιρούνται από το σχήμα. Η ανθεκτικότητα σε πολλά φάρμακα (MDR) ορίστηκε ως αντοχή σε τρεις ή περισσότερες κατηγορίες αντιβιοτικών. Κανένα από τα στελέχη που δοκιμάστηκαν δεν ήταν ανθεκτικό σε amikacin (AMK) ή σε imipenem (IPM). Ο επιπολασμός της αντοχής στα αντιβιοτικά συγκρίθηκε μεταξύ των κατηγοριών παραγωγής χρησιμοποιώντας το ακριβές τεστ Fisher με δύο ουρές. (***) $P < 0,001$, * $P < 0,05$). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά την διάρκεια του 2012 και τα δείγματα είναι 1367 συσκευασίες με κρέας κοτόπουλου και 546 συσκευασίες με κρέας γαλοπούλας, αγορασμένα από παντοπωλεία στην πόλη Φλάγκσταφ των νοτιοδυτικών ΗΠΑ, στη βόρεια Αριζόνα (Davis, G. S., et al, 2018).

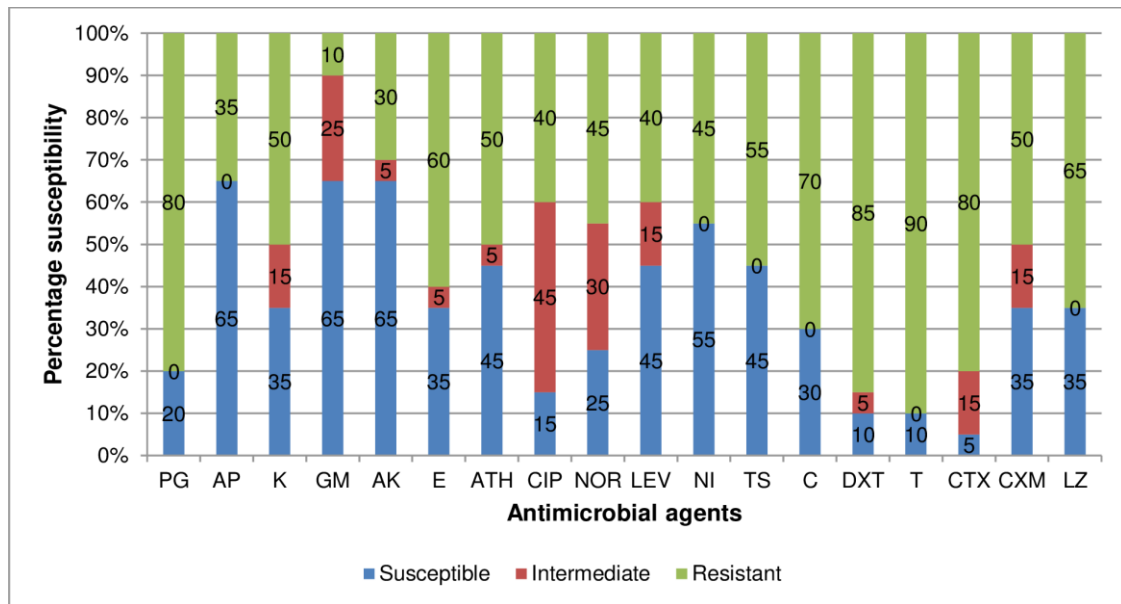
4.1.2) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *Listeria*

Το *L. monocytogenes* αντιπροσωπεύει μια σημαντική ανησυχία για τη δημόσια υγεία επειδή μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ανθρώπινη ασθένεια με σοβαρές συνέπειες. Η σηψαιμία, η μηνιγγίτιδα, η μηνιγγοεγκεφαλίτιδα σε ανοσοκατασταλμένα άτομα, οι επεμβατικές λοιμώξεις στα νεογέννητα και οι ηλικιωμένοι και σοβαρές επιπλοκές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (άμβλωση και θνησιγένεια), με ποσοστό θνησιμότητας που μπορεί να φτάσει από 20% έως 30% (Scallan, et al., 2011, Swaminathan & Smidt Gerner - Smidt, 2007).

Το *L. monocytogenes* αποτελεί μόνιμη απειλή για τη βιομηχανία τροφίμων, ιδίως στις εργασίες παρασκευής τροφίμων. Η αντοχή στα αντιβιοτικά στο *L. monocytogenes* που απομονώθηκε από προϊόντα διατροφής έχει αναπτυχθεί τις τελευταίες δεκαετίες και αντιπροσωπεύει σοβαρό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία παγκοσμίως. Γενικά, τα περισσότερα *Listeria spp.* που είναι απομονωμένα από κλινικές, τροφές και περιβαλλοντικές πηγές είναι ευαίσθητα σε εκείνα τα αντιβιοτικά που είναι συνήθως αποτελεσματικά έναντι των θετικών κατά *Gram* βακτηρίων. Ωστόσο, υπάρχει μια ανησυχητική αύξηση του επιπολασμού στελεχών *L. monocytogenes* ανθεκτικών σε πολλαπλά φάρμακα από διάφορες πηγές, και επομένως η παρακολούθηση του *L. monocytogenes* για αλλαγές στην αντιμικροβιακή του αντίσταση φαίνεται συνετή (Olaimat, A. N., et al, 2018).



Εικόνα 4.1.2.6. Τροφική αλυσίδα και γεωργικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αντίσταση στα αντιβιοτικά μεταξύ των απομονώσεων τροφίμων *L.monocytogenes*. (Olaimat, A. N., et al, 2018).



Εικόνα 4.7.2.2.α: Προφίλ ευαισθησίας στα αντιβιοτικά του *L. monocytogenes*. (PG- Penicillin G, AP- Ampicillin, K-Kanamycin, GM-Gentamycin, AK-Amikacin, E-Erythromycin, ATH-Azithromycin, CIP-Ciprofloxacin, NOR-Norfloxacin, LEV-Levofloxacin, N-Nitrofurantoin, C-Chloramphenicol, DXT-Doxycycline, T-Tetracycline, CTX-Cefotaxime, CXM-Cefuroxime και LZ-Linezolid) (Iwu, C. D., & Okoh, A. I. 2020).

Η αντιμικροβιακή ανθεκτικότητα, ιδίως η αναγνώριση των πολυανθεκτικών στελεχών που έχουν απομονωθεί, υποδηλώνει ότι τα κλινικά στελέχη *L. monocytogenes* μπορεί να παρουσιάζουν κίνδυνο για τη δημόσια υγεία, χρησιμεύοντας ως ομάδα γονιδίων αντίστασης.

Επομένως, απαιτείται συνεχής παρακολούθηση της αναδυόμενης αντιμικροβιακής αντοχής της *Listeria monocytogenes* σε ζώα εκτροφής προκειμένου να αποφευχθεί η εξάπλωση αυτών των στελεχών και να εξασφαλιστεί η αποτελεσματική θεραπεία της λιστερίωσης (Kotzamanidis, C., et al, 2019).

Ο υψηλός επιπολασμός *L. monocytogenes* μεταξύ των αναλυθέντων τροφών RTE αντιπροσωπεύει υψηλό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Συμπεράσματα από έρευνες δείχνουν υψηλό επιπολασμό *L. monocytogenes* σε τρόφιμα RTE στην Τουρκία. Απαιτούνται πιο αποτελεσματικές στρατηγικές ελέγχου για *L. monocytogenes* για τη μείωση τόσο του επιπολασμού όσο και της αντοχής του *L. monocytogenes* σε τουρκικές τροφές RTE.

Το χρονικό διάστημα μεταξύ Μαρτίου και Ιουνίου του έτους 2017, συνολικά 201 δείγματα τροφίμων RTE αγοράστηκαν τυχαία από διάφορα σούπερ μάρκετ, εστιατόρια, εβδομαδιαία ανοιχτά παζάρια(λαϊκή αγορά) και πωλητές δρόμου στην Άγκυρα της Τουρκίας. Τα τρόφιμα RTE ταξινομήθηκαν σε έντεκα κατηγορίες, (όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.1.2.1). Τα τρόφιμα που πωλούσαν οι πωλητές του δρόμου ήταν φρέσκα και μη συσκευασμένα, ενώ αυτά που πωλήθηκαν στα σούπερ μάρκετ ήταν συσκευασμένα και μη κατεψυγμένα. Όλα τα τρόφιμα RTE που λαμβάνονται από εστιατόρια ήταν προϊόντα υψηλής θερμικής επεξεργασίας, εκτός από σαλάτες και ακατέργαστο μαρούλι (Şanlıbaba, P., et al, 2018).

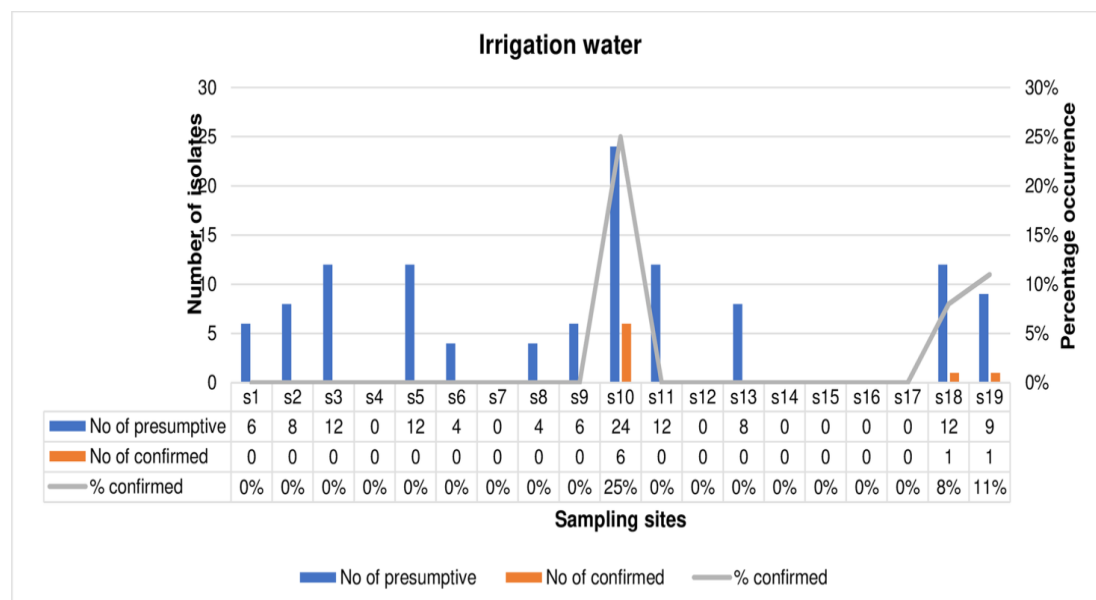
Προϊόν	Αριθμός δειγμάτων	Αριθμός θετικών δειγμάτων (%)	
		<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
Κόκκινο μαγειρεμένο κρέας	44	14(31.8)	7 (15.9)
Μαγειρεμένο κοτόπουλο	38	9 (23.7)	4 (10.5)
Θαλασσινά	25	7 (28.0)	3 (12.0)
Χορτοφαγικά προϊόντα	15	1 (6.7)	0 (-)
Ακατέργαστο μαρούλι	15	0 (-)	0 (-)
Φρουτοσαλάτα	13	0 (-)	0 (-)
Προϊόντα με βάση το αυγό	12	1 (8.3)	0 (-)
Σαλάτα λαχανικών	11	4 (36.4)	2 (18.2)
Γαλακτοκομικά προϊόντα	10	3 (30.0)	1 (10.0)
Σαλάτα με βάση τη μαγιονέζα	10	2 (20.0)	0 (-)
Επιδόρπια με γάλα	8	0 (-)	0 (-)
Σύνολο	201	41 (20.4)	17 (8.5)
Βαθμός Εμπιστοσύνης 95%		11.4- 21.2 %	5.08 - 12.81 %

Πίνακας 4.1.2.1.α: Επικράτηση του είδους *Listeria* σε τρόφιμα RTE. Τα δείγματα συλλέχθηκαν το χρονικό διάστημα μεταξύ Μάρτιο και Ιούνιο του 2017, όπου ήταν 201 RTE τρόφιμα, αγορασμένα από τοπικά καταστήματα τροφίμων, εστιατόρια, λαϊκές αγορές και καντίνες στον δρόμο στην πόλη Άγκυρα της Τουρκίας (Şanlıbaba, P., et al, 2018).

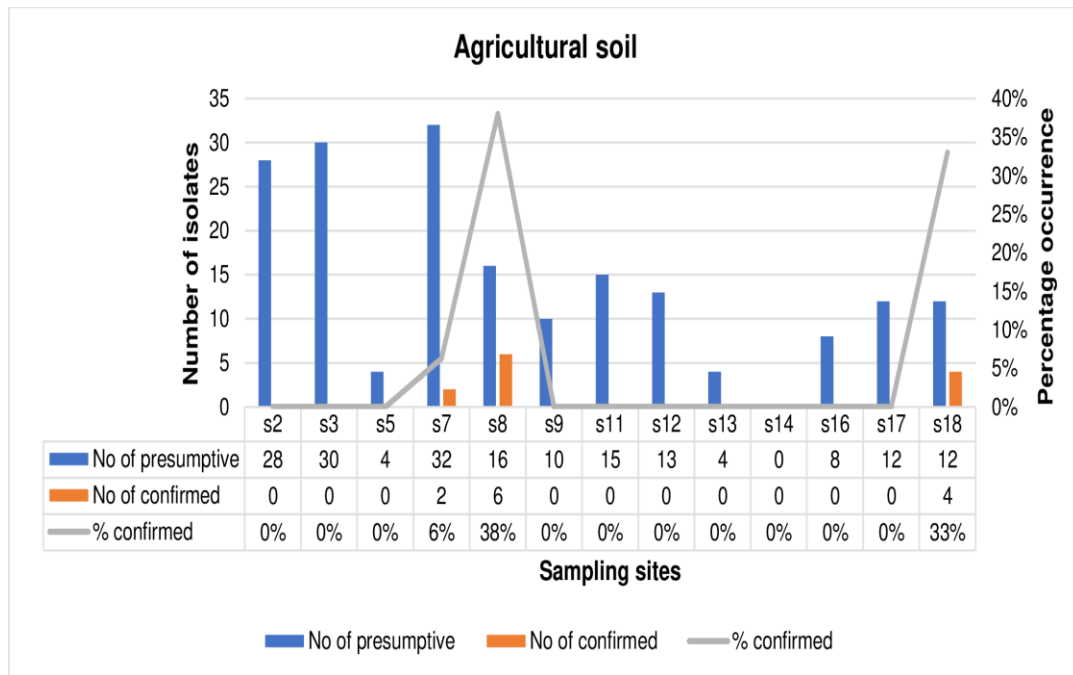
Αντιμικροβιακοί παράγοντες	Στελέχη <i>Listeria monocytogenes</i> (n : 17)					
	S		I		R	
	N	%	n	%	n	%
<i>Penicillin G</i>	— ^c	—	—	—	17	100
<i>Oxacillin</i>	—	—	1	5.9	16	94.1
<i>Ampicillin</i>	—	—	—	—	17	100
<i>Amoxicillin/clavulanic acid</i>	8	47.0	—	—	9	53.0
<i>Erythromycin</i>	—	—	17	100	—	—
<i>Clarithromycin</i>	8	47.0	9	53.0	—	—
<i>Tetracycline</i>	16	94.1	—	—	1	5.9
<i>Ciprofloxacin</i>	—	—	11	64.7	6	35.3
<i>Levofloxacin</i>	1	5.9	4	23.5	12	70.6
<i>Nalidixic acid</i>	—	—	—	—	17	100
<i>Linezolid</i>	—	—	—	—	17	100
<i>Kanamycin</i>	—	—	4	23.5	13	76.5
<i>Streptomycin</i>	14	82.4	3	17.6	—	—
<i>Gentamicin</i>	12	70.6	5	29.4	—	—
<i>Vancomycin</i>	17	100	—	—	—	—
<i>Teicoplanin</i>	1	5.9	5	29.4	11	64.7
<i>Meropenem</i>	16	94.1	—	—	1	5.9
<i>Imipenem</i>	17	100	—	—	—	—
<i>Clindamycin</i>	—	—	—	—	17	100
<i>Trimethoprim</i>	10	58.8	7	41.2	—	—
<i>Trimethoprim/sulfamethoxazole</i>	10	58.8	4	23.5	3	17.7
<i>Chloramphenicol</i>	17	100	—	—	—	—
<i>Rifampicin</i>	1	5.8	8	47.1	8	47.1

Πίνακας 4.1.2.1.β: Ευαισθησία και αντοχή στα αντιβιοτικά (%) των στελεχών *L. monocytogenes* που απομονώνονται από τρόφιμα RTE. Τα δείγματα συλλέχθηκαν το χρονικό διάστημα μεταξύ Μάρτιο και Ιούνιο του 2017, όπου ήταν 201 RTE τρόφιμα, αγορασμένα από τοπικά καταστήματα τροφίμων, εστιατόρια, λαϊκές αγορές και καντίνες στον δρόμο στην πόλη Άγκυρα της Τουρκίας (Şanlıbaba, P., et al, 2018).

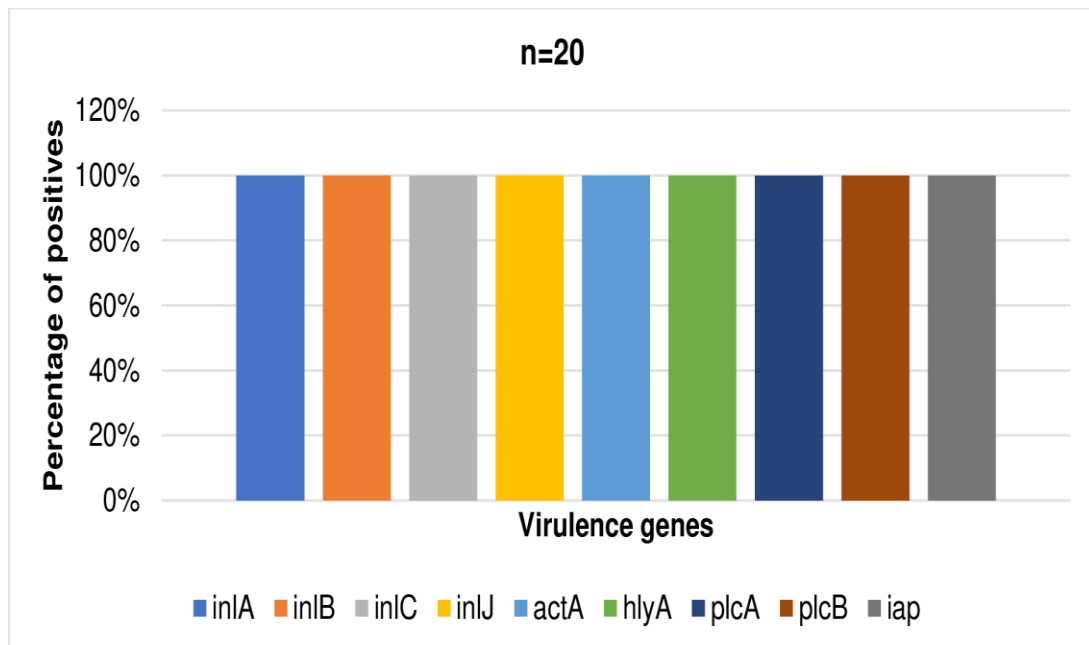
*S: ευαίσθητο I: ενδιάμεση ανθεκτικότητα R: ανθεκτικό c: Δεν εντοπίστηκε.



Εικόνα 4.1.8.2.β: Ο επιπολασμός επιβεβαιωμένου *L. monocytogenes* στο νερό άρδευσης σε διαφορετικές τοποθεσίες δειγματοληψίας, στην επαρχία Eastern Cape της Νότιας Αφρικής (Iwu & Okoh, 2020).



Εικόνα 4.1.2.2.γ: Ο επιπολασμός επιβεβαιωμένου *L. monocytogenes* σε δείγματα γεωργικού εδάφους σε διαφορετικές τοποθεσίες δειγματοληψίας, στην επαρχία Eastern Cape της Νότιας Αφρικής (Iwu & Okoh, 2020).



Εικόνα 9.1.2.2.δ: Ο επιπολασμός των μολυσματικών γονιδίων σε επιβεβαιωμένα στελέχη του *L. monocytogenes* (n = 20), στην επαρχία Eastern Cape της Νότιας Αφρικής (Iwu & Okoh, 2020).

4.1.3) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *Campylobacter*

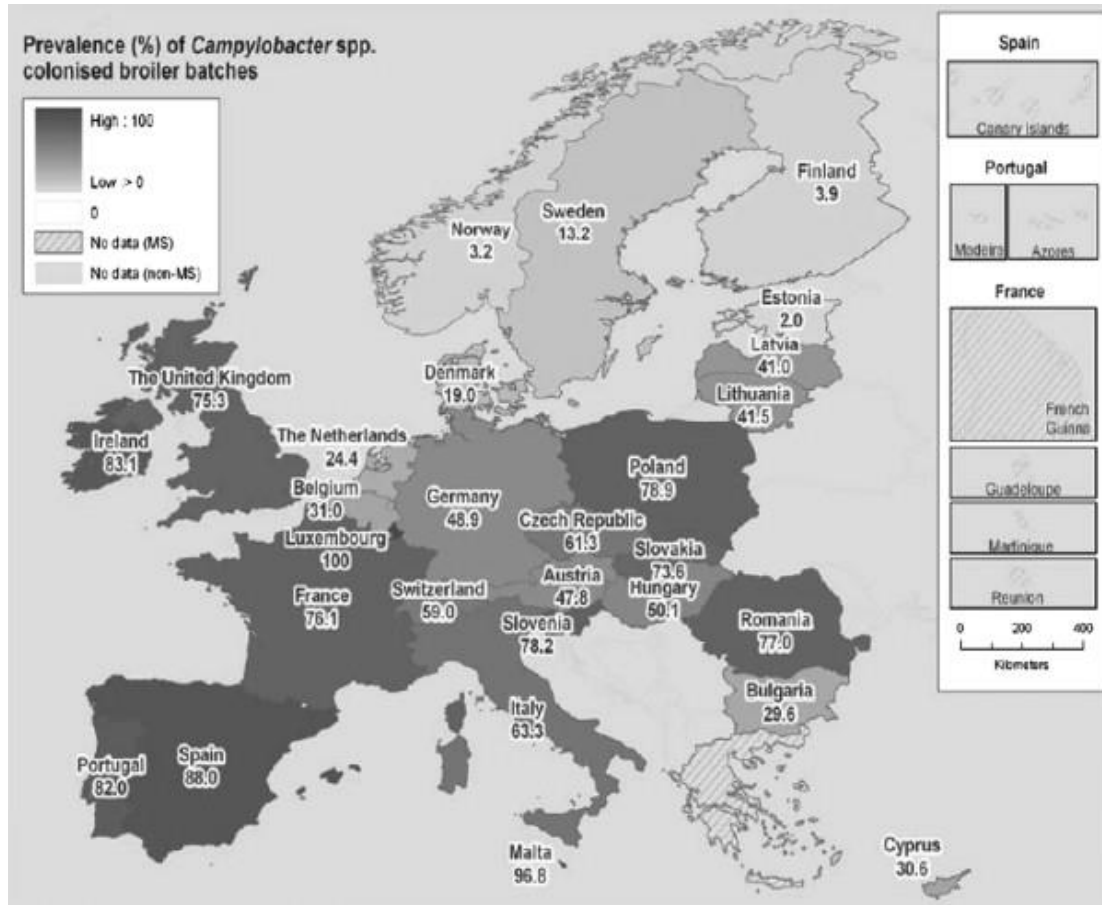
Οι λοιμώξεις με βακτήρια είναι αρκετά δύσκολο να αντιμετωπιστούν, καθώς συνήθως διαρκούν μεγάλο χρονικό διάστημα και οδηγούν σε αρκετά σοβαρή ασθένεια. Έτσι, αυτές οι λοιμώξεις μπορούν να οδηγήσουν σε μεγαλύτερο κόστος υγειονομικής περίθαλψης και αποτελούν σοβαρή απειλή για τη δημόσια υγεία.

Το *Campylobacter* μπορεί να εξαπλωθεί από τα ζώα στους ανθρώπους μέσω μολυσμένων τροφίμων, ειδικά ωμού ή άψητου κοτόπουλου. Οι άνθρωποι μπορούν επίσης να μολυνθούν μέσω της επαφής με τα ζώα και το περιβάλλον τους, με την κατανάλωση νωπού γάλακτος, την κατανάλωση μολυσμένων φρέσκων προϊόντων ή την κατανάλωση μολυσμένου νερού. Τα διεθνή ταξίδια σε χώρες με χαμηλούς πόρους μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο μόλυνσης με ανθεκτικά στελέχη στα αντιβιοτικά που προορίζονται για την αντιμετώπιση του *Campylobacter*. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι λοιμώξεις σε άτομα που ταξίδεψαν εκτός των Ηνωμένων Πολιτειών κατά τη διάρκεια της εβδομάδας πριν από την ασθένεια ήταν ανθεκτικές στη *ciprofloxacin* πιο συχνά από τις λοιμώξεις μεταξύ των ανθρώπων που δεν ταξίδεψαν πριν από την έναρξη της ασθένειάς τους (CDC, 2019).

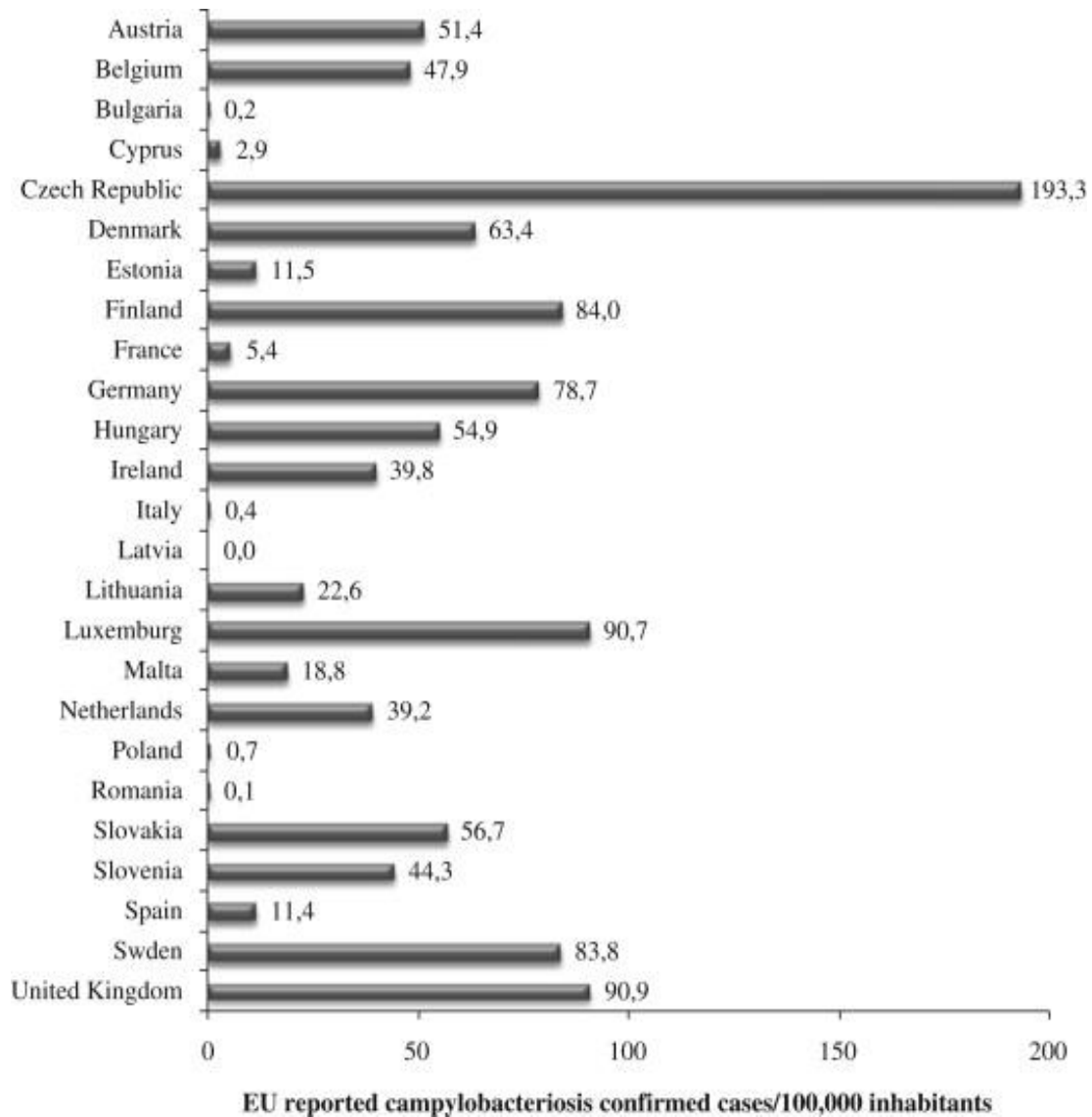
Η ανάπτυξη αντοχής στα ζωνοσογόνα βακτήρια επιφέρει ρίσκο για την δημόσια υγεία, ειδικότερα λόγω των αυξημένων πιθανοτήτων αποτυχίας της θεραπείας. Επιπρόσθετα, η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας, ιδίως με την εμφάνιση των *MGE*, μπορεί να επηρεάσει άλλες ιδιότητες, όπως την ικανότητα αποικισμού, είτε στο ζώο ξενιστή, είτε στο αγρόκτημα, είτε στο χώρο επεξεργασίας του τροφίμου.

Η σύγχρονη ζωική παραγωγή τροφίμων παρέχει ευνοϊκές συνθήκες για την εξάπλωση και την επιμονή ζωνοσογόνων βακτηρίων όπως το *Campylobacter spp.* Επιπλέον, τα συστήματα παραγωγής εξαρτώνται από μια ελεγχόμενη και συνεχή εισαγωγή αντιβιοτικών με σκοπό τον έλεγχο των ασθενειών έτσι ώστε να υπάρχει αύξηση της παραγωγής, επιφέροντας οικονομικό κέρδος στην επιχείρηση. Έτσι, όχι μόνο ο κίνδυνος μόλυνσης από τροφές αυξάνεται σε αυτά τα συστήματα παραγωγής, αλλά και ο κίνδυνος δημόσιας υγείας που σχετίζεται με λοιμώξεις θα αυξηθεί με την αύξηση των επιπέδων αντίστασης. Στο είδος λοιπόν *Campylobacter*, που προκαλεί κλινικές λοιμώξεις στον άνθρωπο, η εμφάνιση αντιμικροβιακής αντοχής φαίνεται να αυξάνεται (Aarestrup, F. M., & Wegener, H. C., 1999).

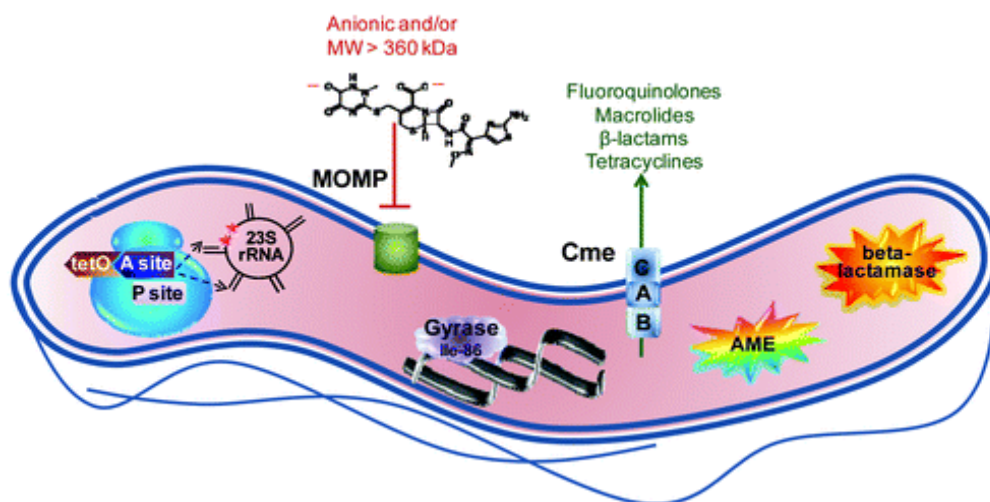
Στις χώρες, Βραζιλία, Ρωσία, Ινδία, Κίνα και Νότια Αφρική, η κακή υγιεινή, η έλλειψη πρόσβασης σε πόσιμο νερό και η απολύτως ανεξέλεγκτη χρήση αντιβιοτικών, συμβάλλουν ώστε να εξαπλωθεί το φαινόμενο των ασθενειών και της αύξησης της αντοχής του *Campylobacter* (Boeckel, V., et al., 2014, Frost, et al., 2019).



Εικόνα 4.1.3.1.α: Επιπολασμός σφαγίων κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής μολυσμένων με Campylobacter, με βάση τα συνδυασμένα αποτελέσματα της μεθόδου ανίχνευσης και απαρίθμησης στην ΕΕ, 2008. (EFSA Journal (2010).



Εικόνα 4.1.3.1.β: Αναφορά επιβεβαιωμένων κρουσμάτων καμπυλοβακτηρίωσης σε ανθρώπους το 2008 ανά χώρα. (EFSA, 2010).



Εικόνα 4.1.3.1.γ: Σύνοψη των κύριων μηχανισμών αντοχής στα αντιβιοτικά στο *Campylobacter*. Το ριβόσωμα, που εμφανίζεται με μπλε στα αριστερά, είναι η θέση δύο σημαντικών μηχανισμών αντίστασης. Η δέσμευση της πρωτεΐνης TetO (εμφανίζεται με καφέ) στη θέση A (εμφανίζεται με σκούρο μωβ) εμποδίζει την tetracycline να καταλάβει αυτή τη θέση, αλλά η σταθεροποίηση επιτρέπει την πρόσβαση στο αμινοακυλο tRNA έτσι ώστε η πρωτεϊνόςύνθεση να συνεχιστεί. Σημειακές μεταλλάξεις στο 23S rRNA στην περιοχή V της περιοχής (εμφανίζεται με μαύρο) στη θέση 2.075 κυρίως και λιγότερο συχνά στη θέση 2.074 (που υποδεικνύεται με κόκκινα αστέρια) μειώνουν τη συγγένεια δέσμευσης για τα macrolides και οδηγούν σε αντίσταση. Η κύρια πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης (MOMP, εμφανίζεται με πράσινο χρώμα), περιορίζει την είσοδο των περισσότερων αντιβιοτικών που είναι αρνητικά φορτισμένα ή με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 360 kDa. Η δομή του διαιονικού αντιβιοτικού ceftriaxone 552 kDa παρουσιάζεται ως παράδειγμα. Η υποκατάσταση Thr-86-Ile στη γυράση DNA (εμφανίζεται με ανοιχτό μωβ), είναι το κύριο μέσο αντοχής στις fluoroquinolones και αυτή η μοναδική μετάλλαξη προσδίδει επίσης υψηλού επιπέδου αντοχή σε αυτήν την κατηγορία αντιβιοτικών. Η αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων CmeABC (εμφανίζεται ως στοιβαγμένα μπλε τετράγωνα) συμβάλλει στην αντοχή στις fluoroquinolones, τις macrolides, τις β- lactams και τις tetracyclines και λειτουργεί συνεργικά με άλλους μηχανισμούς αντίστασης, οδηγώντας συχνά σε ανθεκτικότητα υψηλού επιπέδου. Τα ένζυμα που τροποποιούν τις aminoglycosides (AME, παρουσιάζονται ως η πολύχρωμη έκρηξη αστεριών), κυρίως της οικογένειας aminoglycosides phosphotransferase, είναι τα κύρια μέσα αντίστασης στις aminoglycosides. Τέλος, οι β- lactams (που παρουσιάζονται ως έκρηξη πορτοκαλί αστεριού) του τύπου penicillinase καθώς και η κατηγορία Ambler D OXA-61 συμβάλλουν στην αντοχή στη β- lactams (Lovine, N. M., 2013).

4.1.4) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *Enterococcus faecalis*

Η ανάγκη επιτακτικότητας σε αντιμικροβιακά και μολυσματικά στελέχη του μικροοργανισμού *Enterococcus* αποτελεί μια τεράστια ανησυχία για τη δημόσια υγεία. Ενώ οι εντερόκοκκοι απαντώνται συνήθως σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, οι γνώσεις σχετικά με το ζωνοσογόνο δυναμικό τους είναι περιορισμένες (Golob, M., et al, 2019).

Στη Σλοβενία, συνολικά ερευνήθηκαν 242 στελέχη που απομονώθηκαν: 101 από ανθρώπους (71 *E. faecalis*, 30 *E. faecium*) και 141 από φρέσκο βόειο κρέας και χοιρινό (120 *E. faecalis*, 21 *E. faecium*). Μέσω πολλών κλινικών δοκιμών και εργαστηριακών πειραμάτων, η κατανομή διαφόρων φαινοτύπων αντοχής και γονιδίων μολυσματικότητας ήταν διαφορετική για απομονωμένα προϊόντα διαφορετικής προέλευσης. Όλα τα στελέχη του μικροοργανισμού που απομονώθηκαν ήταν ευαίσθητα σε daptomycin, linezolid, teicoplanin και vancomycin. Η ευαισθησία στα αντιμικροβιακά συσχετίστηκε έντονα με τροφική προέλευση και την αντοχή στα ευρέως φάσματος φάρμακα, που παρατηρήθηκε στο 29,6% των κλινικών απομονώσεων *E. faecalis* και 73,3% *E. faecium*, με κλινική προέλευση (ακριβής δοκιμή του Fisher). Μεταξύ των προϊόντων απομόνωσης κρέατος, συνολικά το 66,0% των προϊόντων απομόνωσης *E. Faecalis* και *E. faecium* ήταν ευαίσθητα σε όλα τα αντιμικροβιακά που ελέγχθηκαν και το 32,6% ήταν ανθεκτικό σε ένα ή δύο αντιμικροβιακά. Στο *E. faecalis*, αρκετά γονίδια μολυσματικότητας συσχετίστηκαν σημαντικά με κλινική προέλευση.

Η σημαντικότητα των αποτελεσμάτων αυτών δίνει έμφαση στην προσεκτική μεταχείριση του κόκκινου κρέατος καθώς αποτελεί αποθήκη μολυσματικών γονιδίων που απομονώνονται από *E. faecalis*, τα οποία προκαλούν λοιμώξεις στον άνθρωπο με πληθώρα καταγεγραμμένων περιστατικών (Golob, M., et al, 2019).

Το είδος *E. faecalis* έχει τη δυνατότητα να επιδεικνύει φυσική και επίκτητη αντίσταση σε μια ποικιλία αντιμικροβιακών παραγόντων (συμπεριλαμβανομένων των *β-lactams*, των *glycopeptides* και των *aminoglycosides*). Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα απομονωμένα στελέχη εμφανίζουν υψηλή αντοχή στις αμινογλυκοσίδες (*HLAR*) και παρουσιάζουν σοβαρές προκλήσεις για τη δημόσια υγεία (Blair, et al., 2015).

Το *E. faecalis* είναι γνωστό ότι προκαλεί μεγάλο ποσοστό (80- 90%) λοιμώξεων από εντεροκόκκους σε ανθρώπους. (Abamecha, et al. 2015, Faron, et al 2016).

Η ταχεία αύξηση της εμφάνισης εντεροκόκκων ανθεκτικών στη βανκομυκίνη αποτελεί επί του παρόντος μια σοβαρή απειλή για τη δημόσια υγεία λόγω της δυνατότητάς τους να περιορίσουν τις θεραπευτικές αγωγές (Montwedi, M. G., et al, 2018).

Study	2000–2005			2005–2010			2010–2016		
	year								
Antibiotic	Pooled prevalence (%)	n/N	N of studies	Pooled prevalence (%)	n/N	N of studies	Pooled prevalence (%)	n/N	N of studies
	(95% CI)			(95% CI)			(95% CI)		
<i>Enterococcus faecalis</i>									
Vancomycin	1 (0.5–2)	52/5148	25	2.2 (1.5–3.2)	199/6401	37	2.7 (1.5–5)	85/3084	24
Gentamicin	36.5 (28.5–45.5)	1476/3790	21	39.7 (34–45.5)	1910/4905	23	34.5 (30–39)	3726/11360	43

Study year	2000–2005			2005–2010			2010–2016		
	Antibiotic	Pooled prevalence (%) (95% CI)	n/N	N of studies	Pooled prevalence (%) (95% CI)	n/N	N of studies	Pooled prevalence (%) (95% CI)	n/N
Ampicillin	4 (1.7–9)	521/3753	17	2 (0.7–6)	143/4832	14	9 (4–21)	257/2354	15
Teicoplanin	0.9 (0.4–2)	7/1468	9	1.8 (0.9–36)	160/4020	19	4.4 (2.5–8)	55/1472	13
Linezolid	0.3 (0.1–0.8)	1/1543	6	0.4 (0.1–1)	14/5020	15	2 (0.8–5.5)	43/2180	13

Πίνακας 4.1.4.1: Επιπολασμός της αντοχής στα αντιβιοτικά σε *Enterococcus spp* που έχουν απομονωθεί στο αίμα, ανά ομάδες χρόνου μελέτης. Από τις 291 μελέτες, οι 125 ανέφεραν τον επιπολασμό της αντοχής των αντιβιοτικών *E. faecalis* στα απομονωθέντα στο αίμα. Ο συνολικός συγκεντρωτικός αριθμός απομονωθέντων στελεχών αίματος *E. faecalis* ήταν 24.913. Το Linezolid είχε το χαμηλότερο ποσοστό επιπολασμού στο 0,6% (95% CI: 0,3-15), ενώ η κινουπριστίνη/δαλφοπριστίνη είχε το υψηλότερο ποσοστό στο 97% (95% CI: 89-99,2). Τα δείγματα είναι από διάφορους οργανισμούς από όλο τον πλανήτη. (Shiadeh, S. M. J., et al, 2019)

4.1.5) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *Staphylococcus aureus*

Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένας ευκαιριακός παθογόνος παράγοντας που ευθύνεται για πολυάριθμους τύπους λοιμώξεων. Ο *S. aureus* είναι γνωστός για την ικανότητά του να αποκτά εύκολα καθοριστικούς παράγοντες αντοχής στα αντιβιοτικά. Η ανθεκτικότητα σε methicillin *S. aureus* (MRSA) είναι η κύρια αιτία

λοιμώξεων τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα και συνήθως σχετίζεται με ένα προφίλ ανθεκτικό σε πολλά φάρμακα. Η διάδοση του *MRSA* αυξάνεται λόγω της ικανότητάς του να δημιουργεί νέες αποθήκες και έχει βρεθεί σε ανθρώπους, ζώα και το περιβάλλον. Παρά το γεγονός ότι οι πληροφορίες σχετικά με τη συχνότητα εμφάνισης *MRSA* στο περιβάλλον και, ειδικότερα, στα άγρια ζώα, είναι λιγοστές, ορισμένες μελέτες έχουν αναφέρει την παρουσία αυτών των στελεχών μεταξύ της άγριας ζωής χωρίς άμεση επαφή με αντιβιοτικά. Αυτό δείχνει πιθανή μετάδοση μεταξύ ειδών και, κατά συνέπεια, ανησυχία για τη δημόσια υγεία (Silva, V., et al, 2020).

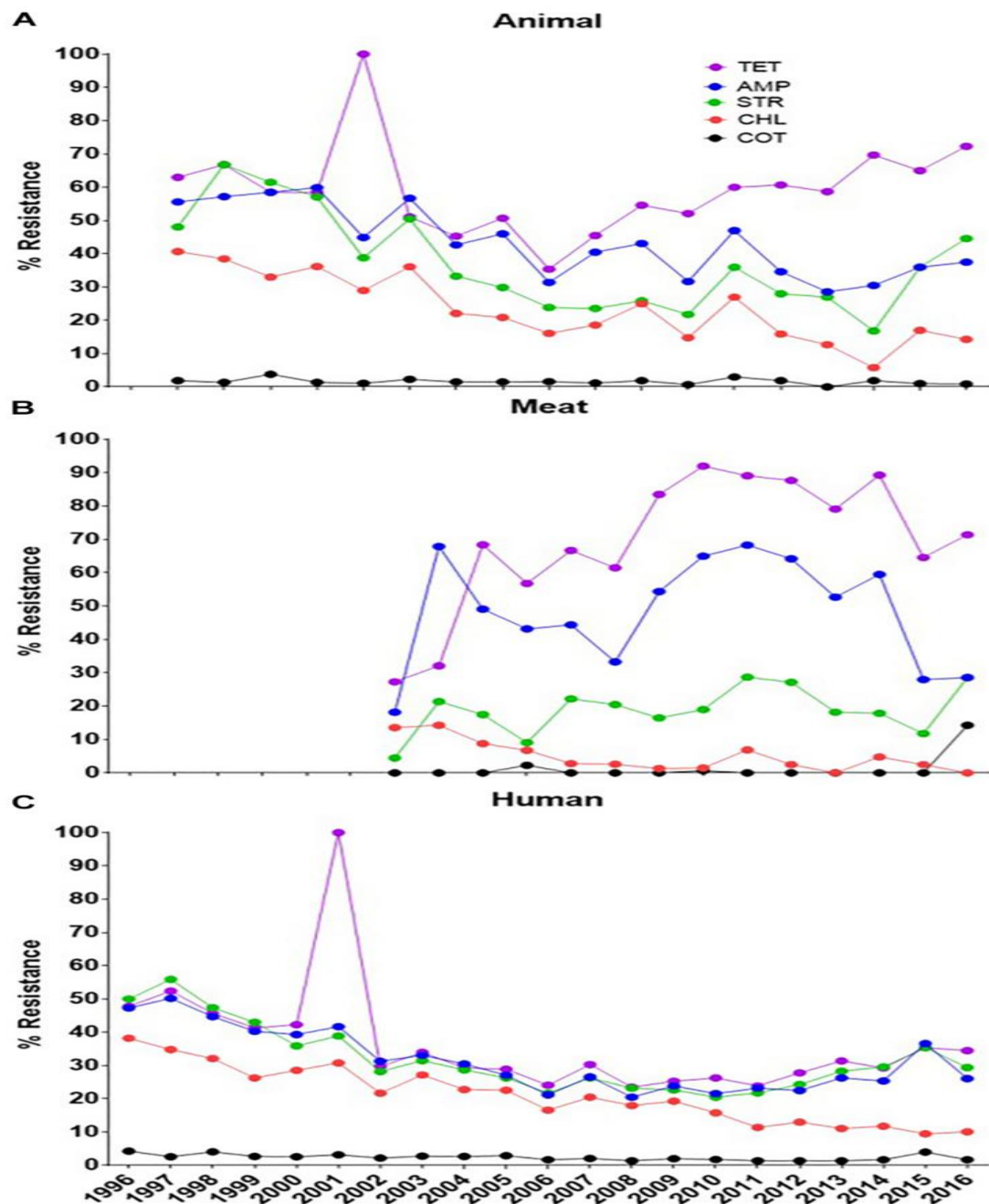
Ο ανθεκτικός στη *methicillin Staphylococcus aureus (MRSA)* εξακολουθεί να αποτελεί μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας. Η *vancomycin* και η *teicoplanin* είναι σε κλινική χρήση για αρκετές δεκαετίες, αλλά παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα. Τα τελευταία 10 χρόνια, πολλά αντιβιοτικά έχουν διατεθεί για κλινική χρήση. Η *daptomycin* και η *linezolid* έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου. Άλλοι παράγοντες όπως η *ceftaroline*, *ceftobiprol*, *dalbavansin*, *oritavansin*, *tedizolide* και *telavancin* έχουν εγκριθεί από τις ρυθμιστικές υπηρεσίες από το 2009. Πολλοί άλλοι, όπως οι νεότερες *tetracyclines*, *fluoroquinolones*, *oxazolidinones* και *pleuromutilines*, βρίσκονται σε διάφορα στάδια ανάπτυξης. Επιπλέον, μια συνεχής πολυκεντρική δοκιμή διερευνά το ρόλο του συνδυασμού *vancomycin* ή *daptomycin* με αντιβιοτικά β-λακτάμης. Αυτή η ανασκόπηση συζητά τον ρόλο των νεότερων αντιβιοτικών, αντικατοπτρίζοντας τις απόψεις της 6ης συνάντησης *MRSA Consensus Conference* της Ομάδας Εργασίας της Διεθνούς Εταιρείας Χημειοθεραπείας *MRSA* που πραγματοποιήθηκε το 2016 (Bal, A. M., et al, 2017).

4.1.6) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *Salmonella*

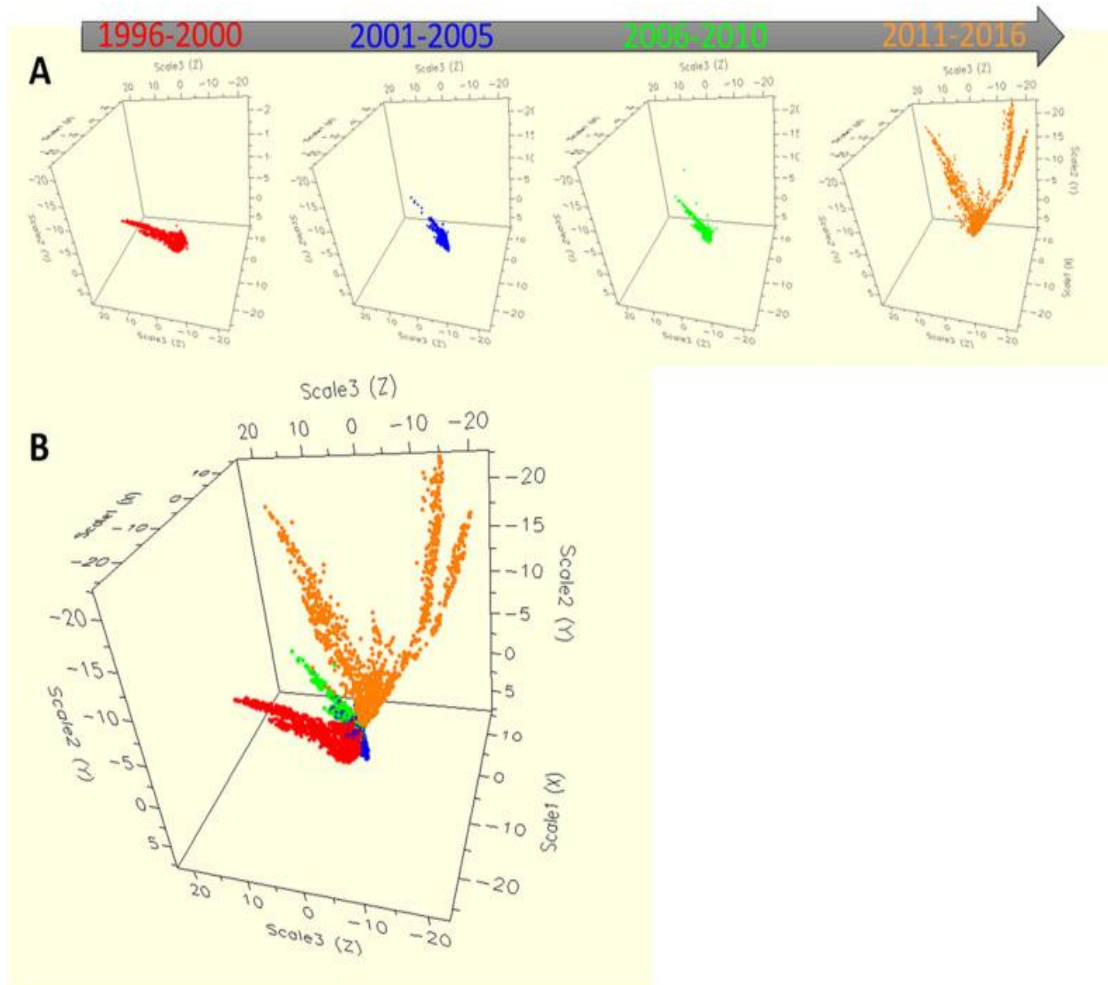
Η *Salmonella enterica* προκαλεί τροφιμογενείς ασθένειες με σημαντικό αντίκτυπο στη δημόσια υγεία. Η *Salmonella enterica* έχει μια ομάδα ~2600 στενά συνδεδεμένων βακτηρίων που ορίζεται από τον μωσαϊκό συνδυασμό αντιγόνων επιφανείας O και H, τα λεγόμενα serovar. Βάσει των διαφορετικών παθογόνων συμπεριφορών υπάρχουν δύο ομάδες σαλμονέλας, αυτές είναι η τυφοειδής *Salmonella* και η μη τυφοειδής *Salmonella*. Ενώ η τυφοειδής *Salmonella* μπορεί να οδηγήσει σε συστηματικές λοιμώξεις με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, οι μη τυφοειδείς λοιμώξεις από *Salmonella* είναι γενικά αυτοιασώμενες (Hu, J., et al, 2007, Gal-Mor et al., 2014). Η εμφάνιση παθογόνου *Salmonella enterica serovar typhimurium (S. typhimurium)*, οπλισμένη με πολλαπλή αντίσταση στα αντιβιοτικά ειδικότερα, αποτελεί σημαντική απειλή για τη δημόσια υγεία (Wang, X., et al, 2019).

Η συνεχής παρακολούθηση της εμφάνισης οποιουδήποτε βακτηριακού ορότυπου για ανίχνευση στην τροφική αλυσίδα είναι πολύ σημαντική για τη δημόσια υγεία σε παγκόσμιο επίπεδο. Αυτό είναι ενδιαφέρον και θα μπορούσε να εξηγηθεί από το γεγονός ότι, η χρήση καθώς και η κακή χρήση αντιβιοτικών αυξάνεται τα τελευταία χρόνια και ως αποτέλεσμα τα ανθεκτικά στα αντιβιοτικά στελέχη του *S. typhimurium* αυξήθηκαν απότομα και η μετάδοση αυτών των στελεχών έγινε στην τροφική αλυσίδα που επηρεάζει τελικά τους ανθρώπους. Η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών θα

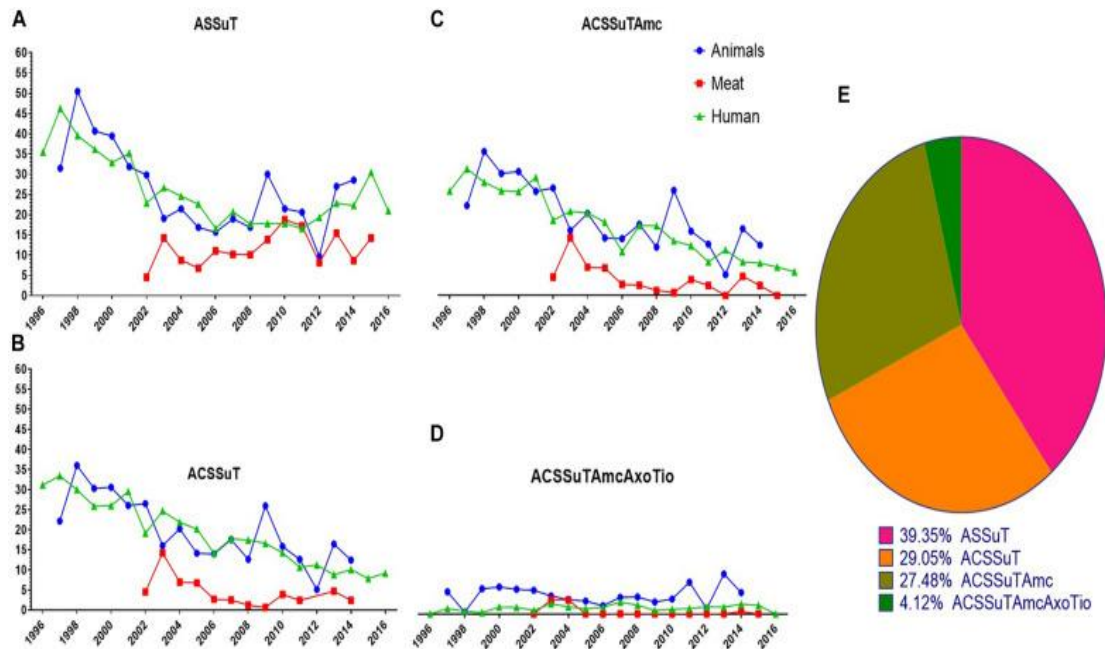
μπορούσε να είναι ο κύριος λόγος πίσω από την εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών στα αντιβιοτικά του μικροοργανισμού *S. typhimurium* (Wang, X., et al, 2019).



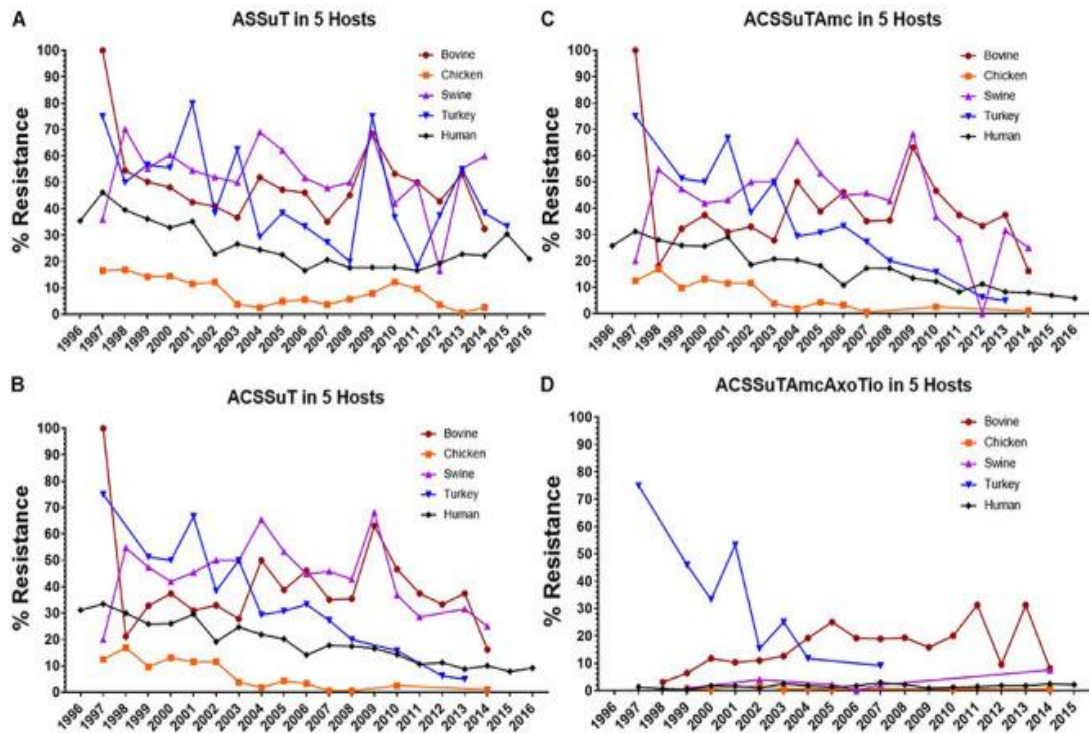
Εικόνα 4.1.6.1.α: Γενική ανάλυση τάσης της αντοχής στα αντιβιοτικά για ορισμένα μόρια που χρησιμοποιούνται συνήθως (που υποδηλώνεται με το χρώμα των γραμμών όπως δίνεται στο υπόμνημα). (Α) Το πρότυπο αντοχής στα απομονωμένα στελέχη ζώων, (Β) το πρότυπο αντοχής στα απομονωμένα στελέχη κρέατος και (Γ) το πρότυπο αντοχής για τα ανθρώπινα στελέχη. Το ΧΧ παρουσιάζει τον χρόνο συλλογής δεδομένων ενώ το ΥΥ δίνει το ποσοστό αντίστασης. [Tetracycline(TET), Ampicillin(AMP), Streptomycin(STR), Chloramphenicol(CHL), Sulfamethoxazole-trimethoprim (COT)] (Wang, X., et al, 2019).



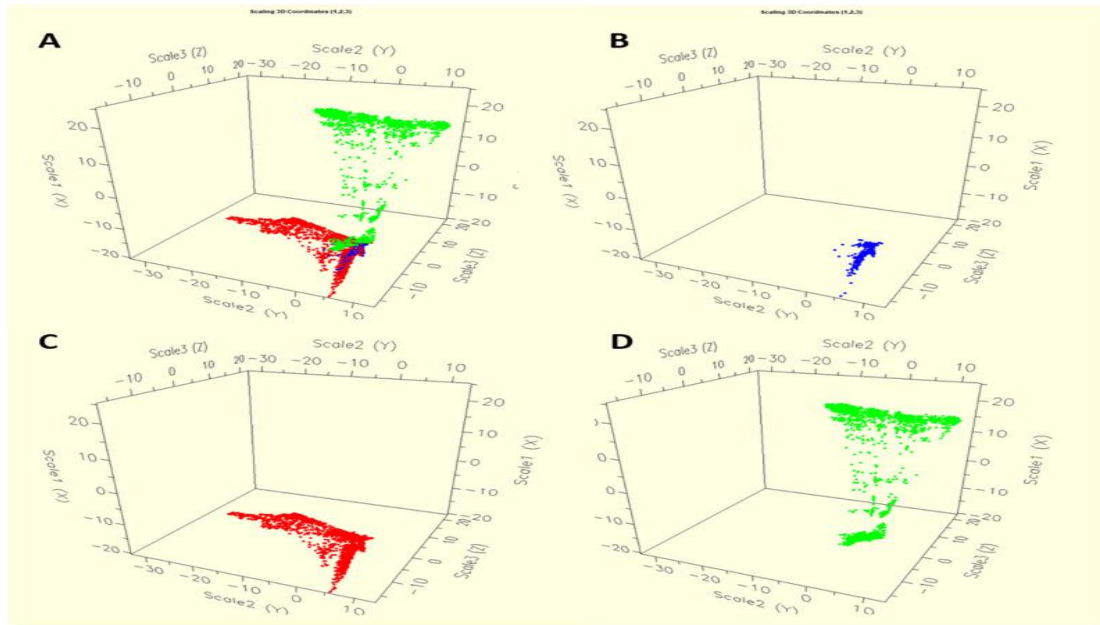
Εικόνα 4.1.6.1.β: Η δυναμική των χαρακτηριστικών αντοχής στα αντιβιοτικά των στελεχών *Salmonella Typhimurium* για 21 χρόνια στις ΗΠΑ. Το πολυδιάστατο διάγραμμα κλιμάκωσης 11.447 στελεχών *Salmonella Typhimurium* με τιμές MIC για κάθε βακτηριακό στέλεχος χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των μητρών εγγύτητας, όπου οι άξονες x-, y- και z- είναι οι πολυδιάστατες συντεταγμένες κλιμάκωσης. Τα βακτηριακά στελέχη με παρόμοιες τιμές MIC αντιπροσωπεύονται από σημεία κοντά το ένα στο άλλο, ενώ τα απομονωμένα στελέχη με ανόμοιες τιμές MIC ανθεκτικά στα αντιβιοτικά αντιπροσωπεύονται από διαχωρισμένα σημεία. Κάθε βακτήριο υποδείχθηκε ως μεμονωμένη κουκκίδα, όπου τα χρώματα αντιπροσώπευαν τέσσερις διαφορετικές περιόδους. (A) Η δυναμική της αντοχής στα αντιβιοτικά για τέσσερις ξεχωριστές χρονικές περιόδους. Η χρονική περίοδος 1 από το έτος 1996 έως το 2000, η χρονική περίοδος 2 από το έτος 2001 έως το 2005, η χρονική περίοδος 3 από το έτος 2006 έως το 2010 και η χρονική περίοδος 4 από το έτος 2011 έως το 2016. (B) Η δυναμική της αντοχής στα αντιβιοτικά για όλους τέσσερις χρονικές περιόδους που περιγράφουν μαζί (Wang, X., et al, 2019).



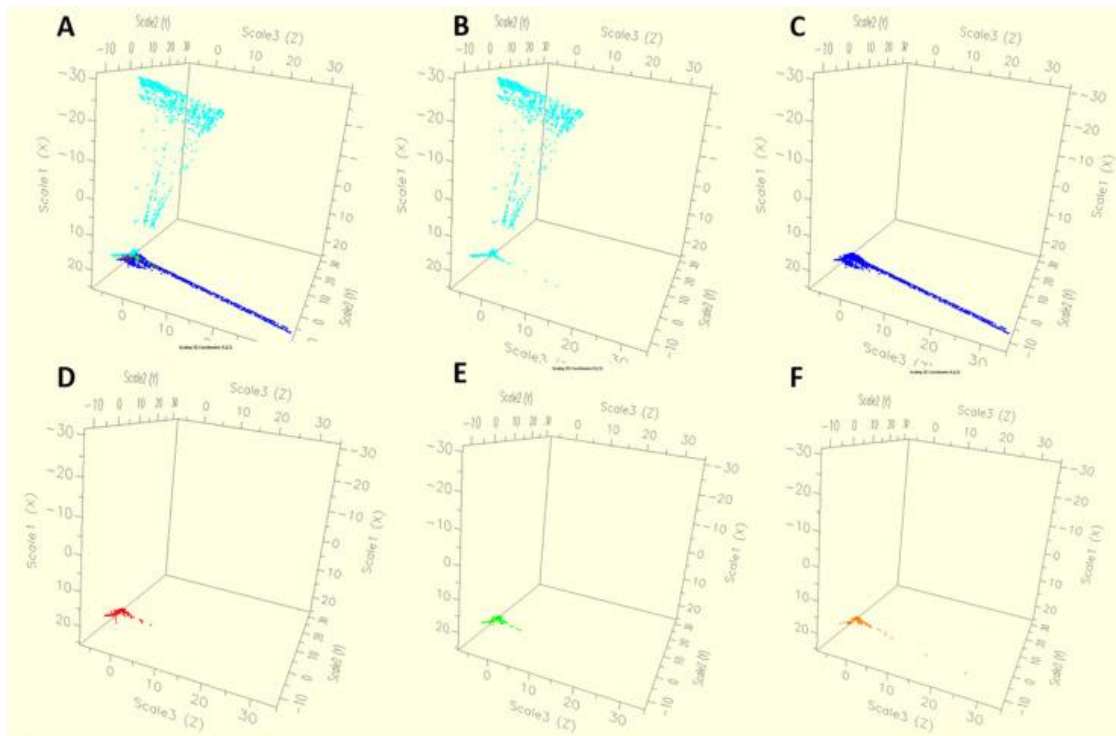
Εικόνα 4.1.6.1.γ: Γραφικές αναπαραστάσεις τεσσάρων προτύπων αντοχής στα αντιβιοτικά (ASSuT, ACSSuT, ACSSuTAmc και ACSSuTAmcAxoTio) που βρέθηκαν σε στελέχη *S. typhimurium* κατά την περίοδο 1996–2016 στις Ηνωμένες Πολιτείες. (Α) Μοτίβα αντοχής ASSuT (Ampicillin, Streptomycin, Sulfonamides, and Tetracycline) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* από ζώα, κρέας και ανθρώπους. Αν και η αντοχή ASSuT σε ζώα και ανθρώπινα στελέχη του *typhimurium* μειώθηκε απότομα κατά την περίοδο 2002-2008, η αντίσταση αυξάνεται τα τελευταία χρόνια. Η αντίσταση ASSuT στα προϊόντα απομόνωσης κρέατος παρουσίασε αυξανόμενο πρότυπο με την πάροδο του χρόνου. (Β) Μοτίβα αντοχής στο ACSSuT (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, and Tetracycline) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* από ζώα, κρέας και ανθρώπους. Η αντίσταση ACSSuT σε απομονώσεις ανθρώπων και κρέατος του *typhimurium* παρουσιάζει πτωτική τάση αλλά την ίδια αντίσταση σε απομονωμένα στελέχη ζώων παρουσιάζει αυξητική τάση με την πάροδο του χρόνου. (Γ) Μοτίβα αντοχής στο ACSSuTAmc (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, Tetracycline, and Amoxicillin-clavulanic acid) που βρέθηκαν σε προϊόντα απομόνωσης *S. typhimurium* από ζώα, κρέας και ανθρώπους. Η αντίσταση ACSSuTAmc σε στελέχη απομόνωσης του *typhimurium* στον άνθρωπο και στο κρέας παρουσίασε πτωτική τάση, αλλά σε απομονώσεις ζώων η αντοχή παρέμεινε υψηλή με το χρόνο. (Δ) Μοτίβα αντοχής στο ACSSuTAmcAxoTio (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, Tetracycline, Amoxicillin-clavulanic acid, Ceftriaxone, and Ceftiofur) που βρέθηκαν σε προϊόντα απομόνωσης *S. typhimurium* από ζώα, κρέας και ανθρώπους. Η αντοχή στο ACSSuTAmcAxoTio σε απομονωμένα στελέχη ζώων παρουσίασε αυξητική τάση τα τελευταία χρόνια. Το XX' παρουσιάζει το χρόνο συλλογής δεδομένων ενώ το YY' δίνει το ποσοστό αντίστασης. (Ε) Διάγραμμα πίτας που δείχνει το ποσοστό κατανομής τεσσάρων διαφορετικών προτύπων αντοχής μεταξύ 7237 απομονώσεων *S. typhimurium* από ζώα, κρέας και ανθρώπους (Wang, X., et al, 2019).



Εικόνα 4.1.6.1.δ: Γραφικές αναπαραστάσεις τεσσάρων μοτίβων αντοχής στα αντιβιοτικά (ASSuT, ACSSuT, ACSSuTAmc και ACSSuTAmcAxoTio) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* κατά την περίοδο 1996–2016 στις Ηνωμένες Πολιτείες που ελήφθησαν από πέντε διαφορετικούς ξενιστές (βοοειδή, κοτόπουλο, χοίρους, γαλοπούλα και ανθρώπους). (Α) Μοτίβα αντοχής ASSuT (Ampicillin, Streptomycin, Sulfonamides, and Tetracycline) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* από βοοειδή, κοτόπουλο, χοίρους, γαλοπούλα και ανθρώπους. Τα προϊόντα απομόνωσης *S. typhimurium* από βοοειδή, χοίρους και γαλοπούλα εμφάνισαν υψηλότερο ποσοστό αυτού του προτύπου αντοχής από τα απομονωμένα στελέχη από κοτόπουλο και άνθρωπο. (Β) Μοτίβα αντοχής στο ACSSuT (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, and Tetracycline) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* από βοοειδή, κοτόπουλο, χοίρους, γαλοπούλα και ανθρώπους. Τα απομονωμένα στελέχη χοίρων και βοοειδών έδειξαν μεγαλύτερο πρότυπο αντοχής στο ACSSuT από άλλα απομονωμένα στελέχη ξενιστή. (Γ) Μοτίβα αντοχής στο ACSSuTAmc (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, Tetracycline, and Amoxicillin-clavulanic acid) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* από βοοειδή, κοτόπουλο, χοίρους, γαλοπούλα και ανθρώπους. Τα απομονωμένα στελέχη χοίρων και βοοειδών έδειξαν μεγαλύτερο ποσοστό αντίστασης μεταξύ όλων των απομονώσεων ξενιστών. (Δ) Μοτίβα αντοχής στο ACSSuTAmcAxoTio (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, Tetracycline, Amoxicillin-clavulanic acid, Ceftriaxone, and Cefotiofur) που βρέθηκαν σε απομονώσεις *S. typhimurium* από βοοειδή, κοτόπουλο, χοίρους και γαλοπούλα. Το ποσοστό αυτού του προτύπου αντίστασης βρέθηκε υψηλό σε απομονώσεις βοοειδών *S. typhimurium*. Το ΧΧ' παρουσιάζει το χρόνο συλλογής δεδομένων ενώ το ΥΥ' δίνει το ποσοστό αντίστασης (Wang, X., et al, 2019).



Εικόνα 4.1.6.1.ε: Η δυναμική των χαρακτηριστικών αντοχής στα αντιβιοτικά των απομονώσεων *Salmonella typhimurium* σύμφωνα με όλες τις πηγές (A) όπως το ζώο (C), το κρέας (B) και το ανθρώπινο (D) που χρησιμοποιούνται σε αυτή τη μελέτη. Η ποικιλομορφία της μικροβιακής αντοχής είναι μεγαλύτερη στα απομονωμένα στελέχη από τον ανθρώπινο πληθυσμό παρά σε αυτά από ζώα και ζωικό κρέας (Wang, X., et al, 2019).



Εικόνα 4.1.6.1.στ: Η δυναμική των χαρακτηριστικών αντοχής στα αντιβιοτικά των απομονώσεων *Salmonella typhimurium* ανά πληθυσμό ξενιστή (A) όπως ο άνθρωπος (B), το κοτόπουλο (C), το βοοειδή (D), ο χοίρος (E), η γαλοπούλα (F). Τα στελέχη *S. typhimurium* από άνθρωπο και κοτόπουλο έδειξαν υψηλή ποικιλομορφία αντοχής στα αντιβιοτικά περισσότερο από τα στελέχη βοοειδών, χοίρων και γαλοπούλας (Wang, X., et al, 2019).

Τα ανθεκτικά στελέχη *Salmonella* μπορούν να αποτελέσουν ρίσκο για την δημόσια υγεία επειδή βρίσκονται ευρέως σε ωμά κοτόπουλα των οποίων τα σφάγια διατίθενται εμπορικά σε κρεατοπαραγωγές και σε κότες οι οποίες παράγουν αυγά. Η ανθεκτικότητα σε πολλά αντιβακτηριακά φάρμακα είναι ένας από τους λόγους μεταφοράς και κυκλοφορίας από τον έναν μικροοργανισμό στο άλλον, στο περιβάλλον και στην τροφική αλυσίδα σε μεγάλο βαθμό οφειλόμενο στην ικανότητα του σχηματισμού βιοφίλμ. Τα βακτήρια στα βιοφίλμ αυξάνουν τη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά σε σχέση με τη μορφή πλαγκτόν, που οδηγεί σε χαμηλή αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Η εξάπλωση των στελεχών με αντιβακτηριακή ανθεκτικότητα έχει αναγνωριστεί ως παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας και υπογραμμίζει την σημαντικότητα της δημιουργίας ενός συστήματος επιτήρησης για την παρακολούθηση των στελεχών που έχουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Η προσθήκη αντιβιοτικών σε τροφές των πουλερικών και γενικότερα των ζώων, οδήγησε στην συσσώρευση φαρμάκων στο σώμα αυτό καθώς και των προϊόντων τους.

Μετά από παρακολούθηση και έρευνα στελεχών με αντιβακτηριακή ανθεκτικότητα δημιουργήθηκε μια βάση δεδομένων για τα διάφορα είδη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στο *Salmonella sp* και θα προτάθηκε τρόπους χρήσης αντιβιοτικών ώστε να μειωθεί η ανθεκτικότητα στα αντιβακτηριακά φάρμακα (Lenchenko, E., et al, 2020).

4.1.7) Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και επιπτώσεις στην δημόσια υγεία για τον μικροοργανισμό *Shigella*

Ο μικροοργανισμός *Shigella* είναι ένας βακτηριακός παθογόνος μικροοργανισμός που συχνά σχετίζεται με προβλήματα διάρροιας και δυσεντερίας και έχουν σημειωθεί πολλές περιπτώσεις νοσηρότητας καθώς και θνησιμότητας παγκοσμίως, λόγω αυτής. Παρόλο που υπάρχουν πολλές επιλογές πρόληψης και θεραπείας, παραμένει η δεύτερη κυριότερη αιτία ασθένειας και θανάτου, λόγω διάρροιας σε όλες τις ηλικίες και είναι δύσκολο να μειωθεί.

Τα περισσότερα περιστατικά *Shigellosis* καταγράφονται στα παιδιά που ζουν στις υποβαθμισμένες χώρες. Η επαναλαμβανόμενες μολύνσεις δεν είναι ασυνήθιστες εξαιτίας των πολλών διαφορετικών μορφών του μικροοργανισμού που προκαλούν ασθένεια και μειώνουν την συχνότητα εμφάνισης της νόσου σε μεγαλύτερες ηλικίες, γεγονός που δείχνει ότι η ανοσία σταδιακά αυξάνεται.

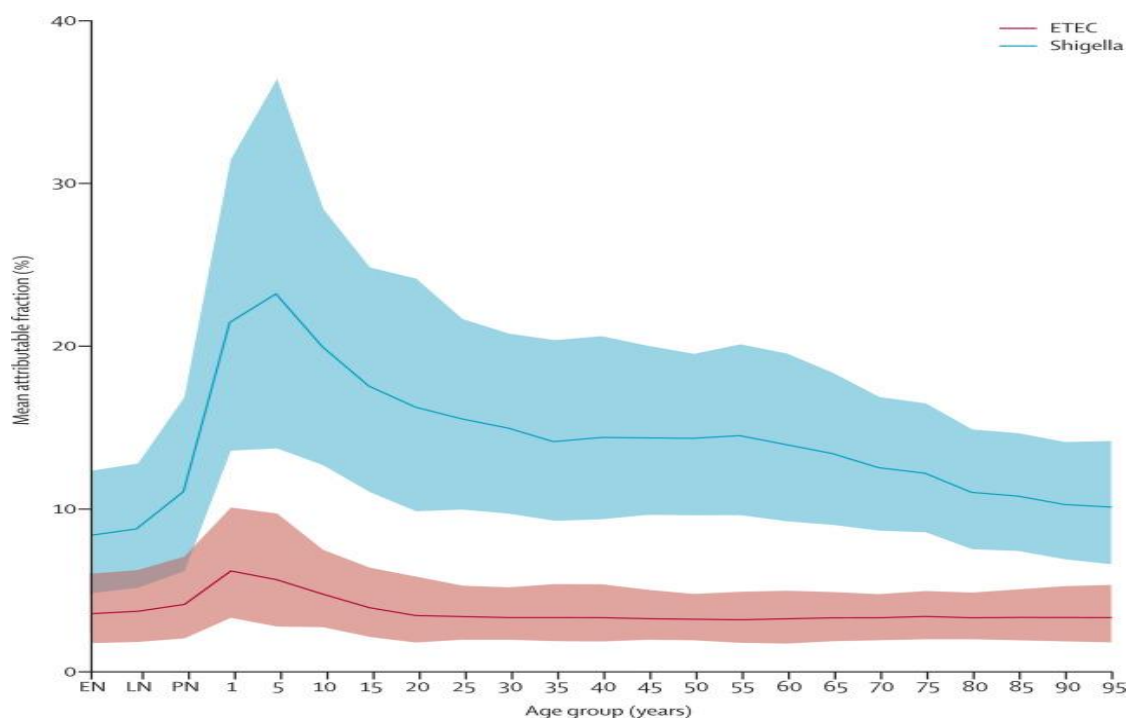
Ο μικροοργανισμός *Shigella* αποτελεί επίσης ένα κύριο λόγο ασθένειας των ταξιδιωτών, των στρατιωτικών και των ομογενών των υποβαθμισμένων χωρών και συνδέεται με χρόνια διάρροια διάρκειας μεγαλύτερης ή ίσης των 14^{ων} ημερών σε αυτούς τους πληθυσμούς. Στους ταξιδιώτες το *Shigella* έχει συνδεθεί με χρόνιες δυσλειτουργίες του συστήματος και διαταραχές αυτού. Τέλος ο παθογόνος αυτός μικροοργανισμός μπορεί να προκαλέσει τον σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου και αέργηνα αρθρίτιδα (ή αντιδραστική αρθρίτιδα ή σύνδρομο *Reiter*).

Οι επικίνδυνες ηλικίες νόσησης λόγω του μικροοργανισμού *Shigella* είναι μεταξύ έως 14^{ων} ετών με συμπτώματα διάρροιας ή και δυσεντερίας, με καταγεγραμμένα πάνω από 100.000 περιστατικά ετησίως σε αυτές τις νεαρές ηλικίες και σε μεγαλύτερες.

Οι επαναλαμβανόμενες μολύνσεις και τα συμπτωματικά περιστατικά λόγω του παθογόνου μικροοργανισμού αυτού μπορεί να αυξήσει ή να επιδεινώσει τον υποσιτισμό και άλλες μορφές νόσων όπου οφείλονται σε κακές διατροφικές συνθήκες, υποβαθμίζει την σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης χρόνιας φλεγμονής του εντέρου της νόσου αυτής.

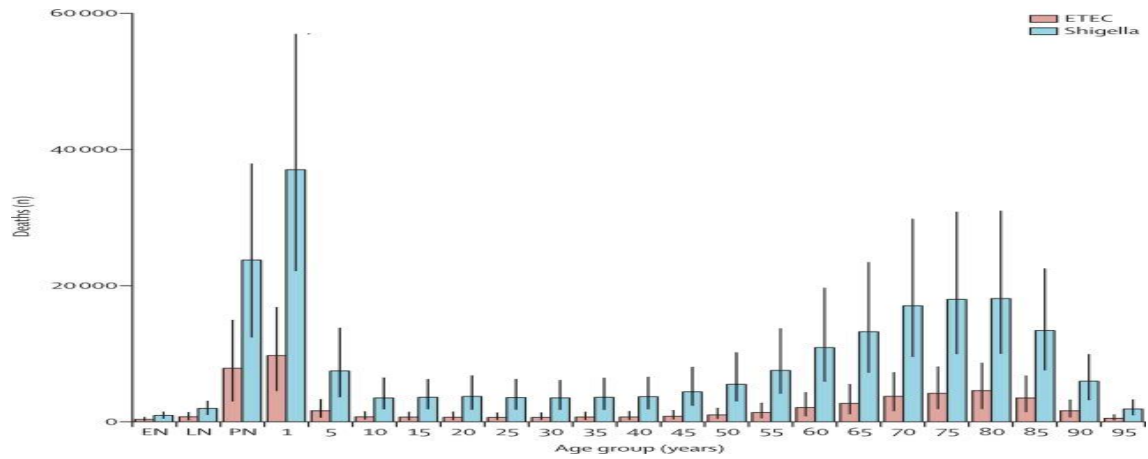
Ενώ υπάρχουν θεραπείες για την συγκεκριμένη νόσηση, η αύξηση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που αφορούν την δημόσια υγεία και είναι επιτακτική η ανάγκη για εύρεση μιας αποτελεσματικής αγωγής. Η δυσκολία εύρεσης αποτελεσματικής αγωγής οφείλεται κυρίως στην ύπαρξη 50 διαφορετικών οροτύπων *Shigella*.

Τελικά αποδείχτηκε ότι πρέπει να υπάρχει μια στρατηγική πρόληψης της μόλυνσης από αυτόν το παθογόνο μικροοργανισμό που μπορεί να περιλαμβάνει διάφορες θεραπείες ή συνδυασμό αυτών, καθώς και ένα σύνολο άλλων παραμέτρων όπως πρόσβαση σε ασφαλές νερό, βελτίωση προσωπικής υγιεινής και της υγιεινής τροφίμων (Khalil, I. A., et al., 2018).



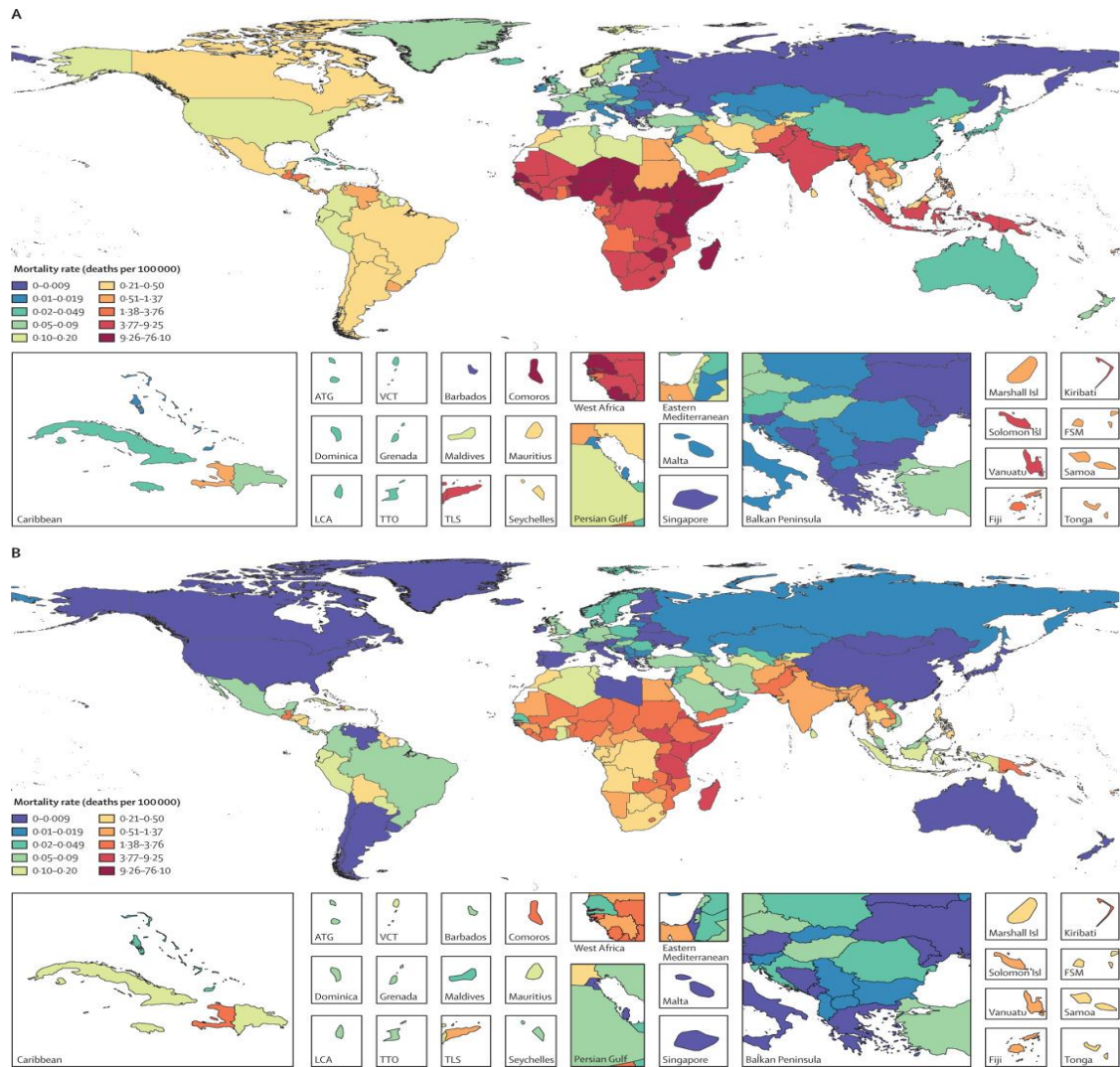
Εικόνα4.1.7.1: Η ηλικιακή κατανομή του πληθυσμού που αποδίδεται στο κλάσμα της θνησιμότητας από διάρροια σε παγκόσμιο επίπεδο το 2016 για το *Shigella* και το *ETEC* (Khalil, I. A., et al., 2018).

*Το κλάσμα που αποδίδεται στον πληθυσμό αντιπροσωπεύει το ποσοστό των θανάτων από διάρροια που οφείλονται σε κάθε παθογόνο. Οι κορδέλες είναι 95% διαστήματα αβεβαιότητας γύρω από τις μέσες εκτιμήσεις. *ETEC*=εντεροτοξιογόνο *Escherichia coli*. *EN*=πρώιμο νεογνικό. *LN*=όψιμο νεογνικό. *PN*=μεταγεννητικός.



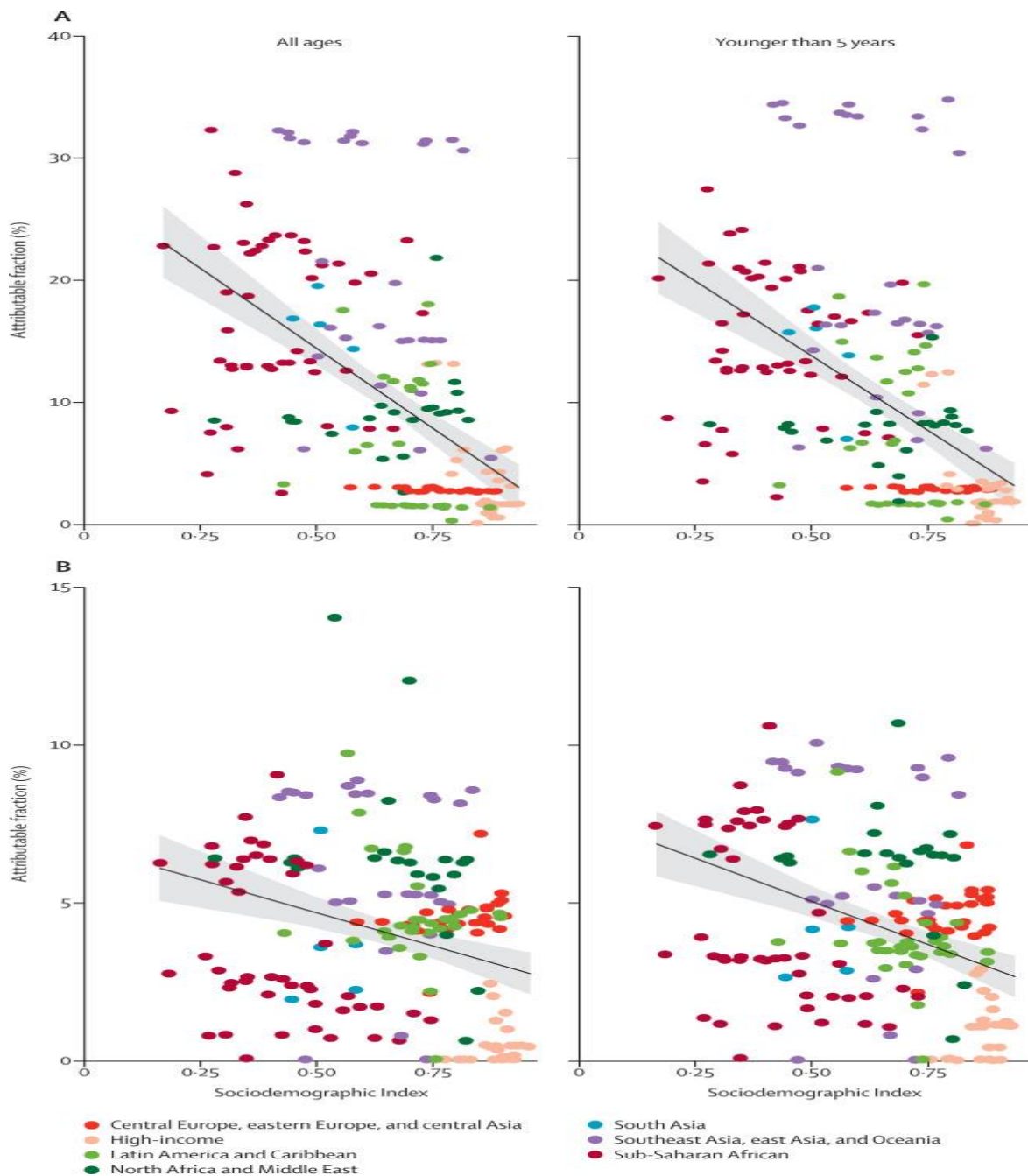
Εικόνα 4.1.7.2: Η ηλικιακή κατανομή των θανάτων από *Shigella* και *ETEC* παγκοσμίως το 2016 (Khalil, I. A., et al., 2018).

* Οι γραμμές σφάλματος είναι 95% διάστημα αβεβαιότητας. ETEC=εντεροτοξιγονικό *Escherichia coli*. EN=πρώιμο νεογνικό. LN=όψιμο νεογνικό. PN=μεταγεννητικός.



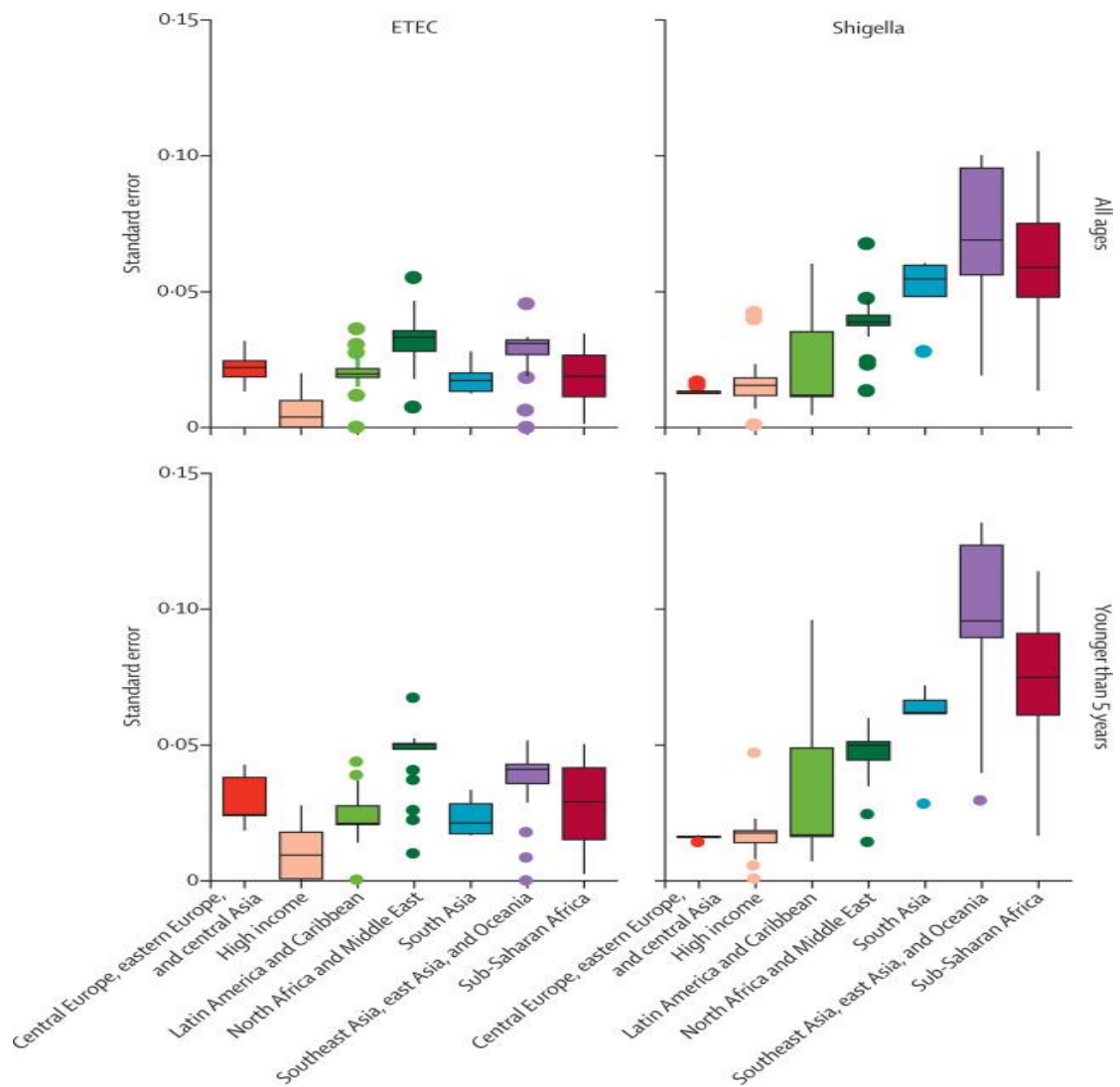
Εικόνα 4.1.7.3: Ποσοστό θνησιμότητας από διάρροια *Shigella* (A) και εντεροτοξιογόνο *Escherichia coli* (B) ανά 100.000 άτομα το 2016 για όλες τις ηλικίες (Khalil, I. A., et al., 2018).

* *ATG*= Αντίγκουα και Μπαρμπούντα. *VCT*=Ο Άγιος Βικέντιος και οι Γρεναδίνες. *LCA*= Αγία Λουκία. *TTO*= Τρινιδάδ και Τομπάγκο. *Isl*= Νησιά. *FSM*= Ομοσπονδιακές Πολιτείες της Μικρονησίας. *TLS*= Ανατολικό Τιμόρ.



Εικόνα 4.1.7.4: Αποδιδόμενο κλάσμα πληθυσμού *Shigella* (A) και ETEC (B) κατά κοινωνικοδημογραφικό δείκτη, 2016 (Khalil, I. A., et al., 2018).

* Ο κοινωνικοδημογραφικός δείκτης είναι ένα μέτρο της σχετικής ανάπτυξης μιας χώρας, με υψηλές τιμές να υποδηλώνουν μεγαλύτερη ανάπτυξη. Οι κορδέλες είναι 95% διαστήματα αβεβαιότητας. Τα χρώματα των σημείων είναι υπερ-περιοχές GBD. ETEC=εντεροτοξιγονικό *Escherichia coli*.



Εικόνα 4.1.7.5: Συσχέτιση μεταξύ τυπικού σφάλματος της υπερπεριοχής PAF και GBD (Khalil, I. A., et al., 2018).

*Τα δεδομένα είναι το τυπικό σφάλμα του μέσου PAF. ETEC=εντεροτοξιγονικό *Escherichia coli*. PAF = αποδιδόμενο κλάσμα πληθυσμού

Αντιμικροβιακή Κατηγορία	Μηχανισμός Αντίστασης	Γονίδια που μεσολαβούν στην αντιμικροβιακή ή ανοχή	Προέλευση	Γεωγραφική Προέλευση
β-Lactams	β-lactamases κατηγορίας A	<i>blaSHV-2</i>	P	Αργεντινή, Γαλλία
		<i>blaSHV-11</i>	C, P	Ινδία
		<i>blaSHV-12</i>	P	Κίνα, Τουρκία
		<i>blaPER-2</i>	—	Αργεντινή

<i>bla</i> TEM-1	I, P	Λίβανος, Χιλή, Κίνα, Ινδία, Ιράν, ΗΠΑ, Τζιμπουτί, Δανία, Γαλλία, Ελλάδα, Βραζιλία, Νότια Κορέα, Ηνωμένο Βασίλειο, Ρουμανία
<i>bla</i> TEM-1b	I, P	Κίνα, Νότια Κορέα
<i>bla</i> TEM-15	–	Νότια Κορέα
<i>bla</i> TEM-17		Νότια Κορέα
<i>bla</i> TEM-19	–	Νότια Κορέα
<i>bla</i> TEM-20	–	Νότια Κορέα
<i>bla</i> TEM-52	P	Νότια Κορέα
<i>bla</i> CTX-M-1	P	Κίνα Αργεντινή, Τουρκία, Νότια Κορέα, Ισραήλ
<i>bla</i> CTX-M-2	P	Κίνα, Τουρκία, Αργεντινή, Νότια Κορέα, Ινδία, Ισραήλ
<i>bla</i> CTX-M-3	P	Κίνα, Τουρκία, Αργεντινή, Νότια Κορέα, Ινδία, Ισραήλ
<i>bla</i> CTX-M-14	P	Κίνα, Τουρκία, Αργεντινή, Νότια Κορέα, ΗΠΑ, Ιαπωνία
<i>bla</i> CTX-M-15	C, P	Κίνα, Ισπανία, Ιράν, Νότια Κορέα, Ινδία, ΗΠΑ, Λίβανος, Ιαπωνία, Πολωνία, Νέα Ζηλανδία, Γαλλία, Ρουμανία
<i>bla</i> CTX-M-22	P	Κίνα
<i>bla</i> CTX-M-24	P	Κίνα
<i>bla</i> CTX-M-27	P	Κίνα
<i>bla</i> CTX-M-28	–	Κίνα
<i>bla</i> CTX-M-39	–	Ισραήλ
<i>bla</i> CTX-M-55	P	Κίνα, Νότια Κορέα
<i>bla</i> CTX-M-57	–	Κίνα
<i>bla</i> CTX-M-64	P	Ιαπωνία
<i>bla</i> CTX-M-65	P	Κίνα
<i>bla</i> CTX-M-79	P	Κίνα

	<i>bla</i> CTX-M-123	P	Κίνα	
	β-lactamases κατηγορίας B	<i>bla</i> IMP-like <i>bla</i> KPC	P –	Ινδία, Γαλλία Σενεγάλη, Γαλλία
	σαν- <i>bla</i> VIM	<i>bla</i> IMP-3 –	P Ινδία	Ιαπωνία
	β-lactamases κατηγορίες C	<i>bla</i> CMY-2	C, P	Κίνα, Μεξικό, Ινδία, Ιράν, Ταϊβάν, Κόστα Ρίκα, Ρουμανία
	<i>bla</i> DHA-1	<i>bla</i> CMY-59 C, I, P	C	Ιράν Κίνα, Ινδία, Ισραήλ
	β-lactamases κατηγορίας D	<i>bla</i> oxa-1-like	I, P	Μοζαμβίκη, Χιλή, Κίνα, Ινδία, ΗΠΑ, Αίγυπτος, Τζιμπουτί, Ισπανία, Ελλάδα, Δανία, Περού, Ιράν
		<i>bla</i> oxa-2-like	I	Μοζαμβίκη, Ισπανία, Ισραήλ
		<i>bla</i> oxa-5-like	–	Μοζαμβίκη, Ισπανία
	<i>bla</i> oxa-30-like	I, P	Σενεγάλη, Κίνα, Γαλλία, Ιαπωνία, Ισπανία, Βραζιλία	
Quinolones	Αντοχή στο πλασμίδιο	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrB4</i> <i>qnrB19</i> <i>qnrC</i> <i>qnrS</i> <i>qnrS1</i>	P P P P P P P	Ιράν Κίνα, Ινδία, Ιράν Ελβετία Ελβετία Ινδία Ιράν, Κίνα, Ινδία, Πακιστάν Ιράν, Κίνα, Ελβετία, ΗΠΑ
Αντλίες εκροής		<i>aac</i> -(60)-Ib-cr <i>qepA</i>	P P	ΗΠΑ, Ινδία, Ιαπωνία, Κίνα, Ιράν Κίνα, Ελβετία
Fosfomycin	Ένζυμα αντοχής στη φωσφομυκίνη	<i>fosA3</i>	P	Κίνα

Aminoglycosides : streptomycin		<i>strA</i>	MGE	Ινδία, Αυστραλία, Χιλή, Πακιστάν, Νότια Κορέα
		<i>strB</i>	MGE	Ινδία, Χιλή, Πακιστάν, Νότια Κορέα
	Adenyltransferase	<i>aadA1</i>	I, P	Σενεγάλη, Μπουτάν, Ινδία, Ταϊβάν, Ισπανία, Κίνα, Ιράν, Γαλλία, Αυστραλία, Βραζιλία, Πακιστάν, Νότια Κορέα
		<i>aadA2</i>	I, P	Ταϊβάν, Ισπανία, Κίνα, Νότια Κορέα, Γαλλία, Αυστραλία, Κορέα
<i>aadA5</i>	I, P	Ταϊβάν, Κίνα, Ιράν		
Tetracycline	Αντλίες εκροής	<i>tetA</i>	C, P	Μοζαμβίκη, Ταϊβάν, Χιλή, Περού, Βραζιλία, Ιράν, Ισπανία, Πακιστάν, Νότια Κορέα
		<i>tetB</i>	C, P	Μοζαμβίκη, Ταϊβάν, Περού, Γαλλία, Βραζιλία, Ιράν, Ισπανία, Πακιστάν
	<i>tetG</i>	C, P	Μοζαμβίκη, Ισπανία	
Trimethoprim	Dihydrofolate reductases	<i>dfrA1</i>	I, P	Ισπανία, Ταϊβάν, Σενεγάλη, Μοζαμβίκη, Ινδία, Μπουτάν, Κίνα, Ιράν, Νότια Κορέα, Περού, Γαλλία, Χιλή, Αυστραλία
		<i>dfrA5</i>	I, P	Ισπανία, Σενεγάλη, Κίνα

		<i>dfrA7</i>	I, P	Ισπανία, Ιράν, Γαλλία
		<i>dfrA8</i>	P	Μοζαμβίκη, Χιλή
		<i>dfrA12</i>	I, P	Ισπανία, Ταϊβάν, Κορέα, Αυστραλία, Νότια Κορέα
		<i>dfrA13</i>	P	Νότια Κορέα
		<i>dfrA14</i>	P	Μοζαμβίκη, Χιλή
		<i>dfrA14-like</i>	P	Μοζαμβίκη
		<i>dfrA15</i>	I, P	Ισπανία, Σενεγάλη
		<i>dfrA16</i>	P	Ισπανία
		<i>dfrA17</i>	I, P	Ταϊβάν, Κίνα, Ιράν, Βραζιλία
<i>dfrV</i>	I, P	Κίνα, Ινδία		
Sulfonamides	Ανθεκτικότητα που μεταδίδεται στο πλασμίδιο	<i>sul1</i>	I, P	Αυστραλία, Νότια Κορέα, Ταϊβάν
		<i>Sul2</i>	I, P	Ταϊβάν, Ινδία, Περού, Χιλή, Μπαγκλαντές, Νότια Κορέα
<i>Sul3</i>	I, P	Ταϊβάν		
Phenicols	Chloramphenicol acetyltransferase genes	<i>CatA-like</i>	P	Ταϊβάν, Μοζαμβίκη, Ινδία, Περού, Γαλλία, Βραζιλία, Πακιστάν
Αντλίες εκροής	<i>cmlA1</i>	I, P	Ταϊβάν, Μοζαμβίκη	
Colistin	Αντοχή στο πλασμίδιο	<i>mcr-1</i>	P	Κίνα, Βιετνάμ
Macrolide	Ενζυματική αδρανοποίηση	<i>mphA</i>	P	Παλαιστίνη, Ελβετία, Βιετνάμ, Κίνα, Καναδάς, Ηνωμένο Βασίλειο, Περού
rRNA methylase	<i>ermB</i>	P	Βιετνάμ, Καναδάς, Ηνωμένο Βασίλειο	

Πίνακας 4.1.7.6: Επιπολασμός Γονιδίων Αντιμικροβιακής Αντοχής σε *Shigella Spp.* Απομονωμένος από διαφορετικές περιοχές του κόσμου (Ranjbar, R., & Farahani, A., 2019).

Μεταλλάξεις τοποθεσίας στόχου	Κωδόνιο	Αλλαγές αμινοξέων	Μετάλλαξη Nucleotide	<i>Shigella</i> spp.	Χώρα Ανίχνευσης
	57	Asn→Lys	AAT→AAA	<i>S. flexner</i>	Κίνα
	69	Gln→Trp	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	71	Phe→Ser	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	72	Ser→Pro	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	75	Met→Leu	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	80	His→Pro	CAT→CCT	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
	80	His→Gly	CAT→GGT	<i>S. dysenteriae</i>	Βέλγιο
	83	Ser→Leu	TCG→TTG	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. boydii</i>	Κίνα, Μπαγκλαντές, Ελβετία, Ταϊλάνδη, Ινδία
<i>gyrA</i>	87	Asp→Asn	GAC→AAC	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Κίνα, Μπαγκλαντές, Ελβετία, Ινδία
	87	Asp→Gly	GAC→GGC	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Κίνα, Ελβετία, Ταϊλάνδη, Ινδία
	87	Asp→Tyr	GAC→TAC	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i>	Ελβετία
	90	Ser→Cys	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	94	Met→Leu	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	106	His→Pro	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	161	Asn→His	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	163	Thr→Ala	—	<i>S. sonnei</i>	Ινδία
	196	Val→Ala	—	<i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Ινδία
211	His→Tyr	CAC→TA C	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i>	Κίνα, Μπαγκλαντές	
<i>gyrB</i>	517	Gln→Arg	CAG→CGA	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
<i>parC</i>	64	Ala→Asp	GCC→GAC	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i>	Ινδία, Κίνα
	64	Ala→Cys	GCC→TGC	<i>S. sonnei</i>	Κίνα
	80	Ser→Ile	AGC→ATC	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Κίνα, Μπαγκλαντές, Ελβετία, Ινδία
	81	Ala→Phe	—	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
	83	Ser→Leu	—	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
	85	Ala→Thr	GCG→ACG	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
	85	Ala→Ser	GCG→TCG	<i>S. boydii</i>	Ελβετία
	86	Met→Trp	ATG→TGG	<i>S. sonnei</i>	Κίνα
	91	Gln→His	—	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
	93	Phe→Val	—	<i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Ινδία
	101	Asp→Glu	—	<i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Ινδία
	110	Asp→Glu	—	<i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Ινδία
	111	Asp→His	GAT→CAT	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
	129	Ser→Pro	TCC→CCC	<i>S. sonnei</i>	Κίνα
	408	Gly→Asp	GGC→GAC	<i>S. flexneri</i>	Κίνα
<i>parE</i>	458	Ser→Leu	TCG→TTG	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Κίνα, Ινδία
458	Ser→Ala	TCG→GC G	<i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Ινδία	

Πίνακας 4.1.7.7: Συχνότητα αλλαγών αμινοξέων και νουκλεοτιδίων στην αντίσταση της κινολόνης – Καθορισμός περιοχών απομονώσεων *Shigella* σε διαφορετικά μέρη του κόσμου (Ranjbar, R., & Farahani, A., 2019).

4.2) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά

4.2.1) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *E. Coli*

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα βακτήρια ειδοποιεί ότι απαιτείται επείγοντως επιτήρηση της μικροβιακής αντοχής για την προώθηση της κατάλληλης χρήσης της κτηνιατρικής. Η Επιτροπή της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τις δοκιμές αντιμικροβιακής ευαισθησίας όρισε τις κατανομές βακτηρίων άγριου τύπου (*WT*) ως πληθυσμούς οργανισμών χωρίς επίκτητο φαινοτυπικά ανιχνεύσιμο μηχανισμό αντοχής. Η επιδημιολογική τιμή αποκοπής (*ECV*) ορίστηκε ως η υψηλότερη τιμή ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (*MIC*) για τους πληθυσμούς *WT* όταν καλύπτουν τουλάχιστον το 95% των απομονώσεων *WT* (Turnidge et al., 2006). Ο καθορισμός ευαίσθητου σημείου θραύσης αποτελεί προϋπόθεση για την επιτήρηση της μικροβιακής αντοχής.

Εξ ορισμού, όταν οι μικροοργανισμοί χωρίζονται σε πληθυσμό *WT* και μη *WT* βάσει του *ECV* τους, το στέλεχος *WT* δεν θα πρέπει να φέρει γονίδιο αντίστασης που σχετίζεται με το φάρμακο που ελέγχεται. Μεταξύ των 9 αναγνωρισμένων γονιδίων αντοχής στη *florfenicol* (*floR*, *floRv*, *floSt*, *fexA*, *fexB*, *pexA*, *cfr*, *optrA* και *estDL136*), το *flore* είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας στα Gram-αρνητικά βακτήρια που προκαλούν αντοχή στη *florfenicol*. Το γονίδιο *aac(3)-IV* ανακαλύφθηκε αρχικά σε *E. coli* που προέρχεται από ζώα και έγινε το πιο διαδεδομένο γονίδιο αντίστασης στην *apramycin* σε λοιμώξεις ζώων και ανθρώπων. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου στόχου (*gyrAB* και *parCE*) στις περιοχές προσδιορισμού της αντίστασης στην *quinolone* (*QRDR*) είναι οι κύριοι μηχανισμοί στο *E. coli* για την αντοχή στην *quinolone*. Τα γονίδια αντίστασης στην κινολόνη που προκαλούνται από πλασμίδια, όπως *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* και *oqxAB*, συνήθως προσδίδουν χαμηλή αντοχή στις *florfenicol* και επίσης μπορούν να οδηγήσουν σε αυξανόμενο ποσοστό αντίστασης στην *quinolone* στα βακτήρια (Kim et al. , 2009).

4.2.1.1) Ανίχνευση Μηχανισμών Επίκτητης Αντίστασης

Όλα τα απομονωμένα στελέχη *E. coli* υποβλήθηκαν σε διαλογή για την παρουσία γονιδίων αντίστασης σε *quinolone aac(3)-IV*, *flor* και πλασμιδίου και μεταλλάξεων στο *QRDR* του *gyrAB* και του *parCE* χρησιμοποιώντας *PCR* και ανάλυση αλληλουχίας *DNA* (Hui-Lin Zhang, 2021).

Τα πολυανθεκτικά παθογόνα αντιπροσωπεύουν μία από τις μεγαλύτερες παγκόσμιες προκλήσεις στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης. Η μοριακή διάγνωση μπορεί να καθοδηγήσει αποτελεσματική θεραπεία με αντιβιοτικά, αλλά βασίζεται σε επικυρωμένους, προγνωστικούς βιοδείκτες. Εδώ παρουσιάζουμε μια νέα, καθολικά εφαρμόσιμη ροή εργασίας για την ταχεία ταυτοποίηση βιοδεικτών μικροβιακής αντοχής (*AMR*) από κλινικά απομονωμένα στελέχη *Escherichia coli* και αξιολογούμε ποσοτικά τη δυνατότητα ανάκτησης αιτιολογικών βιοδεικτών για παρατηρούμενους φαινοτύπους αντοχής. Για αυτό, δημιουργήθηκε μια μεταγονιδιωματική βιβλιοθήκη πλασμιδίων από 1.110 κλινικές απομονώσεις *E. coli* και χρησιμοποιήθηκε για διαλογή υψηλής απόδοσης για τον εντοπισμό υποψηφίων βιοδεικτών έναντι της *tobramycin* (*TOB*), *ciprofloxacin* (*CIP*) και *trimethoprim-sulfamethoxazole* (*TMP-SMX*). Οι ταυτοποιημένοι υποψήφιοι επικυρώθηκαν περαιτέρω *in vitro* και

αξιολογήθηκαν επίσης σε *silico* για τη διαγνωστική τους απόδοση με βάση τα αντίστοιχα δεδομένα γονότυπου-φαινότυπου. Οι βιοδείκτες *AMR* που ανακτήθηκαν από την προσέγγιση διαλογής της μεταγονιδιωματικής εξήγησαν μηχανιστικά το 77% των παρατηρούμενων φαινοτύπων αντοχής για την *tobramycin*, το 76% για την *trimethoprim-sulfamethoxazole* και το 20% τη *ciprofloxacin*. Η ευαισθησία για την ανίχνευση αντοχής στη *ciprofloxacin* θα μπορούσε να βελτιωθεί στο 97% συμπληρώνοντας τα αποτελέσματα με βιοδείκτες *AMR* που δεν μπορούν να ανακαλυφθούν λόγω εγγενών περιορισμών της ροής εργασίας. Επιπρόσθετα, όταν συνδυάστηκαν σε ένα πολυπλεξικό διαγνωστικό σε πάνελ πυριτίου, οι αναγνωρισμένοι βιοδείκτες *AMR* έφτασαν σε υποσχόμενες θετικές και αρνητικές προγνωστικές τιμές έως και 97 και 99%, αντίστοιχα. Τέλος, αποδεικνύουμε ότι η αναπτυγμένη ροή εργασίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό πιθανών νέων μηχανισμών αντίστασης.

Οι μικροβιακές λοιμώξεις και η μικροβιακή αντίσταση (*AMR*) έχουν γίνει μια σημαντική πρόκληση στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης που προκαλεί έως και 10 εκατομμύρια θύματα ετησίως έως το 2050 (O'Neill, 2016). Το ταχέως διαδεδομένο πρόβλημα της *AMR* τροφοδοτείται σε μεγάλο βαθμό από την αδιάκριτη χρήση αντιβιοτικών, η οποία οφείλεται κυρίως στην έλλειψη διαγνωστικών πληροφοριών σχετικά με τα αιτιολογικά παθογόνα και τα σχετικά πρότυπα αντοχής κατά τη στιγμή της θεραπείας. Η κατάσταση επιδεινώνεται περαιτέρω από τις φαρμακευτικές εταιρείες που αποσύρουν κεφάλαια από την ανάπτυξη νέων αντι-μολυσματικών φαρμάκων οδηγώντας σε έλλειψη νέων δομικών τάξεων, ιδιαίτερα εκείνων που δραστηριοποιούνται έναντι παθογόνων gram-αρνητικών υψηλής προτεραιότητας (WHO, 2017, Kingwell, 2018). Με αυξανόμενη πιθανότητα πολυανθεκτικών λοιμώξεων, οι διαγνωστικές πληροφορίες σχετικά με τη μικροβιακή αντοχή πριν από τη θεραπεία γίνονται όλο και πιο σημαντικές. Τα τρέχοντα μοριακά διαγνωστικά διαλύματα που χρησιμοποιούν αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (*PCR*) μπορούν να παρέχουν αυτές τις πληροφορίες με βάση μερικούς βιοδείκτες *AMR* μέσα σε λιγότερο από 1–2 ώρες. Ωστόσο, αποτυγχάνουν σε μεγάλο βαθμό στην παροχή ολοκληρωμένων προφίλ *AMR*. Αντίθετα, η αλληλουχία επόμενης γενιάς (*NGS*) μπορεί να παρέχει προφίλ γενετικής αντοχής στα αντιβιοτικά και εφαρμόζεται όλο και περισσότερο για κλινικές μικροβιολογία και εφαρμογές ελέγχου λοιμώξεων (Deurenberg et al., 2017). Επιπλέον, η χρήση του *NGS* για μελέτες επιτήρησης προτάθηκε πρόσφατα από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ECDC, 2016) με αποτέλεσμα τη συνεχή αύξηση των χωρών που χρησιμοποιούν συστηματικά *NGS* ως μέρος των εθνικών προγραμμάτων επιτήρησης λοιμώξεων (ECDC, 2018). Ανεξάρτητα από την τεχνολογία ανίχνευσης που χρησιμοποιείται, η ακριβής μοριακή διάγνωση της *AMR* εξαρτάται από επικυρωμένους βιοδείκτες *AMR*. Ωστόσο, οι συμβατικές προσεγγίσεις για την επικύρωση βιοδεικτών απαιτούν βαθιά γενετική και φαινοτυπική εργασία προφίλ καθώς και επίπονη λειτουργική εργασία επικύρωσης, περιορίζοντας έτσι την εφαρμογή βιοδεικτών για αναδύομενους μηχανισμούς αντίστασης στην κλινική πράξη.

Η λειτουργική μεταγονιδιωματική είναι μια πειραματική προσέγγιση πολλαπλών σταδίων που χρησιμοποιεί βιβλιοθήκες έκφρασης που κωδικοποιούν απομονωμένο *DNA* μικτών μικροβιακών πληθυσμών για τον μετασχηματισμό ενός σχετικού μικροοργανισμού ξενιστή. Οι μετασχηματισμένοι κλώνοι μπορούν στη συνέχεια να επιλεγούν για ένα ευρύ φάσμα φαινοτύπων ενδιαφέροντος, π.χ. ενζυματικές δραστηριότητες όπως λιπο-, αιμο- ή υδρολυτικές δραστηριότητες. Αυτό δυνητικά έχει ως αποτέλεσμα την ανακάλυψη νέων υποψήφιων ενζύμων που κωδικοποιούνται στον

αρχικό μικροβιακό πληθυσμό. Αυτή η προσέγγιση μεταγονιδιωματικής του κυνηγετικού όπλου μπορεί επίσης να εφαρμοστεί στην εξέταση για καθοριστικούς παράγοντες *AMR* χρησιμοποιώντας διάφορες μικροβιακές κοινοπραξίες ως υλικό έναρξης και χρησιμοποιήθηκε επίσης για τον προσδιορισμό της ταξινομικής ή φυλογενετικής προέλευσης μικροβιακών κοινοπραξιών σε περιβαλλοντικά δείγματα με την ανάκτηση γονιδίων φυλογενετικών δεικτών (Yung et al., 2009). Σε αυτή τη μελέτη, διερευνούμε εάν μια προσέγγιση λειτουργικής μεταγονιδιωματικής μπορεί να ανακτήσει αποτελεσματικά διαγνωστικά σχετικούς βιοδείκτες αντοχής στα αντιβιοτικά, καθώς και να εντοπίσει πιθανούς νέους μηχανισμούς ανθεκτικότητας από πραγματικά κλινικά στελέχη.

Εδώ, περιγράφουμε την ανάπτυξη, την εφαρμογή και την επικύρωση μιας ροής εργασιών προσυμπτωματικού ελέγχου λειτουργικής μεταγονιδιωματικής για την ταχεία αναγνώριση και επικύρωση βιοδεικτών *AMR* από κλινικές απομονώσεις για τα αντιβιοτικά *Tobramycin* (*TOB*), *Ciprofloxacin* (*CIP*) και *Trimethoprim-Sulfamethoxazole* (*TMP-SMX*). Αυτή η μελέτη βασίζεται στη βάση *GEAR*, μια ολοκληρωμένη συλλογή απομονωμένου *DNA*, αλληλουχιών ολόκληρου του γονιδιώματος και φαινοτυπικών δεδομένων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά 11.087 κλινικών απομονώσεων για 18 κύρια παθογόνα βακτηριακά είδη που συλλέχθηκαν στην Αυστραλία, την Ιαπωνία, τη Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη για τρεις δεκαετίες (Galata et al., 2019). Συνδυάζοντας πληροφορίες ολόκληρου του γονιδιώματος με ποσοτικούς φαινοτύπους *AMR*, το *GEAR-base* επιτρέπει τη λεπτομερή αξιολόγηση των υποψηφίων βιοδεικτών *AMR* χρησιμοποιώντας διαγνωστικούς δείκτες απόδοσης όπως ευαισθησία, ειδικότητα και θετικές και αρνητικές προγνωστικές τιμές. Ενώ αυτή η εργασία περιγράφει κυρίως την ανάπτυξη και την καθολική εφαρμογή μιας ροής εργασιών προσυμπτωματικού ελέγχου λειτουργικής μεταγονιδιωματικής για την αποτελεσματική ανάκτηση και επικύρωση γνωστών βιοδεικτών *AMR* από κλινικά δείγματα, επιπροσθέτως αποδεικνύουμε ότι η αναπτυγμένη μέθοδος είναι εξίσου εφαρμόσιμη για την αναγνώριση πιθανών νέων μηχανισμών αντοχής.

Για να εξηγηθούν καλύτερα πιθανοί νέοι μηχανισμοί *CIP* *AMR* που βασίζονται σε προβλεπόμενες λειτουργίες κωδικοποιημένων υποτιθέμενων πρωτεϊνών και την πιθανή σχέση τους με τον φαινότυπο αντίστασης, πραγματοποιήθηκε μια εις βάθος λειτουργική ανάλυση όλων των *ORF* με ελάχιστο μέγεθος 60 αμινοξέων (aa). Αυτό οδήγησε στον εντοπισμό ενός συνολικού αριθμού 174 ανοιχτών πλαισίων ανάγνωσης (*ORFs*) με τα περισσότερα από αυτά να είναι υποθετικές πρωτεΐνες χωρίς ομοιότητα με γνωστές πρωτεϊνικές αλληλουχίες (70,7%) ακολουθούμενες από τρανσποζάσες/ιντεγκράσες (11,4%), διατηρημένες υποθετικές πρωτεΐνες (8,6 %), και διάφορα τροποποιητικά ένζυμα (6,3%). Η λεπτομερής ανάλυση αυτών των πιθανών νέων μηχανισμών *AMR* αποτελεί επί του παρόντος αντικείμενο περαιτέρω πειραματικών μελετών.

Ιστορικά, η ανακάλυψη των βιοδεικτών *AMR* και *AMR* βασίστηκε σε μεγάλο βαθμό σε κουραστικά εμπρός γενετικά πειράματα για τον εντοπισμό αιτιολογικών γονιδίων και γενετικών μεταλλάξεων. Εδώ, περιγράφουμε μια καθολικά εφαρμόσιμη, λειτουργική ροή εργασιών μεταγονιδιωματικής και αποδεικνύουμε τις δυνατότητές της να ανακτήσει αποτελεσματικά διαγνωστικά σχετικούς βιοδείκτες καθώς και να εντοπίσουμε πιθανούς νέους μηχανισμούς αντίστασης για την *tobramycin* (*TOB*), την *trimethoprim-sulfamethoxazole* (*TMP-SMX*) και τη *ciprofloxacin* (*CIP*). Τα τρία αντιβιοτικά επιλέχθηκαν για να καλύπτουν (1) διαφορετικούς τρόπους δράσης, (2) αντιβιοτικά με γνωστή αντοχή στο γονίδιο και σημειακή μετάλλαξη και (3) φάρμακα συνδυασμού αντιβιοτικών για να διασφαλιστεί η ευρεία εφαρμογή της αναπτυγμένης

ροής εργασίας. Επιπλέον, η επιλογή περιορίστηκε στα αντιβιοτικά που περιλαμβάνονται στη βάση GEAR με τουλάχιστον 100 ανθεκτικές κλινικές απομονώσεις *E. coli* για να καταστεί δυνατή η στατιστική αξιολόγηση των χαρακτηριστικών απόδοσης.

4.2.1.2) Μηχανισμός αντίστασης για *tobramycin*

Εφαρμόζοντας την αναπτυγμένη ροή εργασιών, εντοπίσαμε επιτυχώς δείκτες AMR για αντοχή σε *aminoglycosides* που καλύπτουν τρεις κατηγορίες ενζύμων που τροποποιούν τις *aminoglycosides*. Εκτός από αυτούς, είναι γνωστοί μόνο μερικοί επιπρόσθετοι μηχανισμοί αντίστασης σε *aminoglycosides*: Πρώτον, αυξημένη εκροή, δεύτερον μειωμένη ικανότητα πρόσληψης και τρίτον, αλλοιωμένες θέσεις δέσμευσης ριβοσωμάτων, με τις δύο τελευταίες να προκαλούνται από γενετικές μεταλλάξεις. Η ροή εργασιών διαλόγησε εντόπισε επιτυχώς τον μεταφορέα *EmrE* για την αύξηση της πιθανότητας αντίστασης. Οι υπόλοιποι δύο μηχανισμοί είναι αμφιλεγόμενοι μικρής κλινικής σημασίας. Ενώ η μειωμένη πρόσληψη *aminoglycosides* οδηγεί μόνο σε μέτρια αύξηση της αντίστασης, διαφορετικές *aminoglycosides* συνδέονται σε διαφορετικές θέσεις στο ριβόσωμα. Ως εκ τούτου, η υψηλού επιπέδου αντίσταση σε διάφορες *aminoglycosides* επιτυγχάνεται μόνο εάν διαφορετικές θέσεις σε όλα τα κωδικοποιημένα αντίγραφα των αντίστοιχων ριβοσωμικών γονιδίων μεταλλάσσονταν ταυτόχρονα επειδή τα προκαρυωτικά κωδικοποιούν πολλαπλά αντίγραφα πολλών ριβοσωμικών υπομονάδων ή πρωτεϊνών. Εξαιρέσεις αποτελούν το *Mycobacterium spp.* και *Borrelia spp.* Εφόσον δεν παρατηρήθηκαν μηχανισμοί αντίστασης χαμηλού έως μεσαίου επιπέδου στην εξέταση μας, αυτό μπορεί είτε να σημαίνει ότι αυτές οι μεταλλάξεις που προκαλούν αυτόν τον τύπο αντίστασης δεν υπάρχουν στη μεταγονιδιωματική βιβλιοθήκη είτε ότι το εκχωρούμενο επίπεδο αντίστασης είναι πολύ χαμηλό για να παρατηρηθεί. Το τελευταίο σημείο τεκμηριώνεται από το αναγνωρισμένο πάνελ *in silico ResFinder* για *tobramycin*, το οποίο – με βάση γνωστούς δείκτες που προσδίδουν αντίσταση – θα μπορούσε να αυξήσει τους ανιχνευόμενους φαινοτύπους αντοχής μόνο κατά 3% σε σύγκριση με το κανονικό πάνελ *TOB* – εξαιρουμένης της μη ειδικής εκροής που προκαλείται από *EmrE*. Οι κύριοι μηχανισμοί αντίστασης αναγνωρίστηκαν με επιτυχία από τη ροή εργασίας.

4.2.1.3) Μηχανισμός αντίστασης για *trimethoprim-sulfamethoxazole*

Η αντίσταση στο *TMP-SMX* προκαλείται από πολλαπλούς μηχανισμούς που σχετίζονται με τα δύο ένζυμα στόχους της *trimethoprim* και *sulfamethoxazole*, *DHFR* και *DHPS*, αντίστοιχα (Miovic and Pizer, 1971; Sköld, 2001; Jonsson et al., 2003). Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν

- (1) το *DHFR* που παρουσιάζει μια φυσική εγγενή αναισθησία προς την *trimethoprim*,
- (2) αυθόρμητες μεταλλάξεις που μειώνουν την ευαισθησία σε εγγενώς ευαίσθητο *DHFR*,
- (3) αυξημένη έκφραση του *DHFR* και
- (4) οριζόντια απόκτηση ανθεκτικών γονιδίων (*HFR*) (Pikis et al., 1998· Brochet et al., 2008).

Η αντοχή στα σουλφοναμίδια προκαλείται κυρίως από την παρουσία των ανθεκτικών σε *sulfonamides* ενζύμων *DHPS* *Sul1*, *Sul2* και *Sul3*. Έχει επίσης αναφερθεί ενδογενής αντίσταση σε *trimethoprim* και *sulfamethoxazole* ως αποτέλεσμα της ενδογενούς χαμηλής διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης σε πολλά είδη. Ωστόσο, αυτοί οι μηχανισμοί δεν φαίνεται να είναι οριζόντια μεταδιδόμενοι όπως οι

ανθεκτικές παραλλαγές των *DHFR* και *DHPS*. Στην προσέγγισή μας, μπορέσαμε να αναγνωρίσουμε με επιτυχία τρεις γνωστές ανθεκτικές στην *trimethoprim* παραλλαγές του *DHFR* (*DfrA17*, *FolA* και *DfrA14*) και δύο από τα τρία γνωστά ένζυμα *DHPS* ανθεκτικά στα *sulfonamides* (*Sul1* και *Sul2*). Μια ανάλυση αλληλουχίας των παραλλαγών του *DHFR* και του *DHPS* σε αυτή τη μελέτη δεν αποκάλυψε παραλλαγές πολυμορφισμού μεμονωμένων νουκλεοτιδίων και υποθέτουμε ότι η αντίσταση οφειλόταν στην υψηλότερη αφθονία των αντίστοιχων πρωτεϊνών που προκαλούσε ένα αποτέλεσμα τιτλοδότησης. Ανάλογα με τα ευρήματά μας στην *Tobramycin*, η προσθήκη μηχανισμών αντοχής χαμηλού έως μεσαίου επιπέδου μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία με το κόστος της εξειδίκευσης. Σε αντίθεση με την αντίσταση στην *Tobramycin*, η αντίσταση στο *TMP-SMX* φαίνεται να προκαλείται από μεγαλύτερο αριθμό μηχανισμών, εξηγώντας πιθανώς το μεγαλύτερο χάσμα στην ευαισθησία μεταξύ των επικυρωμένων πλαισίων δεικτών *AMR* και των θεωρητικών πλαισίων που αναγνωρίζονται από το *ResFinder*.

4.2.1.4) Μηχανισμός αντίστασης για *ciprofloxacin*

Η αντίσταση στις *fluoroquinolones* όπως η *CIP* βασίζεται κυρίως σε χρωμοσωμικές μεταλλάξεις που μεταβάλλουν τη γυράση του *DNA* και την τοποϊσομεράση *IV*, την αλλαγή των τύπων των πορινών και τις ποσότητες τους (Jacoby, 2005). Επιπρόσθετα, αναφέρθηκαν καθοριστικοί παράγοντες αντοχής με τη μεσολάβηση πλασμιδίου όπως η *aminoglycosides acetyltransferase AAC(6')-Ib-cr* και οι πρωτεΐνες της οικογένειας πενταπεπτιδίων *Qnr* (Strahilevitz et al., 2009). Όσο για αυτή τη μελέτη, ανακτήσαμε μόνο μηχανισμούς αντίστασης που μεταδίδονται από το πλασμίδιο σε πειράματα έκφρασης μεμονωμένων γονιδίων, ενώ άλλοι σημαντικοί παράγοντες αντίστασης για το *CIP*, όπως η αλλοιωμένη γυράση *DNA* ή η τοποϊσομεράση *IV* παρέμειναν ακάλυπτοι. Ωστόσο, αυτό το εύρημα μπορεί να εξηγηθεί από τον τρόπο δράσης του *CIP*: Και οι δύο γυράσες *DNA* και τοποϊσομεράσες είναι ένζυμα αναδιαμόρφωσης του *DNA* και ως τέτοιοι στόχοι της *CIP*. Η δέσμευση της *Ciprofloxacin* σε αυτούς τους στόχους προκαλεί σταθεροποίηση του συμπλέγματος διάσπασης ομοιοπολικού ενζύμου-*DNA* (σε μια διαδικασία που ονομάζεται «δηλητηρίαση»). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή του *DNA* και την έναρξη μιας σειράς γεγονότων που τελικά οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο (Drlica et al., 2009, Kohanski et al., 2010). Ως εκ τούτου, πιστεύουμε ότι μια επίδραση τιτλοδότησης, όπως πιθανώς παρατηρήθηκε για την αντίσταση στο *TMP-SMX*, δεν είναι δυνατή για το *CIP*, καθώς τα εναπομείναντα εγγενή ένζυμα οδηγούν σε θανατηφόρους φαινοτύπους επίσης με την πρόσθετη παρουσία ενζύμων που κωδικοποιούνται από πλασμίδιο που φιλοξενούν αντίσταση που προσδίδουν μεταλλάξεις. Επομένως, η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται εδώ μπορεί να φέρει έναν εγγενή περιορισμό στην ανακάλυψη στοιχείων ανθεκτικότητας που δεν μπορούν να ανακτηθούν λόγω φυσικών πρωτεϊνών που προκαλούν θανατηφόρους φαινοτύπους που δεν μπορούν να διασωθούν με την έκφραση ανθεκτικών καθοριστικών παραγόντων. Ωστόσο, πιστεύουμε ότι έχουμε ανακτήσει τους κύριους προσδιοριστές αντίστασης με τη μεσολάβηση πλασμιδίου, όπως επιβεβαιώνεται από την σχεδόν πανομοιότυπη απόδοση μεταξύ του επικυρωμένου δείκτη *AMR* και των θεωρητικών πλαισίων που προσδιορίζονται από το *ResFinder*.

Είναι ενδιαφέρον ότι ένας σημαντικός αριθμός των συναρμολογημένων contigs που ελήφθησαν από τα δεδομένα *NGS* των συγκεντρωμένων παραγώγων *pACYC184* δεν κωδικοποιούσαν γνωστούς καθοριστικούς παράγοντες αντίστασης προς το *CIP*. Ανησυχώντας για πιθανές αντιστάσεις σε τεχνουργήματα *CIP*, όλα τα πλασμίδια

ανθεκτικότητας μετασηματίστηκαν εκ νέου σε άλλα γενετικά υπόβαθρα, τα οποία οδηγούν και πάλι σε αναπαραγωγίμους φαινοτύπους αντίστασης. Αυτό μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι αρκετοί ακόμη άγνωστοι καθοριστικοί παράγοντες αντίστασης ή συνδυασμοί τους πρέπει να κωδικοποιηθούν σε αυτά τα θραύσματα. Αναλύθηκαν για προβλεπόμενες συναρτήσεις, τα περισσότερα από τα αναγνωρισμένα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης κωδικοποιούν υποθετικές πρωτεΐνες με μια ακόμη άγνωστη λειτουργία στο *AMR*. Για να αποκαλυφθεί ο ρόλος τους στην *AMR*, απαιτούνται περαιτέρω πειράματα χαρακτηρισμού

Εδώ, περιγράφουμε μια ροή εργασιών διαλογής λειτουργικής μεταγονιδιωματικής για ταχεία και οικονομικά αποδοτική ανακάλυψη και λειτουργική επικύρωση βιοδεικτών *AMR* για τη διευκόλυνση της μετάφρασης νέων βιοδεικτών *AMR* από κλινικά δείγματα σε διαγνωστικές εφαρμογές. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης βασίζονται σε μια βιβλιοθήκη προσυμπτωματικού ελέγχου μεταγονιδιωματικής πρωτοφανούς κλίμακας, που συνδυάζει 1.110 κλινικά απομονωμένα στελέχη *E. coli* που συλλέγονται παγκοσμίως. Η ανάκτηση των πιο σημαντικών, διαγνωστικά σημαντικών βιοδεικτών *AMR* για τρία αντιβιοτικά διαφορετικού τρόπου δράσης, την *tobramycin*, την *trimethoprim-sulfamethoxazole* και τη *ciprofloxacin*, υπογραμμίζει την καθολική εφαρμογή της ροής εργασίας. Όπως τονίζεται από τους [Morel et al. \(2016\)](#), η χρήση βιοδεικτών *AMR* έχει τη δυνατότητα όχι μόνο να επιταχύνει και να μειώσει το κόστος της ανάπτυξης αντιβιοτικών φαρμάκων αλλά και να καθοδηγήσει αποτελεσματικές θεραπευτικές επιλογές ως μέρος μιας συνοδευτικής διάγνωσης ([Richards et al., 2015](#)). Το όφελος της μοριακής διάγνωσης στην επιτυχή έκβαση της θεραπείας υπογραμμίζεται περαιτέρω από μια μεγάλη μετα-μελέτη που δείχνει ότι η χρήση διαγνωστικών βιοδεικτών σε κλινικές δοκιμές σχετίζεται με σχεδόν 3 φορές υψηλότερο ποσοστό επιτυχίας για νέα αντι-λοιμώδη και θεραπευτικές επιλογές μολυσματικών ασθενειών ([Wong et al., 2019](#)). Με βάση αυτά τα ευρήματα, συμπεραίνουμε ότι η συνεχής και αποτελεσματική ανακάλυψη, επικύρωση και διαγνωστική χρήση βιοδεικτών *AMR* θα παραμείνει υψίστης σημασίας για να καταστεί δυνατή η έγκαιρη ενημερωμένη θεραπεία και η αποτελεσματική καταπολέμηση της *AMR*. Η λειτουργική μεταγονιδιωματική σε συνδυασμό με τον έλεγχο που βασίζεται σε NGS έχει ήδη αποδειχθεί ότι είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την αναγνώριση βιοδεικτών που σχετίζονται με *AMR* σε περιβαλλοντικά δείγματα. Ωστόσο, από όσο γνωρίζουμε, δεν έχει μέχρι στιγμής αποδειχθεί ότι οι δείκτες *AMR* μπορούν επίσης να ανακτηθούν αποτελεσματικά από πραγματικά κλινικά δείγματα για να ενημερώσουν στη συνέχεια τις σχετικές διαγνωστικές εφαρμογές.

Ως εκ τούτου, χρησιμοποιώντας 1.110 απομονώσεις *E. coli* με ταιριαστές αλληλουχίες ολόκληρου του γονιδιώματος και προφίλ μικροβιακής αντοχής, αποδεικνύουμε για πρώτη φορά ότι

- (1) μια προσέγγιση διαλογής μεταγονιδιωματικής μπορεί να ανακτήσει αποτελεσματικά διαγνωστικούς δείκτες *AMR* από κλινικά δείγματα και
- (2) αυτούς τους δείκτες *AMR*, όταν συνδυάζονται στη συνέχεια σε ένα πάνελ επιτυγχάνουν πολύ υποσχόμενες διαγνωστικές παραμέτρους απόδοσης. Επομένως, συμπεραίνουμε ότι η μεθοδολογία που περιγράφεται σε αυτή τη μελέτη θα είναι ένα ανεκτίμητο εργαλείο για τη διευκόλυνση της ταχείας επικύρωσης νέων βιοδεικτών *AMR* για διαγνωστική χρήση.

4.2.2) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *Campylobacter*

Το *Campylobacter* είναι ένα σημαντικό τροφιμογενές παθογόνο και έχει γίνει όλο και πιο ανθεκτικό σε κλινικά σημαντικά αντιμικροβιακά. Για να αντιμετωπίσει την πίεση επιλογής από τη χρήση αντιμικροβιακών τόσο στην κτηνιατρική όσο και στην ανθρώπινη ιατρική, το *Campylobacter* έχει αναπτύξει πολλαπλούς μηχανισμούς αντίστασης στα αντιβιοτικά, όπως τροποποίηση ή μετάλλαξη αντιμικροβιακών στόχων, τροποποίηση ή αδρανοποίηση αντιβιοτικών και μειωμένη συσσώρευση φαρμάκων από αντλίες εκροής φαρμάκων. Μερικοί από αυτούς τους μηχανισμούς προσδίδουν αντοχή σε μια συγκεκριμένη κατηγορία αντιμικροβιακών, ενώ άλλοι προκαλούν αντοχή σε πολλά φάρμακα. Συγκεκριμένα, νέοι μηχανισμοί αντίστασης στα αντιβιοτικά αναδύονται συνεχώς στο *Campylobacter* και ορισμένα παραδείγματα περιλαμβάνουν τις πρόσφατες ανακαλυφθέντες γονιδιωματικές νησίδες ανθεκτικότητας σε ευρέως φάσματος φάρμακα που φιλοξενούν πολλαπλά γονίδια που εμπλέκονται στην αντοχή σε *aminoglycosides* και *macrolides*, ένα νέο *Cfr(C)* που προσδίδει αντοχή στις *phenicols* και άλλα φάρμακα και Ισχυρή αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων Παραλλαγή *CmeABC (RE-CmeABC)* που παρουσιάζει σημαντικά ενισχυμένη λειτουργία στην αντοχή σε πολλά φάρμακα και σχετίζεται με εξαιρετικά υψηλού επιπέδου αντοχή στις *fluoroquinolones*. Αυτοί οι νεοεμφανιζόμενοι μηχανισμοί αντοχής είναι οριζόντια μεταφερόμενοι και διευκολύνουν σημαντικά την προσαρμογή του *Campylobacter* στα περιβάλλοντα παραγωγής τροφίμων όπου χρησιμοποιούνται συχνά αντιβιοτικά. Σε αυτό το άρθρο, θα συζητήσουμε πώς το *Campylobacter* αντιστέκεται στη δράση διαφόρων κατηγοριών αντιμικροβιακών, με έμφαση στους μηχανισμούς που ανακαλύφθηκαν πρόσφατα (Shen, Z, et al, 2018) .

Ως τροφιμογενές παθογόνο, το *Campylobacter* είναι διαδεδομένο στις εντερικές οδούς των ζώων που παράγουν τρόφιμα και συχνά εκτίθεται σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για ζωική παραγωγή. Ως απόκριση στην πίεση επιλογής από τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για τη κτηνοτροφία και την φαρμακευτική αγωγή για ανθρώπους, το *Campylobacter* έχει αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς αντοχής σε κλινικά σημαντικά αντιβιοτικά. Τόσο το CDC όσο και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχουν πρόσφατα κατατάξει το ανθεκτικό στα φάρμακα *Campylobacter* ως σοβαρή απειλή για την αντοχή στα αντιβιοτικά (CDC, 2013, WHO, 2017). Λόγω της σημασίας του *Campylobacter* στην ασφάλεια των τροφίμων και τη δημόσια υγεία, έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες για την κατανόηση της επιδημιολογίας και των μηχανισμών αντοχής στα αντιβιοτικά σε αυτόν τον οργανισμό. Αυτή η ανασκόπηση θα συνοψίσει την τρέχουσα γνώση για την αντοχή στα αντιβιοτικά στο *Campylobacter*, με έμφαση στους κλινικά σημαντικούς και πρόσφατα ανακαλυφθέντες μηχανισμούς ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.

Το *Campylobacter* έχει αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς για την εξουδετέρωση της πίεσης επιλογής από αντιμικροβιακούς παράγοντες. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν:

- Τον περιορισμό της πρόσβασης των αντιβιοτικών στους στόχους τους, που περιλαμβάνει τη μείωση της διαπερατότητας της μεμβράνης και την αύξηση της εξώθησης των αντιβιοτικών από αντλίες εκροής.
- Τροποποίηση ή προστασία αντιβιοτικών στόχων.
- Τροποποίηση ή αδρανοποίηση των αντιβιοτικών.

Αυτοί οι μηχανισμοί μπορεί να δρουν μαζί στην αντίσταση σε διαφορετικές κατηγορίες αντιβιοτικών. Σε αυτή την ενότητα, οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην αντοχή του *Campylobacter* στο FQ, τις μακρολίδες και τη φλορφενικόλη θα μελετηθούν λόγω της κλινικής σημασίας ή σημασίας τους για τη ζωική παραγωγή.

4.2.2.1) Μηχανισμοί αντίστασης FQ (*fluoroquinolone*)

Οι *quinolones* είναι μια κατηγορία αντιμικροβιακών ευρέος φάσματος που είναι ισχυρά έναντι τόσο των αρνητικών κατά Gram όσο και των θετικών κατά Gram βακτηρίων. Σύμφωνα με το φάσμα δράσης τους, οι *quinolones* έχουν ταξινομηθεί σε τέσσερις γενιές. Η πλειονότητα των *quinolones* που χρησιμοποιούνται σήμερα για κλινικές θεραπείες είναι FQ, οι οποίες προέρχονται από τις κινολόνες με υποκατάσταση φθορίου στη θέση C-6 ή C-7, αυξάνοντας έτσι τη δραστηριότητά τους έναντι των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (Andersson & MacGowan, 2003). Μόλις εισέλθουν στα βακτηριακά κύτταρα, τα αντιμικροβιακά FQ ασκούν την αντιβακτηριδιακή τους δράση αλληλεπιδρώντας με τη γυράση DNA και την τοποϊσομεράση IV, με αποτέλεσμα θραύσεις DNA διπλής τοποθέτησης και κυτταρικό θάνατο (Jacoby, 2005). Δύο κύριοι μηχανισμοί αντοχής στα FQs αναγνωρίζονται επί του παρόντος στα βακτήρια *Campylobacter*, συμπεριλαμβανομένων μεταλλάξεων που αλλάζουν τον στόχο του αντιβιοτικού και που μειώνουν την ενδοκυτταρική συσσώρευση αντιβιοτικών. Σε άλλα gram-αρνητικά βακτήρια, η προστασία στόχου με τη μεσολάβηση της πρωτεΐνης *Qnr* εμπλέκεται επίσης στην αντοχή στο FQ αλλά αυτός ο μηχανισμός έχει δεν έχει αναφερθεί στο *Campylobacter*.

Στα gram-αρνητικά βακτήρια, η γυράση είναι ο κύριος στόχος των αντιβιοτικών FQ, ενώ, στα θετικά κατά Gram βακτήρια, η τοποϊσομεράση IV είναι πιο ευαίσθητη στη δράση του FQ (Jacoby, Αναφορά Jacoby2005). Και τα δύο ένζυμα αποτελούνται από δύο ζεύγη υπομονάδων, που ονομάζονται *GyrA* και *GyrB* (DNA γυράση) και *ParC* και *ParE* (τοποϊσομεράση IV) (Payot et al., 2006). Αν και τα περισσότερα βακτήρια έχουν και τα δύο ένζυμα, το *Campylobacter* δεν έχει τα γονίδια *parC* και *parE* και επομένως δεν είναι οι στόχοι των αντιμικροβιακών FQ στο *Campylobacter* (Bachoual et al., 2001, Payot et al., 2002, Piddock et al., 2003). Επιπρόσθετα, καμία μετάλλαξη στο *gyrB* δεν έχει συσχετιστεί με την αντοχή στο FQ στο *Campylobacter* (Bachoual et al., 2001). Επομένως, μεταλλάξεις που συνδέονται με την αντίσταση FQ στο *C. jejuni* και το *C. coli* εμφανίζονται κυρίως στο *GyrA*. Συγκεκριμένα, η αντίσταση στα FQs περιλαμβάνει υποκαταστάσεις αμινοξέων σε μια περιοχή του *GyrA* που ονομάζεται «περιοχή προσδιορισμού της αντίστασης στην *quinolone*». Αυτή η περιοχή βρίσκεται εντός της περιοχής δέσμευσης DNA στην επιφάνεια της γυράσης του DNA και τα αντίστοιχα αμινοξέα εκτείνονται από τη θέση 51 έως τη θέση 106 (αρίθμηση *E. coli*), με κοινές μεταλλάξεις στις θέσεις αμινοξέων 83 και 87 (θέση 86 και 90 σε *Campylobacter*) (Friedman et al., 2001).

Η πιο συχνή μετάλλαξη που παρατηρείται σε στελέχη *Campylobacter* ανθεκτικά στο FQ είναι Thr-86-Ile, ακολουθούμενη από Asp-90-Asn, Thr-86-Lys, Thr-86-Ala, Thr-86-Val, Asp-90-Tyr, και Ala-70-Thr (Wang et al., 1993, Engberg et al., 2001, Luo et al., 2003). Η μετάλλαξη Thr-86-Ile προσδίδει υψηλό επίπεδο αντίστασης FQ [ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση *ciprofloxacin* (MIC) $\geq 16 \mu\text{g ml}^{-1}$] στο *Campylobacter*, ενώ άλλες μεταλλάξεις σχετίζονται με χαμηλό έως μεσαίο επίπεδο αντοχής (MIC = 1–8 $\mu\text{g ml}^{-1}$) (Luo et al., 2003, Payot et al., 2006, Yan et al., 2006). Διπλές μεταλλάξεις συμπεριλαμβανομένων των Thr-86-Ile/Pro-104-Ser και Thr-86-Ile/Asp-90-Asn έχουν επίσης συνδεθεί με την αντοχή στο FQ στο *Campylobacter*

(Payot et al., 2006). Επιπλέον, η απόκτηση υψηλού επιπέδου αντίστασης *FQ* στο *Campylobacter* δεν απαιτεί σταδιακή συσσώρευση σημειακών μεταλλάξεων στο *gyrA*. Αντίθετα, μια μόνο σημειακή μετάλλαξη στο *gyrA* μπορεί να οδηγήσει σε κλινικά σχετικά επίπεδα αντοχής στα αντιμικροβιακά *FQ* (Gootz and Martin, 1991, Wang et al., 1993, Ruiz et al., 1998, Luo et al., 2003, Yan et al., 2006).

Η αντλία εκροής *CmeABC* συμβάλλει σημαντικά τόσο στην εγγενή όσο και στην επίκτητη αντίσταση του *C. jejuni* στα αντιμικροβιακά *FQ* μειώνοντας τη συσσώρευση *FQ* στα κύτταρα *Campylobacter* (Ge et al., 2005). Στον άγριο τύπο 81-176, η αδρανοποίηση του *CmeB* οδήγησε σε 8 φορές μείωση του *MIC* της *ciprofloxacin*, υποδηλώνοντας ότι το *CmeABC* συμβάλλει στην εγγενή αντίσταση του *Campylobacter* στα *FQ* (Lin et al., 2002). Ακόμη και παρουσία μεταλλάξεων *GyrA* που προσδίδουν αντίσταση, η μεταλλαξογένεση του *CmeABC* οδήγησε σε δραστική μείωση του *MIC* της σιπροφλοξασίνης σε απομονώσεις *FQR*, υποδεικνύοντας τη σημασία του *CmeABC* στην αντίσταση στο *FQ* (Luo et al., 2003). Η υπερέκφραση του *CmeABC*, είτε απενεργοποιώντας τον καταστολέα του *CmeR* είτε με μετάλλαξη της περιοχής προαγωγέα του *cmeABC*, αύξησε την αντίσταση στα *FQ* στο *Campylobacter*. Η πρόσφατα ταυτοποιημένη παραλλαγή *CmeABC* (*RE-CmeABC*) έδειξε πολύ υψηλότερη απόδοση στη λειτουργία εκροής και προσέφερε μια εξαιρετικά υψηλού επιπέδου αντίσταση (σιπροφλοξασίνη $MIC \geq 256 \mu\text{g ml}^{-1}$) σε *FQ* παρουσία μεταλλάξεων *GyrA*. Το *RE-CmeABC* φαίνεται να είναι ολοένα και πιο διαδεδομένο στην Κίνα, όπου τα *FQ* έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για πρακτικές ζωικής παραγωγής (Yao et al., 2016). Μειώνοντας την ενδοκυτταρική συγκέντρωση των αντιβιοτικών, το *CmeABC* διευκολύνει και προάγει την εμφάνιση του *FQR* *Campylobacter* υπό πίεση επιλογής, επειδή οι μεταλλάξεις *GyrA* από μόνες τους δεν επαρκούν για να επιβιώσουν από το φονικό αποτέλεσμα της *ciprofloxacin*. Απουσία ενός λειτουργικού *CmeABC*, πολλά αυθόρμητα μεταλλάγματα *gyrA* δεν θα μπορούσαν να εμφανιστούν υπό την επιλογή αντιβιοτικών (Yan et al., 2006).

4.2.2.2) Μηχανισμοί αντίστασης στα *macrolides*

Τα αντιβιοτικά *macrolides*, όπως *erythromycin*, *azithromycin*, *clarithromycin* και *relythromycin*, είναι μια κατηγορία φυσικών προϊόντων που αποτελούνται από έναν μεγάλο μακροκυκλικό δακτύλιο λακτόνης, ο οποίος είναι συνήθως 14-, 15- ή 16-μελής (Tenson et al., 2003). Τα *macrolides* αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση δεσμεύοντας το ριβόσωμα που περιλαμβάνει το 23S *rRNA* και τις ριβοσωμικές πρωτεΐνες. Οι *macrolides* χρησιμοποιούνται συνήθως για τη θεραπεία θετικών κατά Gram κόκκων (κυρίως σταφυλόκοκκων και στρεπτόκοκκων), θετικών κατά Gram βακίλων, αρνητικών κατά gram κόκκων και ορισμένων αρνητικών κατά gram βακίλων, όπως το *Campylobacter* και το ελικοβακτηρίδιο (Leclercq, 2002). Για την κλινική θεραπεία της καμπυλοβακτηρίωσης, *macrolides* όπως η *erythromycin* θεωρούνται συχνά το φάρμακο εκλογής. Τρεις μηχανισμοί έχουν αναφερθεί για αντοχή στα μακρολίδια στα βακτήρια, οι οποίοι περιλαμβάνουν

- Τροποποίηση των θέσεων-στόχων με μετάλλαξη ή μεθυλίωση,
- Ενεργή εκροή αντιβιοτικών από βακτηριακά κύτταρα και
- Αδρανοποίηση αντιβιοτικού.

Στο *Campylobacter*, οι δύο πρώτοι μηχανισμοί έχουν τεκμηριωθεί, αλλά δεν έχει αναφερθεί αδρανοποίηση μακρολιδίων από τη δράση εστεράσης ή φωσφοτρανσφερασών.

Στο *Campylobacter*, οι θέσεις 2074 και 2075 του 23S *rRNA* αντιστοιχούν στις θέσεις 2058 και 2059 στο *E. coli*, αντίστοιχα. Αυτά τα δύο νουκλεοτίδια αλληλεπιδρούν άμεσα με αντιβιοτικά *macrolides* και οι μεταλλάξεις στις δύο θέσεις μειώνουν τη σύνδεση των μακρολιδίων στο 23S *rRNA* (Tenson et al., 2003). Μέχρι σήμερα, τέσσερις τύποι σημειακών μεταλλάξεων στο 23S *rRNA* έχουν συνδεθεί με την αντίσταση *macrolides* στο *Campylobacter*, συμπεριλαμβανομένων των A2074C, A2074G, A2074T και A2075G. Μεταξύ αυτών των σημειακών μεταλλάξεων, το A2075G έχει παρατηρηθεί πιο συχνά (Jensen & Aarestrup, 2001, Vacher et al., 2003). Το *C. jejuni* και το *C. coli* έχουν τρία αντίγραφα του 23S *rRNA* (*rtn* οπερόνιο). Στα περισσότερα κλινικά στελέχη που είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στην *erythromycin* (MIC > 128 μg ml⁻¹), και τα τρία αντίγραφα των οπερονίων *rtn* μεταλλάχθηκαν (Jensen & Aarestrup, 2001, Niwa et al., 2001, Gibreel et al., 2005). Όταν η μετάλλαξη A2074T εμφανίστηκε μόνο σε ορισμένα από τα οπερόνια *rtn*, προσέδιδε μόνο χαμηλή αντίσταση στα *macrolides* (Vacher et al., 2005). Ωστόσο, όταν οι μεταλλάξεις A2074T συνέβησαν και στα τρία αντίγραφα των γονιδίων 23S *rRNA*, τα μεταλλαγμένα στελέχη ήταν εξαιρετικά ανθεκτικά σε *macrolides* (Ohno et al., 2016).

Τροποποίηση της ριβοσωματικής πρωτεΐνης L4 και L22 έχει επίσης βρεθεί ότι προσδίδει αντοχή *macrolides* στο *Campylobacter*. Τα L4 και L22 κωδικοποιήθηκαν από τα γονίδια *rplD* και *rplV*, αντίστοιχα, και αμφότερα θεωρήθηκαν ως τμήμα της σήραγγας εξόδου πεπτιδίου του ριβοσώματος 50S. Τα αμινοξέα που εκτείνονται στις θέσεις 63-74 αναφέρονται ως οι πιο σημαντικές περιοχές στόχοι της πρωτεΐνης L4 (Corcoran et al., 2006). Μετάλλαξη σε αυτή την περιοχή είχε αναφερθεί σε πολλά βακτήρια με υψηλά επίπεδα αντοχής στην *erythromycin* (Chittum and Champney, 1994, Tait-Kamradt et al., 2000, Malbruny et al., 2002). Στο *Campylobacter*, η τροποποίηση G74D μόνη της βρέθηκε ότι προσδίδει χαμηλή έως μέτρια αντοχή στα *macrolides* (Cagliero et al., 2006). Εκτός της περιοχής 63-74 αμινοξέων του L4, αρκετές άλλες υποκαταστάσεις αμινοξέων συσχετίστηκαν με αντοχή στα μακρολίδια τόσο στο *Campylobacter* όσο και στο *Streptococcus* (Doktor et al., 2004; Corcoran et al., 2006). Οι τροποποιήσεις του L22, συμπεριλαμβανομένης της εισαγωγής, της μετάλλαξης και της διαγραφής εμπλέκονται επίσης στην αντοχή στα *macrolides* στο *Campylobacter*. Ακόμη εντόπιστηκε μια μοναδική υποκατάσταση A103V στην πρωτεΐνη L22, η οποία συνδέθηκε με υψηλό επίπεδο αντοχής στην ερυθρομυκίνη τόσο στο *C. jejuni* όσο και στο *C. coli*. Τρεις έως τέσσερις εισαγωγές αμινοξέων στη θέση 86 ή 98 της πρωτεΐνης L22 παρατηρήθηκαν επίσης σε απομονώσεις ανθεκτικές στα *macrolides* (Caldwell et al., 2008, Lehtopolku et al., 2011).

Πρόσφατα, εμφανίστηκε ένας νέος μηχανισμός αντοχής *macrolides* στο *Campylobacter* (Qin et al., 2014), ο οποίος διαμεσολαβείται από το γονίδιο *erm(B)* που κωδικοποιεί μια *rRNA methyltransferase*. Αυτό το ένζυμο προσθέτει μια ομάδα μεθυλίου στη θέση A2058 (αρίθμηση *E. coli*) που βρίσκεται εντός μιας διατηρημένης περιοχής της περιοχής V του 23S *rRNA*. Η μεθυλίωση σε αυτή τη θέση προκαλεί διασταυρούμενη αντοχή σε *macrolide*, *lincosamide* και *streptogramin B* (φαινότυπος MLSB). Μέχρι σήμερα, έχουν αναφερθεί 43 γονίδια *erm* (μεθυλάση ριβοσώματος *erythromycin*), αλλά μόνο το *erm(B)* έχει ανιχνευθεί στο *Campylobacter*, συμπεριλαμβανομένων των *C. jejuni* και *C. coli* στο Κίνα και Ευρώπη (Qin et al., 2014, Deng et al., 2015; Florez-Cuadrado et al., 2016). Στην πρώτη αναφορά του

erm(B) στο *C. coli*, εντοπίστηκε σε ένα γονιδιωματικό τμήμα 12.035 bp στο χρωμόσωμα και βρέθηκε ότι προσδίδει υψηλού επιπέδου αντίσταση στην *erythromycin* (MIC 512 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Αυτό το τμήμα περιείχε 17 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs), 8 από τα οποία ήταν καθοριστικοί παράγοντες αντοχής στα αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των *erm(B)*, *tet(O)* και 6 γονίδια που κωδικοποιούσαν ένζυμα τροποποίησης *aminoglycoside* (Qin et al., 2014). Έτσι, το γονιδιωματικό τμήμα ονομάστηκε ως γονιδιωματικό νησί *MDR* (*MDRGI*). Αυτό το *MDRGI* μπορεί να μεταφερθεί μεταξύ *C. jejuni* και *C. coli* μέσω φυσικού μετασχηματισμού. Το γονίδιο *erm(B)* εντοπίστηκε επίσης αργότερα στο *C. jejuni*, όπου συσχετίστηκε με αρκετά γονίδια μικροβιακής αντοχής [*tet(O)*, *aadE* και *aad9*] σε ένα *MDRGI* που εισήχθη στο χρωμόσωμα σε διαφορετική θέση σε σύγκριση με ότι στο *C. coli* (Deng et al., 2015). Στην Ευρώπη, το αναγνωρισμένο *erm(B)* στο *C. coli* εντοπίστηκε επίσης σε ένα *MDRGI*, αλλά τα περιεχόμενα *MDRGI* ήταν διαφορετικά από αυτά που βρέθηκαν στην Κίνα (Florez-Cuadrado et al., 2016). Είναι ενδιαφέρον ότι τα *MDRGI* που φέρουν *erm(B)* έχουν διαφορετικά περιεχόμενα G + C από το υπόλοιπο χρωμόσωμα, γεγονός που υποδηλώνει ότι το *Campylobacter* απέκτησε το *erm(B)* από άλλους βακτηριακούς οργανισμούς μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων (Florez-Cuadrado et al., 2016). Η εμφάνιση του *erm(B)* στο *Campylobacter* είναι ανησυχητική επειδή από μόνο του προσδίδει υψηλού επιπέδου αντοχή σε αντιβιοτικά *macrolides* και είναι οριζόντια μεταβιβάσιμη. Επομένως, η εξάπλωση του θετικού στο *erm(B)* *Campylobacter* θα πρέπει να παρακολουθείται συνεχώς.

Η αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων *CmeABC* συμβάλλει επίσης σημαντικά στην αντοχή σε *macrolides* του *Campylobacter*. Αυτό αποδείχθηκε για πρώτη φορά με μια μετάλλαξη εισαγωγής του γονιδίου *cmeB* σε άγριου τύπου 81-176, η οποία οδήγησε σε 4 φορές μείωση του *MIC* της *erythromycin* (Lin et al., 2002). Επιπλέον, η υπερέκφραση του *CmeABC* με μετάλλαξη του καταστολέα *CmeR* οδήγησε σε τετραπλάσια αύξηση της αντίστασης στην *erythromycin* (Lin et al., 2005). Ακόμη και στα εξαιρετικά ανθεκτικά στελέχη (που φιλοξενούν τις μεταλλάξεις που προσδίδουν αντίσταση στο 23S rRNA), η απενεργοποίηση του γονιδίου *cmeB* οδήγησε σε δραστηκή μείωση του *MIC* της *erythromycin* (Cagliero et al., 2005, Lin, et al, 2007) υποδηλώνοντας ότι οι σημειακές μεταλλάξεις στο 23S rRNA και το *CmeABC* λειτουργούν συνεργιστικά προσδίδοντας αντοχή στα *macrolides* υψηλού επιπέδου.

4.2.2.3) Μηχανισμοί αντίστασης *florfenicol*

Το *florfenicol* είναι ένα φθοριούχο παράγωγο της *thiamphenicol* και έχει χρησιμοποιηθεί μόνο στην κτηνιατρική από την εισαγωγή του στα μέσα της δεκαετίας του 1990 (Syriopoulou et al., 981). Στις ΗΠΑ, η *florfenicol* ενδείκνυται επί του παρόντος για τη θεραπεία της αναπνευστικής νόσου των βοοειδών και του μεσοδακτυλίου φλεγμονιού των βοοειδών. Η *florfenicol* έχει ευρύ αντιβακτηριακό φάσμα τόσο κατά Gram-θετικών όσο και Gram-αρνητικών οργανισμών και παρουσιάζει καλή ιδιότητα διείσδυσης στους ιστούς λόγω της λιποφιλικότητας της (Schwarz et al., 2004). Μόλις εισέλθει σε ένα βακτηριακό κύτταρο, η *florfenicol* δεσμεύεται στο κέντρο της πεπτιδυλτρανσφεράσης για να αποτρέψει την επιμήκυνση της πεπτιδικής αλυσίδας, με αποτέλεσμα την αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης και τον βακτηριακό θάνατο. Με τα χρόνια, τα βακτήρια έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για την εξουδετέρωση της πίεσης επιλογής από τη *florfenicol*, συμπεριλαμβανομένων

της τροποποίησης ή προστασίας των αντιβιοτικών στόχων και της μείωσης της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης μειώνοντας τη διαπερατότητα και αυξάνοντας την εκροή.

Λειτουργώντας ως μεθυλοτρανσφεράση *rRNA*, το *Cfr* προσθέτει μια μεθυλομάδα στη θέση A2503 του 23S *rRNA* και παίζει σημαντικό ρόλο στην βακτηριακή αντίσταση στη *florfenicol* (Kehrenberg et al., 2005). Δεδομένου ότι η θέση A2503 του 23S *rRNA* βρίσκεται στο κέντρο της πεπτιδυλ τρανσφεράσης, το οποίο είναι ο στόχος ενός αριθμού αντιμικροβιακών παραγόντων, η τροποποίηση αυτής της θέσης επηρεάζει τη δέσμευση πολλαπλών τάξεων αντιβιοτικών. Πράγματι, η δοκιμή ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά αποκάλυψε ότι τα στελέχη *Staphylococcus aureus* και *E. coli* που εκφράζουν το γονίδιο *cfr* έδειξαν ανθεκτικότητα σε πέντε χημικά διακριτές κατηγορίες αντιμικροβιακών, συμπεριλαμβανομένων *phenolic*, *lincosamides*, *oxazolidinones*, *pleuromutilins* και *streptogramin*. Η αντίσταση που προκαλείται από το *Cfr* στις *oxazolidinones* είναι ιδιαίτερα ανησυχητική καθώς αυτή η κατηγορία αντιβιοτικών θεωρείται η τελευταία λύση για τη θεραπεία των θετικών κατά gram *MDR*. Το γονίδιο *cfr* ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά σε ένα πλασμίδιο 16,5 kb από απομόνωση *S. sciuri* βόειας προέλευσης το 2000 (Schwarz et al., 2000). Από την πρώτη του ανακάλυψη, το *cfr* έχει ανιχνευθεί σε μια σειρά από Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια (Schwarz et al., 2000, Dai et al., 2010, Wang et al., 2012, Shenb Liu et al., 2013). Το γονίδιο *cfr* συχνά μεταφέρεται από μεταβιβάσιμα πλασμίδια με επιπρόσθετα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, διευκολύνοντας τη διάδοση και την εμφάνισή του σε διαφορετικά βακτηριακά είδη και υπό διάφορες εκλεκτικές συνθήκες (Wang et al., 2013· Liu et al., Αναφορά Liu, Wang, Dai, Wu and Shen2014· Li et al., 2015, Zhang et al., 2015). Αργότερα, μια παραλλαγή που μοιάζει με *cfr*, που ονομάζεται *cfr(B)*, ανακαλύφθηκε σε ένα κινητό γενετικό στοιχείο τόσο στο *Peptoclostridium difficile* όσο και στο *Enterococcus faecium* ανθρώπινης προέλευσης (Deshpande et al., 2015· Hansen and Vester, 2015). Το *Cfr(B)* μοιράζεται 74,9% ταυτότητα αλληλουχίας αμινοξέων (*aa*) με το αρχικό *Cfr* και προσδίδει τον ίδιο φαινότυπο *MDR* (Deshpande et al., 2015).

Αν και η *florfenicol* δεν χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της λοίμωξης από *Campylobacter*, η χρήση της στη ζωική παραγωγή επιβάλλει πίεση επιλογής στο *Campylobacter*. Πρόσφατα, ένα νέο γονίδιο που μοιάζει με *cfr*, που ονομάζεται *cfr(C)*, αναγνωρίστηκε στο *Campylobacter coli* και στο *Clostridium difficile* (Candela et al.,2017; Tang et al., 2017). Στο *Campylobacter*, το *cfr(C)* εντοπίστηκε σε ένα συζευγμένο πλασμίδιο ~48 kb και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 379 *aa* που δείχνει μόνο 55,1 και 54,9% *aa* ταυτότητα με το αρχικό *Cfr* από *Staphylococcus sciuri* (Schwarz et al., 2000) και το πρόσφατα αναφερθέν *Cfr(B)* από *E. faecium*, αντίστοιχα (Deshpande et al., 2015). Η κλωνοποίηση του *cfr(C)* στο *C. jejuni* NCTC11168 και η συζευκτική μεταφορά του πλασμιδίου που περιέχει *cfr(C)* επιβεβαίωσε το ρόλο του στην παροχή αντίστασης σε *phenicols*, *lincosamides*, *pleuromutilines* και *oxazolidinones*, που οδήγησε σε αύξηση κατά 8 έως 256 φορές τα *MIC* τους τόσο στο *C. jejuni* όσο και στο *C. coli*. Αυτά τα ευρήματα καθιέρωσαν το *cfr(C)* ως νέο γονίδιο *MDR* και αντιπροσωπεύουν την πρώτη αναφορά ενός γονιδίου που μοιάζει με *cfr* σε ένα τροφιμογενές παθογόνο. Στο *Clostridium difficile*, το *cfr(C)* βρίσκεται σε ένα υποθετικό τρανσποζόνιο 24 kb και επίσης προσδίδει αντοχή στο *PhLOPSA* (Candela et al., 2017). Εκτός από το *Cfr*, η μετάλλαξη στον αντιβιοτικό στόχο προσδίδει επίσης αντίσταση στη *florfenicol*. Για παράδειγμα, μια μετάλλαξη G2073A και στα τρία αντίγραφα του 23S *rRNA* αποδείχθηκε ότι προκαλεί αντίσταση στη *chloramphenicol* και τη *florfenicol* στο *C. jejuni* (Ma et al., 2014).

Το τυπικό *CmeABC* στο *C. jejuni* NCTC 11168 είχε περιορισμένη επίδραση στην αντοχή στη *florfenicol* (Tang et al., 2017). Ωστόσο, η πρόσφατα αναγνωρισμένη παραλλαγή αντλίας εκροής, *RE-CmeABC*, είναι πολύ πιο ισχυρή στο να προσδίδει αντοχή στη *florfenicol* και άλλα αντιβιοτικά (Yao et al., 2016). Το *Re-CmeABC* ανακαλύφθηκε από απομονώσεις MDR *C. jejuni* και η μεταφορά αυτού του μηχανισμού εκροής σε διαφορετικά στελέχη *C. jejuni* οδήγησε σε >32 φορές αύξηση στο MIC της *florfenicol*, υποδηλώνοντας τον ισχυρό ρόλο της στην εξώθηση της *florfenicol*.

Το γονίδιο *floR*, που κωδικοποιεί μια αντλία εκροής MDR, προκαλεί αντίσταση στη *chloramphenicol* και τη *florfenicol* (Arcangioli et al., 1999). Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στη *Salmonella typhimurium* DT104 και είχε επίσης ανιχνευθεί σε *C. coli* (Frye et al., 2011). Το *floR* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 404 αμινοξέων, η οποία λειτουργεί ως μεταφορέας εκροής. Είναι ενδιαφέρον ότι τα *pp-flo*, *floSt*, *flo* και *floR* συνδέονται στενά, παρόλο που τους αποδίδονται διαφορετικά ονόματα στη βιβλιογραφία (Kim and Aoki, 1999· Bolton et al., 1999). Λειτουργικά, όλα προσδίδουν αντοχή τόσο στη *chloramphenicol* όσο και στη *florfenicol*. Η ευθυγράμμιση αλληλουχίας έδειξε 96-100% ταυτότητα στις αλληλουχίες νουκλεοτιδίων τους και 88-100% ταυτότητα στις αλληλουχίες αμινοξέων. Τα γονίδια *fexA* και *fexB*, που κωδικοποιούν ειδικές αντλίες εκροής *phenolic*, προσδίδουν επίσης αντίσταση στη *florfenicol*. Έχουν βρεθεί σε *Staphylococcus*, *Bacillus* και *Enterococcus*, αλλά όχι στο *Campylobacter* (Dai et al., 2010, Liu et al., 2012, Gomez-Sanz et al., 2013).

4.2.2.4) Μηχανισμοί αντίστασης στη *beta-lactam*

Τα αντιβιοτικά *beta-lactam*, όπως η *penicillin*, αναστέλλουν την ανάπτυξη βακτηρίων διαταράσσοντας τη διασύνδεση *peptidoglycan* κατά τη βιοσύνθεση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. Αν και τα αντιβιοτικά *beta-lactam* δεν συνταγογραφούνται συνήθως για τη θεραπεία της λοίμωξης από *Campylobacter*, πρόσφατες μελέτες έχουν προτείνει ότι η από του στόματος *beta-lactam*, όπως το *co-amoxiclav*, θα μπορούσε να είναι μια κατάλληλη επιλογή όταν το *Campylobacter* είναι ανθεκτικό τόσο στο *FQ* όσο και στα *macrolides*. Στο *Campylobacter*, έχουν τεκμηριωθεί δύο μηχανισμοί αντοχής στη *beta-lactam*. Το ένα είναι η παραγωγή της *beta-lactamase* *OXA-61* και το άλλο είναι η αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων.

Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι η πλειονότητα των απομονώσεων *Campylobacter* ήταν ανθεκτικά στην αμπικιλίνη και η ανθεκτικότητα ήταν πιο κοινή μεταξύ των απομονώσεων *C. coli* παρά μεταξύ των απομονώσεων *C. jejuni* (Li et al., 2007; Griggs et al., 2009, Komba et al., 2015). Η αλληλουχία γονιδιώματος του *C. jejuni* NCTC 11168 αποκάλυψε την παρουσία μιας υποτιθέμενης χρωμοσωμικά κωδικοποιημένης κατηγορίας D *beta-lactamase* (Parkhill et al., 2000). Το αντίστοιχο γονίδιο σε μια κλινική ανθρώπινη απομόνωση GC015 έχει χαρακτηριστεί λειτουργικά και αποδείχθηκε ότι προσφέρει ≥ 32 φορές αύξηση στα MIC της *ampicillin*, *piperacillin* και *carbenicillin* στο *C. jejuni* (Alfredson and Korolik, 2005). Το επίπεδο έκφρασης του γονιδίου μπορεί επίσης να ρυθμίσει την ευαισθησία του *Campylobacter* στις *beta-lactam*. Για παράδειγμα, μια μετάλλαξη μεμονωμένου νουκλεοτιδίου (μεταστροφή G-T) στην περιοχή προαγωγέα του *bla OXA-61* οδήγησε σε υπερέκφραση του *bla OXA-61* και κατά συνέπεια ≥ 256 φορές αύξηση στην

αντίσταση στη *beta-lactam* στο *C. jejuni* (Zeng et al., 2014). Ένας φαινότυπος μεταλλάκτη που προκύπτει από μια μόνο αλλαγή αμινοξέος (G199W) στο *MutY* αύξησε τη συχνότητα μετάλλαξης της μετατροπής G-T στην περιοχή του προαγωγέα *bla OXA-61* και κατά συνέπεια αύξησε τη συχνότητα της αυθόρμητης μετάλλαξης αντίστασης στην *ampicillin* στο *C. jejuni* (Dai et al., 2015). Εκτός από το *OXA-61*, άλλα μη χαρακτηρισμένα γονίδια *beta-lactamase* μπορεί να υπάρχουν στο *Campylobacter* (Griggs et al., 2009). Το *CmeABC* παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην εγγενή αντίσταση στα αντιβιοτικά βήτα-λακτάμης καθώς η μετάλλαξη του *CmeB* είχε ως αποτέλεσμα 32 φορές μείωση του *MIC* της *ampicillin* (Lin et al., 2002).

4.2.2.5) Μηχανισμοί αντίστασης στην *tetracycline*

Οι *tetracyclines* είναι μια σημαντική κατηγορία αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται ευρέως τόσο στην ιατρική όσο και στην ιατρική των ζώων (Chopra, 2001). Αυτή η κατηγορία αντιβιοτικών εμποδίζει την ανάπτυξη βακτηρίων αναστέλλοντας την πρωτεϊνσύνθεση με την αλληλεπίδραση των αντιβιοτικών στη ριβοσωμική υπομονάδα 30S (Chopra, Αναφορά Chopra2001). Ο πιο σημαντικός μηχανισμός αντοχής στις *tetracyclines* προκύπτει από την απόκτηση γενετικά κινητών γονιδίων αντίστασης σε *tetracyclines* (tet), τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες που είτε εξωθούν τις *tetracyclines* είτε παρέχουν ριβοσωμική προστασία (Chopra and Roberts, 2001). Στο *Campylobacter spp.*, αναφέρθηκαν δύο μηχανισμοί αντίστασης στην *tetracyclines*, συμπεριλαμβανομένου της πρωτεΐνης ριβοσωματικής προστασίας tet(O) και της ενδογενούς εκροής που προκαλείται από το *CmeABC*. Το tet(O) είναι το μόνο γονίδιο ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη που έχει εντοπιστεί στο *Campylobacter* μέχρι στιγμής. Η πρωτεΐνη Tet(O) συνδέεται με το μόριο *tetracyclines* και προωθεί την απελευθέρωσή της από τη θέση στόχο στο ριβόσωμα (Connell et al 2003). Το γονίδιο Tet(O) μπορεί να βρίσκεται σε πλασμίδια ή στο χρωμόσωμα. Η περιεκτικότητα σε G + C (40%) του tet(O) είναι υψηλότερη από αυτή των γονιδιωμάτων *Campylobacter* (~30%), υποδηλώνοντας ότι το *Campylobacter* μπορεί να έχει λάβει το γονίδιο από άλλα βακτήρια με οριζόντια μεταφορά γονιδίου. Η αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων, *CmeABC*, έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει τόσο στην εγγενή όσο και στην επίκτητη αντοχή στην *tetracyclines* (Lin et al., 2002; Gibreel et al, 2007). Στη χρώση μετάλλαξης *CmeB* 81-176 (που φιλοξενεί tet(O)), το *MIC* της *tetracyclines* μειώθηκε κατά 8 φορές (Lin et al., 2002).

4.2.2.6) Μηχανισμοί αντίστασης σε *aminoglycosides*

Τα αντιβιοτικά *aminoglycosides* είναι μια κατηγορία αντιβακτηριακών παραγόντων ευρέως φάσματος που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία τόσο των Gram-θετικών όσο και των Gram-αρνητικών οργανισμών. Τα αντιβιοτικά *aminoglycosides* ασκούν την αντιβακτηριακή τους δράση δεσμεύοντας τη ριβοσωμική υπομονάδα 30S, διαταράσσοντας έτσι τη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών (Mingeot-Leclercq et al., 1999). Η *gentamicin* είναι μια σημαντική *aminoglycosides* και χρησιμοποιείται στον άνθρωπο για τη θεραπεία σοβαρής λοίμωξης, συμπεριλαμβανομένης της συστηματικής λοίμωξης που προκαλείται από το *Campylobacter*. Η *gentamicin* είναι επίσης εγκεκριμένη για την πρόληψη του θανάτου που σχετίζεται με βακτηριακή λοίμωξη σε νεαρά ζώα διατροφής, συμπεριλαμβανομένων των νεοσσών μιας ημέρας και των πουλερικών γαλοπούλας ηλικίας 1 έως 3 ημερών. Λόγω της νεφροτοξικότητας και της ωτοτοξικότητας, η κατανάλωση *gentamicin* έχει μειωθεί σημαντικά. Ωστόσο, η αυξανόμενη αντιμικροβιακή αντοχή σε νεότερους παράγοντες

έχει ωθήσει τους γιατρούς να επαναξιολογήσουν τη χρήση αυτών των παλαιών αντιβιοτικών ενώσεων (Falagas et al., 2008).

Έχουν αναφερθεί αρκετοί μηχανισμοί αντοχής στη *gentamicin* στο *Campylobacter*. Το *aacA4* κωδικοποιεί μια *aminoglycoside* 6'-N- *acyltransferase*, προσδίδει αντίσταση σε *aminoglycoside* που περιέχουν δακτύλιο πουργουροζαμίνης συμπεριλαμβανομένης της *gentamicin*, και ήταν το πρώτο ανθεκτικό στη *gentamicin* γονίδιο που βρέθηκε σε απομονώσεις *C. jejuni* (Lee et al., 2002). Το γονίδιο, *aph(2'')-If* ταυτοποιήθηκε σε ένα συζευγμένο πλασμίδιο MDR από ένα κλινικό στέλεχος του *C. jejuni*, το οποίο απομονώθηκε από έναν στρατιώτη των ΗΠΑ που αναπτύχθηκε στην Ταϊλάνδη (Nirdnoy et al., 2005). Αν και αυτό το γονίδιο αρχικά θεωρήθηκε ως διλειειτουργικό ένζυμο και σχολιάστηκε ως *aac(6' -Ie)/aph(2'' -Ia)* (ονομάστηκε επίσης *aacA/aphD*), αργότερα επιβεβαιώθηκε ως *monofunctional aminoglycoside kinase* και ονομάστηκε *aph(2'')-If* (Toth et al., 2013). Μια πρόσφατη μελέτη από την Κίνα διαπίστωσε ότι το *aph(2'')-If* ήταν χρωμοσωμικά κωδικοποιημένο και έχει γίνει ο κυρίαρχος καθοριστικός παράγοντας αντοχής στη *gentamicin* σε απομονώσεις *Campylobacter* προέλευσης κοτόπουλου και χοίρων (Yao et al., 2017). Ένα γονιδιωματικό νησί που περιέχει πολλαπλά γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα αδρανοποίησης *aminoglycoside* έχει ανιχνευθεί σε μεταδοτικά πλασμίδια στο *C. jejuni* καθώς και στο χρωμόσωμα του *C. coli* (Nirdnoy et al., 2005, Qin et al., 2012). Ένα άλλο γονίδιο ανθεκτικό στη *gentamicin*, το *aph(2'')-Ig*, το οποίο μοιράζεται 28% ταυτότητα αμινοξέων με το *aph(2'')-If*, ανιχνεύτηκε σε ένα συζευγμένο πλασμίδιο MDR 55 kb που μοιράστηκε 95% ταυτότητα αλληλουχίας νουκλεοτιδίων με ένα πλασμίδιο *pTet* σε *Campylobacter* (Chen et al., 2013). Μια πρόσφατη μελέτη εντόπισε εννέα παραλλαγές γονιδίων αντίστασης στη *gentamicin* σε απομονώσεις *Campylobacter* από το πρόγραμμα NARMS, συμπεριλαμβανομένων των *aph(2'')-Ib*, *-Ic*, *-Ig*, *-If*, *-If1*, *-If3* και *-Ih*, *aac(6') Ie/aph(2'')-Ia* και *aac(6')-Ie/aph(2'')-If2* (Zhao et al., 2015). Αυτά τα πρόσφατα ευρήματα υποδεικνύουν ξεκάθαρα μια αυξανόμενη τάση αντίστασης σε *aminoglycoside* και τη συνεχή εμφάνιση νέων μηχανισμών αντίστασης στη *gentamicin* στο *Campylobacter*.

4.2.2.7) Μηχανισμοί MDR

Διαφορετικά από τους ειδικούς μηχανισμούς αντοχής που παρέχονται από την τροποποίηση στόχου ή αντιβιοτικών, η αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων παρέχει ένα ευρύ φάσμα αντοχής σε δομικά άσχετα αντιμικροβιακά. Στο *Campylobacter*, έχουν περιγραφεί δύο μηχανισμοί MDR, συμπεριλαμβανομένου του *Cfr* (που περιγράφεται παραπάνω) και των μεταφορέων εκροής πολλαπλών φαρμάκων, μεταξύ των οποίων οι μεταφορείς τύπου RND είναι οι πιο σημαντικοί για αντοχή στα αντιβιοτικά. Στο *Campylobacter*, τα *CmeABC* και *CmeDEF* είναι τα λειτουργικά χαρακτηρισμένα συστήματα εκροής τύπου RND. Ωστόσο, το *CmeDEF* συμβάλλει μέτρια μόνο στην εγγενή αντοχή, ενώ το *CmeABC* παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην εγγενή όσο και στην επίκτητη αντοχή του *Campylobacter* σε διαφορετικά αντιβιοτικά (Lin et al., 2002, Akiba et al., 2006, Gibreel et al., 2007). Το *CmeABC* είναι μια τριμερής αντλία εκροής πολλαπλών φαρμάκων και αποτελείται από μια περιπλασματική πρωτεΐνη σύντηξης (*CmeA*), έναν μεταφορέα εκροής εσωτερικής μεμβράνης (*CmeB*) και μια πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης (*CmeC*) (Lin et al., 2002). Οι τρεις πρωτεΐνες λειτουργούν μαζί για να σχηματίσουν ένα άθικτο σύστημα εκροής που εξωθεί τα αντιβιοτικά και τις τοξικές ενώσεις. Το *CmeB* σχηματίζει μια

τριμερή δομή στη βακτηριακή μεμβράνη. Μια πρόσφατη μελέτη με χρήση κρυσταλλογραφίας ακτίνων X και απεικόνισης μεταφοράς ενέργειας συντονισμού φθορισμού ενός μορίου αποκάλυψε ότι ο μεταφορέας CmeB υφίσταται διαμορφωτικές μεταβάσεις ασυντόνιστες και ανεξάρτητες μεταξύ τους, υποδηλώνοντας έναν νέο μηχανισμό μεταφοράς όπου τα πρωτομερή CmeB λειτουργούν ανεξάρτητα εντός του τριμερούς (Su et al., 2017). Η λειτουργία του CmeABC στην αντοχή στα αντιβιοτικά έχει αποδειχθεί σε πολλές δημοσιευμένες μελέτες (Lin et al., 2008, Guo et al., 2010, Mavri, S., 2013). Εκτός από την αντίσταση στα αντιβιοτικά, το CmeABC παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην αντίσταση στη χολή και επομένως είναι απαραίτητο για τον αποικισμό του *Campylobacter* στην εντερική οδό (Lin et al., 2003).

Η πρόσφατη ανακάλυψη του RE-CmeABC καταδεικνύει περαιτέρω τον βασικό ρόλο του CmeABC στην παροχή MDR (Yao et al., 2016). Το CmeB του RE-CmeABC είναι μοναδικό και μοιράζεται μόνο ~80% ταυτότητα αμινοξέων με το CmeB στο NCTC 11168 και άλλα στελέχη. Αυτή η παραλλαγή εκροής είναι πολύ πιο ισχυρή από το τυπικό CmeABC στην εξώθηση αντιβιοτικών. Για παράδειγμα, ο μετασχηματισμός του *C. jejuni* NCTC 11168 με RE-CmeABC έδειξε 32-, 16-, 8-, 4- και 4 φορές αυξήσεις στα MIC της φλορφανικόλης, της χλωραμφενικόλης, της σιπροφλοξασίνης, της ερυθρομυκίνης και της τετρακυκλίνης, αντίστοιχα με το στέλεχος αποδέκτη NCTC 11168 που έχει ένα τυπικό CmeABC (Yao et al., 2016). Συγκεκριμένα, το Re-CmeABC προσδίδει εξαιρετικά υψηλού επιπέδου αντίσταση στα FQ, με αποτέλεσμα ένα MIC σιπροφλοξασίνης $\geq 256 \mu\text{g ml}^{-1}$ σε ανθεκτικά στο FQ απομονώσεις *C. jejuni*. Το Re-CmeABC συμβάλλει επίσης στην ενισχυμένη εμφάνιση μεταλλαγμάτων ανθεκτικών στο FQ υπό επιλογή αντιβιοτικών και οι δοκιμές συσσώρευσης φαρμάκων επιβεβαίωσαν την ενισχυμένη λειτουργία εκροής του Re-CmeABC (Yao et al., 2016). Είναι ενδιαφέρον ότι το RE-CmeABC βρέθηκε να είναι πολύ πιο διαδεδομένο στο *C. jejuni* (~35%) από ό,τι στο *C. coli* (~3%), και το ποσοστό του *C. jejuni* που φιλοξενεί Re-CmeABC φαίνεται να αυξάνεται σε Κίνα (Yao et al., 2016). Αυτή η τάση πιθανώς καθοδηγείται από την εκτεταμένη χρήση αντιβιοτικών για ζωική παραγωγή στην Κίνα και υποδηλώνει ένα πλεονέκτημα φυσικής κατάστασης για τα στελέχη *C. jejuni* που φέρουν RE-CmeABC. Τα ευρήματα στο Re-CmeABC εξηγούν επίσης γιατί η αντίσταση στη φλορφενικόλη είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη, και περισσότερο στο *C. jejuni* παρά στο *C. coli* στην Κίνα (που περιγράφεται παραπάνω). Επιπλέον, ομόλογα του Re-CmeABC βρίσκονται στη βάση δεδομένων GenBank και κατατίθενται από ερευνητές από διαφορετικές χώρες, υποδηλώνοντας ότι το RE-CmeABC δεν είναι μοναδικό στην Κίνα. Ο ακριβής μηχανισμός για την ενισχυμένη λειτουργία του Re-CmeABC είναι άγνωστος, αλλά η δομική μοντελοποίηση πρότεινε ότι οι διακυμάνσεις της αλληλουχίας στον θύλακα δέσμευσης του φαρμάκου του CmeB μπορεί να ενισχύσουν την αλληλεπίδρασή του με τα αντιβιοτικά και κατά συνέπεια να αυξήσουν τη λειτουργία εκροής του (Yao et al., 2016).

Η έκφραση του cmeABC υπόκειται σε ρύθμιση. Το CmeR, ένας μεταγραφικός καταστολέας του cmeABC, αλληλεπιδρά άμεσα με την περιοχή του προαγωγέα cmeABC και καταστέλλει τη μεταγραφή αυτού του οπερονίου (Guo et al., 2009). Η παρεμβολή μεταλλαξογένεσης του cmeR ή η σημειακή μετάλλαξη στις θέσεις δέσμευσης του CmeR καταργεί τη σύνδεση του CmeR στον υποκινητή, απελευθερώνοντας την καταστολή και ενισχύοντας την έκφραση του cmeABC (Cagliero et al., 2007, Guo et al., 2008). Το CosR, ένας ρυθμιστής απόκρισης στο *C. jejuni*, ρυθμίζει την απόκριση του οξειδωτικού στρες και επίσης παίζει ρόλο στην

καταστολή της έκφρασης *cmeABC* (Hwang et al., 2012, Grinnage-Pulley et al., 2016). Το *cosR* είναι ένα απαραίτητο γονίδιο στο *Campylobacter*, αλλά η μείωση της έκφρασης *cosR* με τη χρήση αντιπληροφοριακού πεπτιδίου νουκλεϊκού οξέος αύξησε τα μεταγραφικά επίπεδα του *cmeABC* (Hwang et al., 2012). Το *CosR* συνδέεται απευθείας με την περιοχή προαγωγέα του *cmeABC*, αλλά η θέση δέσμευσης είναι ανεξάρτητη από αυτή που δεσμεύεται από το *CmeR* (Grinnage, P., & Zhang, 2015). Το γεγονός ότι το *CmeABC* ρυθμίζεται από πολλούς μηχανισμούς δείχνει ότι μπορεί να ανταποκρίνεται σε πολλαπλά σήματα στον κεντρικό υπολογιστή ή στο περιβάλλον. Για παράδειγμα, τα χολικά οξέα, τα οποία υπάρχουν στον εντερικό σωλήνα των ζώων, επάγουν έντονα την έκφραση του *cmeABC* αναστέλλοντας τη λειτουργία του *CmeR* (Lin et al., 2005b, Gu et al., 2007). Αυτή η επαγόμενη έκφραση του *CmeABC* διευκολύνει την προσαρμογή του *Campylobacter* στο εντερικό περιβάλλον καθώς παίζει βασικό ρόλο στην αντίσταση του *Campylobacter* στη χολή (Lin et al., 2003). Επιπρόσθετα, το σαλικυλικό, μια μη στεροειδής αντιφλεγμονώδης ένωση, φαίνεται επίσης ότι επάγει την έκφραση *cmeABC* αναστέλλοντας τη σύνδεση του *CmeR* στον προαγωγέα του *cmeABC* (Shen et al., 2011). Αυτά τα παραδείγματα απεικονίζουν τις βασικές λειτουργίες του *CmeABC* πέρα από την αντίσταση στα αντιβιοτικά.

Ως τροφιμογενές παθογόνος μικροοργανισμός, το *Campylobacter* εκτίθεται σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται τόσο για τη κτηνοτροφία όσο και για την φαρμακευτική αγωγή για τον άνθρωπο και έχει δείξει εκπληκτική ικανότητα προσαρμογής στην πίεση επιλογής αντιβιοτικών. Για να αποκτήσει ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, το *Campylobacter* μπορεί να μεταλλάξει τους στόχους των αντιβιοτικών, όπως η περίπτωση με την αντίσταση FQ και τα μακρολίδια, ή να αποκτήσει νέους καθοριστικούς παράγοντες αντοχής στα αντιβιοτικά από άλλους βακτηριακούς οργανισμούς με οριζόντια μεταφορά γονιδίων, όπως η περίπτωση με *erm(B)* και *cfr(NTO)*. Είναι ενδιαφέρον ότι το *Campylobacter* τείνει να αποκτά ξένα γονίδια αντίστασης στα αντιβιοτικά από Gram θετικούς οργανισμούς και όχι από Gram αρνητικούς βακτήρια. Η ακριβής αιτία και το πώς συμβαίνει αυτό είναι ασαφή και μένει να διερευνηθεί. Συγκεκριμένα, μια εξαιρετικά ισχυρή παραλλαγή της αντλίας εκροής *CmeABC* (*Re-CmeABC*) έχει εμφανιστεί στο *C. jejuni*, η οποία προσδίδει ενισχυμένη αντοχή σε πολλά διαφορετικά αντιβιοτικά, παρέχοντας έναν ισχυρό μηχανισμό προσαρμογής του *Campylobacter* σε αντιβιοτικές θεραπείες. Για να επιβιώσει και να προσαρμοστεί σε διάφορα περιβάλλοντα, το *Campylobacter* εξελίσσεται συνεχώς και δεν θα ήταν περίεργο το γεγονός ότι νέοι μηχανισμοί αντίστασης στα αντιβιοτικά συνεχίζουν να εμφανίζονται σε αυτόν τον τροφιμογενή οργανισμό. Αυτοί οι αναδυόμενοι μηχανισμοί απειλούν τη χρησιμότητα των κλινικά σημαντικών αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της ανθρώπινης καμπυλοβακτηρίωσης. Επομένως, απαιτούνται καινοτόμες στρατηγικές για τον μετριασμό της ανάπτυξης και της εξάπλωσης του ανθεκτικού στα αντιμικροβιακά *Campylobacter*, το οποίο θα πρέπει να αποτελέσει το επίκεντρο των μελλοντικών ερευνητικών προσπαθειών (Zhangqi Shen, Απρίλιος 2018).

Η καμπυλοβακτηρίωση είναι συνήθως μια αυτοπεριοριζόμενη ασθένεια και οι ασθενείς με παρατεταμένη συμπτωματολογία συνήθως τοποθετούνται σε αντιβιοτικό σχήμα *macrolide* ή *fluoroquinolone* (Salazar-Lindo et al., 1986, Allos & Blaser, 2010). Ωστόσο, η αντίσταση στα αντιβιοτικά του *Campylobacter* σε αυτές τις σημαντικές κατηγορίες αντιβιοτικών, ιδιαίτερα στις *fluoroquinolones*, είναι σε άνοδο (US Food and Drug Administration, 2014, Bolinger et al., 2018). Η αντοχή σε δύο σημαντικά αντιβιοτικά κατά του *Campylobacter*, *azithromycin* (*macrolide*) και

ciprofloxacin (fluoroquinolone), έχει αυξηθεί, με αποτέλεσμα περίπου 310.000 περιπτώσεις δυννητικά μη θεραπεύσιμων λοιμώξεων, οδηγώντας σε 28 θανάτους στις Ηνωμένες Πολιτείες ετησίως (CDC, 2019).

Τα αντιβιοτικά αναστέλλουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών δεσμεύοντας σε έναν συγκεκριμένο στόχο κεντρικό στη μικροβιακή μοριακή βιολογία και αναστέλλοντας την κανονική ομοιοστατική δραστηριότητα των στόχων ή αποτρέποντας με άλλο τρόπο τη δραστηριότητα ενός αντιβιοτικού. Αυτές οι επιδράσεις μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα είτε βακτηριοστατικές (διακοπή της αναπαραγωγής) είτε βακτηριοκτόνες (θανατηφόρες) επιδράσεις στον μικροοργανισμό.

Υπάρχουν τέσσερις κοινοί μηχανισμοί που σχετίζονται με την αντοχή στα αντιβιοτικά:

- Αλλοίωση του στόχου αντιβιοτικών,
- Αδρανοποίηση του φαρμάκου,
- Μείωση της διαπερατότητας της μεμβράνης
- Έκφραση αντλιών αντιμικροβιακής εκροής (Iovine, 2013).

Στο *Campylobacter*, οι μηχανισμοί αντοχής στα αντιβιοτικά δεν διαφέρουν και είναι περιστασιακά περίπλοκοι.

Ένας από τους πιο συνηθισμένους μηχανισμούς που σχετίζονται με την αντοχή στα αντιβιοτικά είναι η ικανότητα των μικροοργανισμών να μεταβάλλουν τη διαπερατότητα της μεμβράνης τους, γεγονός που τελικά εμποδίζει τη διάδοση του αντιβιοτικού στο ενδοκυτταρικό περιβάλλον. Οι πορίνες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που δημιουργούν μοριακούς πόρους που επιτρέπουν τη διάδοση χημικών ενώσεων που διαφορετικά δεν μπορούν να διασχίσουν την κυτταρική μεμβράνη, συμπεριλαμβανομένων των αντιβιοτικών, στο περιπλασματικό και ενδοκυτταρικό περιβάλλον (Galdiero et al., 2012). Το Καμπυλοβακτηρίδιο μειώνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης μέσω της αλλαγής της έκφρασης των πορώδων (Page et al., 1989; Πούμπουε κ.ά., 2004). Σε πολλές περιπτώσεις, οι φυσικές και μοναδικές πορώδεις που εκφράζονται από το *Campylobacter* εμποδίζουν φυσικά την είσοδο των περισσότερων αντιβιοτικών με μοριακά βάρη μεγαλύτερα από 360 *KDas* (Page et al., 1989). Αλλάζοντας το μοτίβο έκφρασης της πορώδους, το Καμπυλοβακτηρίδιο μπορεί να μειώσει τη διάχυση των αντιβιοτικών στο στόχο εντός του ενδοκυτταρικού και περιπλασματικού χώρου.

Ένας άλλος κοινός μηχανισμός που χρησιμοποιείται από *Campylobacter* για την αντίσταση είναι η έκφραση των αντλιών εκροής, οι οποίες σε πολλές περιπτώσεις οδηγούν σε πολυανθεκτικούς φαινότυπους. Οι αντλίες εκροής μπορούν να εκφραστούν τόσο από *Gram*-θετικά όσο και από *Gram*-αρνητικά προκαρυωτικά κύτταρα και να μεταφέρουν ενεργά δομικά μεταβλητά μόρια όπως αντιβιοτικά από τον περιπλασματικό ή κυτταροπλασματικό χώρο στο εξωτερικό περιβάλλον του κυττάρου (Pagès, & Amaral, 2009, Hadjlic et al., 2013; Μπλερ, et al., 2014; Yiao, et al., 2016). Ένα παράδειγμα αυτού περιλαμβάνει τις αντλίες εκροής που χρησιμοποιούνται από το *Campylobacter* που απομακρύνει τις *aminoglycosides* από τον ενδοκυτταρικό χώρο, εμποδίζοντας το αντιβιοτικό να φτάσει στο ριβόσωμα και να δράσει. Οι πιθανές νέες προσεγγίσεις για την καταπολέμηση αυτού του είδους ανθεκτικότητας περιλαμβάνουν ισχυρούς (*potentiators*) που δρουν ως ανταγωνιστές

αντλίας εκροής, οι οποίοι τελικά διακόπτουν την ανθεκτικότητα (Mamelli et al., 2003; Payot et al., 2004). Οι αντλίες εκροής είναι ιδιαίτερα ανησυχητικές, καθώς δεν είναι εκλεκτικές και με επιτυχία μπορούν να κάνουν εκροή σε πολλές κατηγορίες αντιβιοτικών. Ο Yao et al. (2016) διαπίστωσε ότι η εμφάνιση μιας παραλλαγής αντλίας υπερραισχύουσας εκροής, που ονομάζεται *RE-CmeABC*, παρέχει άμεσα αντοχή σε πολλά φάρμακα στο *Campylobacter*, καθώς μπορεί να κάνει εκροή σε πολλές κατηγοριών αντιβιοτικών. Το *RE-CmeABC* είναι ένα ιδιαίτερα επικίνδυνο γενετικό στοιχείο καθώς κωδικοποιείται σε πλασμίδιο και υπόκειται σε οριζόντια μεταφορά.

Οι μεταλλάξεις στη θέση στόχο μειώνουν τη συγγένεια και την απληστία για το αντιβιοτικό, γεγονός που τελικά καθιστά αυτήν την κατηγορία αντιβιοτικών αναποτελεσματική (Vetting et al., 2011). Για παράδειγμα, η αντοχή στη *fluoroquinolone* οφείλεται σε μια σημειακή μετάλλαξη στη θέση τοποϊσομεράσης όπου το αντιβιοτικό τυπικά δεσμεύεται και το καθιστά αναποτελεσματικό. Οι σημειακές μεταλλάξεις συμβαίνουν φυσικά ως συνέπεια της κανονικής βιολογικής αντιγραφής και μπορούν να ευνοηθούν ή να μην ευνοηθούν από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Με την αλλαγή αυτής της θέσης στόχου, η σημειακή μετάλλαξη μειώνει τη συγγένεια δέσμευσης της *fluoroquinolone* (Ling et al., 2003). Σε περιβάλλον όπου τα αντιβιοτικά είναι ανύπαρκτα, οι ανθεκτικές σημειακές μεταλλάξεις δεν γίνεται να ευνοούνται ή να οδηγούν σε ουδέτερη μετάλλαξη. Ωστόσο, εάν υπάρχουν αντιβιοτικά, ο επιζών βακτηριακός απόγονος πρέπει να φέρει εις πέρας, ότι η μετάλλαξη για αντοχή και επιλεκτική πίεση έχει ως αποτέλεσμα η μετάλλαξη να γίνει κυρίαρχη (Ling et al., 2003). Επιπλέον, ο βιομετασχηματισμός ενός αντιβιοτικού από τα βακτήρια, ενδοκυτταρικά μπορεί επίσης να το καταστήσει αναποτελεσματικό. Τα βακτηριακά ένζυμα, στα βακτήρια τροποποιούν τις πλευρικές αλυσίδες χημικών ομάδων στο αντιβιοτικό, οι οποίες κατά συνέπεια μειώνουν τη συγγένεια δέσμευσης αντιβιοτικών στη θέση στόχο. Ένα κλασικό παράδειγμα αυτού του σημαντικού μηχανισμού εμφανίζεται στα *aminoglycosides* αντιβιοτικά, τα οποία έχουν πολυάριθμες ομάδες υδροξυλίου και αμιδίου που είναι ευάλωτες σε μία τροποποίηση την φορά σε βακτηριακά συστήματα (Norris & Serpersu, 2013). Μόλις τροποποιηθούν, οι *aminoglycosides* είναι αναποτελεσματικές.

Η αύξηση ανθεκτικότητας του *Campylobacter* στα ευρέως φάσματος αντιβιοτικά είναι μηχανιστικά πολυτροπική. Πολυάριθμες μελέτες υποδεικνύουν ότι η πολυτροπική αντοχή γίνεται σημαντικό συστατικό της ανθεκτικότητας στο φάρμακο *Campylobacter*. Ο Hao et al. (2016) διαπίστωσε ότι το *C. jejuni* 1655 είχε αρκετές μεταλλάξεις σε διαφορετικούς στόχους για αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένης της μετάλλαξης *Thr-86-Ile* στο *gyrA* και της μετάλλαξης *A2075G* στα γονίδια *23S rRNA*, *tetO*, *aphA* και *aadE*. Επιπροσθέτως, το *C. jejuni* 1655 έφερε ένα πλασμίδιο *pTet*. Όλες μαζί, αυτές οι μεταλλάξεις και τα πλασμίδια έχουν ως αποτέλεσμα έναν πολυανθεκτικό φαινότυπο σε κατηγορίες αντιβιοτικών *fluoroquinolone*, *macrolide*, *tetracycline* και *aminoglycosides*. Επομένως, ο προσδιορισμός ενός μηχανισμού αντίστασης ως “*smoking gun*” αντίστασης δεν είναι πιθανός. Κλινικά, τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι το *Campylobacter* πρέπει να υποβληθεί σε αντιβιογραφήματα πριν από την έναρξη κλινικών θεραπευτικών σχημάτων για την επιλογή αντιβιοτικών, σα οποία το παθογόνο θα είναι ευαίσθητο προκειμένου να διασφαλιστεί ότι η θεραπεία θα φέρει τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα.

Τελικά, είναι ελάχιστα κατανοητό το πόσο εύκολα προσαρμόζεται σε καινούργιες συνθήκες το γονιδίωμα του *Campylobacter* και ο πλήρης κίνδυνος που σχετίζεται με

την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά στην γεωπονία. Έχοντας περισσότερες πλέον πληροφορίες και γνώση ως προς τον τρόπο λειτουργίας των αντιβιοτικών, μια έρευνα για τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στο *Campylobacter* και την πιθανή προοπτική νέων αντιμικροβιακών στρατηγικών, μπορεί να υπάρξει ικανότητα μετρίασης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά τόσο σε ζώα όσο και στον άνθρωπο. Ενώ λοιπόν η ανθεκτικότητα ανάμεσα στα πουλερικά και στους ανθρώπους δεν σχετίζεται, ο κλινικά ασθενής οφείλεται κατά βάση σε πουλερικό. Η αναδιάταξη και η μεταφορά των γενετικά κινητών στοιχείων, μεταξύ του ανθρώπου ξενιστή, του περιβάλλοντος, και των πουλερικών των ίδιων καθιστούν το “*smoking gun*”, άχρηστο. (Yang, Y., 2019).

Οι ειδικοί μηχανισμοί πρόσφυσης και εισβολής που χρησιμοποιούνται από το *Campylobacter* δεν έχουν ακόμη καθοριστεί με σαφήνεια, αν και η εκδηλωμένη διευκρίνιση της πλήρους ακολουθίας γονιδιώματος του *C. jejuni* έχει δημιουργήσει τις ευκαιρίες έρευνας του μοριακού υποστρώματος αυτής της εισβολής. Επιπλέον, δεν είναι ακόμα σαφές γιατί αυτά τα βακτήρια είναι παθογενή στον άνθρωπο αλλά όχι στα πουλερικά (GananbJ, M., 2012).

4.2.3) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *Listeria*

Η απόκτηση κινητών γενετικών στοιχείων, συμπεριλαμβανομένων των αυτο-μεταβιβάσιμων πλασμιδίων, των κινητών πλασμιδίων και των συζευγμένων τρανσποζονίων, είναι ο κύριος μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για την ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά στο *L. monocytogenes* (Charpentier & Courvalin 1999). Ωστόσο, οι αντλίες εκροής προτάθηκαν επίσης να συνδεθούν με αντοχή *fluoroquinolone*, *macrolide* και *cefotaxime* σε *L. monocytogenes* (Godreuil, et al, 2003, Baquero, M. & Perez - Diaz, 2000).

Έχει αναφερθεί ότι ο *L. monocytogenes* χρησιμοποίησε τη σύζευξη ως κύρια στρατηγική για να αποκτήσει αντοχή στο αντιβιοτικό (Perichon & Courvalin, 2009). Οι εντερόκοκκοι και οι στρεπτόκοκκοι αντιπροσωπεύουν τις κύριες δεξαμενές γονιδίων αντίστασης για το *L. monocytogenes*. Η σύζευξη είναι μια διαδικασία με την οποία τα γενετικά υλικά μεταφέρονται από έναν δότη σε ένα κύτταρο δέκτη. Το γονιδίωμα των βακτηρίων αποτελείται από το χρωμόσωμα και τα βοηθητικά κινητά γενετικά στοιχεία όπως τα τρανσποζόνια και τα πλασμίδια (Perichon & Courvalin, 2009). Η σύζευξη χωρίζεται σε τρία στάδια που περιλαμβάνουν: άμεση επαφή κυττάρου - σε - κυττάρων, σχηματισμό ζευγαρώματος ζευγαρώματος και μεταφορά DNA πλασμιδίου μέσω συζευγμένου παλμού. Μελέτες σύζευξης έδειξαν ότι δύο τύποι κινητών γενετικών στοιχείων, τρανσποζόνια και πλασμίδια, στους εντερόκοκκους και στους στρεπτόκοκκους ήταν υπεύθυνοι για την εμφάνιση αντοχής στα αντιβιοτικά στους *L. monocytogenes* (Charpentier & Courvalin 1999; White et al., 2002). Προφανώς, η απόκτηση νέου γενετικού υλικού από τα συζευγμένα πλασμίδια ή τρανσποζόνια από *Enterococcus* ή *Streptococcus* σε *L. monocytogenes* πραγματοποιείται πιθανότατα στο γαστρεντερικό σωλήνα των ανθρώπων (Doucet - Populaire, et al., 1991). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το *L. monocytogenes* απομονώνει από περιβάλλοντα επεξεργασίας τροφίμων και τροφίμων φιλοξένησε το transposon

Tn6188 αντίστασης σε χλωριούχο βενζαλκόνιο που κωδικοποιεί την ανοχή σε ενώσεις τεταρτοταγούς αμμωνίου στο *Staphylococcus aureus* και άλλα *Firmicutes* (Müller et al., 2013; Ortiz, et al, 2016).

Η αντίσταση στην *tetracycline* πιστεύεται ότι είναι το πιο συχνό χαρακτηριστικό αντίστασης στο *L. monocytogenes* που απομονώνεται από τον άνθρωπο και τα τρόφιμα (Charpentier & Courvalin 1999, Walsh et al., 2001.) Έξι κατηγορίες γονιδίων αντοχής στην *tetracyclines* έχουν περιγραφεί σε θετικά κατά *Gram* βακτήρια (*tetK*, *tetL*, *tetM*, *tetO*, *tetP* και *tetS*). Ωστόσο, μόνο τα *tetS*, *tetM* και *tetL* έχουν ταυτοποιηθεί στο *L. monocytogenes* (Charpentier & Courvalin, 1999, Escolar et al., 2017; Granier et al., 2011). Έχει επίσης αναφερθεί ότι 19 από τα 38 προϊόντα απομόνωσης *L. monocytogenes* (50%) από γαλακτοκομικές εκμεταλλεύσεις είχαν περισσότερες από μία αλληλουχίες γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά. Υψηλή συχνότητα εμφάνισης γονιδίου *floR* ανιχνεύθηκε στο 66% των στελεχών *L. monocytogenes* ακολουθούμενα από *penA* (37%), *strA* (34%), *tetA* (32%) και *sull* (16%). Παρόλα αυτά, άλλα γονίδια αντοχής στην *tetracycline* (*tetE*, *tetC*, *tetB*, *tetD* και *tetG*) ή άλλα γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά (*vanA*, *vanB*, *aadA*, *cmlA*, *ereB*, *ereA*, *strB*, *sull*, *ampC* και *ermB*) δεν ανιχνεύθηκαν στο *L. monocytogenes* (Srinivasan et al., 2005). Οι (Li et al. 2016) ανέφεραν ότι 12 από τα 78 προϊόντα απομόνωσης *L. monocytogenes* (15,4%) από ένα εργοστάσιο επεξεργασίας χοιρινού κρέατος και οι αντίστοιχες αγορές κρέατος στην Κίνα είχαν το γονίδιο *tetM*. Ομοίως, τα γονίδια *ermB*, *tetM* και *dfrD*, ανιχνεύθηκαν σε στελέχη *L. monocytogenes* που απομονώθηκαν από δείγματα τροφίμων και περιβάλλοντος στη Γαλλία κατά τη διάρκεια του 1996 έως 2006. αλλά τα γονίδια *tetS*, *tetK* και *tetL* δεν ανιχνεύθηκαν (Granier et al., 2011). Τα γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά *tetM* και *ermB* αναγνωρίστηκαν επίσης σε *L. monocytogenes* που απομονώθηκαν από φρέσκο μικτό λουκάνικο και σφαγείο κοτόπουλου, αντίστοιχα (Haubert et al., 2015). Πρόσφατα, οι Lim, Yap & Thong (2016) διαπίστωσαν ότι δύο προϊόντα απομόνωσης *L. monocytogenes* από τηγανητό ψάρι και σαλάτα έφεραν πέντε γονίδια συμπεριλαμβανομένων των *tetA*, *lmrB*, *mecC*, *msrA* και *fosX* που προσδίδουν αντίσταση στην *tetracycline*, *lincomycin*, β -*lactam*, *erythromycin* και *phosphomycin*, αντίστοιχα. Οι Wilson et al. (2018) ανίχνευσε επίσης το γονίδιο *ermB* σε ένα προϊόν απομόνωσης *L. monocytogenes* που έδειξε υψηλή αντοχή στην *erythromycin*.

Η εμφάνιση αντοχής στην *tetracycline* στο *L. monocytogenes* οφείλεται κυρίως στα συζευκτικά πλασμίδια και τρανσποζόνια που προέρχονται από *Enterococcus* ή *Streptococcus* (Poyart - Salmeron et al., 1992). Η συζευκτική μεταφορά πλασμιδίων και τρανσποζονίων έχει επίσης φέρει άλλη αντοχή στα αντιβιοτικά στο *L. monocytogenes* από *Enterococcus*, *Streptococcus* ή άλλα είδη *Listeria* (Charpentier & Courvalin 1999).

Το *L. monocytogenes* έχει τρεις αντλίες εκροής. το ένα λειτουργεί για την εξώθηση αντιβιοτικών, βαρέων μετάλλων και βρωμιούχου αιθιδίου (Mata et al., 2000) και η δεύτερη αντλία σχετίζεται με αντοχή στη *fluoroquinolone* και, εν μέρει, την αντίσταση του *L. monocytogenes* στο πορτοκαλί ακριδίνης και στο βρωμιούχο αιθίδιο (Godreuil et. κ.λπ., 2003). Η τρίτη αντλία εμπλέκεται στην αντοχή των *L. monocytogenes* στις *fluoroquinolones* (Guérin, et al, 2014). Οι Mata et al (2000) ανέφεραν ότι η αλληλουχία της πρωτεΐνης MdrL (μεταφορέας εκροής πολλαπλών

φαρμάκων της *Listeria*) είναι εξαιρετικά ομόλογη με την αλληλουχία της πρωτεΐνης *YfmO*, ενός υποτιθέμενου μεταφορέα χρωμοσωμικής εκροής πολλαπλών φαρμάκων στο *Bacillus subtilis*. Ένα μεταλλαγμένο με αλληλόμορφο μετάλλαγμα αυτού του γονιδίου σε *L. monocytogenes* απέτυχε να αντλήσει βρωμιούχο αιθίδιο και απέδωσε αυξημένη ευαισθησία σε *cefotaxime*, βαρέα μέταλλα και *macrolides*.

Έχει αναφερθεί ότι πέντε οικογένειες περιλαμβάνονται στα συστήματα εκροής φαρμάκων: ο κύριος υπεροικογένεια διευκολυντή (*MFS*), η αντίσταση - οξώδη *division* κυτταρική διαίρεση, η μικρή αντοχή σε πολλαπλά φάρμακα, καθώς και οι οικογένειες πολλαπλών ναρκωτικών και εξώθησης τοξικών ενώσεων (*MATE*), συν την οικογένεια κασετών *ATP P* (Pidcock, 2006). Το ενεργό σύστημα εκροής στα θετικά κατά *Gram* βακτήρια σχετίζεται κυρίως με την υπερέκφραση των αντλιών *MFS*, όπως το *NorA* στο *Staphylococcus aureus* και το *PmrA* στο *Streptococcus pneumoniae*, το οποίο εξωθεί ειδικά υδρόφιλες *fluoroquinolones* (Poole, 2007). Οι Godreuil et al. (2003) ανέφεραν ότι η πρωτεΐνη *Lde* του *L. monocytogenes* έδειξε 44% ομολογία με *PmrA* του *S. pneumoniae*, η οποία ανήκει στην οικογένεια *MFS* δευτερογενών μεταφορέων πολλαπλών φαρμάκων. Η παρεμβολή απενεργοποίησης του γονιδίου *lde* έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη ευαισθησία του *L. monocytogenes* σε *fluoroquinolones*. Σε μια άλλη μελέτη, η υπερέκφραση του γονιδίου *lde* που προκλήθηκε από την *ciprofloxacin* ανιχνεύθηκε σε δύο ανθεκτικά στελέχη *L. monocytogenes* από τρόφιμα στην Κίνα. Ωστόσο, οι ερευνητές πρότειναν ότι η υπερέκφραση του γονιδίου *lde* δεν ήταν ο μόνος λόγος για την αντίσταση στη *ciprofloxacin* (Jiang et al., 2012). Οι Romanova, et al, (2006) ανέφεραν ότι η αντλία εκροής *MdrL* στο *L. monocytogenes* ευθύνεται εν μέρει για την προσαρμογή στην αντοχή στα αντιβιοτικά. Πρόσφατα, οι Guérin et al. (2014) χαρακτήρισε την αντλία εκροής *MATE*, η οποία συνδέεται με την αντίσταση του *L. monocytogenes* στις *fluoroquinolones*. Η μεταγραφική ρύθμιση της έκφρασης ενός γονιδίου κωδικοποίησης αντλίας εκροής οικογένειας *MATE* λαμβάνει χώρα μέσω ενός καταστολέα τύπου *TetR*. Lim et al. (2016) εντόπισε δύο γονίδια που σχετίζονται με την αντλία εκροής, *mdrL* και *lde*, τα οποία παρέχουν αντοχή στα *macrolides* και την *quinolone*, αντίστοιχα, στα γονιδιώματα δύο απομονωμένων *L. monocytogenes* από τηγανητά ψάρια και σαλάτα. Σε μια άλλη μελέτη, προτάθηκε ότι η μετάλλαξη στον ρυθμιστή *fluoroquinolone* πρωτεΐνης εκροής (*ferA*), *ferR*, ευθύνεται εν μέρει για την αντίσταση του *L. monocytogenes* στην *ciprofloxacin* (Wilson et al., 2018).

Σε αυτήν την ανασκόπηση, έχει αποδειχθεί ότι τα προϊόντα απομόνωσης *L. monocytogenes* από διαφορετικές πηγές τροφίμων δείχνουν αντοχή στα αντιβιοτικά και ορισμένα από αυτά τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται συνήθως για τη θεραπεία της *Listeriosis*. Αν και ο ρυθμός αντοχής πολλαπλών φαρμάκων του *L. monocytogenes* είναι χαμηλός, ο ρυθμός αυξάνεται συνεχώς για λόγους που δεν είναι σαφώς κατανοητοί. Μερικοί εύλογοι παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών μπορεί να είναι η αδιάκριτη χρήση ή υπερβολική χρήση αντιβιοτικών για τη θεραπεία ανθρώπινων μολύνσεων, η κάπως αυθαίρετη προφυλακτική χρήση αντιβιοτικών στην αναπαραγωγή ζώων και η χρήση τους ως συμπληρωματικών παραγόντων στις ζωοτροφές. Η μεταφορά γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά από άλλα βακτήρια είναι πιθανώς ο κύριος λόγος για την αυξημένη αντοχή των *L. monocytogenes* στα αντιβιοτικά. Πολλοί μηχανισμοί έχουν

προταθεί υπεύθυνοι για την ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά από τον *L. monocytogenes*, αλλά ο πιο πιθανός μηχανισμός περιλαμβάνει συζευκτικά πλασμίδια και τρανσποζόνια από άλλα βακτήρια όπως *Enterococcus* και *Streptococcus spp.* Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι άλλοι υποθετικοί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν αντλίες εκροής που εκκρίνουν αντιβιοτικά και άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες εκτός του κυττάρου μπορεί να είναι υπεύθυνοι.

Οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να διερευνήσουν την επίδραση της πηγής του παθογόνου (τροφή, κλινική ή περιβαλλοντική) στην αντοχή των *L. monocytogenes* στα αντιβιοτικά. Επίσης, πρέπει να μελετηθεί η επίδραση των γεωργικών πρακτικών, όπως η έκταση της χρήσης και τα είδη λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια καλλιεργειών. Επιπλέον, η επίδραση των σταδίων επεξεργασίας τροφίμων όπως η θέρμανση, η ψύξη, η αλάτι, τα συντηρητικά και η χρήση απολυμαντικών και αντιμικροβιακών παραγόντων στην παραγωγή και συντήρηση τροφίμων πρέπει να διερευνηθούν ως προς τις επιπτώσεις τους στην εμφάνιση αντοχής στα αντιβιοτικά μεταξύ των στελεχών *L. monocytogenes*. . Επιπλέον, πρέπει να εξεταστούν και άλλα είδη του γένους *Listeria*, καθώς μπορεί να αποτελούν δεξαμενές γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά, τα οποία μπορούν να μεταφερθούν στο *L. monocytogenes*. Επιπλέον, η μελλοντική έρευνα πρέπει να τονιστεί η ανάγκη ευρείας και συνεχούς παρακολούθησης για την ανίχνευση τυχόν εξέλιξης της ευαισθησίας του *L. monocytogenes* στα αντιβιοτικά (Olaimat, 2018).

Μηχανισμός δράσης	Αντιβιοτικό
Αναστολείς σύνθεσης κυτταρικού τοιχώματος	<ul style="list-style-type: none"> • Penicillins • Cephalosporins • Vancomycin • Carbapenems • Aztreonam • Polymyxin • Bacitracin • Monobactams • Cycloserine
Αναστολείς πρωτεϊνοσύνθεσης	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Inhibit 30s Subunit</u> • Aminoglycosides (gentamicin) • Tetracyclines • Spectinomycin • Streptomycin • Kanamycin

Μηχανισμός δράσης	Αντιβιοτικό
	<ul style="list-style-type: none"> • Amikacin • Nitrofurans • <u>Inhibit 50s Subunit</u> • Macrolides • Chloramphenicol • Clindamycin • Linezolid • Streptogramins • Lincomycin
Αναστολείς σύνθεσης DNA	<ul style="list-style-type: none"> • Fluoroquinolones • Metronidazole
Αναστολείς σύνθεσης RNA	<ul style="list-style-type: none"> • Rifamycins • Streptovaricins
Αναστολείς σύνθεσης μυκολικού οξέος	<ul style="list-style-type: none"> • Isoniazid
Αναστολείς σύνθεσης φυλλικού οξέος	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfonamides • Trimethoprim

Πίνακας 4.2.3.1: Ταξινόμηση των αντιβιοτικών με βάση τον μηχανισμό δράσης (Etebu & Ariekpar, 2016, Fernandes et al., 2013, Moore. 2014).

4.2.4) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *Shigella*

4.2.4.1) Ρόλος Διαπερατότητας Εξωτερικής Μεμβράνης

Η φυσική αντίσταση στα αντιμικροβιακά φάρμακα με διάφορους μηχανισμούς που εμποδίζουν την απορρόφηση του φαρμάκου είναι ικανή να μεταμορφώσει το φάρμακο, να βιομετασχηματιστεί στο κύτταρο ή να μειώσει τη συγγένεια με το στόχο των φαρμάκων. Τα κυτταρικά τοιχώματα των μικροοργανισμών είναι το πρώτο εμπόδιο κατά της διείσδυσης του φαρμάκου. Ορισμένες τροποποιήσεις της διαπερατότητας της μεμβράνης ή αλλαγές στη μεμβράνη οδηγούν σε απώλεια πορίνης, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (*MIC*) για αντιμικροβιακούς παράγοντες. Τα περισσότερα αντιβιοτικά

που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της λοίμωξης από *Shigella* θα πρέπει να μπορούν να διεισδύσουν στην κυτταρική μεμβράνη για να φτάνουν στην ενδοκυτταρική συσσώρευση και στις θέσεις στόχου. Για παράδειγμα, οι αντιβακτηριδιακοί παράγοντες *quinolone*, όπως *nalidixic acid*, *ofloxacin* και *ciprofloxacin*, παρεμβαίνουν στην αντιγραφή του DNA αναστέλλοντας την τοποϊσομεράση IV και τη γυράση του DNA. Τα αντιβιοτικά *aminoglycosides*, όπως η *streptomycin* και *spectinomycin*, μεσολαβούν στην αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης δεσμεύοντας σε ριβοσωμικές υπομονάδες και φτάνοντας στους ενδοκυτταρικούς στόχους. Τα αντιβιοτικά *β -lactam*, π.χ. *penicillin* και *cephalosporin*, είναι μια κατηγορία αντιβιοτικών που περιέχουν έναν δακτύλιο *β -lactam* στις μοριακές τους δομές και αναστέλλουν τη βιοσύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος στοχεύοντας πρωτεΐνες που δεσμεύουν την *penicillin*. Μετάλλαξη ή απουσία πορίνης ~39 kDa στη μεμβράνη τέτοιων Gram-αρνητικών βακτηρίων όπως το *Shigella spp.* επηρεάζει κυρίως την ευαισθησία στην αργή διείσδυση των β -λακταμών, όπως η *aztreonam* και *moxalactam dione*, καθώς και η χαμηλή διαπερατότητα υδρόφιλων αντιβιοτικών, όπως η *penicillin* και η *piperacillin*. -μεμβρανικές πορίνες OmpF (~38 kDa) και OmpC (~42 kDa) και κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες ~26 kDa, OmpR ως μεταγραφικός ρυθμιστής, χαμηλότερα επίπεδα και των δύο μεγάλων OMP (~38 και ~43 kDa). Η αύξηση της αντίστασης στην ιμιπενέμη σε μεταλλάγματα συσχετίστηκε με τη διαπερατότητα των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης. Οι λιποπολυσακχαρίτες (LPSs) έχουν αναγνωριστεί ως βασικό συστατικό της εξωτερικής μεμβράνης που απαιτείται για τη συναρμολόγηση της τριμερούς πορίνης PhoE και προσδίδουν αντοχή στην *colicin E2* σε στελέχη *S. flexneri*, και έχουν επίσης αναφερθεί ότι συνδέονται με την αύξηση της αντίστασης στην ιμιπενέμη στο *S. dysenteriae*. Ορισμένα συστατικά της εξωτερικής μεμβράνης, όπως τα μόρια IcsA, δεν σχετίζονται μόνο με την αντοχή στα χολικά άλατα, αλλά σχετίζονται επίσης με την προώθηση στην ανάπτυξη βιοφίλμ από διαμεσολαβώντας βακτηριακές αλληλεπιδράσεις κυττάρου-κυττάρου. Κατά συνέπεια παράγουν ανθεκτικούς φαινότυπους.

4.2.4.2) Συστήματα εκροής

Οι αντλίες ενεργού εκροής διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στους φαινότυπους αντίστασης στα αντιβιοτικά των Gram-αρνητικών βακτηρίων και στην αποβολή τοξικών ενώσεων από τα κύτταρά τους. Τα συστήματα εκροής ομαδοποιούνται σε πέντε οικογένειες: η κύρια υπεροικογένεια διευκόλυνσης (*MFS*), η οικογένεια αντίστασης-οξυλίωσης-διαίρεσης, η οικογένεια μικρής αντοχής σε πολλαπλά φάρμακα (*MDR*), η υπεροικογένεια κασετών δέσμευσης *ATP* και η οικογένεια εξώθησης πολλαπλών φαρμάκων και τοξικών ενώσεων. Αντλία *AcrAB-TolC* εμπλέκεται στον φαινότυπο ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά των απομονώσεων *Escherichia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.* και *Shigella spp.* Το σύστημα *AcrAB-TolC* είναι ένα τριμερές σύμπλοκο που περιλαμβάνει *TolC* (κανάλι εξωτερικής μεμβράνης), *AcrB* (πρωτεΐνη μεταφορέα εσωτερικής μεμβράνης) και περιπλασμικό *AcrA* που εμπλέκονται στη συναρμολόγηση και συντήρηση αυτών των δύο ενσωματωμένων μεμβρανικών πρωτεϊνών. Το *AcrAB-TolC* ανήκει στην οικογένεια αντλιών εκροής αντίστασης-όξωσης-διαίρεσης, που σχετίζεται με την εκροή κινολονών και ένας από τους παράγοντες που ευθύνονται για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*. Πράγματι, η υπερέκφραση του *AcrAB-TolC* οδηγεί σε συνολική μειωμένη συσσώρευση κινολονών μέσα στα βακτηριακά κύτταρα, με αποτέλεσμα επίσης μειωμένη ευαισθησία σε αυτά. Η έκφρασή τους έχει αποδειχθεί ότι αυξάνεται μετά την έκθεση σε χολικά άλατα και

επέτρεψε στο *Shigella* να αντισταθεί στις βακτηριοκτόνες επιδράσεις της χολής. Οι ερευνητές πιστεύουν ότι αυτό το φαινόμενο μπορεί να προσδώσει αντοχή σε άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Επιπλέον, η υπερέκφραση του *AcrB* έχει βρεθεί ότι συνδέεται με πολλαπλούς φαινότυπους ανθεκτικότητας στα φάρμακα σε ορισμένα Gram-αρνητικά βακτήρια.

Η συνεργική δράση σχετικά με την ενεργοποίηση των αντλιών εκροής *acrAB-tolC* έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την έκφραση μεταλλάξεων γονιδίων στόχων πορινών, γυράσης και τοποϊσομεράσης της εξωτερικής μεμβράνης προς την αντίσταση στη *fluoroquinolone* σε απομονώσεις *Shigella*. Αντλίες εκροής φαρμάκων, όπως *marA*, *tolC*, *yhjE* και *mdfA*, προσδίδουν αντοχή στην *quinolone*. Οι Kim et al απέδειξαν ότι η αντίσταση στη φθοροκινολόνη οφείλεται στο αυξημένο επίπεδο έκφρασης της αντλίας εκροής MdfA στο *Shigella spp.* Αυτή η εκροή είναι μέλος του συστήματος αντιβιοτικής εκροής MFS και η αντίσταση στη *fluoroquinolone* με τη μεσολάβηση αντλίας εκροής MdfA εντοπίστηκε για πρώτη φορά μεταξύ της MDR *Escherichia coli*. Η εκροή και η αντίσταση στην *tetracycline* σχετίζεται με το σύστημα αντιβιοτικής εκροής MFS που κωδικοποιείται από διάφορα γονίδια *tet* σε Gram - αρνητικά βακτήρια, όπως *Shigella spp.* και *Klebsiella spp.* Μεταξύ των συστημάτων εκροής *tet*, φαίνεται ότι το *tetA* και το *tetB* προκαλούνται από αντοχή στην τετρακυκλίνη στο *S. sonnei* και στο *S. flexneri*, αντίστοιχα (Ranjbar, R., & Farahani, A., 2019).

4.2.4.3) Αντοχή στα αντιβιοτικά β -lactam

4.2.4.3.1) *B-lactamases* κατηγορίας A

Οι β -lactamases κατηγορίας A μπορούν να υδρολύσουν *penicillin* στενού φάσματος, αλλά όχι *carbapenems* ή *cephalosporins*, και αναστέλλονται από την *tazobactam* και το *clavulanic acid*. Οι β -lactamases εκτεταμένου φάσματος (ESBLs) ανήκουν στην κατηγορία Ambler A. Τα ESBL που προσδίδουν αντοχή στις *cephalosporins* τρίτης γενιάς έχουν βρεθεί σε απομονώσεις *Shigella*. Η πρώτη αναφορά που τεκμηριώνει την ταυτοποίηση των στελεχών *Shigella* που παράγουν ESBL ήταν από το Μπαγκλαντές το 2004. Εμφάνιση ESBL στο *Shigella spp.* αποτελεί παγκόσμια μείζονα απειλή για την υγεία που πλήττει τόσο τις ανεπτυγμένες όσο και τις αναπτυσσόμενες χώρες. Διαφορετικές β -lactamases που ανήκουν στην κατηγορία A Ambler έχουν αναφερθεί μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*, όπως τα ένζυμα TEM, SHV και CTX-M. Η πρώτη απομόνωση του *S. flexneri* που παράγει ένα ESBL και φέρει ένα πλασμίδιο που κωδικοποιεί το γονίδιο *blaSHV-2* αναφέρθηκε από τη Γαλλία το 1995.

Μέχρι σήμερα, αρκετές αναφορές από την Αργεντινή, το Ισραήλ, τον Καναδά, την Τουρκία, τον Λίβανο, την Ιαπωνία, το Ιράν, τη Νότια Κορέα, την Κίνα και άλλες διάφορες περιοχές της Ασίας έχουν εντοπίσει *Shigella spp.* που φιλοξενούν διαφορετικούς τύπους γονιδίων ESBL. Αν και τα περισσότερα ESBL είναι παράγωγα των οικογενειών β -λακταμάσης TEM και SHV, που εντοπίστηκαν για πρώτη φορά, το *Shigella spp.* μπορεί επίσης να εκφράζει την οικογένεια CTX-M, μεταξύ των οποίων το CTX-M-15 είναι ένα από τα πιο σχετικά ευρήματα που σχετίζονται με την τρέχουσα επιδημιολογία των ESBLs, η οποία έχει εντοπιστεί κυρίως σε κοινά και παθογόνα απομονώματα *Shigella* που παράγουν ESBL σε όλο τον κόσμο. Παρά πολλές μελέτες επιτήρησης και έρευνες, ο λόγος αυτής της επιδημιολογικής μετατόπισης παραμένει άγνωστος. Αυτά τα ένζυμα είναι υπεύθυνα για την επιλεκτική

υδρολύση της *ceftriaxone* και *cefotaxime* και ακόμη πιο ευδιάκριτα για την *ceftazidime*, αν και ορισμένοι τύποι CTX-M, όπως το CTX-M-15, μπορεί να υδρολύσει την κεφταζιδίμη. Γενικά, το CTX-M-15 έχει βρεθεί ότι έχει μεγάλη καταλυτική αποτελεσματικότητα (υψηλή kcat/Km) έναντι της *pipercillin*, *benzyl penicillin*, *ceftriaxone* και *cefotaxime*, όπως αναφέρεται για άλλους τύπους CTX-M, όπως CTX-M-3, CTX-M-16, και CTX-M-18.

Μέχρι σήμερα, το CTX-M-15 έχει ανιχνευθεί σε απομονώσεις *Shigella* από διάφορες χώρες σε όλο τον κόσμο, συμπεριλαμβανομένου του Καναδά, της Ρωσίας, της Πολωνίας, του Ηνωμένου Βασιλείου, της Γαλλίας, της Βουλγαρίας, της Τουρκίας και του Ιράν β-τύπου CTX-M. Οι *lactamases* περιέχουν τουλάχιστον 40 ένζυμα και αυτά μπορούν εύκολα να μεταφερθούν μεταξύ των απομονώσεων *Shigella* με συζευγμένα πλασμίδια που ανήκουν στις ομάδες IncF, IncZ και IncI. Οι Li et al αποκάλυψαν ότι το ISEcp1 υπήρχε δίπλα σε όλα τα γονίδια blaCTX-M στα στελέχη *Shigella*, που σημαίνει ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην κινητοποίηση των γονιδίων blaCTX-M (Εικόνα 1). Μια μεγάλη μελέτη που διεξήχθη στο Βιετνάμ ανέλυσε το πλασμίδιο IncI1 pKHSB1 που φέρει blaCTX-M-15 που συλλέχθηκε από έναν κλωνικό πληθυσμό *S. sonnei*.³⁷ Μια άλλη μελέτη ανέφερε πλήρης αλληλουχία του πλασμιδίου IncI1 pSH4469 που φέρει blaCTX-M-15 σε κλινική απομόνωση *S. sonnei* που απομονώθηκε από ξέσπασμα στη Νότια Κορέα.³⁴ Η συνολική δομή του πλασμιδίου pSH4469 ήταν σχεδόν πανομοιότυπη με το pKHSB1 και φαινόταν ότι και τα δύο ήταν υπεύθυνα για τη διάδοση του blaCTX-M-15 μεταξύ *Shigella* απομονώσεις.

Πρόσφατα, ένα νέο υβρίδιο β-λακταμάσης CTX-M-9 και CTX-M-1 με το όνομα CTX-M-123 ταυτοποιήθηκε μεταξύ των απομονώσεων *S. flexneri* από ασθενείς στην Κίνα. Σε αυτή τη μελέτη, το blaCTX-M-123 μεταφέρθηκε από δύο συζευκτικά πλασμίδια που ονομάζονταν IncHI2 και IncF, και αυτά τα συζευγμένα πλασμίδια ήταν υπεύθυνα για τη διάδοση του blaCTX-M-123 σε απομονώσεις *S. flexneri*. Επιπλέον, αρκετοί νέοι υποτύποι β-λακταμάσης — CTX-M-79, CTX-M-27, CTX-M-24, CTX-M-15, CTX-M-14, CTX-M-64, CTX-M-65, CTX-M-55 και CTX-M-3 — έχουν βρεθεί σε κλινικά στελέχη *Shigella* που απομονώθηκαν από διαφορετικές επαρχίες της Κίνας. Γονίδια ESBL μεταξύ των απομονώσεων *Shigella* μπορεί να μεταφερθούν από απομονώσεις *E. coli* σε *Shigella spp.*, ειδικά σε απομονώσεις *S. sonnei*, μέσω σύζευξης στο ανθρώπινο έντερο. Η αύξηση της MDR και η εμφάνιση ESBL στο *Shigella spp.* μπορεί να είναι η αιτία αποτυχιών της θεραπείας και κατά συνέπεια περιορισμός στις θεραπευτικές επιλογές.

4.2.4.3.2) B- *lactamases* κατηγορίας B

Το ένζυμο β-*lactamases* κατηγορίας B μπορεί να υδρολύσει την καρβαπενέμη και άλλες β-*lactamases*, εκτός από την αζτρεονάμη, και οι κλασικοί αναστολείς της β-*lactamases*, όπως η ταζομπακτάμη και το κλαβουλανικό οξύ, δεν τις αναστέλλουν. Η μεταλλο-β-*lactamases* ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά σε ένα μεταβιβάσιμο πλασμίδιο από την *Pseudomonas aeruginosa*, και επίσης το IMP-1 αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά από πολλά είδη Gram-αρνητικών ράβδων στην Ιαπωνία. Οι O'Hara et al ανέφεραν έναν νέο τύπο μεταλλο-β-*lactamases* με την ονομασία MET-1 που προκαλείται από ένα πλασμίδιο *S. flexneri*. Πίστευαν ότι το MET-1 ήταν ένα παράγωγο της β-*lactamases* IMP-1.⁴⁴ Αυτό το πλασμίδιο προσέφερε αντίσταση έναντι της *sulfonamide* και *kanamycin*, επιπλέον της β-*lactamases*. Οι Lyobe et al διαπίστωσαν ότι το MET-1 παρουσίασε δύο αλλαγές αμινοξέων από IMP-1. Το

γονίδιο μετονομάστηκε σε IMP-3, και έτσι το IMP-3 θα μπορούσε να θεωρηθεί ως πρόγονος της β -lactamases IMP-1. Έδειξαν επίσης ότι αυτό το γονίδιο βρισκόταν σε μια κασέτα που είχε εισαχθεί σε ένα ολοκλήρωμα κατηγορίας I, ευρέως διαδεδομένο μεταξύ άλλων ειδών *Shigella* και προσέδιδε ανθεκτικότητα σε όλα σχεδόν τα αντιβιοτικά β -lactamases.

Η αντοχή στην *carbapenem* που παρέχεται από τα γονίδια blaVIM και blaIMP έχει πρόσφατα ανιχνευθεί σε απομονώσεις *S. sonnei* και *S. flexneri* από παιδιατρικούς ασθενείς με διάρροια στα νησιά Andaman και Nicobar στην Ινδία. Σε αυτή τη μελέτη, μετά από ανάλυση της αλληλουχίας νουκλεοτιδίων των γονιδίων blaIMP και blaVIM με BLAST, επιβεβαιώθηκε 100% ομοιότητα με αλληλουχίες αυτών των γονιδίων που απομονώθηκαν από *Acinetobacter baumannii* και *P. aeruginosa* που είναι διαθέσιμα στη βάση δεδομένων NCBI. Μετά την εξάπλωση της αντοχής στην *carbapenem* στη *Shigella* σε άλλο μέρος του κόσμου, ένδειξη μιας πιθανής πρόκλησης για τη δημόσια υγεία, οι θεραπευτικές επιλογές θα είναι περιορισμένες και τα μέτρα ελέγχου της λοίμωξης παραμένουν υψηλής σημασίας. Τέλος, αν και η κλάση A β -lactamases KPC είναι μία από τις πιο συχνά αναγνωρισμένες *carbapenem* μεταξύ άλλων Gram-αρνητών βακτηρίων σε ορισμένα μέρη του κόσμου, δεν έχει ακόμη εντοπιστεί σε απομονώσεις *Shigella*, εκτός από ένα στέλεχος *S. flexneri* που φέρει blaKPC που απομονώθηκε από το Εθνικό Κέντρο Εντεροβακτηριδίων της Σενεγάλης που βρίσκεται στο το Ινστιτούτο Παστέρ στο Ντακάρ.

4.2.4.3.3) B-lactamases κατηγορίας C

Η *ceftriaxone* συνιστάται για τη θεραπεία απομονώσεων *Shigella* ανθεκτικών στη *ciprofloxacin*. Ωστόσο, σήμερα ορισμένα στελέχη *Shigella spp.* έχουν γονίδιο αντίστασης στις *ciprofloxacin*. Οι β -lactamase κατηγορίας C, επίσης γνωστές ως ένζυμα τύπου AmpC, προσδίδουν υψηλού επιπέδου αντοχή στις *ciprofloxacin*. Η β -lactamase AmpC κωδικοποιείται τόσο από πλασμιδικά όσο και από χρωμοσωμικά γονίδια, και η πρώτη αναφορά κωδικοποιημένης από πλασμίδιο β -lactamase AmpC τύπου CMY-2 ανιχνεύθηκε μεταξύ ανθεκτικών στην *ceftriaxone* απομονώσεων *S. sonnei* που ελήφθησαν από ένα ξέσπασμα βακτηριακής δυσχρωμίας Taa. 47 ένζυμα CMY-2 έχουν αναφερθεί στην Κίνα, την Ταϊβάν, την Κόστα Ρίκα, το Ιράν και την Ινδία από διάφορα επιδημικά στελέχη. Οι Zhang et al ανακάλυψαν δύο παραγωγούς β -λακταμάσης AmpC με blaCMY-2 και blaDHA-1 σε στελέχη *Shigella* από διαρροϊκούς ασθενείς στην Κίνα.⁵¹

Οι Tajbakhsh et al ανέφεραν τους πρώτους παραγωγούς β -lactamase AmpC (blaCMY-2) στο *S. sonnei* που απομονώθηκαν από ασθενείς στην Τεχεράνη, Ιράν. Τα τελευταία χρόνια, άλλες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Ιράν έχουν δείξει εξάπλωση της αντοχής στις *ceftriaxone* εκτεταμένου φάσματος μεταξύ απομονώσεων *Shigella*. Σε παρόμοια μελέτη που διεξήχθη στο Ιράν, μελετώντας απομονώσεις *Shigella* ανθεκτικά στην κεφαλοσπορίνη, οι ερευνητές αναγνώρισαν το γονίδιο CMY-59 σε ένα απομονωμένο στέλεχος *S. sonnei* από παιδιατρικούς ασθενείς ηλικίας <12 ετών. Ωστόσο, η πλειονότητα των AmpC - θετικές απομονώσεις που μελετήθηκαν σε άλλα μέρη του κόσμου που ανήκουν στον γονότυπο CMY-2 και άλλα γονίδια AmpC (*blaMOX*, *blaFOX*, *blaMIR(ACT-1)*, *blaCIT* και *blaACC*) έχουν ταυτοποιηθεί σε απομονώσεις *Shigella*. Ωστόσο, μέχρι στιγμής δεν υπάρχει μελέτη για αυτά. Πράγματι, λίγες αναφορές έχουν περιγράψει την παρουσία AmpC β -lactamase μεταξύ των απομονώσεων *Shigella* παγκοσμίως.

4.2.4.3.4) B- lactamase κατηγορίας D

Οι β -lactamase κατηγορίας D ή οι β -lactamase τύπου OXA προσδίδουν αντοχή στην *ampicillin* και *cephalothin* και μπορούν να υδρολύσουν την *oxacillin* και *cloxacillin*, καθώς και *benzylpenicillin*, αλλά δεν αναστέλλονται από την *tazobactam* ή άλλους αναστολείς. Αναφέρθηκαν μεταξύ των απομονώσεων του *P. aeruginosa*, αν και τώρα γονίδια blaOXA έχουν ταυτοποιηθεί σε ιντεγκρόνια και πλασμίδια σε πολλά Gram-αρνητικά βακτήρια. Στο *Shigella spp.*, η αντοχή στην *ampicillin* σχετίζεται κυρίως με μια β -lactamase τύπου OXA. Το blaOXA-30 περιγράφηκε αρχικά σε ανθεκτικά στην αμπικιλίνη στελέχη *S. flexneri* από την Κίνα το 2000. Τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών έδειξαν ότι τα απομονωμένα στελέχη *S. flexneri* είναι ένας πιθανός ξενιστής ειδικός για τη β -lactamase τύπου blaOXA. Μια άλλη μελέτη από το Ιράν έδειξε ότι όλα τα θετικά στο blaOXA απομονώσεις έφεραν blaOXA-1 και πολλά από αυτά ήταν παρόντα στο *S. flexneri*, υποδηλώνοντας μια ατομική προτίμηση ξενιστή αυτών των ενζύμων σε απομονώσεις *S. flexneri*.

Τα γονίδια blaOXA-1 και blaOXA-30, που περιέχουν τρανσποζόνια Tn2603 και Tn1409, αντίστοιχα, διαφέρουν μεταξύ τους καθώς έχουν μία μετάλλαξη στο κωδικόνιο 131. Ένα γονίδιο που κωδικοποιεί τις blaOXAβ-λακταμάσες φέρεται στο ιντεγκρόν. Επιπλέον, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι 30 και aadA1 βρίσκονται στις γονιδιακές κασέτες των ολοκληρωμάτων κατηγορίας 1. Ως εκ τούτου, τα ολοκληρώματα κατηγορίας 1 φέρουν χαρακτηριστικά αντοχής για τις β-λακτάμες (blaOXA) και την τριμεθοπρίμη (*dfpA1*).

4.2.4.4) Αντοχή σε quinolone και fluoroquinolone

Αντίσταση σε fluoroquinolone λόγω μεταλλάξεων χρωμοσωμικού στόχου-θέσης

Οι αντίστοιχες υπομονάδες για τη γυράση DNA και την τοποϊσομεράση IV είναι οι *gyrA*, *gyrB*, *parC* και *parE*, που κωδικοποιούνται από τα γονίδια *gyrA*, *gyrB*, *parC* και *parE*, αντίστοιχα. Η DNA γυράση αποτελείται από δύο υπομονάδες *gyrA* και δύο υπομονάδες *gyrB* και η τοποϊσομεράση IV περιέχει δύο υπομονάδες *parC* και δύο *parE*. Οι περισσότερες μεταλλάξεις έχουν βρεθεί σε μια μικρή περιοχή κοντά στην αρχή του γονιδίου *gyrA* που ονομάζεται περιοχή προσδιορισμού της αντίστασης στην *quinolone* (QRDR), μεταξύ Ala67 και Gln107, και όπως αναφέρεται σε αρκετές μελέτες, οι μεταλλάξεις εμφανίζονται συχνότερα σε κωδικόνια 83, 87 και 211, ενώ οι μεταλλάξεις στο *gyrB* ανιχνεύθηκαν με χαμηλότερες συχνότητες σε διαφορετικές μελέτες. Μερικοί ερευνητές πιστεύουν ότι όταν εμφανίζεται μία μόνο μετάλλαξη στο *gyrA*, μπορεί να προσδώσει αντίσταση στις κινολόνες, αλλά για μειωμένη ευαισθησία στις *fluoroquinolone*, απαιτείται αριθμός περαιτέρω μεταλλάξεων στις περιοχές *parC* και *gyrA*. Οι 61,62 γονιδιακές μεταλλάξεις *parC* εμφανίζονται συχνότερα στα κωδικόνια 80 μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *gyrA* έχουν επιβεβαιωθεί ότι είναι πολύ πιο διαδεδομένες από τις μεταλλάξεις στο γονίδιο *gyrB*. Νέες μεταλλάξεις σε QRDRs έχουν επίσης εντοπιστεί από διαφορετικές περιοχές του κόσμου. Δύο νέες μεταλλάξεις στα κωδικόνια 86 και 129 στο *parC* και μια μετάλλαξη στο κωδικόνιο 211 του *gyrA* αναφέρθηκαν για πρώτη φορά σε στελέχη *S. sonnei* που ανακτήθηκαν από την [Κίνα το 2009](#).

Τέλος, δύο νέες μεταλλάξεις στα κωδικόνια 408 και 458 στο *parE* ανακαλύφθηκαν πρόσφατα μεταξύ του *Shigella spp.*, που απομονώθηκε στην **Ινδία το 2013** και στην επαρχία *Jiangsu* στην **Κίνα το 2016**. Μετάλλαξη στο κωδικόνιο 458 πιστεύεται ότι έχει ως αποτέλεσμα αντίσταση στο *ciprofloxacin* και το *nalidix* ενώ ένα μεμονωμένο στέλεχος με μετάλλαξη στο κωδικόνιο 408 στο *parE* σχετίζεται με αντοχή στο ναλιδιξικό οξύ, αλλά είναι ευαίσθητο στη σιπροφλοξασίνη. Φαίνεται ότι και οι δύο νέες μεταλλάξεις στο *parE* των απομονώσεων *S. flexneri* μπορεί να συσχετίζονται με την αυξημένη MIC για τη *ciprofloxacin* και μεσολαβούν στην αντίσταση στη *fluoroquinolone*. Επίσης, σε καμία από τις δύο μελέτες δεν εντοπίστηκαν μεταλλάξεις *parE* μεταξύ ευαίσθητων στην *quinolone* απομονώσεων.

Η άμεση συμβολή στην αντίσταση της *quinolone* και της *fluoroquinolone* από καθεμία από αυτές τις μεταλλάξεις σε μεταλλάξεις χρωμοσωμικής θέσης στόχου (QRDRs) παραμένει άγνωστη. Ωστόσο, μπορεί να υπάρχουν άλλοι μηχανισμοί σε απομονώσεις *Shigella* και απαιτούνται περαιτέρω έρευνες.

4.2.4.5) Αντίσταση σε (fluoro) quinolones λόγω μηχανισμών αντίστασης που διαμεσολαβούνται από πλασμίδια

Η κατανομή των πλασμιδικών γονιδίων που ονομάζονται πλασμιδικά μεσολαβούμενες περιοχές αντίστασης στην *quinolone* (PMQRs) και συγκεκριμένα γονίδια *qnr* (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qep*, *aac[6']-Ib-cr*) είναι ο κύριος λόγος αντοχής στις *quinolone* μεταξύ των *Shigella*. απομονώσεις, και συνήθως συνδέονται με μετατιθέμενα ή κινητά στοιχεία σε πλασμίδια. Τα γονίδια *qnr* 64,66, τα οποία συχνά ενσωματώνονται σε ιντεγκρόνια, μπορεί να επιτρέψουν τη διάδοση μεταξύ των *Shigella* και πιθανώς άλλων μελών της οικογένειας *Enterobacteriaceae* και, στη συνέχεια, τα απομονωμένα στελέχη με αντοχή στην *quinolone* εξαπλώνεται σε γεωγραφικές περιοχές και ακόμη και σε χώρες με κινητικότητα πληθυσμού. Το γονίδιο *aac(6')-Ib-cr* κωδικοποιεί μια *acetyltransferase* που σχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα *quinolone* και έχει εντοπιστεί σε πολλά μέλη της οικογένειας των Εντεροβακτηριδίων. 68 PMQRs έχουν εντοπιστεί ευρέως μεταξύ των απομονώσεων ανθρώπων και ζώων και έχουν γίνει ένα πειστικό ζήτημα παγκοσμίως. Σε μια μελέτη που διεξήχθη στην Κίνα, τα ποσοστά αντοχής στη *fluoroquinolone* σε ζωικά απομονωμένα στελέχη του *S. flexneri* αναφέρθηκαν ότι ήταν υψηλότερα από αυτά σε ανθρώπινα στελέχη.

Στις ΗΠΑ, το ποσοστό αντίστασης *Shigella* στις φθοριοκινολόνες έφτασε στο 87% κατά την περίοδο 2014–2015. Η αντίσταση των απομονωθέντων στελεχών *Shigella* στη *fluoroquinolone* οφείλεται κυρίως σε μεταλλάξεις στα QRDR των γονιδίων DNA γυράσης και τοποϊσομεράσης IV, αλλά η PMQRs μπορεί να διευκολύνει την επιλογή υψηλότερων επιπέδων αντίστασης μέσω εξωχρωμοσωμικά κωδικοποιημένων μηχανισμών και προσδίδουν μειωμένη ευαισθησία στις *quinolone* (ή στις *fluoroquinolones*). Γονίδια *aac(6')-Ib-cr* και *qnrS* εντοπίστηκαν για πρώτη φορά σε απομονώσεις του *S. flexneri* 2a το 1998 και του ορότυπου *S. flexneri* in2201, αντίστοιχα. Επιπλέον, το γονίδιο *qnrS* αναγνωρίστηκε σε απομονώσεις του *Shigella flexneri* 2b το 2005 στην Ιαπωνία. 70 Επίσης, όπως αναφέρθηκε σε δύο προηγούμενες μελέτες, το *aac(6')-Ib-cr* και το *qnrS* ήταν κυρίαρχοι καθοριστικοί παράγοντες PMQR σε δύο επαρχίες της Κίνας, που προσδίδουν υψηλά επίπεδα αντοχής στη *fluoroquinolones*. Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι απομονώσεις *Shigella* θετικές *aac(6')-Ib-cr* υπάρχουν στην Κίνα εδώ και πολλά χρόνια. Οι ορότυποι *S. flexneri* 1a, 2a, 2b, 4c και *S. sonnei* που φέρουν το γονίδιο *qnrS* έχουν αναφερθεί παγκοσμίως.

Είναι σημαντικό ότι τα θετικά για *qnrS* απομονώσεις *Shigella*, ειδικά τα στελέχη *S. flexneri*, παρουσιάζουν υψηλού επιπέδου αντοχή στις *fluoroquinolones* και πολλοί ερευνητές από διάφορα μέρη του κόσμου προτείνουν ότι το γονίδιο αντίστασης στην *quinolone* που

προκαλείται από πλασμίδιο *qnrS* παίζει ουσιαστικό ρόλο στη μειωμένη ευαισθησία των στελεχών *Shigella* σε *fluoroquinolones*. Πράγματι, το πλασμίδιο *qnrS* θα μπορούσε να αλλάξει την ευαισθησία στη *fluoroquinolones* των απομονώσεων *S. flexneri* που περιέχουν μεταλλάξεις *gyrA83* και *parC80* σε απομονώσεις ανθεκτικές στη *ciprofloxacin*. Επικρατούν γονίδιο, ακολουθούμενο από *qnrS* που ανιχνεύθηκε σε απομονώσεις *S. flexneri* από τις ΗΠΑ, την Ινδία, την Ιαπωνία, την Κίνα και το Ιράν, και επίσης οι περισσότερες μελέτες έχουν επισημάνει έναν αυξημένο επιπολασμό των καθοριστικών παραγόντων PMQR με την πάροδο των ετών. Μία πρόσφατη μελέτη που διεξήχθη στην Κίνα ανέφερε ότι τα θετικά απομονωμένα στελέχη *aac(6)-Ib-cr* και τα θετικά στο *qepA* απομονώσεις εξέφρασαν υψηλά επίπεδα αντοχής στην *quinolone*. Αυτό το εύρημα δείχνει ότι άλλοι μηχανισμοί, όπως η μειωμένη διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης, οι αντλίες ενεργού εκροής και η αποθήκευση διαφορετικών γονιδίων αντίστασης, μπορεί να είναι υπεύθυνοι για την αντοχή στις *quinolone*.

4.2.4.6) Αντίσταση στη *phosphomycin*

Η *phosphomycin* (*Fom*) είναι ένα αντιβιοτικό ευρέως φάσματος που αναστέλλει τη βιογένεση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος αδρανοποιώντας το ένζυμο MurA. Παρά τη χρήση του *Fom* στη θεραπεία μικροβιακών λοιμώξεων για τέσσερις δεκαετίες, το *Fom* παρέμεινε αποτελεσματικό έναντι κοινών ουροπαθογόνων και αντίστασης στο *Fom* παρέμεινε σπάνια σε όλο τον κόσμο. Ωστόσο, παρατηρήθηκε αντίσταση στο *Fom* μεταξύ των στελεχών *E. coli* να φιλοξενούν νέους μεταβιβάσιμους καθοριστικούς παράγοντες αντοχής στη φωσφομυκίνη που ονομάζονται FosC2 και FosA3. Δύο κύριοι μηχανισμοί αντίστασης έχουν περιγραφεί για την αντοχή στη φωσφομυκίνη: μεταλλάξεις στο *uhpA/T* και Γονίδια *glpT* που κωδικοποιούν πρωτεΐνες για δύο εξαρτώμενα από το φορέα συστήματα υπεύθυνα για την πρόσληψη *phosphomycin* και την επίτευξη ενζύμων τροποποίησης της *phosphomycin* που περιέχουν δύο *kinases*, *FomA* και *FomB*, και τρεις τύπους μεταλλοενζύμων: FosX, FosA και FosB.

Ένζυμα τροποποίησης της *phosphomycin* ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά μεταξύ των στελεχών *S. flexneri* που απομονώθηκαν από ασθενείς στην Κίνα. Μερικές μελέτες έχουν προτείνει ότι η αύξηση του επιπολασμού του *fosA3* οφειλόταν στη διάδοση των πλασμιδίων *IncN* και *IncI*, διευκολύνοντας τη γρήγορη διασπορά του. Πράγματι, τα γονίδια ESBL (*blaCTX-M-123*, *blaCTX-M-55*, ή *blaCTX-M-15*) και *fosA3* φέρθηκαν από διασυζευγμένα πλασμίδια από διάφορες ομάδες ασυμβατότητας και όλα περιείχαν καθοριστικούς παράγοντες που κωδικοποιούσαν την αντίσταση στην *cefotaxime*, *ceftriamycin* και *fostriaxone*. Από αυτή την άποψη, τα συζευγμένα πλασμίδια είναι πιθανό να διαδραματίσουν ουσιαστικό ρόλο στη διάδοση των γονιδίων *fosA3* και ESBL μεταξύ απομονώσεων *Shigella* με υψηλή κλωνική ποικιλομορφία και θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά.

4.2.4.7) Αντοχή σε *aminoglycosides*

Οι *aminoglycosides* χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ενός ευρέως φάσματος λοιμώξεων. Οι *aminoglycosides* μεσολαβούν στην αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Η αντίσταση στις *aminoglycosides* σχετίζεται με ενζυματική αδρανοποίηση, ριβοσωμική τροποποίηση και αντλίες ενεργού εκροής. Μεταξύ αυτών των μηχανισμών, τα ένζυμα που τροποποιούν τις *aminoglycosides* είναι τα πιο κοινά στο κλινικό περιβάλλον. Αυτά τα ένζυμα ενεργοποιούνται μέσω τριών γενικών αντιδράσεων, με αποτέλεσμα την αδενυλίωση, την ακετυλίωση ή τη φωσφορυλίωση.

Η *aminoglycosidic adenylyltransferase* (γονιδιακές κασέτες *aadA*) είναι πολύ συχνή στα εντεροβακτηρίδια, ειδικά μεταξύ των απομονώσεων *Salmonella* και *Shigella*, προσδίδοντας αντοχή στη *streptomycin* και *spectinomycin*. Ένα τυπικό ιντεγκρόνιο κατηγορίας 2 έχει μια κασέτα γονιδίου 2,2 kb με διάταξη γονιδίου αντίστασης (*dfrA1-sat-aadA1*) που προσδίδει αντίσταση στην *trimethoprim*, *streptothricin* και *spectinomycin* / *streptomycin*, αντίστοιχα, ενώ το *aadA1* απουσίαζε στα άτυπα ολοκληρώματα τάξης 287. Τα ολοκληρώματα κατηγορίας 2 έχουν ταυτοποιηθεί στο τρανσποζόνιο Tn7 και έχουν εισαχθεί κυρίως σε χρωμοσώματα με υψηλή συχνότητα.⁸⁹ Ένα άτυπο ολοκλήρωμα τάξης 1 με μια ασυνήθιστη διατηρημένη ακολουθία 3' που φέρει ένα *estX-psp-aadA2-cmlA-aadA1-κασΗ* ακτίνες έχει ανιχνευθεί μεταξύ διαφορετικών Gram-αρνητικών ειδών (*E. coli*, *Shigella* και *Salmonella*) από διαφορετικούς ξενιστές (άνθρωπος, ζώο και τροφή), περιόδους και γεωγραφικές περιοχές. Αντίστοιχα, η οριζόντια μεταφορά αυτών των ολοκληρωμάτων από πλασμίδια προάγει την εξάπλωση γονιδίων πολλαπλής αντίστασης σε σποραδικά και εστιακά στελέχη της *Shigella*.

Πολλοί τύποι κασετών γονιδίου *aadA* έχουν ταυτοποιηθεί μεταξύ των Εντεροβακτηριδίων, αλλά οι τύποι *aadA1* και *aadA2* έχουν υψηλό επιπολασμό μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*. IncFII και pNV-Y394. Το γονίδιο που κωδικοποιεί το *strA* έχει ταυτοποιηθεί στο 42,1% των απομονώσεων *Shigella* που ανακτήθηκαν από διαρροϊκούς ασθενείς στο Πακιστάν. Σε μια μελέτη που διεξήχθη στην Ινδία, το 100% και το 88% του *S. dysenteriae* τα στελέχη τύπου 1 και *S. sonnei* περιείχαν γονίδια *strA*, που κωδικοποιούν την αντίσταση στη *streptomycin*. Η πλειονότητα των απομονώσεων *Shigella* περιείχε *strA* και *strB*, μαζί με άσχετους προσδιοριστές αντοχής, οι οποίοι κωδικοποιούνται από τα *blaTEM*, *blaCTX-M*, *qnrS*, *aadA1*, *tetA*), *tet(B)*, *catA* και *catP*. Ένα πλασμίδιο 6,3 kb έχει ανιχνευθεί στο στέλεχος *S. flexneri* 3a και εμπλέκεται σε έναν φαινότυπο ανθεκτικότητας στη *streptomycin*. Αυτό το πλασμίδιο είναι πιθανό να προκαλέσει επίκτητη αντίσταση στη *streptomycin*. Επίσης, μια μελέτη που διεξήχθη στη Νότια Κορέα έδειξε ότι η αντίσταση στη στρεπτομυκίνη προκλήθηκε από *strA* ή *strB* μεταξύ των απομονώσεων *S. sonnei* που ελήφθησαν εκεί και αποκάλυψε ότι τα *tetA*, *strA-strB* και *sul1* ήταν κωδικοποιείται και υπάρχει σε 8,4 kb μη μεταβιβάσιμου πλασμιδίου R.

Εμφάνιση γονιδίων αντίστασης στις *aminoglycosides* μεταξύ των απομονώσεων *Shigella* δεν συμβαίνει, επειδή αυτά τα φάρμακα έχουν από καιρό αποκλειστεί για τη θεραπεία της σιγκέλωσης σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει ανησυχία, επειδή τα ιντεγκρόνια κατηγορίας 1 που περιέχουν τη συστοιχία γονιδιακών κασετών του *blaOXA* -30 + *aadA1* με πλήρη 3'CS έχουν αναφερθεί σε πλασμίδια σε *Shigella spp.* απομονωμένα στελέχη, στελέχη *Salmonella enterica serovar Typhimurium* και *E. coli* και μεταφερόμενα πλασμίδια μπορεί να ενισχύσουν την εξάπλωση των γονιδίων αντίστασης εντός της ιντεγκρίνης, καθιερώνοντας *arole* των πλασμιδίων στην οριζόντια μεταφορά γονιδίων αντίστασης.

4.2.4.8) Αντίσταση στην *tetracycline*

Οι *tetracycline* χρησιμοποιούνται έναντι μιας μεγάλης ποικιλίας ασθενειών σε ανθρώπους και ζώα. 100 ανθεκτικά στην *tetracycline* βακτήρια βρίσκονται σε ευκαιριακά παθογόνα και είδη φυσιολογικής χλωρίδας. Σύμφωνα με τη μελέτη του Roberts¹⁰¹ και την ονοματολογία για τα γονίδια αντοχής στην *tetracycline* ([Marilyn, C.. & Roberts, 2002](#)), πέντε γονίδια εκροής *tetracycline* — *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*), και *tet(G)* — και μία πρωτεΐνη ριβοσωματικής προστασίας που κωδικοποιείται από

tet(M) έχουν ταυτοποιηθεί μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*, τα περισσότερα από τα οποία κωδικοποιούνται σε μεταδοτικά στοιχεία, με εκτεταμένη διάδοση σε διαφορετικές ομάδες βακτηρίων. Σε μια μελέτη, εντοπίστηκε ένα γονιδιωματικό νησί 20,4 kb που κωδικοποιεί γονίδια MDR, όπως μια μεγάλη ποικιλία γονιδίων tet που πλαισιώνονται από τρανσποζάσες.¹⁰² Αυτή η πανομοιότυπη κασέτα MDR αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά στο στέλεχος YSH6000 του ορότυπου 2a *S. flexneri* και αναφέρθηκε ως αντίσταση *Shigella* νησί γεωγραφικής παθογένειας

Μεταξύ 154 ανθεκτικών στην *tetracycline* απομονώσεων που ανακτήθηκαν ως επιβεβαιωμένες αιτίες της διάρροιας των ταξιδιωτών στην Ισπανία, το 79,2% (n=122) είχε τουλάχιστον tet(A) ή tet(B). Συνδυασμοί tet(A) + tet(B), tet(A) + tet(G) και tet(B) + tet(G) βρέθηκαν σε πέντε, ένα και επτά απομονώσεις, αντίστοιχα. Αποτελέσματα δύο μελετών αποκάλυψε ότι το tet (A) ήταν πιο συχνό μεταξύ των στελεχών *S. sonnei*, ενώ το tet (B) ήταν πιο συχνό μεταξύ των στελεχών *S. flexneri*. Επίσης, το *S. sonnei* και το *S. flexneri* διέφεραν μεταξύ τους ως προς τον επιπολασμό του πλασμιδίου Inc.

4.2.4.9) Απομονώσεις *Shigella spp*

Ταυτοποιήθηκαν από δείγματα κοπράνων που συλλέχθηκαν από παιδιά με διάρροια στο Ιράν, το 90% και το 18% των απομονώσεων έφεραν tetA και tetB, αντίστοιχα, και δεν εντοπίστηκαν θετικά αποτελέσματα για tet(C) ή tet(D) σε αυτή τη μελέτη.¹¹ Αποτελέσματα του Η ίδια μελέτη που διεξήχθη στο Ιράν αποκάλυψε ότι τα tet(A) και tet(B) υπήρχαν στο 75,7% και στο 21,42% των *Shigella spp.* και ότι το tet(A) ήταν πιο συχνό στους πληθυσμούς *S. flexneri* και *S. sonnei*.

Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Μεξικό αναγνώρισε τα γονίδια tet(A), tet(B) και tet(C) σε 1, 6 και 18 απομονώσεις *S. sonnei* και 2, 7 και 1 απομονώσεις *S. flexneri*, αντίστοιχα, ενώ Το tet(D) παρατηρήθηκε μόνο σε απομονώσεις *S. sonnei* (8%). Μεταξύ 20 απομονώσεων *S. dysenteriae* από επιδημίες δυσεντερίας που ελήφθησαν από διαφορετικά μέρη της Ινδίας, το tet(B) ήταν πιο κοινό (90%) από το tet(A) (10%). Στην ίδια μελέτη, τα γονίδια tet(A) και tet(B) ανιχνεύθηκαν στο 15% και 79% των απομονώσεων *Shigella*, αντίστοιχα, δείγματα των οποίων ελήφθησαν από παιδιά με διάρροια στη νότια Μοζαμβίκη.¹⁰⁷ Με βάση πρόσφατες μελέτες, φαίνεται ότι η μεσολαβούμενη από εκροή αντοχή στην *tetracycline* στην *tetracycline* στα στελέχη *S. sonnei* και *S. flexneri* μπορεί να σχετίζεται με την έκφραση των tet(A) και tet(B), αντίστοιχα. Σύμφωνα με την ονοματολογία γονιδίου αντίστασης στην *tetracycline* (Marilyn, C.. & Roberts, 2002), η tet(B) είναι ικανή να προσδώσει αντίσταση στη *minocycline*, ενώ άλλες αντλίες εκροής που κωδικοποιούνται σε ένα μεταβιβάσιμο γονίδιο tet δεν έχουν τέτοια ιδιότητα και μπορεί να προκαλέσει κλωνική εξάπλωση των θετικών απομονώσεων tet(B) *Shigella* παγκοσμίως. Γενικά, τα tet(A) και tet(B) είναι τα πιο διαδεδομένα γονίδια ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη στο *Shigella spp.* Άλλα γονίδια εκροής *tetracycline*, όπως το tet(C) ή το tet(D), σπάνια ανιχνεύονται μόνα τους.

4.2.4.10) Αντίσταση *Phenicol*

Οι *phenicol* έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία λοιμώξεων από *Shigella* τα τελευταία χρόνια σε όλο τον κόσμο και η εφαρμογή τους οδήγησε σε ισχυρή επιλεκτική πίεση για αντοχή σε αυτά τα αντιβιοτικά. Η ανθεκτικότητα στο *Shigella* σχετίζεται με ενζυματική αδρανοποίηση μη φθοριωμένων *Phenicol* από γονίδια ακετυλοτρανσφεράσης της *chloramphenicol* που κωδικοποιούνται από παραλλαγές

catA (catA1, catA2, catA3) και catB (catB2, catB3, catB7, catB8), καθώς και ενεργή εκροή κατά cmlA (cmlA1, cmlA4, cmlA9) ή/και φθοριωμένες και μη φθοριωμένες *Phenicol* (flor–superfamierly) πρωτεΐνες.

Η αντοχή στη *chloramphenicol* στα απομονωμένα στελέχη *Shigella* σχετίζεται κυρίως με την παρουσία γονιδίων γάτας. Μεταξύ 95 απομονώσεων *Shigella* που συλλέχθηκαν από διαρροϊκούς ασθενείς στο Πακιστάν, τουλάχιστον 69 (72,6%) ήταν ανθεκτικά στη *chloramphenicol*. Η catA και η catP ανιχνεύθηκαν σε 32 (33,68%) και 24 (25,26%) απομονώσεις, αντίστοιχα, από απομονώσεις *Shigella* ανθεκτικές στη *chloramphenicol*. Τα γονίδια tetB και catA μεταφέρθηκαν μαζί με πλασμίδια 130 kb.89 Η παρουσία catA που κωδικοποιεί Ο-ακετυλοτρανσφεράση *chloramphenicol* ανιχνεύτηκε και επιβεβαιώθηκε σε στελέχη *S. flexneri* με γονίδια strA ή aadA1 ή και τα δύο.

4.2.4.11) Αντίσταση *Colistin*

Η *colistin* (*polymyxins* E) είναι ένας πολυπεπτιδικός αντιμικροβιακός παράγοντας που αλληλεπιδρά με τις εξωτερικές μεμβράνες των Gram-αρνητικών βακτηρίων. Δεδομένου ότι η πρώτη αναφορά του γονιδίου ανθεκτικότητας στην πολυμυξίνη mcr-1 που προκαλείται από το πλασμίδιο δημοσιεύθηκε σε απομόνωση *E. coli* τον Νοέμβριο του 2016 στην Κίνα, αυτό το γονίδιο έχει επίσης ταυτοποιηθεί στη *Salmonella enterica* και στην *Klebsiella pneumoniae*, αλλά σπάνια αναφέρεται σε άλλα είδη *Enterobacteriaceae*. Αυτό το γονίδιο έχει πλέον αναγνωριστεί σε άλλα γένη *Enterobacteriaceae*, όπως *Shigella*, *Cronobacter*, *Kluyvera* και *Enterobacter* που απομονώνονται από λαχανικά, περιβάλλον, τρόφιμα, ζώα και ανθρώπους. Ο μηχανισμός αντοχής του mcr-1 παράγεται από μια *phosphatidylethanolamine transferase*, που οδηγεί σε τροποποίηση του λιπιδίου A που υπάρχει ως αποτέλεσμα της προσθήκης *phosphoethanolamine* στο λιπίδιο A σε κυτταρικές μεμβράνες αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, με αποτέλεσμα περισσότερα κατιονικά LPS και χαμηλότερη συγγένεια για την *colistin* και τις σχετικές *polymyxins* και κατά συνέπεια μειώνεται η *microbixin*. Η παρουσία mcr-1 στα απομονωμένα στελέχη *Shigella* οδηγεί σε τετραπλάσια έως οκταπλάσια αύξηση του MIC της *polymyxins* B.118 mc Το r-1 βρίσκεται σε διάφορες ραχοκοκαλιές πλασμιδίου, συμπεριλαμβανομένων των IncI2, IncFI, IncHI2, IncFIB, IncP, IncY και IncX4, μεγέθους 58–252 kb (Εικόνα 3). Γονίδια που κωδικοποιούν ESBL ή άλλα γονίδια αντίστασης μπορεί να συνυπάρχουν μαζί του. Επίσης, απομονώσεις *S. flexneri* ανθεκτικές στην *colistin* με τη μεσολάβηση πλασμιδίου που ανακτήθηκαν από περιττώματα ζώων σε μια φάρμα έδειξαν ότι μπορεί να κυκλοφορεί μέσω της οδού κοπράνων-στοματικής οδού, τουλάχιστον μεταξύ ζώων σε αυτό το αγρόκτημα, και πιθανώς να διανέμεται μέσω του δικτύου παραγωγής τροφίμων. Στις περισσότερες αναφορές, το mcr-1 είναι γνωστό ότι είναι το μόνο γονίδιο αντίστασης για σχετικά πλασμίδια, υποδεικνύοντας ότι η εκλεκτική πίεση που σχετίζεται με την πολυμυξίνη είναι υπεύθυνη για την απόκτηση του mcr-1. Σημαίνει ότι άλλα πλασμίδια που προσδίδουν φαινότυπους MDR μπορούν να επιτευχθούν από ανθεκτικά στελέχη *S. flexneri*. Κινητά στοιχεία, όπως το IS και τα ολοκληρώματα, θα μπορούσαν επίσης να βοηθήσουν τις απομονώσεις να αποκτήσουν άλλα στοιχεία αντίστασης από το περιβάλλον. Ένα νέο τραπεζοζόνιο, το Tn6390 έχει ανιχνευθεί στο *S. flexneri* C960, στο οποίο δύο αντίγραφα του ISAp11 τοποθετούνται σε αγκύλες στο παιχνίδι γονιδίου mcr-1 ένας κεντρικός ρόλος στη μεταφορά του mcr-1. Πρόσφατα, το mcr-1 εντοπίστηκε σε απομονώσεις *S. sonnei* από τη Σαγκάη (2010–2012) με αντοχή στην *polymyxins* B (MIC 4–8 µg/mL).

4.2.4.12) Αντίσταση σε *Sulfonamide* και *Trimethoprim*

Μετά την εξάπλωση της αντοχής στην *trimethoprim-sulfonamide* σε διάφορα μέρη του κόσμου, αυτοί οι παράγοντες θεωρούνται επί του παρόντος αναποτελεσματικοί για την εμπειρική θεραπεία της σιγκέλωσης. Οι μηχανισμοί επίκτητης αντίστασης έχουν συχνά εντοπιστεί, κυρίως λόγω μεταλλακτικών ή ανασυνδυαστικών αλλαγών στα ένζυμα-στόχοι (*dihydropterol synthase* και *dihydrofolate reductase*, αντίστοιχα) ή επίκτητη αντίσταση από ανθεκτικά στα φάρμακα ένζυμα στόχους, όπως επίκτητα γονίδια *sul* που κωδικοποιούν ανθεκτικές στα φάρμακα *dihydrofolic* συνθάσες ή γονίδια *dfr* που κωδικοποιούν ανθεκτικές στα φάρμακα *dihydrofolic* αναγωγάσες.

4.2.4.13) Αντίσταση στην *Trimethoprim*

Τουλάχιστον 42 γονίδια *dfr* που προσδίδουν αντοχή στην *trimethoprim* έχουν ανιχνευθεί σε διαφορετικές ομάδες βακτηρίων παγκοσμίως, 12 από τα οποία έχουν εντοπιστεί στο *Shigella spp.* Η αντίσταση στην *trimethoprim* μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία γονιδίων *dfr* που μεταδίδονται από το ιντεγκρόν (Εικόνα 4). Γονιδιακές κασέτες εντός ολοκληρωμάτων κατηγορίας 1 που ανιχνεύονται σε πλασμίδια ή χρωμοσώματα σε απομονώσεις *Shigella* συχνά κωδικοποιούν αντίσταση στην *trimethoprim* (*dfrA*), *streptomycin* (*aadA*) και *ampicillin* (*oxa-1*). *Shigella spp.*, και οι συστοιχίες γονιδιακών κασετών τους συνήθως περιέχουν *dfrA1*, *sat1* και *aadA1*.

Η παρουσία των γονιδίων *dfrA1* μεταξύ των απομονώσεων *Shigella* είναι ο κύριος μηχανισμός της αντίστασης στην *trimethoprim*, που εμφανίζεται σε μια κασέτα τόσο στα ολοκληρώματα κατηγορίας 1 όσο και σε ολοκληρώματα κατηγορίας 2. Στην Ιαπωνία έχουν ταυτοποιηθεί δύο τύποι ολοκληρωμάτων κατηγορίας 2 μεταξύ των στελεχών *S. sonnei*. Το ένα από αυτά ήταν τυπικού τύπου ολοκληρώμων κατηγορίας 2 (2.158 bp) με συστοιχίες κασετών *dfrA1*, *sat1* και *aadA1* και το άλλο ήταν ένας άτυπος τύπος ολοκληρωμάτων κατηγορίας 2 (1.313 bp) που έφεραν μόνο δύο συστοιχίες γονιδίων-κασετών με *dfrA1* και *sat1*.¹²³ Αυτή η αντίσταση στα αντιβιοτικά που σχετίζεται με το ιντεγκρόν μπορεί να μεταφερθεί σε άλλα είδη μέσω σύζευξης πλασμιδίου. Οι συστοιχίες κασετών *dfr12-orfF-aadA2*, *dfr17-aadA5* και *aadA1* που μεταφέρονται από ολοκληρώματα κατηγορίας 1 έχουν αναγνωριστεί σε απομονώσεις *S. sonnei* που ανακτήθηκαν από τη Νότια Κορέα, την Κίνα, το Βιετνάμ και την Αυστραλία. Επίσης, *dfrA1-sat1*– Οι συστοιχίες κασετών *aadA1-orfX*, δωρεάν *aadA1* ή δωρεάν *orfX* που μεταφέρονται από ολοκληρώματα κλάσης 2 έχουν ανιχνευθεί στο Σενεγαλέζικο *Shigella spp.* απομονώσεις. Σε αντίθεση με τα γονίδια *dfrA*, τα γονίδια *dfrB* δεν έχουν ταυτοποιηθεί μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*. Πρόσφατα, οι κλώνοι αντοχής στην τριμεθοπρίμη αλληλουχίστηκαν με βάδισμα εκκινητή και ένα φυσικό πλασμίδιο 6.779 bp ταυτοποιήθηκε με την παρουσία του γονιδίου *dfrA14* σε μια διάταξη γονιδίου *sul2-strA'-dfrA14-strA-strB* σε στελέχη *S. sonnei*, υποδηλώνοντας ότι συσχετίστηκε με ένα μικρό μη συζευγμένο πλασμίδιο. Ολοκληρώματα κατηγορίας 2 μέσα σε μια συστοιχία κασετών *dfr1-sat2-aadA1* ήταν κυρίαρχα σε απομονώσεις *S. sonnei* από κρούσματα εστιών στην Ταϊβάν, ενώ τα ολοκληρώματα κατηγορίας 2 απουσίαζαν σε σποραδικές περιπτώσεις.

Μια μεγάλη μελέτη που διεξήχθη στη Νότια Κορέα ανέλυσε 122 απομονώσεις *S. sonnei* που συλλέχθηκαν από δείγματα κοπράνων σε διάφορα μέρη της χώρας από το 1991 έως το 2000. Η αντοχή στην τριμεθοπρίμη συσχετίστηκε με τα *dfrA1* και *dfrA12*. Το *dfrA1* βρέθηκε ως γονιδιακή κασέτα του Tn7 που βρίσκεται στα χρωμοσώματα, ενώ το *dfrA12* εντοπίστηκε σε συζευγμένα πλασμίδια R ως γονιδιακή

κασέτα ολοκληρωμάτων κατηγορίας 1. Ο Tn7 δεν ανιχνεύθηκε σε απομονώσεις *S. sonnei* που ανακτήθηκαν από τη δεκαετία του 1980, ενώ σε αυτή τη μελέτη βρέθηκε Tn7 σε όλα τα απομονωμένα στελέχη *S. sonnei*. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι τα προϊόντα απομόνωσης *S. sonnei* που έφεραν Tn7 ήταν υπεύθυνα για κρούσματα σιγκέλωσης σε διάφορα μέρη της Νότιας Κορέας τη δεκαετία του 2000.

4.2.4.14) Αντοχή στις *Sulfonamides*

Από τη στιγμή που βρέθηκε η πρώτη αναφορά αντοχής στις *sulfonamides* και στις απομονώσεις *S. sonnei* και *S. flexneri* που ανακτήθηκαν από τις αρχές της δεκαετίας του 1970 στη Νότια Κορέα, 98.125 ανθεκτικότητα σε αυτό το αντιβιοτικό έχει εντοπιστεί στο 94% των στελεχών *S. sonnei* από τις δεκαετίες 1980 και 100 % των απομονώσεων από τις δεκαετίες 2000 και 2010 σε διάφορα μέρη του κόσμου. Η αντοχή στη *sulfonamides* προκαλείται από τα γονίδια *sul1*, *sul2* και *sul3* και είναι κοινά στη *Shigella*. Το γονίδιο *sul1* είναι πολύ συχνό μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*, επειδή είναι μέρος της περιοχής 3'-συντηρημένης ακολουθίας των ολοκληρωμάτων κλάσης 1. Επίσης, το *sul3*, που συνδέεται με ένα ασυνήθιστο διατηρημένο τμήμα 3', σχετίζεται με ολοκληρώματα κατηγορίας 1. Σύμφωνα με μια μελέτη, το *sul2* είναι ένα από τα τρία γονίδια ανθεκτικότητας σε *sulfonamides* και βρίσκεται συνήθως σε μεγάλα μεταδοτικά πλασμίδια ή μικρά μη συζευγμένα πλασμίδια και ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά σε ένα μικρό μη συζευγμένο πλασμίδιο του *E. coli*. Έκτοτε, αυτό το γονίδιο έχει βρεθεί κυρίως σε πλασμίδια σε απομονώσεις *Shigella* από ανθρώπους στη Νότια Κορέα, στην Ταϊβάν, 89 στην Αυστραλία, 127 και στο Μπαγκλαντές.

Αρκετές μελέτες έχουν προτείνει ότι τα γονίδια *sul* συνδέονται με άλλα γονίδια ανθεκτικότητας. Το γονίδιο *sul1* ταυτοποιείται συχνά μαζί με άλλα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά που βρίσκονται σε συστοιχίες γονιδίων-κασετών σε μεταβλητές περιοχές ολοκληρωμάτων κατηγορίας 1. Τα ολοκληρώματα της κατηγορίας 1 διαφέρουν από την κατηγορία 2 ως προς τις κασέτες γονιδίων ειδικής καταπόνησης, την ικανότητα ολοκλήρωσης και την παρουσία του *sul1* σε 3' διατηρημένη περιοχή (3'CS). Στη Βραζιλία, *sul1* (ανθεκτικό στα *sulfonamides*) εντοπίστηκε σε δύο (3%) δείγματα MDR *Shigella*, τα οποία ήταν επίσης θετικά για ιντεγόνα κατηγορίας 1. Σε προηγούμενες μελέτες για απομονώσεις MDR *S. sonnei* που ελήφθησαν στη Νότια Κορέα, η αντοχή στη *sulfamethoxazole* ήταν κυρίως που σχετίζεται με το *sul1*, που βρίσκεται σε 8,4 kb μη συζευγμένου πλασμιδίου R.

Οι ομάδες γονιδίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά που περιέχουν *strA*, *strB* και *sul2* είναι ευρέως διαδεδομένες μεταξύ των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, ιδιαίτερα σε απομονώσεις *Shigella*. Οι Iqbal et al 128 βρήκαν τα γονίδια *sul1*, *sul2*, *sul3*, *integron 1* και *integron 2* σε όλα τα γονίδια *MDRneri2ax* στελέχη, και διαπίστωσε επίσης ότι το *sul2* απουσίαζε σε όλα τα ευαίσθητα στη *sulfamethoxazole* στελέχη (n=54), ενώ υπήρχε σε όλα τα ανθεκτικά στη *sulfamethoxazole* στελέχη (n=146). Ωστόσο, σε αυτή τη μελέτη, δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στις εκφράσεις των γονιδίων *sul1*, *sul3*, *integron 1* ή *integron 2* σε ανθεκτικά στη *sulfamethoxazole* και ευαίσθητα στελέχη *S. flexneri* 2a. Είναι ενδιαφέρον ότι η σκλήρυνση αυτού του πλασμιδίου 4,3 MDa οδήγησε σε απώλεια *sul2* και ευαισθησία στη σουλφαμεθοξαζόλη σε ζευγαρωμένα στελέχη, υποδηλώνοντας συμμετοχή του *sul2* και αυτού του πλασμιδίου στην αντίσταση στη *sulfamethoxazole*. Στην ίδια μελέτη, 24 απομονώσεις *S. sonnei* ανιχνεύθηκαν ότι φέρουν ένα άτυπο ιντεγκόνιο κατηγορίας 1 που σχετίζεται με το *sul3*. Η συστοιχία κασέτας *estX-psp-aadA2-cmlA1-aadA1-*

qacH του ιντεγκρονίου κατηγορίας 1 που σχετίζεται με *sul3* έχει βρεθεί ότι κωδικοποιεί μια εστεράση, μια λιπάση, υποτιθέμενη φωσφατάση *phosphoserine* / αντίσταση σε *streptomycin*, *chloramphenicol3* και *quaternins*.

4.2.4.15) Αντίσταση στα *Macrolides*

Η Αμερικανική Ακαδημία Παιδιατρικής και η Εταιρεία Λοιμωδών Νοσημάτων της Αμερικής συνέστησαν την αζιθρομυκίνη ως φάρμακο για τη θεραπεία της σιγκέλωσης στα παιδιά και επίσης ο ΠΟΥ την εισήγαγε ως θεραπεία δεύτερης γραμμής σε ενήλικες. Τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων παρατήρησαν αντοχή στην αζιθρομυκίνη σε περίπου 3% των περιπτώσεων *Shigella* που εξετάστηκαν. Ανθεκτικές επιδημίες που περιλαμβάνουν *Shigella* spp. απομονώσεις με μειωμένη ευαισθησία στην *azithromycin* (RSA) είναι πιο πρόσφατα φαινόμενα και ανιχνεύονται συνεχώς στην Ασία, τη Βόρεια Αμερική, τις ΗΠΑ, την Αυστραλία και άλλες γεωγραφικές περιοχές. η μικροαραίωση είναι ≤ 16 και ≤ 8 $\mu\text{g/mL}$, τότε οι επιδημιολογικές τιμές αποκοπής υποδηλώνουν ευαισθησία για *S. sonnei* και *S. flexneri* άγριου τύπου και εάν το MIC είναι ≥ 32 και ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$, τότε επιβεβαιώνεται η ευαισθησία για μη άγριο -τύπου, αντίστοιχα. Πρόσφατα, αρκετές αναφορές έχουν προτείνει ότι η αντοχή στην *azithromycin* στο *Shigella* spp. απομονώσεις σχετίζεται με την παρουσία γονιδίων που διαμεσολαμβάνονται από το πλασμίδιο *mphA* ή *ermB* ή και από τα δύο γονίδια. Η αντίσταση στα μακρολίδια προκαλείται από τέσσερις κύριους μηχανισμούς: ενζυματική αδρανοποίηση από φωσφοτρανσφεράσες που κωδικοποιούνται από γονίδια *mph* ή εστεράσες που κωδικοποιούνται από προκαθοριστικούς παράγοντες. τροποποίηση της θέσης στόχου από μια μεθυλάση rRNA που κωδικοποιείται από γονίδια *erm*. ακριβείς μεταλλάξεις σε *rrlV* που κωδικοποιεί ριβοσωμική πρωτεΐνη L22, *rrlD* που κωδικοποιεί ριβοσωμική πρωτεΐνη L4 και *rrlH* (23S rRNA). και αντοχή στα φάρμακα που προκαλείται από αντλίες εκροής, όπως *OmpA*, *OmpW*, *mefA* και *msrA*. Όλοι οι μηχανισμοί αντοχής στα μακρολίδια μπορούν να μεσολαβήσουν στην αντίσταση στην αζιθρομυκίνη και την ερυθρομυκίνη. Το γονίδιο *mph(A)* αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά σε απομόνωση *E. coli* από την Ιαπωνία. Έκτοτε, αυτό το γονίδιο έχει αναγνωριστεί μεταξύ των *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Shigella* spp. και άλλων εντεροπαθογόνων. Διάδοση και απόκτηση μηχανισμών αντίστασης μακρολιδίων *mphA* σε *Shigella* spp. έχει αποδειχθεί ότι οφείλεται κυρίως στην εξάπλωση πλασμιδίων από *E. coli*. Όλα τα πλασμίδια που σχετίζονται με *mphA* που ανακαλύφθηκαν έχουν ταυτοποιηθεί σε απομονώσεις *E. coli*, υποδεικνύοντας το ρόλο τους ως αποθήκης από την οποία η αντιμικροβιακή αντοχή στο *Shigella* spp. μπορεί να εμφανιστεί. Αυτό το φαινόμενο έχει περιγραφεί προηγουμένως στο *E. coli* που δίνει *mphA* στον *S. sonnei*.

Επιπλέον, στελέχη *Shigella* με RSA έχουν βρεθεί κυρίως σε στελέχη που ανακτήθηκαν από άνδρες που έκαναν σεξ με άνδρες (MSM, 68,8% ή υψηλότερο) από την περιοχή του Μόντρεαλ. Σε αυτή τη μελέτη, η πλήρης ανάλυση αλληλουχίας έξι επιλεγμένων πλασμιδίων από διαφορετικούς ορότυπους *S. flexneri* και *S. sonnei* τόνισε τον ρόλο του IS26 στη διασπορά του RSA. Επίσης, σε μια μελέτη που διεξήχθη στην Ταϊβάν, μια σειρά από κλωνικά σχετιζόμενες με την αζιθρομυκίνη μη ευαίσθητη *Shigella* spp. απομονώσεις αναφέρθηκαν σε σχέση με το MSM. Διάφορα συστήματα μεταφοράς γονιδίων (κινητές αποκτήσεις γενετικών στοιχείων) εμπλέκονται στην απόκτηση γονιδίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά, όπως τρανσποζόνια, ιντεγκόνια και συζευκτικά πλασμίδια. Η κασέτα γονιδίου IS26–*mphA*–*mrx*–*mphR* (A)–IS6100 έχει χαρακτηριστεί σε ένα κλινικό στέλεχος *S. boydii*

που φέρει το πλασμίδιο p2246–CTXM. Αλληλουχίες εισαγωγής των IS6100 και IS26 έχουν βρεθεί στη γειτονιά του *mphA* σε ένα στέλεχος *S. sonnei* που ανακτήθηκε από τη Γαλλία. Πράγματι, εκτός από την κινητοποίηση πλασμιδίου, τη διάδοση και την απόκτηση RSA μεταξύ *Shigella spp.* και ορότυποι έχουν επίσης εμφανιστεί δυνητικά μέσω της κινητοποίησης IS26.

Τα πλασμίδια IncFI και IncFII έχουν αποδειχθεί ότι φέρουν το γονίδιο αντοχής στην αζιθρομυκίνη *erm.135*. Το πλασμίδιο IncFI που περιέχει μια αλληλουχία εισαγωγής ISCR3 περιβάλλει και τα δύο γονίδια *ermC* και *ermB* και φέρει ένα γονίδιο *blaCTX-M-24* κατάντη ενός στοιχείου *ISEcp1*. Το πλασμίδιο IncFII φέρει γονίδια *ermB* και *ermC* κατάντη μιας τρανσποτάσης IS6. Και τα δύο πλασμίδια μοιράζονται σημαντική ομολογία DNA με άλλα πλασμίδια με προηγουμένως αλληλουχία που βρέθηκαν σε απομονώσεις ορότυπου 3a *S. sonnei* και *S. flexneri* που σχετίζονται με την ανάπτυξη της νόσου στο MSM.

Πρόσφατα, ένα πλασμίδιο που φέρει γονίδια αντίστασης στην *azithromycin*, συγκεκριμένα το pKSR100 (συζευγμένο R-πλασμίδιο) στον ορότυπο 3a *S. flexneri* έχει περιγραφεί ότι εμπλέκεται στη διηπειρωτική εξάπλωση του RSA μεταξύ της γενεαλογίας επιδημιών που σχετίζεται με το MSM. Έχουν βρεθεί 142 pKSR100-πλασμίδια να σχετίζεται κυρίως με την γενεαλογία επιδημιών που σχετίζεται με MSM στην Αυστραλία και αλλού. Υπάρχει σημαντικός αριθμός μελετών για τον επιπολασμό της RSA μεταξύ των απομονώσεων *Shigella* σε όλο τον κόσμο, ιδιαίτερα σε MSM, και έχει καταδειχθεί παγκόσμια διάδοση ενός πολυανθεκτικού πλασμιδίου, συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με το MSM, το οποίο είναι παρόν σε διαφορετικές ηπείρους.

4.2.4.16) Σχηματισμός Βιοφίλμ – Διαμεσολαβούμενη Αντίσταση

Πρόσφατα, δόθηκε μεγάλη προσοχή στον σχηματισμό βιοφίλμ στα βακτήρια, επειδή τα μικροβιακά κύτταρα που αναπτύσσονται σε βιοφίλμ είναι λιγότερο ευαίσθητα σε αντιμικροβιακούς παράγοντες και πιο ανθεκτικά στο περιβαλλοντικό στρες όπως η αφυδάτωση και η οξείδωση. Μικροβιακές λοιμώξεις που προκαλούνται από *Shigella spp* που σχετίζεται με βιοφίλμ. αποτελούν παγκόσμιες προκλήσεις για την υγεία. Ο σχηματισμός βιοφίλμ ρυθμίζεται από μια πολυπαραγοντική διαδικασία, με κυτταρική προσκόλληση, έκκριση εξωπολυσακχαριτών και πολυάριθμους γονιδιακούς κανονισμούς που ελέγχουν την αποκόλληση βακτηρίων από το ώριμο βιοφίλμ και σχετίζεται κυρίως με την αίσθηση απαρτίας και την κοινωνική δικτύωση στον κόσμο των μικροβίων. Οι [Ellafi et al](#) διερεύνησαν τον σχηματισμό βιοφίλμ από στελέχη *Shigella* που αναπτύχθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις NaCl και έδειξαν ότι όλα τα προϊόντα απομόνωσης παρήγαγαν βιοφίλμ. Σύμφωνα με τη μελέτη τους, ο σχηματισμός βιοφίλμ είναι ένα προστατευτικό σύστημα κάτω από διαφορετικές συνθήκες περιβαλλοντικού στρες. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα χολικά άλατα αυξάνουν την ικανότητα των στελεχών *S. flexneri* να προσκολλώνται και να διεισδύουν στα επιθηλιακά κύτταρα. Πράγματι, εκτεταμένη έκθεση του *Shigella* στη χολή άλατα εμφανίστηκαν σε περιπτώσεις αυξημένου σχηματισμού βιοφίλμ, και ως εκ τούτου είναι ένας σημαντικός μηχανισμός αντίστασης για το *Shigella spp.* Παρόμοιοι φαινότυποι βιοφίλμ έχουν παρατηρηθεί για το *Campylobacter*, το *Listeria* και το *Vibrio*, αποδεικνύοντας ότι η επαγόμενη από χολικό άλας παραγωγή βιοφίλμ διατηρείται μεταξύ των μελών της οικογένειας *Enterobacteriaceae*. η εξάλειψη των χολικών αλάτων από το μέσο. Τα βακτήρια με τη μορφή βιοφίλμ μπορεί να είναι 100.000 φορές πιο ανθεκτικά σε αντιμικροβιακούς παράγοντες από τις πλαγκτονικές

μορφές βακτηρίων στο ίδιο είδος. Κατά τον σχηματισμό βιοφίλμ, η επίδραση των shf, mdoH, VpsT και Γονίδια τύπου LuxR και έκφραση πρωτεΐνης OrgH έχει επιβεβαιωθεί μεταξύ των εντερικών βακτηρίων, καθώς και της *Shigella*. Μια άλλη μελέτη περιέγραψε δυνατότητες σχηματισμού βιοφίλμ και παθολογικές συμπεριφορές διαφόρων μεταλλαγμένων στελεχών *S. flexneri* με έναν ατελή εσωτερικό πυρήνα LPS που περιέχει μόνο τμήματα Kdo.

Είναι ενδιαφέρον ότι το μεταλλαγμένο IrfA (ονομάζεται επίσης waaC), με ατελές εσωτερικό πυρήνα LPS λόγω ανεπάρκειας στη βιοσύνθεση Hep, δείχνει ισχυρή ικανότητα σχηματισμού βιοφίλμ και σημαντικά υψηλή διεισδυτικότητα και προσκόλληση στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα σε σύγκριση με στελέχη μεταλλαγμένων LPS. Ωστόσο, αυτή η στρατηγική είναι επιτυχής στην παροχή υψηλού επιπέδου αντοχής μόνο σε βακτηριακά είδη με ανεπάρκεια στη σύνθεση Hep του LPS. Η σχέση μεταξύ του σχηματισμού βιοφίλμ και της παθογένειας, καθώς και των παραγόντων λοιμογόνου δράσης και των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων, δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά στο *Shigella. spp.*, και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες.

Σε αυτή την ανασκόπηση, έχουν συνοψιστεί οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και οι θεραπευτικές στρατηγικές σχετικά με τη μόλυνση από *Shigella*. Αντιμικροβιακή αντοχή σε *Shigella spp.* είναι πολυπαραγοντικό στο ότι μπορεί να συμβεί μέσω έμφυτων, επίκτητων ή προσαρμοστικών μηχανισμών και οι λοιμώξεις που προκύπτουν από αυτό είναι εξαιρετικά δύσκολο να αντιμετωπιστούν. Αντίσταση στα φάρμακα μεταξύ *Shigella spp.* εμφανίζεται ως αποτέλεσμα εκλεκτικής πίεσης και οριζόντιας μετάδοσης γονιδίου αντίστασης. Αντίστοιχα, υπάρχει επείγουσα ανάγκη για ολοκληρωμένη εκμάθηση και κατανόηση των μηχανισμών αντοχής στα φάρμακα μεταξύ των απομονώσεων *Shigella*, προκειμένου να αναπτυχθούν φάρμακα κατά της σιγκέλλωσης. Η πολυσχιδής φύση των μηχανισμών ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά συμβάλλει στην αύξηση του αριθμού των στελεχών MDR και κάνει τα συμβατικά αντιβιοτικά θεραπευτικά να είναι εξαιρετικά αναποτελεσματικά κατά της σιγκέλλωσης. Παρά τις εντατικές ερευνητικές προσπάθειες τις τελευταίες δεκαετίες που σχετίζονται με τον προσδιορισμό της μικροβιακής αντοχής, οι ερευνητές δεν μπόρεσαν να βρουν την καλύτερη λύση για τον έλεγχο των απομονώσεων MDR. Επίσης, η άμεση συμβολή στην αντίσταση στα αντιβιοτικά από πολλούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά παραμένει άγνωστη, δείχνοντας την ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση ενός ευρύτερου φάσματος σχετικών μηχανισμών που συμβάλλουν στην ανάπτυξη στελεχών MDR. Τα περισσότερα υποψήφια εμβόλια προκαλούν βελτίωση της ανοσίας του ξενιστή μαζί με την πρόληψη της μόλυνσης, αλλά ορισμένα έχουν χαμηλή αποτελεσματικότητα και πρόκληση ξενιστή, τα οποία πρέπει να ξεπεραστούν πλήρως πριν χρησιμοποιηθούν κατά της μόλυνσης από *Shigella*. Απαιτείται περισσότερη κατανόηση της σχέσης ξενιστή-μικροβίου για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών για την καταπολέμηση της σιγκέλλωσης. Απαιτείται επίσης ανάπτυξη καινοτόμων θεραπευτικών και εναλλακτικών στρατηγικών για την πρόληψη και τη θεραπεία των λοιμώξεων από *Shigella* (Reza Ranjbar, R., et al., 2019).

4.2.5) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *Staphylococcus aureus*

Ο *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) είναι ένα από τα πιο κοινά ανθρώπινα παθογόνα που προκαλούν διαφορετικά επακόλουθα λοιμώξεων και στα δύο φύλα και σε όλες

τις ηλικιακές ομάδες. Η εμφάνιση και η εξάπλωση ανθεκτικών στα αντιμικροβιακά απομονωμένα στελέχη του *S. aureus*, ιδιαίτερα του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *S. aureus* (MRSA), αποτελεί παγκόσμια πρόκληση για τη θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από αυτά τα βακτήρια. Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από ανθεκτικά βακτήρια παρατείνουν τη διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο, αυξάνουν το κόστος των υπηρεσιών υγειονομικής περίθαλψης και το πιο σημαντικό, οδηγούν σε σημαντική αύξηση τόσο της νοσηρότητας όσο και της θνησιμότητας.

Το *S. aureus* αναπτύσσει αντοχή στα αντιμικροβιακά με διαφορετικούς μηχανισμούς. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τον περιορισμό της πρόσληψης του φαρμάκου, την τροποποίηση του στόχου του φαρμάκου, την ενζυματική αδρανοποίηση του φαρμάκου και την ενεργό εκροή του φαρμάκου. Ανάλογα με το αντιμικροβιακό που εμπλέκεται, τα βακτήρια μπορούν να χρησιμοποιήσουν έναν ή περισσότερους από αυτούς τους μηχανισμούς αντίστασης. Συγκεκριμένα, ο εντοπισμός γονιδίων αντίστασης σε μεταφερόμενα γενετικά στοιχεία όπως τα πλασμίδια και τα τρανσποζόνια διευκολύνει την οριζόντια μεταφορά της αντίστασης μεταξύ των βακτηρίων.

Ο γρήγορος και ακριβής προσδιορισμός του φαινοτύπου της μικροβιακής αντοχής και των μηχανισμών αντοχής έχει μεγάλη σημασία, όχι μόνο για τις θεραπευτικές επιλογές αλλά και για τους κινδύνους για τη δημόσια υγεία. Στην παρούσα μελέτη, η ευαισθησία 97 στελεχών *S. aureus* από διάφορα κλινικά δείγματα στο *Hatay* της Τουρκίας δοκιμάστηκαν με τη μέθοδο της διάχυσης του δίσκου και διερευνήθηκαν οι υποκείμενοι μοριακοί μηχανισμοί.

4.2.5.1) Απομονώσεις βακτηρίων

Συνολικά 97 απομονωμένα στελέχη *S. aureus* ελήφθησαν από διάφορα κλινικά δείγματα όπως επιχρίσματα τραυμάτων (63, 64,90%), ούρα (17, 17,50%), καλλιέργειες αίματος (3, 3,10%), πτύελα (4, 4,12%) και άλλα. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δείγματα (1, 1,03%) μεταξύ Ιανουαρίου και Ιουλίου 2011 στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Δημόσιου Νοσοκομείου της Αττάκειας (Χατάι). Η αντιμικροβιακή ευαισθησία και η μοριακή ανάλυση των απομονώσεων πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Μικροβιολογίας, Κτηνιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Mustafa Kemal. Η απομόνωση και η ταυτοποίηση των απομονώσεων περιελάμβανε τυπικές βιοχημικές δοκιμές όπως μορφολογία αποικιών, χρώση κατά Gram, αντίδραση καταλάσης και δοκιμή κοαγκουλάσης σε σωλήνα. Όλα τα απομονωμένα στελέχη επιβεβαιώθηκαν με τη χρήση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης ειδική για το είδος.

4.2.5.2) Δοκιμή αντιμικροβιακής ευαισθησίας

Η αντιμικροβιακή ευαισθησία των απομονώσεων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της διάχυσης με δίσκο σύμφωνα με τις οδηγίες του Ινστιτούτου Κλινικών Εργαστηρίων Προτύπων (CLSI). Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι αντιμικροβιακοί δίσκοι: *vancomycin* (VA, 30 μ g), *penicillin* (P, 10 U), *ampicillin* (AM, 10 μ g), *erythromycin* (E, 15 μ g), *tetracycline* (TE, 30 μ g), *amoxicillin-clavulanic acid* (AMC, 20 μ g / 10 μ g), *ciprofloxacin* (CIP, 5 μ g), *trimethoprim-sulfamethoxazole* (SXT, 1.25 μ g / 23.75 μ g), *oxacillin* (OXA, 1 μ g), *fusidic acid* (FA, 10 μ g), *rifampin* (RA, 5 μ g), *clindamycin* (DA, 2 μ g), *gentamicin* (CN, 10 μ g) and *mupirocin* (MUP, 5 μ g). Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν τυποποιημένα σημεία διακοπής CLSI για τη μουπιροκίνη και το φουσιδικό οξύ, τα αποτελέσματα αυτών των αντιβιοτικών ερμηνεύτηκαν όπως περιγράφηκε

προηγούμενως. Το *S. aureus* ATCC 29213 χρησιμοποιήθηκε επίσης ως ποιοτικός έλεγχος. Τα στελέχη που είναι ανθεκτικά σε τουλάχιστον τρεις διαφορετικές αντιμικροβιακές κατηγορίες έγιναν αποδεκτά ως ανθεκτικά σε πολλά φάρμακα.

4.2.5.3) Δοκιμή διάχυσης δίσκου *Oxacillin*

Η δοκιμή ευαισθησίας στην οξακιλλίνη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις συστάσεις του CLSI χρησιμοποιώντας δίσκο *oxacillin* 1 μg. Ως στελέχη ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν *S. aureus* ATCC 25923 (ευαίσθητα) και *S. aureus* ATCC 43300 (ανθεκτικά).

4.2.5.4) Προσδιορισμός γονιδίων μικροβιακής αντοχής και μεταλλάξεων

Δείγματα βακτηριακού DNA παρασκευάστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγούμενως. Γονίδια αντιμικροβιακής αντοχής για *macrolides* (*ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *mphC*), *lincosamide* (*lnuA*), *aminoglycoside* (*aac* (6') - *aph* (2''), *aph* (3'') - *IIIa*, *ant* (4) - *Ia*), *tetracycline* (*tetK*, *tetM*), *mupirocin* (*ileS-2*) and *fusidic acid* (*fusB*, *fusC*) ερευνήθηκαν όπως αναφέρθηκε προηγούμενως.

Προκειμένου να προσδιοριστούν οι μεταλλάξεις, τα γονίδια *grlA* (469 bp), *gyrA* (398 bp) και *groB* (1052 bp) ενισχύθηκαν και οι αλληλουχίες νουκλεοτιδίων των ενισχυμένων προϊόντων προσδιορίστηκαν στη συνέχεια εμπορικά (Macrogen, Ολλανδία). Οι μεταλλάξεις προσδιορίστηκαν με σύγκριση με τις δημοσιευμένες αλληλουχίες (για το γονίδιο *grlA* του *S. aureus* D67074 και D67075, για το γονίδιο *gyrA* του *S. aureus* D10489, για το γονίδιο *groB* του *S. aureus* CAA45512).

4.2.5.5) Δακτυλογράφηση SCCmec

Οι τύποι SCCmec των *mecA* θετικών απομονώσεων προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο και τους εκκινητές που περιγράφονται από τους [Kondo et al.](#) Η εκχώρηση τύπου SCCmec των απομονώσεων διεξήχθη σύμφωνα με σύμπλοκα γονιδίων *ccr* και *mec*.

4.2.5.6) Δοκιμή αντιμικροβιακής ευαισθησίας

Από 97 απομονώσεις *S. aureus*, 9 (9,3%) ήταν ευαίσθητα σε όλα τα αντιμικροβιακά που δοκιμάστηκαν. Κανένα από τα στελέχη δεν ήταν ανθεκτικό στη βανκομυκίνη. Παρατηρήθηκαν διάφορα ποσοστά αντοχής στην *penicillin* (83.5%), *ampicillin* (77.3%), *erythromycin* (63.9%), *amoxicillin / clavulanic acid* (16.5%), *tetracycline* (16.5%), *ciprofloxacin* (15.5%) και *trimethoprim / sulfamethoxazole* 15.5%) και ακολουθούν η *oxacillin* (13.4%), *fusidic acid* (12.4%), *rifampin* (6.2%), *clindamycin* (6.2%), *gentamicin* (6.2%) και *mupirocin* (5, 2%). Πολυανθεκτικά ανιχνεύθηκαν σε 28 (28,7%) απομονώσεις και πολυανθεκτικά σε 8, 7, 6, 5, 4 και 3 αντιμικροβιακά ανιχνεύθηκαν σε 3 (10,7%), 1 (3,6%), 3 (10,7%), 6 (21,4%), 7 (25,0%) και 8 (28,6%) απομονώσεις, αντίστοιχα. Οι φαινότυποι αντοχής που προσδιορίζονται μεταξύ των απομονώσεων *S. aureus* δίνονται στον Πίνακα 4.2.5.6.1.

Πίνακα 4.2.5.6.1: Προσδιορίστηκαν φαινότυποι αντοχής μεταξύ των απομονώσεων *S. aureus* (Yilmaz, E. Ş., & Aslantaş, Ö., 2017).

Φαινότυπος	Αριθμός απομονώσεων
OXA, P, AMP, AMC, MUP, CIP, FA, SXT, TE, CN, E	1
OXA, P, AMP, AMC, RA, CIP, FA, SXT, DA, TE, E	1
OXA, P, AMP, AMC, MUP, FA, SXT, DA, CN, E	1
OXA, P, AMP, AMC, CIP, SXT, TE, CN, E	1
OXA, P, AMP, AMC, RA, CIP, FA, SXT, E	1
P, AMP, AMC, RA, CIP, DA, TE, E	1
P, AMP, AMC, MUP, CIP, DA, TE	1
P, MUP, CIP, SXT, DA, TE, CN, E	1
P, AMP, AMC, RA, CIP, TE, E	1
P, AMP, AMC, CIP, DA, TE, E	1
OXA, P, AMP, FA, TE, E	1
OXA, P, AMC, FA, SXT, E	1
P, AMP, AMC, CIP, TE, E	1
P, AMP, AMC, CIP, TE, E	1
P, AMP, MUP, FA, SXT, E	1
OXA, P, AMP, SXT, CN, E	1
P, AMP, AMC, CIP, E	2
FA, SXT, TE, CN, E	1
P, AMP, CIP, TE, E	1
OXA, P, RA, SXT, E	1
OXA, P, AMP, E	1
P, AMP, AMC, E	1
P, AMP, AMC, E	1
P, AMP, E, TE	2
P, AMP, FA, E	2
P, AMP, FA	1
P, AMP, CIP	1
P, AMP, TE	1
OXA, P, E	1
P, SXT, E	1
P, AMP, E	28
P, AMP	20
FA, TE	1
SXT, E	2

Φαινότυπος	Αριθμός απομονώσεων
E	3
Pan-susceptible	9

4.2.5.7) Κατανομή γονιδίων αντίστασης

Μεταξύ των ανθεκτικών στην *erythromycin* απομονώσεων ($n = 62$), τα *ermC*, *msrA*, *mphC*, *ermA* και *ermB* ανιχνεύθηκαν σε 57 (91,9%), 20 (32,3%), 17 (27,4%), 12 (19,4%) και 4 (6,5). % απομονώσεων, αντίστοιχα. Από τα ανθεκτικά στην τετρακυκλίνη απομονώσεις ($n = 16$), 9 (56,3%) περιείχαν *tetM* και 7 είχαν *tetK* (43,7%). Από 6 ανθεκτικά στη *gentamicin* απομονώσεις, 3 (50,0%) έφεραν και *aac(6')/aph(2'')* και *aph(3')-IIIa*, 2 (33,3%) *aac(6')/aph(2')* και 1 (16,7%) *aph(3')-IIIa*. Το γονίδιο *blaZ* και *mecA* ανιχνεύθηκαν στο 91,4% (74/81) και στο 84,6% (11/13) των απομονώσεων *S. aureus*, αντίστοιχα. Το γονίδιο *lnuA* υπήρχε σε πέντε (83,6%) από έξι από τα στελέχη. Από 12 ανθεκτικά στο φουσιδικό οξύ απομονώσεις *S. aureus*, 6 περιείχαν *fusB*, 2 είχαν *fusC* και 2 είχαν και *fusB* και *fusC* γονίδια. Το γονίδιο *ileS-2*, το οποίο σχετίζεται με την αντίσταση στη *murpirocin*, ανιχνεύθηκε σε ένα από τα πέντε ανθεκτικά στη *murpirocin* απομονώσεις.

4.2.5.8) Μεταλλάξεις γονιδίων *Quinolone* και *Rifampicin*

Μεταξύ 15 ανθεκτικών στη *ciprofloxacin* απομονώσεων *S. aureus*, παρατηρήθηκαν 6 διαφορετικοί συνδυασμοί μεταλλάξεων στα γονίδια *griA* και *gyrA*. Μόνο ένα στέλεχος είχε μοναδική μετάλλαξη του *gyrA* (*Ser84Leu*). Ο πιο συνηθισμένος συνδυασμός ήταν η μετάλλαξη *griA* του *Ser80Phe* και η μετάλλαξη *gyrA* του *Ser84Leu*, η οποία ανιχνεύθηκε σε 7 απομονώσεις. Η μετάλλαξη *griA* του *Ser80Phe* και οι μεταλλάξεις *gyrA* των *Ser84Leu* και *Gly106Asp* παρατηρήθηκαν σε 3 απομονώσεις. Δύο στελέχη είχαν *Ser80Phe* σε *griA* και *Ser84Leu - Gly106Asp* στο γονίδιο *gyrA*. Ένα στέλεχος είχε μεταλλάξεις στο *griA* (*Ser80Phe-Glu84Asp*) και στο *gyrA* (*Ser84Leu*) και ανιχνεύτηκε μετάλλαξη *griA* του *Ser80Phe* σε συνδυασμό με μετάλλαξη *gyrA* του *Glu88Lys-Gly106Asp* σε ένα προϊόν απομόνωσης. Η σημειακή μετάλλαξη *Leu466Ser* στο γονίδιο *groB* ήταν η μόνη υποκατάσταση που ανιχνεύθηκε μεταξύ των απομονώσεων *rifampicin*.

Η μικροβιακή αντοχή έχει γίνει ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας στην Τουρκία καθώς έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο, περιορίζοντας τη χρήση αντιμικροβιακών φαρμάκων στη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών. Σε αυτή τη μελέτη, η αντιμικροβιακή αντοχή μεταξύ των απομονώσεων *S. aureus* από διάφορα κλινικά υλικά διερευνήθηκε τόσο με φαινοτυπικές όσο και με γονοτυπικές δοκιμές.

Στη μελέτη μας, τα απομονωμένα στελέχη του *S. aureus* παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά αντοχής στην *penicillin* (83,5%) και στην *ampicillin* (77,3%). Αυτό το αποτέλεσμα δεν προκαλεί έκπληξη επειδή οι β -*lactams* είναι ευρέως συνταγογραφούμενοι παράγοντες για τη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών στην Τουρκία. Προηγούμενες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στην Τουρκία αποκάλυψαν υψηλότερα ποσοστά επικράτησης αντοχής στη β -*lactams*. Σε μια μελέτη που διεξήχθη στο Hatay, ο επιπολασμός της αντίστασης στην *penicillin* μεταξύ των στελεχών του *S. aureus* αναφέρθηκε σε 92,8%. Οι [Rağbetli et al](#) αξιολόγησαν τη μικροβιακή αντοχή σε απομονώσεις *S. aureus* σύμφωνα με τα έτη 2009 έως 2014 και

προσδιόρισε την αντοχή στην *penicillin G* ως 100% κατά τη διάρκεια αυτών των ετών. Το ποσοστό αντίστασης στην *erythromycin* (63,9%) ήταν συνεπές με τα ευρήματα ενός ποσοστού αντίστασης 60,4% στο Hatay, αλλά δεν συνάδει με προηγούμενες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν από τους Çalik et al. Οι Kars and Rağbetli et al., Çalik et al ανέφεραν ποσοστά αντοχής 38,7% στο ευαίσθητο στη *methicillin S. aureus* (MSSA) και 84,3% στο MRSA. Οι Rağbetli et al. ανέφεραν χαμηλότερο ποσοστό επιπολασμού (17,7%) μεταξύ των απομονώσεων *S. aureus*. Το ποσοστό αντοχής στην *tetracycline* (16,5%) ήταν χαμηλότερο από αυτό από τα ευρήματα (41,0%) των Duran et al. αλλά υψηλότερο από αυτό από τα ευρήματα (11,0%) των Rağbetli et al. Η *amoxicillin / clavulanic acid* και *ciprofloxacin* είναι σημαντικά αντιμικροβιακά για την ανθρώπινη ιατρική. Duran et al. διαπίστωσαν ότι το 23,0% των στελεχών του *S. aureus* παρουσίασαν αντοχή στην *amoxicillin / clavulanic acid* και την τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη, το 41,0% στη *ciprofloxacin* και το 22,3% στην *trimethoprim-sulfamethoxazole* Çalik et al. ανέφεραν ποσοστό αντίστασης 35,5% στο MSSA και 71,9% στο MRSA στη σιπροφλοξασίνη και ποσοστό αντοχής 32,2% στο MSSA και 65,6% στο MRSA στην *trimethoprim-sulfamethoxazole*. Σε αντίθεση με αυτές τις μελέτες, αναφέρθηκαν χαμηλά επίπεδα αντοχής για την *trimethoprim-sulfamethoxazole* (6,1%) και τη νορφλοξασίνη (10,3%). Στη μελέτη μας, τα ποσοστά αντίστασης για *amoxicillin / clavulanic acid*, *ciprofloxacin* και *trimethoprim-sulfamethoxazole* προσδιορίστηκαν ως 16,5%, 15,5% και 15,5%, αντίστοιχα. Το ποσοστό αντοχής στη *gentamicin* (6,2%) ήταν παρόμοιο με τα ευρήματα (6,4%) των Çalik et al, αλλά χαμηλότερο από αυτό από τα ευρήματα (38,1% και 13,0%) των Duran et al. και Rağbetli et al.

Η *clindamycin* είναι ένα εναλλακτικό φάρμακο για τη θεραπεία λοιμώξεων του δέρματος και των μαλακών μορίων που προκαλούνται τόσο από MSSA όσο και από MRSA. Επίσης, αυτό το αντιβιοτικό είναι ένα εναλλακτικό φάρμακο που χρησιμοποιείται σε αλλεργικούς στην πενικιλίνη ασθενείς. Από την άλλη πλευρά, η αντοχή σε αυτό το αντιβιοτικό μειώνει την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Σε αυτή τη μελέτη, το ποσοστό αντοχής στην *clindamycin* προσδιορίστηκε ως 6,2%. Σε άλλες μελέτες, το ποσοστό αντοχής αναφέρθηκε ως 11,1% στο Van, 38,1% στο Hatay και 25,8% στο MSSA και 62,5% στο MRSA στο Καρς.

Το *fusidic acid* και *mupirocin* είναι τοπικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία σταφυλοκοκκικών δερματικών λοιμώξεων. Η αυξημένη χρήση αυτών των αντιβιοτικών έχει οδηγήσει στην εμφάνιση και τη διάδοση ανθεκτικών σταφυλόκοκκων. Σε αυτή τη μελέτη, τα ποσοστά αντοχής του *fusidic acid* and *mupirocin* βρέθηκαν να είναι 12,4% και 5,2%, αντίστοιχα. Οι Devenci et al διερεύνησαν την αντοχή στο *fusidic acid* φαινοτυπικά σε 37 στελέχη *S. aureus* από διάφορα κλινικά υλικά και τέτοια αντοχή ανιχνεύθηκε στο 13,5% των απομονώσεων Nergiz et al. Συνέκρινε τα ποσοστά αντοχής στο *fusidic acid* σε στελέχη MSSA και MRSA που απομονώθηκαν σε μεσοδιάστημα δέκα ετών, μεταξύ 2001 και 2011. Τα ποσοστά αντοχής στο *fusidic acid* για τα στελέχη MSSA τα έτη 2001 και 2011 βρέθηκαν να είναι 4,2% και 5,7%, αντίστοιχα. Ωστόσο, τα ποσοστά για τα στελέχη MRSA βρέθηκαν να είναι 18,9% και 22,2%, αντίστοιχα. Οι Yiğit et al ανέφεραν ποσοστό αντίστασης της *mupirocin* 14,2% στα στελέχη MRSA και 4,7% στα απομονωμένα στελέχη MRSA και ποσοστό αντίστασης του *fusidic acid* 14,2% στο MRSA και 14,3% στο MSSA. Οι Oğuzkaya-Artan et al προσδιόρισε την αντοχή στο *fusidic acid* σε 2 (5,6%) από τα 36 στελέχη *S. aureus* που απομονώθηκαν από τις ρινικές κοιλότητες υγιών παιδιών προσχολικής ηλικίας, αλλά όχι αντίσταση στη *mupirocin*. Σε αντίθεση με αυτές τις μελέτες, οι Sareyyupoğlu et al. ανέφεραν

υψηλότερο επιπολασμό αντοχής στη *murpirocin* (47%) μεταξύ κλινικών απομονώσεων *S. aureus*.

Η *rifampicin* έχει βρεθεί στο επίκεντρο της προσοχής λόγω της εξάπλωσης των λοιμώξεων από MRSA. Ωστόσο, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μεμονωμένος παράγοντας για τη θεραπεία τέτοιων λοιμώξεων λόγω της εμφάνισης ταχείας αντίστασης, ακόμη και κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Η χρήση της *rifampicin* σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες στη θεραπεία φαίνεται χρήσιμη, εφόσον τα βακτήρια είναι ευαίσθητα στα συνδυασμένα αντιβιοτικά. Σε προηγούμενες μελέτες, το ποσοστό αντοχής στη *rifampicin* αναφέρθηκε ως 14,0% στο Van, 6,5% στο MSSA και 80,8% στο MRSA στο Gaziantep και 5,0% στο MSSA και 80,0% στο MRSA στη Μαλάτια. Ομοίως, χαμηλή αντίσταση (6,2%) βρέθηκε έναντι αυτού του παράγοντα στην παρούσα μελέτη.

Στην τρέχουσα μελέτη, όλα τα ανθεκτικά στην πενικιλίνη απομονώσεις έφεραν το γονίδιο *blaZ*. Ομοίως, οι Duran et al ανέφεραν επίσης ότι όλα τα ανθεκτικά στην πενικιλίνη απομονώσεις *S. aureus* ήταν θετικά για *blaZ*. Ένας άλλος ανθεκτικός μηχανισμός είναι η αντίσταση στη *methicillin*, η οποία έχει αποκτήσει αυξανόμενη σημασία στην ανθρώπινη ιατρική σε όλο τον κόσμο τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Το MRSA έδειξε ανθεκτικότητα όχι μόνο στις β-λακτάμες αλλά και σε άλλες κατηγορίες αντιμικροβιακών. Στην τρέχουσα μελέτη, 11 από τα 13 στελέχη ανθεκτικά στην οξακιλλίνη ήταν θετικά για το γονίδιο *mecA* (84,6%). Σε μια προηγούμενη μελέτη, οι Duran et al ανίχνευσε το 16,5% των απομονώσεων με τη μέθοδο της διάχυσης δίσκου, ενώ το 25,9% των απομονώσεων είχαν *mecA* με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης.

4.2.5.9) Μηχανισμός αντίστασης στη *Macrolide*

Ο κύριος μηχανισμός αντίστασης στη *macrolide* στους σταφυλόκοκκους περιλαμβάνει τροποποίηση της θέσης στόχου μετά από μεθυλίωση ριβοσώματος μέσω του ενζύμου μεθυλάσης που κωδικοποιείται από το γονίδιο *erm* (μεθυλάση ριβοσώματος *erythromycin*). Στην παρούσα μελέτη, το γονίδιο *ermC* ήταν το πιο συχνό γονίδιο που ανιχνεύθηκε στο 91,9% (n = 57) των ανθεκτικών στην *erythromycin* απομονώσεων και βρέθηκε μόνο σε 35 απομονώσεις, σε 20 απομονώσεις με *ermA* και σε 2 απομονώσεις με το γονίδιο *ermB*. Σε αντίθεση με τη μελέτη μας, το *ermA* αναφέρθηκε ως ο πιο κοινός γονότυπος μεταξύ των ανθεκτικών στην *erythromycin* απομονώσεων MSSA και MRSA στην Τουρκία. Οι Duran et al μελέτησε 84 φαινοτυπικά ανθεκτικά στην *erythromycin* στελέχη *S. aureus* και διαπίστωσε ότι ο πιο συχνός γονότυπος ήταν η παρουσία του *ermA* (52,4%), ακολουθούμενος από το *ermC* (28,6%) και το *ermB* (9,5%). Οι Yildiz et al ερεύνησε την παρουσία γονιδίων *ermA*, *ermB* και *ermC* μεταξύ 225 απομονώσεων MRSA ανθεκτικών στην *erythromycin* και διαπίστωσε ότι 48 (21,3%) έφεραν *ermA*, 20 (8,9%) έφεραν *ermC* και 128 (56,9%) έφεραν τόσο *ermA* όσο και *ermC*. Ομοίως, οι Aydeniz Ozansoy et al ανέφεραν τον υψηλό επιπολασμό του γονιδίου *ermA* μόνο ή σε συνδυασμό με *ermC* σε κλινικά στελέχη *S. aureus*.

4.2.5.10) Μηχανισμός αντίστασης στη *Gentamicin*

Το πιο κοινό γονίδιο αντίστασης στη *gentamicin* ήταν το *aac(6')/aph(2'')* (83,3%), το οποίο ανιχνεύθηκε σε 2 (33,3%) απομονώσεις μόνο και σε 3 (50,0%) απομονώσεις με

aph(3')- IIIa. Σε προηγούμενες μελέτες, το γονίδιο aac-aph αναφέρθηκε επίσης ως το πιο κοινό γονίδιο που ανιχνεύθηκε μεταξύ των ανθεκτικών στη *gentamicin* απομονώσεων. Η παρουσία αυτού του γονιδίου μεταξύ των ανθεκτικών στη *gentamicin* απομονώσεων MRSA αναφέρθηκε ως 96,0% από τους Yildiz et al και 94,1% από τους Ardic et al. Σε μια άλλη μελέτη, οι Duran et al ανέφεραν την παρουσία των γονιδίων aac(6')-aph(2''),aph(3')-IIIa και ant(4)-Ia ως 47,2%, 32,1% και 20,8% μεταξύ των ανθεκτικών στη γενταμικίνη *S. aureus* απομονώσεις, αντίστοιχα.

4.2.5.11) Μηχανισμός αντίστασης στη *Tetracycline*

Η αντίσταση στην *tetracycline* προκαλείται κυρίως από τέσσερις διαφορετικούς μηχανισμούς μεταξύ των σταφυλόκοκκων: αντλία ενεργού εκροής, προστασία της θέσης δέσμευσης, τροποποίηση του φαρμάκου και τροποποίηση της θέσης δέσμευσης. Σε αυτή τη μελέτη, το tetM που είναι υπεύθυνο για την ριβοσωμική προστασία και το tetK υπεύθυνο για την αντλία εκροής ανιχνεύθηκαν στο 56,3% και στο 43,7% των ανθεκτικών στην τετρακυκλίνη απομονώσεων, αντίστοιχα. Ομοίως, οι Duran et al ανέφεραν τον επιπολασμό των tetM και tetK ως 63,2% και 36,8%, αντίστοιχα. Σε μια άλλη μελέτη που διεξήχθη από τους Yildiz et al, ένα υψηλότερο ποσοστό επιπολασμού του γονιδίου tetM αναφέρθηκε ως 89,7% μεταξύ 350 απομονώσεων MRSA ανθεκτικών στην *tetracycline*. Η ευρεία διάδοση του γονιδίου tetM εξηγείται από τον εντοπισμό αυτού του γονιδίου στο συζευκτικό τρανσποζόνιο Tn5801.

4.2.5.12) Μηχανισμός αντίστασης στη *Quinolone*

Στους σταφυλόκοκκους, τα μεταβλητά επίπεδα αντοχής στην *quinolone* αποδίδονται συχνότερα σε μεταλλάξεις στα QRDRs των *grlA* και *gyrA* που προκαλούνται από αλλαγές ενός νουκλεοτιδίου. Σε αυτή τη μελέτη, παρατηρήσαμε τρεις τύπους μεταλλάξεων ενός σημείου στα γονίδια *grlA* 15 ανθεκτικών στη *ciprofloxacin* απομονώσεων *S. aureus* (100%). Μεταξύ αυτών των μεταλλάξεων, η μετάλλαξη Ser80Phe ήταν η πιο κοινή, που ανιχνεύθηκε σε 14 απομονώσεις. Επιπλέον, ανιχνεύθηκε μετάλλαξη Glu84Asp σε 1 απομόνωση μαζί με μετάλλαξη Ser80Phe. Αναφέρθηκε ότι η μετάλλαξη Ser84Leu στο γονίδιο *gyrA* ήταν επαρκής για υψηλά επίπεδα αντίστασης στην *quinolone*. Αυτή η μετάλλαξη βρέθηκε σε όλα σχεδόν τα ανθεκτικά στη *ciprofloxacin* απομονώσεις *S. aureus* που δοκιμάστηκαν, εκτός από 1 απομόνωση. Η μετάλλαξη ενός σημείου του Ser84Leu βρέθηκε σε 9 απομονώσεις, η μετάλλαξη διπλού σημείου των Ser84Leu και Gly106Asp παρατηρήθηκε σε 5 απομονώσεις και η μετάλλαξη διπλού σημείου των Glu88Lys και Gly106Asp ανιχνεύθηκε σε 1 απομόνωση. Αν και σε διαφορετικούς ρυθμούς, όλες οι μεταλλάξεις που ανιχνεύθηκαν τόσο στο γονίδιο *grlA* όσο και στο γονίδιο *gyrA* ήταν παρόμοιες με εκείνες που αναφέρθηκαν προηγουμένως από τους Coskun-Ari και Bosgelmez-Tinaz.

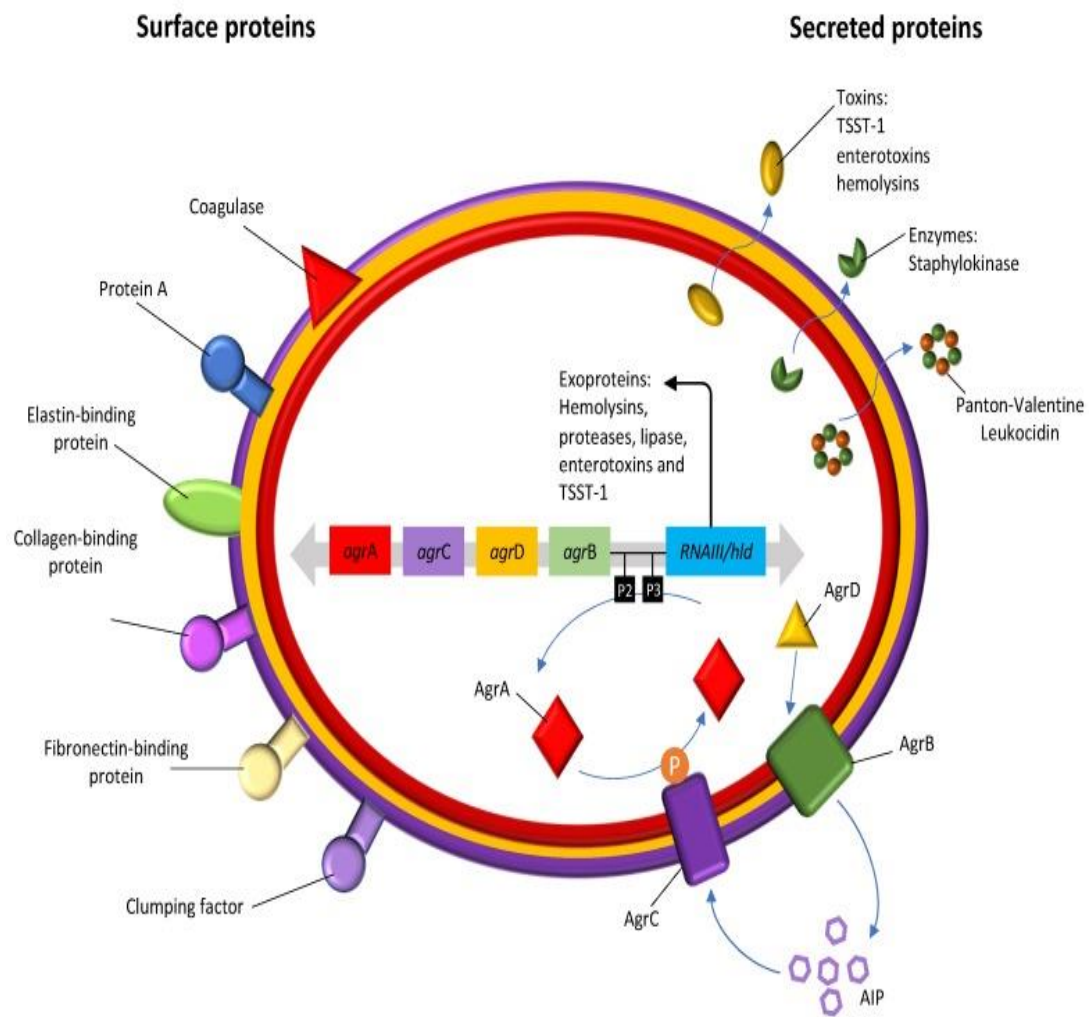
Στην παρούσα μελέτη, η ανάλυση της αλληλουχίας *groB* απομονώσεων ανθεκτικών στη *rifampicin* αποκάλυψε μόνο υποκατάσταση αμινοξέων Leu466Ser. Έχει αναφερθεί ότι το Leu466Ser οδήγησε σε χαμηλή αντίσταση στη *rifampicin* μόνο, αλλά υψηλή αντοχή στη *rifampicin* με άλλες σημειακές μεταλλάξεις, ειδικά αμινοξέα στις θέσεις 455, 481 και 529. Από 12 ανθεκτικά στο *fusidic acid* απομονώσεις, 10 έφεραν γονίδια ανθεκτικότητας, εκ των οποίων 6 είχαν μόνο *fusB*, 2 είχαν και *fusB* και *fusC* και 2 απομονώσεις είχαν *fusC*. Οι Castanheira et al μελέτησε μεγάλους αριθμούς σταφυλόκοκκων από τη Βόρεια Αμερική και την Αυστραλία για αντοχή στο

fusidic acid. Μεταξύ 25 ανθεκτικών στο *fusidic acid* απομονώσεων (MIC \geq 2 μ g/mL), 4 έφεραν γονίδιο *fusB* και 15 έφεραν το γονίδιο *fusC* ενώ 6 ήταν αρνητικά και για τα δύο γονίδια.

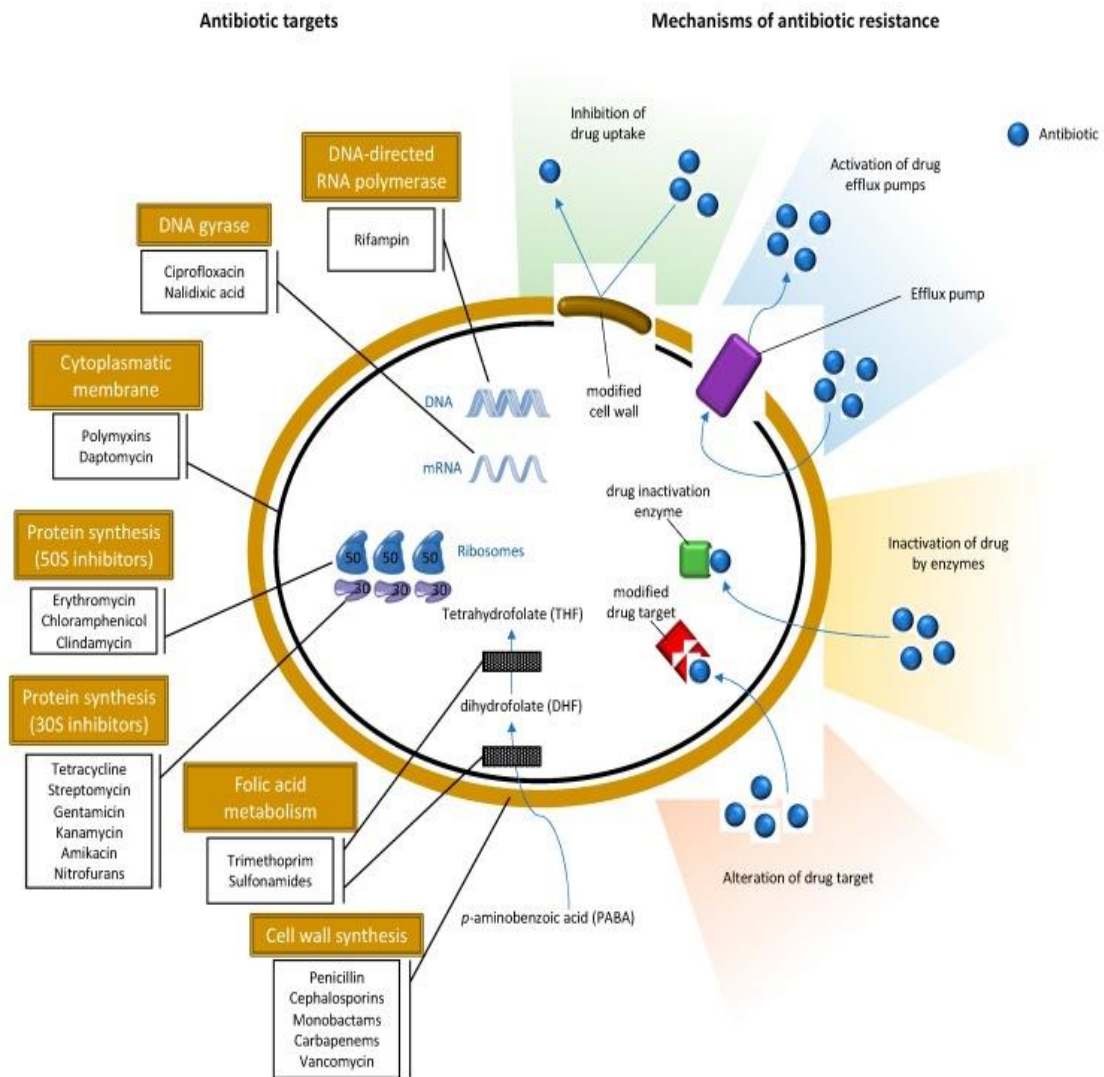
Το *ileS-2* που σχετίζεται με υψηλό επίπεδο αντοχής στη *mupirocin* στους σταφυλόκοκκους βρέθηκε μόνο σε 1 απομόνωση. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η ευαισθησία των απομονώσεων στη *mupirocin* προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της διάχυσης με δίσκο. Το CLSI συνέστησε τη χρήση ενός δίσκου *mupirocin* (200 μ g) για τον έλεγχο υψηλών επιπέδων αντοχής στη *mupirocin*.

Το SCCmec είναι μία από τις μοριακές τεχνικές που χρησιμοποιείται για την κατανόηση της επιδημιολογίας και της κλωνικής σχέσης των στελεχών MRSA, ειδικά όταν οι λοιμώξεις MRSA που αποκτώνται από την κοινότητα εμφανίζονται παγκοσμίως. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι το SCCmec τύπου IV ή V σχετίζεται με στελέχη λοιμώξεων από MRSA που αποκτήθηκαν από την κοινότητα. Ομοίως, σε αυτή τη μελέτη, όλα τα απομονωμένα στελέχη MRSA βρέθηκαν να φέρουν SCCmec τύπου V.

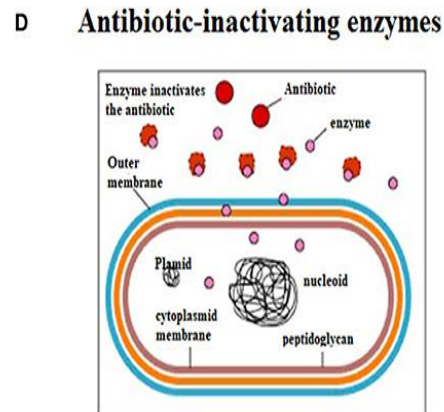
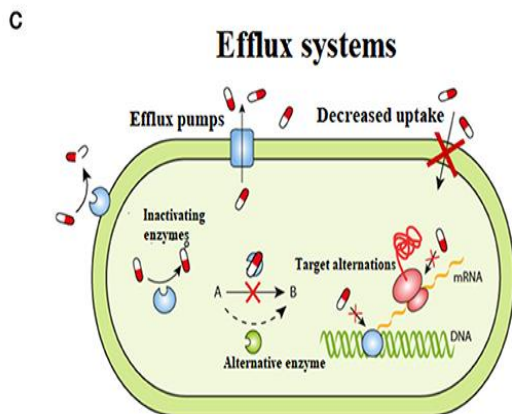
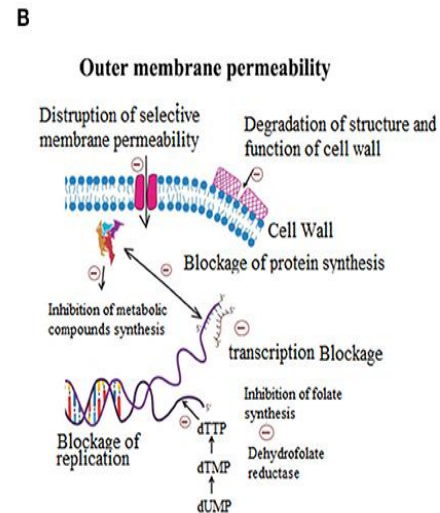
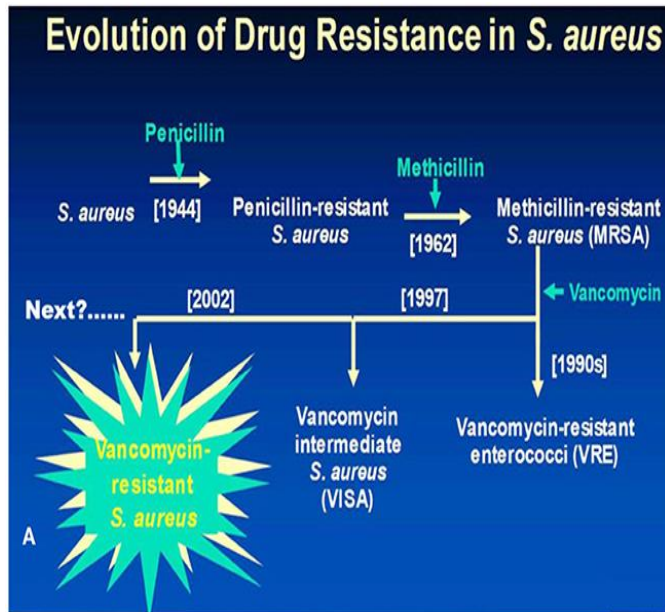
Συμπερασματικά, βρέθηκε ότι τα απομονωμένα στελέχη του *S. aureus* είναι ανθεκτικά σε αντιμικροβιακά διαφόρων τάξεων σε διαφορετικούς ρυθμούς και υποκείμενους μηχανισμούς αντοχής επίσης. Ως εκ τούτου, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι απαιτείται συνεχής επιτήρηση για τον προσδιορισμό της εξέλιξης της αντίστασης και των μηχανισμών. Επίσης, η συνετή χρήση αντιμικροβιακών είναι σημαντική για την πρόληψη της εμφάνισης και εξάπλωσης ανθεκτικών βακτηρίων (Yilmaz, E. Ş., & Aslantaş, Ö., 2017).



Εικόνα 4.2.5.12.10: Ρύθμιση των καθοριστικών μολυσματικών παραγόντων στο S. aureus (Silva et al, 2020).



*Εικόνα 4.2.5.12.11: Σχηματική αναπαράσταση αντιβιοτικών στόχων και μηχανισμών αντιμικροβιακής αντοχής στο *S. aureus* (Silva et al, 2020).*



Εικόνα 4.2.5.12.3: Ενδογενής μηχανισμός αντίστασης του *Staphylococcus aureus*. (A) Σύντομη εισαγωγή της εξέλιξης της αντοχής στα φάρμακα στο *S. aureus*. (B) Το σχήμα της μειωμένης διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης προκάλεσε αντοχή στο φάρμακο του *S. aureus*. (Γ) Ο ρόλος των συστημάτων ενεργού εκροής στην αντίσταση MRSA. (Δ) Ο ρόλος των κυτταρικών ενζύμων στην φαρμακευτική αντοχή του *S. aureus* (Guo et al, 2020).

4.2.6) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *Salmonella*

Η οριζόντια μετάδοση γονιδίων ανθεκτικότητας παίζει ζωτικό ρόλο στη διάδοση της αντοχής στα αντιβιοτικά στα είδη *Salmonella enterica*. Αυτά τα γονίδια αντίστασης μπορούν να βρεθούν στα ανθεκτικά πλασμίδια ή μέσα στο χρωμόσωμα των βακτηρίων. Η οριζόντια μετάδοση γονιδίων με τη μεσολάβηση πλασμιδίων είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος μεταφοράς αντίστασης και λαμβάνει χώρα σε υψηλή συχνότητα με τη συμμετοχή διαφορετικών γονιδίων αντίστασης κάθε φορά. Τα ανθεκτικά γονίδια που αποκτώνται από πλασμίδια, ιντεγκρόνια ή τρανσποζόνια είναι ικανά να μεταφέρουν αντοχή σε άλλα στελέχη ή άλλα είδη. Τα τρανσποζόνια είναι τα κινητά γενετικά στοιχεία που μπορούν να φέρουν γονίδια αντίστασης και να διαθέτουν δραστηριότητα τρανσποζάσης παρέχοντας τον ανασυνδυασμό των

γονιδίων αντίστασης με τα πλασμίδια ή το χρωμόσωμα. Τα ιντεγκρόνια αποτελούνται από ιντεγκράση (ένα ένζυμο ανασυνδυασμού που κωδικοποιείται από το γονίδιο *intI*), μια θέση ανασυνδυασμού που αναγνωρίζεται από την ιντεγκράση και έναν προαγωγέα που είναι απαραίτητοι για την έκφραση γονιδιακών κασετών που υπάρχουν στο ιντεγκρόν. Αυτές οι ρυθμίσεις προάγουν αποτελεσματικά την απόκτηση εξωγενών γονιδίων όπως γονιδίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στο βακτηριακό γονιδίωμα, ειδικά σε πλασμίδια. Επιπλέον, τα γεγονότα σύζευξης διευκολύνουν την εξάπλωση των γονιδίων αντίστασης που υπάρχουν στα πλασμίδια μέσω τρανσποζονίου ή ιντεγκρονίου σε άλλα στελέχη ή είδη.

Η εμφάνιση του οριστικού τύπου *S.typhimurium* (DT)104 ως πολυανθεκτικού παθογόνου ήταν ένα σημαντικό ζήτημα στη κτηνοτροφία. Απομονώθηκε αρχικά από το Ηνωμένο Βασίλειο και έκτοτε έχει συσχετιστεί με μονογαστρικά ζώα και μηρυκαστικά, προκαλώντας τροφιμογενείς επιδημίες μέσω του κρέατος και των προϊόντων κρέατος. Η χρωμοσωμικά κωδικοποιημένη αντίσταση σε ≥ 5 αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένης της αμπικιλίνης, της χλωραμφενικόλης, της φλορφενικόλης, της στρεπτομυκίνης, των σουλφοναμιδίων και των τετρακυκλινών, καθιστά δύσκολο να αντιμετωπιστεί αυτός ο τύπος φάγου. Η αντίσταση στην τριμεθοπρίμη στο *S. typhimurium* DT104 έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με κινητά μη συζευγμένα πλασμίδια.

Η αντίσταση της μη τυφοειδής *Salmonella* στις *fluoroquinolones* προκαλεί ιδιαίτερη ανησυχία καθώς είναι το φάρμακο εκλογής για τη θεραπεία της διηθητικής σαλμονέλλωσης σε ενήλικες. Η αντίσταση στη *fluoroquinolones* συνδέθηκε προηγουμένως με πολλαπλές μεταλλάξεις (π.χ. υποκαταστάσεις αμινοξέων) σε περιοχές που καθορίζουν την αντίσταση στην *quinolone* (QRDRs) των γονιδίων που κωδικοποιούν τη γυράση (*gyrA* και *gyrB*) και την τοποϊσομεράση IV, οι οποίες είναι οι στόχοι για τις *fluoroquinolone* στα βακτηριακά κύτταρα. Η μετάλλαξη αυτών των γονιδίων οδηγεί σε αντίσταση στις *fluoroquinolone*. Επίσης, η παρουσία αντλίας ενεργού εκροής αναφέρθηκε στο *S. typhimurium* ως μηχανισμός αντοχής στα αντιβιοτικά. Η υπερπαραγωγή αντλίας εκροής τύπου AcrAB (μεταφορέας εσωτερικής μεμβράνης)-TolC (μεταφορέας εξωτερικής μεμβράνης) και σχετικές αλλοιώσεις σε πρωτεΐνες και λιποπολυσακχαρίτες της εξωτερικής μεμβράνης προκάλεσαν συνεργικά λιγότερη συσσώρευση *ciprofloxacin* στο *S.typhimurium* και έδειξε αυξημένη αντοχή στη *salmonella*. Ωστόσο, οι αναστολείς αντλίας εκροής αυξάνουν σημαντικά την εναισθησία (16-32 φορές) της *Salmonella* στις *fluoroquinolone*.

Τα γονίδια αντίστασης στην *quinolone* (PMQR) που διαμεσολαμβάνονται από το *lasmid* εμπλέκονται επίσης στη δημιουργία αντοχής στη *Salmonella*. Τα γονίδια PMQR όπως *oqxAB* και *aac(6')-Ib-cr* απομονώνονται με υψηλή συχνότητα (44% και 89%, *oqxAB* και *aac(6')Ib-cr*, αντίστοιχα) από ανθεκτικά στη σιπροφλοξασίνη κλινικά απομονωμένα στελέχη του *S. typhimurium*. Αυτά τα γονίδια PMQR μαζί με μεταλλάξεις *gyrA* αυξάνουν την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση της σιπροφλοξασίνης κατά τέσσερις φορές στο *S. typhimurium*. Μεταξύ άλλων PMQR, τα γονίδια τύπου *qnr* συνδέονται επίσης με τη γυράση του DNA και την τοποϊσομεράση και εμποδίζουν τη δράση των *fluoroquinolone*. Ένα άλλο γονίδιο PMQR, το *qnrA*, σχετίζεται με την αντλία εκροής και εκκρίνει *fluoroquinolone* στον εξωκυτταρικό χώρο. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να διαπιστωθεί ο επιπολασμός τους στη μη τυφοειδή *Salmonella*. Όπως αναφέρθηκε, το σύστημα εκροής AcrAB-TolC και τα ρυθμιστικά γονίδια του, όπως το *marRAB* και το *soxRS*, βρέθηκε ότι εμπλέκονται στην αντίσταση στη *fluoroquinolone* που αύξησε την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) των *fluoroquinolone* σε ≥ 32 $\mu\text{g/mL}$.

σε *S. Typhimurium* phage type DT2 [85] και η απενεργοποίηση της αντλίας εκροής οδήγησε σε 16-32 φορές μείωση του MIC του φάγου *S. Typhimurium* τύπου DT204 σε ciprofloxacin. Επομένως, η αντίσταση της μη τυφοειδής *Salmonella* στις *fluoroquinolone* αποδίδεται συχνά σε συνδυασμό μηχανισμών.

Μη τυφοειδής *Salmonella spp.* Η εμφάνιση αντοχής σε *cephalosporins* εκτεταμένου φάσματος, συμπεριλαμβανομένης της *ceftriaxone*, αποτελεί σοβαρή ανησυχία, καθώς αυτά είναι τα φάρμακα εκλογής για τη θεραπεία της διεισδυτικής μη τυφοειδής σαλμονέλλωσης στα παιδιά. Ένας από τους κύριους μηχανισμούς ανάπτυξης αντοχής στα β-λακταμικά αντιβιοτικά στα βακτήρια είναι η άμεση αδρανοποίηση των αντιβιοτικών με ενζυμική υδρόλυση. Η παραγωγή *β-lactamases* εκτεταμένου φάσματος (ESBLs) είναι ένας σημαντικός μηχανισμός που προσδίδει αντοχή στα περισσότερα από τα Εντεροβακτηρίδια. Υπάρχουν πολλοί τύποι ESBL με βάση τους μηχανισμούς υποστρώματος και αναστολέα. Η πρώτη *β-lactamases* που εντοπίστηκε ήταν η TEM-1 που βρέθηκε σε ένα στέλεχος *E. coli* που απομονώθηκε από έναν ασθενή με το όνομα *Temoniera* στην Ελλάδα. Το TEM-1 υδρολύει τις πενικιλίνες και τις κεφαλοσπορίνες πρώτης γενιάς. Μια απλή υποκατάσταση αμινοξέος στο TEM-1 οδηγεί σε ένα παράγωγο TEM-2 που έχει το ίδιο υπόστρωμα με αυτό του TEM-1. Η πρώτη β-λακταμάση τύπου TEM που έδειξε χαρακτηριστικά ESBL ήταν η TEM-3. Οι β-λακταμάσες τύπου TEM αναφέρονται στο *Salmonella spp.* Μια άλλη β-λακταμάση, η SHV (σουλφυδρυλική μεταβλητή) είναι μια κωδικοποιούμενη από πλασμίδιο β-λακταμάση που βρίσκεται συνήθως στην *Klebsiella pneumoniae* και στο *E. coli*. Οι τύποι β-λακταμάσες TEM και SHV είναι πιο συνηθισμένοι και είναι ευρέως διαδεδομένοι στη φύση με περισσότερους από 90 τύπους TEM και περισσότερους από 25 τύπους SHV.

Πρόσφατα, η εμφάνιση ESBL με τη μεσολάβηση πλασμιδίου, συγκεκριμένα CTX-M, προκαλεί σημαντική ανησυχία, καθώς βρίσκεται συνήθως σε *Salmonella spp.* και σχετίζεται με την υδρόλυση της κεφοταξίμης. Η οριζόντια μεταφορά των γονιδίων CTX-M ESBL μέσω πλασμιδίων σύζευξης και τρανσποζονίων είναι η κύρια διαδικασία που εμπλέκεται στην απόκτηση των CTX-M ESBLs. Η επέκταση της β-λακταμάσης τύπου CTX-M δεν έχει διερευνηθεί πολύ και ήταν διαφορετική από τις β-λακταμάσες τύπου TEM και SHV όπου οι υποκαταστάσεις αμινοξέων είναι κοινές. Ωστόσο, έχει προταθεί ότι το υπόλειμμα σερίνης που υπάρχει στη θέση 237 σε όλα τα ένζυμα τύπου CTX-M παίζει ρόλο στην εμφάνιση ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά εκτεταμένου φάσματος. Στη *Salmonella*, τα περισσότερα από τα ESBLs (π.χ. γονιδιακά παράγωγα blaTEM-1 και blaSHV-1), συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων που προσδίδουν αντοχή στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς, όπως το blaCTX-M και το blaSHV-5, κωδικοποιούνται σε μεταφερόμενα πλασμίδια που αποτελούν σοβαρή απειλή στις τρέχουσες στρατηγικές αντιβιοτικής θεραπείας στον άνθρωπο.

Μια άλλη κατηγορία β-λακταμάσες είναι ο τύπος OXA που προσδίδει αντοχή στην *ampicillin* και την *cephalosporins* και επίσης διαθέτει ισχυρή υδρολυτική δράση έναντι της *oxacillin* και *cloxacillin*. Έχουν αναγνωριστεί απομονώσεις πουλερικών που παράγουν καρβαπενεμάση OXA-48 (*S. Kentucky*) και OXA-1. Τα ESBL τύπου PER (που ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά σε στελέχη *Pseudomonas aeruginosa*) που υδρολύουν πενικιλίνες και *cephalosporins* έχουν επίσης αναφερθεί σε μη τυφοειδή *Salmonella*. Επιπλέον, οι εγγενείς *cephalosporins* όπως οι *β-lactamases* τύπου AmpC είναι επίσης κοινές στη μη τυφοειδή *Salmonella* που περιλαμβάνει τύπους ενζύμων όπως CMY, DHA και ACC-1. Επιπλέον, εντοπίστηκαν επίσης οροί σαλμονέλας που εμφάνιζαν διαφορετικές β-λακταμάσες όπως CMY-7, SHV-9 και OXA-30,

υποδεικνύοντας την κατοχή υψηλού επιπέδου διασταυρούμενης αντοχής από μη τυφοειδή ορούς *Salmonella*.

Τα ένζυμα που τροποποιούν τις *aminoglycosides* μεσολαβούν κυρίως στην αντίσταση στα *aminoglycosides* αντιβιοτικά. Οι *aminoglycosides* ακετυλοτρανσφεράσες τροποποιούν τις αμινομάδες στα αντιβιοτικά *aminoglycosides*. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις *acetyltransferases aminoglycosides* ονομάζονται *aac* και εντοπίζονται τυπικά σε γονιδιωματικές νησίδες *Salmonella*, ολοκληρώματα και πλασμίδια. Αυτές οι *acetyltransferases* παρέχουν αντίσταση σε κύρια αντιβιοτικά όπως η *gentamicin* και *kanamycin*. Επιπλέον, τα ένζυμα φωσφορυλίωσης της *aminoglycosides* ομάδας υδροξυλίου, συγκεκριμένα οι *aminoglycosides* φωσφοτρανσφεράσες, εμπλέκονται στην ανάπτυξη αντοχής έναντι των αντιβιοτικών *aminoglycosides* στη *Salmonella*. Αυτά τα ένζυμα κωδικοποιούνται από τα γονίδια *strA*, *strB*, *aph(3)-Ib* και *aph(6)-Id*, αντίστοιχα) και παρέχουν αντίσταση στη στρεπτομυκίνη. Ορισμένες από τις *aminoglycosides* φωσφοτρανσφεράσες παρέχουν επίσης αντίσταση στην *kanamycin* και *neomycin*. Οι *nucleotide transferases* είναι επίσης ένζυμα τροποποίησης της ομάδας υδροξυλίου που υπάρχουν στη *Salmonella* και συχνά κωδικοποιούνται στα γονίδια *aad*. Μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών γονιδίων που κωδικοποιούν την *aminoglycosides adenyltransferase*, το *aadA* παρέχει αντίσταση στη *streptomycin* ενώ το *aadB* παρέχει αντίσταση στη *gentamicin* και *tobramycin* στη *Salmonella*.

Η αντοχή σε *tetracycline* αναπτύσσεται κυρίως στη σαλμονέλα λόγω της απόκτησης γονιδίων που κωδικοποιούν μηχανισμούς εκροής που εξαρτώνται από την ενέργεια. Κυρίως τα γονίδια *tet* εμπλέκονται στους μηχανισμούς εκροής και προσδίδουν αντίσταση στη *chlorotetracycline*, *doxycycline*, *oxytetracycline* και *tetracycline*. Μεταξύ αυτών, το *tet(A)* είναι κοινό. Ωστόσο, άλλα όπως *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(G)* και *tet(H)* έχουν αναφερθεί σε μη τυφοειδή *Salmonella* από κλινικές ή λιανικές απομονώσεις κρέατος. Τα γονίδια *tet(A)* έχουν βρεθεί σε πλασμίδια, ιντεγκρόνια και γονιδιωματικό νησί 1. Τα *tet(B)* ανιχνεύονται σε μεταβιβάσιμα πλασμίδια. Τα γονίδια *tet(A)* ανιχνεύονται σε οροπαραγωγούς *Salmonella* όπως *S. Agona*, *S. Dublin*, *S. Choleraesuis*, *S. Heidelberg* και *S. Typhimurium*. Επιπλέον, οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες προστασίας όπως οι *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(S)*, *tet(W)* και *tet(32)* εμποδίζουν τα ριβοσώματα από τη δράση των *tetracycline* στους μικροοργανισμούς. Ορισμένα γονίδια κωδικοποιούν ένζυμα όπως τα *tet(X)*, *tet(34)* και *tet(37)* τα οποία τροποποιούν ή αδρανοποιούν τη δράση των *tetracycline* Ωστόσο, οι μηχανισμοί εκροής είναι πιο συνηθισμένοι.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε μικροοργανισμούς έναντι των αντιβιοτικών *phenolic*, συμπεριλαμβανομένης της *chloramphenicol* και *florfanicol*, γίνεται κυρίως με δύο μηχανισμούς που περιλαμβάνουν αντλίες εκροής ή ενζυματική αδρανοποίηση των αντιβιοτικών από την O- *acetyltransferase chloramphenicol*. Τα ένζυμα O- *acetyltransferase chloramphenicol* δεν είναι ικανά να αδρανοποιήσουν τη *florfanicol*, καθώς η θέση φθοριούχου c3 στη *florfanicol*, δεν δέχεται ακετυλομάδες. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις O- *acetyltransferase chloramphenicol* αναφέρονται ως γονίδια γάτας και συχνά συνδέονται με πλασμίδια. Τα γονίδια *cat1* και *cat2* έχουν απομονωθεί από μη τυφοειδή ορούς σαλμονέλας. Τα γονίδια της γάτας συνδέονται με πλασμίδια, τρανσποζόνια ή κασέτες γονιδίων και άλλα κινητά γενετικά στοιχεία. Γονίδια όπως τα *cm1A* και *floR* κωδικοποιούν τις αντλίες εκροής σε απομονώσεις *Salmonella*. Τα γονίδια *floR* είναι ευρέως κατανεμημένα μεταξύ των οροειδών της

Salmonella και έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με μεταφερόμενα πλασμίδια και γονιδιωματικές νησίδες *Salmonella*.

Η αντίσταση στα *sulfonamides* στη *Salmonella* οφείλεται στην παρουσία του γονιδίου *sul*, το οποίο προκαλεί την έκφραση μιας μη ευαίσθητης μορφής διυδροπτεροϊκής συνθετάσης που δεν μπορεί να ανασταλεί από *sulfonamides*. Τα κοινά γονίδια *sul* είναι τα *sul1*, *sul2* και *sul3*, τα οποία έχουν ταυτοποιηθεί από τους κύριους ορούς της *Salmonella*, συμπεριλαμβανομένων των *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* και *S. Hadar*. Αυτά τα γονίδια υπάρχουν σε ιντεγκρόνια, γονιδιωματικές νησίδες *Salmonella* ή μεταφερόμενα πλασμίδια. Τα γονίδια *dhfr* προκαλούν την έκφραση μιας μη ευαίσθητης μορφής διυδροφολικής αναγωγάσης (DHFR) που δεν μπορεί να ανασταλεί από τα αντιβιοτικά τριμεθοπρίμης και οδηγεί στην ανάπτυξη αντοχής έναντι αυτής της κατηγορίας αντιβιοτικών στη σαλμονέλα. Αυτά τα γονίδια συσχετίζονται επίσης με ιντεγκρόνια, πλασμίδια ή γονιδιωματικές νησίδες *Salmonella* (VT Nair, D., 2018).

4.2.7) Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας για τον μικροοργανισμό *Enterococcus faecalis*

Τα εντεροκοκκικά ανθεκτικά στη *vancomycin* είναι παθογόνα που σχετίζονται με το νοσοκομείο και εξελίχθηκαν σε αντοχή στα περισσότερα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη. Η *daptomycin*, ένα αντιβιοτικό λιποπεπίδης που χρησιμοποιείται ως θεραπεία πρώτης γραμμής για σοβαρές εντεροκοκκικές λοιμώξεις ανθεκτικές σε πολυανθεκτικά, στοχεύει στη βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη (CM). Το σύστημα αντιμετώπισης στρες LiaFSR ενορχηστρώνει την αντοχή στη *daptomycin* και το αντιμικροβιακό πεπτιδίο (AMP) διαμορφώνοντας την περιεκτικότητα σε φωσφολιπίδια CM ή τον εντοπισμό. Εδώ, εντοπίζουμε μια ενιαία πρωτεΐνη (LiaX) που αισθάνεται αντιμικροβιακά μόρια και ρυθμίζει τις αλλαγές στην αρχιτεκτονική Φωσφολιπιδών CM. Δείχνουμε ότι η διαμεσολαβούμενη με LiaX διαμόρφωση της αντοχής στα αντιβιοτικά και *amp* επηρεάζει τη λοιμώδη νόσο κατά τη διάρκεια της λοίμωξης που προκαλείται από ένα απείθαρχο παθογόνο του νοσοκομείου. Η στόχευση αυτής της απόκρισης σε πολυανθεκτικούς οργανισμούς μπορεί να είναι μια θεραπευτική παρέμβαση για την αποκατάσταση της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά που στοχεύουν σε κυτταρικούς φακέλους και την αύξηση της ικανότητας του ανοσοποιητικού συστήματος να καθαρίζει παθογόνους παράγοντες.

Τα βακτήρια έχουν αναπτύξει διάφορες εξελικτικές στρατηγικές για την προστασία των κυτταρικών μεμβρανών τους (CMs) από την επίθεση αντιβιοτικών και αντιμικροβιακών πεπτιδίων (AMPs) που παράγονται από το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, συμπεριλαμβανομένης της αναδιαμόρφωσης της περιεκτικότητας σε φωσφολιπίδια και του εντοπισμού. Το πολυανθεκτικό *Enterococcus faecalis*, ένα ευκαιριακό ανθρώπινο παθογόνο, εξελίσσει την αντίσταση στη λιποπτιδική δεπτομυκίνη και τα AMPs εκτρέποντας το αντιβιοτικό μακριά από κρίσιμους σηπτικούς στόχους χρησιμοποιώντας αναδιανομή του αντιικού φωσφολιπιδίου. Το σύστημα αντιμετώπισης ακραίων καταστάσεων LiaFSR ρυθμίζει την αναδιαμόρφωση αυτού του CM μέσω του ρυθμιστή απόκρισης LiaR από έναν προηγούμενος άγνωστο μηχανισμό. Εδώ, χαρακτηρίζουμε μια πρωτεΐνη ρυθμισμένη από το LiaR, LiaX, που αισθάνεται *daptomycin* ή AMPs και ενεργοποιεί την προστατευτική αναδιαμόρφωση cm. Το LiaX είναι επιφανειακά εκτεθειμένο και σε κλινικές κλινικές καταπτομυκές,

τόσο το LiaX όσο και ο τομέας N-terminal μόνο απελευθερώνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Ο τομέας N-τερματικού του LiaX δεσμεύει τη δεπτομυκίνη και τα AMPs (όπως το ανθρώπινο LL-37) και λειτουργεί ως εξωκυττάριος φρουρός που ενεργοποιεί την απόκριση στρες του κυτταρικού φακέλου. Ο τομέας C-terminal του LiaX παίζει ρόλο στην αναστολή του συστήματος LiaFSR και όταν αυτός ο τομέας απουσιάζει, οδηγεί στην ενεργοποίηση της ανιονικής αναδιανομής φωσφολιπιδίων. Τα στελέχη που παρουσιάζουν αναδιαμόρφωση cm με τη μεσολάβηση του LiaX και αντοχή στην amp δείχνουν ενισχυμένη λοιμογόνο δράση στο μοντέλο *Caenorhabditis elegans*, ένα αποτέλεσμα που καταργείται σε ζώα που δεν έχουν έμφυτη ανοσολογική οδό ζωτικής σημασίας για την παραγωγή AMPs. Εν κατακλείδι, αναφέρουμε έναν μηχανισμό αντοχής στα αντιβιοτικά και amp που ζευγαρώνει βακτηριακό στρες που διαισθάνεται σημαντικές αλλαγές στην αρχιτεκτονική cm, επηρεάζοντας τελικά και τις αλληλεπιδράσεις ξενιστών-παθογόνων παραγόντων. (Khan, A., 2019).

Οι εντερόκοκκοι έχουν τη δυνατότητα αντοχής σε όλα σχεδόν τα κλινικά χρήσιμα αντιβιοτικά. Η εμφάνισή τους ως σημαντικά νοσοκομειακά παθογόνα συνέπεσε με την αυξημένη έκφραση της μικροβιακής αντοχής από μέλη του γένους. Οι μηχανισμοί που διέπουν την αντίσταση στα αντιβιοτικά στους εντερόκοκκους μπορεί να είναι εγγενείς στο είδος ή να αποκτώνται μέσω μετάλλαξης εγγενών γονιδίων ή οριζόντιας ανταλλαγής γενετικού υλικού που κωδικοποιεί καθοριστικούς παράγοντες αντοχής.

4.2.7.1) Εγγενής Ανθεκτικότητα

4.2.7.1.1) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε β -lactams and cephalosporins

Η ανάπτυξη των περισσότερων βακτηρίων εξαρτάται από την ενζυματική σύνδεση των πρόδρομων μορίων του πενταπεπτιδίου σε ένα κυτταρικό τοίχωμα *peptidoglycan*. Τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για αυτές τις αντιδράσεις διασταύρωσης αναφέρονται ως πρωτεΐνες που δεσμεύουν *penicillin* (*PBPs*) επειδή οι β -lactams (δομικά ανάλογα προδρόμων πενταπεπτιδίων) συνδέονται ομοιοπολικά και διαταράσσουν τη φυσιολογική ανάπτυξη του κυτταρικού τοιχώματος. Η προσκόλληση των παραγόντων β -lactams σε *PBPs* έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση τοιχώματος και, στις περισσότερες περιπτώσεις, προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος μέσω δημιουργίας αντιδραστικών ειδών οξυγόνου. Οι εντερόκοκκοι εκφράζουν *PBP* χαμηλής συγγένειας (*PBP5* στο *E. faecium*, *PBP4* στο *E. faecalis*) που συνδέονται ασθενώς με τα αντιβιοτικά β -lactam. Ως αποτέλεσμα, οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (*MIC*) για τις πενικιλίνες είναι τυπικά 2–8 mg/ml για το *E. faecalis* και 8–16 mg/ml για το *E. faecium*, πολύ υψηλότερες από τις *MIC* για τους στρεπτόκοκκους και τους σχετικούς *Gram* θετικούς οργανισμούς που δεν περιέχουν χρωμοσωμικά κωδικοποιημένα γονίδια *PBP* χαμηλής συγγένειας. Σε επίπεδο πληθυσμού, τα εντεροκοκκικά *MICs* έχουν αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου. Οι Galloway-Pena και οι ομάδες τους κατέδειξαν δύο διακριτές κλάδες *E. faecium*. Αυτά τα clades έχουν ένζυμα *PBP5* που ποικίλλουν σε συγγένεια, αποτέλεσμα διαφορών στην αλληλουχία αμινοξέων και στη μεταγραφική ρύθμιση. Η υπερπαραγωγή μη μεταλλαγμένων *PBP* χαμηλής συγγένειας αντιπροσωπεύει έναν σχετικά σπάνιο μηχανισμό με τον οποίο οι εντερόκοκκοι εκφράζουν χαμηλής αντοχής στις πενικιλίνες. Πρώιμες μελέτες από τους Jawetz *et al.* έδειξαν ότι οι εντερόκοκκοι δεν θανατώθηκαν από την πενικιλίνη όταν εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις φαρμάκου στην

περιοχή του MIC (φαινόμενο γνωστό ως ανοχή). Η ανοχή στο *E. faecalis* έχει αποδοθεί στην απομάκρυνση δραστικών ειδών οξυγόνου από το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση.

Τα θετικά κατά Gram είδη, η καθοδική ρύθμιση ή η απουσία ενός αυτολυτικού συστήματος *VncR/S* μεταγωγής σήματος δύο συστατικών συμβάλλει επίσης στην ανοχή στην *penicillin*, αλλά αυτός ο μηχανισμός δεν έχει αποδειχθεί στον εντερόκοκκο. Μπορεί να προκληθεί ανοχή όταν η *penicillin*, χορηγείται με παλμική δόση. Ως εκ τούτου, τα εντεροκοκκικά στελέχη που δεν περιέχουν *penicillin*, μπορεί να φαίνονται ευαίσθητα *in vitro* αλλά αναπτύσσουν ανοχή μετά την έκθεση στο φάρμακο.

4.2.7.1.2) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Aminoglycosides*.

Τόσο το *E. faecium* όσο και το *E. faecalis* είναι εγγενώς ανθεκτικά σε κλινικά επιτεύξιμες συγκεντρώσεις *aminoglycosides*. Στο *E. faecalis*, τα MIC ποικίλλουν για τις *aminoglycosides*, με τον μεγαλύτερο βαθμό αντίστασης να παρατηρείται στη *streptomycin* (MIC έως 500 mg/ml). Η εγγενής αντίσταση στο *E. faecalis* αποδίδεται στην αδυναμία της *aminoglycoside* να εισέλθει στο κύτταρο (όπου δρουν αναστέλλοντας τη σύνθεση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών), όπως αποδείχθηκε σε πειράματα από τον Moellering και τους συνεργάτες του στις αρχές της δεκαετίας του 1970. Όταν οι εντερόκοκκοι εκτέθηκαν σε ραδιοσημασμένη *aminoglycoside* με ή χωρίς *penicillin*, επιτεύχθηκαν υψηλότερες ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις *aminoglycoside* παρουσία του αναστολέα σύνθεσης κυτταρικού τοιχώματος. Ο συνδυασμός δραστικών παραγόντων κυτταρικού τοιχώματος και *aminoglycoside* είχε επίσης ως αποτέλεσμα βακτηριοκτόνο δράση (βακτηριοκτόνος συνεργισμός). Αυτές οι μελέτες παρέχουν φυσιολογικό πλαίσιο στις μακροχρόνιες παρατηρήσεις βελτιωμένων κλινικών, αποτελέσματα με θεραπεία συνδυασμού αμινογλυκοσίδης-πενικιλίνης. Μερικοί εντερόκοκκοι εκφράζουν επίσης χρωμοσωμικά κωδικοποιημένα ένζυμα που αυξάνουν το MIC των *aminoglycosides* και αποτρέπουν τη συνεργία. Πανταχού παρούσα μεταξύ του *E. faecium*, η *aminoglycoside* δ' *acetyltransferase* [*AAC(6')-II*] προσδίδει ανοχή στην *tobramycin* με MIC έως και 1000 mg/ml και στην *kanamycin*. Επιπλέον, μια κωδικοποιημένη με *efmM m5C methyltransferase* στο *E. faecalis* προσδίδει αντίσταση χαμηλού επιπέδου στη *dibekasine*, την *tobramycin* και την *kanamycin*. Το *EfmM* μεθυλιώνει το 16S rRNA με αποτέλεσμα μια στερικώς παρεμποδισμένη θέση στόχου ριβοσώματος. Η εγγενής προκαλούμενη από ένζυμο αντίσταση υψηλού επιπέδου ούτε στη *gentamicin* ούτε στη *streptomycin* έχει περιγραφεί στους εντερόκοκκους. Ως εκ τούτου, αυτά τα φάρμακα διατηρούν τη συνεργική δράση στους εντερόκοκκους και κατά συνέπεια έχουν αναδειχθεί ως τα φάρμακα επιλογής για την επίτευξη συνεργισμού σε σοβαρές λοιμώξεις που προκαλούνται είτε από *E. faecium* είτε από *E. faecalis*.

4.2.7.1.3) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Lincosamides and streptogramins*.

Το *E. faecalis* είναι εγγενώς ανθεκτικό στην *clindamycin* (μια *lincosamide*), την *quinupristine* (*streptogramin B* κατηγορίας) και τη *dalfopristine* (*streptogramin A* κατηγορίας) μέσω *Trimethoprim-sulfamethoxazole*. Τα περισσότερα βακτήρια δεν έχουν την ικανότητα να απορροφούν φυλλικό οξύ από το περιβάλλον και ως εκ τούτου απαιτούν *de novo* σύνθεση φυλλικού οξέος για να παράγουν νουκλεϊκά οξέα. Ο συνδυασμός αντιβιοτικών *trimethoprim-sulfamethoxazole* αναστέλλει δύο

διαδοχικά στάδια στην οδό σύνθεσης *tetrahydrofolate*, αναστέλλοντας έτσι τη σύνθεση φυλλικού οξέος και σκοτώνοντας συνεργικά ένα ευρύ φάσμα βακτηριακών ειδών. Οι εντερόκοκκοι είναι ασυνήθιστοι στο ότι μπορούν να απορροφήσουν φυλλικό οξύ από το περιβάλλον, παρακάμπτοντας τις επιδράσεις της *trimethoprim-sulfamethoxazole*. Επομένως, ο *in vitro* έλεγχος της ευαισθησίας του εντεροκόκκου στην *trimethoprim-sulfamethoxazole* σε ένα μέσο χωρίς φυλλικό οξύ θα δώσει ένα ευαίσθητο αποτέλεσμα. Φαινόμενη *in vitro* ευαισθησία, η *trimethoprim-sulfamethoxazole* είναι αναποτελεσματική στη θεραπεία σοβαρών λοιμώξεων από εντερόκοκκο.

Η επίκτητη αντοχή στους εντερόκοκκους (αυτή που δεν είναι εγγενής στο είδος) μπορεί να συμβεί μέσω σποραδικών μεταλλάξεων ή μέσω απόκτησης ξένου γενετικού υλικού. Η οριζόντια ανταλλαγή γονιδίων μεταξύ των εντερόκοκκων λαμβάνει χώρα μέσω της μεταφοράς πλασμιδίων ευαίσθητων στη *pheromone* ή μεγάλου εύρους ξενιστών ή μέσω της κίνησης τρανσποζονίων. Με λίγες εξαιρέσεις, πολλαπλά πλασμίδια και τρανσποζόνια μπορούν να ταυτοποιηθούν σε κλινικά στελέχη. Αυτά τα στοιχεία μπορεί να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους και με το βακτηριακό χρωμόσωμα για να σχηματίσουν σύνθετα κινητά στοιχεία.

Τα πλασμίδια που ανταποκρίνονται στη *pheromone* βρίσκονται κυρίως στο *E. faecalis*. Τα χρωμοσωμικά κωδικοποιημένα θραύσματα λιποπρωτεϊνών («*pheromone*») που απελευθερώνονται από τα κύτταρα λήπτες γίνονται αισθητά από τα γειτονικά κύτταρα δότη και διεγείρουν την παραγωγή ουσίας συσσωμάτωσης (*Asa1*, *PrgB* και άλλα), που κωδικοποιείται από το πλασμίδιο. την επιφάνεια του κυττάρου-δέκτη και διεγείρει την επαφή δέκτη-δότη που προάγει τη σύζευξη. Αυτά τα πλασμίδια μεταδίδουν γενετικές πληροφορίες με πολύ αποτελεσματικό τρόπο μεταξύ των στελεχών *E. faecalis* (1023/κύτταρο δότη κατά τη διάρκεια 4 ωρών ζευγαρώματος), αλλά περιορίζονται σε μεγάλο βαθμό σε αυτό είδος. Τα πλασμίδια *pRUM* στο *E. faecium* είναι παρόμοια με τα πλασμίδια που ανταποκρίνονται στη φερομόνη στο *E. faecalis* καθώς μεταφέρονται σε υψηλή συχνότητα αλλά παρουσιάζουν στενό εύρος ξενιστών. Αντίθετα, τα πλασμίδια ευρείας περιοχής ξενιστή είναι ικανά να μεταφέρουν γενετικές πληροφορίες σε άλλα θετικά και ακόμη και αρνητικά κατά *Gram* είδη, αλλά σε χαμηλότερη συχνότητα (1027/κύτταρο δότη κατά τη διάρκεια 4 ωρών ζευγαρώματος) από τα πλασμίδια που ανταποκρίνονται στη *pheromone*. Η μεταφορά αυτών των πλασμιδίων απαιτεί στενή επαφή μεταξύ των κυττάρων. Τα πλασμίδια τύπου *Inc.* είναι γνωστά πλασμίδια ευρέος φάσματος ξενιστών που έχουν εμπλακεί στη μεταφορά καθοριστικών παραγόντων αντοχής στη *vancomycin* στο *S. aureus* τα τελευταία χρόνια. Τρεις τύποι τρανσποζονίων είναι υπεύθυνοι για την κινητικότητα των γονιδίων στους εντερόκοκκους, τα τρανσποζόνια της οικογένειας *Tn3*, σύνθετα τρανσποζόνια και συζευκτικά τρανσποζόνια. Τα πρωτότυπα τρανσποζόνια της οικογένειας *Tn3* είναι τα *Tn917* [που προσδίδει αντίσταση σε *macrolides*, *lincosamides* και *streptogramin B (MLSB)*] και *Tn1546* (που προσδίδει αντίσταση στα *glycopeptides*), ενώ η πρωτότυπη αντίσταση συζευγμένου συζυγούς *Tn16* και *Tn16*, *tetracycline*. Τα σύνθετα τρανσποζόνια μπορούν εύκολα να σχηματιστούν από την αλληλεπίδραση σχετικών στοιχείων *IS* που ψεκάζονται ελεύθερα σε όλο το γονιδίωμα των περισσότερων κλινικών στελεχών εντερόκοκκου. Η κίνηση αυτών των στοιχείων *IS* όχι μόνο προσδίδει κινητικότητα σε γονίδια αντίστασης, αλλά προάγει την συνολοκλήρωση των πλασμιδίων με άλλα πλασμίδια και με το βακτηριακό χρωμόσωμα.

4.2.7.1.4) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε β -lactams

Οι εντερόκοκκοι μπορεί να αναπτύξουν αυξημένη αντίσταση στις *penicillins* μέσω της απόκτησης μεταλλάξεων β -lactamases ή PBP4/5. Τα προκαλούμενα από πλασμίδιο γονίδια *bla* (που κωδικοποιούν τις β -lactamases) περιγράφηκαν για πρώτη φορά στο *E. faecalis* το 1983. Έκτοτε, η παραγωγή β -lactamases από εντερόκοκκο ήταν σπάνια και περιγράφηκε κυρίως στο *E. faecalis*. Τα γονίδια *bla* στον εντερόκοκκο είναι πανομοιότυπα με αυτά του *S. aureus* και συχνά κωδικοποιούνται από υπολείμματα του σταφυλοκοκκικού τρανσποζονίου β -lactamases *Tn552*. Η υψηλού επιπέδου αντίσταση στην *penicillin* στο *E. faecium* συνδέεται συχνότερα με τη συσσώρευση σημειακών μεταλλάξεων στην περιοχή δέσμευσης *penicillin* του PBP5. Μια ποικιλία σημειακών μεταλλάξεων έχει περιγραφεί τόσο στο *E. Faecium* όσο και στο *E. faecalis*. Αν και αυτές σημειακές μεταλλάξεις πιθανότατα προήλθαν de novo σε μεμονωμένα βακτήρια υπό εκλεκτική πίεση από αντιβιοτικά, η μεταφορά χρωμοσώματος σε χρωμόσωμα των γονιδίων *pbp5* χαμηλής συγγένειας έχει τεκμηριωθεί in vitro και πιθανώς συμβάλλει στη διάδοση υψηλού επιπέδου αντίστασης στην *penicillin* στο *E. faecium*.

Ceftaroline and ceftobiprol, cephalosporins πέμπτης γενιάς, έχουν δράση κατά του εντερόκοκκου, αλλά μπορεί να είναι επιρρεπής στην εμφάνιση αντοχής με αυξημένη κλινική χρήση. Οι Clark et al. υπέβαλαν το *E. faecalis* σε διαδοχικές δόσεις *ceftaroline* και αναγνώρισαν δύο ανθεκτικά στελέχη (το ένα με MIC 8 mg/ml και το άλλο με MIC 32 mg/ml). Η *ceftaroline* παρουσιάζει καλή in vitro δράση έναντι του *E. faecalis* χωρίς αναφορές αντοχής μέχρι σήμερα, αλλά είναι αναποτελεσματική έναντι ανθεκτικών στην *penicillin* κλινικών στελεχών του *E. faecium*.

4.2.7.1.5) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε Aminoglycosides

Ενώ οι εγγενείς μηχανισμοί έχουν ως αποτέλεσμα την αντίσταση σε *aminoglycosides* χαμηλού επιπέδου, η απόκτηση κινητών γενετικών στοιχείων τυπικά αποτελεί τη βάση της υψηλού επιπέδου αντοχής σε *aminoglycosides* τόσο στο *E. faecium* όσο και στο *E. faecalis*. Τα επακόλουθα MIC κυμαίνονται από 2.000 mg/ml έως και 128.000 mg/ml. Μεταξύ των γονιδίων που κωδικοποιούν ανθεκτικότητα υψηλού επιπέδου, τα πιο ανησυχητικά είναι αυτά που οδηγούν σε αντίσταση στη *gentamicin* και στην *streptomycin*, επειδή αυτά τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται για συνεργιστική θεραπεία σοβαρών εντεροκοκκικών λοιμώξεων. Η υψηλού επιπέδου αντοχή στη *gentamicin* εμφανίζεται συχνότερα μέσω της απόκτησης ενός διλειτουργικού γονιδίου που κωδικοποιεί APH(2'')-Ia-AAC(6') Αυτά τα ένζυμα απενεργοποιούν τη *gentamicin* (και τις δομικά σχετικές *aminoglycosides*) με phosphorylation στη θέση 2-hydroxy *gentamicin* και ταυτόχρονη ακετυλίωση της 6'hydroxy θέσης των άλλων *aminoglycosides*. Το τροποποιημένο αντιβιοτικό δεν είναι πλέον ικανό να δεσμεύεται στον στόχο του στη ριβοσωμική υπομονάδα 30S και έτσι χάνει την αντιβακτηριακή δράση. Τα στελέχη που περιέχουν *aph(2'')Ia-aac(6')-Ie* είναι κλινικά ανθεκτικά σε όλες τις *aminoglycosides* εκτός από τη *streptomycin*. Το γονίδιο *aph(2'')-Ia-aac(6')-Ie* πιο συχνά πλαισιώνεται από το IS256 σε ένα σύνθετο τρανσποζόνιο που χαρακτηρίζεται *Tn4001* στο *S. aureus* και *Tn5281* στο *E. faecalis*. Αρκετά άλλα γονίδια έχουν ταυτοποιηθεί που προσδίδουν αντοχή στη *gentamicin*, συμπεριλαμβανομένων των *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id* και *aph(2'')-Ib*.49-51 Σε σύγκριση με το *aph(2'')-Ia-aac(6')-Ie*, αυτά τα γονίδια είναι ελάχιστα συνεισφέροντα στην αντίσταση στη *gentamicin* στους εντερόκοκκους. Ο επιπολασμός τους ποικίλλει ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Είναι σημαντικό ότι τα MIC για εντερόκοκκους

που φέρουν *aph(2'')-Ic* μπορεί να είναι τόσο χαμηλά όσο 256 mg/ml, ένα MIC που θα ερμηνευόταν ως ευαίσθητο στη *gentamicin* από εργαστήρια που χρησιμοποιούν MIC 500 mg/ml ως διαχωρισμό για τον προσδιορισμό της αντοχής στη *gentamicin* υψηλού επιπέδου. Παρά το χαμηλότερο MIC, τα βακτήρια που εκφράζουν αυτά τα ένζυμα είναι ανθεκτικά στη συνεργική δραστηριότητα των δραστικών παραγόντων του κυτταρικού τοιχώματος και της *gentamicin*. Έτσι, στη γεωγραφική περιοχή όπου υπάρχει *aph(2'')-Ic*, τα εργαστήρια θα πρέπει να ειδοποιούνται για να μειώσουν το όριο MIC για γενταμυκίνη για ενίσχυση της ανίχνευσης εντερόκοκκων που θα ήταν ανθεκτικοί στη συνέργεια.

Η υψηλού επιπέδου αντίσταση στη *streptomycin* εμφανίζεται συχνότερα μέσω ενζυματικής τροποποίησης του αντιβιοτικού ή με μονοσήμαντες μεταλλάξεις στο ριβόσωμα. Δύο καλά περιγραφόμενες *adenylate transferases*, η *Ant(6')-Ia* και η *Ant(3'')-Ia*, είναι ικανές να απενεργοποιούν τη στρεπτομυκίνη (και τις δομικά σχετικές *aminoglycosides*). Ενώ η αντίσταση που προκαλείται από ένζυμα που τροποποιούν τις *aminoglycosides* (AME) θα έχει τυπικά MICs της τάξης των 4.000 έως 16.000 mg/ml, οι ριβοσωματικές μεταλλάξεις έχουν ως αποτέλεσμα MIC 128.000 mg/ml.⁵³ Άλλοι επίκτητοι AME έχουν εντοπιστεί σε εντερόκοκκους, συμπεριλαμβανομένου του *Aph(1)-IIIa*, μια *aminoglycosides phosphotransferase* που προσδίδει αντοχή στην *kanamycin* και στην *Ant(4'')-Ia*, μια *nucleotide transferase* που προσδίδει αντοχή στην *tobramycin*, *amikacin*, *neomycin* and *kanamycin*. Καθώς αυτά τα ένζυμα δεν προσδίδουν αντίσταση στη *gentamicin* ή στη *streptomycin* έχουν μικρότερη κλινική σημασία.

4.2.7.1.6) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Glycopeptides*

Η απόκτηση αντοχής στα γλυκοπεπίδια από τους εντερόκοκκους αποτελεί αναιμικό και αντιμικροβιακό δίλημμα τα τελευταία 25 χρόνια. Για πρώτη φορά περιγράφηκε το 1988, οι ανθεκτικοί σε γλυκοπεπίδιο εντερόκοκκοι (GRE) εμφανίστηκαν έκτοτε ως κύρια αιτία λοιμώξεων από νοσοκομεία. Η πλειονότητα των λοιμώξεων από GRE αποδίδονται στο *E. faecium*, αν και η αντίσταση στα γλυκοπεπίδια εμφανίζεται και στο *E. faecalis* και σε άλλα είδη εντερόκοκκου. Επί του παρόντος, στις Ηνωμένες Πολιτείες, υπολογίζεται ότι το 30% των κλινικών απομονώσεων εντερόκοκκου είναι ανθεκτικές σε γλυκοπεπίδια σε μαλακά πεπτίδια, , αναστέλλοντας έτσι τη σύνθεση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Η *Vancomycin* ενεργεί δεσμεύοντας τον τερματικό όρο D-ala-D-ala του πρόδρομου πενταπεπτιδίου, αναστέλλοντας έτσι τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος. Οι ανθεκτικοί στα γλυκοπεπίδια οργανισμοί τροποποιούν αυτές τις πενταπεπτιδικές πρόδρομες ουσίες, αντικαθιστώντας το τερματικό D-ala με D-lac ή D-ser. Αυτές οι τροποποιημένες πρόδρομες αγωγές κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων δεσμεύουν γλυκοπεπίδια με 1.000 φορές μικρότερη συγγένεια από τους κανονικούς πρόδρομους. Για την δημιουργία των πρόδρομων ουσιών, χρειάζονται τουλάχιστον επτά ένζυμα. Χρησιμοποιώντας το VanA cassette ως μοντέλο, τα ένζυμα αυτά είναι VanA, H, X, Y, Z, R και S. Αρχικά, το κυτταρικό πυρροβικό μετατρέπεται σε d-γαλακτικό από την αφυδρογονάση VanH. Η VanA λιγάση στη συνέχεια απολινώνει τη D-ala στη D-lac. Τα ένζυμα ξενιστή απολινώνουν το D-ala-D-lac στο τριπεπίδιο πρόδρομος, αποδίδοντας τον πρόδρομο πενταπεπτιδίου χαμηλής συγγένειας. Γεμάτος αντοχή στα γλυκοπεπίδια, ωστόσο, απαιτεί όχι μόνο την κατασκευή του τροποποιημένου πρόδρομου, αλλά και την εξάλειψη των φυσιολογικών πρόδρομων ουσιών. Η VanX υδρολύει τη D-ala-D-ala στα συστατικά του αμινοξέα, τα οποία επιτρέπουν στη D-ala-D-lac να είναι το μοναδικό υπόστρωμα για σύνθεση κυτταρικού τοιχώματος. Η VanY υδρολύει το

τελικό D-ala από οποιοδήποτε κανονικό πρόδρομο πενταπεπτιδίου, καθιστώντας το άχρηστο για τη κατασκευή κανονικού κυτταρικού τοιχώματος. Ο μηχανισμός με τον οποίο η VanZ εξυψώνει αντίσταση είναι άγνωστη, αλλά όταν υπάρχει παρέχει μειωμένη ευαισθησία στην ταϊκοπλανίνη.

Η έκφραση των γονιδίων για τους VanA, H, X, Y και Z ρυθμίζεται από το VanR και το VanS, ένα σύστημα αισθητήρα-μετατροπέα δύο συστατικών που αποτελεί μέρος της οπερώνης VanA εντός του Tn1546. Αν και οι ειδικοί ρυθμιστικοί παράγοντες δεν είναι γνωστοί, η παρουσία γλυκοπεπτιδίων στο περιβάλλον έχει ως αποτελέσματα την ενεργοποίηση του VanS μέσω της αυτοφωσφορυλίωσης. Το φωσφορυλιωμένο VanR αυξάνει τη μεταγραφή *VanH*, *A*, *X*, *Y* και *Z* μέσω αλληλεπίδρασης με συγκεκριμένες περιοχές προαγωγέα. Το *VanR* αλληλεπιδρά επίσης με τη δική του περιοχή προαγωγέα, αυξάνοντας τη μεταγραφή *VanR* και *VanS*. Κλινικά στελέχη που περιέχουν το οπερόνιο *VanA* αλλά περιέχουν εκαθαρισμένα γονίδια *VanR* και *VanS* έχουν απομονωθεί και είναι ευαίσθητα τόσο στη *vancomycin* όσο και στην *teicoplanin*. Αυτό υποδηλώνει ότι απαιτείται δραστηριότητα *VanR* για την πλήρη έκφραση του οπερονίου *VanA*.

Τα οπερόνια *VanA* και *VanB* είναι μακράν τα πιο διαδεδομένα στις ανθρώπινες λοιμώξεις *GRE*. Στον φαινότυπο *VanA*, ο εντερόκοκκος είναι ανθεκτικός τόσο στη *vancomycin* όσο και στην *teicoplanin*. Στον φαινότυπο *VanB*, η *vancomycin* αλλά όχι η *teicoplanin* προκαλεί αντίσταση με αποτέλεσμα έναν ανθεκτικό στη *vancomycin*, ευαίσθητο στην *teicoplanin* φαινότυπο. Ωστόσο, η συστατική έκφραση (η οποία μπορεί να επιλεγεί με έκθεση στην *teicoplanin*) έχει ως αποτέλεσμα την αντίσταση και στις δύο ενώσεις. Η αντοχή στο VanC είναι εγγενής στο *E. gallinarum* και στο *E. casseliflavus*. Έχουν περιγραφεί συνολικά εννέα οπερόνια αντίστασης. Μπορούν να ομαδοποιηθούν ανάλογα με τη δραστηριότητα λιγάσης τους. Τα οπερόνια που κωδικοποιούν τις λιγάσες D-lac έχουν ως αποτέλεσμα υψηλού επιπέδου αντίσταση με τα MIC να είναι περισσότερα από 256 mg/ml (*VanA*, *VanB*, *VanD* και *VanM*) ενώ τα οπερόνια που κωδικοποιούν λιγάσες D-ser καταλήγουν σε αντίσταση χαμηλού επιπέδου με MIC από 8 έως 16 mg/ml (*VanC*, *VanE*, *VanG*, *VanL* και *VanN*). Από τους χαμηλού επιπέδου φαινότυπους αντίστασης, μόνο το *VanN* έχει αποδειχθεί ότι είναι μεταβιβάσιμο. Η οριζόντια μεταφορά των γονιδίων Van πραγματοποιείται μέσω ποικίλων μηχανισμών. Το *VanA* κινητοποιείται στο τρανσποζόνιο *Tn1546* της οικογένειας Tn3. Το *Tn1546* βρίσκεται τόσο σε μη συζευγμένα όσο και σε συζευγμένα πλασμίδια. Τα πλασμίδια *Inc.18* είναι πλασμίδια ευρέος φάσματος ξενιστών που έχουν εμπλακεί στη μεταφορά του οπερονίου *VanA* σε ανθεκτικό στη *methicillin S. aureus*. Ανθεκτικό στη *vancomycin S. aureus (VRSA)* έχει βρεθεί σε κλινικές ρυθμίσεις σε λίγες περιπτώσεις. Οι *Werner et al.* απέδειξαν in vitro ότι η μεταφορά του *Tn1546* μεταξύ των ειδών είναι σχετικά ασυνήθιστη σε σύγκριση με τη μεταφορά εντός των ειδών. Φαίνεται ότι ενώ τα πλασμίδια ευρείας περιοχής ξενιστή μπορούν να μεταφέρονται μεταξύ των ειδών, η σταθερότητά τους εντός διαφορετικών ειδών ποικίλλει. Ως εκ τούτου, τα πλασμίδια ευρείας περιοχής ξενιστή που περιέχουν ένα άθικτο αντίγραφο του *Tn1546* μπορούν να μεταφέρουν ανθεκτικότητα στους σταφυλόκοκκους πιο σταθερά, αφού το τρανσποζόνιο μπορεί να μεταφερθεί σε αντίγραφα εντός του σταφυλοκοκκικού στελέχους που είναι σταθερά. Σταφυλοκοκκικές παραλλαγές που έχουν αποκτήσει πλασμίδια ευρείας κλίμακας ξενιστή με παραλλαγές *Tn1546* που έχουν χάσει την ικανότητά τους να μεταφέρονται μέσω διαγραφής ή εισαγωγής στα γονίδια μετάθεσης θα παρουσιάσουν έναν ασταθή φαινότυπο λόγω της αστάθειας του πλασμιδίου στο σταφυλοκοκκικό περιβάλλον. Επιπλέον, in vitro μελέτες που καταδεικνύουν τη μεταφορά του *Tn1546* από τον

εντερόκοκκο στον *S. aureus* έχουν συμβεί στο *E. faecalis*. Έχει παρατηρηθεί ομολογία αλληλουχίας μεταξύ των πλασμιδίων που βρέθηκαν σε απομονώσεις VRSA και των απομονώσεων GRE που ελήφθησαν από ασθενείς μολυσμένους με VRSA, με την μεγαλύτερη επικάλυψη να εμφανίζεται σε απόμονωμένα στελέχη *E. faecalis*. Σε σύγκριση με το *E. faecium*, το *E. faecalis* που περιέχει *VanA* είναι σχετικά ασυνήθιστο στο κλινικό περιβάλλον. Εάν το *E. faecalis* είναι πιο αποτελεσματικός (αλλά λιγότερο κοινός) δότης από το *E. faecium*, τότε αυτό μπορεί να βοηθήσει να εξηγηθεί γιατί το *VanA* στους σταφυλόκοκκους είναι σπάνιο. Το *VanB* μεταφέρεται συχνότερα σε ένα φέρον σε *Tn5382/1549* ή σε σχετικά συζευκτικά τρανσποζόνια. Τα τρανσποζόνια που φέρουν *VanB* έχουν ταυτοποιηθεί σε πλασμίδια ευαίσθητα στη φερομόνη και σε συζυγή πλασμίδια. Οι περίπλοκες ενζυμικές οδοί που προσδίδουν αντίσταση στα γλυκοπεπτίδια προηγούνται της εμφάνισης του GRE στα τέλη της δεκαετίας του 1980. Το *E. gallinarum* και το *E. casseliflavus* παρουσιάζουν έμφυτη αντίσταση χαμηλού επιπέδου μέσω ενός χρωμοσωμικά κωδικοποιημένου οπερονίου *VanC75* και έχουν εμπλακεί ως πηγή των γονιδίων που παρατηρούνται σε άλλους φαινοτύπους *Van*. Επιπλέον, ένας αριθμός οργανισμών του εδάφους και του εντέρου έχουν ταυτιστεί ότι φέρουν γονίδια *VanB* και μπορεί να έχουν παίξει ρόλο στη μεταφορά γονιδίων ανθεκτικότητας στα γλυκοπεπτίδια στο *E. faecium*. Οι εντερόκοκκοι αναγνωρίζονται όλο και περισσότερο ότι ανήκουν σε δύο ξεχωριστά clades, ένα που κυριαρχεί στο νοσοκομειακό περιβάλλον και ένα άλλο εντός της κοινότητας. Αυτά τα clades διαφέρουν γενετικά και μπορεί να έχουν απόκλιση μεταξύ 300.000 και ένα εκατομμύριο χρόνια πριν. Ο νοσοκομειακός κλάδος έχει αποκτήσει λοιμογόνους παράγοντες και καθοριστικούς παράγοντες αντοχής που παρέχουν ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα σε αυτό το περιβάλλον. Η απόκτηση της cassette *VanA* στα τέλη της δεκαετίας του 1980 πιθανότατα προσέφερε περαιτέρω πλεονέκτημα που συνέβαλε στην παρατηρούμενη αύξηση του επιπολασμού των λοιμώξεων λόγω του *E. faecium*.

4.2.7.1.7) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Streptogramins*

Ο συνδυασμός *Streptogramins B/A Kinoupristine-Dalfopristine* είναι ένα από τα δύο αντιβιοτικά που έχουν εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από ανθεκτικό στη *vancomycin E. faecium*. Επειδή το *E. faecalis* είναι εγγενώς ανθεκτικό στις *streptogramins*, η πλειονότητα των γονιδίων που προσδίδουν οριζόντια μεταφερόμενη αντοχή έχουν απομονωθεί από το *E. faecium*. Μεταξύ 1 έως 12% των απομονώσεων του *E. faecium* είναι ανθεκτικά στις *Streptogramins*. Υπάρχουν τρεις μηχανισμοί με τους οποίους τα επίκτητα γενετικά στοιχεία προκαλούν αντίσταση στη *streptogramins*: ακετυλίωση του αντιβιοτικού, εκροή του αντιβιοτικού και διμεθυλίωση της θέσης στόχου 23S rRNA. Μέχρι σήμερα, 12 γονίδια που προκαλούν αντίσταση στη *streptogramins* έχουν περιγραφεί στους εντερόκοκκους, αν και επιπλέον γονίδια έχουν περιγραφεί σε σταφυλόκοκκους και στρεπτόκοκκους. Η ευρεία χρήση της *virginamycin*, μιας κτηνιατρικής ένωσης *streptogramins A*, συσχετίστηκε με εκτεταμένη αντίσταση μεταξύ των εντερόκοκκων που απομονώθηκαν από ζώα εκτροφής και γεωργικά λύματα. Συνεπώς, η αντοχή στην *quinupristine-dalfopristine* είναι πιο κοινή σε περιβαλλοντικά δείγματα, αν και ο επιπολασμός σε νοσοκομειακές λοιμώξεις με αντοχή αυξάνεται. Η ενζυματική ακετυλίωση των ενώσεων της *streptogramins A* ήταν ο πρώτος μηχανισμός αντίστασης που περιγράφηκε στην κατηγορία. Τα γονίδια ακετυλοτρανσφεράσης της *vancomycin vatD*, *vatE* και *vatH* είναι μεταξύ των γονιδίων αντίστασης στη *streptogramins* με πιθανή κτηνιατρική προέλευση. Το *vatD* και το *vatE* (παλαιότερα ονομαζόταν *satG*) έχουν απομονωθεί από πλασμίδια παράλληλα με τα γονίδια *erm*

και *vgbA* που μειώνουν την ευαισθησία στη *streptogramins B* — παρέχοντας έτσι πλήρη αντίσταση στην *quinupristine-dalfopristine*. Ένα πλασμίδιο έχει ταυτοποιηθεί τόσο με το *vatD* όσο και με το *VanA* οπερόνιο, με αποτέλεσμα την αντίσταση τόσο στη *vancomycin* όσο και στην *quinupristine* (αλλά όχι στη νταλφοπριστίνη) όταν εκφράζεται σε κύτταρα δέκτες *in vitro*. Το *VatH* μπορεί να παρατηρηθεί σε συνδυασμό με μια άλλη *streptogramin acetyltransferase*, τη *VgbA*, τη μόνη γνωστή ακετυλοτρανσφεράση με δράση έναντι της *streptogramin B* σε εντερόκοκκους. Όλα τα παραπάνω γονίδια ακετυλοτρανσφεράσης έχουν απομονωθεί αποκλειστικά από το *E. faecium*, με εξαίρεση το *vatE* που έχει απομονωθεί από το *E. faecium* και από το *E. faecalis* σε κτηνιατρικό περιβάλλον. Το κανάλι εκροής ABC *VgaD* παίζει επίσης ρόλο στην επίκτητη αντίσταση στη *streptogramin*, ανεξάρτητα από την εγγενή εκροή ABC καναλιών που κωδικοποιούνται από γονίδια *lsa* στο *E. faecalis* και γονίδιο *msrC* στο *E. faecium*. Το *VgaD* έχει περιγραφεί μόνο στο *E. faecium*. Το *vgaD* βρέθηκε σε ένα πλασμίδιο με *vatH*, που και τα δύο προσδίδουν μόνο αντίσταση στη *streptogramin A*. Μέχρι σήμερα, δεν έχουν περιγραφεί άλλες αντλίες εκροής *streptogramin*. Ίσως ο καλύτερα κατανοητός μηχανισμός αντοχής στη *streptogramin* είναι η διμεθυλίωση του 23S rRNA. Αυτός ο μηχανισμός αντίστασης, ο οποίος προσδίδει τον φαινότυπο MLSA ή MLSB λαμβάνει χώρα μέσω της απόκτησης των γονιδίων *ermA* ή *ermB* σε πλασμίδια ευρείας περιοχής ξενιστή όπως το pAMβ1. Εάν αυτά τα πλασμίδια περιέχουν επίσης γονίδια *vatE* ή *vatD*, τότε προσδίδουν αντίσταση στην *quinupristine-dalfopristine* όταν αποκτάται από ένα κύτταρο δέκτη.

4.2.7.1.8) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Linezolid*

Πριν από την έγκριση του FDA το 2000, υπήρχαν αναφορές αντοχής στη *linezolid* στους εντερόκοκκους, αλλά ήταν σπάνιες. Η εμφάνιση αντοχής στη *linezolid* συνέβη αργά και μόνο σε σποραδικές περιπτώσεις που σχετίζονται με παρατεταμένη έκθεση. Η μελέτη LEADER που χρηματοδοτείται από τη βιομηχανία παρακολούθησε την αποτελεσματικότητα της *linezolid* από το 2004 έως το 2009 και βρήκε ετήσια ποσοστά αντοχής μεταξύ 0,49 και 1,83%. Αντίθετα, ο Pogue et al. βρήκε αντοχή στη *linezolid* στο 20% των δειγμάτων GRE από το Ιατρικό Κέντρο του Πανεπιστημίου του Πίτσμπουργκ. Μόνο το 25% των απομονώσεων στη μελέτη τους συσχετίστηκε με προηγούμενη έκθεση σε *linezolid*, υποδηλώνοντας κλωνική εξάπλωση. Το *Linezolid* είναι μια πρώτης κατηγορίας *oxazolidinone*, μια εξ ολοκλήρου συνθετική κατηγορία αντιβιοτικών που συνδέεται με το σύμπλεγμα έναρξης και αναστέλλει την πρωτεϊνοσύνθεση. Τα περισσότερα βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των εντερόκοκκων, έχουν πολλαπλά αντίγραφα των γονιδίων που κωδικοποιούν το 23S rRNA. Το *E. faecalis* έχει τέσσερα αντίγραφα του γονιδίου και το *E. faecium* έξι αντίγραφα. Θεωρητικά, η παρουσία πολλαπλών αντιγράφων γονιδίου καθιστά λιγότερο πιθανή την αντίσταση από σποραδικές μεταλλάξεις, επειδή τα μη επηρεασμένα αντίγραφα γονιδίου θα κάλυπταν την επίδραση του μεταλλαγμένου γονιδίου. Ωστόσο, ο ανασυνδυασμός μεταξύ ευαίσθητων και ανθεκτικών αντιγράφων (που αναφέρεται ως «γονιδιακή μετατροπή») θα δώσει στελέχη με πολλαπλά μεταλλαγμένα αντίγραφα υπό επίμονη επιλεκτική πίεση *Linezolid*. Σε κλινικά στελέχη, μια μετάλλαξη σε ένα γονίδιο rRNA του *E. faecium* προσέδωσε MIC από 8 έως 16 mg/ml. Η ίδια μετάλλαξη σε περισσότερα από 3 γονίδια rRNA προσέδωσαν MIC μεταξύ 64 έως 128 mg/ml. Έχει εντοπιστεί μια ποικιλία σημειακών μεταλλάξεων που προσδίδουν αντοχή στη *linezolid*, η πιο κοινή από τις οποίες είναι το G2576T. Στα πιο πρόσφατα αποτελέσματα της μελέτης LEADER (2009), η μετάλλαξη G2576T εντοπίστηκε και στα οκτώ από τα ανθεκτικά στη *linezolid* στελέχη εντερόκοκκων που απομονώθηκαν στις Ηνωμένες Πολιτείες. Τέσσερα από

τα οκτώ στελέχη που βρέθηκαν σε αυτή τη μελέτη απομονώθηκαν στο Λούισβιλ, στο Κεντάκι και εμφανίστηκαν κλωνικά σχετιζόμενα. Άλλες σποραδικές σημειακές μεταλλάξεις έχουν συσχετιστεί με αντοχή στη *linezolid*, συμπεριλαμβανομένων των G2505A και L4 (F101L).

Το 2006, το μεταβιβάσιμο γονίδιο *cfr* αναγνωρίστηκε στο *S. aureus* ως πηγή αντίστασης στη *linezolid*, τις *lincosamides* και τις ενώσεις της *streptogramin A*, μεταξύ άλλων. Η *Cfr* κωδικοποιεί μια μεθυλτρανσφεράση rRNA που τροποποιεί μια αδενοσίνη στην περιοχή σύνδεσης *linezolid* στο 23S rRNA, αποτρέποντας τη δέσμευση αντιβιοτικών. Υποτίθεται ότι το γονίδιο *cfr* προέκυψε από ζωικά στελέχη βακτηρίων που εκτέθηκαν σε φυσικές ενώσεις με θέση δέσμευσης rRNA παρόμοια με τη *oxazolidinone*. Το 2011, το *cfr* εντοπίστηκε σε ένα στέλεχος *E. faecalis* (ονομαζόμενο EF-01) από βοοειδή αγρόκτημα στην Κίνα. Σε αυτό το στέλεχος, το γονίδιο εντοπίστηκε σε ένα πλασμίδιο (pEF-01) και πλαισιώθηκε από το IS1216, υποδηλώνοντας δυνατότητα μεταφοράς. Αυτό ήταν ο πρώτος εντερόκοκκος που φιλοξενούσε *cfr* που αναφέρθηκε στη βιβλιογραφία, αν και ανθρώπινες απομονώσεις *E. faecalis* και *E. faecium* με *cfr* αναφέρθηκαν σε μια περίληψη του 2010. Συνολικά, η αντοχή στη *linezolid* παραμένει σπάνια στους εντερόκοκκους.

4.2.7.1.9) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Daptomycin*

Η *daptomycin* είναι μια λιποπρωτεΐνη με βακτηριοκτόνο δράση κατά των εντερόκοκκων. Αν και δεν έχει εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία του GRE, χρησιμοποιείται συχνά από κλινικούς γιατρούς για το σκοπό αυτό. Η επιδημιολογία της αντοχής στη *daptomycin* στον εντερόκοκκο (που ορίζεται ως MIC περισσότερη από 4 mg/ml) αναθεωρήθηκε πρόσφατα από τους Kelesidis et al. Η αντοχή στη *daptomycin* σε αυτή τη μελέτη ήταν περίπου 0,6% (απομονώσεις ανθεκτικές στη *daptomycin* / 17.084 απομονώσεις εντερόκοκκου συνολικά). Γενικά, το *E. faecium* είναι πιο πιθανό από το *E. faecalis* να εκφράσει αντοχή στη *daptomycin*, αν και έχει αναφερθεί ανθεκτικότητα και στα δύο είδη. Ο αυξημένος επιπολασμός της αντοχής στη *daptomycin* στο *E. faecium* μπορεί να αντανάκλα αυξημένη χρήση *daptomycin* με αυτό το είδος σε σύγκριση με το *E. faecalis*, το οποίο είναι συνήθως ευαίσθητο στις *penicillins*. Η αντίσταση στη *daptomycin* φαίνεται να είναι λιγότερο συχνή στη Βόρεια Αμερική από ό,τι στην Ασία ή την Ευρώπη. Η *daptomycin* ενσωματώνεται στην κυτταρική μεμβράνη θετικών κατά *Gram* οργανισμών παρουσία φυσιολογικών συγκεντρώσεων ασβεστίου και προάγει τη διαρροή ενδοκυττάριου καλίου στον εξωκυτταρικό χώρο, με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο λόγω καταστροφής της διακυτταρικής βαθμίδας καλίου. Για την παρεμβολή της *daptomycin* απαιτείται κανονική πολικότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Στους σταφυλόκοκκους, η μεταβολή του φορτίου της κυτταρικής μεμβράνης λόγω της τροποποίησης των λιποπρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης έχει συσχετιστεί με μειωμένη ευαισθησία στη *daptomycin*. Ένας αριθμός γονιδίων έχει περιγραφεί στους σταφυλόκοκκους που συμβάλλουν στην αντίσταση στη *daptomycin*, κανένα από τα οποία δεν έχει εντοπιστεί στον εντερόκοκκο μέχρι σήμερα. Ενώ ο μηχανισμός της αντίστασης στη *daptomycin* στον εντερόκοκκο παραμένει άλυτος, αρκετές αναφορές έχουν αποσαφηνίσει γονιδιακές μεταλλάξεις που σχετίζονται με την αντίσταση στη *daptomycin* στον εντερόκοκκο. Οι Palmer et al. δημιούργησαν τρία ανθεκτικά στη *daptomycin* στελέχη εκθέτοντας το *E. faecalis* σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις *daptomycin* έως ότου σταθεροποιηθεί η αντίσταση. Στη συνέχεια πραγματοποίησαν πλήρη αλληλούχιση του γονιδιώματος των στελεχών πριν και μετά την εμφάνιση αντοχής στη *daptomycin* και εντόπισαν επτά γονιδιακές μεταλλάξεις. Από τις επτά

μεταλλάξεις που παρατηρήθηκαν σε αυτή τη μελέτη, μόνο οι μεταλλάξεις των γονιδίων *EF1797* και *EF0631* αναγνωρίστηκαν και στα τρία ανθεκτικά στελέχη. Το *EF1797* κωδικοποιεί μια υποτιθέμενη πρωτεΐνη μεμβράνης που μπορεί να εμπλέκεται στη σύνθεση *phosphatidylserine* και *sphingolipids*, αλλά η λειτουργία της δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Το *EF0631* κωδικοποιεί μια πιθανή συνθετάση *cardiolipin* (*cls*), μια τρανσφωσφατιδυλάση που εμπλέκεται στη σύνθεση της πρωτεΐνης *cardiolipin* της κυτταρικής μεμβράνης. Μία ειδική μετάλλαξη σε αυτό το γονίδιο, το R218Q, βρέθηκε σε δύο από τα ανθεκτικά στελέχη και εμφανίζεται στην υποτιθέμενη ενεργή περιοχή του ενζύμου EF0631. Μέσω σύγκρισης με βάση δεδομένων αλληλουχιών DNA, οι συγγραφείς αναγνώρισαν ένα άλλο στέλεχος *E. faecalis* με μετάλλαξη μετατόπισης πλαισίου EF0631, αλλά αυτό το προϊόν απομόνωσης είχε έναν ευαίσθητο στη *daptomycin* φαινότυπο. Σε μια παρόμοια μελέτη, οι [Arias et al.114](#) συνέκριναν την αλληλουχία νουκλεοτιδίων και τις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης των απομονώσεων *E. faecalis* πριν και μετά την ανάπτυξη αντοχής στη *daptomycin* σε ασθενή με βακτηριαμία εντερόκοκκου. Η αλληλουχία γονιδιώματος του ανθεκτικού στελέχους αποκάλυψε τρία μεταλλαγμένα γονίδια: *cls*, *gdpD* και *liaF*. Εντοπίστηκε μετάλλαξη συνθετάσης *cardiolipin*, αλλά όταν το μεταλλαγμένο γονίδιο τοποθετήθηκε σε ευαίσθητο στη *daptomycin* στέλεχος εντερόκοκκου, το MIC δεν άλλαξε. Η ίδια μετάλλαξη *cls* παρατηρήθηκε σε άλλα στελέχη *E. faecalis* και *E. faecium* ανθεκτικά στη *daptomycin*. Οι άλλες δύο γονιδιακές μεταλλάξεις, η *gdpD* (*glycerophosphoryl diester phosphodiesterase*) και η *liaF* (πρωτεΐνη αντιβιοτικού που παρεμποδίζει τον κύκλο του λιπιδίου II), είχαν αντίκτυπο στα MIC όταν ανασυστάθηκαν στο ευαίσθητο στη *daptomycin* στέλεχος. Η μετάλλαξη *liaF* αύξησε το MIC από 1 σε 4 mg/ml. Η μετάλλαξη *gdpD* δεν αύξησε το MIC, αλλά ο συνδυασμός και των δύο πρωτεϊνών αύξησε το MIC στα 12 mg/ml. Μεταλλάξεις τόσο στο *gdpD* όσο και στο *liaF* εντοπίστηκαν επίσης σε άλλα ανθεκτικά στελέχη *E. faecalis* και *E. faecium*, αλλά δεν αποδείχθηκαν στη μελέτη *Palmer*. Έτσι, η συνθετάση της *cardiolipin*, η *GdpD* και η *LiaF* είναι πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης που σχετίζονται με την αντίσταση στη *daptomycin*. Δεδομένου ότι ένας αριθμός διαφορετικών πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη μεμβράνη έχουν συνδεθεί με μειωμένη ευαισθησία στη *daptomycin* στους σταφυλόκοκκους, φαίνεται πιθανό ότι περισσότερα γονίδια που προσδίδουν αντίσταση στον εντερόκοκκο στη *daptomycin* θα εντοπιστούν στο μέλλον.

4.2.7.1.10) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε *Tigecycline*

Η *Tigecycline*, ένα νέο αντιβιοτικό *glycylcycline*, κέρδισε την έγκριση του FDA το 2005 για περίπλοκες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων και πνευμονία που αποκτήθηκε από την κοινότητα (όχι νοσοκομιακή). Έχει χρησιμοποιηθεί χωρίς ενδείξεις για την επιτυχή θεραπεία λοιμώξεων MRSA και GRE. Τα τυπικά MIC *tigecycline* για τον εντερόκοκκο κυμαίνονται από 0,125 mg/ml έως 0,25 mg/ml, ενώ τα MIC με σύσταση μεγαλύτερη από 0,5 mg/ml θεωρούνται ανθεκτικά. Οι μελέτες πρώιμης επιτήρησης της *tigecycline* δεν έδειξαν περιπτώσεις ανθεκτικού εντερόκοκκου, αν και έχουν περιγραφεί δύο αναφορές περιπτώσεων στελεχών *E. faecalis* με MIC 2 mg/ml και 6 mg/ml, αντίστοιχα. Μια πιο πρόσφατη μελέτη από την Ταϊβάν ανασκόπησε αντιμικροβιακή αντίσταση μεταξύ 219 VRE στελεχών που απομονώθηκαν και βρέθηκαν δύο στελέχη με MIC *tigecycline* 0,5 και ένα προϊόν απομόνωσης με MIC 1, με τάση αύξησης του MIC της *tigecycline* με την πάροδο του χρόνου. Ο μηχανισμός της αντίστασης στην *tigecycline* στον εντερόκοκκο είναι άγνωστος. Στον σταφυλόκοκκο, η αντίσταση στην *tigecyclin*,

προκαλείται από μια νέα οικογένεια αντλιών εκροής, αλλά αυτά τα γονίδια δεν έχουν παρουσιαστεί στον εντερόκοκκο.

4.2.7.1.11) Μηχανισμοί ανθεκτικότητας σε άλλα αντιβιοτικά

Εμφανίζεται αντοχή σε άλλα αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των *macrolides*, *tetracyclines*, *chloramphenicol*, *phosphomycin*, *rifampicin* και *quinolones*. Αυτοί οι μηχανισμοί αντοχής δεν θα περιγραφούν, καθώς η αντοχή σε αυτούς τους αντιμικροβιακούς παράγοντες είναι τόσο συνηθισμένη που σπάνια εμπλέκονται στη θεραπεία λοιμώξεων από *Enterococcus* (Hollenbeck, B. L., & Rice, L. B. (2012).

4.3) Επιδημιολογικά στοιχεία στην ΕΕ και Ελλάδα

4.3.1) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό *Listeria*

Χώρα	2010		2011		2012		2013		2014		2015		Σύνολο	
	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%
Αυστρία	32/34	94.1	21/26	80.8	1αν-36	2.8	17/36	47.2	42/49	85.7	33/38	86.8	146/219	66.7
Βέλγιο	37/40	92.5	76/70	100.0	66/83	79.5	73/66	100.0	82/84	97.6	0/83	0.0	334/426	78.4
Βουλγαρία	4-Απρ	100.0	4-Απρ	100.0	7-Οκτ	70.0	0/3	0.0	6-Οκτ	60.0	2-Μαΐ	40.0	23/36	63.9
Κύπρος	1-Ιαν	100.0	2-Φεβ	100.0	0/1	0.0	0/1	0.0	0/0	NA	0/0	NA	3-Μαΐ	60.0
Τσεχική Δημοκρατία	0/26	0.0	0/35	0.0	20/32	62.5	27/36	75.0	33/38	86.8	Αυγ-36	22.2	88/203	43.3
Γερμανία	10/377	2.7	5/331	1.5	0/414	0.0	0/463	0.0	0/598	0.0	0/580	0.0	15/2763	0.5
Δανία	59/62	95.2	48/49	98.0	32/50	64.0	50/51	98.0	44/92	47.8	44/44	100.0	277/348	79.6
Εσθονία	0/5	0.0	0/3	0.0	0/3	0.0	0/2	0.0	4-Ιαν	100.0	10-Νοε	90.9	14/25	56.0
Ελλάδα	0/10	0.0	0/10	0.0	0/11	0.0	3-Οκτ	30.0	3-Οκτ	30.0	13/31	41.9	19/82	23.2
Ισπανία	17/129	13.2	20/91	22.0	6/109	5.5	32/140	22.9	13/161	8.1	0/206	0.0	88/836	10.5
Φινλανδία	21/71	29.6	0κτ-43	23.3	0κτ-61	16.4	13/61	21.3	22/65	33.8	44/46	95.7	120/347	34.6
Γαλλία	15/312	4.8	20/282	7.1	0/348	0.0	0/369	0.0	0/374	0.0	0/410	0.0	35/2,095	1.7
Ουγγαρία	Νοε-20	55.0	1-Νοε	9.1	Φεβ-13	15.4	Ιαν-24	4.2	Μαΐ-39	12.8	0/37	0.0	20/144	13.9
Ιρλανδία	4-Οκτ	40.0	5-Ιουλ	71.4	10-Νοε	90.9	6-Αυγ	75.0	13/15	86.7	16/19	84.2	54/70	77.1
Ισλανδία	1-Ιαν	100.0	1-Φεβ	50.0	4-Απρ	100.0	1-Ιαν	100.0	4-Απρ	100.0	0/0	NA	11-Δεκ	91.7
Ιταλία	14/157	8.9	23/129	17.8	8/112	7.1	18/143	12.6	15/132	11.4	28/153	18.3	106/826	12.8
Λιθουανία	4-Μαΐ	80.0	2-Ιουν	33.3	6-Αυγ	75.0	1-Ιουν	16.7	8-Ιουλ	100.0	0/5	0.0	21/37	56.8
Λουξεμβούργο	0/0	NA	1-Φεβ	50.0	2-Φεβ	100.0	1-Φεβ	50.0	5-Μαΐ	100.0	0/0	NA	9-Νοε	81.8
Ολλανδία	61/72	84.7	74/87	85.1	62/73	84.9	53/72	73.6	67/90	74.4	46/71	64.8	363/465	78.1
Νορβηγία	21/22	95.5	20/21	95.2	27/30	90.0	18/21	85.7	26/29	89.7	18/18	100.0	130/141	92.2
Πολωνία	15/59	25.4	28/62	45.2	55/54	100.0	41/58	70.7	60/87	69.0	34/70	48.6	233/390	59.7
Πορτογαλία	0/0	NA	1-Ιαν	100.0	4-Απρ	100.0	12-Δεκ	100.0	18/18	100.0	24/28	85.7	59/63	93.7
Ρουμανία	4-Ιουν	66.7	5-Ιαν	100.0	2-Νοε	18.2	1-Σεπ	11.1	2-Μαΐ	40.0	7-Δεκ	58.3	21/44	47.7
Σουηδία	53/63	84.1	34/56	60.7	0/72	0.0	70/93	75.3	28/125	22.4	51/88	58.0	236/497	47.5
Σλοβενία	12-Νοε	100.0	4-Μαΐ	80.0	4-Ιουλ	57.1	17/16	100.0	19/18	100.0	Δεκ-13	92.3	68/70	97.1
Σλοβακία	0/5	0.0	0/31	0.0	0/11	0.0	0/16	0.0	0/29	0.0	Μαρ-18	16.7	3/110	2.7
Ηνωμένο Βασίλειο	18/176	10.2	23/164	14.0	16/183	8.7	65/192	33.9	40/201	19.9	68/186	36.6	230/1,102	20.9
Σύνολο ΕΕ/ΕΟΧ	414/16,86	24.6	428/1,540	27.8	344/1,760	19.5	520/1,917	27.1	559/2,294	24.4	461/2,222	20.7	2,726/11,419	23.9

*Εικόνα 4.3.1.1: Αριθμός και αναλογία απομονώσεων με αλληλουχία μεταξύ όλων των αναφερόμενων περιπτώσεων ανά χώρα και έτος, μελέτη αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος *Listeria monocytogenes*, Ευρωπαϊκή Ένωση/Ευρωπαϊκός Οικονομικός Χώρος, 2010-2015 (n = 2.726) (Merla, C., et al., 2021).*

ΕΕ/ΕΟΧ: Ευρωπαϊκή Ένωση/Ευρωπαϊκός Οικονομικός Χώρος;

NA: δεν ισχύει (δηλώνει την απουσία αναφερόμενων περιπτώσεων λιστερίωσης)

Country	2020		2019		2018		2017		2016			
	National coverage ^(α)	Data format ^(α)	Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates			
			Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate		
Austria	Y	C	41	0.46	38	0.43	27	0.31	32	0.36	46	0.53
Belgium ^(β)	N	C	54	0.59	66	0.72	74	0.81	73	0.80	103	1.1
Bulgaria	Y	A	4	0.06	13	0.19	9	0.13	13	0.18	5	0.07
Croatia	Y	C	5	0.12	6	0.15	4	0.10	8	0.19	4	0.10
Cyprus	Y	C	2	0.23	1	0.11	1	0.12	0	0	0	0
Czechia	Y	C	16	0.15	27	0.25	31	0.29	30	0.28	47	0.45
Denmark	Y	C	44	0.76	61	1.1	49	0.85	58	1.0	40	0.70
Estonia	Y	C	3	0.23	21	1.6	27	2.0	4	0.30	9	0.68
Finland	Y	C	94	1.7	50	0.91	80	1.5	89	1.6	67	1.2
France	Y	C	334	0.50	373	0.56	338	0.50	370	0.55	375	0.56
Germany	Y	C	544	0.65	570	0.69	678	0.82	721	0.87	662	0.81
Greece	Y	C	20	0.19	10	0.09	19	0.18	20	0.19	20	0.19
Hungary	Y	C	32	0.33	39	0.40	24	0.25	36	0.37	25	0.25
Ireland	Y	C	6	0.12	17	0.35	21	0.43	14	0.29	13	0.28
Italy	Y	C	147	0.25	202	0.34	178	0.29	164	0.27	179	0.30
Latvia	Y	C	8	0.42	6	0.31	15	0.78	3	0.15	6	0.30
Lithuania	Y	C	0	0	6	0.21	20	0.71	9	0.32	10	0.35
Luxembourg	Y	C	4	0.64	3	0.49	5	0.83	5	0.85	2	0.35
Malta	Y	C	5	0.97	5	1.0	1	0.21	0	0	1	0.22
Netherlands	Y	C	90	0.52	103	0.60	69	0.40	108	0.63	89	0.52
Poland	Y	C	62	0.16	121	0.32	128	0.34	116	0.31	101	0.27
Portugal	Y	C	47	0.46	56	0.54	64	0.62	42	0.41	31	0.30
Romania	Y	C	2	0.01	17	0.09	28	0.14	10	0.05	9	0.05
Slovakia	Y	C	7	0.13	18	0.33	17	0.31	12	0.22	10	0.18
Slovenia	Y	C	26	1.2	20	0.96	10	0.48	13	0.63	15	0.73
Spain ^(γ,δ)	N	C	191	–	505	–	370	–	284	–	362	–
Sweden	Y	C	88	0.85	113	1.1	89	0.88	81	0.81	68	0.69
EU Total 27	–	–	1,876	0.42	2,467	0.49	2,376	0.50	2,315	0.51	2,299	0.49
United Kingdom	–	–	–	–	154	0.23	168	0.25	160	0.24	201	0.31
EU Total^(ε)	–	–	1,876	0.42	2,621	0.46	2,544	0.47	2,475	0.47	2,500	0.46
Iceland	Y	C	4	1.1	4	1.1	2	0.57	6	1.8	0	0
Norway	Y	C	37	0.69	27	0.51	24	0.45	16	0.30	19	0.36
Switzerland ^(στ)	Y	C	58	0.67	36	0.42	52	0.61	45	0.53	50	0.60

Εικόνα 4.3.1.1.2.: Αναφερθέντα κρούσματα *Listeriosis* από τον άνθρωπο και ποσοστά κοινοποίησης ανά 100.000 πληθυσμού σε κράτη μέλη της ΕΕ και χώρες εκτός ΜΣ ανά χώρα και έτος, 2016–2020 (EFSA, 2021, Σελ. 92)

(α): Y: ναι. N: όχι. A: συγκεντρωτικά δεδομένα. Γ: δεδομένα βάσει περιπτώσεων.

(β): Σύστημα φρουρού. ποσοστά κοινοποίησης που υπολογίζονται με εκτιμώμενη πληθυσμιακή κάλυψη 80% για το Βέλγιο.

(γ): επιτήρηση φρουρού. δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με την εκτιμώμενη κάλυψη. Το ποσοστό κοινοποίησης δεν εκτιμάται για την Ισπανία.

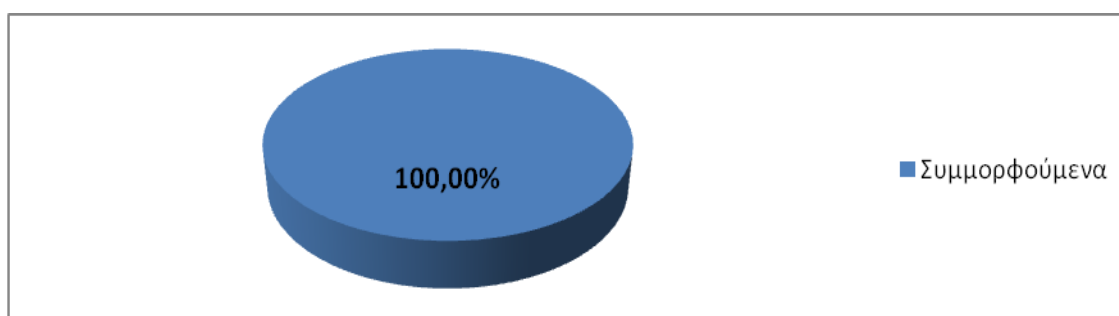
(δ): Τα δεδομένα δεν είναι πλήρη το 2020, ποσοστό μη εκτιμώμενο.

(ε): Οι περιπτώσεις που αναφέρθηκαν από το Ηνωμένο Βασίλειο τα έτη 2016–2019 ελήφθησαν επίσης υπόψη για αυτήν την εκτίμηση (ΕΕ-28). Όταν συλλέχθηκαν τα δεδομένα του ΗΒ για την περίοδο 2016–2019, το ΗΒ ήταν κράτος μέλος της ΕΕ, αλλά από την 1η Φεβρουαρίου 2020, έγινε τρίτη χώρα.

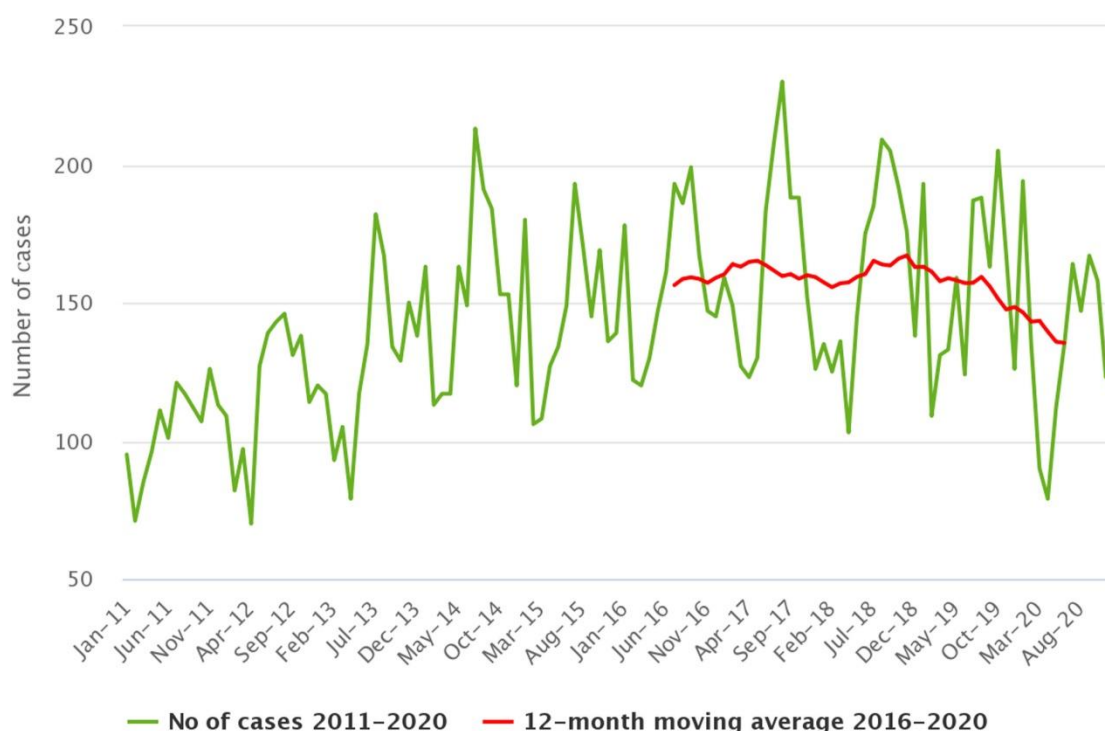
(στ): Η Ελβετία παρείχε δεδομένα απευθείας στην EFSA. Τα ανθρώπινα δεδομένα για την Ελβετία περιλαμβάνουν δεδομένα από το Liechtenstein.

4.3.1.1) Είδος και Κατανομή των Ελέγχων - Μικροβιολογικά κριτήρια προς έλεγχο

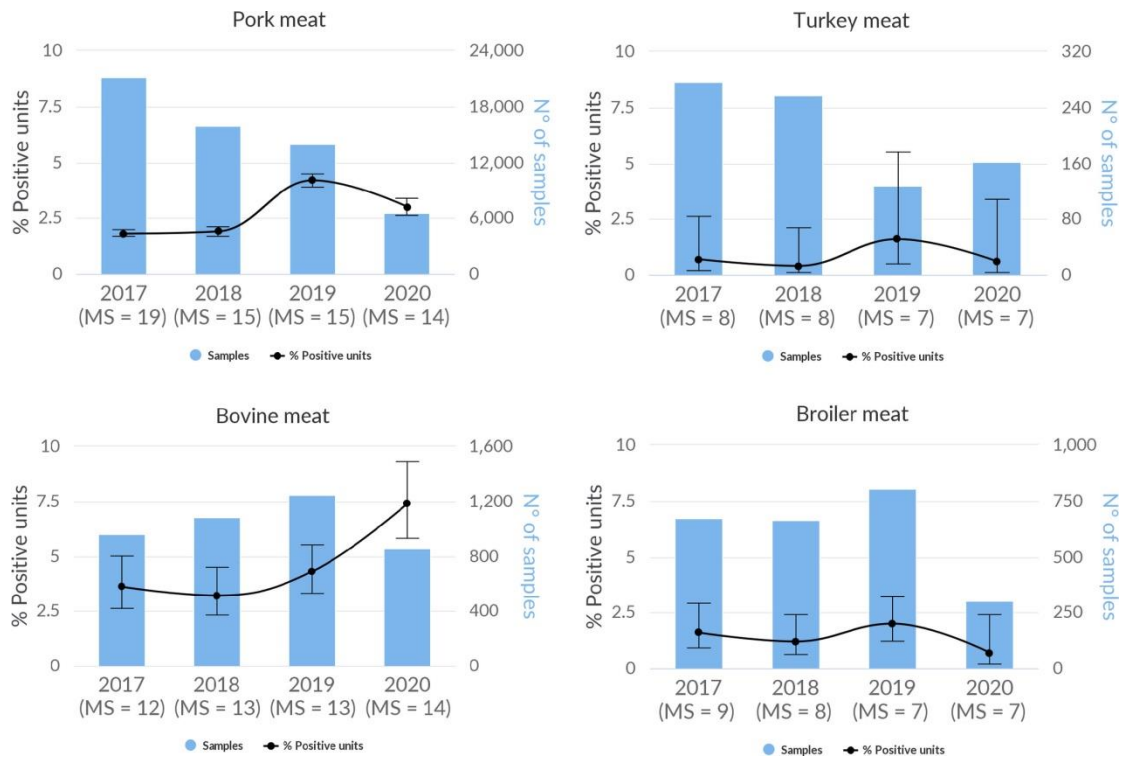
Οι έλεγχοι εστίασαν στην καταμέτρηση *Listeria monocytogenes*, ως κριτήριο ασφάλειας όπως καθορίζεται στον Καν. (ΕΚ) 2073/2005 με στόχο την προστασία του καταναλωτή, σε προϊόντα έτοιμα προς κατανάλωση (καπνιστά αλιεύματα). Προγραμματίστηκαν 10 έλεγχοι και υλοποιήθηκαν και οι 10 δηλαδή το ποσοστό υλοποίησης του συγκεκριμένου προγράμματος ήταν 100%.



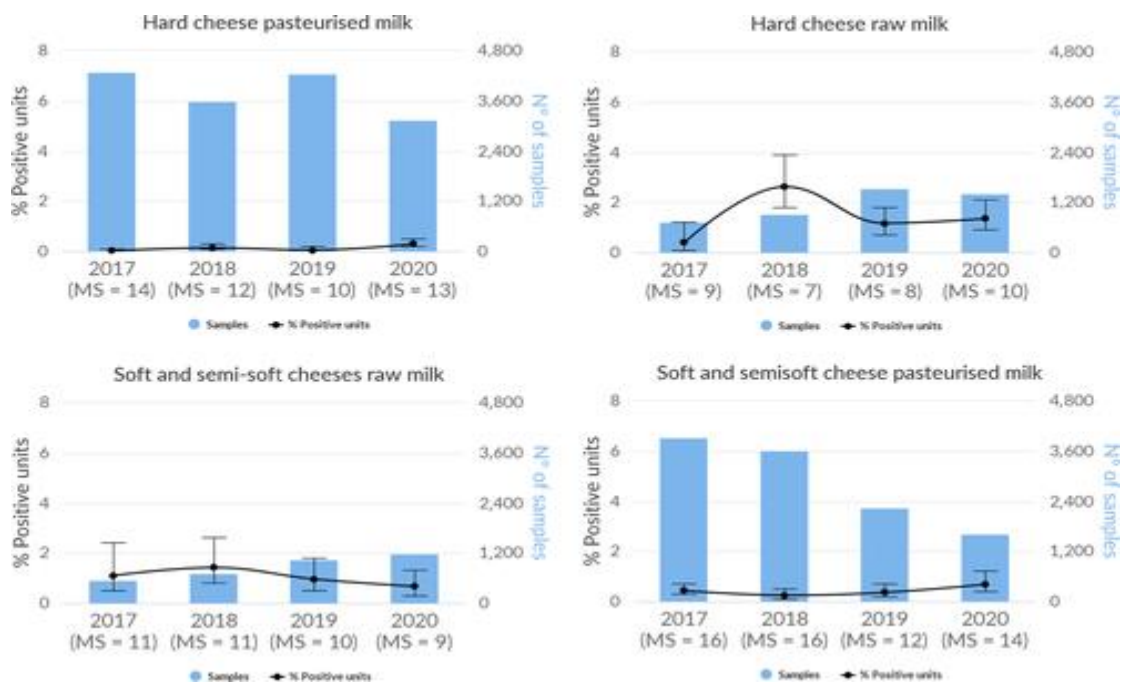
Εικόνα 4.3.1.1.3.: Σε κανένα από τα 10 δείγματα που εξετάστηκαν δεν καταμετρήθηκε *L. monocytogenes*. Η συμμόρφωση ως προς τα όρια της νομοθεσίας, στο σύνολο των ελέγχων ήταν 100% (ΕΦΕΤ 2016).



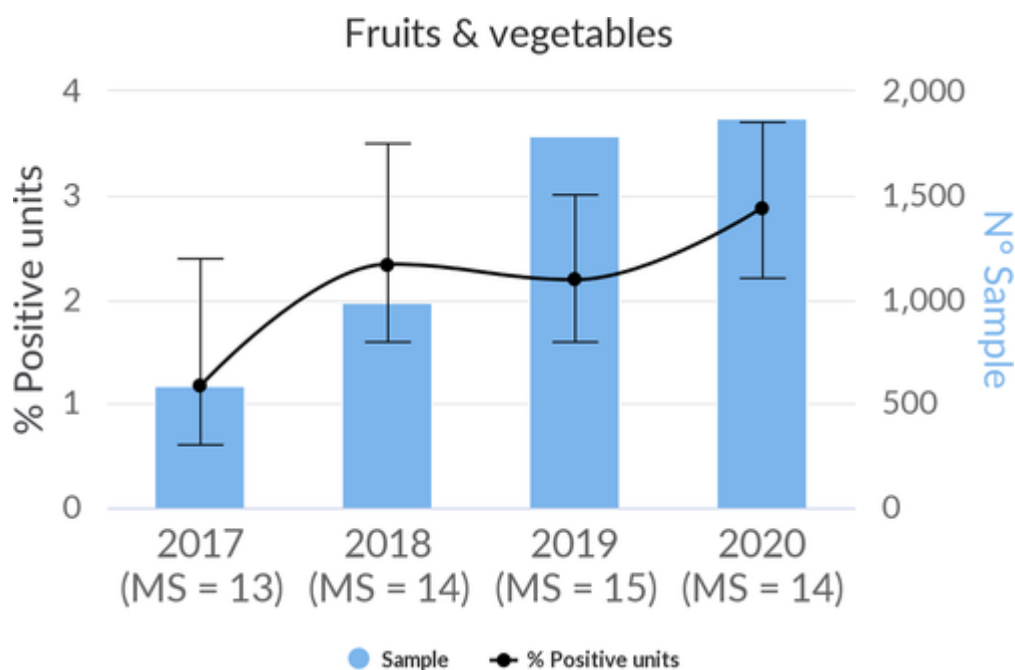
Εικόνα 4.3.1.1.4: Τάσεις στα αναφερόμενα επιβεβαιωμένα κρούσματα *Listeriosis* σε ανθρώπους στην ΕΕ ανά μήνα, 2016–2020 Πηγή: Αυστρία, Βέλγιο, Τσεχία, Κύπρος, Δανία, Εσθονία, Γερμανία, Ελλάδα, Φινλανδία, Γαλλία, Ουγγαρία, Ιρλανδία, Ιταλία, Λετονία, Λιθουανία, Μάλτα, Ολλανδία, Πολωνία, Ρουμανία, Σουηδία, Σλοβακία, Σλοβενία (EFSA, 2021, Σελ. 93).



Εικόνα 4.3.1.15.: Αναλογία θετικών μονάδων δειγματοληψίας *Listeria monocytogenes* (όλα τα στάδια δειγματοληψίας) με τη μέθοδο ανίχνευσης σε κρέας και προϊόντα κρέατος RTE (χοιρινό κρέας, κρέας γαλοπούλας, κρέας κρεατοπαραγωγής, βόειο κρέας), ΕΕ, 2020–2017(EFSA, 2021, Σελ. 96)



Εικόνα 4.3.1.16.: Αναλογία θετικών μονάδων δειγματοληψίας *Listeria monocytogenes* (όλα τα στάδια δειγματοληψίας) με τη μέθοδο ανίχνευσης σε τυριά (μαλακά και ημίμαλακα τυριά νοππό γάλα, σκληρό τυρί νοππό γάλα, σκληρό τυρί παστεριωμένο γάλα, μαλακό και ημίμαλακο τυρί παστεριωμένο γάλα), ΕΕ, 2020–2017(EFSA, 2021, Σελ. 97)



Εικόνα 4.3.1.1.7.: Αναλογία θετικών μονάδων δειγματοληψίας *Listeria monocytogenes* (όλα τα στάδια δειγματοληψίας) με τη μέθοδο ανίχνευσης σε φρούτα και λαχανικά, ΕΕ, 2020–2017(EFSA, 2021, Σελ. 98)

4.3.1.2) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων - Συμπεράσματα

Ανάλογα με τον τρόπο έκφρασης των αποτελεσμάτων και με επίπεδο εμπιστοσύνης 95%, έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα:

A. Μετρώντας αριθμό δειγμάτων (κάθε δείγμα με 5 υπομονάδες αντιμετωπίζεται ως ένα δείγμα), τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 10 εξετασθέντα δείγματα το 100,00% ήταν συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 6,17 και συνεπώς: >93,83% των κυκλοφορούντων καπνιστών αλιευμάτων έτοιμων προς κατανάλωση εκτιμάται ότι είναι συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία.

B. Μετρώντας αριθμό υπομονάδων, τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 50 εξετασθέντα δείγματα το 100,00% ήταν συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 2,76 και συνεπώς: >97,24% των κυκλοφορούντων καπνιστών αλιευμάτων έτοιμων προς κατανάλωση εκτιμάται ότι είναι συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία.

4.3.2) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό *Cambylobacter*

Συνολικές, μέσες ετήσιες και μέσες εβδομαδιαίες επιβεβαιωμένες περιπτώσεις καμπυλοβακτηρίωσης ανά χώρα, ΕΕ/ΕΟΧ ^a , 2008–2016 (n = 1.844.004)														
Χώρες	Περιστατικά καμπυλοβακτηρίωσης										Μέσος ετήσιος αριθμός	Μέση ετήσια επίπτωση (περιστικά/100.000 πληθυσμού)	Μέσος εβδομαδιαίος αριθμός	Μέση εβδομαδιαία επίπτωση (περιπτώσεις/100.000 πληθυσμός)
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Σύνολο				
Αυστρία	3.857	4.150	3.968	5.073	4.695	5.509	5.592	5.645	6.460	44.929	4.992	59	95,8	1.1
Βέλγιο	5.079	5.684	6.038	7.669	6.771	8.817	7.963	N/A	N/A	47.321	5.258	47,9	129,6	1.2
Κύπρος	23	37	55	62	68	57	39	29	21	391	43	3.9	1.7	0.1
Τσεχική Δημοκρατία	19.847	20.035	20.869	18.479	18.102	17.971	20.501	20.670	23.811	18.025	20.32	191.1	384,4	3.7
Δανία	2.898	2.903	3.378	3.392	3.319	3.319	3.318	3.310	3.314	29.675	3.297	59	63.3	1.1
Εσθονία	132	159	178	195	258	360	268	300	281	2.131	237	17.9	4.9	0.4
Φινλανδία	1.963	1.582	1.536	1.866	2.289	2.043	2.415	2.702	2.788	19.184	2.132	39.4	40,9	0,8
Γαλλία	3.300	3.832	4.421	5.383	5.506	5.524	5.594	6.065	6.676	45.729	5.081	7.7	97,5	0.1
Γερμανία	60.522	58.764	61.104	66.214	58.278	58.165	64.798	63.692	68.86	55.972	62.91	76.4	1.193,40	1.5
Ουγγαρία	5.489	6.582	7.157	6.102	6.643	7.238	8.406	8.352	8.513	64.252	7.139	71,9	137	1.4
Ισλανδία	93	46	33	78	30	61	83	61	70	555	62	19.1	2.3	0,7

Ιρλανδία	1.728	1.770	1.614	2.426	2.394	2.284	2.577	2.438	2.503	19.734	2.193	47.7	42.1	0,9
Ιταλία	260	505	397	441	727	1.138	1.186	962	1.007	6.623	736	1.2	14.9	0
Λετονία	NA	NA	NA	7	8	9	37	74	89	224	37	1.3	1.9	0.1
Λιθουανία	759	817	1.089	1.124	926	1.126	1.170	1.178	1.217	9.406	1.045	34.6	20.1	0,7
Λουξεμβούργο	464	521	600	704	587	676	866	254	518	5.190	577	109,8	11.1	2.1
Μάλτα	77	130	203	216	223	243	288	248	210	1.838	204	48.0	4.6	1.1
Ολλανδία	3.179	3.562	4.071	4140	4.077	3.505	3.976	3.562	3.071	33.143	3.682	22.0	70,8	0.4
Νορβηγία	1.329	1.498	1.305	1.524	1.523	1.539	1.832	1.131	1.201	12.882	1.431	28.8	27.5	0.6
Πολωνία	267	357	365	352	429	551	643	650	769	4.383	487	1.3	20.3	0.1
Πορτογαλία	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	266	356	623	208	0,7	6.0	0.1
Ρουμανία	NA	NA	NA	149	92	217	256	311	517	1.542	257	0,9	5.8	0
Σλοβακία	3.048	3.784	4.457	4.541	5.568	5.581	6.705	6.903	7.581	48.524	5.391	99,7	103,5	1.9
Σλοβενία	898	948	1.017	991	998	1.003	1.179	1.129	1.162	9.950	1.106	53,9	21.2	1.0
Ισπανία	5.414	5.279	6.304	5.473	5.777	7.436	11.8	13.5	15.8	76.890	8.573	18.5	164,5	0.4
Σουηδία	2.279	7.167	3.531	3.659	3.504	3.388	4.409	5.051	7.156	40.404	4.466	46,9	85,7	0,9
Ηνωμένο Βασίλειο	54.570	64.089	69.613	71.530	72.463	65.544	66.53	57.87	57.34	57.8683	64.298	101.4	1.233,90	1.9
Σύνολο	17.47	19.4	20.3	21.1	20.4	20.2	22.2	20.6	22.1	1.844.00	20.49	41,9	3927,3	0,8

	5	1	3	0	3	4	3	6	9	4				
--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--	--	--	--

Πίνακας 4.3.2.1: Συνολικές, μέσες ετήσιες και μέσες εβδομαδιαίες επιβεβαιωμένες περιπτώσεις καμπυλοβακτηρίωσης ανά χώρα, ΕΕ/ΕΟΧ α, 2008–2016 (n = 1.844.004) (Lake, I., R., 2019).

*ΕΕ/ΕΟΧ: Ευρωπαϊκή Ένωση/Ευρωπαϊκός Οικονομικός Χώρος; ΗΒ: Ηνωμένο Βασίλειο. ΝΑ: δεν ισχύει.

*27 από τις 31 χώρες που υπέβαλαν στοιχεία.

	2020	2019 ^(α)	2018 ^(α)	2017 ^(α)	2016 ^(α)	Data source
Humans						
Total number of confirmed cases	120,946	220,639	246,570	246,194	246,980	ECDC
Total number of confirmed cases/100,000 population (notification rates)	40.3	60.6	66.0	68.2	69.6	ECDC
Number of reporting MS	27	28	28	27	27	ECDC
Infection acquired in the EU	70,769	109,937	116,246	122,280	122,819	ECDC
Infection acquired outside the EU	1,586	6,514	7,685	6,583	5,966	ECDC
Unknown travel status or unknown country of infection	48,591	104,188	122,639	117,331	118,195	ECDC
Number of foodborne outbreak-related cases	1,319	1,254	2,365	3,608	4,645	EFSA
Total number of foodborne outbreaks	317	319	537	395	474	EFSA
Food^(β)						
Meat and meat products^(γ)						
Number of sampling units	65,895	57,027	26,514	21,521	18,253	EFSA
Number of reporting MS	25	25	26	22	21	EFSA
Milk and milk products^(δ)						
Number of sampling units	2,145	2,749	3,227	2,317	2,062	EFSA
Number of reporting MS	11	11	13	13	11	EFSA

Πίνακας 4.3.2.2: Σύνοψη των στατιστικών του *Campylobacter* που σχετίζονται με τον άνθρωπο και τις κύριες κατηγορίες τροφίμων, ΕΕ, 2016–2020 (EFSA, 2021, Σελ. 28)

ECDC: Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων. EFSA: Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων.

(α): Όταν συλλέχθηκαν δεδομένα του Ηνωμένου Βασιλείου για την περίοδο 2016–2019, το ΗΒ ήταν κράτος μέλος της ΕΕ, αλλά την 1η Φεβρουαρίου 2020 έγινε τρίτη χώρα. Τα δεδομένα από το Ηνωμένο Βασίλειο λαμβάνονται υπόψη για τα έτη 2016–2019, αλλά δεν λαμβάνονται υπόψη στην επισκόπηση της ΕΕ για το 2020.

(β): Συνοπτικά στατιστικά στοιχεία που αναφέρονται σε ΣΚΠ ελήφθησαν αθροίζοντας όλες τις μονάδες δειγματοληψίας (απλή, παρτίδα, παρτίδα σφαγής), στάδια δειγματοληψίας (αγρόκτημα, κέντρο συσκευασίας, μονάδα επεξεργασίας, εργοστάσιο τεμαχισμού, σφαγείο, τροφοδοσία, νοσοκομείο ή εγκατάσταση ιατρικής περίθαλψης, εστιατόριο ή καφετέρια ή παμπ ή μπαρ ή ξενοδοχείο ή υπηρεσία τροφοδοσίας, λιανική, χονδρική, σταθμοί συνοριακού ελέγχου, σχολείο ή νηπιαγωγείο, απροσδιόριστο), στρατηγικές δειγματοληψίας (απογραφή, βολική δειγματοληψία, επιλεκτική δειγματοληψία, αντικειμενική δειγματοληψία και απροσδιόριστη) και δειγματοληψίες (επίσημη δειγματοληψία, επίσημη δειγματοληψία και δειγματοληψία βιομηχανίας, ιδιωτική δειγματοληψία, μη καθορισμένη).

(γ): «Κρέας και προϊόντα κρέατος» αναφέρονται σε σφάγια και νωπό κρέας /έτοιμα προς κατανάλωση (RTE), μαγειρεμένα και ζυμωμένα προϊόντα.

(δ): «Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα» αναφέρονται στο νωπό και παστεριωμένο γάλα και όλα τα γαλακτοκομικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των τυριών.

Country	2020		2019		2018		2017		2016			
	National coverage ^(α)	Data format ^(α)	Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates			
			Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	Y	C	5,406	60.7	6,572	74.2	7,999	90.7	7,204	82.1	7,083	81.4
Belgium	Y	A	5,595	48.6	7,337	64.0	8,086	70.9	8,649	76.2	10,055	88.9
Bulgaria	Y	A	127	1.8	229	3.3	191	2.7	195	2.7	202	2.8
Croatia	Y	C	1,054	26.0	1,722	42.2	1,965	47.9	1,686	40.6	1,524	36.4
Cyprus	Y	C	18	2.0	21	2.4	26	3.0	20	2.3	21	2.5
Czechia	Y	C	17,517	163.8	22,894	215.0	22,895	215.8	24,326	230.0	24,084	228.2
Denmark	Y	C	3,742	64.3	5,402	93.0	4,559	78.9	4,255	74.0	4,712	82.6
Estonia	Y	C	265	19.9	347	26.2	411	31.2	285	21.7	298	22.6
Finland	Y	C	2,074	37.5	4,382	79.4	5,099	92.5	4,289	77.9	4,637	84.5
France ^(β)	N	C	7,920	58.8	7,712	57.4	7,491	55.9	6,579	49.2	6,698	50.3
Germany	Y	C	46,379	55.8	61,277	73.8	67,585	81.6	69,251	83.9	73,736	89.7
Greece	Y	A	218	2.0	366	3.4	357	3.3	-	-	-	-
Hungary	Y	C	4,461	45.7	6,400	65.5	7,117	72.8	7,807	79.7	8,556	87.0
Ireland	Y	C	2,419	48.7	2,776	56.6	3,044	63.0	2,779	58.1	2,511	53.1
Italy ^(γ)	N	C	1,418	-	1,633	-	1,356	-	1,060	-	1,057	-
Latvia	Y	C	104	5.5	133	6.9	87	4.5	59	3.0	90	4.6
Lithuania	Y	C	1,183	42.3	1,221	43.7	919	32.7	990	34.8	1,225	42.4
Luxembourg	Y	C	729	116.4	271	44.1	625	103.8	613	103.8	518	89.9
Malta	Y	C	206	40.0	278	56.3	333	70.0	231	50.2	212	47.1
Netherlands ^(δ)	N	C	2,549	25.2	3,415	34.1	3,091	34.6	2,890	32.5	3,383	38.3
Poland	Y	C	414	1.1	715	1.9	719	1.9	874	2.3	773	2.0
Portugal	Y	C	790	7.7	887	8.6	610	5.9	596	5.8	359	3.5
Romania	Y	C	300	1.6	805	4.1	573	2.9	467	2.4	517	2.6
Slovakia	Y	C	4,921	90.2	7,690	141.1	8,339	153.2	6,946	127.8	7,623	140.5
Slovenia	Y	C	811	38.7	1,085	52.1	1,305	63.1	1,408	68.2	1,642	79.5
Spain ^(ε)	N	C	6,891	-	9,658	-	18,410	-	18,860	-	15,542	-
Sweden	Y	C	3,435	33.3	6,693	65.4	8,132	80.4	10,608	106.1	11,021	111.9
EU Total 27	-	-	120,946	40.3	161,921	54.0	181,324	58.1	182,927	61.0	188,079	64.4
United Kingdom	-	-	-	-	58,718	88.1	65,246	98.4	63,267	96.1	58,901	90.1
EU Total^(δ)	-	-	120,946	40.3	220,639	60.6	246,570	66.0	246,194	68.2	246,980	69.6
Iceland	Y	C	95	26.1	136	38.1	145	41.6	119	35.2	128	38.5
Norway	Y	C	2,422	45.1	4,154	78.0	3,668	69.3	3,883	73.8	2,317	44.5
Switzerland ^(ε)	Y	C	6,200	71.7	7,223	84.2	7,675	90.1	7,221	85.4	7,984	95.4

Πίνακας 4.3.2.3: Αναφερόμενα ανθρώπινα κρούσματα *Campylobacteriosis* και ποσοστά κοινοποίησης ανά 100.000 πληθυσμού σε χώρες ΕΕ-MS και χώρες εκτός MS, ανά χώρα και ανά έτος, 2016-2020 (EFSA, 2021, Σελ. 29)

(α): Y: ναι. N: όχι; A: συγκεντρωτικά δεδομένα. Γ: δεδομένα βάσει περιπτώσεων.

(β): επιτήρηση φρουρού. ποσοστά κοινοποίησης που υπολογίζονται με εκτιμώμενη κάλυψη 20%.

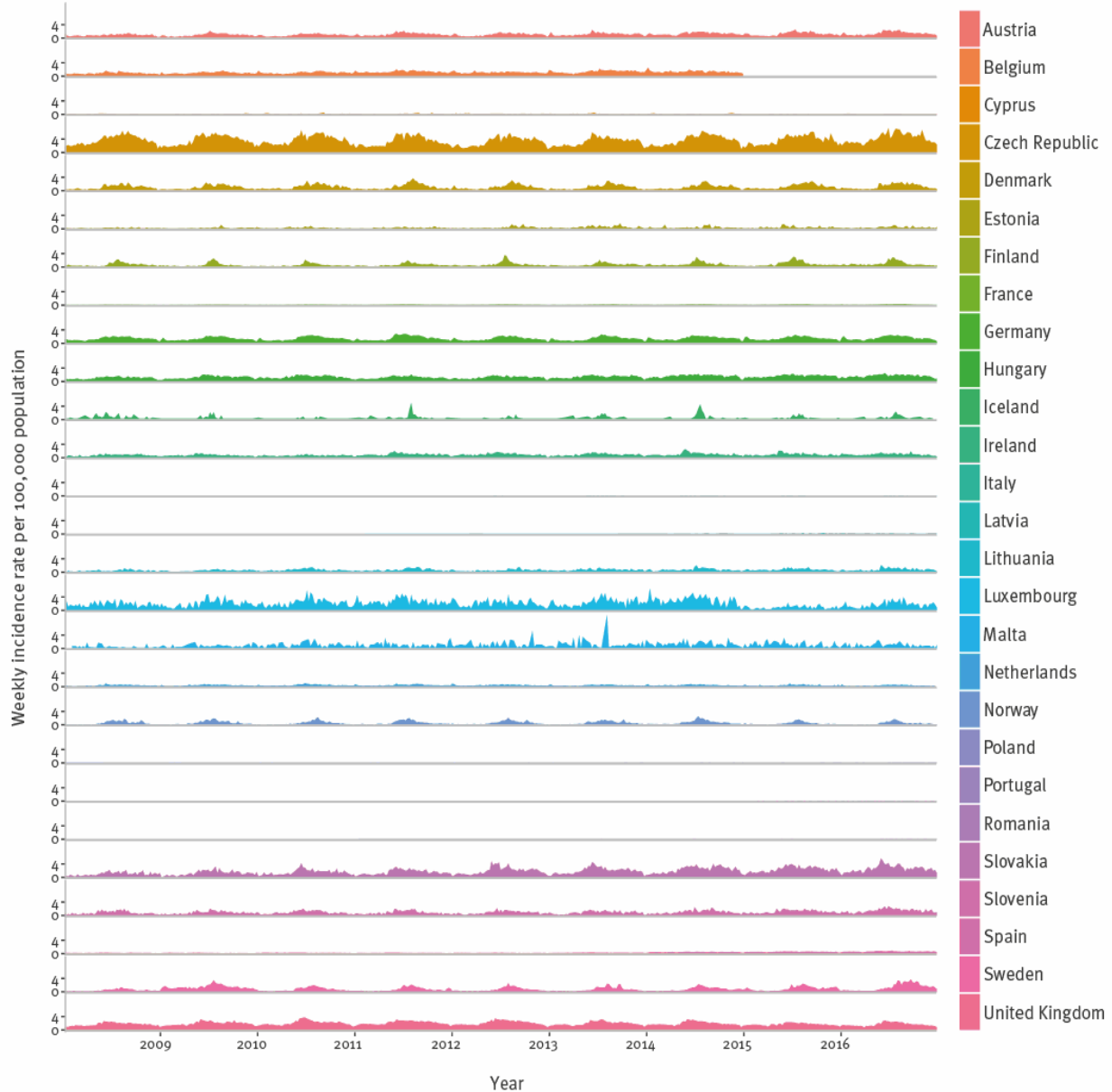
(γ): επιτήρηση φρουρού. δεν υπάρχουν πληροφορίες για την εκτιμώμενη κάλυψη. Επομένως, το ποσοστό κοινοποίησης δεν μπορεί να εκτιμηθεί.

(δ): επιτήρηση φρουρού. Τα ποσοστά κοινοποίησης υπολογίστηκαν με εκτιμώμενη κάλυψη 52% το 2016–2018, 58% το 2019–2020.

(ε): Τα δεδομένα δεν είναι πλήρη το 2020, ποσοστό μη εκτιμώμενο.

(στ): Οι περιπτώσεις που αναφέρθηκαν από το Ηνωμένο Βασίλειο για την περίοδο 2016–2019 ελήφθησαν επίσης υπόψη για αυτήν την εκτίμηση (ΕΕ-28). Όταν συγκεντρώθηκαν τα δεδομένα του Ηνωμένου Βασιλείου για την περίοδο 2016–2019, το Ηνωμένο Βασίλειο ήταν κράτος μέλος της ΕΕ, αλλά την 1η Φεβρουαρίου 2020 έγινε τρίτη χώρα.

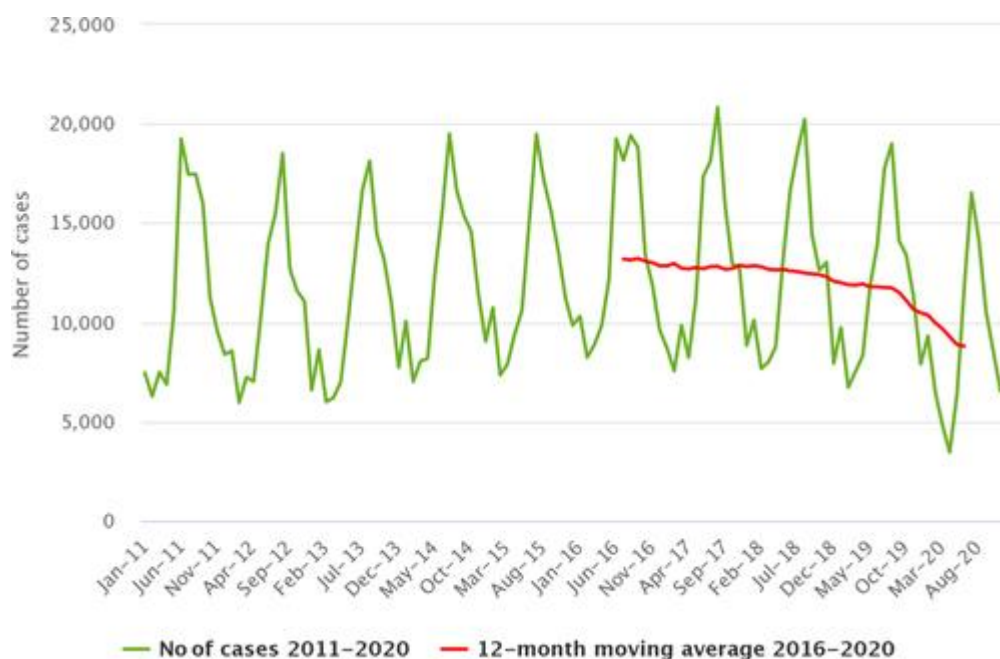
(ζ): Η Ελβετία παρείχε δεδομένα απευθείας στην EFSA. Τα ανθρώπινα δεδομένα για την Ελβετία περιλαμβάνουν δεδομένα από το Liechtenstein.



Εικόνα 12.3.2.1: Εβδομαδιαία επιβεβαιωμένα αναφερόμενα περιστατικά καμπυλοβακτηρίωσης ανά χώρα, ΕΕ/ΕΕΑα, 2008–2016 ($n = 1.844.004$) (Lake, I., R., 2019).

***ΕΕ/ΕΟΧ:** Ευρωπαϊκή Ένωση/Ευρωπαϊκός Οικονομικός Χώρος.

A=κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμού. **B**=Είκοσι επτά από τις 31 χώρες που αναφέρουν.



Εικόνα 13.3.2.2: Τάσεις στις αναφερόμενες επιβεβαιωμένες ανθρώπινες περιπτώσεις *Campylobacteriosis* στην ΕΕ, ανά μήνα, 2016–2020 Πηγή: Αυστρία, Τσεχία, Δανία, Εσθονία, Φινλανδία, Γαλλία, Γερμανία, Ουγγαρία, Ιρλανδία, Ιταλία, Λετονία, Λιθουανία, Μάλτα, Ολλανδία, Πολωνία, Ρουμανία, Σλοβακία, Σλοβενία και Σουηδία. (EFSA, 2021, Σελ. 30)

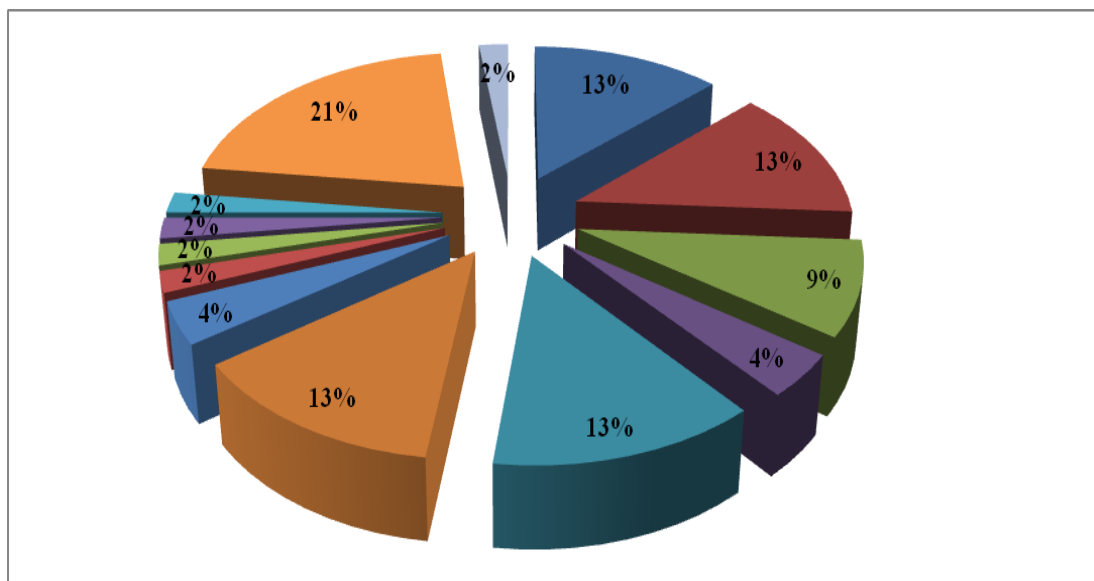
4.3.2.1) Δύναμη και χρονισμός της εποχικής αιχμής

Το πρώτο στάδιο της ανάλυσης ήταν η εκτίμηση της ισχύος και του χρόνου της κορύφωσης της εποχικής καμπυλοβακτηρίωσης ανά χώρα. Για να πραγματοποιήσουμε αυτήν την ανάλυση, εξαιρέσαμε χώρες στις οποίες πάνω από το 10% των εβδομάδων λείπουν δεδομένα καμπυλοβακτηρίωσης ή μέσος εβδομαδιαίος αριθμός λιγότερων από 10 περιπτώσεων καμπυλοβακτηρίωσης, καθώς κάτω από αυτό το όριο θα ήταν δύσκολο να εντοπιστεί μια ισχυρή εποχικότητα. Αυτά τα κριτήρια αποκλεισμού αφαίρεσαν το Βέλγιο, την Κύπρο, την Εσθονία, την Ισλανδία, τη Λετονία, τη Μάλτα, την Πολωνία, την Πορτογαλία και τη Ρουμανία. Η ανάλυση προχώρησε με δεδομένα για 1.784.996 περιπτώσεις καμπυλοβακτηρίωσης από 18 χώρες.

4.3.2.2) Αποτελέσματα

Η ανάλυση περιελάμβανε συνολικά 1.784.996 περιστατικά από 18 χώρες για την περίοδο 2008–2016. Ο Πίνακας 2 παρουσιάζει την εκτιμώμενη εβδομάδα αιχμής κρουσμάτων καμπυλοβακτηρίωσης για κάθε χώρα και το ποσοστό των κρουσμάτων που εμφανίστηκαν κοντά σε αυτήν την εκτιμώμενη αιχμή.

Έλεγχοι εστίασαν στην καταμέτρηση *Campylobacter spp.* σε παρασκευάσματα και προϊόντα πουλερικών κατά τη διανομή-διακίνηση.



Εικόνα 4.3.2.2.1: Είδος και ποσοστό δειγμάτων που λήφθηκαν στο πλαίσιο του διερευνητικού προγράμματος για *Campylobacter spp.* σε παρασκευάσματα από κρέας πουλερικών (κιμάς κοτόπουλο 9%, καπνιστό κοτόπουλο 13%, Κοτολέτα 4%, λουκάνικο κοτόπουλο 13%, μπιφτέκι κοτόπουλο 4%, μπούτι κοτόπουλο 14%, νωπό κοτόπουλο 2%, ρολό κοτόπουλο 2%, σνίτσελ κοτόπουλο 21%, σουβλάκι κοτόπουλο 2%, στήθος κοτόπουλο 4%, ψητό κοτόπουλο φιλέτο φέτες 2%). Τα δείγματα λήφθηκαν από την Ελλάδα (ΕΦΕΤ 2016).

Σε όλα τα δείγματα η μετρούμενη συγκέντρωση *campylobacter* ήταν μικρότερη του προτεινόμενου ορίου των 1000 cfu/g (συγκεκριμένα ήταν <10cfu/g).

4.3.2.3) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων - Συμπεράσματα

Ανάλογα με τον τρόπο έκφρασης των αποτελεσμάτων και με επίπεδο εμπιστοσύνης 95%, έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα:

A. Μετρώντας αριθμό δειγμάτων (κάθε δείγμα με 5 υπομονάδες αντιμετωπίζεται ως ένα δείγμα), τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 47 εξετασθέντα δείγματα το 100% ήταν κάτω από το προτεινόμενο όριο των 1000 cfu/g (στην ουσία ήταν <10cfu/g) προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 2,84 και συνεπώς: >97,16% των κυκλοφορούντων παρασκευασμάτων από κρέας πουλερικών εκτιμάται ότι είναι σύμφωνα με τις γενικές προδιαγραφές για τη συγκέντρωση *Campylobacter spp.*

B. Μετρώντας αριθμό υπομονάδων, τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 235 εξετασθέντα δείγματα το 100% ήταν κάτω από το προτεινόμενο όριο των 1000 cfu/g προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 1,27 και συνεπώς: >98,73% των κυκλοφορούντων παρασκευασμάτων από κρέας πουλερικών εκτιμάται ότι είναι σύμφωνα με τις γενικές προδιαγραφές για τη συγκέντρωση *Campylobacter spp.*

4.3.3) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό *Salmonella*

	2020	2019 ^(α)	2018 ^(α)	2017 ^(α)	2016 ^(α)	Data source
Humans						
Total number of confirmed cases	52,702	87,908	91,858	91,587	94,425	ECDC
Total number of confirmed cases/100,000 population (notification rates)	13.7	19.5	19.6	19.4	20.0	ECDC
Number of reporting MS	27	28	28	28	28	ECDC
Infection acquired in the EU	33,309	58,157	59,763	59,642	52,851	ECDC
Infection acquired outside the EU	967	6,343	6,376	6,001	6,466	ECDC
Unknown travel status or unknown country of infection	18,426	23,408	25,719	25,944	35,108	ECDC
Number of foodborne outbreak-related cases	3,686	10,240	11,631	9,607	11,428	EFSA
Total number of foodborne outbreaks	694	1,284	1,588	1,241	1,372	EFSA
Food						
Meat and meat products						
Number of sampling units	518,570	552,590	433,197	380,090	285,564	EFSA
Number of reporting countries	26	28	28	28	27	EFSA
Milk and milk products						
Number of sampling units	20,192	10,737	11,070	20,730	21,227	EFSA
Number of reporting countries	24	25	24	24	24	EFSA
Fish and fishery products						
Number of sampling units	16,557	14,010	17,123	13,507	12,287	EFSA
Number of reporting countries	23	24	22	22	21	EFSA
Eggs and egg products						
Number of sampling units	11,579	12,093	10,611	15,435	10,933	EFSA
Number of reporting countries	18	21	21	23	20	EFSA
Fruit and vegetables (and juices)						
Number of sampling units	17,222	17,068	10,888	7,579	7,515	EFSA
Number of reporting countries	23	22	22	25	20	EFSA
Animals						
<i>Gallus gallus</i> (fowl)						
Number of sampling units	620,141	752,172	720,717	736,534	699,116	EFSA
Number of reporting countries	26	27	27	28	27	EFSA
Turkeys						
Number of sampling units	63,473	65,960	68,009	74,739	79,245	EFSA
Number of reporting countries	22	23	24	26	24	EFSA
Ducks and geese						
Number of sampling units	412	8,700	9,846	5,743	2,640	EFSA
Number of reporting countries	6	9	5	8	11	EFSA
Pigs						
Number of sampling units	17,234	18,619	17,868	19,239	24,653	EFSA
Number of reporting countries	10	14	14	17	17	EFSA
Bovine animals						
Number of sampling units	28,363	86,871	30,302	654,593	53,198	EFSA
Number of reporting countries	11	14	14	15	16	EFSA

Πίνακας 4.3.3.1: Σύνοψη των στατιστικών στοιχείων της *Salmonella* που σχετίζονται με τον άνθρωπο, τις κύριες κατηγορίες τροφίμων και τα ζωικά είδη, ΕΕ, 2016–2020 (EFSA, 2021, Σελ. 45)

(α): Όταν συλλέχθηκαν τα δεδομένα του HB για την περίοδο 2016–2019, το HB ήταν κράτος μέλος της ΕΕ, αλλά από την 1η Φεβρουαρίου 2020 έγινε τρίτη χώρα. Τα δεδομένα από το HB λαμβάνονται υπόψη για την έτη 2016–2019, ενώ για το 2020, τα δεδομένα του HB δεν ελήφθησαν υπόψη σε αυτήν την επισκόπηση της ΕΕ

Country	2020		2019		2018		2017		2016			
	National coverage ^(α)	Data format ^(α)	Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates			
			Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate		
Austria	Y	C	817	9.2	1,866	21.1	1,538	17.4	1,667	19.0	1,415	16.3
Belgium	Y	C	1,595	13.8	2,527	22.1	2,958	26.0	2,298	20.2	2,699	23.9
Bulgaria	Y	A	187	2.7	594	8.5	586	8.3	796	11.2	718	10.0
Croatia	Y	C	786	19.4	1,308	32.1	1,323	32.2	1,242	29.9	1,240	29.6
Cyprus	Y	C	70	7.9	62	7.1	44	5.1	59	6.9	77	9.1
Czechia	Y	C	10,520	98.4	13,009	122.2	10,901	102.7	11,473	108.5	11,610	110.0
Denmark	Y	C	614	10.5	1,119	19.3	1,168	20.2	1,067	18.6	1,081	18.9
Estonia	Y	C	91	6.8	150	11.3	314	23.8	265	20.1	351	26.7

Finland	Y	C	516	9.3	1,175	21.3	1,431	26.0	1,535	27.9	1,512	27.6
France ^(b)	N	C	7,071	21.9	8,935	27.7	8,936	27.8	7,993	24.9	8,876	27.7
Germany	Y	C	8,664	10.4	13,495	16.3	13,293	16.1	14,051	17.0	12,858	15.6
Greece	Y	C	382	3.6	643	6.0	640	6.0	672	6.2	735	6.8
Hungary	Y	C	2,964	30.3	4,452	45.6	4,161	42.6	3,922	40.0	4,722	48.0
Ireland	Y	C	214	4.3	347	7.1	352	7.3	379	7.9	299	6.3
Italy	Y	C	2,626	4.4	3,256	5.4	3,635	6.0	3,347	5.5	4,134	6.8
Latvia	Y	C	296	15.5	438	22.8	409	21.1	225	11.5	454	23.1
Lithuania	Y	C	498	17.8	736	26.3	779	27.7	1,005	35.3	1,076	37.3
Luxembourg	Y	C	93	14.9	131	21.3	135	22.4	118	20.0	108	18.7
Malta	Y	C	176	34.2	131	26.5	116	24.4	107	23.2	162	36.0
Netherlands ^(c)	N	C	695	6.2	1,197	10.8	1,061	9.6	954	8.7	1,150	10.6
Poland	Y	C	5,205	13.7	8,373	22.0	9,064	23.9	8,921	23.5	9,718	25.6
Portugal	Y	C	262	2.5	432	4.2	302	2.9	462	4.5	376	3.6
Romania	Y	C	408	2.1	1,383	7.1	1,410	7.2	1,154	5.9	1,479	7.5
Slovakia	Y	C	3,387	62.1	4,992	91.6	6,791	124.8	5,789	106.5	5,299	97.7
Slovenia	Y	C	214	10.2	362	17.4	274	13.3	275	13.3	311	15.1
Spain ^{(d),(e)}	N	C	3,526	-	5,087	-	8,730	-	9,426	-	9,818	-
Sweden	Y	C	825	8.0	1,990	19.5	2,041	20.2	2,280	22.8	2,247	22.8
EU Total 27	-	-	52,702	13.7	78,190	20.4	82,392	20.5	81,482	20.1	84,525	20.9
United Kingdom	-	-	-	-	9,718	14.6	9,466	14.3	10,105	15.3	9,900	15.1
EU Total^(f)	-	-	52,702	13.7	87,908	19.5	91,858	19.6	91,587	19.4	94,425	20.0
Iceland	Y	C	32	8.8	50	14.0	63	18.1	64	18.9	39	11.7
Norway	Y	C	441	8.2	1,092	20.5	961	18.1	992	18.9	865	16.6
Switzerland ^(g)	Y	C	1,270	14.7	1,546	18.0	1,467	17.2	1,848	21.9	1,517	18.1

Πίνακας 4.3.3.2: Αναφερθέντα κρούσματα επιβεβαιωμένης σαλμονέλωσης σε ανθρώπους και ποσοστά κοινοποίησης ανά 100.000 πληθυσμού σε κράτη μέλη της ΕΕ και χώρες εκτός ΜΣ, ανά χώρα και έτος, 2016–2020(EFSA, 2021, Σελ. 44)

(α): Y: ναι. N: όχι. A: συγκεντρωτικά δεδομένα. Γ: δεδομένα βάσει περιπτώσεων.

(β): Σύστημα φρουρού. ποσοστά κοινοποίησης που υπολογίζονται με εκτιμώμενη πληθυσμιακή κάλυψη 48%.

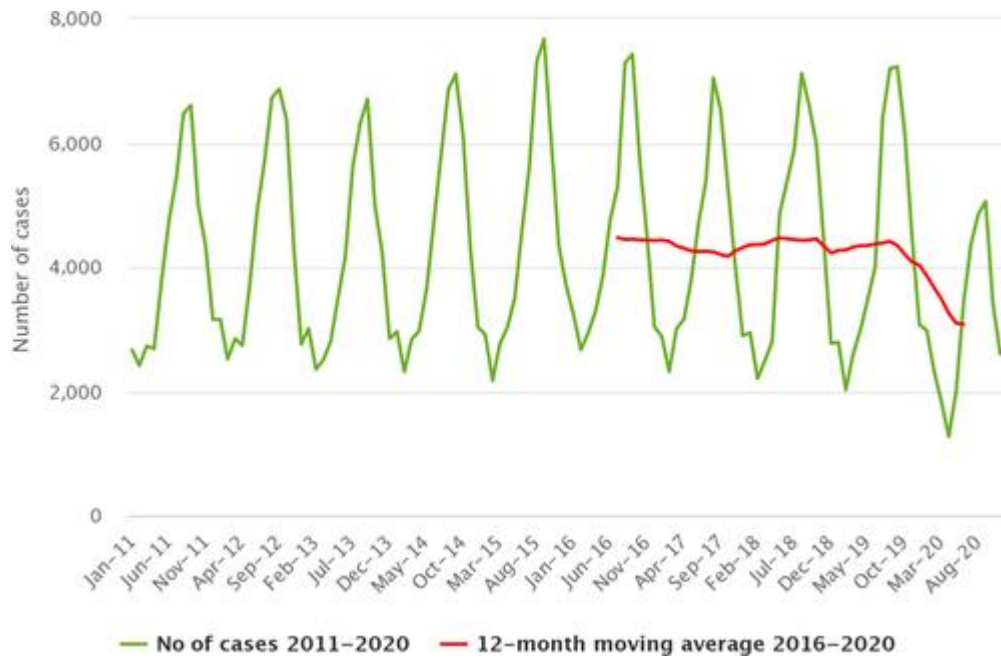
(γ): Σύστημα Sentinel. ποσοστά κοινοποίησης που υπολογίζονται με εκτιμώμενη πληθυσμιακή κάλυψη 64%.

(δ): επιτήρηση φρουρού. δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με την εκτιμώμενη κάλυψη για την περίοδο 2015–2019. Επομένως, το ποσοστό κοινοποίησης δεν μπορεί να εκτιμηθεί.

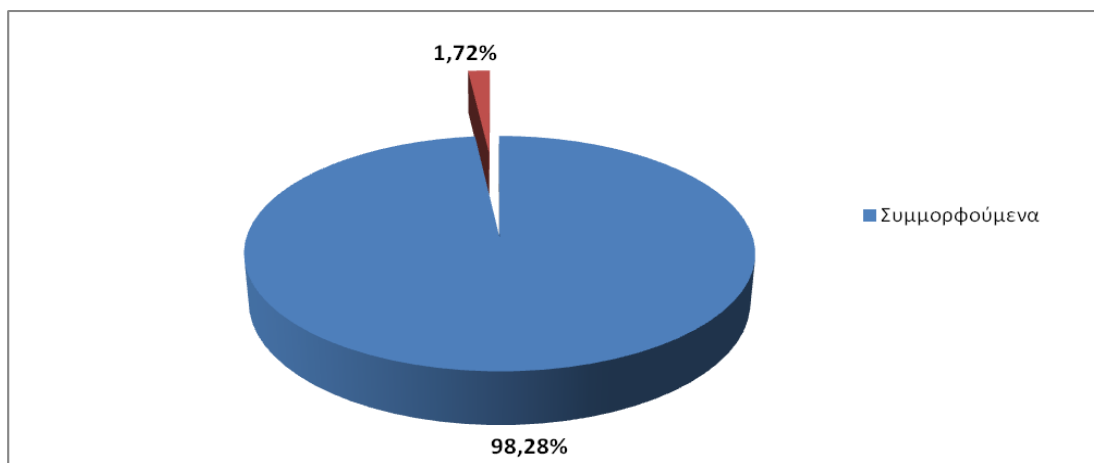
(ε): Τα δεδομένα δεν είναι πλήρη το 2020, το ποσοστό δεν εκτιμάται.

(στ): Οι περιπτώσεις που αναφέρθηκαν από το Ηνωμένο Βασίλειο τα έτη 2016–2019 ελήφθησαν επίσης υπόψη για αυτήν την εκτίμηση (ΕΕ-28). Όταν συλλέχθηκαν τα δεδομένα του ΗΒ για την περίοδο 2016–2019, το ΗΒ ήταν κράτος μέλος της ΕΕ, αλλά από την 1η Φεβρουαρίου 2020 έγινε τρίτη χώρα.

(ζ): Η Ελβετία παρείχε δεδομένα απευθείας στην EFSA. Τα ανθρώπινα δεδομένα για την Ελβετία περιλαμβάνουν δεδομένα από το Liechtenstein.



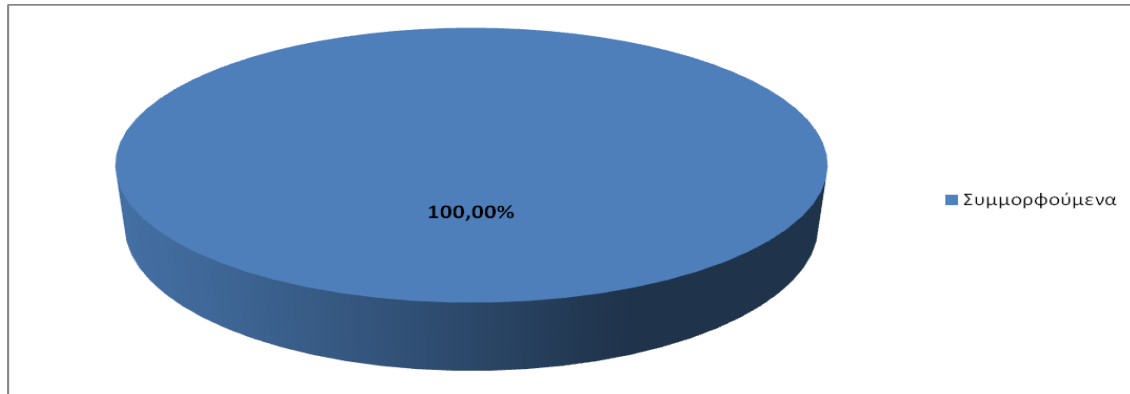
Εικόνα 4.3.3.1: Τάση των αναφερόμενων επιβεβαιωμένων κρουσμάτων μη τυφοειδής salmonellosis σε ανθρώπους στην ΕΕ ανά μήνα, 2016–2020 Πηγή: Αυστρία, Βέλγιο, Τσεχία, Δανία, Εσθονία, Ελλάδα, Φινλανδία, Γαλλία, Ιρλανδία, Ιταλία, Λουξεμβούργο, Λετονία, Μάλτα, Ολλανδία, Πολωνία, Πορτογαλία, Ρουμανία, Σουηδία, Σλοβενία, Σλοβακία. (EFSA, 2021, Σελ. 46)



Εικόνα 4.3.3.2: Ποσοστά ανίχνευσης *Salmonella spp.* στο σύνολο των εξετασθέντων δειγμάτων στο πλαίσιο των προγραμμάτων επίσημου ελέγχου για *Salmonella spp.* σε κιμά, παρασκευάσματα κρέατος και προϊόντα κρέατος από κρέας πουλερικών. Τα δείγματα λήφθηκαν στην Ελλάδα (ΕΦΕΤ 2016).

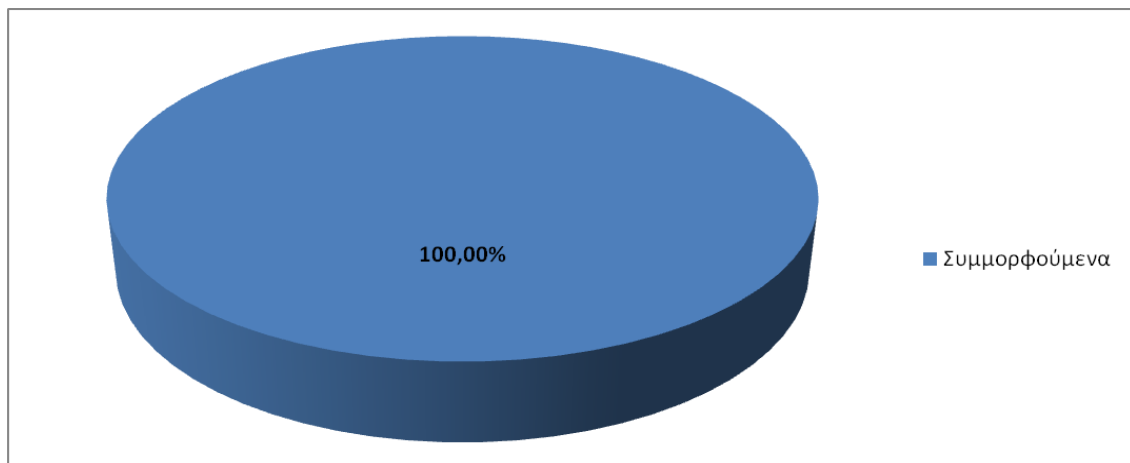
4.3.3.1) Ανίχνευση *Salmonella spp.* σε νωπό κρέας πουλερικών (στη λιανική):

Σε κανένα από τα 38 δείγματα νωπού κρέατος πουλερικών που εξετάστηκαν για την παρουσία *Salmonella spp.* δεν ανιχνεύθηκε ο μικροοργανισμός. Επομένως, η συμμόρφωση ήταν 100%.



Εικόνα 4.3.3.1.1: Ποσοστό ανίχνευσης Salmonella spp. στο σύνολο των εξετασθέντων δειγμάτων στα πλαίσια των προγραμμάτων επίσημου ελέγχου για Salmonella spp. σε νωπό κρέας πουλερικών. Τα δείγματα λήφθηκαν στην Ελλάδα (ΕΦΕΤ 2016).

Ανίχνευση *Salmonella spp.* σε προϊόντα αυγών. Σε κανένα από τα 5 δείγματα προϊόντων αυγών που εξετάστηκαν για την παρουσία *Salmonella spp.* δεν ανιχνεύθηκε ο μικροοργανισμός. Επομένως, η συμμόρφωση ήταν 100%.



Εικόνα 4.3.3.1.2: Ποσοστό ανίχνευσης Salmonella spp. στο σύνολο των εξετασθέντων δειγμάτων στα πλαίσια των προγραμμάτων επίσημου ελέγχου για Salmonella spp. σε προϊόντα αυγών. Τα δείγματα λήφθηκαν στην Ελλάδα (ΕΦΕΤ 2016).

4.3.3.2) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων - Συμπεράσματα

Ανάλογα με τον τρόπο έκφρασης των αποτελεσμάτων και με επίπεδο εμπιστοσύνης 95%, έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα:

Για τα προϊόντα ζωικής παραγωγής.

Α. Μετρώντας αριθμό δειγμάτων (κάθε δείγμα με 5 υπομονάδες αντιμετωπίζεται ως ένα δείγμα), τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 149 εξετασθέντα δείγματα το 98,66% ήταν συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 1,83 και συνεπώς: >96,83% των

κυκλοφορούντων προϊόντων ζωικής παραγωγής εκτιμάται ότι είναι συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία.

B. Μετρώντας αριθμό υπομονάδων, τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 745 εξετασθέντα δείγματα το 99,73% είχε απουσία *Salmonella spp.* προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 0,71 και συνεπώς >99,02% των κυκλοφορούντων προϊόντων ζωικής παραγωγής εκτιμάται ότι έχει απουσία *Salmonella spp.*

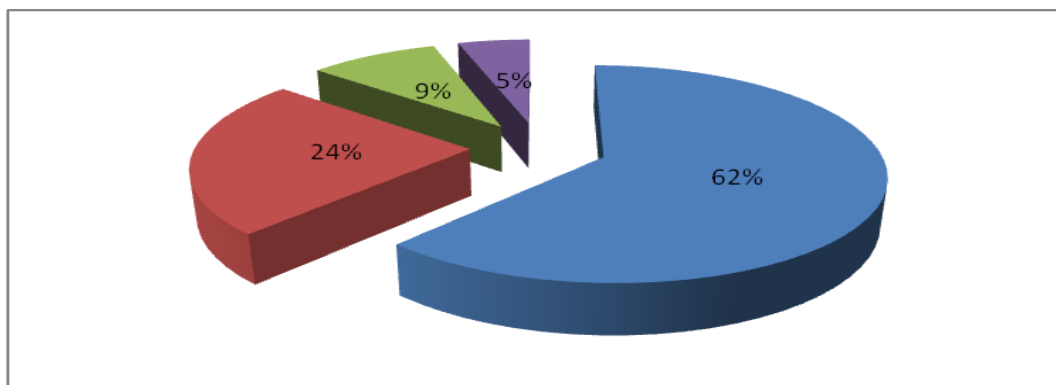
Για τα προϊόντα αυγών.

A. Μετρώντας αριθμό δειγμάτων (κάθε δείγμα με 5 υπομονάδες αντιμετωπίζεται ως ένα δείγμα), τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 5 εξετασθέντα δείγματα το 100% ήταν συμμορφούμενα προς τις προδιαγραφές ασφαλείας προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 8,72 και συνεπώς: >91,28% των κυκλοφορούντων προϊόντων αυγών εκτιμάται ότι είναι συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία.

B. Μετρώντας αριθμό υπομονάδων, τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 25 εξετασθέντα δείγματα το 100% είχε απουσία *Salmonella spp.* προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 3,9 και συνεπώς >96,10% των κυκλοφορούντων προϊόντων αυγών εκτιμάται ότι έχει απουσία *Salmonella spp.*

4.3.4) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό *Staphylococcus aureus*

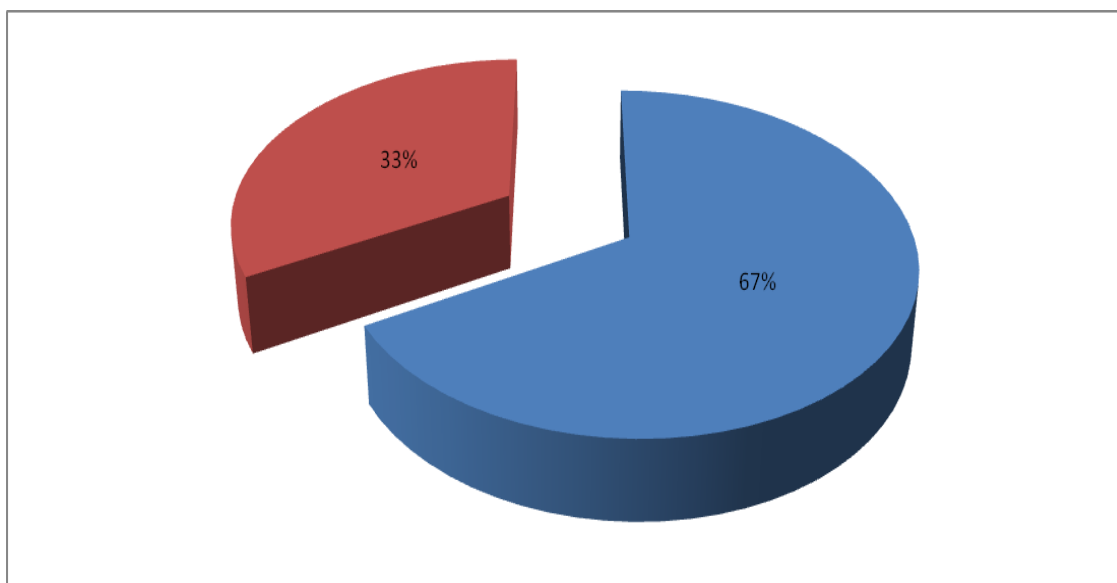
Τέσσερα κράτη μέλη (Βουλγαρία, Ελλάδα, Ιταλία και Πολωνία) παρείχαν δεδομένα για το *Staphylococcus spp.* (αναφέρθηκε ως *Staphylococcus unspecified* ή *S.aureus*) σε διάφορα ζώα (N=1.004) και μήτρες τροφών (N=6.095). Συνολικά, το 35,8% από ζώα και το 11,7% από τρόφιμα αναφέρθηκαν θετικά. «Γάλα από άλλα είδη ζώων ή μη καθορισμένο – παστεριωμένο γάλα», «τυρί από μη καθορισμένο γάλα ή άλλο ζωικό γάλα–μη καθορισμένο» και «άλλα επεξεργασμένα τρόφιμα και έτοιμα πιάτα – ζυμαρικά «ήταν οι κατηγορίες τροφίμων με τους υψηλότερους αριθμούς θετικών αποτελεσμάτων. Έντεκα κράτη μέλη (Βουλγαρία, Κύπρος, Τσεχία, Εσθονία, Γερμανία, Ιταλία, Πορτογαλία, Ρουμανία, Σλοβακία, Σλοβενία και Ισπανία) ανέφεραν δεδομένα για τις σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες που συλλέχθηκαν σε πλαίσια διαφορετικά από το πλαίσιο του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2073/2005. Από ένα σύνολο 267 παρτίδων που δοκιμάστηκαν, μία ήταν θετική και ήταν από «παγωτό και παρόμοια κατεψυγμένα επιδόρπια» που συλλέχθηκαν σε «εργοστάσιο επεξεργασίας» κατά τη διάρκεια του επίσημου προγράμματος δειγματοληψίας στη Σλοβακία. Δεκαέξι από τα 3.835 μεμονωμένα δείγματα που συλλέχθηκαν από διαφορετικά τρόφιμα ήταν θετικά. Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες βρέθηκαν σε δείγματα «γάλακτος από άλλα είδη ζώων ή μη καθορισμένων-παστεριωμένων», «τυριά», «έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες», «άλλα επεξεργασμένα τρόφιμα και παρασκευασμένα πιάτα», «κέικ» και «προϊόντα αυγών».



Εικόνα 4.3.4.1: Είδος και ποσοστό δειγμάτων που εξετάστηκαν στο πλαίσιο των προγραμμάτων επίσημου ελέγχου για *Staphylococcus aureus*. (62% Μυζήθρα, 24% Ανθότυρο, 9% Γκρίζα, 5% Μανούρι). Τα δείγματα λήφθηκαν στην Ελλάδα (ΕΦΕΤ 2016).

4.3.4.1) Αποτελέσματα

Σύμφωνα με τον Καν.2073/2005 μη ωριμασμένα μαλακά τυριά (νωπά τυριά) από γάλα ή ορό γάλακτος που έχει υποστεί παστερίωση ή ισχυρότερη θερμική επεξεργασία πρέπει σε 5 υπομονάδες καμία να μην ξεπερνά το όριο των 100cfu/g και κατά μέγιστο μέχρι 2 υπομονάδες να έχουν συγκέντρωση μεταξύ 10-100cfu/g. Από τα 21 δείγματα που εξετάστηκαν τα 7 δεν συμμορφώνονταν με τα ανωτέρω όρια.



Εικόνα 4.3.4.1.1: Ποσοστό συμμόρφωσης με την νομοθεσία ως προς τη συγκέντρωση *Staphylococcus aureus* σε τυριά τυρογάλακτος στο σύνολο των δειγμάτων που εξετάστηκαν στο πλαίσιο των προγραμμάτων επίσημου ελέγχου (67% Συμμορφούμενα, 33% Μη συμμορφούμενα). Τα δείγματα λήφθηκαν στην Ελλάδα (ΕΦΕΤ 2016).

4.3.4.2) Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων - Συμπεράσματα

Ανάλογα με τον τρόπο έκφρασης των αποτελεσμάτων και με επίπεδο εμπιστοσύνης 95%, έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα:

A. Μετρώντας αριθμό δειγμάτων (κάθε δείγμα με 5 υπομονάδες αντιμετωπίζεται ως ένα δείγμα), τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 21 εξετασθέντα δείγματα το 66,67% ήταν συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 20,16 και συνεπώς: >46,51% των τυριών τυρογάλακτος εκτιμάται ότι είναι συμμορφούμενα προς τη νομοθεσία.

B. Μετρώντας αριθμό υπομονάδων, τότε βάσει των αποτελεσμάτων όπου στα 79 εξετασθέντα δείγματα το 75,24% είχαν συγκέντρωση *Staphylococcus aureus* εντός των ορίων της νομοθεσίας προκύπτει ότι το διάστημα εμπιστοσύνης είναι 9,52 και συνεπώς: >65,72% των κυκλοφορούντων συσκευασμένων τυριών ωρίμανσης εκτιμάται ότι έχουν συγκέντρωση *Staphylococcus aureus* εντός των ορίων της νομοθεσίας.

Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν σοβαρό πρόβλημα στην υγιεινή των τυροκομείων που παράγουν τυριά τυρογάλακτος, χωρίς όμως να ξεπερνιούνται οι συγκεντρώσεις εκείνες (>106 cfu/g) που θα έθεταν σε κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών όσον αφορά στην πιθανότητα παραγωγής εντεροτοξίνης σταφυλόκοκκου, γι' αυτό και βάση της ισχύουσας νομοθεσίας δεν προχώρησε η ανάλυση για εντεροτοξίνη σταφυλοκόκκου.

4.3.5) Επιδημιολογικά στοιχεία στην Ελλάδα

Επιδημιολογία Ελλάδα

Πίνακας 4.3.5.1: Επιδημιολογικά δεδομένα των συχνοτήτων εμφάνισης των κυριοτέρων παθογόνων πρόκλησης τροφιμογενών νοσημάτων στην Ελλάδα ανά έτος (Νάκας, Σ., 2012).

Έτος	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Listeria</i>	Τυφοειδής
2005	1233	26	3	18
2006	994	31	8	18
2007	741	49	10	18
2008	158	2	2	7

Επιδημιολογία Ελλάδα 2007

Πίνακας 4.3.5.2: Επιδημιολογικά δεδομένα γαστρεντερικών νοσημάτων, έτους 2007, στην Ελλάδα, ανά ηλικία και είδος παθογόνου (Νάκας, Σ., 2012).

Ηλικία	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	Τυφοειδής
0-4	236	28	2
5-14	173	12	5
15-24	71	14	1
25-44	73	5	7

45-64	70	1	3
+65	93	2	2

4.3.6) Επιδημιολογικά στοιχεία για τον μικροοργανισμό *Escherichia coli*

	2020	2019 ^(α)	2018 ^(α)	2017 ^(α)	2016 ^(α)	Data source
Humans						
Total number of confirmed cases	4,446	7,801	8,167	6,071	6,474	ECDC
Total number of confirmed cases/100,000 population (notification rates)	1.5	1.9	2.0	1.7	1.8	ECDC
Number of reporting MS	27	28	28	28	28	ECDC
Infection acquired in the EU	3,327	4,836	5,783	4,747	4,037	ECDC
Infection acquired outside the EU	148	751	693	525	339	ECDC
Unknown travel status or unknown country of infection	971	2,214	1,691	799	2,098	ECDC
Number of foodborne outbreak-related cases	208	273	390	260	737	EFSA
Total number of foodborne outbreaks	34	42	50	48	43	EFSA
Food						
All						
Number of sampling units	22,119	25,030	20,498	19,351	17,977	EFSA
Number of reporting MS	22	22	20	22	17	EFSA
Meat and meat products						
Number of sampling units	10,866	14,110	9,250	10,706	8,771	EFSA
Number of reporting MS	17	20	17	18	17	EFSA
Milk and milk products						
Number of sampling units	4,665	5,479	5,339	3,485	3,773	EFSA
Number of reporting MS	10	13	14	10	11	EFSA
Fruits and vegetables (and juices)						
Number of sampling units	3,353	2,657	3,339	2,295	1,475	EFSA
Number of reporting MS	14	13	13	15	11	EFSA
Animals						
All						
Number of sampling units	2,112	2,588	1,631	2,217	1,892	EFSA
Number of reporting MS	6	9	5	7	6	EFSA
Bovine animals						
Number of sampling units	868	1,615	1,112	1,681	1,230	EFSA
Number of reporting MS	3	7	5	6	5	EFSA
Other ruminants as sheep and goats, deer						
Number of sampling units	221	268	178	204	138	EFSA
Number of reporting MS	2	4	2	1	2	EFSA

Πίνακας 4.3.6.1: Σύνοψη των στατιστικών STEC που σχετίζονται με τον άνθρωπο, τις κύριες κατηγορίες τροφίμων και τα κύρια ζωικά είδη, ΕΕ, 2016–2020 (EFSA, 2021, Σελ. 107)

ECDC: Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων. EFSA: Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων. ΚΜ: Κράτος μέλος. STEC: Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

(α): Όταν συλλέχθηκαν τα δεδομένα του HB για την περίοδο 2016–2019, το HB ήταν κράτος μέλος της ΕΕ, αλλά από την 1η Φεβρουαρίου 2020, έγινε τρίτη χώρα. Τα δεδομένα από το Ηνωμένο Βασίλειο λαμβάνονται υπόψη για τα έτη 2016–2019, αλλά δεν λαμβάνονται υπόψη στην επισκόπηση της ΕΕ για το 2020.

Country	2020		2019		2018		2017		2016			
	National coverage ^(α)	Data format ^(α)	Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates		Confirmed cases and rates			
			Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	Y	C	288	3.2	284	3.2	305	3.5	250	2.8	177	2.0
Belgium	Y	C	84	0.73	131	1.1	112	0.98	123	1.1	119	1.1
Bulgaria	Y	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Croatia	Y	C	8	0.20	22	0.54	10	0.24	7	0.17	9	0.21
Cyprus	Y	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Czechia	Y	C	32	0.30	33	0.31	26	0.25	37	0.35	28	0.27
Denmark	Y	C	445	7.6	623	10.7	493	8.5	263	4.6	210	3.7
Estonia	Y	C	10	0.75	6	0.45	7	0.53	3	0.23	5	0.38
Finland	Y	C	175	3.2	311	5.6	210	3.8	123	2.2	139	2.5
France ^(β)	N	C	262	–	335	–	259	–	260	–	302	–
Germany	Y	C	1,409	1.7	1,907	2.3	2,226	2.7	2,065	2.5	1,843	2.2
Greece	Y	C	3	0.03	5	0.05	1	0.01	3	0.03	2	0.02
Hungary	Y	C	8	0.08	23	0.24	14	0.14	12	0.12	12	0.12
Ireland	Y	C	734	14.8	798	16.3	966	20.0	795	16.6	737	15.6
Italy ^(β)	N	C	45	–	62	–	73	–	92	–	78	–
Latvia	Y	C	2	0.10	48	2.5	3	0.16	1	0.05	1	0.05
Lithuania	Y	C	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0.14
Luxembourg	Y	C	0	0	4	0.65	3	0.50	1	0.17	4	0.69
Malta	Y	C	0	0	53	10.7	41	8.6	9	2.0	4	0.89
Netherlands	Y	C	323	1.9	459	2.7	488	2.8	392	2.3	665	3.9
Poland	Y	C	3	0.01	14	0.04	6	0.02	4	0.01	4	0.01
Portugal	Y	C	5	0.05	1	0.01	2	0.02	1	0.01	0	0
Romania	Y	C	14	0.07	36	0.19	20	0.10	11	0.06	29	0.15
Slovakia	Y	C	1	0.02	3	0.06	12	0.22	3	0.06	2	0.04
Slovenia	Y	C	30	1.4	31	1.5	32	1.5	33	1.6	26	1.3
Spain ^{(γ)(δ)}	N	C	74	–	269	0.57	126	0.27	86	–	69	–
Sweden	Y	C	491	4.8	756	7.4	892	8.8	504	5.0	638	6.5
EU Total 27	–	–	4,446	1.5	6,214	1.8	6,327	1.9	5,078	1.7	5,107	1.7
United Kingdom	–	–	–	–	1,587	2.4	1,840	2.8	993	1.5	1,367	2.1
EU Total^(ε)	–	–	4,446	1.5	7,801	1.9	8,167	2.0	6,071	1.7	6,474	1.8
Iceland	Y	C	4	1.1	27	7.6	3	0.86	3	0.89	3	0.90
Norway	Y	C	331	6.2	511	9.6	494	9.3	381	7.2	239	4.6
Switzerland ^(δ)	–	–	728	8.4	999	11.5	822	9.7	696	8.2	463	5.5

Πίνακας 4.3.6.2: Αναφερθέντα κρούσματα STEC και ποσοστά κοινοποίησης ανά 100.000 πληθυσμού σε κράτη μέλη της ΕΕ και χώρες εκτός ΜΣ, ανά χώρα και έτος, 2016–2020 (EFSA, 2021, Σελ. 109)

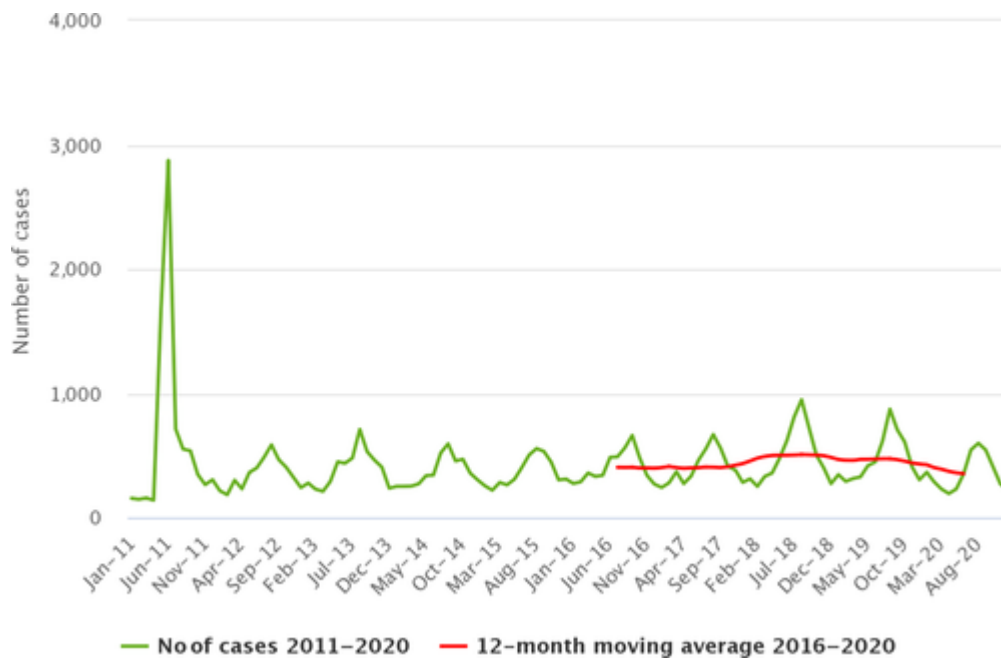
(α): Y: ναι. N: όχι; A: συγκεντρωτικά δεδομένα. C: δεδομένα βάσει περιπτώσεων

(β): επιτήρηση φρουρού. κοινοποιούνται κυρίως περιπτώσεις με HUS.

(γ): επιτήρηση φρουρού. δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με την εκτιμώμενη κάλυψη. Επομένως, το ποσοστό κοινοποίησης δεν μπορεί να εκτιμηθεί.

(δ): Τα δεδομένα δεν είναι πλήρη το 2020, το ποσοστό δεν εκτιμάται.

(ε): Η Ελβετία παρείχε τα δεδομένα απευθείας στην EFSA. Τα ανθρώπινα δεδομένα για την Ελβετία περιλαμβάνουν δεδομένα από το Liechtenstein



Εικόνα 4.3.6.1: Τάσεις στα αναφερόμενα επιβεβαιωμένα κρούσματα μόλυνσης από STEC στην ΕΕ ανά μήνα, 2016–2020

Πηγή: Αυστρία, Τσεχία, Δανία, Εσθονία, Φινλανδία, Γαλλία, Γερμανία, Ελλάδα, Ουγγαρία, Ιρλανδία, Ιταλία, Λιθουανία, Λουξεμβούργο, Ολλανδία, Πολωνία, Ρουμανία, Σλοβακία, Σλοβενία, Σουηδία. (EFSA, 2021, Σελ. 110)

Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα

Η ύπαρξη μικροοργανισμών στα τρόφιμα καθώς και στα παραγωγικά ζώα, αποτελεί μείζον πρόβλημα που απασχολεί παγκόσμια τις βιομηχανίες τροφίμων. Η χρήση αντιβιοτικών ή άλλων ουσιών που θα προλαμβάνουν ή έστω θα θεραπεύουν τα λοιμώδη νόσηματα που προκύπτουν από την μόλυνση των μικροοργανισμών, θα βοηθήσει τόσο την τεχνολογία τροφίμων, όσο και την ιατρική.

Παρότι υπάρχει πρόοδος και εξέλιξη στην επιστήμη της φαρμακευτικής, όσο αφορά την χρήση φαρμάκων για την πρόληψη και θεραπεία των συγκεκριμένων νοσημάτων, παρατηρείται και εξέλιξη των μηχανισμών άμυνας των ίδιων των μικροοργανισμών. Έτσι, ενώ ανακαλύπτεται κάποιου είδους ίαση μέσω αντιβιοτικών, ο μικροοργανισμός εξελίσσεται και αποκτά μηχανισμούς, οι οποίοι το καθιστούν πλέον ανθεκτικό. Επομένως έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά αντιβιοτικά για θεραπεία και πρόληψη, τα οποία έπειτα από κάποιο χρονικό διάστημα, είτε σταμάτησαν να είναι αποτελεσματικά λόγω της αντοχής που απέκτησε ο μικροοργανισμός, είτε παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες παρενέργειες και τελικά αποσύρθηκαν. Αυτό υποδεικνύει και την ανάγκη για άλλους, εναλλακτικούς τρόπους θεραπείας που δεν περιλαμβάνουν απαραίτητα φαρμακευτική αγωγή και προς αυτή την κατεύθυνση κινείται η επιστήμη και οι κλινικές έρευνες, μέσω εργαστηριακών πειραμάτων.

Επιπρόσθετα, ένα ακόμα σημαντικό πρόβλημα στην επιμόλυνση από μικροοργανισμούς, είναι τα ελλιπή μέτρα τα οποία λαμβάνονται στις βιομηχανίες τροφίμων καθώς και στην χώρα ανάλογα με τους κανόνες που έχουν οριστεί, κυρίως βασιζόμενη στους οικονομικούς της πόρους. Αρχικά είναι αναγκαίο οι βιομηχανίες τροφίμων να συμμορφώνονται σύμφωνα με την νομοθεσία που υφίσταται και να τηρεί όλους τους κανόνες υγιεινής και ποιότητας που ορίζονται. Έκτος όμως αυτών των μέτρων, θα ήταν ορθό να πραγματοποιούνται έλεγχοι, έτσι ώστε να είναι βέβαιο ότι το τρόφιμο είναι ασφαλές για κατανάλωση και τα παραγωγικά ζώα είναι υγιή. Με την μείωση της επιμόλυνσης των τροφίμων καθώς και των παραγωγικών ζώων, εξασφαλίζεται ένα ασφαλές για κατανάλωση τρόφιμο και η βιομηχανία αποκτά αξιοπιστία από τους καταναλωτές, αποφεύγοντας κιόλας την χρήση φαρμάκων, που όπως έχει παρατηρηθεί έπειτα από έρευνες, είναι καλό να αποφεύγονται λόγω την άγνοια που υπάρχει ακόμα ως προς το τι μπορεί τελικά να προκαλέσει στο ανθρώπινο σώμα. Επιπλέον κάποιες χώρες χρήζουν οικονομικής υποστήριξης, έτσι ώστε να βελτιωθούν και να εκσυγχρονιστούν ως προς το σύστημα άρδευσης που χρησιμοποιούν, το οποίο αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα μόλυνσης και εξάπλωσης των μικροοργανισμών.

Η *Salmonella* είναι ένας μικροοργανισμός που είναι πολύ σημαντικός για την δημόσια υγεία γιατί δε υπάρχει μια επιστημονικά έγκυρη πρόληψη και θεραπεία. Εφίσταται έντονα η αντιμετώπισή του και γιαυτό όλες οι έρευνες θα πρέπει να στραφούν στην Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων έτσι ώστε να βρεθεί κάτι το οποίο θα βοηθήσει στην εξάλειψη, πρόληψη και αντιμετώπιση του. Ένας

εναλλακτικός τρόπος είναι να μην χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά καθώς οδηγούν σε ανθεκτικά στελέχη τα οποία είναι περισσότερο επικύνδινα για την δημόσια υγεία.

Το βακτήριο *Shigella* είναι ένα είδος μικροοργανισμού με υψηλά ποσοστά θανάτου. Οι τρόποι αντιμετώπισης του είναι η σωστή ατομική υγιεινή, καθώς οι έρευνες είναι υπο εξέλιξη και υπάρχει μεγάλη αντιμικροβιακή αντοχή και αντίσταση στα φάρμακα μεταξύ *Shigella*. Τα περισσότερα υποψήφια εμβόλια να μεν προκαλούν βέλτιστη ανοσία αλλά δεν είναι πλήρες αποτελεσματικά. Εναλλακτικός τρόπος αντιμετώπισης είναι οι καινοτόμες θεραπείες και νέες στρατηγικές πρόληψης.

Σύμφωνα με έρευνες στο βακτήριο *E. Coli* βρέθηκαν 3.000 κρούσματα ανά ημέρα σε μικρό χρονικό διάστημα (2016- 2020). Μια πρόταση για να αντιμετωπιστεί το φαινόμενο αυτό είναι μέθοδοι που θα διευκολύνουν την αποτροπή ανθεκτικότητας των αντιβιοτικών ώστε να προστατεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό από τροφογενείς λοιμώξεις. Επιπλέον, είναι ορθό να τηρούνται σωστοί τρόποι υγιεινής τόσο στις βιομηχανίες τροφίμων όσο και στον ίδιο τον καταναλωτή.

Άλλο ένα βακτήριο που μας απασχολεί είναι το *Staphylococcus aureus*. Εδώ προτείνεται η συνεχής επιτήρηση για τον προσδιορισμό εξέλιξης της αντίστασης και των μηχανισμών καθώς και η πρόληψη εμφάνισης και εξάπλωσης ανθεκτικών βακτηρίων.

Το *Campylobacter* είναι ο μικροοργανισμός που αυτοπεριορίζεται σε επίπεδα μόλυνσης τροφίμων. Πρέπει να υποβληθεί σε αντιβιογραφήματα πριν την έναρξη κλινικών θεραπευτικών σχημάτων για την επιλογή αντιβιοτικών. Τέλος θα πρέπει να διασφαλιστεί ότι η θεραπεία θα φέρει τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα πρόληψής του.

Στο *E.faecalis* θα πρέπει να υπάρχει ορθή υγιεινή, σωστές συνθήκες εργασίας σε βιομηχανίες τροφίμων και συνεχείς έλεγχοι για ανθεκτικότητα στελεχών σε αντιβιοτικά.

Τέλος οι κύριες πηγές επίδρασης του παθογόνου *Listeria* οφείλονται στην αντοχή του σε αντιβιοτικά. Είναι σωστό να μελετείται η επίδραση γεωργικών προϊόντων και τα στάδια επεξεργασίας τροφίμων. Επίσης χρειάζονται ενισχυτικές έρευνες για την ανάγκη ευρείας και συνεχούς παρακολούθησης εξέλιξης ευαισθησίας του μικροοργανισμού στα αντιβιοτικά.

Εν κατακλείδι η πρόληψη είναι σπουδαιότερη από την θεραπεία, καθώς ο μικροοργανισμός θωρακίζεται έναντι των φαρμάκων και γίνεται πιο ισχυρός καθιστώντας τον πιο επικίνδυνο για την ανθρώπινη ζωή. Λόγω του υψηλού αριθμού κρουσμάτων και θανάτων από λοίμωξη που προκλήθηκε από παθογόνους τροφογενείς μικροοργανισμούς, είναι επιτακτική η ανάγκη για πιο ασφαλείς περιβάλλον στις βιομηχανίες τροφίμων, φροντίδα των παραγωγικών ζώων και χρήση αποτελεσματικών θεραπειών που να μην περιλαμβάνει απαραίτητα αντιβιοτικά φάρμακα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΟ

<u>RNA:</u>	Raised without Antibiotics. Αναφέρεται τα ζώα δεν έλαβαν αντιβιοτικά στη τροφή, το νερό ή με ένεση.
<u>RTE:</u>	Ready To Eat foods. Έτοιμα γεύματα.
<u>Zoonotic:</u>	Τα ζωονοσογόνα είναι βακτήρια που μπορούν να μολύνουν τον άνθρωπο μέσω της τροφής.
<u>MGE:</u>	Θραύσματα <i>DNA</i> που κωδικοποιούν μια ποικιλία καθοριστικών παραγόντων λοιμογόνου δράσης ή αντοχής, καθώς και τα ένζυμα που μεσολαβούν στη μεταφορά και ενσωμάτωσή τους σε νέο <i>DNA</i> ξενιστή.
<u>PCR:</u>	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης.
<u>MRSA:</u>	Ανθεκτικότητα <i>Methicillin</i> σε <i>S. aureus</i> .
<u>FQ:</u>	<i>Fluoroquinolone</i> . Κατηγορία αντιβιοτικών.
<u>MRSA:</u>	<i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> .
<u>MIC:</u>	Minimum Inhibitory Concentration. Είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση μιας χημικής ουσίας, η οποία αποτρέπει την ορατή ανάπτυξη ενός βακτηρίου ή βακτηρίων. Το MIC εξαρτάται από τον μικροοργανισμό, τον προσβεβλημένο άνθρωπο και το ίδιο το αντιβιοτικό.
<u>AMR:</u>	Antimicrobial resistance. Αντιμικροβιακή αντίσταση.
<u>PCR:</u>	Polymerase chain reaction. Είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης.
<u>PmrA:</u>	<i>Pneumoniae multidrug resistance</i> . Ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά πολλαπλής χρήσης πνευμονίας.
<u>MS:</u>	Member States. Πολιτείες – Μέλη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

7.1.) Ξένη Βιβλιογραφία

- Aarestrup, F. M., & Wegener, H. C. (1999). The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes and infection*, *1*(8), 639-644.
- Agregán, R., Munekata, P. E., Zhang, W., Zhang, J., Pérez-Santaescolástica, C., & Lorenzo, J. M. (2021). High-pressure processing in inactivation of *Salmonella* spp. in food products. *Trends in Food Science & Technology*, *107*, 31-37.
- Bal, A. M., David, M. Z., Garau, J., Gottlieb, T., Mazzei, T., Scaglione, F., ... & Gould, I. M. (2017). Future trends in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection: an in-depth review of newer antibiotics active against an enduring pathogen. *Journal of global antimicrobial resistance*, *10*, 295-303.
- Bantawa, K., Sah, S. N., Limbu, D. S., Subba, P., & Ghimire, A. (2019). Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio* isolated from chicken, pork, buffalo and goat meat in eastern Nepal. *BMC research notes*, *12*(1), 1-6.
- Bettenbrock, K., Bai, H., Ederer, M., Green, J., Hellingwerf, K. J., Holcombe, M., ... & Poole, R. K. (2014). Towards a systems level understanding of the oxygen response of *Escherichia coli*. *Advances in microbial physiology*, *64*, 65-114.
- Blaser, M. J. (1997). Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. *Journal of Infectious Diseases*, *176*(Supplement_2), S103-S105.
- Bonardi, S., Bruini, I., Bolzoni, L., Cozzolino, P., Pierantoni, M., Brindani, F., ... & Pongolini, S. (2017). Assessment of *Salmonella* survival in dry-cured Italian salami. *International journal of food microbiology*, *262*, 99-106.
- Cohen E.(2015). The dangers of E.coli. CNN <https://www.youtube.com/watch?v=ZmtjuCvzjOQ> BINTEO
- Connerton, P. L., Timms, A. R., & Connerton, I. F. (2011). *Campylobacter* bacteriophages and bacteriophage therapy. *Journal of applied microbiology*, *111*(2), 255-265.

- Davis, G. S., Waits, K., Nordstrom, L., Grande, H., Weaver, B., Papp, K., ... & Price, L. B. (2018). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims. *BMC microbiology*, 18(1), 1-7.
- D'Aoust, J. Y. (1991). Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. *International journal of food microbiology*, 12(1), 17-40.
- Duarte, A., Santos, A., Manageiro, V., Martins, A., Fraqueza, M. J., Caniça, M., ... & Oleastro, M. (2014). Human, food and animal *Campylobacter* spp. isolated in Portugal: high genetic diversity and antibiotic resistance rates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(4), 306-313.
- Durul, B., Acar, S., Bulut, E., Kyere, E. O., & Soyer, Y. (2015). Subtyping of *Salmonella* food isolates suggests the geographic clustering of serotype *Telaviv*. *Foodborne pathogens and disease*, 12(12), 958-965.
- Elahi, S., & Fujikawa, H. (2019). Comprehensive study of the boundaries of enterotoxin A production and growth of *Staphylococcus aureus* at various temperatures and salt concentrations. *Journal of food science*, 84(1), 121-126.
- European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. (2021). The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19(12), e06971.
- Ganan, M., Silván, J. M., Carrascosa, A. V., & Martínez-Rodríguez, A. J. (2012). Alternative strategies to use antibiotics or chemical products for controlling *Campylobacter* in the food chain. *Food Control*, 24(1-2), 6-14.
- Gilmore, M. S., Clewell, D. B., Ike, Y., & Shankar, N. (2014). Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet].
- Godínez-Oviedo, A., Sampedro Parra, F., Machuca Vergara, J. J., Gutiérrez González, P., & Hernández Iturriaga, M. (2019). Food Consumer Behavior and *Salmonella* Exposure Self-Perception in the Central Region of Mexico. *Journal of food science*, 84(10), 2907-2915.
- Golob, M., Pate, M., Kušar, D., Dermota, U., Avberšek, J., Papić, B., & Zdovc, I. (2019). Antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from humans and retail red meat. *BioMed research international*, 2019.
- Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., & Wang, Y. (2020). Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 107.

- Hollenbeck, B. L., & Rice, L. B. (2012). Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence*, 3(5), 421-569.
- Hu, J., Wang, Y., Ding, H., Jiang, C., Geng, Y., Sun, X., ... & Dong, C. (2020). Recombinase polymerase amplification with polymer flocculation sedimentation for rapid detection of *Staphylococcus aureus* in food samples. *International Journal of Food Microbiology*, 331, 108691.
- Ike, Y. (2017). Pathogenicity of enterococci. *Nihon saikingaku zasshi. Japanese journal of bacteriology*, 72(2), 189-211.
- Infectious disease Campylobacter. (2016). Clinical Foodborne illnesses| CDC, www.cdc.gov
- Iovine, N. M. (2013). Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence*, 4(3), 230-240.
- Iwu, C. D., & Okoh, A. I. (2020). Characterization of antibiogram fingerprints in *Listeria monocytogenes* recovered from irrigation water and agricultural soil samples. *PloS one*, 15(2), e0228956.
- Khalil, I. A., Troeger, C., Blacker, B. F., Rao, P. C., Brown, A., Atherly, D. E., ... & Reiner Jr, R. C. (2018). Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990–2016. *The Lancet infectious diseases*, 18(11), 1229-1240.
- Khan, A., Davlieva, M., Panesso, D., Rincon, S., Miller, W. R., Diaz, L., ... & Arias, C. A. (2019). Antimicrobial sensing coupled with cell membrane remodeling mediates antibiotic resistance and virulence in *Enterococcus faecalis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(52), 26925-26932.
- Kljujev, I., Raicevic, V., Jovicic-Petrovic, J., Vujovic, B., Mirkovic, M., & Rothballer, M. (2018). *Listeria monocytogenes*—Danger for health safety vegetable production. *Microbial pathogenesis*, 120, 23-31.
- Lake, I. R., Colon-Gonzalez, F. J., Takkinen, J., Rossi, M., Sudre, B., Dias, J. G., ... & Nichols, G. (2019). exploring campylobacter seasonality across Europe using the European surveillance system (TESSy), 2008 to 2016. *Eurosurveillance*, 24(13), 1800028.
- Lenchenko, E., Blumenkrants, D., Vatnikov, Y., Kulikov, E., Khai, V., Sachivkina, N., ... & Mansur, T. (2020). Poultry *Salmonella* sensitivity to antibiotics. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(2), 170-175.
- Mannion, A. J., Martin, H. R., Shen, Z., Buckley, E. M., Dzink-Fox, J. L., Garcia, A., ... & Fox, J. G. (2018). Plasmid-mediated quinolone resistance in *Shigella flexneri* isolated from macaques. *Frontiers in microbiology*, 9, 311.

- Merla, C., Corbella, M., Batisti Biffignandi, G., Gaiarsa, S., Castelli, M., Andreoli, G., ... & Cambieri, P. (2021). Epidemiological Characterization of *Listeria monocytogenes* Infections in Pavia Province in 2017 Reveals the Presence of Multiple Concurrently Circulating Strains. *Foodborne Pathogens and Disease*, 18(4), 267-275.
- Montwedi, M. G., Kumar, A., & Ateba, C. N. (2018). Persistence of vancomycin resistance genes and transposable elements in *Enterococcus faecalis* isolated from groundwater intended for human consumption: A public health implication. *Gene Reports*, 13, 49-58.
- Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Shahbaz, H. M., Al-Nabulsi, A. A., Abu Ghoush, M. H., Osaili, T. M., ... & Holley, R. A. (2018). Emergence of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from food products: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5), 1277-1292.
- Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Shahbaz, H. M., Al-Nabulsi, A. A., Abu Ghoush, M. H., Osaili, T. M., ... & Holley, R. A. (2018). Emergence of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from food products: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5), 1277-1292. 09 August 2018
- Orsi, R. H., & Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(12), 5273-5287
- Percival, S. L., & Williams, D. W. (2014). Cyanobacteria. In *Microbiology of waterborne diseases* (pp. 79-88). Academic Press.
- Ranjbar, R., & Farahani, A. (2019). Shigella: antibiotic-resistance mechanisms and new horizons for treatment. *Infection and drug resistance*, 12, 3137.
- Robinson, R. K. (2014). *Encyclopedia of food microbiology*. Academic press. ΕΓΚΥΚΛΟΠΑΙΔΕΙΑ
- Rôças, I. N., Siqueira Jr, J. F., & Santos, K. R. (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of endodontics*, 30(5), 315-320.
- Roth, N., Käsbohrer, A., Mayrhofer, S., Zitz, U., Hofacre, C., & Domig, K. J. (2019). The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry science*, 98(4), 1791-1804.
- Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2004). Medical microbiology. *McGraw Hill*, 4, 370.

- Sahl, J. W., Morris, C. R., & Rasko, D. A. (2013). *Escherichia coli: Chapter 2. Comparative genomics of pathogenic Escherichia coli*. Elsevier Inc. Chapters.
- Şanlıbaba, P., Tezel, B. U., & Çakmak, G. A. (2018). Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Turkey. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Shen, Z., Wang, Y., Zhang, Q., & Shen, J. (2018). Antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. *Microbiology spectrum*, 6(2), 6-2.
- Shiadeh, S. M. J., Pormohammad, A., Hashemi, A., & Lak, P. (2019). Global prevalence of antibiotic resistance in blood-isolated *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*: a systematic review and meta-analysis. *Infection and drug resistance*, 12, 2713.
- Silva, V., Capelo, J. L., Igrejas, G., & Poeta, P. (2020). Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* lineages in wild animals in Europe: a review. *Antibiotics*, 9(3), 122.
- Soffer, N., Woolston, J., Li, M., Das, C., & Sulakvelidze, A. (2017). Bacteriophage preparation lytic for *Shigella* significantly reduces *Shigella sonnei* contamination in various foods. *PLoS One*, 12(3), e0175256.
- Tang, Y., Fang, L., Xu, C., & Zhang, Q. (2017). Antibiotic resistance trends and mechanisms in the foodborne pathogen, *Campylobacter*. *Animal health research reviews*, 18(2), 87-98.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Microbiology: an introduction* (p. 912). San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings.
- Volz, C., Ramoni, J., Beisken, S., Galata, V., Keller, A., Plum, A., ... & Müller, R. (2019). Clinical resistome screening of 1,110 *Escherichia coli* isolates efficiently recovers diagnostically relevant antibiotic resistance biomarkers and potential novel resistance mechanisms. *Frontiers in microbiology*, 10, 1671.
- VT Nair, D., Venkitanarayanan, K., & Kollanoor Johny, A. (2018). Antibiotic-resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control. *Foods*, 7(10), 167.
- Wang, H., Zhong, Z., Luo, Y., Cox, E., & Devriendt, B. (2019). Heat-stable enterotoxins of enterotoxigenic *Escherichia coli* and their impact on host immunity. *Toxins*, 11(1), 24.
- Wang, X., Biswas, S., Paudyal, N., Pan, H., Li, X., Fang, W., & Yue, M. (2019). Antibiotic resistance in *Salmonella Typhimurium* isolates recovered from the

food chain through national antimicrobial resistance monitoring system between 1996 and 2016. *Frontiers in microbiology*, *10*, 985.

Warren, B. R., Parish, M. E., & Schneider, K. R. (2006). Shigella as a foodborne pathogen and current methods for detection in food. *Critical reviews in food science and nutrition*, *46*(7), 551-567.

Yang, Y., Feye, K. M., Shi, Z., Pavlidis, H. O., Kogut, M., J Ashworth, A., & Ricke, S. C. (2019). A historical review on antibiotic resistance of foodborne Campylobacter. *Frontiers in microbiology*, *10*, 1509.

Yılmaz, E. Ş., & Aslantaş, Ö. (2017). Antimicrobial resistance and underlying mechanisms in Staphylococcus aureus isolates. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *10*(11), 1059-1064.

Zaika, L. L., & Phillips, J. G. (2005). Model for the combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on survival of Shigella flexneri strain 5348 under aerobic conditions. *International journal of food microbiology*, *101*(2), 179-187.

Zhang, H. L., Wu, S. L., Fu, J. L., Jiang, H. X., & Ding, H. Z. (2021). Research Note: Epidemiological cutoff values and acquired resistance mechanisms of three veterinary antibiotics against Escherichia coli from chicken respiratory tract infections. *Poultry Science*, *100*(2), 1093-1097.

7.2.) Ελληνική Βιβλιογραφία

- ΕΦΕΤ, 2016, Διεύθυνση: *Εργαστηριακοί έλεγχοι "Food safety"*. (Σελίδες 35-201).
https://www.efet.gr/files/erg_elegxoi2016.pdf
- Κέντρα Ελέγχου και Πρόσληψης Νοσημάτων, Εθνικό Κέντρο Αναδυόμενων και Ζωονογόνων Λοιμώξεων (NCEZID), Τμήμα Τροφίμων, Υδατογενών και Περιβαλλοντικών Παθήσεων (DFWED) (2019). ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS IN THE UNITED STATES, CDC, 2019.
<https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>
- Kotzamanidis, C., Papadopoulos, T., Vafeas, G., Tsakos, P., Giantzi, V., & Zdragas, A. (2019). Characterization of *Listeria monocytogenes* from encephalitis cases of small ruminants from different geographical regions, in Greece. *Journal of applied microbiology*, 126(5), 1373-1382.
- Νάκας, Σ. (2012). *Επιδημιολογική μελέτη των τροφογενών νοσημάτων στον νομό Αρτας (Ήπειρος)* (Doctoral dissertation, Πανεπιστήμιο Δυτικής Ελλάδας. Τμήμα Διοίκησης Επιχειρήσεων Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων).
- Τυμπής, Δ., Πετράκης, Ε., & Κοντελής, Σ. (2016). *Μικροβιολογία Τροφίμων*. Βλ. (Σελίδες 39, 40, 57, 93, 94, 104, 105, 106). Αθήνα: Δίσιγμα.