



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ
ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΚΑΙ ΚΟΙΝΟΤΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ ΣΕ ΝΩΠΑ ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΓΙΑ
ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:
ΚΥΡΙΤΣΗ ΑΝΤΩΝΙΑ (19679081)

ΑΘΗΝΑ, 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ
ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΚΑΙ ΚΟΙΝΟΤΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ ΣΕ ΝΩΠΑ ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΓΙΑ
ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ: ΚΥΡΙΤΣΗ ΑΝΤΩΝΙΑ (19679081)

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΡ. ΒΑΣΣΑΛΟΥ ΕΥΔΟΚΙΑ

Copyrights © Κυρίτση Αντωνία Τμήμα Δημόσιας και Κοινωνικής Υγείας, Πανεπιστήμιο
Δυτικής Αττικής, 2022

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved. Η παρούσα πτυχιακή εργασία
εκπονήθηκε στο πλαίσιο των απαιτήσεων του Προπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του
τμήματος Δημόσιας και Κοινωνικής Υγείας της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου
Δυτικής Αττικής



UNIVERSITY OF WEST ATTICA SCHOOL OF PUBLIC
HEALTH DEPARTMENT OF PUBLIC AND COMMUNITY
HEALTH

THESIS

DETECTING PROTOZOANS IN FRESH VEGETABLES INTENDED FOR HUMAN
CONSUMPTION

KYRITSI ANTONIA (19679081)

ATHENS, 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ
ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΚΑΙ ΚΟΙΝΟΤΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ ΣΕ ΝΩΠΙΑ ΛΑΧΑΝΙΚΑ
ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ

Μέλη Επιτροπής Εξέτασης συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή

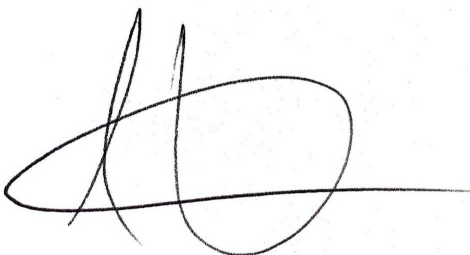
Η διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Επιτροπή Εξέτασης:

ΟΝΟΜΑ	ΕΠΩΝΥΜΟ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
Ευδοκία	Βασσάλου	
Ντελέζος	Κωνσταντίνος	
Παπαδάς	Ιωάννης	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Κυρίτση Αντωνία του Ιωάννη με αριθμό μητρώου 19679081 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Τμήματος Δημόσιας και Κοινωνικής Υγείας, δηλώνω υπεύθυνα ότι: «Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Υπογραφή



Ευχαριστίες

Με την περάτωση της διπλωματικής μου εργασίας θα ήθελα να αποδώσω τις ευχαριστίες μου σε όσους βοήθησαν στην εκπόνηση αυτής και σε όσους με στήριξαν κατά την διάρκειά της.

Ξεκινώντας θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου Δρ. Ευδοκία Βασσάλου, Επίκουρη Καθηγήτρια Παρασιτολογίας, Τροπικής Ιατρικής και Υγείας Ταξιδιωτών, για τις γνώσεις που μου μεταλαμπάδευε, την ατέρμονη συμπαράστασή και στήριξή της, αλλά και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου την παρούσα εργασία, παρά την αντιξοότητα των συνθηκών.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον περίγυρό μου για την συμπαράσταση και την εμπύχωση που μου προσέφερε καθ' όλη την διεξαγωγή του εργαστηριακού και συγγραφικού μου έργου.

Περίληψη

Η χαμηλή θερμιδική αξία των λαχανικών σε συνδυασμό την με την υψηλή διατροφική αξία τους, βοηθούν στην παρότρυνση κατανάλωσής τους ως συνοδευτικό με κάθε κυρίως γεύμα. Τα ωμά λαχανικά μπορεί να είναι πιθανή πηγή βακτηριακών, ιογενών αλλά και παρασιτικών λοιμώξεων που μεταδίδονται κοπρανοστοματικά. Κίνδυνοι μόλυνσης τους υπάρχουν σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής, της συλλογής, της μεταφοράς, της προετοιμασίας και της επεξεργασίας. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η αναζήτηση παθογόνων παρασίτων σε ωμά λαχανικά από το νομό Αττικής που προορίζονταν για κατανάλωση χωρίς θερμική επεξεργασία. Στα λεπτοκομμένα δείγματα έγινε αρχικά έκπλυση με διάλυμα ECOS® Fruit & Veggie Wash σε νερό, ώστε να αποκολληθούν όλα τα παρασιτικά στοιχεία που ήταν πιθανώς κολλημένα στα λαχανικά. Το έκπλυμα υπέστη κατόπιν συμπύκνωση με φυγοκέντρωση στις 1500 στρ για 5 λεπτά. Στο συμπυκνωμένο υλικό γινόταν εμπλουτισμός κατά WHO με φορμαλίνη 10% και οξικό αιθυλεστέρα και στο τελικό ίζημα γινόταν η μικροσκοπική αναζήτηση τόσο σε νωπό δείγμα με χρήση Lugol, όσο και σε μονιμοποιημένο επίχρισμα μετά από τροποποιημένη οξεάντοχη χρώση για κρυπτοσπορίδια. Ελέγχθηκαν 32 δείγματα από λαϊκές αγορές, λαχανογορές και πολυκαταστήματα. Σε τρία από αυτά (ποσοστό 9,4%) βρέθηκαν κύστει *Giardia duodenalis*. Οι κύστει βρέθηκαν στο σέλινο, το κοκκινόφυλλο μαρούλι και την ρόκα που υπάγονται στην κατηγορία των φυλλωδών λαχανικών. Δεν βρέθηκαν κύστει ή ωοκύστει άλλων παθογόνων πρωτοζώων, ούτε αυγά ή προνύμφες παρασιτικών ελμίνθων. Τα ευρήματά μας υπογραμμίζουν ότι και σε ανεπτυγμένες χώρες όπως η Ελλάδα, συνεχίζουν να υπάρχουν παράσιτα που μπορεί να μεταδοθούν μέσω μολυσμένων νωπών λαχανικών που με τη σειρά τους μολύνθηκαν είτε με άμεσο χειρισμό από μολυσμένο άτομο, είτε με πότισμα με μολυσμένο νερό. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει τα λαχανικά να υφίστανται υγιεινή επεξεργασία (καλό πλύσιμο, με νερό ή με νερό και ξύδι) πριν τη κατανάλωση στο σπίτι, όπως και αντίστοιχη διαχείριση σε επίπεδο εστιατορίου ή χώρου μαζικής παραγωγής. Επειδή όμως υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για την Ελλάδα σχετικά με τη μόλυνση φρούτων και λαχανικών με πρωτόζωα, προτείνεται περισσότερη έρευνα και μελέτες επιτήρησης για την αξιολόγηση της τυχόν επίπτωσης της στην υγεία του πληθυσμού.

Abstract

The low-calorie content of vegetables combined with their high nutritional value encourages their consumption as a side dish with every main meal. Raw vegetables can be a possible source of bacterial, viral, and parasitic infections transmitted fecal-orally. Risks of contamination exist at various stages of the production process, including production, harvesting, transportation, preparation, and processing. The aim of this study was to search for pathogenic parasites in raw vegetables from the Attica region intended for consumption without thermal processing. In thin-sliced vegetable samples, initial washing was performed with ECOS® Fruit & Veggie Wash solution in water to detach all potentially adhering parasitic elements. The rinse was then concentrated by centrifugation at 1500 rpm for 5 minutes. The concentrated material was subsequently enriched according to WHO guidelines with 10% formalin and ethyl acetate, and the final sediment was microscopically examined both in fresh samples using Lugol's solution and in permanent mounts after modified acid-fast staining for cryptosporidia. Thirty-two samples from local markets, vegetable stands, and supermarkets were examined. Cysts of *Giardia duodenalis* were found in three of them (9.4%). The cysts were found in celery, red leaf lettuce, and arugula, all classified as leafy vegetables. No cysts or oocysts of other pathogenic protozoa, nor eggs or larvae of parasitic helminths, were found. Our findings highlight that even in developed countries such as Greece, parasites continue to exist, potentially transmitted through fresh vegetables contaminated when directly handled by infected persons or through irrigation with contaminated water. Therefore, vegetables need to undergo proper hygiene processing (thorough washing with water or water and vinegar) before consumption at home as well as appropriate management at restaurant or mass production levels. However, since there is limited data from Greece regarding protozoan contamination of fruits and vegetables, more research and surveillance studies are recommended to assess its impact on public health.

Πίνακας περιεχομένων

1.Εισαγωγή	10
1.1 Τα λαχανικά	11
1.2 Κατανάλωση λαχανικών	11
1.3 Κίνδυνοι από την κατανάλωση λαχανικών.....	13
1.4 Τροφιμογενή νοσήματα	14
1.5 Υδατογενείς ασθένειες.....	14
2. Πρωτόζωα	17
2.1 Γενικά.....	17
2.2Ταξινόμηση.....	18
2.3 Δομή.....	19
2.4 Κύκλος ζωής	21
2.5 Αναπαραγωγή	22
2.6 Διατροφή.....	23
3. Παρουσίαση πρωτόζωων	25
3.1 <i>Cryptosporidium</i> spp.....	25
3.1.1 Περιγραφή.....	25
3.1.2 Βιολογικός κύκλος.....	26
3.1.3 Τρόποι Μετάδοσης	28
3.1.4 Κλινική εικόνα	29
3.1.5 Διάγνωση	30
3.1.6 Θεραπεία	31
3.1.7 Επιδημιολογικά στοιχεία	31
3.2 <i>Giardia duodenalis</i>	32
3.2.1Περιγραφή.....	32
3.2.2 Βιολογικός κύκλος.....	33
3.2.3 Τρόποι μετάδοσης.....	34
3.2.4 Κλινική εικόνα	35
3.2.5 Διάγνωση	36
3.2.6 Θεραπεία	36
3.2.7 Επιδημιολογικά στοιχεία	37

3.3. <i>Toxoplasma gondii</i>	38
3.3.1 Περιγραφή.....	38
3.3.2 Βιολογικός κύκλος.....	40
3.3.3 Τρόποι μετάδοσης.....	42
3.3.4 Κλινική εικόνα.....	43
3.3.5 Διάγνωση.....	44
3.3.6 Θεραπεία.....	44
3.3.7 Επιδημιολογικά στοιχεία.....	45
3.4. <i>Cyclospora cayetanensis</i>	46
3.4.1 Περιγραφή.....	46
3.4.2 Βιολογικός κύκλος.....	47
3.4.3 Τρόποι μετάδοσης.....	48
3.4.4 Κλινική εικόνα.....	48
3.4.5 Διάγνωση.....	49
3.4.6 Θεραπεία.....	51
3.4.7 Επιδημιολογικά στοιχεία.....	51
4. Πληθώρα λοιπών παρασίτων σε νωπά λαχανικά.....	52
5. Μεθοδολογία.....	53
5.1 Συλλογή δειγμάτων.....	53
5.2 Επεξεργασία δειγμάτων.....	53
5.3 Εξέταση δειγμάτων για παρασιτικά στοιχεία.....	58
5.4 Μικροσκόπηση νωπών δειγμάτων.....	59
5.5 Οξεάντοχη χρώση για κρυπτοσπορίδια.....	59
6. Αποτελέσματα.....	63
6.1 Συλλογή δειγμάτων.....	63
6.2 Αποτελέσματα μικροσκόπησης νωπού δείγματος.....	65
6.3 Αποτελέσματα οξεάντοχης χρώσης.....	68
7. Συζήτηση.....	72
8. Συμπεράσματα.....	83
9. Βιβλιογραφία.....	85

1.Εισαγωγή

1.1 Τα λαχανικά

Τα λαχανικά αποτελούν κατηγορία τροφίμων πλούσια σε απαραίτητα στοιχεία για τον οργανισμό και κατηγοριοποιούνται σε φυλλώδη, βολβό, λουλούδι, σπόρο, ρίζα, καρπό και μίσχο. Πιο συγκεκριμένα, είναι χαμηλά σε περιεκτικότητα λίπους, υδατανθράκων και χοληστερόλης, ενώ περιέχουν αρκετό νερό, παρέχουν άφθονες βιταμίνες όπως η Α, Κ, C, E και βιταμίνες του συμπλέγματος Β, καροτενοειδή, φυλλικό οξύ, αλλά μέταλλα και φυτικές ίνες. Αξίζει όμως να αναφερθεί πως για την ικανοποιητικότερη ή βέλτιστη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών, προτείνεται τα λαχανικά να καταναλώνονται φρέσκα και ωμά, όπως επίσης και να τεμαχίζονται με το χέρι ή αλλιώς με την χρήση μαχαιριού σε μεγάλα κομμάτια ώστε να μην παρατηρηθεί απώλεια των προαναφερθέντων από την κοπή του μαχαιριού. Για την ασφαλή κατανάλωση ωμών λαχανικών, θα πρέπει να δίνεται προσοχή και στον σωστό καθαρισμό τους για την απομάκρυνση ρυπογόνων και μολυσματικών παραγόντων. Το παραπάνω επιτυγχάνεται με καλό πλύσιμο με άφθονο νερό ή με το πλύσιμο με νερό σε συνδυασμό με ξύδι και έπειτα την αποστράγγιση των λαχανικών. (Team, 2013)

1.2 Κατανάλωση λαχανικών

Η χαμηλή θερμιδική αξία των λαχανικών σε συνδυασμό την με την υψηλή διατροφική αξία τους, βοηθούν στην παρότρυνση κατανάλωσής τους ως συνοδευτικό με κάθε κυρίως γεύμα. Μάλιστα, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) συνιστά κατανάλωση τουλάχιστον 400 γρ λαχανικών ανά ημέρα. Εξίσου σημαντική είναι και η ποικιλία των λαχανικών που καταναλώνεται έτσι ώστε να προσλαμβάνεται και η ανάλογη ποικιλία σε μικροθρεπτικά συστατικά. Να σημειωθεί ότι προτιμώνται λαχανικά εποχής.

Αναλυτικότερα, τα λαχανικά ενεργούν ως προμηθευτές διαιτητικών ινών και αποτελούν σημαντικές πηγές απαραίτητων βιταμινών, μετάλλων και ιχνοστοιχείων, ενώ συγχρόνως λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες που είναι βλαβερές για τον οργανισμό μας και απομακρύνοντάς τες. Μια διατροφή γεμάτη λαχανικά οδηγεί σε μείωση της τελικής επίπτωσης καρκίνου, εγκεφαλικών επεισοδίων, καρδιαγγειακών παθήσεων και άλλων

χρόνιων παθήσεων. Άλλα οφέλη των λαχανικών είναι η διατήρηση της πείνας υπό έλεγχο λόγω της ύπαρξης φυτικών ινών σε αυτά, η διατήρηση του σακχάρου σε φυσιολογικά επίπεδα μέσω της επιβράδυνσης της πέψης και της απορρόφησης των υδατανθράκων, ο έλεγχος των υψηλών επιπέδων χοληστερόλης και της αρτηριακής πίεσης στο σώμα, αλλά και η μείωση στην φλεγμονή με την παράλληλη αρωγή στην ομαλότερη πέψη.

Τα λαχανικά περιέχουν επίσης φυτοχημικά, τα οποία αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες και είναι μη θρεπτικές χημικές ενώσεις που παράγονται από τα φυτά μέσω πολλών χημικών οδών. Τα φυτοχημικά είναι ο επιπλέον ο αιτιολογικός παράγοντας της ύπαρξης μεγάλης ποικιλίας χρωμάτων στα λαχανικά. Πρόσφατες μελέτες αποδεικνύουν ότι ένας μεγάλος αριθμός φυτοχημικών μπορεί να είναι ωφέλιμος για τη λειτουργία των ανθρώπινων κυττάρων και της υγείας του ανθρώπου στο σύνολό της. Μερικά από τα οφέλη τους είναι η μείωση της πιθανότητας εμφάνισης ορισμένων τύπων καρκίνου και καρδιακών παθήσεων, η ομαλότερη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, η προστασία των κυττάρων και του DNA από βλάβες που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκίνο, η βελτιστοποίηση των συνθηκών υγείας, η μείωση της φλεγμονής, η επιβράδυνση του ρυθμού ανάπτυξης ορισμένων καρκινικών κυττάρων αλλά και η αρωγή που προσφέρουν στη ρύθμιση των ορμονών.

Τα στοιχεία δείχνουν ότι η λήψη φυτοχημικών σε μορφή συμπληρώματος μπορεί να μην παρέχει τα ίδια οφέλη με την κατανάλωση ολόκληρων φυτικών τροφών, επειδή τα φυτοχημικά στα συμπληρώματα μπορεί να μην απορροφώνται τόσο εύκολα από τον οργανισμό όσο αυτά από πηγές τροφίμων.

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι, τα φρούτα και τα λαχανικά με βαθύτερα και φωτεινότερα χρώματα ή με πιο δυνατές γεύσεις είναι συχνά πλουσιότερα σε φυτοχημικά. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φυτοχημικών εντοπίζονται επίσης συχνά στις φλούδες των λαχανικών. (Ebabhi & Adebayo, 2022)

1.3 Κίνδυνοι από την κατανάλωση λαχανικών

Η μετάδοση παρασιτικών ασθενειών επηρεάζεται σημαντικά από την κατανάλωση ωμών λαχανικών. Αυτά τα λαχανικά χρησιμεύουν ως πιθανές πηγές για ανθρώπινες λοιμώξεις που προκαλούνται από εντερικά βακτηριακά, ιογενή και παρασιτικά παθογόνα. Κίνδυνοι μόλυνσης υπάρχουν σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής, της συλλογής, της μεταφοράς, της προετοιμασίας και της επεξεργασίας. Οι πηγές μόλυνσης περιλαμβάνουν το έδαφος, τα ανθρώπινα και ζωικά περιττώματα, καθώς και το νερό που χρησιμοποιείται για άρδευση ή καθαρισμό των λαχανικών, ιδίως όταν είναι φυσικά μολυσμένο. Η μόλυνση του ξενιστή προκύπτει συνήθως μέσω της κατάποσης μολυσματικών πρωτοζωικών κύστεων, ωοκύστεων, προνυμφών και αυγών ελμινθών. Κατά συνέπεια, οι παρασιτικές λοιμώξεις οδηγούν σε μια σειρά από επιπλοκές στην υγεία, όπως αναιμία, καθυστέρηση της ανάπτυξης, υποσιτισμό, δυσαπορρόφηση θρεπτικών συστατικών (συμπεριλαμβανομένων των βιταμινών Α, Β6 και Β12, καθώς και ανόργανων συστατικών όπως ο σίδηρος, το ασβέστιο και το μαγνήσιο), εξασθενημένη ανοσολογική λειτουργία, διάρροια και άλλα σωματικά και ψυχικά προβλήματα, που επηρεάζουν ιδιαίτερα τα παιδιά. Τα τελευταία χρόνια, η έξαρση των τροφιμογενών ασθενειών αποδίδεται στις μεταβαλλόμενες διατροφικές συνήθειες, ιδίως στην αυξημένη εξάρτηση από τα έτοιμα τρόφιμα στα εστιατόρια και τα ταχυφαγεία. Η τάση αυτή έχει συμβάλει σε περίπου 300 εκατομμύρια σοβαρές ασθένειες από παρασιτικές λοιμώξεις, με αποτέλεσμα περίπου 200.000 θανάτους, κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες.

1.4 Τροφιμογενή νοσήματα

Οι τροφιμογενείς ασθένειες προκαλούνται από μόλυνση των τροφίμων η οποία μπορεί να συμβεί σε οποιοδήποτε στάδιο της αλυσίδας παραγωγής, παράδοσης και κατανάλωσης τροφίμων. Οι παραπάνω είναι πιθανό να προκύψουν από διάφορες μορφές περιβαλλοντικής μόλυνσης, συμπεριλαμβανομένης της ρύπανσης στο νερό, το έδαφος ή τον αέρα, καθώς και από μη ασφαλή αποθήκευση και επεξεργασία τροφίμων. Οι τροφιμογενείς ασθένειες περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα ασθενειών από τη διάρροια έως και καρκίνο. Οι περισσότερες εμφανίζονται με την μορφή γαστρεντερικών προβλημάτων, αν και μπορούν επίσης να προκαλέσουν νευρολογικά, γυναικολογικά και ανοσολογικά συμπτώματα.

Ως αιτία τροφιμογενών ασθενειών κατατάσσονται και τα πρωτόζωα. Πιο συγκεκριμένα, τα κύρια πρωτόζωα που προκαλούν ανησυχία στις ανεπτυγμένες χώρες έχει αποδειχθεί πως είναι το *Toxoplasma*, το *Cryptosporidium* και η *Giardia*. Άλλα πρωτόζωα όπως η *Entamoeba histolytica*, η *Cyclospora cayetanensis* και η *Sarcocystis*, έχουν καταγραφεί ως αίτιο νοσηρότητας κυρίως σε μη βιομηχανοποιημένες χώρες. Συμπληρωματικά, η *C. cayetanensis* έχει εμφανιστεί ως τροφιμογενές παθογόνο και σε τρόφιμα που εισάγονται στη Βόρεια Αμερική από τη Νότια Αμερική. (Nichols, 2000)

1.5 Υδατογενείς ασθένειες

Οι υδατογενείς ασθένειες προκαλούνται τόσο από το πόσιμο νερό, όσο και από εκείνο που χρησιμοποιείται για ψυχαγωγία και είναι μολυσμένο από μικρόβια ή παθογόνα που προκαλούν ασθένειες. Πολλά υδατογενή παθογόνα μπορούν επίσης να αποκτηθούν με την κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων ή ποτών, από την επαφή με τα ζώα ή το περιβάλλον τους ή μέσω της μετάδοσης από άτομο σε άτομο.

Το ενδιαφέρον για τις υδατογενείς ασθένειες έγκειται στην αναγκαιότητα χρήσης του νερού τόσο για το πότισμα ή ράντισμα των λαχανικών, όσο και για τον καθαρισμό τους από ρυπογόνους παράγοντες. Η επαφή των λαχανικών με το μολυσμένο από πρωτόζωα νερό δύναται να προκαλέσει την επιμόλυνσή τους και να επιφέρει στη νοσηρότητα των καταναλωτών.

Τα πρωτόζωα που ελλοχεύουν στο νερό και ευθύνονται για αρκετές υδατογενείς ασθένειες είναι κατά κύριο λόγο το *Cryptosporidium* και η *Giardia*, τα οποία και κατηγοριοποιούνται για τα

περισσότερες κρούσματα σε περιπτώσεις υδατογενών επιδημιών. Εν συνεχεία ακολουθούν τα *Cyclospora cayetanensis*, *Dientamoeba fragilis* και *Toxoplasma gondii*, αλλά και σε μικρότερης σημασίας από πλευράς πρόκλησης επιδημιών η *Blastocystis hominis*, η *Entamoeba histolytica* και τα *Microsporidia*. (Ma et al., 2022)

Παθογόνα, όπως βακτήρια, παράσιτα και ιοί που μεταδίδονται τροφιμογενώς ή υδατογενώς παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Εντοπισμός	Εντεροπαθογόνα	Παράγοντες μολυσματικότητας	Μηχανισμοί
Λεπτό έντερο	Εντεροτοξιγονικό E. coli (ETEC)	Παράγοντες αποικισμού (CF) (προσκόλληση) Θερμικά ασταθής τοξίνη (LT), Θερμοσταθερή τοξίνη (ST) (τοξίνες)	Εκκριτικός (τοξινογόνο)
	Εντεροσυγκεντρωτική E.coli (EAEC)	AAF, διασπορά (προσκόλληση) EAST1, Pet, Pic, ShET1 (τοξίνες)	
	Δονάκιο της χολέρας	ACF, TCP (προσκόλληση) Άσσος, CT, τοξίνη RTX, Zot (τοξίνες) Vp-TDH, Vp-TRH, Vp-TDH/1 (αιμολυσίνες)	
	Ροταϊός	VP4 (προσκόλληση) NSP4 (τοξίνη)	Ωσμωτικός Απόπτωση των εντεροκυττάρων
	Νοροϊός	Τομέας VP1-P2 (προσκόλληση)	Απορροφητικός χνους
	Γιάρδια	Ειδικές για παραλλαγή επιφανειακές πρωτεΐνες (VSPs), απιμινάση αργινίνης	Αρχιτεκτονική αναστάτωση
	Κρυπτοδοπορίδιο	Άγνωστο	
	Κυκλόσπορα	Άγνωστο	
Παχύ έντερο	Ιστολυτική αμοιβάδα	Ειδική για Gal προσκολλητίνη, κυστεΐνη πρωτεΐνάσες, αμοιβαπόροι Gal/GalNAc λεκτίνη, αμοιβάδα και κυστεΐνη πρωτεάσες	Εισβολής
Λεπτό έντερο και μεγάλο έντερο ειλεοκολονικός	Καμπυλοβακτηρίδιο	CadF, JlpA, LOS, MOMP, PEB1 κάψουλα (προσκόλληση) CiaB (εισβολή) CDT (τοξίνη)	Φλεγμονώδης Εισβολής

	Σιγκέλλα	IcP, (SopA), Pic, SigA (πρωτεάση) ShET1, ShET2, Shiga toxin (S. δυσεντερίες) (μόνο ορότυπος 1) (τοξίνη)	
	Σαλμονέλα	AgF, LpF, MisL, Pef, RatB, ShdA, SinH, κροσσοί τύπου 1 (προσκόλληση) Αντιγόνο Vi (S. enterica) (serovar typhi) (ανοσοποιητική διαφυγή) CdtB (S. enterica) (serovar typhi), Spv (τοξίνη)	
	Υδρόφιλη αερομονάδα	Cytotoxic Alt [θερμικά ασταθής] και Ast [θερμοσταθερό], κυτταροτοξική πράξη (εντεροτοξίνη) αερολυσίνη (κυτταροτοξίνη), hyl H (αιμολυσίνη).	
	Υερσίνια	Ail, Invasin (εισβολή) Yst (τοξίνη)	

(Vassalos & Vassalou, 2012)

2. Πρωτόζωα

2.1 Γενικά

Τα Πρωτόζωα έχουν καταταχθεί ως υποβασιλείο του βασιλείου Protista, Στο κλασσικό, όμως, σύστημα τοποθετούνταν στο βασίλειο Animalia. Έχουν περιγραφεί και καταγραφεί περισσότερα από 50.000 είδη σε κάθε πιθανό βιότοπο, ενώ η ύπαρξή τους χρονολογείται από τη Προκαμβριακή εποχή, όπως μαρτυρούν τα απολιθώματα. Η παρατήρηση των πρωτόζωων έγινε πρώτη φορά από τον Anton van Leeuwenhoek μέσω της χρήσης μικροσκοπίων κατασκευασμένων από τον ίδιο με απλούς φακούς. Πιο συγκεκριμένα μεταξύ 1674 και 1716, περιέγραψε, εκτός από τα πρωτόζωα που ζουν ελεύθερα, αρκετά παρασιτικά είδη από ζώα και τη *Giardia lamblia* από τα δικά του κόπρανα.

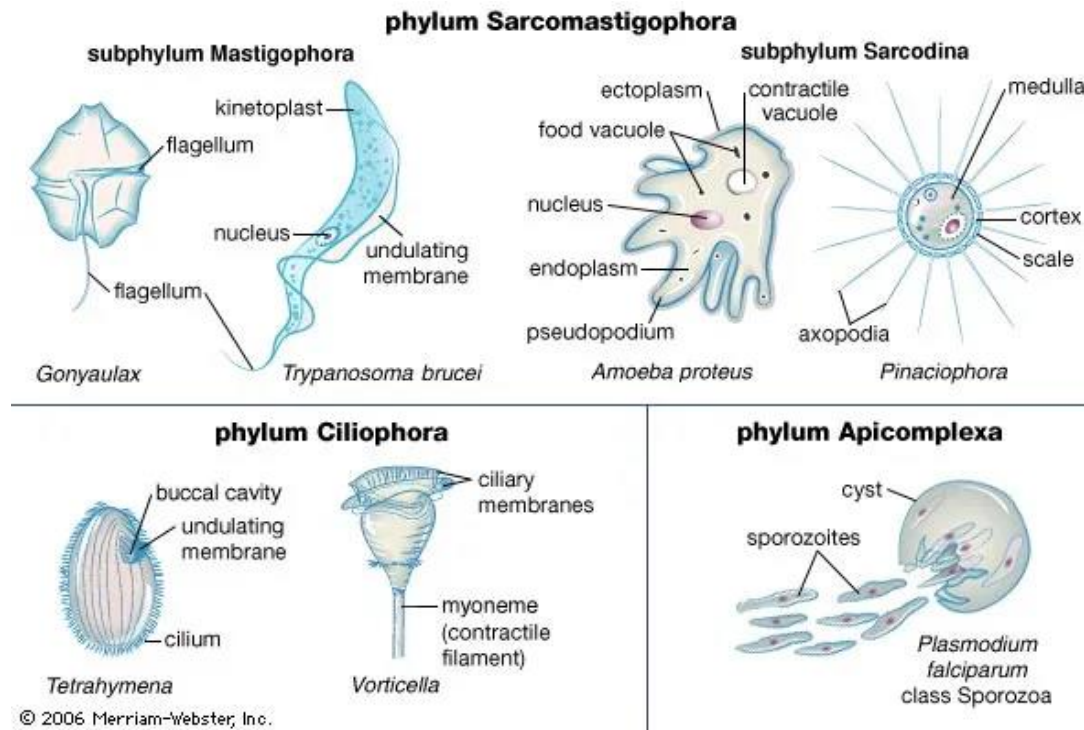
Πρωτόζωα είναι δυνατό να εντοπιστούν σε όλους σχεδόν τους ανθρώπινους οργανισμούς καθώς αυτά είναι πιθανό να διαβίωναν παροδικά στην επιφάνεια ή μέσα στο σώμα τους. Τα παραπάνω μπορούν να χαρακτηριστούν από κοινά, δηλαδή μη επιβλαβή, σε επιβλαβή ή και απειλητικά για την ζωή. Η επίδραση τους φυσικά σχετίζεται και από τον οργανισμό που τα φιλοξενεί. Εάν ο ανθρώπινος οργανισμός είναι ικανός να τα ελέγξει αλλά όχι να τα εξαλείψει, τότε αυτομάτως ο παραπάνω χαρακτηρίζεται ως φορέας. Υπάρχει βέβαια και η πιθανότητα ένα πρωτόζωο να αποβεί ακόμα και μοιραίο για την ζωή σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, κυρίως σε εκείνους με σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS), ενώ το ίδιο σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς θα παρουσίαζε από ήπια συμπτωματολογία έως και καθόλου. Όπως θα αναπτυχθούν και παρακάτω, το *Toxoplasma gondii*, ένα πολύ κοινό πρωτόζωο, συνήθως προκαλεί μια ήπια αρχική ασθένεια που ακολουθείται από μια μακροχρόνια λανθάνουσα μόλυνση. Οι ασθενείς με AIDS, ωστόσο, μπορεί να αναπτύξουν θανατηφόρα τοξοπλάσματική εγκεφαλίτιδα. Εν συνεχεία, το *Cryptosporidium*, περιεγράφηκε τον 19ο αιώνα, αλλά η εκτεταμένη μόλυνση στον άνθρωπο έχει αναγνωριστεί παρά πρόσφατα. Το παραπάνω μπορεί επίσης να προκαλέσει σοβαρές επιπλοκές σε ασθενείς με AIDS. Σχετικά με την ανοσοαπόκριση, μια κοινή στρατηγική που χρησιμοποιείται, κυρίως σε γεωγραφικές περιοχές υψηλού επιπολασμού, είναι η αποφυγή αντιμετώπισης με σκοπό την εκρίζωση του πρωτόζωου στις καλά ανεκτές λοιμώξεις. Το παραπάνω συμβαίνει καθώς η εκρίζωση θα μείωνε την ανοσία του ατόμου στο παράσιτο και θα είχε ως αποτέλεσμα την υψηλή πιθανότητα επαναμόλυνσης.

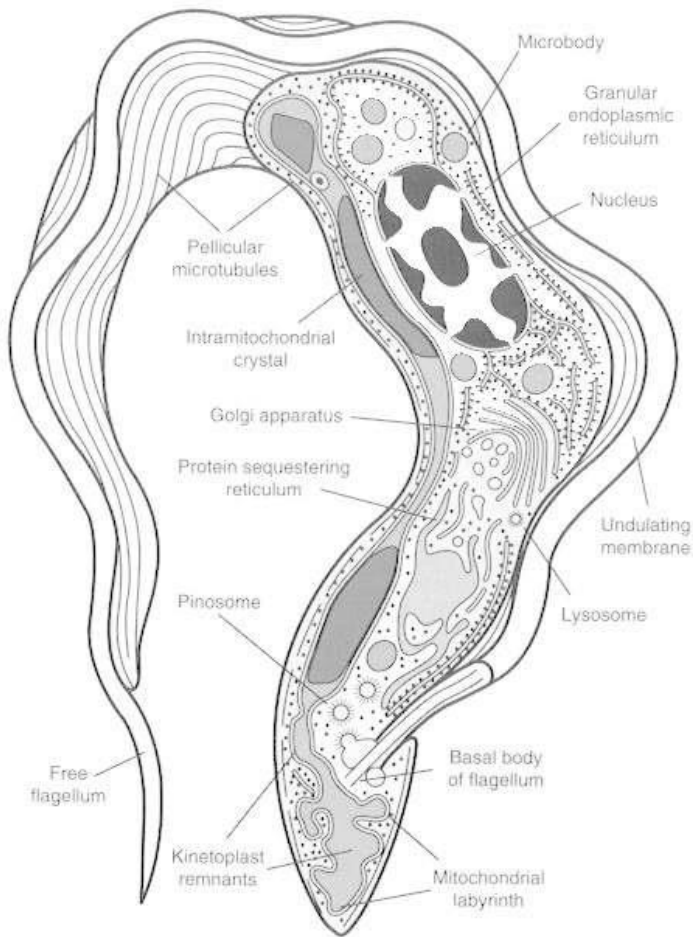
2.2 Ταξινόμηση

Το 1985 η Εταιρεία Πρωτοζωολόγων δημοσίευσε ένα ταξινομικό σχήμα που διένειμε τα Πρωτόζωα σε έξι φύλα. Δύο από αυτά τα φύλα, τα Sarcomastigophora και τα Apicomplexa, περιέχουν τα πιο σημαντικά είδη όσον αφορά τη μολυσματικότητά τους. Αυτό το σχήμα βασίζεται στη μορφολογία όπως αποκαλύπτεται από τη μικροσκοπία φωτός, ηλεκτρονίων και σάρωσης. Το *Dientamoeba fragilis*, για παράδειγμα, είχε θεωρηθεί ότι είναι αμοιβάδα και τοποθετήθηκε στην οικογένεια Entamoebidae. Ωστόσο, οι εσωτερικές δομές που φαίνονται με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι είναι σωστά τοποθετημένο στην τάξη Trichomonadida των μαστιγωτών πρωτόζωων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, σε οργανισμούς που φαίνονται πανομοιότυποι στο μικροσκόπιο έχουν αποδοθεί διαφορετικά ονόματα ειδών με βάση κριτήρια όπως η γεωγραφική κατανομή και οι κλινικές εκδηλώσεις. ένα καλό παράδειγμα είναι το γένος *Leishmania*, για το οποίο χρησιμοποιούνται συχνά ονόματα υποειδών. Βιοχημικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί σε στελέχη και είδη για τον προσδιορισμό των μοτίβων ισοενζύμων ή για την ταυτοποίηση σχετικών αλληλουχιών νουκλεοτιδίων σε RNA, DNA ή και στα δύο. Έχουν γίνει εκτενείς μελέτες για τον κινετοπλάστη, ένα μοναδικό μιτοχόνδριο που βρίσκεται στα αιμομαστιγώματα και σε άλλα μέλη της τάξης των Kinetoplastida. Το DNA που σχετίζεται με αυτό το οργανίδιο έχει μεγάλο ενδιαφέρον. Η κλωνοποίηση χρησιμοποιείται ευρέως σε ταξινομικές μελέτες, για παράδειγμα για τη μελέτη διαφορών στη λοιμογόνο δράση ή τις εκδηλώσεις ασθένειας σε απομονώσεις ενός μεμονωμένου είδους που λαμβάνονται από διαφορετικούς ξενιστές ή γεωγραφικές περιοχές. Αντισώματα (ιδιαίτερα μονοκλωνικά αντισώματα) σε γνωστά είδη ή σε ειδικά αντιγόνα από ένα είδος χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση άγνωστων απομονώσεων. Τελικά, η μοριακή ταξινόμηση μπορεί να αποδειχθεί πιο αξιόπιστη βάση από τη μορφολογία για την ταξινόμηση πρωτόζωων, αλλά το μικροσκόπιο εξακολουθεί να είναι το πιο πρακτικό εργαλείο για την αναγνώριση ενός πρωτόζωου.

2.3 Δομή

Τα περισσότερα παρασιτικά πρωτόζωα στον άνθρωπο έχουν μέγεθος μικρότερο από 50 μm. Οι μικρότερες (κυρίως ενδοκυτταρικές μορφές) έχουν μήκος 1 έως 10 μm. Βέβαια υπάρχουν και μεγαλύτερα πρωτόζωα όπως το *Balantidium coli*, το οποίο μπορεί να έχει μήκος έως 150 μm. Τα πρωτόζωα είναι μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί και όπως σε όλους τους προαναφερθέντες οργανισμούς, ο πυρήνας περικλείεται σε μια μεμβράνη. Στα πρωτόζωα εκτός των βλεφαριδοφόρων, ο πυρήνας είναι φυσαλιδώδης, με τη διάσπαρτη χρωματίνη να δίνει μια διάχυτη εμφάνιση στον πυρήνα, ενώ όλοι οι πυρήνες του μεμονωμένου οργανισμού εμφανίζονται όμοιοι. Ένας τύπος φυσαλιδώδους πυρήνα περιέχει ένα περισσότερο ή λιγότερο κεντρικό σώμα, που ονομάζεται ενδόσωμα ή καρυσώμα. Το ενδόσωμα στερείται DNA στις παρασιτικές αμοιβάδες και τρυπανοσώματα. Οι βλεφαρίδες έχουν και μικροπυρήνα και μακροπυρήνα, οι οποίοι φαίνονται αρκετά ομοιογενείς σε σύσταση. Στο γένος *Apicomplexa*, από την άλλη πλευρά, ο φυσαλιδώδης πυρήνας έχει έναν ή περισσότερους μικρότερους πυρήνες που περιέχουν DNA.





Τα οργανίδια των πρωτόζωων έχουν λειτουργίες παρόμοιες με τα όργανα των ανώτερων ζώων. Η πλασματική μεμβράνη που περικλείει το κυτταρόπλασμα καλύπτει επίσης τις προεξέχουσες κινητικές δομές όπως ψευδοπόδια, βλεφαρίδες και μαστίγια. Η εξωτερική επιφανειακή στιβάδα ορισμένων πρωτόζωων, που ονομάζεται πελίκιο, ενώ είναι αρκετά άκαμπτη ώστε να διατηρεί ένα διακριτικό σχήμα, όπως στα τρυπανοσώματα και τη Giardia. Ωστόσο, αυτοί οι οργανισμοί μπορούν εύκολα να στρίψουν και να λυγίσουν όταν κινούνται στο περιβάλλον τους. Στα περισσότερα πρωτόζωα το

κυτταρόπλασμα διαφοροποιείται σε εκτόπλασμα (το εξωτερικό, διαφανές στρώμα) και ενδοπλάσμα (το εσωτερικό στρώμα που περιέχει οργανίδια). η δομή του κυτταροπλάσματος είναι πιο εύκολα ορατή σε είδη με προεξέχοντα ψευδοπόδια, όπως οι αμοιβάδες. Μερικά πρωτόζωα έχουν κυτταρόσωμα ή κυτταρικό «στόμα» για την κατάποση υγρών ή στερεών σωματιδίων. Συσταλτικά κενοτόπια για ωσμωρύθμιση εμφανίζονται σε ορισμένα, όπως η Naegleria και το Balantidium. Πολλά πρωτόζωα έχουν υποπελεκικούς μικροσωληνίσκους. Στα Apicomplexa, τα οποία δεν έχουν εξωτερικά οργανίδια για κίνηση, αυτά παρέχουν ένα μέσο για αργή κίνηση. Οι τριχομονάδες και τα τρυπανοσώματα έχουν μια χαρακτηριστική κυματοειδή μεμβράνη μεταξύ του τοιχώματος του σώματος και ενός μαστιγίου. Πολλές άλλες δομές εμφανίζονται σε παρασιτικά πρωτόζωα, συμπεριλαμβανομένου του συμπλέγματος Golgi, των μιτοχονδρίων, των λυσοσωμάτων, των τροφικών κενοτοπίων, των κωνοειδών στο Apicomplexa και άλλων εξειδικευμένων δομών.

2.4 Κύκλος ζωής

Κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους, τα πρωτόζωα περνούν από διάφορα στάδια που διαφέρουν ως προς τη δομή και τη δραστηριότητα. Ο γενικός όρος τροφοζώιτης αναφέρεται στο ενεργό, βλαστικό, πολλαπλασιαστικό στάδιο των περισσότερων πρωτόζωων. Στα παρασιτικά είδη, αυτό είναι το στάδιο που συνήθως σχετίζεται με την παθογένεση. Στα αιμομαστίγωτα, οι όροι μαστιγώτης, προμαστιγώτης, επιμαστιγώτης και τρυπομαστιγώτης δηλώνουν βλαστικά στάδια, που διαφέρουν ως προς την παρουσία ή την απουσία μαστιγίων και τη θέση των κινητοπλαστών σε σχέση με το μαστίγιο. Χρησιμοποιούνται ποικίλοι όροι για στάδια στο Apicomplexa, όπως ο ταχυζώιτης και ο βραδυζώιτης για το *Toxoplasma gondii*. Άλλα στάδια στους πολύπλοκους ασεξουαλικούς και σεξουαλικούς κύκλους ζωής που παρατηρούνται σε αυτό το γένος είναι ο μεροζώιτης (η μορφή που προκύπτει από τη σχάση ενός πολυπύρηνου σχιζόντος) και τα σεξουαλικά στάδια όπως τα γαμετοκύτταρα και οι γαμέτες. Μερικά πρωτόζωα σχηματίζουν κύστες που περιέχουν μία ή περισσότερες μολυσματικές μορφές. Ο πολλαπλασιασμός συμβαίνει στις κύστες ορισμένων ειδών, έτσι ώστε η εκκύστωση να απελευθερώνει περισσότερους από έναν οργανισμούς. Για παράδειγμα, όταν ο τροφοζώιτης της *Entamoeba histolytica* σχηματίζει για πρώτη φορά μια κύστη, έχει έναν μόνο πυρήνα. Καθώς η κύστη ωριμάζει, η πυρηνική διαίρεση παράγει τέσσερις πυρήνες και κατά την εκκύστωση εμφανίζονται τέσσερις μη πυρηνικοί μετακυστικοί αμπελώνες. Ομοίως, μια πρόσφατα εγκυστωμένη *Giardia lamblia* έχει τον ίδιο αριθμό εσωτερικών δομών (οργανίδια) με τον τροφοζώιτη. Ωστόσο, καθώς η κύστη ωριμάζει τα οργανίδια διπλασιάζονται και σχηματίζονται δύο τροφοζώιτες. Οι κύστες που μεταφέρονται στα κόπρανα έχουν προστατευτικό τοίχωμα, επιτρέποντας στο παράσιτο να επιβιώσει στο εξωτερικό περιβάλλον για μια περίοδο που κυμαίνεται από ημέρες έως ένα χρόνο, ανάλογα με το είδος και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι κύστες που σχηματίζονται στους ιστούς δεν έχουν συνήθως βαρύ προστατευτικό τοίχωμα και βασίζονται στον σαρκοφαγισμό για μετάδοση. Οι ωοκύστες είναι στάδια που προκύπτουν από τη σεξουαλική αναπαραγωγή στο Apicomplexa. Κάποιες ωοκύστες με σύμπλεγμα μεσοσυμπλέγματος διοχετεύονται στα κόπρανα του ξενιστή, αλλά οι ωοκύστες του *Plasmodium*, του παράγοντα της ελονοσίας, αναπτύσσονται στην σωματική κοιλότητα του φορέα των κουνουπιών.

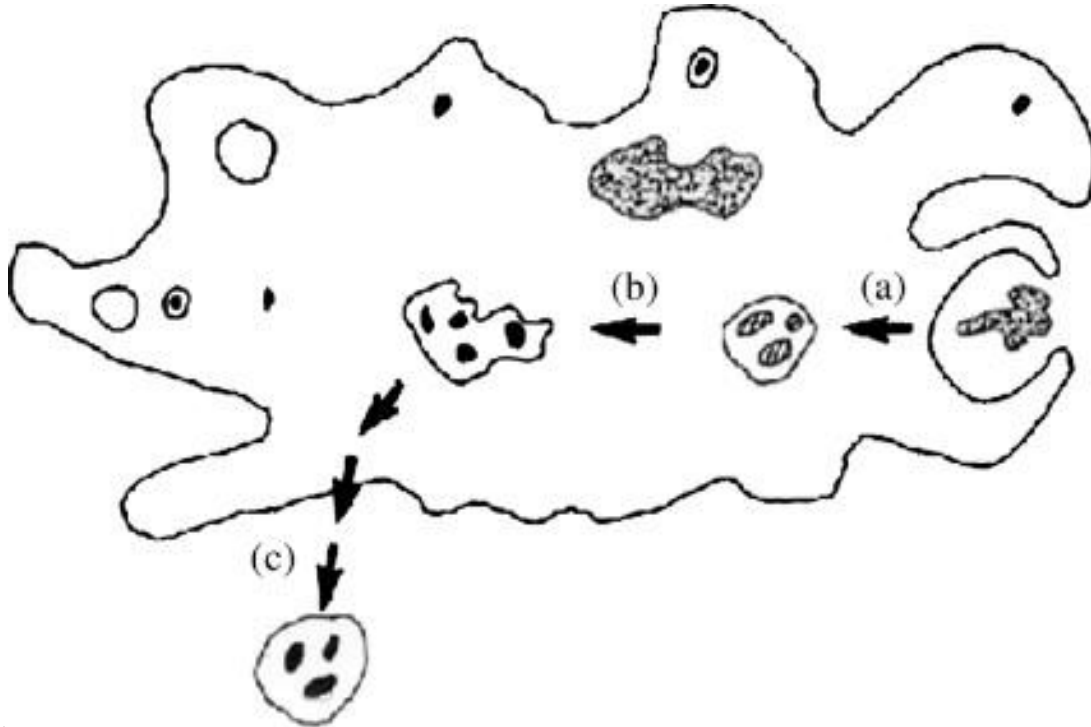
2.5 Αναπαραγωγή

Η αναπαραγωγή στα πρωτόζωα δύναται να πραγματοποιηθεί ασεξουαλικά, όπως στις αμοιβάδες και τα μαστιγοφόρα που μολύνουν τον άνθρωπο, ή και συνδυαστικά ασεξουαλικά και σεξουαλικά, όπως στα ιατρικής σημασίας αποϊκόπλεξα. Ο πιο συνηθισμένος τύπος ασεξουαλικού πολλαπλασιασμού είναι η δυαδική σχάση, στην οποία τα οργανίδια διπλασιάζονται και το πρωτόζωο στη συνέχεια διαιρείται σε δύο πλήρεις οργανισμούς. Η διαίρεση είναι διαμήκης στα μαστιγοφόρα και εγκάρσια στα βλεφαροφόρα. Οι αμοιβάδες δεν έχουν εμφανή πρόσθιο-οπίσθιο άξονα. Η ενδοδυογένεση είναι μια μορφή ασεξουαλικής διαίρεσης που παρατηρείται στο τοξόπλασμα και σε ορισμένους σχετικούς οργανισμούς. Δύο θυγατρικά κύτταρα σχηματίζονται μέσα στο γονικό κύτταρο, το οποίο στη συνέχεια σπάει, απελευθερώνοντας τους μικρότερους απογόνους που μεγαλώνουν σε πλήρες μέγεθος πριν επαναλάβουν τη διαδικασία. Στη σχιζογονία, μια κοινή μορφή ασεξουαλικής διαίρεσης στο Apicomplexa, ο πυρήνας διαιρείται αρκετές φορές και στη συνέχεια το κυτταρόπλασμα διαιρείται σε μικρότερα μη πυρηνικά μεροζωΐδια. Στο Plasmodium, το Toxoplasma και άλλα apicomplexans, ο σεξουαλικός κύκλος περιλαμβάνει την παραγωγή γαμετών (γαμογονία), γονιμοποίηση για το σχηματισμό του ζυγώτη, ενστάρωση του ζυγώτη για σχηματισμό ωοκύστης και σχηματισμό μολυσματικών σποροζωΐτων (σπορογονία) εντός της ωοκύστης.

Μερικά πρωτόζωα έχουν πολύπλοκους κύκλους ζωής που απαιτούν δύο διαφορετικά είδη ξενιστών, ενώ άλλα απαιτούν μόνο έναν για να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους. Ένα μόνο μολυσματικό πρωτόζωο που εισέρχεται σε έναν ευαίσθητο ξενιστή έχει τη δυνατότητα να παράγει έναν τεράστιο πληθυσμό απογόνων. Ωστόσο, η αναπαραγωγή περιορίζεται από γεγονότα όπως ο θάνατος του ξενιστή, από τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή οι οποίοι μπορεί είτε να εξαλείψουν το παράσιτο είτε να εξισορροπήσουν την αναπαραγωγή του ώστε να προκαλέσουν μια χρόνια μόλυνση. Για παράδειγμα, η ελονοσία μπορεί να προκύψει όταν μόνο μερικά σποροζωΐδια του Plasmodium falciparum, δέκα ή λιγότερα σε σπάνιες περιπτώσεις, εισάγονται από ένα κουνούπι Anopheles που τρέφεται από άτομο χωρίς ανοσία. Οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι σχιζογονίας στην κυκλοφορία του αίματος μπορούν να οδηγήσουν σε μόλυνση της τάξεως του 10 τοις εκατό ή περισσότερων των ερυθροκυττάρων που ισοδυναμεί περίπου σε 400 εκατομμύρια παράσιτα ανά χιλιοστόλιτρο αίματος.

2.6 Διατροφή

Η διατροφή όλων των πρωτόζωων είναι ολοζωική. Απαιτούν δηλαδή οργανικά υλικά, τα οποία μπορεί να είναι σωματιδιακά ή σε διάλυμα. Οι αμοιβάδες τρέφονται με σωματίδια τροφής ή σταγονίδια μέσω ενός είδους προσωρινού στόματος, ενώ πραγματοποιούν πέψη και απορρόφηση σε ένα κενό τροφής και τέλος απωθούν τις άχρηστες ουσίες. Πολλά πρωτόζωα έχουν ένα μόνιμο στόμα, το κυτταρόσωμα ή μικροπόρο, μέσω του οποίου η τροφή που καταναλώνεται διέρχεται για να εγκλωβιστεί σε κενοτόπια τροφής. Η πινοκύττωση είναι μια μέθοδος πρόσληψης θρεπτικών ουσιών με την οποία το υγρό αντλείται από μικρά, προσωρινά ανοίγματα στο τοίχωμα του σώματος. Το προσλαμβανόμενο υλικό εγκλείεται μέσα σε μια μεμβράνη για να σχηματίσει ένα κενό τροφής



Τα πρωτόζωα έχουν μεταβολικές οδούς παρόμοιες με αυτές των ανώτερων ζώων και απαιτούν τους ίδιους τύπους οργανικών και ανόργανων ενώσεων. Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει σημαντικές πρόοδοι στην επινόηση χημικά καθορισμένων μέσων για την *in vitro* καλλιέργεια παρασιτικών πρωτοζώων. Οι οργανισμοί που προκύπτουν είναι απαλλαγμένοι από διάφορες ουσίες που υπάρχουν σε οργανισμούς που αναπτύσσονται σε πολύπλοκα μέσα ή έχουν

απομονωθεί από έναν ξενιστή και οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν τις ανοσολογικές ή βιοχημικές μελέτες. Η έρευνα για τον μεταβολισμό των παρασίτων έχει άμεσο ενδιαφέρον, επειδή οι οδοί που είναι απαραίτητες για το παράσιτο αλλά όχι για τον ξενιστή είναι πιθανοί στόχοι για αντιπρωτοζωικές ενώσεις. Οι παραπάνω θα μπορούσαν να εμποδίσουν αυτές τις οδούς ενώ παράλληλα παραμένουν ασφαλή για τον άνθρωπο. Πολλά αντιπρωτοζωικά φάρμακα χρησιμοποιήθηκαν εμπειρικά πολύ πριν γίνει γνωστός ο μηχανισμός δράσης τους. Τα φάρμακα σουλφα, τα οποία εμποδίζουν τη σύνθεση φολικού στα παράσιτα της ελονοσίας, είναι ένα παράδειγμα.

Ο γρήγορος ρυθμός πολλαπλασιασμού πολλών παρασίτων αυξάνει τις πιθανότητες για μετάλλαξη. Ως εκ τούτου, μπορεί να συμβούν αλλαγές στη λοιμογόνο δράση, την ευαισθησία στο φάρμακο και άλλα χαρακτηριστικά. Η αντοχή στη χλωροκίνη στο *Plasmodium falciparum* και η αντίσταση στο αρσενικό στο *Trypanosoma rhodesiense* είναι δύο παραδείγματα.

Ο ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά δεν είναι συνήθως σημαντικός παράγοντας στην παθογένεση επειδή οι ποσότητες που χρησιμοποιούνται από τα παρασιτικά πρωτόζωα είναι σχετικά μικρές. Ορισμένα παράσιτα που κατοικούν στο λεπτό έντερο μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά την πέψη και την απορρόφηση και να επηρεάσουν τη διατροφική κατάσταση του ξενιστή. Η *Giardia* και το *Cryptosporidium* είναι παραδείγματα. Η καταστροφή των κυττάρων και των ιστών του ξενιστή ως αποτέλεσμα των μεταβολικών δραστηριοτήτων των παρασίτων αυξάνει τις διατροφικές ανάγκες του ξενιστή. Αυτό μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην έκβαση μιας λοίμωξης σε ένα υποσιτισμένο άτομο. Τέλος, εξωκυττάρια ή ενδοκυτταρικά παράσιτα που καταστρέφουν τα κύτταρα κατά τη σίτιση μπορεί να οδηγήσουν σε δυσλειτουργία οργάνων και σοβαρές ή απειλητικές για τη ζωή συνέπειες.

3. Παρουσίαση πρωτόζωων

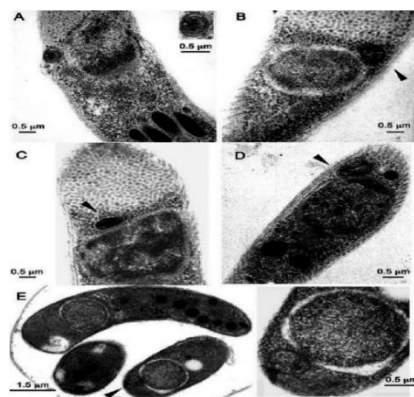
3.1 Cryptosporidium spp

Το *Cryptosporidium* όπως και η *Giardia* αναγνωρίζονται ως κύριες οι αιτίες υδατογενούς και τροφιμογενούς διαρροϊκής νόσου με παγκόσμια εξάπλωση. Επιπλέον το *Cryptosporidium* είναι ένα από τα σημαντικότερα παρασιτικά πρωτόζωα που προκαλούν ανησυχία στη βιομηχανία παραγωγής τροφίμων, παγκοσμίως. Πιο συγκεκριμένα, πρόκειται για ένα γένος πρωτόζωων παρασίτων που μπορούν να μολύνουν ανθρώπους και ζώα.

3.1.1 Περιγραφή

Το *Cryptosporidium* spp. παρουσιάζει πληθώρα ειδών, διαχωριζόμενα με βάση τους οργανισμούς που προσβάλλουν, το μέγεθός τους όπως και άλλα χαρακτηριστικά. Πιο συγκεκριμένα, η κατηγοριοποίηση βάση των προσβεβλημένων οργανισμών, έχει ως εξής: το *C. parvum*, το οποίο επηρεάζει ανθρώπους και θηλαστικά παρουσιάζοντας μάλιστα δύο γονότυπους, τον γονότυπο ένα και τον γονότυπο δύο. Επιπλέον το *C. hominis*, το *C. canis* και το *C. felis*. Επιπρόσθετα το *C. Muris* που προσβάλλει τα τρωκτικά, το *C. wrairi* τα ινδικά χοιρίδια, το *C. andersoni* τα βοοειδή, το *C. meleagridis* και το *C. baileyi* τα πτηνά και τέλος το *C. serpentis* τα φίδια.

Στην αναγνώριση των ειδών σημαντικό ρόλο διαδραματίζει και το μέγεθος. Πιο αναλυτικά οι διαστάσεις για το εκάστοτε έχουν θεωρηθεί οι εξής: για το *C. parvum* 5.2 επί 4.6, για το *C. hominis* 5.3 επί 4.7, για το *C. muris* 8.8 επί 6.3, για το *C. andersoni* 7.7 επί 5.9, για το *C. wrairi* 5.4 επί 4.6, για το *C. baileyi* 6.2 επί 4.6 και τέλος για το *C. serpentis* 6.2 επί 5.7.



Υπερδομική μορφολογία του *Cryptosporidium parvum* και του μιτοχondριακού οργανιδίου *C. hominis*. Οι εγκάρσιες (Α και Β) και οι διαμήκεις τομές (C και D) δείχνουν ελεύθερα σποροζωΐδια που λαμβάνονται από ένα προϊόν απομόνωσης *C. hominis*, ενώ μια εγκάρσια τομή από το προϊόν απομόνωσης *C. parvum* Iowa δείχνει μια ωοκύστη με σποροζωΐδια χωρίς κυστικό (Ε). Οι τομές δείχνουν μια πυρηνική σχετιζόμενη στρογγυλή δομή (Α–Ε), που περιβάλλεται από μια διπλή μεμβράνη (ένθετη στο Α) και χαρακτηρίζεται από εσωτερικές δομές πυκνότητας ηλεκτρονίων (Α, C και D).

Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Ultrastructural-morphology-of-the-Cryptosporidium-parvum-and-C-hominis-mitochondrion_fig1_8442696

Όσον αφορά τις ωοκύστες του *Cryptosporidium*, οι προαναφερθείσες είναι στρογγυλές ή ωοειδείς, πολύ μικρές σε μέγεθος και έχουν διάμετρο 4 έως 9 μm . Πιο συγκεκριμένα παρουσιάζουν διαστάσεις περίπου 4 μm επί 6 μm . Σε φρέσκα δείγματα, κατά την μικροσκόπηση, οι ωοκύστες του *Cryptosporidium* έχουν μια ευδιάκριτη ροζ απόχρωση.

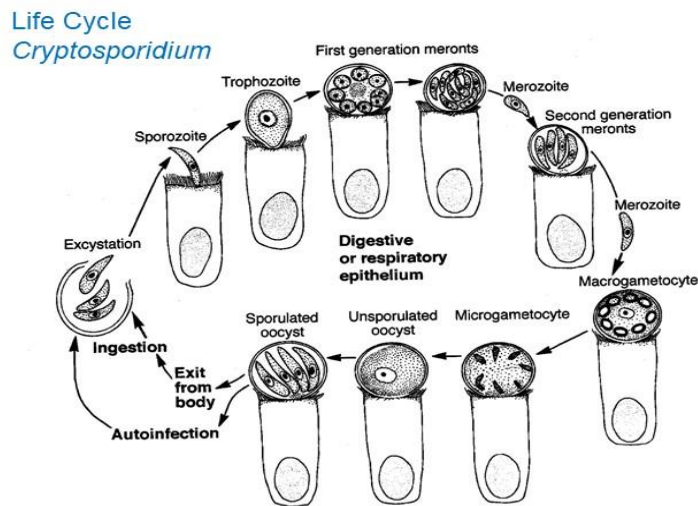
Χαρακτηρίζονται από στάδια της κοκκιδικής ωοκύστης που είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στο περιβαλλοντικό στρες και στη χημική απολύμανση. Συγκεκριμένα το παράσιτο είναι ανθεκτικό στα τυπικά απολυμαντικά νερού όπως το χλώριο, και επομένως ως υδατογενείς εστίες παρουσιάζονται οι δημόσιες παροχές πόσιμου νερού αλλά και η χρήση αυτού για αναψυχή. Η ανθεκτικότητα, αποδίδεται στο ανθεκτικό τοίχωμα ωοκύστης, ένα σύνθετο προστατευτικό φράγμα που αποτελείται από ένα διπλό στρώμα μήτρας πρωτεΐνης-λιπιδίου-υδατάνθρακα.

3.1.2 Βιολογικός κύκλος

Ο κύκλος ζωής του *Cryptosporidium* είναι απλός αφού τόσο το ασεξουαλικό όσο και το σεξουαλικό στάδιο ολοκληρώνονται σε έναν μόνο ξενιστή. Ο παραπάνω, ξεκινά με την από του στόματος λήψη λοιμώδους μορφής, των ωοκύστεων οι οποίες συνθέτονται από παχύ τοίχωμα και κάθε μια από αυτές περιέχει τέσσερα σποροζωΐδια. Αυτές οι ωοκύστες υφίστανται εκκύστωση λόγω αλλαγής της θερμοκρασίας, του pH, της δράσης των χολικών αλάτων και των παρασιτικών πρωτεασών, μαζί με άλλους άγνωστους παράγοντες ενεργοποίησης.

Τα απελευθερωμένα σποροζωΐδια μετακινούνται και εισβάλλουν στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου, ή αλλιώς στα εντεροκύτταρα, και μετατρέπονται σε τροφοζώιτη χωρίς πυρήνα. Οι τροφοζώιτες υποβάλλονται σε τρεις γύρους ασεξουαλικής αντιγραφής ή αλλιώς μερογονίας, για να παραχθεί ένα ώριμο μερόντιο τύπου ένα με οκτώ μεροζωΐτες. Οι μεροζωΐτες που απελευθερώνονται από το μερόντιο τύπου ένα εισβάλλουν σε παρακείμενα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου για να δώσουν επιπλέον μερόντες τύπου ένα, ή μεταμορφώνονται σε μεροζωΐτες τύπου δύο που περιέχουν τέσσερις μεροζωΐτες. Οι μεροζωΐτες από μερόντια τύπου δύο πιστεύεται ότι μεταμορφώνονται στα σεξουαλικά στάδια, τον μακρογαμέτη, γένους θηλυκού, και τον μικρογαμέτη, γένους αρσενικού. Ο μακρογαμέτης έχει έναν μεγάλο, έκκεντρο πυρήνα και στο κυτταρόπλασμά του αποθηκεύει κόκκους αμυλοπηκτίνης, λιπιδικά κενοτόπια και σώματα που σχηματίζουν τοίχωμα. Ο μικρογαμέτης δημιουργεί 16 μη μαστιγοτούς, σε σχήμα σφαίρας,

αρσενικούς γαμέτες που βρίσκουν θηλυκούς γαμέτες με άγνωστους μηχανισμούς, με αποτέλεσμα τη γονιμοποίηση. Η σύντηξη του αρσενικού και του θηλυκού πυρήνα έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός διπλοειδούς ζυγώτη που υφίσταται μείωση και σπορογονία για να σχηματίσει τέσσερα απλοειδή σποροζωΐδια μέσα σε μια ωοκύστη. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα παραπάνω είναι συνήθως δύσκολο ή αδύνατο, ακόμη και υπό υψηλή μεγενθυτική ισχύ, να γίνουν ευδιάκριτα. Αυτή η σποριωμένη ωοκύστη διοχετεύεται στη συνέχεια στα κόπρανα για να παραληφθεί από άλλον ξενιστή για να συνεχιστεί ο κύκλος.



From: Gardiner CH et al., *An Atlas of Protozoans in Animal Tissues*, AFIP, 1998

3.1.3 Τρόποι Μετάδοσης

Το *Cryptosporidium* spp εμφανίζει ποικίλους τρόπους μετάδοσης αλλά και αξιοσημείωτη ανθεκτικότητα σε περιβαλλοντικούς, χημικούς και άλλους παράγοντες, που το καθιστούν μείζον πρόβλημα για την δημόσια υγεία. Συγκεκριμένα, το *Cryptosporidium* spp. συναντάται πολύ συχνά στο περιβάλλον και έχει απομονωθεί από ένα ευρύ φάσμα ξενιστών. Σημαντική εστία θεωρείται το νερό καθώς και οι διάφορες μορφές με τις οποίες αυτό συναντάται, όπως το επεξεργασμένο και μη επεξεργασμένο πόσιμο νερό, τα υπόγεια ύδατα, τα επιφανειακά υδατικά συστήματα, τα ακατέργαστα και δευτερογενώς επεξεργασμένα λύματα, οι εκβολές των ποταμών αλλά και τα θαλάσσια ύδατα. Η μετάδοση δύναται να πραγματοποιηθεί και από επαφή ανθρώπου- ζώου. Αναλυτικότερα, η άμεση επαφή με προαπογαλακτισμένα μοσχάρια, αρνιά ή περιττώματα ζώων και οι ανεπαρκείς εγκαταστάσεις πλυσίματος των χεριών θεωρήθηκαν ως παράγοντες που συμβάλλουν στην διασπορά του λοιμογόνου παράγοντα. Εκτός από τα κρούσματα που προκαλούνται από μολυσμένο νερό και μολυσμένα ζώα, έχουν επίσης αναφερθεί τροφιμογενείς επιδημίες κρυπτοσποριδίωσης αν και σε μικρότερη συχνότητα. Η μόλυνση ειδών διατροφής από χειριστές-φορείς του *Cryptosporidium* έχει ενοχοποιηθεί ως η κύρια αιτία τροφιμογενών κρουσμάτων κρυπτοσποριδίωσης. Η απευθείας μετάδοση του *Cryptosporidium* spp. από άτομο σε άτομο αποτελεί έναν ακόμα τρόπο μετάδοσης, ακόμα και όταν μεσολαβούν παθητικοί φορείς και μολυσμένες περιβαλλοντικές επιφάνειες. Άλλοι τρόποι μετάδοσης περιλαμβάνουν τη μηχανική μεταφορά μέσω του εδάφους και των έντομων, όπως οι κατσαρίδες και οι οικιακές μύγες.

Στην μεταδοτικότητά του, ευνοούν σημαντικά ορισμένα βιολογικά χαρακτηριστικά του πρωτόζωου τα οποία σχετίζονται κυρίως με την ανθεκτικότητά του. Οι ωκύστες του πρωτόζωου έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν στο περιβάλλον για μήνες υπό τις κατάλληλες συνθήκες. Ακόμα όμως και όταν οι συνθήκες δεν είναι ευνοϊκές, αυτά εξακολουθούν να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα. Για την ακρίβεια, είναι ανθεκτικά στα περισσότερα χημικά απολυμαντικά και μπορούν να διατηρήσουν ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών πιέσεων. Οι περισσότερες χημικές μέθοδοι καθαρισμού του νερού, συμπεριλαμβανομένης της χλωρίωσης, έχουν μικρή ή καθόλου επίδραση στη βιωσιμότητα των ωκύστεων *Cryptosporidium*. Για τον λόγο αυτό, για την επεξεργασία του νερού χρησιμοποιούνται οι συμβατικές τεχνικές όπως η πήξη, η καθίζηση και η διήθηση, οι οποίες έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να μειώσουν το φορτίο ωκύστης κατά 99% και περισσότερο.

Η χρήση πολλαπλών απολυμαντικών επίσης έχει αποδειχθεί ότι είναι πιο αποτελεσματική στη μείωση των ωοκύστεων *Cryptosporidium* από την έκθεση σε μία μόνο χημική ουσία. Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στην μετάδοση του, είναι το σχετικά μικρό μέγεθος των ωοκύστεων, το οποίο εμποδίζει την ταχεία καθίζησή τους στο έδαφος, επιτρέποντάς τους έτσι να μεταφερθούν σε μεγάλες αποστάσεις μέσω του αέρα. Επίσης, η χαμηλή μολυσματική δόση έχει ως αποτέλεσμα την εύκολη απόκτηση μόλυνσης, διευκολύνοντας την ταχεία εξάπλωση του οργανισμού. Συγκεκριμένα η μολυσματική δόση του *Cryptosporidium*, όπως προσδιορίστηκε με ενοφθαλμισμό σε 29 εθελοντές, βρέθηκε να είναι 132 ωοκύστες. Μια πρόσθετη μελέτη ανέφερε ακόμη χαμηλότερη μολυσματική δόση και προσδιορίστηκε ότι ήταν τόσο χαμηλή όσο εννέα ωοκύστες για έναν γονότυπο *Cryptosporidium parvum*.

3.1.4 Κλινική εικόνα

Το *Cryptosporidium* εκδηλώνεται κλινικά ως κρυπτοσποριδίωση η οποία αποτελεί μια διαρροϊκή νόσο ρυθμιζόμενη από υπερέκκριση τοξίνης. Η μόλυνση προκαλείται κυρίως από το είδος *C. hominis* και *C. parvum*. Αξίζει να αναφερθεί ότι η μειωμένη απορρόφηση αμινοξέων και η διαταραχή μεταφοράς ιόντων συμβάλλουν στην εκδήλωση πεπτικών διαταραχών και συνδρόμου δυσαπορρόφησης.

Η ασθένεια, επομένως, τυπικά χαρακτηρίζεται από ξαφνική έναρξη υδαρής διάρροιας με μέγιστο αριθμό αυτών να είναι έξι ημερησίως και παρουσιάζει διάρκεια 9-12 ημερών. Συχνά συνοδεύεται από κράμπες στην κοιλιά, χαμηλό πυρετό, ναυτία, έμετο, αφυδάτωση και απώλεια βάρους. Εμφανίζονται επίσης και ασυμπτωματικές λοιμώξεις.

Ενώ η νόσος δύναται να επηράσει όλες τις ηλικίες, σοβαρότερη και πιο παρατεταμένη παρατηρείται σε ασθενείς με HIV/AIDS, σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, σε νεογνά, σε μικρά παιδιά στις αναπτυσσόμενες χώρες και σε υπερήλικες. Στα ζώα, τα νεογνά παρουσιάζουν μεγαλύτερη συχνότητα νοσογένειας συνοδευόμενη με σοβαρότερα συμπτώματα, σε αντίθεση με τα ενήλικα ζώα, ακόμα και τα ανοσοκατασταλμένα, τα οποία δεν εμφανίζουν τόσο σοβαρά συμπτώματα. Το φαινόμενο φαίνεται να συνδέεται με υποδοχείς που εκφράζονται μόνο κατά τα αρχικά αναπτυξιακά στάδια.

Η περίοδος επώασης κυμαίνεται από 2 έως 12 ημέρες (συνήθως 7-10 ημέρες) και τα συμπτώματα συνήθως διαρκούν 1-2 εβδομάδες σε υγιή άτομα.

3.1.5 Διάγνωση

Όσον αφορά την αναγνώρισή του, η άμεση διάγνωση του *Cryptosporidium* σε ένα χρωματισμένο δείγμα κοπράνων είναι μια γενική διαγνωστική μέθοδος που χρησιμοποιείται σε κλινικά εργαστήρια, ωστόσο, στα τρόφιμα η απομόνωσή του απαιτεί μια πιο περίπλοκη διαδικασία που θα μπορούσε να υποδεικνύει άνισες κατανομές του παρασίτου (ένας μικρός αριθμός οργανισμών σε σχέση με την ποσότητα του παρεμβαλλόμενου υλικού).

Η έκλουση, η εκχύλιση, η απομόνωση και η ανίχνευση ειδών *Cryptosporidium* μέσα ή πάνω σε είδη τροφίμων ενδέχεται να παρουσιάσει αρκετές δυσκολίες. Οι διαφορές στις ιδιότητες των διαφόρων τροφίμων θα μπορούσαν να είναι η κύρια αιτία αυτού (Lalonde and Gajadhar 2016a). Ως εκ τούτου, το κρυπτοσπορίδιο πιθανότατα θα παραμείνει ένα υποδιαγνωσμένο πρόβλημα που σχετίζεται με τα τρόφιμα.

Παρά τα ανωτέρω, η μέθοδος ISO «τεχνική ανοσομαγνητικού διαχωρισμού (IMS) και ανοσοφθορισμού (IFA)», που αποτελεί το χρυσό πρότυπο για την ανίχνευση και την καταμέτρηση *Cryptosporidium* αλλά και *Giardia* μέσα/πάνω στα τρόφιμα (ISO 18744:2016(en) 2016), εξακολουθεί να μην είναι σε θέση να προσδιορίσει τα είδη ή τους γονότυπους/σύνολα των ωοκύστεων *Cryptosporidium* και *Giardia*. Ως εκ τούτου, η μέθοδος ISO θα πρέπει να συνδυαστεί με εργαλεία μοριακής ανίχνευσης (PCR, RT-PCR) και αλληλούχιση.

Οι δοκιμασίες μόνης ανίχνευσης από μόνες τους δεν επαρκούν για την ταυτοποίηση των ωοκύστεων *Cryptosporidium*, καθώς θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον τρεις μέθοδοι διαλογής για την ταυτοποίησή του (Ortega και συν. 1997). Διαδικασίες όπως η διήθηση, η φυγοκέντρηση και ο ανοσομαγνητικός διαχωρισμός, μόνες τους ή σε συνδυασμό, μπορούν να βοηθήσουν στη συγκέντρωση και τον καθαρισμό των ωοκύστεων *Cryptosporidium* από τα υπολείμματα τροφίμων (Iqbal et al. 2015). Μέσα σε κάθε διαδικασία, χρησιμοποιούνται διάφορα τεχνικά βήματα και αντιδραστήρια.

3.1.6 Θεραπεία

Το φάρμακο που χρησιμοποιείται για την θεραπεία της κρυπτοσποριδίωσης είναι η νιταζοξανίδα. Το εν λόγω φάρμακο δρά επίσης και κατά της γιαρδίασης, η οποία όπως θα αναλυθεί παρακάτω προκαλείται από το *G.duodenalis*.

3.1.7 Επιδημιολογικά στοιχεία

Αν και η κρυπτοσποριδίωση είναι δηλωμένη σε αρκετές χώρες, η επίπτωση στους ανθρώπους είναι πιθανώς υποεκτιμημένη. Αυτό οφείλεται εν μέρει στο ότι οι δοκιμές για *Cryptosporidium* σε πολλές χώρες δεν περιλαμβάνονται στη ρουτίνα εξέτασης δειγμάτων ανθρώπινων κοπράνων και εν μέρει οφείλεται σε ανεπαρκή συστήματα αναφοράς, παρόλο που η κρυπτοσποριδίωση αναγνωρίζεται ως μία από τις πιο διαδεδομένες αιτίες υδατογενών ασθενειών στους ανθρώπους.

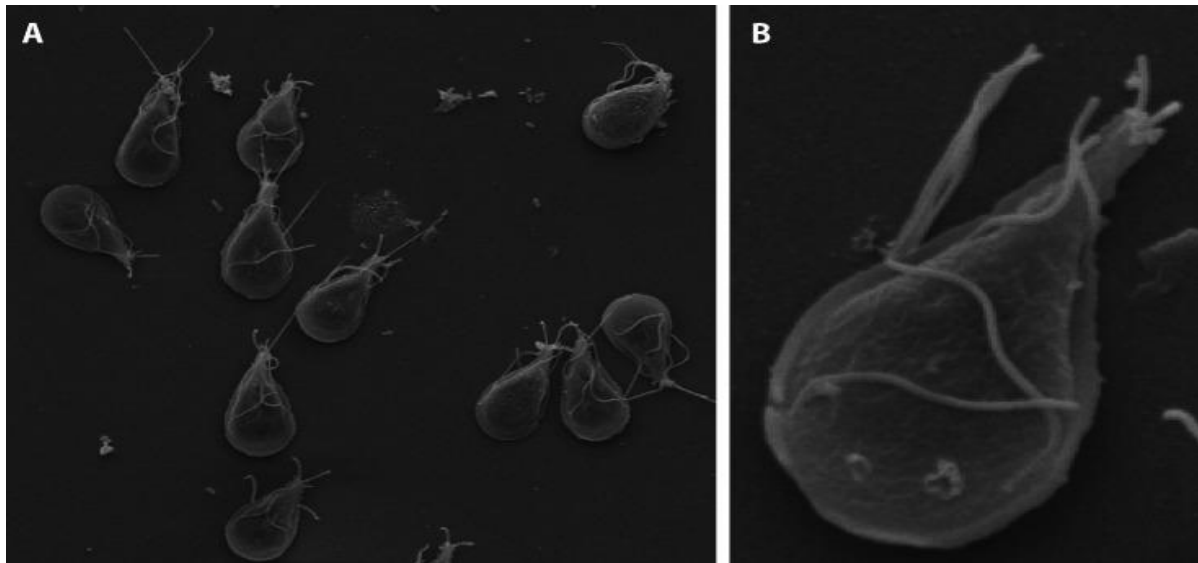
Όσον αφορά την συχνότητα της κρυπτοσποριδίωσης, φαίνεται να παρουσιάζει έντονα εποχιακά-χαμηλά ενδημικά επίπεδα ακολουθούμενα από έντονες εποχιακές εκρήξεις. Ωστόσο, τα εποχιακά μοτίβα τείνουν να ποικίλλουν ανάλογα με την τοποθεσία. Πιο συγκεκριμένα, σε τροπικά κλίματα, παρατηρείται αύξηση της επίπτωσης κατά τη ζεστή και βροχερή περίοδο, ενώ στα εύκρατα κλίματα, η κρυπτοσποριδίωση κορυφώνεται την άνοιξη και το φθινόπωρο. Το φθινοπορινό πρότυπο εποχικότητας, περιγράφεται τόσο στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, όσο και στην Ευρώπη. Στοιχεία από την Αγγλία και την Ουαλία δείχνουν περαιτέρω ότι τα κρούσματα κατά το φθινόπωρο προκαλούνται κυρίως από το *C. hominis*, ενώ κατά τη διάρκεια των υπόλοιπων εποχών, ευθύνονται περισσότερο τα *C. hominis* και *C. parvum*. Αντίθετα, κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, τα ταξίδια και το νερό αναψυχής συντελούν τους σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από *C. hominis*. Ωστόσο, ευρεία εξάπλωση εστιών που σχετίζονται με ταξίδια σπάνια αναφέρονται.

3.2 Giardia duodenalis

Ο επιπολασμός της *Giardia duodenalis* έχει ενοχοποιηθεί σε πολλές τροφιμογενείς εστίες. Η *G. duodenalis* είναι ένα μη διηθητικό παθογόνο του λεπτού εντέρου και παρουσιάζεται επίσης με τις ονομασίες *Giardia lamblia* και *Giardia intestinalis*.

3.2.1 Περιγραφή

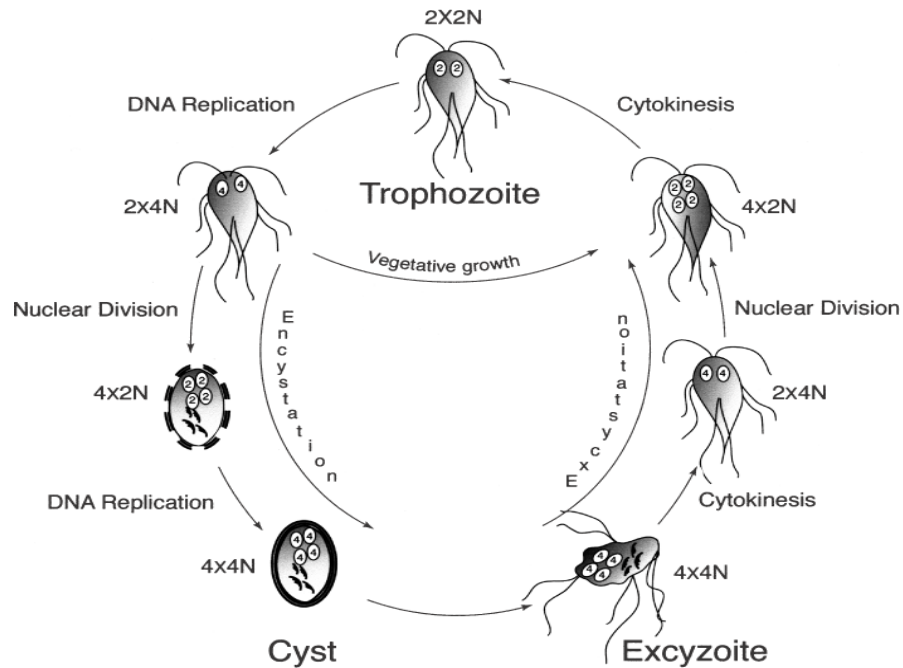
Οι τροφοζώιτες της *G. duodenalis* έχουν σχήμα αχλαδιού, μήκους 12 έως 15 μm και πλάτους 8 μm. Έχουν τέσσερα ζεύγη μαστιγίων και μια κοίλη κοιλιακή πλευρά που περιβάλλεται από την πλευρική κορυφή και μια φλάντζα που επιτρέπει στον οργανισμό να προσκολληθεί στο εντερικό επιθήλιο. Η ραχιαία επιφάνεια είναι κυρτή και δύο συμμετρικά τοποθετημένοι πυρήνες βρίσκονται στο πρόσθιο μισό του οργανισμού.



Η κύστη είναι ωοειδής με διαστάσεις 10 X 8 μm και περιέχει έως και τέσσερις πυρήνες, όπως επίσης και υπολλείματα της σκελετικής δομής του σποροζώιτη. Ο οργανισμός είναι εξαιρετικά προσαρμοσμένος για επιβίωση μέσα στο λεπτό έντερο, ακόμη και απουσία εισβολής ιστών, και ο κυτταροσκελετός παίζει κεντρικό ρόλο σε αυτή την προσαρμογή.

3.2.2 Βιολογικός κύκλος

Οι κύστεις της *Giardia* μπορούν να μολύνουν τα τρόφιμα, το νερό και τις επιφάνειες και μπορούν να προκαλέσουν γιαρδιάση όταν καταποθούν σε αυτό το μολυσματικό στάδιο του κύκλου ζωής τους. Η μόλυνση εμφανίζεται όταν ένα άτομο καταπιεί κύστεις *Giardia* από μολυσμένο νερό, φαγητό, χέρια, επιφάνειες ή αντικείμενα. Όταν οι κύστεις *Giardia* καταπίνονται, περνούν από το στόμα, τον οισοφάγο και το στομάχι στο λεπτό έντερο, όπου κάθε κύστη απελευθερώνει δύο τροφοζώιτες μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται εκκύστωση.



Οι τροφοζώιτες *Giardia* στη συνέχεια τρέφονται και απορροφούν θρεπτικά συστατικά από το μολυσμένο άτομο. Οι τροφοζώιτες *Giardia* πολλαπλασιάζονται με διάσπαση στα δύο σε μια διαδικασία που ονομάζεται διαμήκης δυαδική σχάση, παραμένοντας στο λεπτό έντερο όπου μπορούν να είναι ελεύθερα ή να προσκολληθούν στην εσωτερική επένδυση του λεπτού εντέρου. Οι τροφοζώιτες *Giardia* στη συνέχεια κινούνται προς το κόλον και μετατρέπονται ξανά σε μορφή κύστης μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ενστάθμιση. Η κύστη *Giardia* είναι το στάδιο που εντοπίζεται πιο συχνά στα κόπρανα. Τόσο οι κύστεις *Giardia* όσο και οι τροφοζώιτες μπορούν να βρεθούν στα κόπρανα κάποιου που πάσχει από γιαρδιάση και μπορεί να παρατηρηθούν μικροσκοπικά για τη διάγνωση της γιαρδιάσης. Οι κύστεις *Giardia* είναι αμέσως μολυσματικές όταν περνούν στα κόπρανα ή λίγο μετά, και οι κύστεις μπορούν να επιβιώσουν αρκετούς μήνες σε κρύο νερό ή χώμα.

3.2.3 Τρόποι μετάδοσης

Η *G. duodenalis*, υπεύθυνη της νόσου της γιγαρδίασης, δύναται να μεταδοθεί μέσω της κοπράνων-στοματικής οδού. Η μετάδοσή της, πραγματοποιείται με ποικίλλους τρόπους. Ένας από αυτούς είναι η άμεση, δηλαδή η μετάδοση από άτομο σε άτομο, από ζώο σε ζώο ή ζωνοσογόνος. Η μετάδοση από άτομο σε άτομο είναι μια σημαντική πηγή μόλυνσης και έχει τεκμηριωθεί ευρέως, ιδιαίτερα σε κέντρα ημερήσιας φροντίδας, οίκους ευγηρίας και άλλα ιδρύματα, όπου η προσωπική υγιεινή μπορεί να είναι ανεπαρκής (Adam et al., 2016). Επίσης έχει αποδειχθεί και η έμμεση μετάδοση του πρωτόζωου, η οποία πραγματοποιείται μέσω του νερού ή της τροφής. Η σεξουαλική μετάδοση της γιγαρδίασης έχει επίσης τεκμηριωθεί (Escobedo et al., 2014). Σχετικά με τη ζωνοσογόνο μετάδοση, καθώς ένας μεγάλος αριθμός διαφορετικών θηλαστικών χρησιμεύει επίσης ως ξενιστές για το πρωτόζωο, έχει δοθεί μεγάλη προσοχή στην πιθανότητα συμβολής της ως τρόπος μετάδοσης, ιδιαίτερα μέσω των βοοειδών, των σκύλων και των γατών. (Ballweber et al. ., 2010· Ryan and Cacciò, 2013· Thompson and Ash, 2016). Ωστόσο, παραμένουν σχετικά λίγα τα στοιχεία για την υποστήριξη της ζωνοσογόνου μετάδοσης της *G. duodenalis*. Ο πιο διαδεδομένος μέχρι στιγμής τρόπος μετάδοσης, αποτελεί η υδάτινη οδός. Το πόσιμο νερό με μολυμένες κύστες, αλλά και το μολυσμένο νερό αναψυχής έχουν καταγραφεί ως οι κυριότερες υδατογενείς εστίες μόλυνσης. Η τροφιμογενής μετάδοση αποτελεί έναν ακόμα τρόπο διασποράς της γιγαρδίασης, η οποία μάλιστα έχει γίνει ευρύτερα γνωστή τα τελευταία χρόνια. Η μόλυνση των τροφίμων με κύστες *Giardia* συναντάται με αρκετά μεγάλη συχνότητα. Στο παραπάνω διαδραματίζει σημαντικό ρόλο η δυνατότητα επιμόλυνσης των τροφίμων καθ' όλη την διαδικασία παραγωγής τους, από το επίπεδο του αγροκτήματος έως το επίπεδο του καταναλωτή.

3.2.4 Κλινική εικόνα

Η *G. duodenalis* προκαλεί τη γιγαρδίαση ή αλλιώς λαμβλίαση και παράγει ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων που εμφανίζονται συνήθως μία με δύο εβδομάδες μετά την προσβολή από το πρωτόζωο. Αυτές περιλαμβάνουν τη χρόνια διάρροια με απώλεια βάρους, τις μεταμολυσματικές επιπλοκές, το ευερέθιστο έντερο, τη χρόνια κόπωση, τη καχεξία της ανάπτυξης, το μετεωρισμό, το κοιλιακό άλγος και τέλος τις ασυμπτωματικές λοιμώξεις. Ως σημαντικές επιπλοκές αναφέρονται η καταστροφή των εντερικών λαχνών, καθώς οι παραπάνω ατροφούν, αλλά και η δυσασπορρόφηση.

Αυτές οι ποικίλες εκδηλώσεις μπορεί να προκύψουν από διαφορές ξενιστή, παρασίτου ή μικροβίων και καθιστούν ιδιαίτερα δύσκολη την αποσαφήνιση των μηχανισμών που οδηγούν σε αυτό το εύρος ασθένειας. Η νόσος μπορεί να επιμείνει για εβδομάδες, με την οξεία φάση της γιαρδίασης να διαρκεί γενικά για μία έως τρεις εβδομάδες. Τα συμπτώματα συνήθως αποχωρούν μέσα σε δύο έως έξι εβδομάδες. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, τα συμπτώματα μπορεί να φαίνεται ότι έχουν εξαφανιστεί αλλά δύναται να επανέλθουν μετά από αρκετές ημέρες ή εβδομάδες. Τα μικρά παιδιά είναι πιο ευαίσθητα στα συμπτώματα (Thompson και Ash, 2016).

Σχετικά με τα ζώα, τα παραπάνω είναι συχνά ασυμπτωματικά. Παρ'όλα αυτά, έχουν αναφερθεί ποικίλα συμπτώματα σε οικόσιτα ζώα (Thompson and Ash, 2016). Στα ζώα, η γιαρδίαση μπορεί να προκαλέσει διάρροια, κακή ανάπτυξη, απώλεια βάρους, μειωμένη παραγωγικότητα, ακόμη και θάνατο.(Cacciò et al., 2018; Santin, 2020).

3.2.5 Διάγνωση

Η αναζήτηση της *G. duodenalis* σε νωπά προϊόντα, πραγματοποιείται με διαφορετικές διαδικασίες έκλουσης και μεθόδους ανίχνευσης βασισμένες στον ανοσοφθορισμό (Robertson and Gjerde, 2001a; Amoros κ.ά., 2010· Utaaker et al., 2017), στις ταχείες χρώσεις (π.χ. χρώση ιωδίου Lugol) (Ahmad et al., 2016; Amaechi κ.ά., 2016· Mohamed κ.ά., 2016· Alemu et al., 2019) αλλά και τις μοριακές δοκιμασίες (Utaaker et al., 2017). Η κύστη *G. duodenalis* είναι εύκολο να συγχυθεί με τις κύστες άλλων μη παθογόνων εντερικών πρωτόζωων όπως του *Chilomastix mesnili*, της *Enteromonas hominis* και της *Retotramonas intestinalis*. Διαφοροποιούνται όμως από τη *G. duodenalis* καθώς οι παραπάνω είναι συνήθως μικρότερες σε μέγεθος και δεν παρουσιάζουν το κανονικό ωοειδές σχήμα και την εσωτερική μορφολογία του παραπάνω. Η *G. duodenalis* δεν ανιχνεύεται πάντα με μικροσκοπική εξέταση κοπράνων. Στη διάγνωση των ασθενών χρησιμοποιείται και το string test, όπου ο ασθενής καταπίνει μια κάψουλα που περιέχει κατά προσέγγιση 140 εκατοστά λεπτού σπάγγου, το ένα άκρο του οποίου στερεώνεται στο μάγουλό του με κολλητική ταινία. Το άλλο άκρο που έχει καταποθεί μέσω της διασπώμενης στο στομάχι κάψουλας, έχει προσαρμοσμένο ένα λαστιχένιο σακουλάκι που περιέχει βαρίδι κι έτσι είναι δυνατό να εισέλθει στο ανώτερο λεπτό έντερο. Έπειτα από κάποιες ώρες ο σπάγγος αφαιρείται από στόματος και και υλικό που είναι προσκολλημένο πάνω του αναζητούνται τροφοζώιτες *G. duodenalis*.

3.2.6 Θεραπεία

Η γιγαρδίαση δύναται να αντιμετωπιστεί με 5-νιτροιμιδαζόλες όπως η μετρονιδαζόλη. Η μετρονιδαζόλη όπως και η υδροχλωρική κινακρίνη είναι αποτελεσματικές εντός μιας εβδομάδας. Σπανιότερα, σε περίπτωση που η θεραπεία αποτύχει και δεν παρατηρείται επαναλοίμωξη, γίνεται χρήση μεπακρίνης. Αποτελεσματικό έχει αποδειχθεί και το ανθελμινθικό φάρμακο αλβενδαζόλη. Πρόσφατα εγκρίθηκε από το FDA και ένα νέο φάρμακο για από στόματος χρήση, με τον ίδιο μηχανισμό δράσης με τη μετρονιδαζόλη, η νιταζοξανίδη. Η προαναφερθείσα επιδρά σε αναερόβιες μεταβολικές οδούς αλλά έχει βραχύτερο θεραπευτικό σχήμα από τη μετρονιδαζόλη. Σε περιπτώσεις όπου η θεραπεία είναι αναποτελεσματική ή που παρατηρείται αντοχή στα φάρμακα, προτείνεται ο συνδιασμός φαρμάκων, ή η χρήση εναλλακτικών ή νέων φαρμάκων. Ως

μορφή εναλλακτικής θεραπείας μπορούν να χρησιμοποιηθούν και τα προβιοτικά. Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι τα προβιοτικά σκοτώνουν τους τροφοζώιτες και μειώνουν το φορτίο των παρασίτων, καθώς και την απόρριψη κύστεων και τη διάρκεια της μόλυνσης (Allain and Buret, 2020· Argüello-García et al., 2020).

Σε περιπτώσεις που δεν απαιτείται θεραπεία, σημαντική κρίνεται η διατήρηση της βέλτιστης ενυδάτωσης και της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών. Η συμπτωματική γιαρδιάση θα πρέπει να αντιμετωπίζεται για να μειωθεί η διάρκεια των συμπτωμάτων, να προληφθούν επιπλοκές και να ελαχιστοποιηθεί η μετάδοση του παρασίτου σε άλλους ξενιστές (Leung et al., 2019).

3.2.7 Επιδημιολογικά στοιχεία

Ο παγκόσμιος επιπολασμός της λοίμωξης αναφέρεται ότι είναι 5-20%. Αναφορικά με την μεταδοτικότητα της *G. duodenalis*, μέσω του νερού, σε μια ανασκόπηση παγκόσμιων υδατογενών επιδημιών παρασιτικής αιτιολογίας από πρωτόζωα από το 2011 έως το 2016, ο [Efstathiou et al. \(2017a\)](#) προσδιόρισε ότι, από τα 381 περιστατικά που τεκμηριώθηκαν, η *Giardia* spp. ήταν η αιτία για το 37% (142) από αυτά, με την πλειοψηφία (63%, 239) να σχετίζεται με το *Cryptosporidium* spp. Αυτές οι 142 υδατογενείς επιδημίες ενοχοποιήθηκαν για 1.110 συνολικά κρούσματα γιαρδιάσης και εμφανίστηκαν σχεδόν αποκλειστικά στις ΗΠΑ και τη Νέα Ζηλανδία, με μόνο μια να αναφέρεται από τη Δημοκρατία της Κορέας και το Βέλγιο. Οι 381 υδατογενείς επιδημίες που αναφέρθηκαν την περίοδο 2011 έως και 2016 παρουσίασαν ραγδαία αύξηση, σε σχέση με τις 199 που είχαν αναφερθεί για την παρόμοια χρονική περίοδο μεταξύ των ετών 2004 έως 2010 (Baldursson and Karanis, 2011). Το παραπάνω, πιθανότατα αποδίδεται στη σημαντική πρόοδο στην αναφορά δεδομένων και στα συστήματα επιτήρησης [Efstathiou et al. \(2017a\)](#). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η αναφορά και η τεκμηρίωση υδατογενών λοιμώξεων και επιδημιών είναι πολύ περιορισμένη στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου ο κίνδυνος είναι υψηλότερος, επομένως το πραγματικό βάρος της ασθένειας είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστο (Efstathiou et al., 2017a). Οι υδατογενείς παρασιτικές λοιμώξεις υποδιαγιγνώσκονται και υπο-αναφέρονται επίσης σε πολλές ανεπτυγμένες χώρες. Όσον αφορά την τροφιμογενή μεταδοτικότητα, στοιχεία έδειξαν ότι η *G. duodenalis* ήταν 11ο σε σειρά τροφιμογενές παράσιτο σε μια παγκόσμια κατάταξη κατά σπουδαιότητα (FAO/WHO, 2014). Για το παραπάνω εύλογο είναι να ενοχοποιηθεί η ολοένα και αυξανόμενη παγκοσμιοποίηση του εμπορίου τροφίμων, τα διεθνή ταξίδια και οι αλλαγές στις

καταναλωτικές συνήθειες (Dixon, 2016). Οι περιπτώσεις γιγαρδίασης στις ΗΠΑ οφειλόμενες από τροφιμογενή μετάδοση, υπολογίστηκαν στο 7–15% των συνολικών κρουσμάτων (Scallan et al., 2011· Torgerson et al., 2015). Πρόλα αυτά, έχουν αναφερθεί σχετικά λίγες επιδημίες γιαρδίασης παγκοσμίως, με τις περισσότερες να λαμβάνουν χώρα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, όπου αναφέρθηκαν συνολικά 38 εξάρσεις από το 1971 έως το 2011 (Adam et al., 2016). Είναι πιθανό ότι ο αριθμός των τροφιμογενών κρουσμάτων γιαρδίασης έχει υποτιμηθεί σημαντικά λόγω της ανεπαρκούς επιτήρησης και συστημάτων αναφοράς σε πολλές χώρες (Ryan et al., 2019)

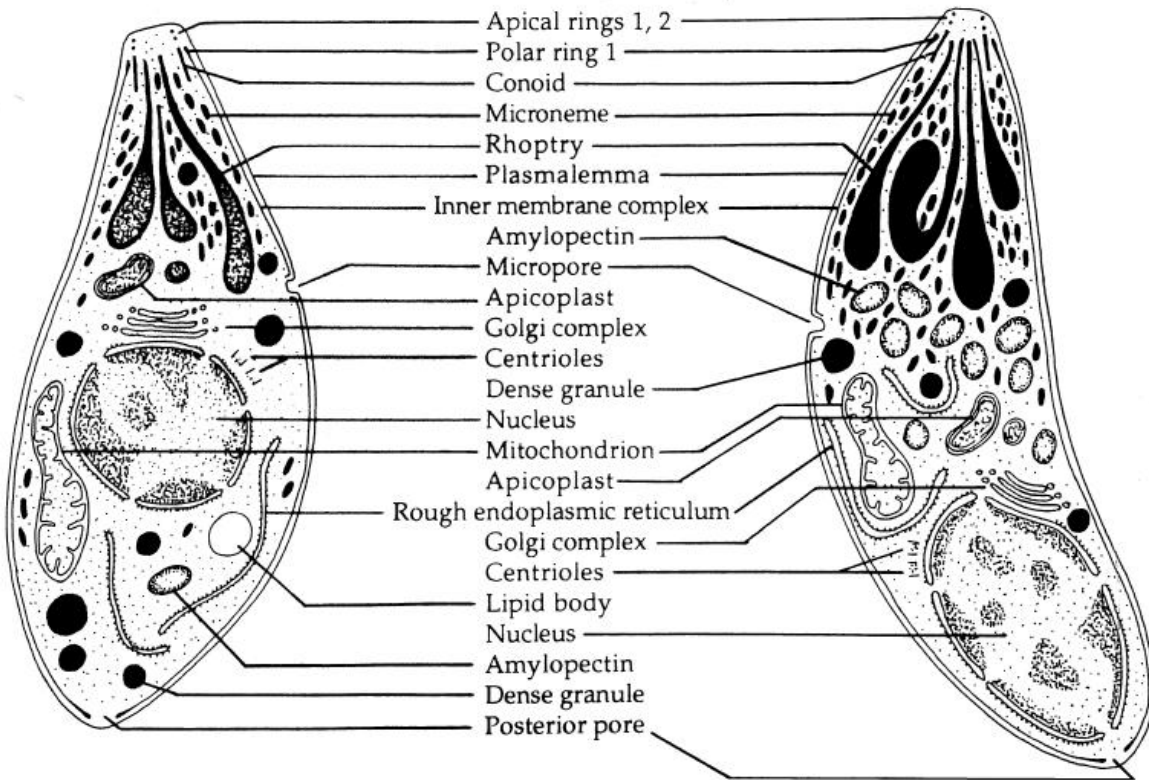
3.3. *Toxoplasma gondii*

Το *Toxoplasma gondii* είναι ένα ενδοκυτταρικό πρωτόζωο (Apicomplexa: Coccidia) που προκαλεί τοξοπλάσμωση σε ανθρώπους και ζώα. Αξίζει να σημειωθεί ότι αποτελεί τον τρίτο πιο σημαντικό παράγοντα στην επιβάρυνση της υγείας που προκαλείται από τροφιμογενείς ασθένειες.

3.3.1 Περιγραφή

Διακρίνονται τρία μολυσματικά στάδια του *T. gondii*. Τα παραπάνω αποτελούνται από τους ταχυζώιτες, τους βραδυζώιτες και τους σποροζώιτες (Dubey et al., 1998).

Ο όρος ταχυζώιτες χρησιμοποιείται για να περιγράψει το στάδιο όπου το πρωτόζωο πολλαπλασιάζεται γρήγορα σε οποιοδήποτε κύτταρο του ενδιάμεσου ξενιστή και σε μη εντερικά επιθηλιακά κύτταρα του οριστικού ξενιστή. Ο ταχυζώιτης έχει συχνά σχήμα ημισελήνου, περίπου 2 επί 6 μm με μυτερό πρόσθιο άκρο και στρογγυλεμένο οπίσθιο άκρο (Dubey et al., 1998).

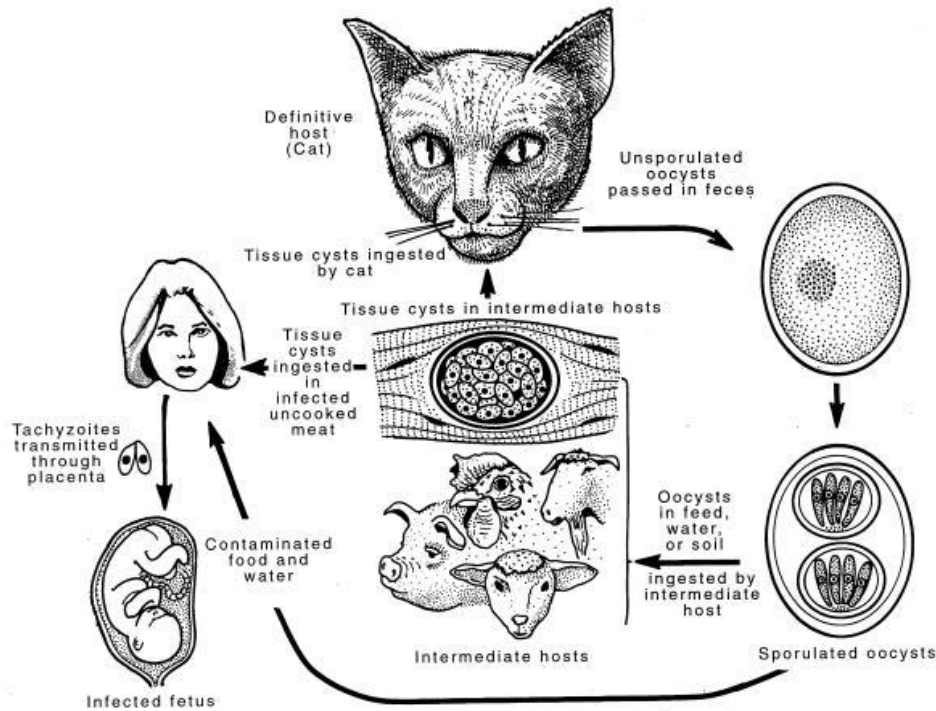


Σχηματικά σχέδια ενός ταχυζώιτη (αριστερά) και ενός βραδυζώιτη (δεξιά) του *T. gondii*. Τα σχέδια είναι σύνθετα ηλεκτρονικών μικρογραφιών.

.Με τον όρο βραδυζώιτες περιγράφεται ο οργανισμός που πολλαπλασιάζεται αργά μέσα σε μια κύστη ιστού. Οι βραδυζώιτες ονομάζονται επίσης κυστοζώιτες. Οι ιστικές κύστες αναπτύσσονται και παραμένουν ενδοκυτταρικές καθώς οι βραδυζώιτες διαιρούνται με ενδοδυογένεση . Οι ιστικές κύστες ποικίλλουν σε μέγεθος, με τις κύστες νεαρών ιστών να έχουν διάμετρο έως 5 μm και να περιέχουν μόνο δύο βραδυζώιτες , ενώ οι εκείνες γηραιότερων ιστών μπορεί να περιέχουν εκατοντάδες οργανισμούς. Το τοίχωμα της κύστης ιστού δύναται να περικλείει εκατοντάδες βραδυζώιτες σε σχήμα ημισελήνου με το μέγεθος αυτών να είναι κατά προσέγγιση 7 επί 1,5 μm . Όσον αφορά τις ωοκύστες, οι μη σποριωμένες είναι υποσφαιρικές έως σφαιρικές και έχουν διάμετρο 10 επί 12 μm , ενώ οι σποριώδεις ωοκύστες είναι υποσφαιρικές έως ελλειψοειδείς και έχουν διάμετρο 11 επί 13 μm . Κάθε ωοκύστη περιέχει δύο ελλειψοειδείς σποροκύστες με διαστάσεις 6 επί 8 μm , όπου έκαστη σποροκύστη περιέχει τέσσερα σποροζώϊδια. Τα σποροζώϊδια έχουν μέγεθος 2 επί 6 έως 8 μm με υποτελικό πυρήνα. (Dubey et al., 1998)

3.3.2 Βιολογικός κύκλος

Ο κύκλος ζωής του *T. gondii* είναι προαιρετικά ετερόξενος. Οι ενδιάμεσοι ξενιστές είναι πιθανώς όλα τα θερμόαιμα ζώα, συμπεριλαμβανομένων των περισσότερων ζώων, και των ανθρώπων, ενώ οι τελικοί ξενιστές είναι μέλη της οικογένειας Felidae, όπως για παράδειγμα οι οικοσίτες γάτες.



Στους ενδιάμεσους ξενιστές, το *T. gondii* υφίσταται δύο φάσεις ασεξουαλικής ανάπτυξης. Στην πρώτη φάση, οι ταχυζώιτες (ή ενδοζώιτες) πολλαπλασιάζονται γρήγορα με επαναλαμβανόμενη ενδοδουγένεση σε πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων ξενιστών. Οι ταχυζώιτες της τελευταίας γενιάς ξεκινούν τη δεύτερη φάση ανάπτυξης που έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ιστικών κύστεων. Μέσα στην κύστη των ιστών, οι βραδυζώιτες (ή οι κυστοζώιτες) πολλαπλασιάζονται αργά με ενδοδουγένεση. Οι ιστικές κύστεις έχουν υψηλή συγγένεια με τους νευρικούς και μυϊκούς ιστούς. Εντοπίζονται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), στο μάτι καθώς και στους σκελετικούς και καρδιακούς μύες. Ωστόσο, σε μικρότερο βαθμό μπορεί επίσης να βρεθούν σε σπλαχνικά όργανα, όπως οι πνεύμονες, το ήπαρ και τα νεφρά. Οι ιστικές κύστεις είναι το τελικό στάδιο του κύκλου ζωής στον ενδιάμεσο ξενιστή και είναι άμεσα μολυσματικές. Σε ορισμένα είδη ενδιάμεσου ξενιστή, μπορεί να επιμείνουν για όλη τη ζωή του ξενιστή. Ο μηχανισμός αυτής της επιμονής είναι άγνωστος. Ωστόσο, πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι οι κύστεις των ιστών διασπώνται περιοδικά, με τους βραδυζώιτες να μετατρέπονται σε

ταχυζώιτες που επανεισβάλλουν στα κύτταρα ξενιστές και πάλι μετασχηματίζονται σε βραδυζώιτες μέσα σε νέες ιστικές κύστεις. Εάν καταποθούν από έναν τελικό ξενιστή, οι βραδυζώιτες ξεκινούν μια άλλη ασεξουαλική φάση πολλαπλασιασμού που συνίσταται στον αρχικό πολλαπλασιασμό με ενδοδουγένεση, που ακολουθείται από επαναλαμβανόμενη ενδοπολυγονία στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου. Τα τελικά στάδια αυτού του ασεξουαλικού πολλαπλασιασμού ξεκινούν τη σεξουαλική φάση του κύκλου ζωής. Γαμογονία και σχηματισμός ωοκύστης λαμβάνουν χώρα επίσης στο επιθήλιο του λεπτού εντέρου. Οι μη σποριωμένες ωοκύστεις απελευθερώνονται στον εντερικό αυλό και περνούν στο περιβάλλον με τα κόπρανα. Η σπορογονία εμφανίζεται εκτός του ξενιστή και οδηγεί στην ανάπτυξη μολυσματικών ωοκύστεων που περιέχουν δύο σποροκύστεις, καθεμία από τις οποίες περιέχει τέσσερα σποροζώϊδια. Εδώ είναι τρία μολυσματικά στάδια στον κύκλο ζωής του *T. gondii*, δηλαδή ταχυζώιτες, βραδυζώιτες που περιέχονται σε κύστεις ιστού και σποροζώιτες που περιέχονται σε σποριωμένες ωοκύστεις. Και τα τρία στάδια είναι μολυσματικά τόσο για ενδιάμεσους όσο και για τελικούς ξενιστές που μπορεί να αποκτήσουν λοίμωξη από *T. gondii* μέσω μιας από τις ακόλουθες οδούς: οριζόντια με από του στόματος κατάποση μολυσματικών ωοκύστεων από το περιβάλλον, οριζόντια με από του στόματος κατάποση κύστεων ιστών που περιέχονται σε ωμό ή μη μαγειρεμένο κρέας ή πρωτεύοντα παραπροϊόντα (σπλάχνα) ενδιάμεσων ξενιστών ή κάθετα με διαπλακουντιακή μετάδοση ταχυζωιτών. Επιπλέον, σε αρκετούς ξενιστές, οι ταχυζώιτες μπορεί επίσης να μεταδοθούν στο γάλα από τη μητέρα στους απογόνους. (Dubey et al., 1998)

Έτσι, το *T. gondii* μπορεί να μεταδοθεί από τελικούς σε ενδιάμεσους ξενιστές, από ενδιάμεσους σε τελικούς ξενιστές, καθώς και μεταξύ τελικών και μεταξύ ενδιάμεσων ξενιστών. Προς το παρόν δεν είναι γνωστό ποια από τις διάφορες οδούς μετάδοσης είναι πιο σημαντική επιδημιολογικά. Ωστόσο, ο επιπολασμός των μολύνσεων από *T. gondii* δεν περιορίζεται στην παρουσία ενός συγκεκριμένου είδους ξενιστή. Ο κύκλος ζωής του μπορεί να συνεχιστεί επ' αόριστον με μετάδοση ιστικών κύστεων μεταξύ ενδιάμεσων ξενιστών (ακόμη και απουσία οριστικών ξενιστών) και επίσης με μετάδοση ωοκύστεων μεταξύ οριστικών ξενιστών (ακόμη και απουσία ενδιάμεσων ξενιστών) (Dubey et al., 1998)

3.3.3 Τρόποι μετάδοσης

Συναινετικά, η τρέχουσα άποψη είναι ότι η πλειονότητα των οριζόντιων μεταδόσεων στον άνθρωπο συμβαίνει μετά από κατάποση κυστικών ιστών σε μολυσμένο κρέας ή μέσω νερού, ωμών φρούτων και λαχανικών που έχουν μολυνθεί με σποριωμένες ωοκύστες. Πειράματα *in vitro* και *in vivo* με χρήση μοντέλων ποντικών έδειξαν ότι οι λοιμώξεις που οφείλονται σε ωοκύστες είναι κλινικά πιο σοβαρές σε σύγκριση με τις λοιμώξεις που προκαλούνται από ιστικές κύστες (βραδυζώιτες). Ωστόσο, η σχετική σημασία της μετάδοσης μέσω κύστεων ιστών έναντι ωοκύστεων είναι ακόμα ασαφής. Επιπλέον, οι ωοκύστες μπορούν να παραμείνουν βιώσιμες για μεγάλες περιόδους στο περιβάλλον και μπορούν να αντισταθούν στη χημική και φυσική επεξεργασία που εφαρμόζεται επί του παρόντος σε φυτά νερού, συμπεριλαμβανομένης της χλωρίωσης και της επεξεργασίας με όζον. Ως τρόπος μετάδοσης που έχει καταγραφεί, παρουσιάζεται και η ενδομήτρια λοίμωξη δια μέσω του πλακούντα κατά της διάρκειας της κυοφορίας. Κατά τον τρόπο αυτό ο παράγοντας μπορεί να μεταδοθεί από την μητέρα-φορέα προς το αγέννητο παιδί. Ο παράγοντας μπορεί επίσης να μεταδοθεί με μεταμόσχευση οργάνου ή μετάγγιση αίματος. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως οι οικόσιτες γάτες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην μετάδοση του *T.gondii*. Η κατάποση ωοκύστεων από μολυσμένα με κόπρανα της οικόσιτης γάτας χέρια αποτελεί ένας από τους πρωταρχικούς παράγοντες, καθώς οι παραπάνω αποτελούν γνωστές δεξαμενές μόλυνσης. Συγκεκριμένα, οι γάτες μολύνονται με *T. gondii* από σαρκοφαγία. Μετά την κατάποση κύστεων ιστών ή ωοκύστεων από τη γάτα, οι βιώσιμοι οργανισμοί απελευθερώνονται και εισβάλλουν στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου, όπου υφίστανται έναν σεξουαλικό ακολουθούμενο από έναν σεξουαλικό κύκλο και στη συνέχεια σχηματίζουν ωοκύστες, οι οποίες απεκκρίνονται. (Dubey et al., 1998)

Η μη σποριωμένη ωοκύστη χρειάζεται μία έως πέντε ημέρες μετά την απέκκριση για να γίνει μολυσματική με την σποριωμένη μορφή. Καθώς ο κύκλος ζωής του πρωτόζωου λαμβάνει χώρα στις οικόσιτες γάτες, μεγάλος αριθμός ωοκύστεων μπορεί να αποβληθεί, παρόλο που αυτές απεκκρίνονται από τις παραπάνω για μία έως δύο εβδομάδες. (Dubey et al., 1998)

3.3.4 Κλινική εικόνα

Έχει αποδειχθεί από ορολογικές μελέτες πως η λοίμωξη συναντάται συχνά στον πληθυσμό πιθανότατα με την μορφή παροδικού εμπύρετου νοσήματος ή υποκλινικής λοίμωξης. Οι περισσότερες λοιμώξεις στον άνθρωπο είναι ασυμπτωματικές. Ωστόσο, σοβαρές επιπλοκές μπορεί να εμφανιστούν κατά τη διάρκεια συγγενούς λοίμωξης από τοξόπλασμα αλλά και σε ανοσοκατεσταλμένους. Πιο αναλυτικά, κατά τη συγγενική λοίμωξη, όταν τα ταχυζώδια μέσα από τον πλακούντα φθάνουν στο έμβρυο, είναι ικανά να επιφέρουν ποικίλες συνέπειες. Οι επιπτώσεις στο έμβρυο, μπορεί να είναι από υποκλινικές μέχρι πολύ σοβαρές. Ως κοινά συμπτώματα μπορούν να χαρακτηριστούν το υδροκέφαλο, οι σπασμοί, οι ενδοεγκεφαλικές αποτιτανώσεις αλλά και η χοριοαμφιβληστροειδίτιδα. Τα παραπάνω μπορούν να οδηγήσουν σε αποβολή, θνησιγένεια και φυσικά υδροκεφαλία σε νεογέννητα. Σχετικά με τα ανοσοεπαρκή άτομα, οι περισσότερες μολύνσεις με *Toxoplasma* είναι ασυμπτωματικές σε ποσοστό της τάξεως του 80%–90%. Είναι δυνατό όμως να εμφανιστεί οφθαλμική τοξοπλασματώση με αμφιβληστροειδείς βλάβες που οδηγούν σε χρόνια οφθαλμική νόσο, μυοκαρδίτιδα ή καρδιακή ανεπάρκεια, πνευμονία αλλά και εγκεφαλίτιδα. Στην περίπτωση των ανοσοκατεσταλμένων, παρατηρείται εγκεφαλίτιδα και χοριορετινίτιδα. Τα παραπάνω οφείλονται σε επανεργοποίηση προηγούμενης λανθάνουσας λοίμωξης από το *Toxoplasma gondii*. Ως συμπτώματα παρενθέτονται ο πονοκέφαλος, ο πυρετός, η σύγχυση, η αλλαγή προσωπικότητας και το εστιακό νευρολογικό έλλειμμα. Σε εξέταση MRI επιπρόσθετα, παρατηρούνται πολλαπλές βλάβες που απεικονίζονται σε έκταση ενός έως τεσσάρων εκατοστών.

Σε περιπτώσεις οξείας τοξοπλασματώσης παρατηρείται συχνότερα ανώδυνη τραχηλική λεμφαδενοπάθεια, αλλά μπορεί να παρουσιαστεί, με μικρότερη συχνότητα, με πνευμονική ή οφθαλμική συμμετοχή. Τέλος έχουν αναφερθεί κάποια σπάνια περιστατικά κεραυνοβόλου μυοκαρδίτιδας ή ηπατίτιδας.

Η λοίμωξη δύναται να παραμείνει ακόμα και καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου ως λανθάνουσα λοίμωξη. Καρά την παραπάνω, το παράσιτο παραμένει αδρανοποιημένο μέσα σε ψευδοκύστες στους ιστούς του οργανισμού που έχει προσβάλλει.

Πιο συγκεκριμένα στον εγκέφαλο εντοπίζεται στους νευρώνες και τα αστροκύτταρα, ενώ στους μύες βρίσκεται τόσο στους σκελετικούς, όσο και στους καρδιακούς και τους λείους. Έχει

παρατηρηθεί πως η νόσος επανενεργοποιείται μετά από απώλεια της κυτταροεξαρτώμενης (cell-mediated) ανοσίας.

Για την κατανόηση της βαρύτητας της νόσου αξίζει να σημειωθεί η πολυσπλαχνική τοξοπλάσμωση που εμφανίζεται λόγω άτυπων γονότυπων στη Νότια Αμερική αλλά και η συσχέτιση του πρωτόζωου με την αύξηση των παρακινδυνευμένων συμπεριφορών όπως για παράδειγμα η έναρξη μιας νέας επιχείρησης.

3.3.5 Διάγνωση

Η ανίχνευση του τοξοπλάσματος στα κλινικά δείγματα είναι δύσκολη, για τον λόγο αυτό η διάγνωση της οξείας λοίμωξης γίνεται ορολογικά. Η λοίμωξη γίνεται διακριτή με τον αυξανόμενο αριθμό αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος στον ορό. Εξάιρεση στο παραπάνω αποτελούν οι ασθενείς με HIV, οι οποίοι δεν εμφανίζουν υψηλό αριθμό αντισωμάτων. Επιπρόσθετα, η δοκιμασία Sabin-Feldman δεν ανιχνεύει μόνο αντισώματα, αλλά προσδιορίζει και την ικανότητα αυτών να σκοτώσουν ζωντανά τοξοπλάσματα. Δοκιμασία ανίχνευσης αποτελεί και η ELISA με το πλεονέκτημα ότι αποφεύγεται η χρήση ζωντανών τοξοπλάσμάτων. Τέλος η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR χρησιμοποιείται για τη διάγνωση ενδομήτριων και εγκεφαλικών λοιμώξεων. (Maldonado et al., 2017)¹

3.3.6 Θεραπεία

Στις περισσότερες περιπτώσεις η έναρξη θεραπείας και η χορήγηση φαρμάκων δεν προτείνεται σε ανοσοεπαρκής ασθενείς με οξεία τοξοπλάσμωση που να παρουσιάζουν ήπια συμπτωματολογία ή και καθόλου. Θεραπεία προτείνεται σε περίπτωση βλάβης κάποιου οργάνου ή όταν υπάρχουν έντονα συστηματικά συμπτώματα. Τα φάρμακα ή ο συνδυασμός αυτών, χορηγούνται ανάλογα με τον εκάστοτε ασθενή. Κατά κανόνα, ο συνδυασμός πυριμεθαμίνης και μιας σουλφοναμίδης είναι αποτελεσματικός έναντι των ενεργών τροφοζωιτών. Σε ασθενείς που κυοφορούν και σε περιπτώσεις εγκεφαλικής τοξοπλάσμωσης, η θεραπεία διαφέρει. Στην πρώτη κατηγορία προτείνεται σπιραμυκίνη, ενώ στην δεύτερη χορηγούνται κλινταμυκίνη, αζιθρομυκίνη και ατοβακόνη, συνήθως σε συνδυασμό με πυριμεθαμίνη. (Li et al., 2023) Για την αντιμετώπιση του

λοιμογόνου παράγοντα, έχει προταθεί το εμβόλιο Toxovax. Το παραπάνω, αποτελεί ένα ζωντανό εξασθενημένο εμβόλιο που βασίζεται στους ταχυζώιτες του στελέχους *T. gondii* S48 και είναι επί του παρόντος το μόνο εμπορικά διαθέσιμο εμβόλιο τοξοπλάσμωσης. Δυστυχώς, υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί σε αυτό το εμβόλιο, όπως η χορήγησή του για κτηνιατρικούς σκοπούς συνοδευόμενη με την σύντομη διάρκεια ζωής του των δέκα ημερών, αλλά και η πιθανότητα που υπάρχει για τα εξασθενημένα εμβόλια να επανέλθουν στη μολυσματική άγριου τύπου μορφή τους και να προκαλέσουν στους ασθενείς αυτά που αρχικά προοριζόταν να αποτρέψουν. Επομένως η χορήγηση στον άνθρωπο, για λόγους ασφαλείας θεωρείται αποτρεπτική. (Chu & Quan, 2021)

3.3.7 Επιδημιολογικά στοιχεία

Οι οικόσιτες γάτες είναι πιθανώς η κύρια πηγή μόλυνσης του οικοσυστήματος σε πολλές περιοχές λόγω της μεγάλης αφθονίας τους στο αστικό και αγροτικό περιβάλλον. Η κρισιμότητα και η συμβολή της οικόσιτης γάτας στη διασπορά του πρωτόζωου, αποδείχθηκε σε έρευνα που διεξάχθηκε από τους Dabritz et al. Στη παραπάνω υπολογίστηκε ότι οι ιδιόκτητες, οικόσιτες γάτες στο Morro Bay της Καλιφόρνια, εναπόθεταν ετησίως 77,6 τόνους περιττωμάτων που περιείχαν μολυσματικές ωοκύστες και ότι οι γάτες ελεύθερης περιαγωγής στην ίδια περιοχή εναπόθεταν 30 τόνους περιττωμάτων, με αποτέλεσμα την εκτιμώμενη ετήσια φόρτωση ωοκυστών πάνω από 4500 ωοκύστες/m². Παρά τη σημαντικότητα της οικόσιτης γάτας, η κλιματική αλλαγή, αλλά και η παγκοσμιοποίηση, τα ταξίδια και το διεθνικό εμπόριο μπορούν να ενισχύσουν τη διάχυση του τοξοπλάσματος.

3.4. Cyclospora cayetanensis

Το *Cyclospora cayetanensis* αποτελεί ένα κοκκιδιακό παράσιτο με σύντομο καταγεγραμμένο ιστορικό, το οποίο προκαλεί παρατεταμένη και υποτροπιάζουσα γαστρεντερίτιδα. Αποτελεί το μόνο αποδεδειγμένο είδος *Cyclospora* που μπορεί να προσβάλει τον άνθρωπο, ο οποίοςς μάλιστα είναι και ο μόνος που εμφανίζει ευαισθησία στην μόλυνση μεταξύ άλλων θηλαστικών.

3.4.1 Περιγραφή

Οι ωκύστες *C. cayetanensis* παρουσιάζουν σχήμα σφαιροειδές, ενώ έχουν διάμετρο 8 έως 10 μm, με δυσδιάκριτο πρωτόπλασμα. Οι σποριωμένες ωκύστες, περιέχουν η κάθε μια από δύο ωοειδείς σποροκύστες, οι οποίες με τη σειρά τους, διαθέτουν δύο σποροζωΐδια η καθεμία (Ortega and Sanchez, 2010).

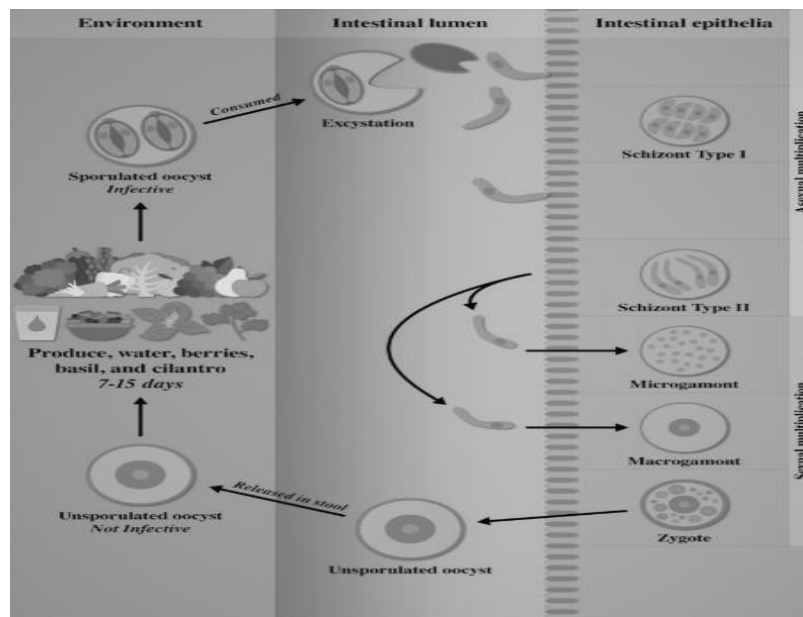


Μορφολογία ωκύστεων *C. cayetanensis* υπό μικροσκοπία. Ωκύστες σε επιχρίσματα κοπράνων που έχουν χρωματιστεί με τροποποιημένη οξεοταχεία χρώση σε οπτικό μικροσκόπιο: δύο ωκύστες χρωματίζονται με διαφορετικές εντάσεις (A). Μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης, μπορεί να φανεί μια μερικώς σποριωμένη ωκύστη (B). Μικροσκόπιο επιφθορισμού με φίλτρο διέγερσης UV 330–380 nm (C).

Τα *Cyclospora* εμφανίζει ποίκιλα είδη τα οποία μπορούν να επηρεάσουν μεγάλο αριθμό οργανισμών. Συγκεκριμένα, έχουν περιγραφεί μέχρι στιγμής 22 είδη *Cyclospora* σε φίδια, μυριάποδα, τρωκτικά, πιθήκους και ανθρώπους (Lainson, 2005, Li et al, 2015, McAllister et al, 2018). Διαφορετικά είδη συναντώνται σε διαφορετικά είδη πιθήκων (Li et al, 2015). Οργανισμοί που μοιάζουν με *Cyclospora* έχουν επίσης περιγραφεί σε σκύλους, βοοειδή, κοτόπουλα, αρουραίους και οικόσιτους ποντικούς, πουλιά, πιθήκους, ακόμη και σε περιβαλλοντικά δείγματα. (McAllister et al, 2018)

3.4.2 Βιολογικός κύκλος

Στο περιβάλλον εκτός του ξενιστή, οι νεοσχηματισθείσες ωοκύστεις δεν είναι μολυσματικές έως ότου ολοκληρωθεί η σπορίωση, η οποία διαρκεί μερικές φορές έως και εβδομάδες, εξαρτώμενη από τις θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 22 και 30°C. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, τρόφιμα ή νερό μπορεί να λειτουργήσουν ως μέσο μετάδοσης του πρωτόζωου. Μόλις οι νεοσχηματισθείσες ωοκύστεις καταναλωθούν από έναν νέο ξενιστή, οι ώριμες ωοκύστεις εκκρίνονται στο λεπτό έντερο και απελευθερώνουν σποροζώδια για να εισβάλλουν στα επιθηλιακά κύτταρα του άνω λεπτού εντέρου και σε σπάνιες περιπτώσεις στο επιθήλιο των χοληφόρων.



Η αναπαραγωγή του παρασίτου μπορεί να περιλαμβάνει σεξουαλικά και σεξουαλικά στάδια, με τα μερόντια τύπου I να παράγουν 8 έως 12 μεροζώιτες και τα μερόντια τύπου II να απελευθερώνουν τέσσερις μεροζώιτες για να μολύνουν γειτονικά κύτταρα. Κατά τη διάρκεια του σεξουαλικού σταδίου, το μικρογαμετοκύτταρο γονιμοποιεί το μακρογαμετοκύτταρο για να παράγει ένα ζυγώτη. Μόλις συμβεί η γονιμοποίηση, σχηματίζεται ένα τοίχωμα περιβαλλοντικής αντίστασης και οι ωοκύστεις απελευθερώνονται από τον ξενιστή στο περιβάλλον ως ωοκύστεις χωρίς σπόρια στα κόπρανα. (Smith et al., 1997, Ortega and Sanchez, 2010, Zar et al., 2001, Ortega et al., 1997)

3.4.3 Τρόποι μετάδοσης

Οι διαδικασίες μέσω των οποίων μεταδίδεται το *C. cayetanensis* δεν έχουν ακόμη διαλευκανθεί πλήρως, αλλά η κύρια μορφή μετάδοσης φαίνεται να είναι μέσω της κοπράνων-στοματικής οδού. Η άμεση μετάδοση από άτομο σε άτομο φαίνεται απίθανη, καθώς το παράσιτο εντοπίζεται στα κόπρανα των μολυσμένων ατόμων και χρειάζονται 1-2 εβδομάδες στο περιβάλλον για να είναι μολυσματικό. Η έμμεση μετάδοση μπορεί να συμβεί εάν ένα μολυσμένο άτομο μολύνει το περιβάλλον, όπου οι ωκύστες μπορούν να εκκολαφθούν και στη συνέχεια να διασπαρθούν μέσω μολυσμένων τροφίμων ή πόσιμου νερού. Έχει επίσης προταθεί ο ρόλος του εδάφους στη μετάδοση.

3.4.4 Κλινική εικόνα

Στα ανοσοκατασταλμένα άτομα, τα τυπικά κλινικά συμπτώματα του *C. cayetanensis* περιλαμβάνουν περιοδική υδατώδη διάρροια, κακοσύνη, ναυτία, ανορεξία, κράμπες και επίσης μπορεί να παρατηρηθούν περίοδοι με ήπια ή ακόμη και έλλειψη συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια της νόσου. Σε αυτούς τους ασθενείς, ενδέχεται να εμφανιστούν σοβαρές εντερικές βλάβες και παρατεταμένη διάρροια. Σπάνια παρατηρείται επίσης χαμηλός πυρετός και δυσασπορρόφηση της d-ξυλόζης. Οι φλεγμονώδεις αλλαγές που σχετίζονται με τη μόλυνση μπορεί να παραμένουν ακόμα και μετά την απομάκρυνση του παρασίτου. Επίσης, έχει αναφερθεί αντιδραστική υπεραιμία με αγγειακή διάταση και συμφόρηση των λαχμών τριχοειδών αγγείων.

Πέραν των γαστρεντερικών συμπτωμάτων, έχει αναφερθεί μόλυνση της χοληδόχου κύστης, ιδιαίτερα σε άτομα με σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε χολοκυστίτιδα. Δεν έχει καταγραφεί κάποιο περιστατικό αναπνευστικής λοίμωξης, αλλά υπάρχουν αναφορές για την παρουσία ωκύστεων *C. cayetanensis* σε πτύελα ασθενών με φυματίωση.

Επιπλέον, η λοίμωξη από *Cyclospora cayetanensis* έχει συσχετιστεί με ποικίλες επιπτώσεις, όπως το σύνδρομο αντιδραστικής αρθρίτιδας, το σύνδρομο Reiter και το σύνδρομο Guillain-Barre. (Connor et al., 2001; Shields and Olson, 2003; Abanyie et al., 2015)

3.4.5 Διάγνωση

Η εργαστηριακή διάγνωση της κυκλοσπορίωσης μπορεί να πραγματοποιηθεί απλώς με εξέταση σκευασμάτων κοπράνων σε υγρή βάση κάτω από μικροσκόπιο φωτός ή και με αυτοφθορισμό ωοκύστεων κάτω από μικροσκόπιο επιφθορισμού UV. Ένας πιο αυτοματοποιημένος προσδιορισμός ανίχνευσης κυτταρομετρίας ροής για το *C. cayetanensis* σε δείγματα ανθρώπινων κοπράνων αναπτύχθηκε με βάση τη μορφολογία και τα χαρακτηριστικά αυτοφθορισμού των ωοκύστεων (Dixon et al, 2005)

Για την ανίχνευση του πρωτόζωου *C.cayetanensis* χρησιμοποιούνται και τεχνικές χρώσεις. Μερικές από τις παραπάνω είναι η τροποποιημένη οξεοταχεία χρώση Ziehl–Neelsen, η τροποποιημένη χρώση με οξύ Kinyoun, η χρώση carbol fuchsin, η τροποποιημένη χρώση σαφρανίνης αλλά και η χρώση μπλε βαμβακιού λακτοφαινόλης. Όλες οι τεχνικές χρώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για την αναγνώριση ωοκύστεων *Cyclospora* σε επιχρίσματα κοπράνων. Σημαντικό κρίνεται πως παρουσιάζουν ποικιλομορφία τόσο στον βαθμό ευαισθησίας, όσο και ειδικότητας. Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι ανίχνευσης που βασίζονται στη μορφολογία χρειάζονται περισσότερο βάρος παρασίτων και συχνά μπορεί να οδηγήσουν σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα ή ψευδώς αρνητικά.

Υπάρχουν μεγάλες διαφορές στην απόδοση μεταξύ των διαφορετικών τεχνικών μικροσκοπίας. Έχει αποδειχθεί πως η άμεση ανίχνευση με χρήση επιφθορισμού είναι στην πραγματικότητα η καλύτερη επιλογή, ακολουθούμενη από τη χρώση σαφρανίνης. Στην πράξη θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και δύο ή περισσότερες τεχνικές μαζί για την εγκυρότερη ανίχνευση της παρουσίας παρασίτων.

Μεθόδοι PCR έχουν επίσης αναπτυχθεί για την ανίχνευση του παράγοντα. Πιο συγκεκριμένα αυτές δρουν ενισχύοντας συγκεκριμένα γονίδια του *C. cayetanensis*. Η πρώτη μέθοδος PCR που χρησιμοποιήθηκε για την κλινική ταυτοποίηση του *C. cayetanensis*, βασισμένη σε αλληλουχίες γονιδίου SSU rRNA, αναπτύχθηκε από τους Relman et al. (Αναφορά Relman, Schmidt, Gajadhar, Sogin, Cross, Yoder, Sethabutr and Echeverria1996). Από τότε έχουν αναπτυχθεί πολλές άλλες διαφορετικές δοκιμασίες PCR. Η PCR πραγματικού χρόνου που βασίζεται στο γονίδιο SSU rRNA έχει βελτιστοποιηθεί για να ανιχνεύει ειδικά DNA από μόλις μία ωοκύστη *C. cayetanensis* (Varma et al., Reference Varma, Hester, Schaefer, Ware and Lindquist2003; Verweij et al., Reference Verweij, Laeijendecker, Brienens, van Lieshout και Polderman2003). Μια άλλη μέθοδος

χρησιμοποιεί την ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο με ανάλυση καμπύλης τήξης για να ανιχνεύσει, να αναγνωρίσει και να διαφοροποιήσει το *C. cayetanensis* από άλλα είδη κοκκιδίων. Αρκετές άλλες δοκιμασίες έχουν αναπτυχθεί με βάση αλληλουχίες διαφορετικές από το γονίδιο SSU rRNA, όπως μια δοκιμασία ITS που βασίζεται σε PCR, η οποία είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στην ανίχνευση ωοκύστης (Olivier et al., Reference Olivier, van de Pas, Lepp, Yoder and Relman2001 Lalonde and Gajadhar, Reference Lalonde and Gajadhar2008), και ένα πρωτόκολλο ένθετης PCR με βάση το γονίδιο hsp70 για την ανίχνευση του *C. cayetanensis*, το οποίο αναπτύχθηκε το 2013 (Sulaiman et al., Reference Sulaiman, Torres, Simpson, Kerdahi203 and Or.). Η υπεροχή των μοριακών μεθόδων ανίχνευσης έναντι των μικροσκοπικών έγκειται στην ανάγκη μικρότερου φορτίου παρασίτων. Η ανίχνευση με μοριακές μεθόδους μπορεί να πραγματοποιηθεί ακόμα και μια μια ωοκύστη.

Οι ορολογικές δοκιμές προσυμπτωματικού ελέγχου για το *Cyclospora* θα υποστήριζαν επιδημιολογικές μελέτες και θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμες στη διερεύνηση των εστιών (Ortega and Sanchez, Reference Ortega and Sanchez2010). Ωστόσο, δεν υπάρχουν ακόμη διαθέσιμες ορολογικές δοκιμασίες για τον προσδιορισμό της ανθρώπινης έκθεσης στο *Cyclospora*. Ειδικά αντισώματα για τη διάγνωση της λοίμωξης από *C. cayetanensis* δεν λαμβάνονται εύκολα, γεγονός που περιορίζει σημαντικά τον ανοσολογικό έλεγχο.

Ένας άλλος σοβαρός περιορισμός των ορολογικών δοκιμασιών είναι η έλλειψη μεθόδου εργαστηριακής καλλιέργειας με την οποία το *Cyclospora* μπορεί να πολλαπλασιαστεί *in vitro* (Eberhard et al., Reference Eberhard, Ortega, Hanes, Nace, Do, Robl, Won, Gavidia, Sass, Mansfield, Gozalo , Griffiths, Gilman, Sterling and Arrowood2000· Cinar et al., Reference Cinar, Gopinath, Jarvis and Murphy2015).

Όσον αφορά την ανίχνευση του πρωτόζωου στο περιβάλλον, παρατηρείται απουσία μελετών μεθόδων ανίχνευσης στο έδαφος και ύπαρξη δύο μόνο μελετών για το νερό. Το 2019, μια επικυρωμένη μέθοδος για την ανίχνευση του *C. cayetanensis* στο νερό έγινε αποδεκτή ως τυπική μέθοδος από τον FDA. Επιπρόσθετα, μια πρόσφατη έκθεση του πίνακα Blue-Ribbon έδειξε την ανάγκη για ανάπτυξη μεθόδων ανίχνευσης για το *C. cayetanensis* και σε περιβαλλοντικά δείγματα. Παρόλα αυτά, διακρίνεται μια ανοδική τάση μελετών μεθόδων ανίχνευσης χρησιμοποιώντας μεθόδους που βασίζονται στο DNA (PCR), οι οποίες επιτρέπουν την επιβεβαίωση των ειδών (*cayetanensis*), καθώς και μια πιο πρόσφατη αύξηση (από το 2000) σε μελέτες τεχνικών που

χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση της ανάκτησης του *Cyclospora* από δείγματα προϊόντων και νερού.

3.4.6 Θεραπεία

Η θεραπεία με συνδυασμό τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη (TMP-SMX) έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική για την κυκλοσπορίωση. Η δόση που συνήθως χρησιμοποιείται είναι 160 mg τριμεθοπρίμη και 800 mg σουλφαμεθοξαζόλης, με συχνότητα δύο φορές την ημέρα και διάρκεια θεραπείας 7 έως 10 ημέρες.

Αυτή η θεραπεία έχει επίσης αποδειχθεί αποτελεσματική για ασθενείς με AIDS και ακόμα και για ασθενείς με νόσο των χοληφόρων. Το TMP-SMX έχει χαμηλό ποσοστό υποτροπής σύμφωνα με πολλές μελέτες. Σε περιπτώσεις δυσανεξίας στα σουλφοναμίδικα φάρμακα, μια εναλλακτική επιλογή είναι η σιπροφλοξασίνη, αλλά αυτή η θεραπεία έχει μικρότερη αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με το TMP-SMX.

Επιπλέον, η νιταζοξανίδη αποτελεί μια σημαντική θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με αλλεργία στη σουλφοναμίδη ή για ασθενείς στους οποίους η θεραπεία με τα προαναφερθέντα φάρμακα έχει αποτύχει. (Hoge et al., 1995· Madico et al., 1997· Goldberg and Bishara, 2012· Zimmer et al., 2007)

3.4.7 Επιδημιολογικά στοιχεία

Η *Cyclospora cayetanensis* προκαλεί λοιμώξεις σε ανθρώπους σε πάνω από 56 χώρες παγκοσμίως, καλύπτοντας όλες τις πέντε ηπείρους. Η πρώτη καταγεγραμμένη έκρηξη λοίμωξης από *C. cayetanensis* εμφανίστηκε σε 55 Βρετανούς τουρίστες στο Νεπάλ μεταξύ Ιουνίου και Νοεμβρίου 1989. Μέχρι τον Δεκέμβριο του 2018, τουλάχιστον 13 χώρες είχαν καταγράψει περιστατικά κυκλοσπορίωσης, με περίπου 6.557 περιπτώσεις. Η επιδημία κυρίως επηρέασε την Αμερική και την Ευρώπη, συμπεριλαμβανομένων του Περού, του Μεξικού, των ΗΠΑ, του Καναδά και του Ηνωμένου Βασιλείου. Τα παγκόσμια περιστατικά ανέρχονται σε 13.845, με επιπλέον εποχική αύξηση κατά τους καλοκαιρινούς μήνες στο βόρειο ημισφαίριο, πιθανώς λόγω των θερμοκρασιακών και υγρασιακών συνθηκών που ευνοούν τη σπορίωση των ωοκυστών. (Shlim et al., 1991)

4. Λοιπά παράσιτα σε νωπά λαχανικά

Σε αντίστοιχες μελέτες, κατά την διενέργεια εργαστηριακών εξετάσεων για τον εντοπισμό των πρωτόζωων, με σειρά σημαντικότητας, *Cryptosporidium spp*, *Giardia duodenalis* ή *lamblia*, *Toxoplasma gondii* και *Cyclospora cayetanensis*, παρατηρήθηκε επίσης πληθώρα ενδοεντερικών πρωτόζωων και ελμινθών. ΑνΑνευρέθηκαν κύστεις του πρωτοζώου *Entamoeba histolytica*, αλλά και ωά και προνύμφες ελμινθών, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Fasciola spp.*, *Ancylostoma duodenale*, *Hymenolepis spp.*, *Taenia spp.*, *Trichuris trichiura* και *Toxocara spp.* Σημαντική κρίνεται λοιπόν και η αναφορά παρασίτων πέρα των πρωτόζωων, καθώς οι παρασιτικές λοιμώξεις, από πρωτόζωα αλλά και έλμινθες, είναι ευρέως διαδεδομένες σε όλο τον κόσμο και αποδεδειγμένα θέτουν σε κίνδυνο τη δημόσια υγεία. Η σημαντικότητά τους μάλιστα γίνεται φανερή από τα πολύ υψηλά ποσοστά παρασιτικής μόλυνσης που εμφανίζονται σε τοπικές αγορές χωρών όπως η Αιθιοπία, με το ποσοστό της προαναφερθείσας να ανέρχεται στα 54,4% στα φρούτα και λαχανικά που αυτές διαθέτουν για κατανάλωση.

5. Μεθοδολογία

5.1 Συλλογή δειγμάτων

Για να υπάρχει ποικιλία ως προς το είδος των λαχανικών και την προέλευση, αναζητήθηκαν διαφορετικά λαχανικά και από διαφορετικές πηγές. Προτιμήθηκαν δείγματα κυρίως από λαϊκές αγορές σε διαφορετικές περιοχές της Αττικής και κάποια από μανάβικο.

5.2 Επεξεργασία δειγμάτων

Α) Έκπλυση των λαχανικών, με στόχο να συγκεντρωθούν τα τυχόν παρασιτικά στοιχεία που είχαν επάνω τους τα δείγματα.

A1.Ετοιμασία του διαλύματος έκπλυσης:

Το διάλυμα έκπλυσης παρασκευάστηκε στο εργαστήριο, σε ογκομετρικό σωλήνα ενός λίτρου, σε αναλογία 5 w/w%. Συγκεκριμένα, στο ένα λίτρο υγρού έκπλυσης έγινε χρήση 950ml απιονισμένου νερού και 50ml καθαριστικού υγρού φρούτων και λαχανικών ECOS® Fruit & Veggie Wash που στοχεύει «στην απομάκρυνση περιβαλλοντικών ρύπων, κεριού και ελαίων».

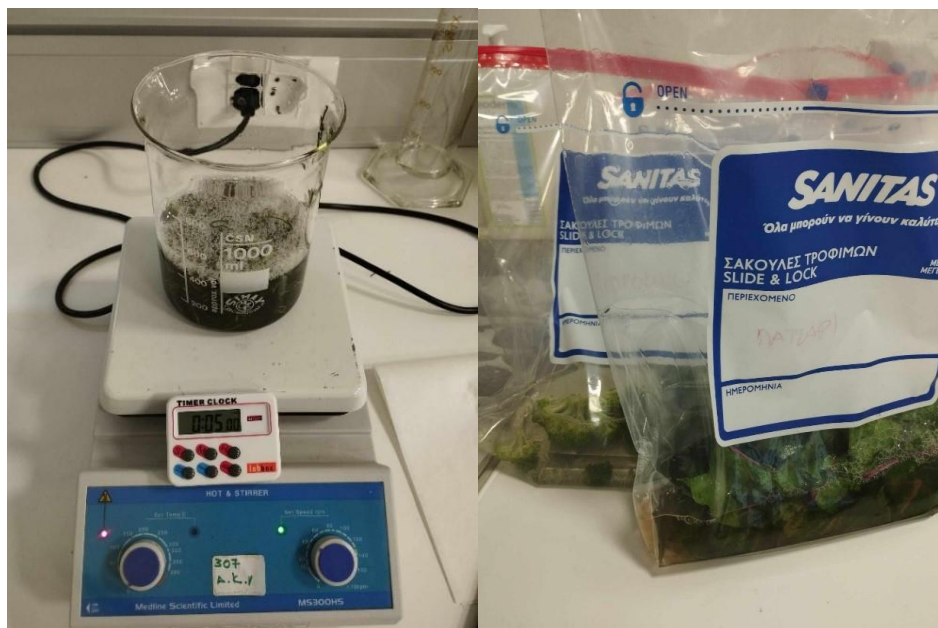
A2.Διαδικασία

Δοκιμαστικό πείραμα.

Έγιναν δοκιμές σε προπαρασκευασμένες συσκευασμένες σαλάτες, έτσι ώστε να προσδιοριστούν οι κατάλληλες και αποδοτικότερες ποσότητες τόσο λαχανικών, όσο και υγρού έκπλυσης που απαιτούταν ώστε το τελευταίο να καλύπτει όλη την ποσότητα του λαχανικού. Η πρώτη δοκιμή έγινε με 50 γραμμάρια λαχανικού και 200ml πλαστικού υγρού, αναλογίες χρησιμοποιούμενες από ανάλογες έρευνες, όπου και διαπιστώθηκε ότι τα 200 ml δεν επαρκούσαν ώστε να υπερκαλύψουν το εκάστοτε δείγμα λαχανικού. Αποφασίστηκε, μετά από αυτό, να διπλασιαστεί στα 400 ml η ποσότητα του διαλύματος έκπλυσης, ώστε να καλυφθεί πλήρως η ποσότητα του λαχανικού.

Τελική διαδικασία

A. Στάδιο συμπύκνωσης



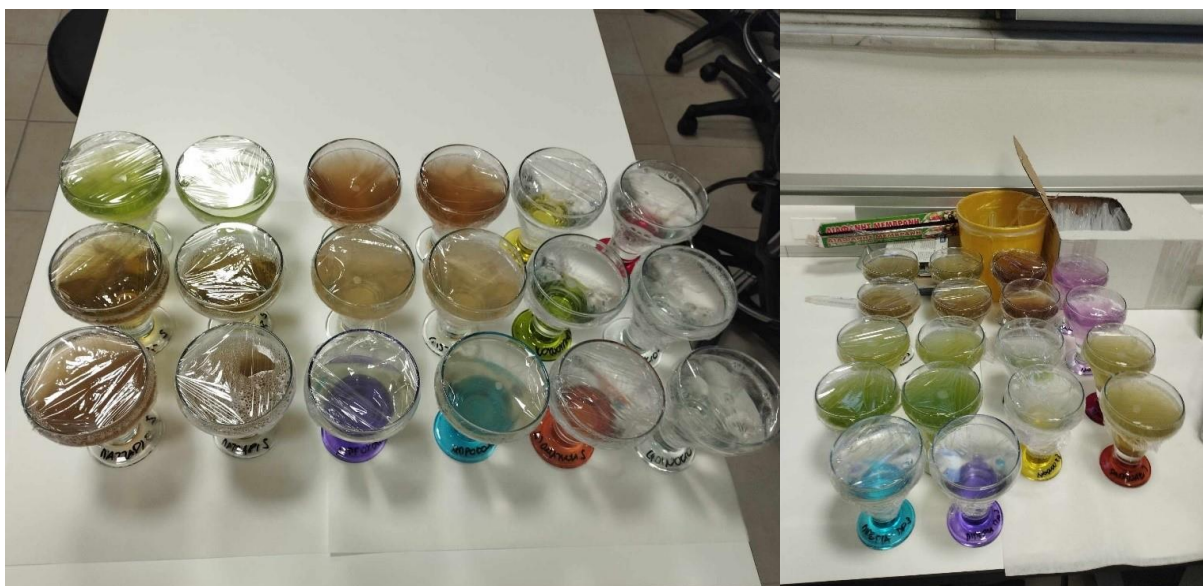
Τα δείγματα, έπειτα από διαχωρισμό τους σε τροφιμοσακούλες όπου σε αυτές αναγραφόταν το είδος του εκάστοτε λαχανικού και η ημερομηνία αγοράς τους, τεμαχίστηκαν σε μικρά κομμάτια συνολικού βάρους 50 γραμμαρίων και καλύφθηκαν από το υγρό έκπλυσης σε ποσότητα 400 ml.

Ο τεμαχισμός αυτών αποσκοπούσε επίσης στην εκπλήρωση του παραπάνω σκοπού, καθώς κατά τον τρόπο αυτών μειωνόταν ο όγκος τους. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως για την αποφυγή επιμόλυνσης, έπειτα από τον τεμαχισμό του εκάστοτε λαχανικού, το ξύλο κοπής όπως επίσης και το μαχαίρι πλένονταν με νερό και σαπούνι. Εν συνεχεία, τα δείγματα ξεχωριστά μεταφερόντουσαν στον μαγνητικό αναδευτήρα, όπου και γινόταν ανάδευσή τους για 5 λεπτά το καθένα με την χρήση χρονομέτρου.



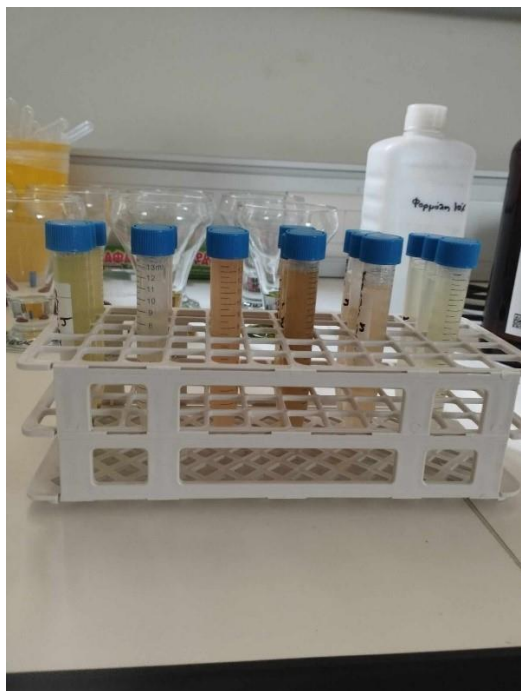
Η απομάκρυνση των μη χρήσιμων πλέον λαχανικών πραγματοποιούνται με στράγγιση του υγρού με την χρήση σουρωτηριού επικαλυμμένου με αποστειρωμένη γάζα διπλωμένη στα τέσσερα. Μάλιστα, για την απόκτηση της μέγιστης ποσότητας υγρού, τα δείγματα αποστραγγίζονται και χειροκίνητα με μηχανική συμπίεση φορώντας πάντα γάντια τα οποία αλλάζονται για κάθε είδος λαχανικού έπειτα από τον χειρισμό του.

Η στράγγιση των δειγμάτων πραγματοποιούνται σε κωνικά ποτήρια των 200ml, τα οποία έπειτα από αναγραφή του λαχανικού με μαρκαδόρο στην βάση τους και επικάλυψή τους με διαφάνεια παρέμεναν στο ψυγείο ώστε να προκύψει καθίζηση υλικού. Για το κάθε δείγμα λαχανικού γινόταν χρήση δύο κωνικών ποτηριών των 200 ml.



Έπειτα από τουλάχιστον 24 ώρες στο ψυγείο, τα δείγματα ήταν πλέον έτοιμα για την πρώτη τους επεξεργασία. Η παραπάνω αποτελούσε την απομάκρυνση του πλεονάζοντος υγρού και την προφύλαξη του ιζήματος. Το μεγαλύτερο ποσοστό του υγρού απομακρυνόταν με μια ενιαία κίνησης έκχυσης του στρέφοντας το κωνικό ποτήρι πλαγίως ώστε να πραγματοποιηθεί υπερχειλίση από την μία του πλευρά. Το υγρό απομακρυνόταν με τον τρόπο αυτό έως ότου γινόταν αντιληπτή η μετακίνηση του ιζήματος από τον πάτο του ποτηριού προς τα χείλη αυτού. Η διαδικασία τότε σταματούσε και ενώ είχε εκπληρωθεί η διαδικασία αυτή σε όλο τον αριθμό των δειγμάτων, ώστε στον χρόνο που επερχόταν το ίζημα να καθιζάνει ξανά από την πιθανή ανακίνηση του, τότε πραγματοποιούταν απομάκρυνση επιπλέον υγρού με πιπέτα 3 ml. Η πιπέτα τοποθετούνταν υπό γωνία έτσι ώστε η μύτη της να ακουμπάει στα τοιχώματα του ποτηριού προς αποφυγή απομάκρυνσης του ιζήματος. Η διαδικασία σταματούσε όταν η στάθμη πλησίαζε το θολωμένο μέρος του ποτηριού κοντά στον πάτο του, όπου βρισκόταν και το ίζημα.





Καθ' όλη την διάρκεια έκχυσης του υγρού, η βρύση του νεροχύτη στον οποίον λάμβανε χώρο η διεργασία παρέμενε ανοιχτή. Έπειτα πραγματοποιούνταν ομογενοποίηση του ιζήματος με το υπερκείμενο υγρό μέσω πολλαπλών αναρροφήσεων και αποθέσεων μέσω της χρησιμοποιούμενης, διαφορετικής για κάθε είδους λαχανικού πιπέτας. Το ομογενοποιημένο δείγμα, μέσω της χρήσης πιπέτας τοποθετούνταν σε φυγοκεντρικούς πλαστικούς σωλήνες των 13ml.

Οι σωλήνες εν συνεχεία τοποθετούνταν με προσοχή στην φυγόκεντρο, με τα ισοβαρή (ίδια ποσότητα σε ml) δείγματα, να εισέρχονται σε αυτή πάντα σε θέσεις αντικριστές, ώστε να πραγματοποιηθεί σωστά η

φυγοκέντρωση. Η φυγοκέντρωση γινόταν στις 1.500 στροφές για 5 λεπτά ώστε να αποφευχθεί το ενδεχόμενο καταστροφής των κύστεων των πρωτόζωων που ενδεχομένως να υπήρχαν στα δείγματα. Αφού η φυγοκέντρωση ολοκληρωνόταν, επερχόταν αφαίρεση με πιπέτα υπό γωνία με το στόμιο να ακουμπάει τα τοιχώματα, του υπερκείμενου υγρού και παραμονή του ιζήματος και ελάχιστου υγρού έως την ένδειξη 1 ml για το κάθε σωλήνα φυγοκέντρωσης ξεχωριστά.

B. Στάδιο εμπλουτισμού

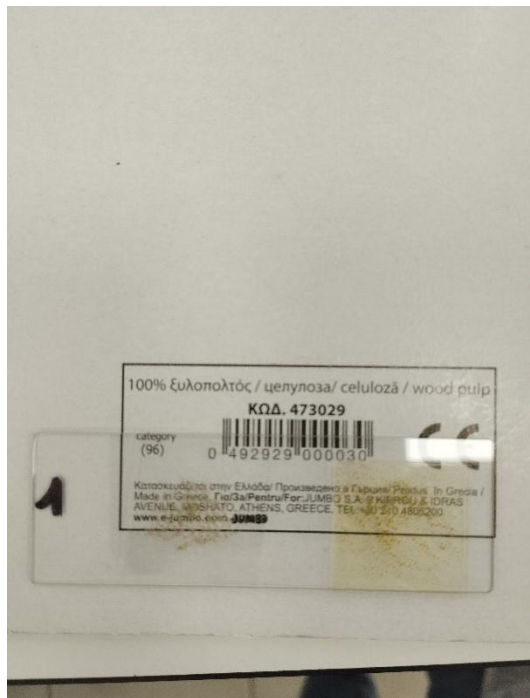
Ακολουθούσε εμπλουτισμός με τη μέθοδο των δύο φάσεων κατά WHO (WHO, Bench Aids for the diagnosis of intestinal parasites, 2019), με φορμαλίνη 10 v/v% και οξικό αιθυλεστέρα (ethyl acetate). Από το διάλυμα φορμαλίνης με την χρήση πιπέτας συμπληρώνονται στο κάθε σωληνάριο, που είχε ήδη 1 ml ίζημα από την προηγούμενη φυγοκέντρηση, άλλα 6 ml, ώστε να συμπληρωθεί το υγρό μέχρι την ένδειξη των 7 ml. Έπειτα τα σωληνάρια συμπληρώνονταν ως την ένδειξη των 10 ml με οξικό αιθυλεστέρα. Ακολουθούσε καλή ανακίνηση στα σωληνάρια, ώστε να γίνει ομογενοποίηση των συστατικών, και νέα τοποθέτηση στη φυγόκεντρο πάλι στις 1.500 στροφές για 5 λεπτά. Μετά την λήξη της δεύτερης φυγοκέντρησης τα σωληνάρια εξέρχονταν από τη φυγόκεντρο και με γρήγορη κίνηση πάνω από νεροχύτη με τρεχούμενο νερό πραγματοποιούνταν απόρριψη του υπερκείμενου υγρού, ώστε να παραμείνει στο σωληνάριο το ίζημα όπου θα υπήρχαν συγκεντρωμένα τυχόν παρασιτικά στοιχεία, που αρχικά θα ήταν κολλημένα στην επιφάνεια των λαχανικών.

Σε κάθε στάδιο γινόταν και σύμπτυξη των υλικών του ίδιου δείγματος, ώστε ο αριθμός των σωληνάρων του κάθε δείγματος να μειωθεί τελικά σε ένα.

5.3 Εξέταση δειγμάτων για παρασιτικά στοιχεία

Η εξέταση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια. Κατά την πρώτη εξέταση έγινε μικροσκόπηση νωπών δειγμάτων, και κατόπιν ακολούθησε εξέταση μονιμοποιημένων βαμμένων δειγμάτων με ειδική χρώση για κρυπτοσπορίδια.

5.4 Μικροσκόπηση νωπών δειγμάτων



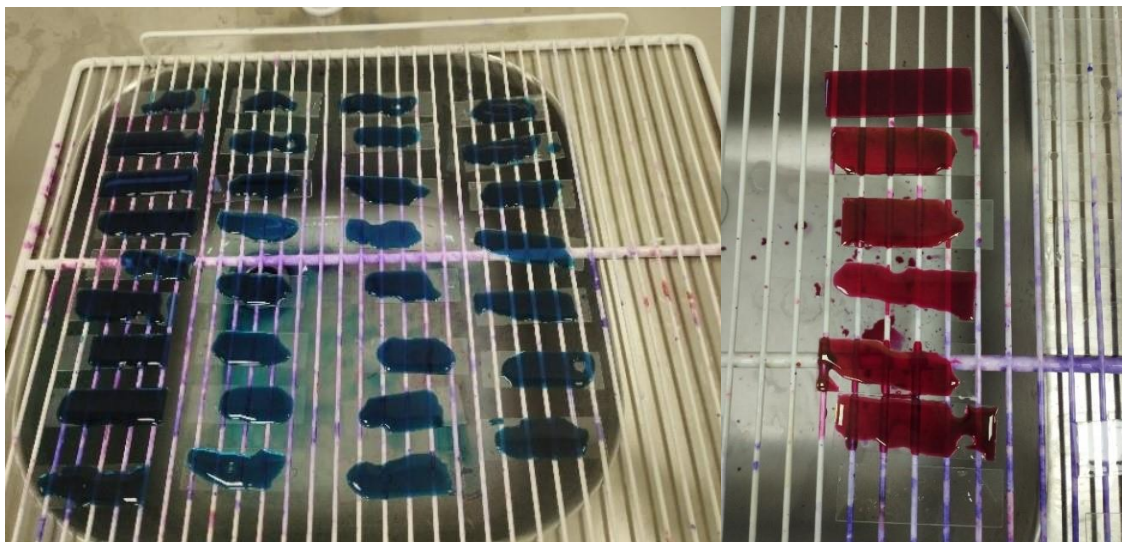
Το ίζημα ομογενοποιήθηκε με ανάδευση και έγινε αρίθμηση αντικειμενοφόρων πλακών με ανεξίτηλο μαρκαδόρο. Σε κάθε αντικειμενοφόρο τοποθετήθηκαν δύο σταγόνες σταγονών από το ίζημα. Αναλυτικότερα, στην μία άκρη (αριστερά) τοποθετήθηκε μια σταγόνα δείγματος με χρήση πιπέτας η οποία καλύφθηκε αμέσως με καλυπτρίδα, ενώ στην άλλη άκρη (δεξιά) πραγματοποιήθηκε εναπόθεση σταγόνας δείγματος και σταγόνας υδατικού διαλύματος ιωδίου (Lugol) και έπειτα έγινε η απόθεση καλυπτρίδας.

Για να εξετάζεται εύκολα, στόχος ήταν το υλικό στην αντικειμενοφόρο να είναι αρκετά αραιό ώστε να μπορεί μέσα από αυτό να διαβάζονται γράμματα από

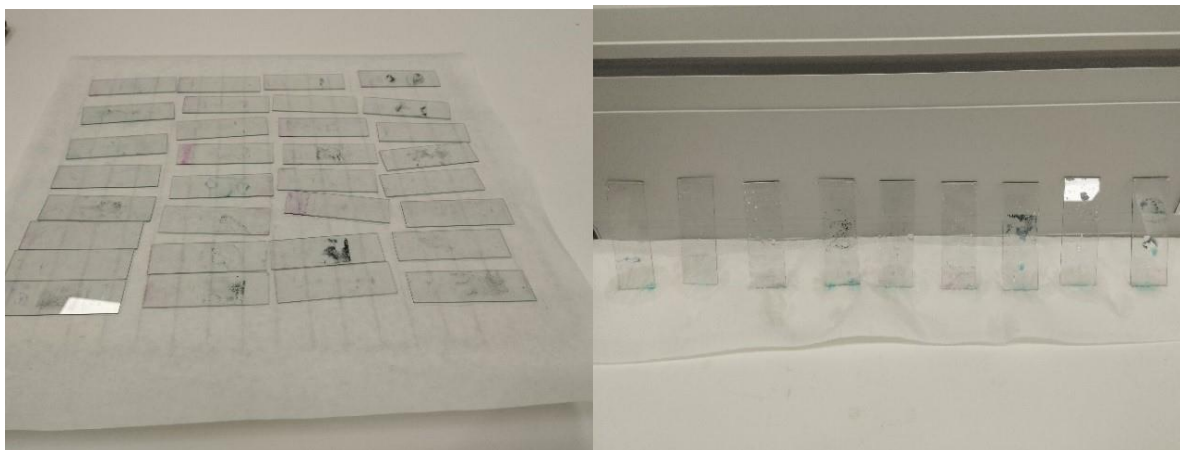
κάτω. Τα δείγματα εξετάστηκαν σε μεγεθύνσεις 10x και 40x.

5.5 Οξεάντοχη χρώση για κρυπτοσπορίδια

Έγινε αρίθμηση αντικειμενοφόρων πλακών με υαλογράφο και τοποθετήθηκε μία σταγόνα που απλώθηκε καλά με χρήση καλυπτρίδας. Έπειτα τα δείγματα στεγνώσαν σε θερμό αέρα ώστε να απομακρυνθεί η περιττή υγρασία. Ακολούθησε μονιμοποίηση με απόλυτη αλκοόλη για 30 δευτέρα και χρωματίστηκαν με την χρήση πιπέτας σε χρώση Κίηουιν αυστηρά για 1 λεπτό με χρήση χρονομέτρου. Μετά το πέρας του ενός λεπτού ξεπλύθηκαν καλά με νερό βρύσης σε συνεχή ροή και αποχρωματίστηκαν με οξιμισμένη αλκοόλη (αλκοόλη με 1% HCl) έως ότου το υλικό πάνω στην πλάκα αποχρωματιστεί τελείως. Ακολούθησε μεταχρωματισμός με πράσινο του μαλαχίτη για ακόμα ένα λεπτό και έπειτα αποχρωματισμός του υλικού πάνω στην πλάκα με νερό βρύσης.



Τα δείγματα χρωματίζονταν και αποχρωματίζονταν ανά πεντάδες ώστε να είναι εφικτό να τηρηθούν τα χρονικά όρια που προαναφέρθηκαν. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίση πάνω σε απορροφητικό χαρτί ώστε να απομακρυνθεί μεγάλο μέρος της υγρασίας και έπειτα τοποθετήθηκαν σε απορροφητικό χαρτί και αφέθηκαν έως ότου στεγνώσουν ολοκληρωτικά.



Να σημειωθεί πως για την εξέταση των δειγμάτων, οι αντικειμενοφόρες πλάκες απαριθμήστηκαν είτε με την χρήση μαρκαδόρου, είτε με υαλογράφο ως εξής:

Αρίθμηση στις αντικειμενοφόρους πλάκες	Δείγματα στους δοκιμαστικούς σωλήνες
1	Αγγούρι
2	Σέλινο
3	Καρότο
4	Πιπεριά καυτερή
5	Μαρούλι κοκκινόφυλλο
6	Πιπεριά φλωρίνης
7	Κόλιανδρος
8	Παντζάρι
9	Φινόκιο
10	Κουνουπίδι
11	Ντοματίνια
12	Αλμύρα
13	Φρέσκο κρεμμυδάκι
14	Μαρούλι
15	Άνηθος
16	Δυόσμος
17	Μαϊντανός
18	Βλίτα
19	Λαχανίδα
20	Μαρούλι(συμβατικό)
21	Ρόκα
22	Πιπεριά πράσινη
23	Πράσα
24	Αντίδια
25	Ραπανάκι
26	Ιταλικά ραδίκια
27	Λάχανο κόκκινο
28	Λάχανο (συμβατικό)
29	Σέσκουλο

30	Γλιστρίδα
31	Μπρόκολο
32	Σπανάκι

6. Αποτελέσματα

6.1 Συλλογή δειγμάτων

Συνολικά συγκεντρώθηκαν 32 δείγματα. Η προέλευση των παραπάνω, καθώς και τα είδη των λαχανικών και επιλέχθηκαν αναφέρονται παρακάτω:

1. Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων: Λαχανίδα (Khale), Γαλλική Σαλάτα (είδος μαρουλιού) και μαϊντανός
2. Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας: Μαρούλι, Βλίτα, Φρέσκο κρεμμύδι, Δυόσμος, Άνηθος
3. Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης: Αντίδια. Λάχανο, Κόκκινο λάχανο, Πράσα, Σπανάκι, Σέσκουλο, Ραπανάκια, Ιταλικά ραδίκια, Πιπεριές πράσινες
4. Λαχαναγορά Άνω Πατησίων: Αγγούρια, Καυτερές πιπεριές, Καρότα, Σέλινο, Κοκκινόφυλλο μαρούλι, Πιπεριές φλωρίνης
5. Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας: Μπρόκολο, Κουνουπίδι, Ντοματίνια, Αλμύρα, Ρόκα
6. Σούπερ Μάρκετ: Κόλιανδρος, Παντζάρι, Φινόκιο, Γλιστρίδα

Για την εξέταση των δειγμάτων, η αρίθμηση στις αντικειμενοφόρες πλάκες έγινε, είτε με την χρήση μαρκαδόρου, είτε με υαλογράφο, ως εξής:

Αρίθμηση αντικειμενοφόρους πλάκες	στις	Δείγματα δοκιμαστικούς σωλήνες	στοις	Προέλευση δειγμάτων
1		Αγγούρι		Λαχαναγορά Άνω Πατησίων
2		Σέλινο		Λαχαναγορά Άνω Πατησίων
3		Καρότο		Λαχαναγορά Άνω Πατησίων
4		Πιπεριά καυτερή		Λαχαναγορά Άνω Πατησίων
5		Μαρούλι κοκκινόφυλλο		Λαχαναγορά Άνω Πατησίων
6		Πιπεριά φλωρίνης		Λαχαναγορά Άνω Πατησίων
7		Κόλιανδρος		Σούπερ Μάρκετ
8		Παντζάρι		Σούπερ Μάρκετ
9		Φινόκιο		Σούπερ Μάρκετ
10		Κουνουπίδι		Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
11		Ντοματίνια		Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
12		Αλμύρα		Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας

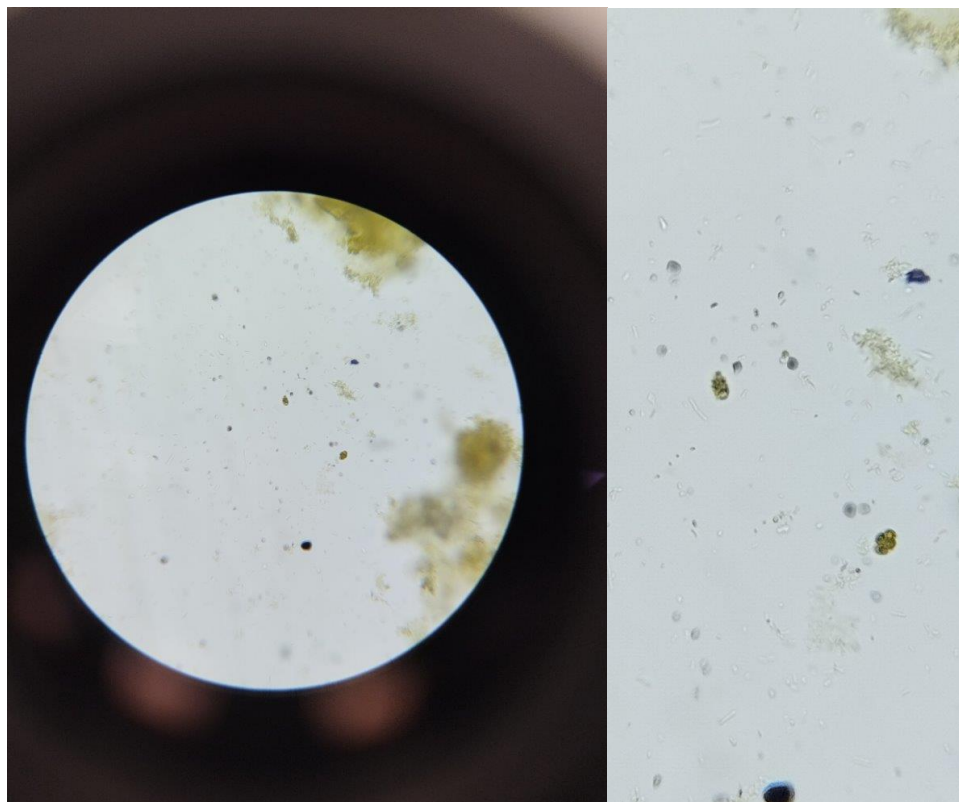
13	Φρέσκο κρεμμυδάκι	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
14	Γαλλική σαλάτα	Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων
15	Άνηθος	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
16	Δυόσμος	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
17	Μαϊντανός	Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων
18	Βλίτα	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
19	Λαχανίδα	Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων
20	Μαρούλι(συμβατικό)	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
21	Ρόκα	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
22	Πιπεριά πράσινη	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
23	Πράσα	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
24	Αντίδια	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
25	Ραπανάκι	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
26	Ιταλικά ραδίκια	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
27	Λάχανο κόκκινο	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
28	Λάχανο (συμβατικό)	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
29	Σέσκουλο	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης
30	Γλιστρίδα	Σούπερ Μάρκετ
31	Μπρόκολο	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας
32	Σπανάκι	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης

6.2 Αποτελέσματα μικροσκόπησης νωπού δείγματος

Κατά την μικροσκόπηση των δειγμάτων, τόσο αυτούσιων, όσο και με την προσθήκη υδατικού διαλύματος ιωδίου (Lugol), σε μεγεθύνσεις 10x και 40x καταγράφηκαν τα εξής:

A) Παθογόνα πρωτόζωα

Βρέθηκαν κύστες *Giardia duodenalis* σε τρία δείγματα, στο σέλινο, στο κοκκινόφυλλο μαρούλι, και την ρόκα. Όπως φαίνεται στις παρατιθέμενες φωτογραφίες, ο εντοπισμός του εν λόγω πρωτόζωου έγινε βάσει των μορφολογικών χαρακτηριστικών του, το οβάλ σχήμα του και τους δύο πυρήνες που έγιναν ακόμη πιο ευκρινείς στην μεγαλύτερη μεγέθυνση όπου είχε χρησιμοποιηθεί Lugol. Ο αριθμός των κύστεων κυμαινόταν από μια έως επτά ανά μία σταγόνα (20 μ l) δείγματος.



Σε κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκαν κύστες *Entamoeba histolytica/dispar* ή ωοκύστες *Toxoplasma gondii*.

B) Μη παθογόνοι έλμινθες

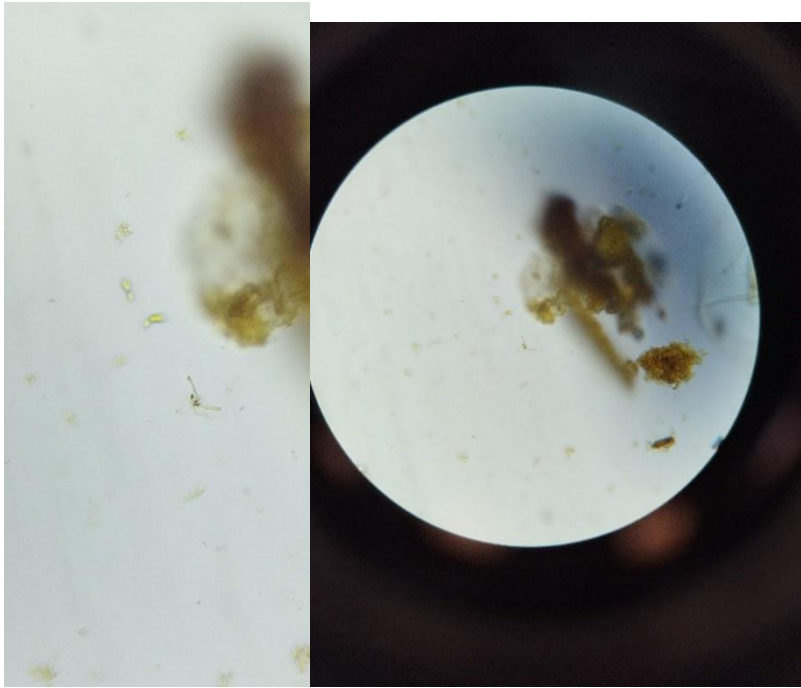
Στο κοκκινόφυλλο μαρούλι και στα ιταλικά ραδίκια παρατηρήθηκαν ελευθέρως βιώσες προνύμφες στρογγύλων ελμίνθων του εδάφους. Πρόκειται για προνύμφες που θα εξελίσσονταν σε ενήλικες σκώληκες και κάποιοι από αυτούς θα μπορούσαν να αποτελέσουν κίνδυνο για φυτοφάγα ζώα που θα κατανάλωναν τα συγκεκριμένα λαχανικά. Οι συγκεκριμένες όμως προνύμφες δεν είχαν το χαρακτηριστικό στόμα και οισοφάγο των προνυμφών του στριγγυλοειδούς των κοπράνων (*Strongyloides stercoralis*), συνεπώς δεν πρόκειται για παράσιτα του ανθρώπου.



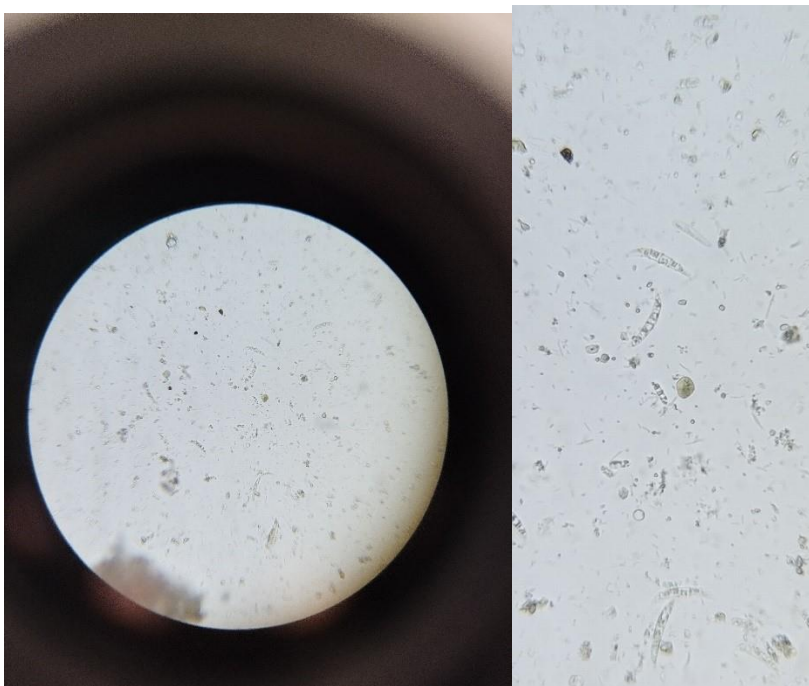
Να θυμίσουμε ότι ο *Strongyloides stercoralis* μεταδίδεται κυρίως διαδερμικά, από έδαφος όπου υπάρχουν προνύμφες. Όσον αφορά την παθογένειά του, οι περισσότεροι άνθρωποι που μολύνονται είναι ασυμπτωματικοί ή παρουσιάζουν συμπτώματα όπως πόνο στην κοιλιά, φούσκωμα, καούρα, διαλείπουσα διάρροια και δυσκοιλιότητα και άλλα, σε περιπτώσεις όμως ανοσοκατασταλμένων ατόμων, δύναται να εμφανιστούν σοβαρότερες ή και απειλητικές για την ζωή καταστάσεις.

Γ) Μύκητες

Στα δείγματα εντοπίστηκαν μύκητες και συγκεκριμένα βλαστοσπόρια βλαστομυκήτων στα ντοματίνια,



και μακροκονίδια του υφομήκυτα *Fusarium* στον άνηθο.



6.3 Αποτελέσματα οξεάντοχης χρώσης

Κατά τη μικροσκοπική εξέταση των δειγμάτων μετά από οξεάντοχη χρώση, σε κανένα από τα δείγματα δεν παρατηρήθηκαν ωκύστες *Cryptosporidium sp.*

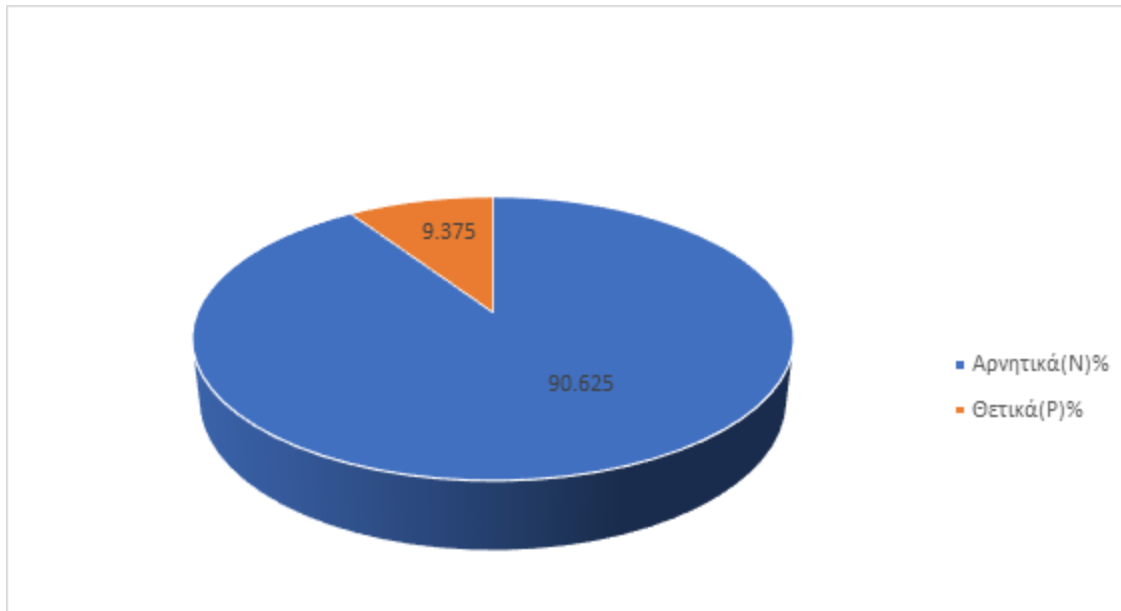
Σε κανένα επίσης από τα δείγματα δεν βρέθηκαν ωκύστες *Cyclospora sp* που μπορούσαν να εντοπισθούν μετά από την ίδια χρώση, παρόλο που η χρώση σαφρανίνης θεωρείται η δοκιμότερη.

Συνολικά αποτελέσματα

			Αποτελέσματα μικροσκόπησης νοπού δειγματος				Αποτελέσματα οξεάντοχης χρώσης			
Εξεταζόμενα πρωτόζωα			<i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Giardia duodenalis</i>	<i>Cyclospora sp</i>	<i>Toxoplasma gondii.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Giardia duodenalis</i>	<i>Cyclospora sp</i>	<i>Toxoplasma gondii.</i>
Αρίθμηση στις αντικειμενοφόρους πλάκες	Δείγματα στους δοκιμαστικούς σωλήνες	Προέλευση δειγμάτων								
1	Αγγούρι	Λαχαναγορά Άνω Πατησίων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
2	Σέλινο	Λαχαναγορά Άνω Πατησίων	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
3	Καρότο	Λαχαναγορά Άνω Πατησίων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
4	Πιπεριά καυτερή	Λαχαναγορά Άνω Πατησίων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
5	Μαρούλι κοκκινόφυλλο	Λαχαναγορά Άνω Πατησίων	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
6	Πιπεριά φλωρίνης	Λαχαναγορά Άνω Πατησίων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό

7	Κόλιανδρος	Σούπερ Μάρκετ	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
8	Παντζάρι	Σούπερ Μάρκετ	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
9	Φινόκιο	Σούπερ Μάρκετ	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
10	Κουνουπίδι	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
11	Ντοματίνια	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
12	Αλμύρα	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
13	Φρέσκο κρεμμυδάκι	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
14	Γαλλική σαλάτα	Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
15	Άνηθος	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
16	Δυόσμος	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
17	Μαϊντανός	Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
18	Βλίτα	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
19	Λαχανίδα	Λαϊκή αγορά Αμπελόκηπων	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
20	Μαρούλι(συμβατικό)	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό

21	Ρόκα	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
22	Πιπεριά πράσινη	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
23	Πράσα	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
24	Αντίδια	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
25	Ραπανάκι	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
26	Ιταλικά ραδίκια	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
27	Λάχανο κόκκινο	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
28	Λάχανο (συμβατικό)	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
29	Σέσκουλο	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
30	Γλιστρίδα	Σούπερ Μάρκετ	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
31	Μπρόκολο	Λαϊκή αγορά Νέας Ιωνίας	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
32	Σπανάκι	Λαϊκή αγορά Μεταμόρφωσης	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό



Σχήμα 1: Ποσοστό % των θετικών για *G. lamblia* δειγμάτων της παρούσας έρευνας.

7.Συζήτηση

Η μετάδοση παρασιτικών ασθενειών επηρεάζεται σημαντικά από την κατανάλωση ωμών λαχανικών. Η μόλυνση του ξενιστή προκύπτει συνήθως μέσω της κατάποσης μολυσματικών πρωτοζωικών κύστεων, ωοκύστεων, προνυμφών και αυγών ελμίνθων που είναι κολλημένα πάνω στα λαχανικά. Κίνδυνοι μόλυνσης υπάρχουν σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής, της συλλογής, της μεταφοράς, της προετοιμασίας και της επεξεργασίας. Οι πηγές μόλυνσης περιλαμβάνουν το έδαφος, τα ανθρώπινα και ζωικά περιττώματα, καθώς και το νερό που χρησιμοποιείται για άρδευση ή καθαρισμό των λαχανικών, ιδίως όταν είναι φυσικά μολυσμένο.

Η αναζήτηση παρασιτικών στοιχείων πρωτόζωων και ελμίνθων από τα νωπά λαχανικά απασχόλησε την επιστημονική κοινότητα και μάλιστα προτάθηκαν αρκετές μεθοδολογίες που εφαρμόστηκαν με στόχο τον εντοπισμό τους στα εκάστοτε δείγματα.

Η ανίχνευση μολυσματικών μορφών των *Toxoplasma gondii*, *Giardia duodenalis* και *Cryptosporidium spp.* σε φρέσκα λαχανικά ξεκινούσε με τυχαία συλλογή δειγμάτων φρέσκων λαχανικών, που καταναλώνονταν συνήθως ωμά, από λιανικές αγορές, σούπερ μάρκετ ή πλανόδιους πωλητές και την μετέπειτα μεταφορά τους στο εργαστήριο για ανάλυση. Οι ποσότητες των λαχανικών που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση κυμάνθηκαν από 10 g έως 1 kg, ανάλογα με τη μελέτη. (Berrouch et al., 2020)

Η διαδικασία ανίχνευσης περιλάμβανε τρία κύρια στάδια: έκλουση, συγκέντρωση και ανίχνευση. (Berrouch et al., 2020)

Η έκλουση στόχευε στην αποτελεσματική εξαγωγή παρασίτων από δείγματα λαχανικών. Στις μελέτες αναφέρονται διαφορετικά πρωτόκολλα, που διέφεραν ως προς τη σύνθεση των ρυθμιστικών διαλυμάτων έκλουσης (EBs), το pH και τις μεθόδους φυσικής εκχύλισης που φάνηκε να επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της ανάκτησης των παρασίτων. (Berrouch et al., 2020)

Έγινε, κατά περίπτωση, χρήση ρυθμιστικού διαλύματος γλυκίνης, αλατούχου διαλύματος ρυθμισμένου με φωσφορικά (PBS), απορρυπαντικών όπως το Alconox®, αλλά και απλού φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος. Η επιλογή του ρυθμιστικού διαλύματος και της μεθόδου

έκλουσης επηρέασε σημαντικά την αποτελεσματικότητα ανάκτησης, με παραλλαγές που παρατηρήθηκαν σε διαφορετικές μελέτες. (Berrouch et al., 2020)

Οι μέθοδοι συμπύκνωσης περιλάμβαναν φυγοκέντρηση, επίπλευση, χρησιμοποιώντας διαλύματα σακχαρόζης ή θεικού ψευδαργύρου και διήθηση για τη συμπύκνωση των εκχυλισμένων παρασίτων από το έκλουσμα. Αυτές οι μέθοδοι στόχευαν στην αύξηση της συγκέντρωσης των παρασίτων για τη μετέπειτα αναζήτηση. (Berrouch et al., 2020)

Οι μέθοδοι ανίχνευσης περιλάμβαναν αρχικά και τη μικροσκοπική εξέταση (ME) νωπού παρασκευάσματος με μια σταγόνα υδατικού διαλύματος ιωδίου (Lugol) και χρωσμένων παρασκευασμάτων με διάφορες τεχνικές χρώσης όπως και τροποποιημένη Ziehl–Neelsen (ZN) ή η τρίχρωμη χρώση. Η αναζήτηση μπορούσε να συνεχιστεί, για επιβεβαίωση ή επιδημιολογική διερεύνηση, με τη δοκιμασία άμεσου ανοσοφθορισμού (FA), τον ανοσομαγνητικό διαχωρισμό (IMS), την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), την εμφωλεασμένη PCR (nested PCR) και την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (real time-PCR). Ορισμένες μελέτες χρησιμοποίησαν multiplex PCR για την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλαπλών παρασίτων (Berrouch et al., 2020).

Σε ανασκοπική μελέτη για τη μετάδοση του *Cryptosporidium* από φρέσκα λαχανικά, αναφέρονται: έκλουση για την απελευθέρωση ωοκύστεων, συμπύκνωση μέσω φυγοκέντρησης, διαχωρισμό με χρήση ανοσομαγνητικού διαχωρισμού (IMS) και οπτικοποίηση/αναγνώριση μέσω χρώσης ή μεθόδων που βασίζονται σε PCR. Πιο συγκεκριμένα, τα διαλύματα έκλουσης ποικίλλαν, με τα διαλύματα με βάση τη γλυκίνη και τα απορρυπαντικά να παρουσιάζουν αποτελεσματικότητα. Οι μέθοδοι χρώσης όπως η τροποποιημένη Ziehl–Neelsen και η μικροσκοπία ανοσοφθορισμού (IFM) συνέβαλλαν στην οπτικοποίηση. Η PCR επίσης επέτρεψε τη μοριακή γονότυπο. Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι το συμπέρασμα ήταν ότι οι τρέχουσες μέθοδοι δεν κάνουν διαφοροποίηση μεταξύ ζωντανών και νεκρών ωοκύστεων, γεγονός που δυνητικά οδηγεί σε υπερεκτίμηση του κινδύνου από την κατανάλωση λαχανικών (Nasser, 2022)

Σε ανάλογη μελέτη για ανάπτυξη μεθόδου για την ανίχνευση κύστεων *Giardia duodenalis* στο μαρούλι και για ανάλυση προϊόντων σαλάτας για την παρουσία κύστεων *Giardia* και ωοκύστεων *Cryptosporidium*, έγινε χρήση διαλύματος γλυκίνης 1M σε pH 5,5 για την παρατήρηση φθορισμού με συζευγμένα με FITC μονοκλωνικά αντισώματα και DAPI. (Cook et al., 2007)

Στη παρούσα εργασία επιλέχτηκε να εφαρμοστεί η παρακάτω μεθοδολογία: η μελέτη ξεκίνησε με την συλλογή δειγμάτων από λαϊκές αγορές, λαχαναγορές και σούπερ μάρκετ. Η επεξεργασία του κάθε δείγματος περιλάμβανε ζύγισμα, τεμαχισμό των λαχανικών σε μικρά κομμάτια και κάλυψή τους με το υγρό έκλουσης. Τα δείγματα εν συνεχεία αναμιγνύονταν σε μαγνητικό αναδευτήρα για 5 λεπτά. Ακολούθησε η αποστράγγιση των παραπάνω με την χρήση σουρωτηριού καλυμμένου με αποστειρωμένη γάζα, και το υγρό που συλλεγόταν παρέμενε όλη νύχτα στο ψυγείο με σκοπό την δημιουργία ιζήματος. Την επομένη, ακολουθούσε ανάδευση, φυγοκέντρηση στις 1.500 rpm για 5 λεπτά, απόρριψη του υπερκείμενου υγρού και συλλογή του τελικού ιζήματος για περαιτέρω εξέταση. Στη διαδικασία ακολουθούσε το στάδιο του εμπλουτισμού, σύμφωνα με τη μέθοδο δύο φάσεων κατά ΠΟΥ που περιλάμβανε την προσθήκη φορμαλίνης 10% και οξικού αιθυλεστέρα στα δείγματα. Τα σωληνάκια που περιείχαν 1 ml ιζήματος το καθένα συμπληρώνονταν με 6 ml φορμαλίνη για να φτάσουν σε συνολικό όγκο 7 ml και γεμίζονταν μέχρι τα 10 ml με οξικό αιθυλεστέρα. Μετά ακολούθησε σχολαστική ανάμειξη και δεύτερη φυγοκέντρηση στις 1.500 rpm για 5 λεπτά. Η περίσσεια υγρού απορριπτόταν, αφήνοντας πίσω το ίζημα που περιέχει τυχόν παρασιτικά στοιχεία που μπορεί να είχαν κολλήσει στην επιφάνεια των λαχανικών.

Η διαδικασία εξέτασης δειγμάτων για παρασιτικά στοιχεία πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια. Αρχικά, έγινε μικροσκόπηση νωπών δειγμάτων και ακολούθησε εξέταση χρωσμένων δειγμάτων με οξεάντοχη χρώση για κρυπτοσπορίδια. Κατά το πρώτο στάδιο, τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν, τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες και εξετάστηκαν σε μεγέθυνση 10X και 40X. Στο δεύτερο στάδιο, τα δείγματα σταθεροποιήθηκαν, χρωματίστηκαν με χρώση Kinyoun και υποβλήθηκαν σε διαδικασίες χρωματισμού και αποχρωματισμού πριν στεγνώσουν στον αέρα. Τέλος, τοποθετήθηκαν σε απορροφητικό χαρτί για να στεγνώσουν και έπειτα εξετάστηκαν στο μικροσκόπιο στον καταδυτικό φακό.

Οι μελέτες που έγιναν για την αναζήτηση πρωτόζωων σε φρέσκα λαχανικά σε διάφορες χώρες, έδωσαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Χώρα	Ευρήματα	Βιβλιογραφία
Δανία	Cryptosporidium hominis	(Ethelberg et al., 2009)
Καναδάς	Cryptosporidium spp.	(Ma et al., 2022)
Η.Π.Α	Cryptosporidium spp., Giardia spp	(Ma et al., 2022b)
Βραζιλία	Toxoplasma gondii	(Ma et al., 2022c)
Γαλλική Γουιάνα	Cryptosporidium spp., Giardia spp	(Ma et al., 2022d)
Ηνωμένο Βασίλειο	Cryptosporidium spp.	(Ma et al., 2022e)
Ιρλανδία	Cryptosporidium spp., Giardia spp	(Ma et al., 2022f)
Νέα Ζηλανδία	Cryptosporidium spp., Giardia spp, D.frangilis	(Ma et al., 2022g)
Αυστραλία	Cryptosporidium spp	(Ma et al., 2022h)
Ισπανία	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022b)
Νότια Κορέα	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022c)
Νορβηγία	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022d)
Ινδία	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022e)
Κόστα Ρίκα	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022f)
Περού	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022g)
Νιγηρία	Cryptosporidium spp. Ancylostoma duodenale, Ascaris lumbricoides	(Nasser, 2022h) (Karshima, 2018)
Αίγυπτος	Cryptosporidium spp	(Nasser, 2022i)
Σουδάν	Giardia spp E..histolytica/dispar, E.coli, Strongyloides stercoralis, αυγά αγκυλόστομου, T.trichiura ,A. lumbricoides.	(Mohamed et al., 2016)
Ιράν	Giardia spp., Cryptosporidium spp., Ascaris, Toxocara spp, Fasciola, Trichuris, Taenia spp., Entamoeba histolytica	(Bahramian et al., 2021)
Εκουαδόρ	Cryptosporidium spp., Giardia spp., Cyclospora	(González et al., 2022)

	cayetanensis, Blastocystis, Endolimax nana και το Entamoeba coli, Entamoeba histolytica/E.dispar, αρθρόποδα	
Αιθιοπία	Giardia spp., E..histolytica/dispar	(Bekele et al., 2017)
Μεξικό	Cryptosporidium spp., E. nana, G. intestinalis, Cyclospora spp, I.bütschlii, B. hominis	(Morales-Figueroa et al., 2019)

Συνδέοντας την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση των παραπάνω χωρών, τα ευρήματα παρουσιάζονται όπως παρακάτω:

	Χώρα	Ευρήματα
Ανεπτυγμένες χώρες	Δανία	Cryptosporidium hominis
	Καναδάς	Cryptosporidium spp.
	Η.Π.Α	Cryptosporidium spp., Giardia spp
	Ηνωμένο Βασίλειο	Cryptosporidium spp.
	Ιρλανδία	Cryptosporidium spp., Giardia spp
	Νέα Ζηλανδία	Cryptosporidium spp., Giardia spp, D.frangilis
	Αυστραλία	Cryptosporidium spp
	Ισπανία	Cryptosporidium spp
	Νότια Κορέα	Cryptosporidium spp
	Νορβηγία	Cryptosporidium spp
	Βραζιλία	Toxoplasma gondii
	Γαλλική Γουιάνα	Cryptosporidium spp., Giardia spp
	Ινδία	Cryptosporidium spp
	Κόστα Ρίκα	Cryptosporidium spp

Αναπτυσσόμενες χώρες	Περού	Cryptosporidium spp
	Νιγηρία	Cryptosporidium spp. Ancylostoma duodenale, Ascaris lumbricoides
	Αίγυπτος	Cryptosporidium spp
	Ιράν	Giardia spp., Cryptosporidium spp., Ascaris, Toxocara spp, Fasciola, Trichuris, Taenia spp., Entamoeba histolytica
	Εκουαδόρ	Cryptosporidium spp., Giardia spp., Cyclospora cayetanensis, Blastocystis, Endolimax nana και το Entamoeba coli, Entamoeba histolytica/E.dispar, αρθρόποδα
	Μεξικό	Cryptosporidium spp., E. nana, G. intestinalis, Cyclospora spp, I. bütschlii, B. hominis
	Σουδάν	Giardia spp., E. histolytica /dispar, E.coli, Strongyloides stercoralis, αυγά αγκυλοστόματος, T.trichiura ,A. lumbricoides
	Αιθιοπία	Giardia spp., E. histolytica/dispar

Το Cryptosporidium spp. και η Giardia spp φαίνονται να είναι τα μόνα πρωτόζωα που ανιχνεύονται σε φρέσκα λαχανικά στις ανεπτυγμένες και αναπτυσσόμενες χώρες. Αντιθέτως στις αναπτυσσόμενες χώρες στα φρέσκα λαχανικά εντοπίζεται επιπλέον μακροσκοπικά τόσο η ιστολυτική αμοιβάδα (*E.histolytica/dispar*), όσο και αυγά και προνύμφες ελμίνθων, όπως ο *Strongyloides stercoralis*, τα Hookworm (αγκυλοστόματα), ο *Trichuris trichiura* και η *Ascaris lumbricoides*.

Το Cryptosporidium spp. και το Giardia spp. αναζητήθηκαν σε έρευνα και στον ελλαδικό χώρο και συγκεκριμένα στα Ιωάννινα. Στην μελέτη αυτή, συλλέχθηκαν συνολικά 72 δείγματα που αντιπροσωπεύουν 27 διαφορετικές ποικιλίες φρέσκων λαχανικών και φρούτων από σούπερ μάρκετ (n = 31) και ανοιχτές αγορές (n = 41). Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εξέταση εντός 12 ωρών από τη συλλογή χρησιμοποιώντας συμβατικές διαγνωστικές μεθόδους που περιγράφηκαν

προηγουμένως στη βιβλιογραφία. Μια διαδικασία πλύσης που χρησιμοποιεί πόσιμο νερό βρύσης (χλωριωμένο) χρησιμοποιήθηκε για την απομάκρυνση των (oo) κύστεων από την επιφάνεια των τροφίμων. Το νερό που ελήφθη από την αρχική πλύση συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε μέσω φυγοκέντρησης χρησιμοποιώντας τη διαδικασία καθίζησης φορμαλίνης-αιθέρα. Στη συνέχεια, τα συμπυκνωμένα δείγματα υποβλήθηκαν σε τροποποιημένη χρώση με οξύ Kinyoun για την ανίχνευση ωοκύστεων *Cryptosporidium* και χρώση Trichrome για κύστες *Giardia*, με στόχο τον εντοπισμό πιθανών παθογόνων που σχετίζονται με υδατογενείς ασθένειες. Αυτή η ολοκληρωμένη προσέγγιση στόχευε στην αξιολόγηση των επιπέδων μόλυνσης των νωπών προϊόντων με *Cryptosporidium* και *Giardia*, παρέχοντας πληροφορίες για την ασφάλεια των τροφίμων και τους κινδύνους για τη δημόσια υγεία που σχετίζονται με την κατανάλωση ωμών λαχανικών και φρούτων. (Sakkas et al., 2020)

Στην παρούσα εργασία εντοπίστηκαν 3 θετικά δείγματα στα 32, ποσοστό 9.4%. Στα δείγματα βρέθηκαν κύστες *Giardia* spp. Δεν ανιχνεύθηκε κανένα από τα υπόλοιπα προς αναζήτηση πρωτόζωα (*Cryptosporidium* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Toxoplasma gondii*), ούτε παρασιτικά στοιχεία ελμίνθων. Σε κάποια από τα εξεταζόμενα δείγματα παρατηρήθηκαν προνύμφες μη παθογόνων ελμίνθων, καθώς και σπόρια βλαστομυκήτων και μακροκονίδια του υφομύκητα *Fusarium* sp. Το εύρημα είναι απόλυτα συμβατό με την κοινωνικο-οικονομική κατάταξη της Ελλάδας μεταξύ των ανεπτυγμένων χωρών.

Κάτι που έδειξαν επίσης οι ανασκοπήσεις ήταν η συσχέτιση μεταξύ παρουσίας παρασίτων και του είδους των λαχανικών. Αναφέρονται κατά κύριο λόγο τέσσερις κατηγορίες λαχανικών: τα φυλλώδη, τα ριζώδη, τα βολβώδη και τα καρπώδη και σε κάποια φαίνεται να είναι συχνότερος ο εντοπισμός παρασίτων. Έγιναν μελέτες για το *Cryptosporidium* spp και τη την *Giardia lamblia* που έδειξαν τα παρακάτω:

7. Κατηγορία λαχανικών και παρουσία *Cryptosporidium* spp

Λαχανικά	Κατηγορία λαχανικών	Επικράτηση
Κινέζικο λάχανο	Φυλλώδεις	33,3%
Μαρούλι	Φυλλώδεις	5,9%, 0,6%, 100%, 14,5%,48%, 18,1%
Μαρούλι Lollo Rosso	Φυλλώδεις	75%
Μαρούλι Romaine	Φυλλώδεις	77,7%
Λάχανο	Φυλλώδεις	13,6%, 33%, 6%, 14,5%, 16%, 18,1%
Σέλινο	Φυλλώδεις	14,5%
Κόκκινο λάχανο	Φυλλώδεις	13,6%
Λάχανο νάπα	Φυλλώδεις	13,6%
Κόλιανδρος	Φυλλώδεις	6%, 5%, 100%, 14,5%
Ρόκα	Φυλλώδεις	0,17%
Εβλετικό λάχανο (Chard Romaine)	Φυλλώδεις	5,9%
Μαϊντανός	Φυλλώδεις	100%, 14,5%, 18,1%
Σέλινο	Φυλλώδεις	13,6%
Βασιλικός	Φυλλώδεις	14,5%
Σπανάκι	Φυλλώδεις	5,9%, 0,6%, 14,5%, 40%
Γογγύλι	Ριζώδεις	6%
Ραπανάκι	Ριζώδεις	6%, 14,5%
Πράσο	Βοβλώδεις	13,6%, 14,5%, 18,1%
Κρεμμύδι	Βοβλώδεις	18,1%
Πράσινο κρεμμύδι	Βοβλώδεις	0,6%, 14,5%, 18,1%
Αγγούρι	Καρπώδεις	6%
Καρότο	Καρπώδεις	33%, 24%, 18,1%
Ντομάτα	Καρπώδεις	6%, 32%, 18,1%
Πιπεριά	Καρπώδεις	18,1%

(Nasser, 2022j)

8. Κατηγορία λαχανικών και παρουσία *Giardia lamblia*

Λαχανικά	Κατηγορία Λαχανικών	Επικράτηση	Βιβλιογραφία
Ντομάτα	Καρπώδες	1,4%	
Πράσινη πιπεριά	Καρπώδες	8%	
Ραπανάκι	Ριζώδες	8,3%	
Μαρούλι	Φυλλώδες	36,4%	
Φρέσκο κρεμμύδι	Βοβλώδες	13,9%	

(Mohamed et al., 2016b)

Στη παρούσα μελέτη τα λαχανικά που εξετάστηκαν υπάγονταν στις εξής κατηγορίες:

Κατηγορία λαχανικών	Λαχανικά
Φυλλώδη	Σέλινο
	Μαρούλι κοκκινόφυλλο
	Κόλιανδρος
	Αλμύρα
	Γαλλική σαλάτα
	Άνηθος
	Δυόσμος
	Μαϊντανός
	Βλίτα
	Λαχανίδα (Khale)
	Μαρούλι συμβατικό
	Ρόκα
	Αντίδια
	Ιταλικά ραδίκια
	Λάχανο κόκκινο
	Λάχανο συμβατικό
Καρπώδη	Σέσκουλο
	Γλιστρίδα
	Σπανάκι
	Αγγούρι
	Πιπεριά καυτερή
Ριζώδη	Πιπεριά φλωρίνης
	Ντοματίνια
	Πιπεριά πράσινη
	Καρότο
	Παντζάρι
	Ραπανάκι

Βολβώδη	Φινόκιο
	Πράσα
	Φρέσκο κρεμμυδάκι
Ανώριμα άνθη	Κουνουπίδι
	Μπρόκολο

Στην παρούσα μελέτη, εντοπίστηκε *Giardia lamblia* στο σέλινο, το κοκκινόφυλλο μαρούλι και την ρόκα που υπάγονται στην κατηγορία των φυλλωδών λαχανικών. Το εύρημα συνάδει με εκείνα των προηγούμενων μελετών που αναφέρουν ότι τα φυλλώδη πράσινα όπως το λάχανο, το σπανάκι και το μαρούλι παρουσιάζουν σχετικά υψηλότερα επίπεδα μόλυνσης σε σύγκριση με τα ριζώδη λαχανικά όπως τα καρότα και τα αγγούρια.

Η παρούσα εργασία ήταν μια πρόδρομη μελέτη για την δυνατότητα εντοπισμού μόλυνσης από παρασιτικά στοιχεία σε νωπά λαχανικά, που κατά πλειονότητα καταναλώνονταν νωπά. Χρησιμοποιήθηκε μια πρωτότυπη μεθοδολογία ως προς την αρχική έκπλυση και συγκέντρωση των παρασίτων που ήταν συνδυασμός παλαιότερων δημοσιεύσεων και πειραμάτων στο εργαστήριο. Βρέθηκε ότι η μέθοδος αυτή ήταν σε θέση να εκπλύνει και να συγκεντρώσει τα παράσιτα (πρωτόζωα/έλμινθες) που μπορεί να ήταν προσκολλημένα στην επιφάνεια του λαχανικού.

Το ότι βρέθηκε μόνον *Giardia lamblia* είναι αναμενόμενο, δεδομένης με την κοινωνικο-οικονομική κατάταξη της Ελλάδας μεταξύ των ανεπτυγμένων χωρών. Σε αντίθεση όμως με προηγούμενη αντίστοιχη ελληνική μελέτη που είχε γίνει στην Δ. Ελλάδα, δεν βρέθηκαν στην οξεάντοχη χρώση ωοκύστες *Cryptosporidium* spp. Βέβαια τα δείγματα που εξετάστηκαν προέρχονταν όλα από λαϊκές αγορές και πάγκους πολυκαταστημάτων του νομού Αττικής, ήταν λαχανικά ντόπιας παραγωγής, και στη Νότια Ελλάδα, όπως έδειξαν παλαιότερες μελέτες σε νερά και λύματα της περιοχής, η μόλυνση με *Cryptosporidium* spp είναι σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

Τα θετικά με *Giardia lamblia* δείγματα της μελέτης υπάγονταν όλα στην κατηγορία των φυλλωδών λαχανικών. Το εύρημα συνάδει με εκείνα των προηγούμενων μελετών που αναφέρουν ότι τα φυλλώδη παρουσιάζουν σχετικά υψηλότερα επίπεδα μόλυνσης σε σύγκριση με τα ριζώδη, βολβώδη ή καρπώδη, μια που εμφανίζουν μεγαλύτερη επιφάνεια για την προσκόλληση των μολυσματικών στοιχείων των παρασίτων.

Τα θετικά δείγματα προήλθαν δύο από την λαχαναγορά των Άνω Πατησίων (ίδιος προμηθευτής) και ένα από την λαϊκή αγορά της Νέας Ιωνίας. Η πηγή μόλυνσης πιθανόν να είναι στα

αγροκτήματα παραγωγής, είτε με πότισμα με μολυσμένο νερό, είτε με χειρισμό των λαχανικών με χέρια μολυσμένα με παράσιτα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η μόλυνση των νωπών λαχανικών από παρασιτικά στοιχεία, εν προκειμένω πρωτόζωα, μπορεί να αποτελέσει πιθανό κίνδυνο για την υγεία, δεδομένου ότι πρόκειται για τρόφιμα που συνήθως καταναλώνονται ακατέργαστα και ωμά. Τα ευρήματά μας υπογραμμίζουν ότι και σε ανεπτυγμένες χώρες όπως η Ελλάδα, συνεχίζουν να υπάρχουν παράσιτα του εντέρου, που μπορεί να μεταδοθούν μέσω μολυσμένων νωπών λαχανικών που με τη σειρά τους μολύνθηκαν είτε με άμεσο χειρισμό από μολυσμένο άτομο, είτε με πότισμα με μολυσμένο νερό. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει τα λαχανικά να υφίστανται υγιεινή επεξεργασία (καλό πλύσιμο με νερό ή με νερό και ξύδι) πριν τη κατανάλωση στο σπίτι, όπως και αντίστοιχη διαχείριση σε επίπεδο εστιατορίου ή χώρου μαζικής παραγωγής. Επειδή όμως υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για την Ελλάδα σχετικά με τη μόλυνση φρούτων και λαχανικών με πρωτόζωα, προτείνεται περισσότερη έρευνα και μελέτες επιτήρησης για την αξιολόγηση της τυχόν επίπτωσής της στην υγεία του πληθυσμού.

8. Συμπεράσματα

- Η χαμηλή θερμιδική αξία των λαχανικών σε συνδυασμό την με την υψηλή διατροφική αξία τους, βοηθούν στην παρότρυνση κατανάλωσής τους ως συνοδευτικό με κάθε κυρίως γεύμα.
- Τα ωμά λαχανικά μπορεί να είναι πιθανή πηγή βακτηριακών, ιογενών αλλά και παρασιτικών λοιμώξεων που μεταδίδονται κοπρανοστοματικά. Κίνδυνοι μόλυνσης τους υπάρχουν σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής, της συλλογής, της μεταφοράς, της προετοιμασίας και της επεξεργασίας.
- Η πολυπλοκότητα των παραγόντων που επηρεάζουν την παρασιτική μόλυνση υπογραμμίζει τη σημασία της ολοκληρωμένης επιτήρησης και των στρατηγικών μετριασμού για τη διασφάλιση της ασφάλειας στην κατανάλωση φρέσκων λαχανικών.
- Η ολοκληρωμένη επιτήρηση προϋποθέτει επίσης και την σωστή επιλογή μεθόδων αλλά και την προσπάθεια βελτιστοποίησης αυτών για την ακριβή αξιολόγηση των επιπέδων μόλυνσης και των πιθανών κινδύνων για τη δημόσια υγεία. Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από παράγοντες όπως το κόστος, η ευαισθησία και η ειδικότητα, καθώς και το παράσιτο-στόχος.
- Στη παρούσα μελέτη δοκιμάστηκε με επιτυχία μια παραλλαγή των μέχρι τώρα δημοσιευμένων πρωτοκόλλων.
- Σε τρία στα 32 δείγματα βρέθηκαν κύστες *Giardia duodenalis*. Οι κύστες βρέθηκαν στο σέλινο, το κοκκινόφυλλο μαρούλι και την ρόκα που υπάγονται στην κατηγορία των φυλλωδών λαχανικών. Δεν βρέθηκαν κύστες ή ωοκύστες άλλων παθογόνων πρωτοζώων, ούτε αυγά ή προνύμφες παρασιτικών ελμίνθων.
- Τα ευρήματά μας υπογραμμίζουν ότι και σε ανεπτυγμένες χώρες όπως η Ελλάδα, συνεχίζουν να υπάρχουν παράσιτα που μπορεί να μεταδοθούν μέσω μολυσμένων νωπών λαχανικών.
- Πέραν των μεθόδων περιορισμού της μολυσματικότητας των λαχανικών σε επίπεδο εμπορίου, εξίσου σημαντικά κρίνονται και τα μέτρα που λαμβάνει ο εκάστοτε καταναλωτής ή το κάθε νοικοκυριό. Οι πρακτικές σχολαστικής πλύσης των λαχανικών και οι πρακτικές υγιεινής γενικότερα για τη μείωση του κινδύνου παρασιτικής μόλυνσης

στα λαχανικά αποτελεί ένα μέσο ακόμα που συμβάλλει στην διασφάλιση της δημόσιας υγείας.

- Επειδή όμως υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για την Ελλάδα σχετικά με τη μόλυνση φρούτων και λαχανικών με πρωτόζωα, προτείνεται περισσότερη έρευνα και μελέτες επιτήρησης για την αξιολόγηση της τυχόν επίπτωσης της στην υγεία του πληθυσμού.

9. Βιβλιογραφία

1. Adam, R. D. (2021). *Giardia duodenalis*: Biology and Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(4). <https://doi.org/10.1128/cmr.00024-19>
2. Ahmed, S. A., & Karanis, P. (2018). An overview of methods/techniques for the detection of *Cryptosporidium* in food samples. *Parasitology Research*, 117(3), 629–653. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5735-0>
3. Bahramian, B., Afshari, A., Kiani, B., Sani, M. A., & Hashemi, M. (2021). The prevalence of foodborne parasites in raw vegetables in Iran: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(2), 2027–2045. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00714-w>
4. Bekele, F., Tadesse, T., Biresaw, G., & Yohannes, T. (2017). Parasitic contamination of raw vegetables and fruits collected from selected local markets in Arba Minch town, Southern Ethiopia. *Infectious Diseases of Poverty*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40249-016-0226-6>
5. Ethelberg, S., Lisby, M., Vestergaard, L. S., Enemark, H. L., Olsen, K. E. P., Stensvold, C. R., Nielsen, H. V., Porsbo, L. J., Plesner, A., & Mølbak, K. (2009). A foodborne outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection. *Epidemiology and Infection*, 137(3), 348–356. <https://doi.org/10.1017/s0950268808001817>
6. Ma, J., Li, M., Qi, Z., Fu, M., Sun, T., Elsheikha, H. M., & Cong, W. (2022). Waterborne protozoan outbreaks: An update on the global, regional, and national prevalence from 2017 to 2020 and sources of contamination. *Science of the Total Environment*, 806, 150562. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150562>
7. Sakkas, H., Economou, V., Bozidis, P., Gousia, P., Papadopoulou, C., & Karanis, P. (2020). Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in foods of plant origin in North-Western Greece. *Journal of Water and Health*, 18(4), 574–578. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.037>
8. Nasser, A. M. (2022). Transmission of *cryptosporidium* by fresh vegetables. *Journal of Food Protection*, 85(12), 1737–1744. <https://doi.org/10.4315/jfp-22-152>
9. Mohamed, M. A., Siddig, E. E., Elaagip, A., Edris, A. M. M., & Nasr, A. A. (2016). Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state,

- Sudan. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 15(1).
<https://doi.org/10.1186/s12941-016-0133-5>
10. Berrouch, S., Escotte-Binet, S., Harrak, R., Huguenin, A., Flori, P., Favennec, L., Villena, I., & Hafid, J. (2020). Detection methods and prevalence of transmission stages of *Toxoplasma gondii*, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in fresh vegetables: a review. *Parasitology*, 147(5), 516–532. <https://doi.org/10.1017/s0031182020000086>
 11. Bahramian, B., Afshari, A., Kiani, B., Sani, M. A., & Hashemi, M. (2021b). The prevalence of foodborne parasites in raw vegetables in Iran: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 19(2), 2027–2045. <https://doi.org/10.1007/s40201-021-00714-w>
 12. Karshima, S. N. (2018). Parasites of importance for human health on edible fruits and vegetables in Nigeria: a systematic review and meta-analysis of published data. *Pathogens and Global Health*, 112(1), 47–55.
<https://doi.org/10.1080/20477724.2018.1425604>
 13. González, L., Robalino-Flores, X., De La Torre, E., Parra-Mayorga, P., Prato, J. G., Trellis, M., & Fuentes, M. V. (2022). Influence of Environmental Pollution and Living Conditions on Parasite Transmission among Indigenous Ecuadorians. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(11), 6901.
<https://doi.org/10.3390/ijerph19116901>
 14. Morales-Figueroa, G. G., Castro-García, M., Esparza-Romero, J., López-Mata, M., & Quihui-Cota, L. (2019). Human intestinal protozoa in fresh asparagus from different types of markets in northwest Mexico. *Tropical Biomedicine*, 36(3), 718–725.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33597494>
 15. Hernández-Arango, N., Pinto, V. O., Muñoz-Sánchez, D., Lora-Suarez, F., & Gómez-Marín, J. E. (2019). Detection of *Giardia* spp. with formalin/ether concentration in *Brassica oleracea* (cabbage) and *Lactuca sativa* (lettuce). *Heliyon*, 5(8), e02377.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02377>
 16. Ambrozim, F. M., Pezzin, J., Gradella, D. B. T., & De Souza, M. a. A. (2017). Enteroparasites in vegetables marketed in an ancient Brazilian city. *Revista De Salud Publica*, 19(5), 635–640. <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n5.57141>

17. Vassalos, C. M., & Vassalou, E. (2012). Traveller's Diarrhoea and Intestinal Protozoal Diarrhoeal Disease. In *Current Concepts in Colonic Disorders*. IntechOpen.
18. Ebabhi, A., & Adebayo, R. (2022). Nutritional Values of Vegetables. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.101090
19. Elmore, S. A., Jones, J. L., Conrad, P. A., Patton, S., Lindsay, D. S., & Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in Parasitology*, 26(4), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.009>
20. Dubey, J. P., Lindsay, D. S., & Speer, C. A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical microbiology reviews*, 11(2), 267–299. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.267>
21. Chu, K. B., & Quan, F. S. (2021). Advances in *Toxoplasma gondii* Vaccines: Current Strategies and Challenges for Vaccine Development. *Vaccines*, 9(5), 413. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050413>
22. Pinto, D. J., & Vinayak, S. (2021). Cryptosporidium: Host-Parasite interactions and Pathogenesis. *Current Clinical Microbiology Reports*, 8(2), 62–67. <https://doi.org/10.1007/s40588-021-00159-7>
23. Desai, N. T., Sarkar, R., & Kang, G. (2012). Cryptosporidiosis: An under-recognized public health problem. *Tropical parasitology*, 2(2), 91–98. <https://doi.org/10.4103/2229-5070.105173>
24. Dixon, B. R. (2021). *Giardia duodenalis* in humans and animals – Transmission and disease. *Research in Veterinary Science*, 135, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.09.034>
25. Yaeger, R. G. (1996). *Protozoa: structure, classification, growth, and development*. Medical Microbiology - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8325/>
26. Nutrition, C. F. F. S. a. A. (2022, February 17). *What You Need to Know about Foodborne Illnesses*. U.S. Food And Drug Administration. <https://www.fda.gov/food/consumers/what-you-need-know-about-foodborne-illnesses>
27. World Health Organization: WHO. (2019, November 15). *Foodborne diseases*. https://www.who.int/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_1

28. Ma, J., Li, M., Qi, Z., Fu, M., Sun, T., Elsheikha, H. M., & Cong, W. (2022b). Waterborne protozoan outbreaks: An update on the global, regional, and national prevalence from 2017 to 2020 and sources of contamination. *Science of the Total Environment*, 806, 150562. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150562>
29. Nichols, G. (2000). Food-borne protozoa. *British Medical Bulletin*, 56(1), 209–235. <https://doi.org/10.1258/0007142001902905>
30. Κωνσταντινοπούλου Α. (2023). Πρόληψη και διαχείριση παρασιτικών νοσημάτων σε παιδιά και εφήβους (Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία). Ανακτήθηκε από: https://polynoe.lib.uniwa.gr/xmlui/bitstream/handle/11400/5083/Konstantinopoulou_20023.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y
31. Team, H. (2013, January 1). *Λαχανικά: μια διατροφική ασπίδα. . . στο πιάτο σας*. hygeia.gr. <https://www.hygeia.gr/laxanika-mia-diatrofiki-aspida-sto-piatio-sas/>
32. Li, D., Zhang, Y., Li, S., & Zheng, B. (2023). A novel *Toxoplasma gondii* TGGT1_316290 mRNA-LNP vaccine elicits protective immune response against toxoplasmosis in mice. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1145114>
33. Mousavi, P., Mirhendi, H., Mohebbali, M., Shojaei, S., Keshavarz Valian, H., Fallahi, S., & Mamishi, S. (2018). Detection of *Toxoplasma gondii* in Acute and Chronic Phases of Infection in Immunocompromised Patients and Pregnant Women with Real-time PCR Assay Using TaqMan Fluorescent Probe. *Iranian journal of parasitology*, 13(3), 373–381.
34. Maldonado, Y., Read, J. S., Byington, C. L., Barnett, E. D., Davies, H. D., Edwards, K. M., Lynfield, R., Muñoz, F. M., Nolt, D., Nyquist, A. C., Rathore, M. H., Sawyer, M. H., Steinbach, W. J., Tan, T. Q., & Zaoutis, T. E. (2017). Diagnosis, treatment, and prevention of congenital toxoplasmosis in the United States. *Pediatrics*, 139(2). <https://doi.org/10.1542/peds.2016-3860>