

Μικροοργανισμοί και αντιβιοτικά: διασπορά ανθεκτικών βακτηρίων και των αντίστοιχων γονιδίων στο υδάτινο περιβάλλον.

Γεώργιος Νιάρχος, Ιωσηφίνα Γουνάκη, Δανάη Βενιέρη

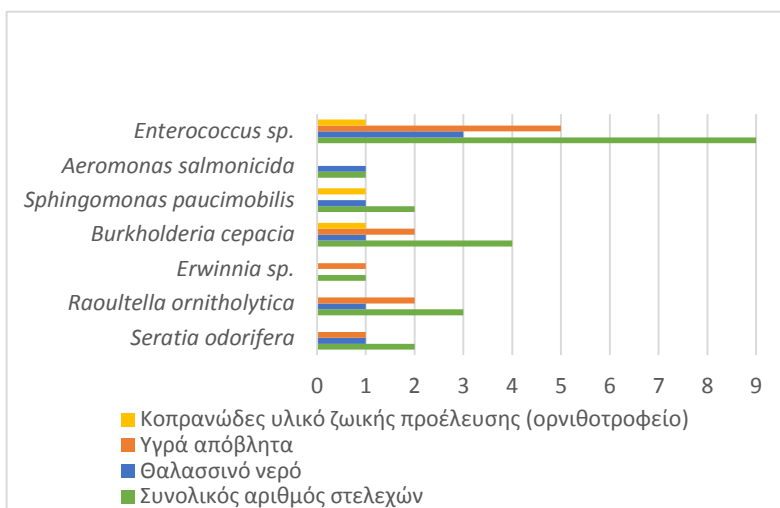
Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Πολυτεχνειούπολη, 73100 Χανιά

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται σταθερή ανάπτυξη της ανησυχίας στην επιστημονική κοινότητα και στο ευρύ κοινό, όσον αφορά στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας βακτηρίων στα αντιβιοτικά. Το πρόβλημα αναδείχθηκε με την εμφάνιση πολυανθεκτικών βακτηρίων, τα οποία πλέον συνιστούν μια νέα μορφή πανδημίας. Συγκεκριμένα, η Ελλάδα συγκαταλέγεται στις ευρωπαϊκές χώρες με τα υψηλότερα επίπεδα μικροβιακής αντοχής, γεγονός που πιθανότατα συνδέεται με την υψηλή κατανάλωση αντιβιοτικών [1].

Υπαρξη γονιδίων ανθεκτικότητας εντοπίζεται όχι μόνο σε κλινικά στελέχη αλλά και σε περιβαλλοντικά, γεγονός που καταδεικνύει την έκταση του προβλήματος. Η περιβαλλοντική διάσταση του προβλήματος αφορά την μεταφορά και την εξάπλωση γονιδίων ανθεκτικότητας μέσω της χρήσης και της μεταφοράς αντιβιοτικών στο περιβάλλον. Οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και τα εκτροφεία ζώων κρίνονται άμεσα επηρεαζόμενοι χώροι από την ανθρωπογενή δραστηριότητα [2].

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν ο έλεγχος της ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά περιβαλλοντικών βακτηριακών στελεχών, καθώς και η απομόνωση και ταυτοποίηση γονιδίων ανθεκτικότητας. Η δειγματοληψία έγινε κατά τους μήνες Μάιο, Ιούνιο και Σεπτέμβριο του 2014, από θαλασσινό νερό, είσοδο και έξοδο δύο εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων και από τα κόπρανα ενός ορνιθοτροφείου, στην ευρύτερη περιοχή των Χανίων. Τα στελέχη που απομονώθηκαν ανήκουν στις

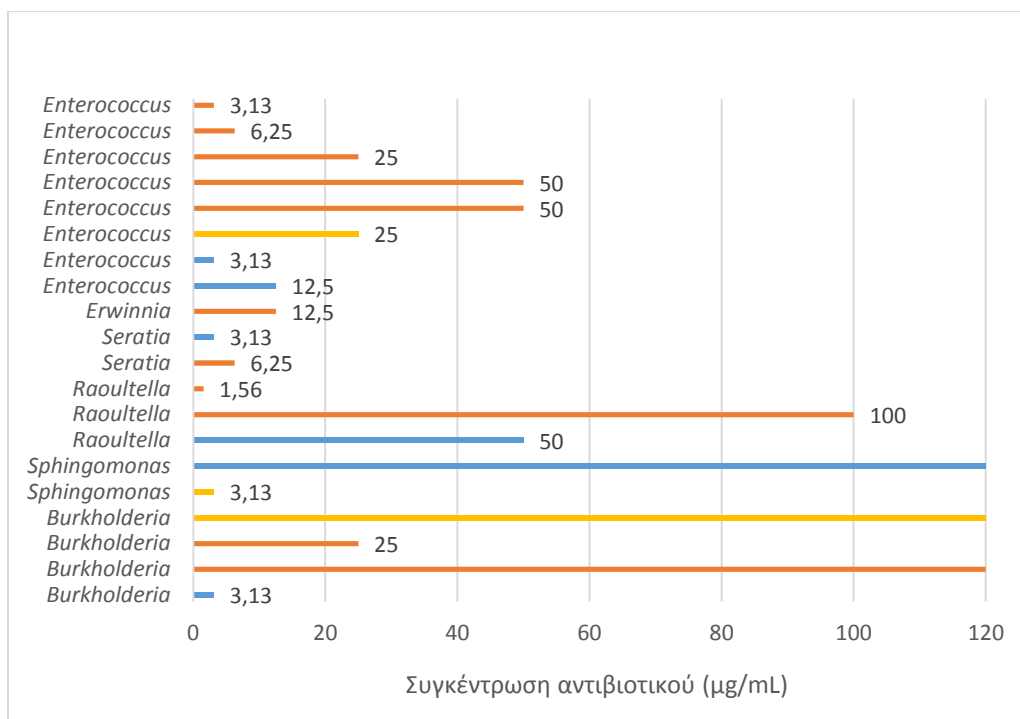
οικογένειες *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* και *Enterococcaceae*. Αναλυτικά, η κατανομή των στελεχών που απομονώθηκαν παρουσιάζεται στην εικόνα 1. Τα αντιβιοτικά που εξετάστηκαν είναι: η *Ampicillin* (Penicillins), η *Cefaclor* (2nd generation Cephalosporine), η *Imipenem* (Carbapenems) και η *Tetracycline*. Η ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών εξετάστηκε βάσει της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (Minimum Inhibitory Concentration – MIC). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε για την χαρτογράφηση της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών είναι η μικρομέθοδος αραιώσεων σε ζωμό (Broth Microdilution



Εικόνα 1: Βακτηριακά στελέχη που απομονώθηκαν από τα περιβαλλοντικά δείγματα.

Method), βάσει πρωτοκόλλου CLSI [4]. Ακολούθησε ανίχνευση των σημαντικότερων γονιδίων ανθεκτικότητας στα απομονωμένα στελέχη.

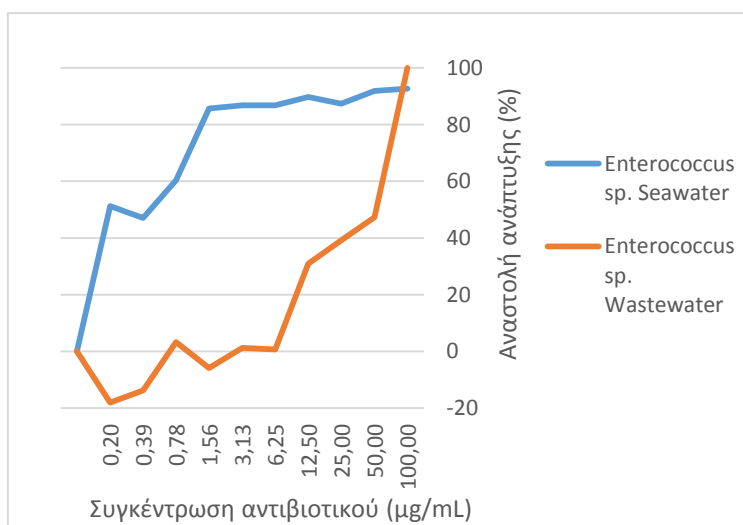
Στην *Ampicillin* εμφανίστηκε μεγάλη ανθεκτικότητα, με μόνο το 18.2 % των στελεχών να παρουσιάζουν ευαισθησία. Η *Tetracycline* αποδείχθηκε αρκετά αποτελεσματική στην αναστολή της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, με μόνο 3 στελέχη Εντερόκοκκων να εμφανίζονται ανθεκτικά. Στην *Imipenem*, όλα τα στελέχη παρουσιάστηκαν ευαίσθητα. Στην *Cefaclor* 3 στελέχη παρουσίασαν ανθεκτικότητα σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις, ενώ 7 στελέχη είχαν υψηλή ανθεκτικότητα, 4 μέτρια και 6 χαμηλή (εικόνα 2).



Εικόνα 2: Τιμές κατώτερης ανασταλτικής συγκέντρωσης για όλα τα εξεταζόμενα στελέχη στο Cefaclor

Σε κάποια είδη παρουσιάστηκε μεγαλύτερη ανθεκτικότητα σε στελέχη που προέρχονταν από βιολογικό καθαρισμό, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην άμεση προέλευση των συγκεκριμένων στελεχών από ανθρώπινη δραστηριότητα (εικόνα 3). Το φαινόμενο αυτό συμφωνεί με την θεωρία της μεταφοράς γονιδίων ανθεκτικότητας από ανθρωπογενείς δραστηριότητες στο περιβάλλον.

Ωστόσο, υπήρξαν και λίγες περιπτώσεις όπου στελέχη θαλασσινού δείγματος είχαν πολύ μεγαλύτερη ανθεκτικότητα από



Εικόνα 3: Ποσοστό αναστολής της ανάπτυξης δύο στελεχών *Enterococcus* sp., κατά την επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων Τετρακυκλίνης

στελέχη προερχόμενα από ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Το φαινόμενο αυτό δείχνει ότι η ανθεκτικότητα μπορεί να εμφανιστεί και εν απουσία αντιβιοτικών ουσιών, καθώς η ανάπτυξη γονιδίων ανθεκτικότητας επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Παρατηρήθηκε τέλος, ότι η ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών δε μεταβάλλεται σημαντικά από την είσοδο μέχρι την έξοδο της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων. Η επεξεργασία λυμάτων δηλαδή, φαίνεται πως δε συντελεί στη μείωση της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών.

Βιβλιογραφία

- [1] European Surveillance of Antimicrobial Consumption Network, ESAC Yearbook 2009.
- [2] Pruden, A., & Arabi, M. (2012). Quantifying Anthropogenic Impacts on Environmental Reservoirs of Antibiotic Resistance.
- [3] P. L. Keen, & M. H. Montforts, Antimicrobial Resistance in the Environment (pp. 173-202). Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – Ninth Edition