



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ**
UNIVERSITY OF PATRAS

**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΑΛΙΕΙΑΣ &
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΠΜΣ « Βιώσιμη Αλιεία, Υδατοκαλλιέργεια »**

Διπλωματική εργασία

ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

ΒΛΑΧΟΠΟΥΛΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

Υπεύθυνος καθηγητής

ΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2019

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την περάτωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω πρώτα απ' όλα, τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Πούλο Κωνσταντίνο για τη συνεχή καθοδήγηση, την αμέριστη υποστήριξη, τις ουσιώδεις συμβουλές, την υπομονή του, καθώς επίσης και την αδιάκοπη συμπαράσταση και ενθάρρυνση που μου παρείχε σε όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Επίσης Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να απευθύνω στο κύριο Λογοθέτη Παναγιώτη για την καθοριστική του βοήθεια, ο οποίος στάθηκε σημαντικός αρωγός στην προσπάθειά μου.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT.....	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΕ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....	11
1.1 Εισαγωγή.....	11
1.2 Αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία στην Υδατοκαλλιέργεια.....	12
1.2.1 Ιστορικό χρήσης.....	12
1.2.2 Μέθοδοι εφαρμογής.....	12
1.2.3 Αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στις Υδατοκαλλιέργειες.....	14
1.2.4 Ανησυχίες σχετικά με την χρήση αντιβακτηριακών στην Υδατοκαλλιέργεια	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ.....	23
2.1 Μηχανισμοί αντίστασης.....	23
2.2 Αντίσταση παθογόνων βακτηριακών ψαριών.....	25
2.3 Αντοχή στους βακτηριακούς παράγοντες που σχετίζονται με την χρήση στην Υδατοκαλλιέργεια.....	27
2.4 Επιλογή ανθεκτικών παραλλαγών στην Υδατοκαλλιέργεια.....	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 - ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ	39
3.1 Εισαγωγή.....	39
3.2 Μέθοδοι Kirby-Bauer ή αντιβιογράμμα.....	40

3.3	Προσδιορισμός Ελάχιστης Ανασταλτικής Συγκέντρωσης ή MIC.....	42
3.4	Έτοιμα Συστήματα Ελέγχου Ευαισθησίας.....	44
3.4.1	Συστήματα δια χειρός E-Test (Ab Biodisk).....	44
3.4.2	Ημιαυτοποιημένα Συστήματα.....	47
3.5	Αυτοματοποιημένα Συστήματα.....	48
3.5.1	Συστήματα Phoenix (BD Diagnostics systems).....	49
3.5.2	Microscan WalkAway Σύστημα (CDade Behring).....	49
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΑ.....	50
4.1	Εισαγωγή.....	50
4.2	Αναισθητικά Φάρμακα.....	51
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	53
5.1	Εισαγωγή.....	53
5.2	Αντιπαρασιτικά Φάρμακα.....	55
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 – ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ Η ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥΣ.....	58
6.1	Νοσήματα ευρύαλων ψαριών οφειλόμενα σε ιούς.....	58
6.2	Νοσήματα ευρύαλων ψαριών οφειλόμενα σε Χλαμύδιες και Ρικέτσες.....	59
6.3	Νοσήματα ευρύαλων ψαριών οφειλόμενα σε Βακτήρια.....	59
6.4	Νοσήματα ευρύαλων ψαριών και οστρακοειδών οφειλόμενα σε παράσιτα.....	60
6.4.1	Εξωπαράσιτα Πρωτόζωα	60
6.4.2	Μονογενή Τριματώδη.....	61
6.4.3	Καρκινοειδή.....	62
6.4.4	Ενδοπαράσιτα Πρωτόζωα.....	62

6.5 Νοσήματα ευρύαλων ψαριών οφειλόμενα σε διατροφικά και μεταβολικά αίτια	
.....	65
6.6 Νοσήματα των ψαριών γλυκών νερών οφειλόμενα σε ιούς.....	65
6.7 Νοσήματα των ψαριών γλυκών νερών οφειλόμενα σε Βακτήρια και Μύκητες	
.....	67
6.7.1 Βακτηριακά Νοσήματα.....	67
6.7.2 Μυκητιακά Νοσήματα.....	67
6.8 Νοσήματα των ψαριών γλυκών νερών οφειλόμενα σε παράσιτα.....	68
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	71

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, επιχειρείται η ανάλυση της χημειοθεραπείας στις υδατοκαλλιέργειες ή ιχθυοκαλλιέργειες. Με σκοπό να αναλυθεί πλήρως το θέμα προέκυψε εκτεταμένη βιβλιογραφική επισκόπηση, σε διάφορες επιστημονικές πηγές και άρθρα, όπως τα Pubmed, Elsevier, Wiley, Springer κλπ. Τα άρθρα που συγκεντρώθηκαν, αξιολογήθηκαν, αναλύθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για την συγγραφή των κεφαλαίων. Στο πρώτο κεφάλαιο πραγματοποιείται ανάλυση της εφαρμογής της χημειοθεραπείας σε σύγχρονες υδατοκαλλιέργειες, και συγκεκριμένα αναφερόμαστε στην αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία αλλά και στην αντίσταση των παθογόνων σε αυτή και σε τρόπους αντιμετώπισής της. Στο τρίτο κεφάλαιο, αναλύονται οι μέθοδοι ελέγχου ευαισθησίας στα αντιβιοτικά, και συγκεκριμένα η μέθοδος Kirby – Bauer ή αντιβιόγραμμα, ο Προσδιορισμός Ελαχίστης Ανασταλτικής Συγκέντρωσης ή MIC, τα Έτοιμα Συστήματα Ελέγχου Ευαισθησίας, το Σύστημα Δια Χειρός: E-Test (Ab Biodisk), τα Ημιαυτοματοποιημένα Συστήματα, το Σύστημα Phoenix (BD Diagnostics Systems) και το Microscan WalkAway σύστημα (Dade Behring). Στο τέταρτο κεφάλαιο βλέπουμε την χρήση των αναισθητικών και κάποια ενδεικτικά αναισθητικά. Στο πέμπτο κεφάλαιο εξηγώ τι γίνεται με τα παράσιτα και ποια αντιπαρασιτικά υπάρχουν. Και τέλος στο έκτο κεφάλαιο αναφέρω παραδείγματα νοσημάτων που εμφανίζονται στις υδατοκαλλιέργειες και οι τρόποι ίασής τους. Ευελπιστώ η παρούσα εργασία, να αποτελέσει χρήσιμο εγχειρίδιο σε μελλοντικούς μελετητές και βάση για περαιτέρω διερεύνηση του θέματος.

Λέξεις κλειδιά: Χημειοθεραπεία, υδατοκαλλιέργεια, ιχθυοκαλλιέργεια, μικροοργανισμοί, φάρμακα

ABSTRACT

In the present thesis, the analysis of chemotherapy in aquaculture or aquaculture is attempted. In order to fully analyze the subject, an extensive bibliographic review was produced, in various scientific sources and articles, such as Pubmed, Elsevier, Wiley, Springer, etc. The articles were collected, evaluated, analyzed and used for writing the chapters.

In the first chapter analyzes the application of chemotherapy to modern aquaculture, specifically referring to antibacterial chemotherapy but also to the resistance of pathogens to it and ways to deal with it. In the third chapter, antibiotic susceptibility testing methods are analyzed, namely the Kirby-Bauer method or antibiogram, Minimum Inhibitory Concentration Determination or MIC, Prepared Sensitivity Control Systems, Handheld System: E-Test (Ab Biod) Semi-automated Systems, the Phoenix System (BD Diagnostics Systems) and the Microscan WalkAway System (Dade Behring). In the fourth chapter we see the use of anesthetics and some indicative anesthetics. In the fifth chapter I explain what happens to pests and what antiparasites exist and finally in the sixth chapter I give examples of diseases that occur in aquaculture and how they are treated.

I hope this thesis will serve as a useful guide for future scholars and a basis for further exploration of the subject.

Keywords: Chemotherapy, aquaculture, aquaculture, micro-organisms, medicines

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιχθυοκαλλιέργεια, γνωστή και ως υδατοκαλλιέργεια, είναι η καλλιέργεια ψαριών, καρκινοειδών, μαλακίων, υδρόβιων φυτών, άλγης και άλλων οργανισμών. Η υδατοκαλλιέργεια περιλαμβάνει την καλλιέργεια πληθυσμών γλυκού νερού και θαλασσινού νερού υπό ελεγχόμενες συνθήκες και μπορεί να αντιπαραβληθεί με την εμπορική αλιεία, η οποία είναι η συγκομιδή άγριων ψαριών. Η θαλάσσια καλλιέργεια αναφέρεται στην υδατοκαλλιέργεια που ασκείται σε θαλάσσια περιβάλλοντα και σε υποβρύχια ενδισαιτήματα (Burka, et al, 1997).

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), η υδατοκαλλιέργεια "σημαίνει την εκτροφή υδρόβιων οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των ψαριών, των μαλακίων, των καρκινοειδών και των υδρόβιων φυτών. Στην γεωργία συνεπάγεται ότι είναι κάποιας μορφής παρέμβασης στη διαδικασία εκτροφής για την ενίσχυση της παραγωγής, της σίτισης, και την προστασία από τα αρπακτικά ζώα . Στην γεωργία συνεπάγεται επίσης η ατομική ή εταιρική ιδιοκτησία του καλλιεργούμενου αποθέματος». Τα αναφερόμενα προϊόντα από τις παγκόσμιες επιχειρήσεις υδατοκαλλιέργειας το 2014 παρείχαν πάνω από το ήμισυ των ψαριών και των οστρακοειδών που καταναλώνονται άμεσα από τον άνθρωπο . Ωστόσο, υπάρχουν ζητήματα σχετικά με την αξιοπιστία των αναφερόμενων αριθμών. Επιπλέον, στην υδατοκαλλιέργεια, χρησιμοποιούνται προϊόντα από διάφορα κιλά άγριων ψαριών για την παραγωγή μίας λίβρας ψαριού όπως ο σολομός (Gudding & Van Muiswinkel, et al, 2013).

Ιδιαίτερα είδη υδατοκαλλιέργειας περιλαμβάνουν την ιχθυοκαλλιέργεια, της γαρίδας, την καλλιέργεια στρειδιών, και την καλλιέργεια διακοσμητικών ψαριών. Ιδιαίτερες μέθοδοι περιλαμβάνουν την υδροπονική και την ολοκληρωμένη πολυτροφική υδατοκαλλιέργεια, οι οποίες ενσωματώνουν την ιχθυοκαλλιέργεια και την υδατοκαλλιέργεια.

Η υδατοκαλλιέργεια είναι μια σημαντική και ταχέως αναπτυσσόμενη βιομηχανία εντατικής παραγωγής θαλασσινών που συμβάλλει στην παγκόσμια προμήθεια ψαριών, καρκινοειδών και μαλακίων. Αυξήθηκε γρηγορότερα από όλους τους άλλους τομείς παραγωγής ζωοτροφών. Η σύγχρονη υδατοκαλλιέργεια απειλείται από τη

μαζική θνησιμότητα λόγω πολλών βακτηριακών και ιογενών λοιμώξεων σε προνύμφες, νεαρά ψάρια και ενήλικα, συγκεκριμένα δονήσεις, φωτοβακτηρίωση, μεταξύ άλλων, καθώς και λόγω έλλειψης ελέγχου της μικροβιοτότητας στα συστήματα εκτροφής (Alderman, et al, 1988).

Για την πρόληψη ασθενειών, αντιβιοτικά η και εμβόλια χορηγούνται στα ψάρια, αλλά η χρήση αντιβιοτικών στα υδρόβια οικοσυστήματα μειώνεται προς το παρόν στο ελάχιστο και τα διαθέσιμα στο εμπόριο εμβόλια εξακολουθούν να είναι πολύ περιορισμένα στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας. Τα εμβολιασμένα ψάρια φαίνεται να αναπτύσσονται και να επιβιώνουν καλύτερα από τα μη εμβολιασμένα αντίστοιχα, ωστόσο η ακριβής φύση της ανοσίας που παρέχεται δεν είναι σαφής. Επιπλέον, ο εμβολιασμός δεν είναι δυνατός στην περίπτωση των προνυμφών ψαριών, οι οποίες είναι γενικά πιο ευάλωτες σε ασθένειες, επειδή είναι πρακτικά ανέφικτο να χειρίζονται αυτά τα μικρά ζώα και επίσης επειδή πιστεύεται ότι οι προνύμφες των ψαριών δεν έχουν την ικανότητα να αναπτύξουν ειδική ανοσία. Από την άλλη πλευρά, η χρήση μεγάλων ποσοτήτων μιας ευρείας ποικιλίας αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων των μη βιοαποικοδομήσιμων, έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευσή τους στο υδάτινο περιβάλλον το οποίο ασκεί επιλεκτική πίεση για μεγάλες χρονικές περιόδους. Αυτή η διαδικασία έχει δημιουργήσει αρκετά προβλήματα: α) την εμφάνιση βακτηρίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά σε περιβάλλον υδατοκαλλιέργειας, β) την αύξηση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στα παθογόνα ψάρια, γ) η μεταφορά αυτών των καθοριστικών παραγόντων αντίστασης σε βακτήρια στα χερσαία ζώα και σε παθογόνους παράγοντες στους ανθρώπους · και δ) σε μεταβολές της βακτηριακής χλωρίδας τόσο σε ιζήματα όσο και στη στήλη ύδατος (Chien, et al, 1999).

Οι εναλλακτικές λύσεις για τα αντιβιοτικά και τα εμβόλια στην πρόληψη των ασθενειών των ψαριών περιλαμβάνουν τη θεραπεία με φάγους, τη χρήση λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας, πολυυδροξυαλκανοϊκών, προβιοτικών, η προσθήκη μικροβίων στο σύστημα ύδατος ως ενίσχυση, όχι ως άμεση πηγή τροφής. Πρόσφατα, η φωτοδυναμική αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία (PACT) αναφέρθηκε ως εναλλακτική τεχνολογία για την απολύμανση μολυσμένων υδάτων από ιχθυοκαλλιέργειες. Αυτή η τεχνολογία συνδυάζει φως, απορροφώντας μόριο φωτός που ονομάζεται φωτοευαισθητοποιητής (PS) η οποία προκαλεί φωτοχημική ή

φωτοφυσική αντίδραση και οξυγόνο. Αυτά τα τρία συστατικά είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (οξυγόνο απλής ή / και ελεύθερης ρίζας) που οδηγούν σε φωτοενεργοποίηση μικροοργανισμών (PI) (Shao, et al, 2001).

Η αποτελεσματικότητα του PACT για την απολύμανση της κατανάλωσης και των λυμάτων, έχει αποδειχθεί με εργαστηριακές δοκιμές που χρησιμοποιούν μικροβιακούς δείκτες μόλυνσης των κοπράνων. Εάν το PACT πρόκειται να εφαρμοστεί στο περιβάλλον, η ηλιακή ακτινοβολία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή φωτός. Επιπλέον, όσον αφορά τις υδατοκαλλιέργειες, έχει αποδειχθεί ότι οι πορφυρίνες που χρησιμοποιούνται ως PS δεν παρουσιάζουν σημαντική τοξικότητα προς υψηλότερους οργανισμούς (όπως τα ψάρια) . Επίσης δεν παρουσιάζουν σημαντική τοξικότητα οι φωτοχημικά δραστικές δόσεις [δηλαδή, στην περιοχή μικρομοριακών συγκεντρώσεων] τα πρόσθετα ή οι φωτοθεραπευτικοί παράγοντες για ορισμένες ανθρώπινες ασθένειες. Ένα άλλο πλεονέκτημα της χρήσης πορφυρινών είναι ότι η υπερβολική συσσώρευση τους στο περιβάλλον είναι απίθανο να συμβεί, λόγω της βαθμιαίας φωτοευαισθητοποίησής τους από το ηλιακό φως. Ωστόσο, η ιδέα είναι η χρήση ηλιακού φωτός και λειτουργικών κατιονικών υβριδίων νανομαγνήτης-πορφυρίνης για την απολύμανση του νερού από τις υδατοκαλλιέργειες. Στο παρελθόν στην επαφή του με τα ψάρια, αποτρέπονταν η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των μικροβιακών κοινοτήτων ή ο πολλαπλασιασμός ευκαιριακών βακτηρίων ή η απρόβλεπτη ανάπτυξη βακτηριδιακών κοινοτήτων. Η ακινητοποίηση της πορφυρίνης επιτρέπει την ανάκτησή της και την επαναχρησιμοποίηση, αποφεύγοντας την κατάποση από τα ψάρια και επίσης την απελευθέρωση στην παροχή νερού (Garrod & O' Grady, et al, 1971).

Παρόλο που έχει αποδειχθεί ότι το PI από τις πορφυρίνες φαίνεται να αποτελεί πολύ χρήσιμο και ευέλικτο εργαλείο για την απολύμανση των μικροβιολογικά μολυσμένων υδάτων, η επίδραση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των υδάτων υδατοκαλλιέργειας στην αποτελεσματικότητα αυτής της τεχνολογίας, καθώς και η χρήση δειγμάτων νερού υδατοκαλλιέργειας για μελέτες μικροβιακής PI, δεν έχουν αναφερθεί ποτέ. Από την άλλη πλευρά, οι περισσότερες από τις μελέτες σχετικά με την επίδραση των φυσικοχημικών παραμέτρων στο PI των κυττάρων είναι κλινικά προσανατολισμένες, και εκείνες που εφαρμόζονται στο περιβάλλον χρησιμοποιούν διαφορετικούς τύπους κυττάρων ή με μεθόδους επεξεργασίας νερού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΕ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

1.1. Εισαγωγή

Οι αλληλεπιδράσεις που οδηγούν σε βακτηριακές ασθένειες στα ψάρια εξαρτώνται από τη διαθεσιμότητα του παθογόνου παράγοντα, την ποιότητα του περιβάλλοντος και τη γενική κατάσταση της υγείας των ψαριών. Η ισορροπία αυτών των συνθηκών μπορεί να εξασφαλίσει την υγεία των ψαριών χωρίς τη χρήση αντιβακτηριακών παραγόντων (Park, et al, 1994).

Η υγεία προωθείται με την εξασφάλιση καλής ποιότητας των υδάτων, τη βελτιστοποίηση της πυκνότητας των ζώων και την παροχή ισορροπημένης διατροφής. Είναι πολύ σημαντικό να εξαλειφθούν εξαιρετικά ειδικά παθογόνα από το απόθεμα και το σύστημα (π.χ. *Renibacterium salmoninarum*) ή, στην περίπτωση των ευκαιριακών παθογόνων να μειωθεί το βακτηριακό φορτίο. Η ανθεκτικότητα σε ασθένειες μπορεί να ενισχυθεί με τη χρήση ειδικών εμβολίων, όπου αυτά είναι διαθέσιμα ή γενικότερα με μη ειδική διέγερση των εγγενών αμυντικών.

Ωστόσο, η υδατοκαλλιέργεια οδηγείται από τις εμπορικές δυνάμεις και η πυκνότητα των ζώων και οι συνθήκες εκτροφής προσαρμόζονται ώστε να μεγιστοποιούν τις αποδόσεις εντός των ορίων του αποδεκτού κινδύνου. Μέσα σε αυτό το σχήμα χρησιμοποιούνται ευρέως αντιβακτηριακοί παράγοντες. Χρησιμοποιούνται τόσο προφυλακτικά, όσο και σε αυξημένο κίνδυνο ασθένειας, και θεραπευτικά, όταν εμφανίζεται ένα κρούσμα ασθένειας στο σύστημα (Gudding & Van Muiswinkel, 2013).

1.2 Αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία στην υδατοκαλλιέργεια

1.2.1. Ιστορικό χρήσης

Η αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία έχει εφαρμοστεί στην υδατοκαλλιέργεια για πάνω από 50 χρόνια, με πρώιμες προσπάθειες να χρησιμοποιηθούν σουλφοναμίδες στη θεραπεία της φουρουλκώδωσης στην πέστροφα και οι τετρακυκλίνες έναντι μιας σειράς Gram-αρνητικών παθογόνων. Ωστόσο, δεν χρησιμοποιήθηκαν γενικά μέχρι τη δεκαετία του 1970, όταν χρησιμοποιήθηκαν τα σουλφοναμίδια, ενισχυμένα με τριμεθοπρίμη. Από τότε, η χρήση τους έχει αυξηθεί, τόσο σε αριθμό όσο και σε ποσότητα, καθώς το πρόβλημα των βακτηριακών νοσημάτων έχει αυξηθεί.

Έχει εξεταστεί το δυναμικό των περισσότερων κτηνιατρικών αντιβιοτικών για χρήση στην υδατοκαλλιέργεια και τώρα οι χώρες διαφέρουν σημαντικά στα φάρμακα που χρησιμοποιούν στα συστήματα υδατοκαλλιέργειας. Περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με τη χρήση τους σε όλες τις ασιατικές χώρες δίνονται από άλλους (Daniel, 2009).

1.2.2 Μέθοδοι εφαρμογής

Η χρήση αντιβιοτικών στην υδατοκαλλιέργεια πραγματοποιείται κατά κύριο λόγο με τρεις μεθόδους χορήγησης, συγκεκριμένα:

- α) στοματική θεραπεία (σε τροφή)
- β) θεραπεία εμβάπτισης (λουτρό, ροή ή έκπλυση) ή
- γ) ένεση (Redshaw, 1995)

Η τοπική θεραπεία, με αλοιφές, σπρέι ή βούρτσα, χρησιμοποιείται επίσης για πολύτιμα μεμονωμένα ψάρια ή αρσενικά, αλλά οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι είναι εκείνες που δίνονται παραπάνω. Συνδυαστική θεραπεία, δηλαδή στοματική και λουτρό, χρησιμοποιείται σε ορισμένες καταστάσεις.

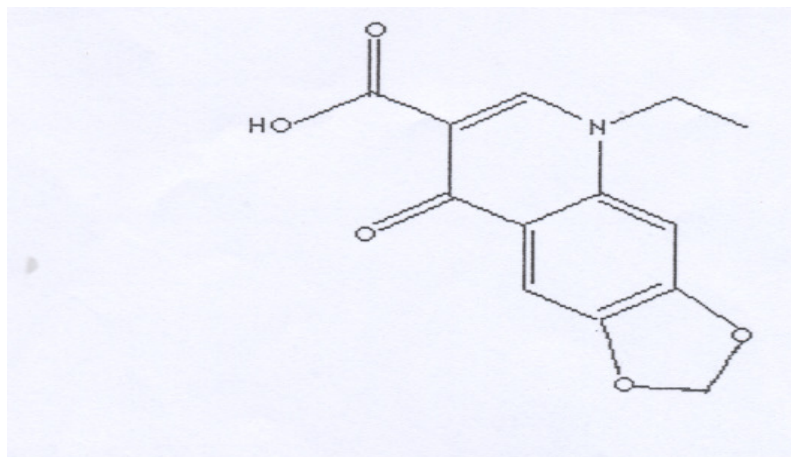
Η φαρμακευτική τροφή συνήθως παρασκευάζεται επί τόπου με ανάμιξη του φαρμάκου με σφαιροποιημένη τροφή και επιφανειακή επικάλυψη με έναν παράγοντα όπως έλαιο, ζελατίνη ή ολόκληρο αυγό, ή απλά ανάμειξη με ψάρια σκουπιδιών. Εναλλακτικά, το φάρμακο μπορεί να ενσωματωθεί από τον μύλο τροφοδοσίας όπου παρασκευάζονται εμπορικές τροφές. Το κύριο πλεονέκτημα της στοματικής θεραπείας είναι ότι δεν καταπονεί τα ψάρια. Τα μειονεκτήματα είναι ότι αυτή η οδός δεν είναι διαθέσιμη όταν τα ψάρια είναι ανορεκτικά, ένα κλινικό σημάδι που συχνά υπάρχει όταν τα ψάρια είναι άρρωστα και επιπλέον η έκπλυση του φαρμάκου από τη ζωοτροφή μπορεί να συμβεί πριν από την κατάποση (Inglis, 2000).

Η θεραπεία εμβάπτισης, που χρησιμοποιείται συνήθως για προβλήματα που αφορούν τα εκτοπαράσιτα, χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά για τη θεραπεία βακτηριακών νοσημάτων. Ωστόσο, τα εκκολαπτήρια γης και τα συστήματα δεξαμενών, ειδικά τα εκκολαπτήρια θαλάσσιων ψαριών, χρησιμοποιούν αντιβιοτικά λουτρά. Αυτά συνήθως διαρκούν 1-2 ώρες, αλλά τα πιο παρατεταμένα λουτρά δεν είναι ασυνήθιστα. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται όταν η βιομάζα είναι μικρή, και όταν η κατάλληλη από του στόματος θεραπεία δεν είναι πρακτική, όπως συμβαίνει και με τις προνύμφες. Ο όγκος του νερού δεξαμενής συνήθως μειώνεται και, συνεπώς, μειώνεται η ποσότητα του απαιτούμενου φαρμάκου. Ωστόσο, η απόρριψη τέτοιων επεξεργασμένων υδάτων αποτελεί περιβαλλοντική απειλή που δεν πρέπει να απορριφθεί.

Η έγχυση αντιβιοτικών, συνήθως με ενδοπεριτοναϊκές ή ενδομυϊκές οδούς, έχει χρησιμοποιηθεί ιστορικά για μεμονωμένα ψάρια ή πολύτιμα φυτά. Πρόσφατα, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για αυτή τη μέθοδο ως αποτελεσματικό μέσο εκκαθάρισης βακτηριακών λοιμώξεων από ιχθύες-φορείς ή σε συνδυασμό με εμβολιασμό για την παροχή προστασίας πριν από την ανοσοαπόκριση (Inglis et al., 1996).

1.2.3 Αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στις υδατοκαλλιέργειες

ΟΞΟΛΙΝΙΚΟ ΟΞΥ



Εικόνα 1.2.3α Χημικός τύπος του Οξολινικού οξέως

Είναι ανθεκτικό αντιβιοτικό που ανήκει στις κινολόνες. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση στην κατανάλωσή του, που οφείλεται στο γεγονός πως κανένας μικροοργανισμός δεν είναι σε θέση να διασπάσει το μόριο του οξολινικού οξέος με αποτέλεσμα να περιορίσει πολλά από τα κλασικά αντιβιοτικά. Ενδείκνυται για την δοθιήνωση των σαλμονιδών, τη δονακίωση των ιχθύων, τη στηλώδη νόσο, τις σηψαιμικές λοιμώξεις του κυπρίνου και για πολλές άλλες.

Χορηγείται στην τροφή 100 mg/kg ιχθύων / 24 ώρες για 10 ημέρες.

Δράση: Το οξολινικό οξύ ανήκει στις κινολόνες, που αποτελούν συνθετικά καρβοξυλικά οξέα. Έχει βακτηριοκτόνο δράση αναστέλλοντας το ένζυμο DNA-γυράση, απαραίτητου για τη σύνθεση των βακτηριακών πυρηνικών οξέων και την αδιάσπαστη περιέλιξη των ελίκων του βακτηριακού DNA. Το οξολινικό οξύ είναι δραστικό εναντίον των λοιμώξεων που οφείλονται σε αρνητικά κατά Gram βακτήρια. Χορηγούμενο από το στόμα μετά από ανάμιξη με την ιχθυοτροφή, φθάνει γρήγορα σε υψηλά επίπεδα στο αίμα και στους ιστούς.

Σκεύασμα: INOXYL 24% premix

Σύνθεση: Το InoxyL 24% premix περιέχει 240g οξολινικού νατρίου ανά 1000g σκευάσματος σε σκόνη.

Ενδείξεις: Ευρέως φάσματος αντιβακτηριακό εναντίον αρνητικών κατά Gram παθογόνων βακτηρίων, π.χ. *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., *Pasteurella* spp., *Yersinia*

spp., Pseudomonas spp., κλπ. κατάλληλο για την θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων των ψαριών εντατικής εκτροφής.

Να προηγείται της χορήγησης έλεγχος ευαισθησίας (αντιβιογράμμα).

Αντενδείξεις, προφυλάξεις: Δεν συνιστάται η ταυτόχρονη χορήγηση οξολινικού οξέος με σκευάσματα που περιέχουν παράγωγα φουρανίων, τετρακυκλινών και σουλφοναμιδών.

Να μη χορηγείται στα ψάρια πέραν των 10 ημερών χωρίς διακοπή.

Τρόποι χορήγησης, δοσολογία: Το Inoxyl 24% premix χορηγείται από το στόμα με την τροφή, είτε μετά από ανάμιξή του σε ιχθυέλαιο και στη συνέχεια με την τροφή, είτε μετά διάλυση σε λίγο νερό και εμβροχή της τροφής και στη συνέχεια ελαφρά επικάλυψη της τροφής με ιχθυέλαιο ως συνδετικού (top coating).

- Συνιστώμενη θεραπευτική δοσολογία στα θαλασσινά ψάρια του δραστικού συστατικού:

60mg/kg βιομάζας/ημέρα (ή **6g/100kg βιομάζας/ημέρα**) συνεχώς επί 7-10 ημέρες

- Αντίστοιχη δοσολογία επί 24% σκόνης premix:

25g/100kg βιομάζας/ημέρα (ή 250g/1000kg βιομάζας/ημέρα) συνεχώς επί 7-10 ημέρες

- Συνιστώμενη ημερήσια δοσολογία Inoxyl 24% premix σε 25 kg τροφής (1 σακί), σύμφωνα με την αναλογία της χορηγούμενης ιχθυοτροφής % της βιομάζας των ψαριών:

Ημερήσιο ποσοστό διατροφής	Βιομάζα ψαριών /25kg τροφής	Inoxyl 24% σκόνη /25kg τροφής
0,5%	5.000 kg	1.250 g
1,0%	2.500 kg	625 g
1,5%	1.670 kg	418 g
2,0%	1.250 kg	313 g

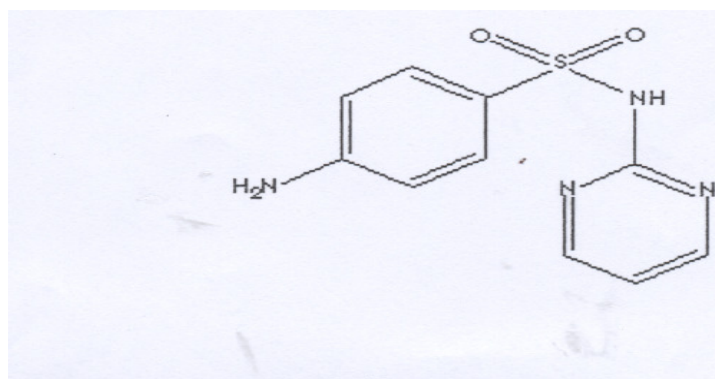
- **Χρόνος αναμονής:** 150 βαθμο-ημέρες (9 ημέρες από την τελευταία χορήγηση, εφόσον η θερμοκρασία του νερού δεν είναι χαμηλότερη από 17° C).

Συντήρηση, συσκευασία:Κυκλοφορεί σε σάκους των 5kg και συντηρείται 36 μήνες σε ξηρό, σκιερό και δροσερό μέρος (μέχρι 25°C)
Να κλείνεται καλά η συσκευασία μετά από κάθε χρήση του προϊόντος.(πτ. Κωλέτση Αθ. – Νικολοπούλου Ασ.)

ΣΟΥΛΦΟΝΑΜΙΔΕΣ

Τα σουλφοναμίδια είναι από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιμικροβιακά και αποτελούν μία ομάδα παραγώγων του σουλφανιλαμιδίου. Ο τρόπος δράσης των σουλφοναμιδίων είναι η παρεμπόδιση σύνθεσης του φολικού οξέος των μικροβίων με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξής τους λόγω της παρόμοιας χημικής δομής τους με το παραμινοβενζοϊκό οξύ. Το φάσμα δράσης τους περιλαμβάνει κυρίως θετικά κατά Gram βακτήρια και δευτερευόντως κάποια αρνητικά Gram βακτήρια.

Η τριμεθοπρίμη ανήκει στην οικογένεια των διαμινοπυριμιδινών με ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα που περιλαμβάνει θετικούς και αρνητικούς κατά Gram μικροοργανισμούς.



Εικόνα 1.2.3β Χημικός τύπος Σουλφαδιαζίνης

Δοσολογία:Χορηγείται στην τροφή 30 mg (25mg σουλφαδιαζίνη + 5 mg τριμεθοπρίμη) / kg ιχθύων / 24 ώρες για 5-10ημέρες. Η σουλφαδιαζίνη (S D Z) είναι το σουλφοναμίδιο που κυρίως χρησιμοποιείται στις ιχθυοκαλλιέργειες για την αντιμετώπιση συστηματικών λοιμώξεων. Σε θερμοκρασίες μικρότερες των 10 °C αφήνει κατάλοιπα για μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 10 °C συνιστάται χρόνος αναμονής 60 ημερών . Άρα,

αν η θερμοκρασία του νερού εκτροφής είναι κάτω των 10 °C απαγορεύεται η χρήση της σε ψάρια που προορίζονται για το εμπόριο. Αντίθετα σε ψάρια μικρότερα του εμπορεύσιμου μεγέθους η χρήση επιτρέπεται ανεξαρτήτως θερμοκρασίας νερού.

Δράση: Η ενισχυμένη αποτελεσματικότητα του συνδυασμού της σουλφοναμίδης (σουλφαδιαζίνη -SDZ) με την διάμινο-πυριμιδίνη (τριμεθοπρίμη -TMP) βασίζεται στον ταυτόχρονο και διαδοχικό αποκλεισμό της βακτηριακής σύνθεσης του φολικού και φολινικού οξέος στη διαδικασία σύνθεσης του DNA των βακτηριακών κυττάρων.

Η τριμεθοπρίμη με τη σουλφαδιαζίνη παρουσιάζουν αμοιβαία συνεργική δράση, αυξάνοντας κατά πολύ το μεμονωμένο αντιμικροβιακό τους αποτέλεσμα. Ο συνδυασμός σουλφαδιαζίνης + τριμεθοπρίμης στην αναλογία 5:1 είναι βακτηριοκτόνος με άριστη θεραπευτική ανταπόκριση.

Μακροχρόνιες παρατηρήσεις και πειράματα in vitro δείχνουν ότι η βακτηριακή αντοχή στην τριμεθοπρίμη και στην σουλφαδιαζίνη αναπτύσσεται βραδύτατα.

Σκευάσματα (SDZ+TMP @ 5:1):

- OPTIPRIME 40% premix - OPTIPRIME 48% oral suspension
- TRIBRISSEN 40% premix - TRIBRISSEN 48% oral suspension

Σύνθεση: Τα προμίγματα (premixes) περιέχουν 6,7g τριμεθοπρίμης και 33,3g σουλφαδιαζίνης σε κάθε 100g σκόνης σκευάσματος.

Τα υγρά εναιωρήματα (oral suspensions) περιέχουν 80mg τριμεθοπρίμης και 400mg σουλφαδιαζίνης σε κάθε 1ml εναιωρήματος.

Ενδείξεις: Κατάλληλα για την θεραπεία πλείστων βακτηριακών λοιμώξεων των ψαριών εντατικής εκτροφής με ευρέως φάσματος αντιβακτηριακή δράση εναντίον θετικών και αρνητικών κατά Gram παθογόνων βακτηρίων.

Να προηγείται της χορήγησης έλεγχος ευαισθησίας (αντιβιογράμμα).

Αντενδείξεις, προφυλάξεις: Η τοξικότητα των σουλφοναμιδών είναι σχετικά μικρή. Σπάνια μπορεί να εμφανισθούν νεφρικές βλάβες ή/και ανοσοκαταστολή, μετά από μακροχρόνια χορήγηση υψηλών δόσεων. Να μη χορηγείται στα ψάρια πέραν των 10 ημερών χωρίς διακοπή.

Τρόποι χορήγησης, δοσολογία: Τα Optiprime/Tribriessen 40% premixes χορηγούνται από το στόμα, μετά από ανάμιξή τους σε ιχθυέλαιο και στη συνέχεια με την ιχθυοτροφή.

Τα Optiprime/Tribriessen 48% oral suspensions χορηγούνται από το στόμα, μετά από ανάμιξή τους με την ιχθυοτροφή (εμποτισμός). Μπορεί να ακολουθήσει επικάλυψη της τροφής με λίγο ιχθυέλαιο.

Συνιστώμενη θεραπευτική δοσολογία στα ψάρια επί των δραστικών συστατικών:

70mg/kg βιομάζας/ημέρα (ή **7g/100kg βιομάζας/ημέρα**) συνεχώς επί 7-10 ημέρες

- Αντίστοιχη δοσολογία επί 40% σκόνης premix:

17,5g/100kg βιομάζας/ημέρα (ή 175g/1000kg βιομάζας/ημέρα) συνεχώς επί 7-10 ημέρες

- Συνιστώμενη ημερήσια δοσολογία Optiprime/Tribriessen 40% premix σε 25 kg τροφής (1 σακί), σύμφωνα με την αναλογία της χορηγούμενης ιχθυοτροφής % της βιομάζας των ψαριών:

Ημερήσιο ποσοστό διατροφής	Βιομάζα ψαριών /25kg τροφής	Premix 40% σκόνη /25kg τροφής
0,5%	5.000 kg	875 g
1,0%	2.500 kg	438 g
1,5%	1.670 kg	298 g
2,0%	1.250 kg	219 g

- Αντίστοιχη δοσολογία επί 48% υγρού εναιωρήματος (oral suspension):

14,6g/100kg βιομάζας/ημέρα (ή 146g/1000kg βιομάζας/ημέρα) συνεχώς επί 7-10 ημέρες

(200ml, δηλ. 1 φιαλίδιο, αντιστοιχεί ημερησίως σε 1370kg βιομάζας

Χρόνος αναμονής: 400 βαθμο-ημέρες (22 ημέρες περίπου από την τελευταία χορήγηση, σε θερμοκρασία νερού 18-20° C).

Συντήρηση, συσκευασία: Τα Optiprime και Tribriessen 40% premixes κυκλοφορούν σε μεταλλικά δοχεία των 5kg και 20kg αντιστοίχως, με εσωτερική πλαστική συσκευασία και συντηρούνται 36 μήνες σε ξηρό, σκιερό και δροσερό μέρος (μέχρι 25°C).

Τα Optiprime και Tribissen 48% oral suspensions κυκλοφορούν σε φιαλίδια των 200ml και συντηρούνται 48 μήνες σε ξηρό, σκιερό και δροσερό μέρος (μέχρι 25°C).

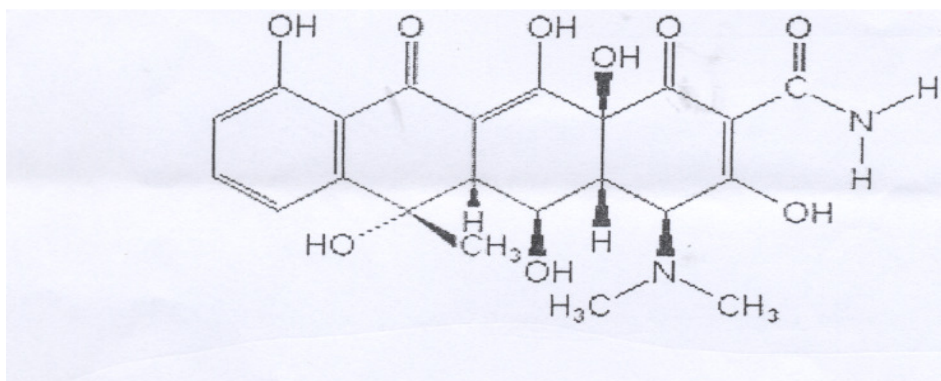


Εικόνα 1.2.3γ Συσκευασίες αντιβιοτικών

Να κλείνονται καλά οι συσκευασίες μετά από κάθε χρήση των προϊόντων. (πτ. Κωλέτση Αθ. – Νικολοπούλου Ασ.)

ΟΞΥΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ

Η οξυτετρακυκλίνη , κίτρινη κρυσταλλική σκόνη, ανήκει στην οικογένεια των τετρακυκλινών, είναι αντιβιοτικό ευρύ φάσματος και χρησιμοποιείται κυρίως στη θεραπεία μολύνσεων που προκαλούνται από στρεπτόκοκκο, σταφυλόκοκκο, Gram αρνητικά βακτήρια και ρικέτσιες. Η οξυτετρακυκλίνη είναι βακτηριοστατικός παράγοντας και όχι βακτηριοκτόνος ενώ είναι αποτελεσματική μόνο ενάντια στους πολλαπλασιαζόμενους μικροοργανισμούς.



Εικόνα 1.2.3δ Χημικός τύπος Οξυτετρακυκλίνης

:Η Δράση οξυτετρακυκλίνης είναι ευρέως φάσματος φυσικός βακτηριοστατικός παράγων. Δρά μέσα στο κυτταρόπλασμα του βακτηριακού κυττάρου και διαταράσσει

την ριβοσωματική λειτουργία αναστέλλοντας την πρωτεϊνοσύνθεση, π.χ. τη σύνθεση ενζύμων των βακτηρίων. Η οξυτετρακυκλίνη είναι δραστική

εναντίον των λοιμώξεων που οφείλονται σε αρνητικά και θετικά κατά Gram βακτήρια, γλαμύδιες και ρικέτσιες.

Σκεύασμα: OXYVET 50% premix

Σύνθεση: Το Oxyvet 50% premix είναι υδατοδιαλυτό φαρμακώχο πρόμιγμα. Περιέχει ανά 1g σκόνης, 500mg Oxytetracycline HCl (463,27mg oxytetracycline base) σε υδατοδιαλυτό φορέα.

Ενδείξεις: Ευρέως φάσματος αντιβακτηριακό εναντίον αρνητικών και θετικών κατά Gram παθογόνων βακτηρίων, π.χ. Aeromonas spp., Vibrio spp., Photobacterium spp., Pasteurella spp., Yersinia spp., Pseudomonas spp., Staphylococcus spp., Micrococcus spp., Enterococcus spp., κλπ. Είναι κατάλληλο για την θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων των ψαριών εντατικής εκτροφής.

Να προηγείται της χορήγησης έλεγχος ευαισθησίας (αντιβιογράμμα).

Αντενδείξεις, προφυλάξεις: Δεν συνιστάται η χορήγηση Oxyvet πριν και μετά τους εμβολιασμούς των ψαριών, δεδομένου ότι η οξυτετρακυκλίνη έχει ανοσοκατασταλτική δράση και αναστέλλει την παραγωγή αντισωμάτων.

Δεν συνιστάται η ταυτόχρονη χορήγηση Oxyvet με σκευάσματα που περιέχουν κινολόνες (οξολινικό οξύ, φλουμεκίνη), παράγωγα φουρανίων, ενισχυμένες σουλφοναμίδες (π.χ. σκευάσματα Tribissen, Optiprime), πενικιλίνες (αμπικιλίνη, αμοξυκιλλίνη).

Να μη χορηγείται στα ψάρια πέραν των 12 ημερών χωρίς διακοπή.

Τρόποι χορήγησης, δοσολογία: Το Oxyvet 50% premix χορηγείται από το στόμα με την τροφή, είτε μετά από ανάμιξή του σε ιχθυέλαιο και στη συνέχεια με την τροφή, είτε μετά διάλυση σε λίγο νερό και εμβροχή της τροφής και στη συνέχεια ελαφρά επικάλυψη της τροφής με ιχθυέλαιο ως συνδετικού (top coating).

- Συνιστώμενη θεραπευτική δοσολογία στα θαλασσινά ψάρια του δραστικού συστατικού:

100mg/kg βιομάζας/ημέρα (ή **10g/100kg βιομάζας/ημέρα**) συνεχώς επί 10 ημέρες

- Αντίστοιχη δοσολογία επί 50% σκόνης premix:

20g/100kg βιομάζας/ημέρα (ή 200g/1000kg βιομάζας/ημέρα) συνεχώς επί 10 ημέρες

- Συνιστώμενη ημερήσια δοσολογία Oxyvet 50% premix σε 25 kg τροφής (1 σακί), σύμφωνα με την αναλογία της χορηγούμενης ιχθυοτροφής % της βιομάζας των ψαριών:
-

Ημερήσιο ποσοστό διατροφής	Βιομάζα ψαριών /25kg τροφής	Oxyvet 50% σκόνη /25kg τροφής
0,5%	5.000 kg	1.000 g
1,0%	2.500 kg	500 g
1,5%	1.670 kg	334 g
2,0%	1.250 kg	250 g

Χρόνος αναμονής:360 βαθμο-ημέρες (21 ημέρες από την τελευταία χορήγηση, εφόσον η θερμοκρασία του νερού δεν είναι χαμηλότερη από 17° C).

Συντήρηση, συσκευασία:Κυκλοφορεί σε κουτιά των 5kg και σάκκους 20kg. Συντηρείται 36 μήνες σε ξηρό, σκιερό και δροσερό μέρος (μέχρι 25°C).

Να κλείνεται καλά η συσκευασία μετά από κάθε χρήση του προϊόντος. (πτ. Κωλέτση Αθ. – Νικολοπούλου Ασ.)

1.2.4 Ανησυχίες σχετικά με τη χρήση αντιβακτηριακών στην υδατοκαλλιέργεια

Η αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία αποτέλεσε ακρογωνιαίο λίθο πάνω στον οποίο έχει οικοδομηθεί η βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας. Στην αναπτυσσόμενη βιομηχανία υπήρξαν πολλά κρούσματα ασθένειας, καθώς τα άγρια είδη φυλάχτηκαν για πρώτη φορά σε αιχμαλωσία και πριν εκτιμηθεί η πλήρης σημασία των περιβαλλοντικών πτυχών του και χωρίς υγειονομικό έλεγχο. Αρχικά, οι εξελίξεις στον τομέα ξεπέρασαν το ρυθμό συγκέντρωσης του συνόλου των επιστημονικών γνώσεων που υποστηρίζουν την εφαρμοσμένη χημειοθεραπεία και η χρήση αντιβιοτικών ήταν απαραίτητη για την πρόληψη της εμπορικής κατάρρευσης πολλών επιχειρήσεων

υδατοκαλλιέργειας. Αρχικά η αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία ήταν εξαιρετικά επιτυχημένη, πιθανώς στο βαθμό που τα φάρμακα στηρίχθηκαν για να αυξήσουν τις αποδόσεις και να αποφύγουν τις πιο δαπανηρές στρατηγικές ελέγχου των ασθενειών. Δυστυχώς, αυτό έχει οδηγήσει σε προβλήματα και η ανησυχία επικεντρώνεται τώρα σε αποτυχίες θεραπείας, περιβαλλοντικές επιπτώσεις και κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία.

Τα αντιβακτηριακά μπορεί να διαταράξουν την ισορροπία της περιβαλλοντικής μικροχλωρίδας και αυτό είναι το αντικείμενο συνεχούς έρευνας . Υπάρχει κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία από τη διαταραχή της γαστρεντερικής χλωρίδας, την επιλογή ανθεκτικών στελεχών και αλλεργιών .

Οι θεραπείες μπορεί να αποτύχουν για διάφορους λόγους, αλλά ίσως η πιο συνεπής και βασική αιτία της αποτυχίας τους είναι η εμφάνιση ανθεκτικών βακτηρίων. Αυτό το έγγραφο θα ασχοληθεί με την αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία και τη σχετική αντίσταση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ

2.1. Μηχανισμοί αντίστασης

Μία βελτιωμένη κατανόηση του τρόπου εμφάνισης αντοχής και επιλογής μεταξύ των βακτηριδίων είναι απαραίτητη για την αξιολόγηση της επίδρασης της χρήσης των αντιβακτηριακών παραγόντων στην υδατοκαλλιέργεια, για τον προσδιορισμό των διαδικασιών υψηλού κινδύνου και για τον σχεδιασμό τρόπων μείωσης αυτών των επιπτώσεων. Τα βακτήρια αποκτούν αντοχή με απόκτηση ξένου DNA ή με τροποποίηση του χρωμοσωμικού DNA. Παραδείγματα και των δύο βρίσκονται μεταξύ βακτηριακών παθογόνων ιχθύων, και αυτά απεικονίζονται καλά σε σχέση με τις τετρακυκλίνες και τις κινολόνες. Μια σύντομη εξέταση αυτών των ενώσεων είναι χρήσιμη για την αποσαφήνιση της αιτιακής σχέσης της χρήσης φαρμάκων και της εμφάνισης αντοχής και για τον σχεδιασμό στρατηγικών παρέμβασης για τη μείωση των αρνητικών επιπτώσεων.

Αντίσταση στην τετρακυκλίνη. Πρώτον, υπάρχουν ενδείξεις ότι εξελικτικά, η προέλευση της αντίστασης στην τετρακυκλίνη είναι απομακρυσμένη. Οι τετρακυκλίνες παράγονται από είδη *Streptomyces* (τα οποία παράγουν πολυάριθμες άλλες ομάδες αντιβιοτικών) που έχουν καθοριστές αντοχής στην τετρακυκλίνη. Μια δημοφιλής θεωρία είναι ότι οι καθοριστικοί παράγοντες αντίστασης προέρχονται από τέτοιους οργανισμούς και στη συνέχεια διαδόθηκαν με μεταφορά μεταξύ των διαφόρων διαδρομών (Chopra 1985). Το αντίσωμα που κωδικοποιεί DNA μπορεί να μεταφερθεί με πλασμίδια, συζευκτικά τρανσποζόνια και βακτηριοφάγους, καθώς και ελεύθερο DNA. Η αντίσταση που προκαλείται από πλασμίδιο μπορεί να συμβεί με υψηλή συχνότητα μεταφοράς. Μπορεί να εκφραστεί με εξωχρωμοσωμική αντιγραφή του πλασμιδίου με επακόλουθες δυνατότητες εξάπλωσης στο είδος ή σε άλλα γένη. ή μπορεί να μεταφερθεί στο χρωμόσωμα όπου ενσωματώνεται. Ιδιαίτερα στην τελευταία περίπτωση, όταν απομακρύνεται η πίεση επιλογής, παραμένει το δυναμικό έκφρασης της αντίστασης.

Έχει προταθεί (Levy 1989) ότι η αντίσταση στην τετρακυκλίνη εξελίσσεται για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα (εκατομμύρια χρόνια), ίσως ως ανταπόκριση στον ανταγωνισμό με οργανισμούς που παράγουν ουσίες τετρακυκλίνης. Η χρήση τετρακυκλινών στην ιατρική και στην κτηνιατρική ήταν σχετικά πρόσφατη, αλλά βρέθηκαν παράγοντες αντοχής πριν από τη χρήση της και από απομακρυσμένες περιοχές.

Αντίσταση στην κινολόνη. Μια μεγάλη ομάδα αντιμικροβιακών παραγόντων που χρησιμοποιούνται στην υδατοκαλλιέργεια, αλλά που παράγεται συνθετικά, είναι οι κινολόνες. Η μεταβιβάσιμη αντίσταση του τύπου που περιγράφηκε δεν έχει ακόμη καταγραφεί (Courvalin 1990). Παρ' όλα αυτά, η ανθεκτικότητα σε αυτούς τους παράγοντες προκύπτει και αυξάνεται ταχέως υπό την πίεση της χρήσης τους. Οι κινολόνες καταστρέφουν τα βακτήρια διακόπτοντας την υπερέκφραση του DNA (Hooper and Wolfson 1989). Οι μηχανισμοί αποκατάστασης DNA μπορούν στη συνέχεια να προκαλέσουν μεταλλάξεις που κωδικοποιούν αντίσταση (Lewin et al, 1990). Τα εργαστηριακά στοιχεία υποδηλώνουν ότι αυτές οι μεταλλάξεις είναι σταθερές. Οι μεταλλάξεις επιβιώνουν καλά και μπορεί να αναπτυχθούν για να παράγουν μια κυρίαρχη υποομάδα. Σε αυτή την περίπτωση, η χρήση του φαρμάκου υπήρξε η αιτία ανάπτυξης ανθεκτικότητας όπου δεν είχε προηγηθεί. Η μακροπρόθεσμη επίδραση στην περιβαλλοντική μικροχλωρίδα δεν είναι γνωστή και οι πλήρεις επιπτώσεις από αυτήν δεν έχουν ακόμη πραγματοποιηθεί.

Έκφραση αντίστασης. Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι η έκφραση αντίστασης επιλέγεται ενάντια στην απουσία του φαρμάκου (Lee και Edlin 1985, Modi et al., 1991). Ο όρος «επιμονή» έχει χρησιμοποιηθεί (Bryan 1989) για να περιγράψει τη μορφή αντίστασης που εκδηλώνεται μόνο με την παρουσία του αντιβιοτικού. Τα "επίμονα" στελέχη ανιχνεύονται μόνο κατά τη διάρκεια και λίγο μετά τη θεραπεία. Στη συνέχεια, υποχωρούν, αλλά παραμένουν στο περιβάλλον μέχρι να εμφανιστούν υπό θετική πίεση επιλογής. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία όταν η ευαισθησία καθορίζεται στην αρχή μιας επιζωοτίας και η εισαγωγή της θεραπείας στην οποία το μολυσματικό στέλεχος γίνεται γρήγορα ανθεκτικό. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί επίσης να επηρεάσει τα ευρήματα με εργαστηριακές συλλογές που έχουν καλλιεργηθεί για κάποιο χρονικό διάστημα *in vitro* πριν προσδιοριστούν οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (Smith et al., 1994).

Η αντίσταση στην τετρακυκλίνη έχει βρεθεί ότι επιβιώνει στη μικροβιακή χλωρίδα των αγροτικών ζώων χρόνια μετά τη διακοπή της χρήσης της τετρακυκλίνης στη ζωοτροφή (Smith 1975). Τέτοια επιμονή εντός ενός οικοσυστήματος υποδηλώνει είτε τη συνεχή παρουσία της τετρακυκλίνης είτε αλλιώς ότι έχει εξασθενήσει το εγγενές επιβλαβές αποτέλεσμα της κωδικοποίησης της αντίστασης.

Η χρήση αντιβακτηριακών παραγόντων μπορεί να οδηγήσει σε μεταλλάξεις στην αντίσταση μεταξύ των βακτηριδίων καθώς και στην επιλογή ανθεκτικών παραλλαγών που υπάρχουν ήδη στο περιβάλλον. Υπό τη θετική πίεση επιλογής της χρήσης φαρμάκων, θα αυξηθεί σε σχετική αναλογία. Όταν το φάρμακο αποσυρθεί, μπορεί να υποχωρήσει, αλλά είναι απίθανο να εξαφανιστεί.

2.2 Αντίσταση παθογόνων βακτηριακών ψαριών

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Η αντίσταση είναι ένας σχετικός όρος που επιτρέπει τη σύγκριση των παραλλαγών μέσα σε ένα στέλεχος ή μεταξύ των ειδών. Προσδιορίζεται για παθογόνα ψάρια, γενικότερα *in vitro*, και η αριθμητική τιμή ενός μεγέθους ζώνης σε δοκιμή διάχυσης δίσκου ή τελικό σημείο σε δοκιμή σειριακής αραιώσης που μεταφράζεται σε ανθεκτικά, μετρίως ανθεκτικά ή ευαίσθητα. Πολλές άλλες μέθοδοι είναι διαθέσιμες και περιλαμβάνουν τη μέτρηση μιας σειράς βακτηριακών δραστηριοτήτων, όπως αλλαγή pH, βιοφωταύγεια, ηλεκτρική αγωγιμότητα ή αντίσταση. Τα αποτελέσματα επηρεάζονται από την εργαστηριακή παραλλαγή στις τεχνικές, αλλά κυρίως από τη μεταβολή των ερμηνειών των αποτελεσμάτων. Με ορισμένα φάρμακα (π.χ., οξυτετρακυκλίνη), πολλές ομάδες βακτηρίων εμφανίζουν μια σαφή δισδιάστατη κατανομή ευαισθησίας και η ταξινόμηση σε ευαίσθητη ή ανθεκτική είναι εύκολη. Προβλήματα προκύπτουν με στελέχη που χαρακτηρίζονται ως ενδιάμεση ευαισθησία, όπως συμβαίνει όταν η αντίσταση αυξάνεται σε μικρά βήματα (Inglis and Richards 1991). Το πρόβλημα των διαφορών στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων δόθηκε σε μια διεργαστηριακή μελέτη που περιλαμβάνει έξι χώρες στην Ευρώπη. Ωστόσο, ενώ θα πρέπει να είναι δυνατόν να ξεπεραστεί αυτή η πηγή σφάλματος σε ένα εργαστήριο ή σε ομάδες συντονισμένων εργαζομένων με τη χρήση τυποποιημένων τεχνικών και να

επιτευχθούν συγκρίσιμα αποτελέσματα και ταξινόμηση της ίδιας ομάδας βακτηρίων, αυτό θα ήταν μόνο ανεπαρκές για να προβλεφθεί κλινική αποτελεσματικότητα. Οι συνθήκες καλλιέργειας πρέπει επίσης να εξεταστούν.

Συνθήκες καλλιέργειας για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας. Το περιβάλλον ενός παθογόνου σε συνθήκες τεχνητής καλλιέργειας και στην κλινική χρήση διαφέρει και ως εκ τούτου οι συγκεντρώσεις που απαιτούνται για την αναστολή ή τη θανάτωση στις δύο περιπτώσεις μπορεί να διαφέρουν. Τα εργαστηριακά μέσα, ειδικά αυτά που έχουν σχεδιαστεί για δοκιμές αντιμικροβιακής ευαισθησίας, δεν προσομοιάζουν *in vivo* συνθήκες. Η βιολογική δραστηριότητα του οξολινικού οξέος και της οξυτετρακυκλίνης μειώνεται παρουσία Mg^{2+} και Ca^{2+} έτσι ώστε η αποτελεσματικότητα αυτών των παραγόντων σε ψάρια σε θαλασσινό νερό είναι πολύ χαμηλότερη από ό, τι στο φρέσκο νερό (Barnes et al., 1995). Η παρουσία ρυθμιστικών διαλυμάτων, η διαθεσιμότητα σιδήρου και η θερμοκρασία επώασης μπορεί να είναι διαφορετικές από την *in vivo* κατάσταση και να έχουν επίδραση επί του αποτελέσματος. Η κατάσταση του βακτηριακού ενοφθαλμισμού, που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο σε τεχνητά μέσα, υποβλήθηκε σε φυγοκέντρηση κλπ., Είναι επίσης διαφορετική από εκείνη *in vivo*.

Κλινική σημασία. Ο προσδιορισμός της ευαισθησίας *in vitro* απαιτείται να είναι αξιόπιστος, όχι μόνο για να επιτρέψει την ανίχνευση αλλαγών της αντοχής, αλλά και για να αποτελέσει καλό δείκτη κλινικής αποτελεσματικότητας. Στην ιατρική, η πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας βασίζεται στην ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC), στη φαρμακοκινητική και στην κλινική εμπειρία. Εάν τα χαμηλότερα MIC ευαίσθητων στελεχών είναι χαμηλά, η πρόβλεψη ενός καλού κλινικού αποτελέσματος μπορεί να γίνει με σημαντική αυτοπεποίθηση. Με την ενδιάμεση αντοχή, η εργαστηριακή πρόβλεψη του αποτελέσματος μιας κλινικής αποτελεσματικότητας είναι λιγότερο αξιόπιστη. Ένας κύριος παράγοντας που επηρεάζει την κλινική έκβαση είναι η συγκέντρωση του αντιβακτηριακού παράγοντα, στην ενεργό του μορφή, που επιτυγχάνεται στο σημείο της μόλυνσης. Αυτό επηρεάζεται περαιτέρω από την τελική μισή ζωή του παράγοντα και την συνολική ποσότητα που υπάρχει κατά τη διάρκεια της περιόδου δΟΣολόγησης. Ενώ πολλές περιοχές στο ζώο μπορούν να μολυνθούν, στην περίπτωση των ψαριών το παράθυρο ευκαιρίας για θεραπεία μπορεί να περιοριστεί στο

προκλινικό στάδιο, όταν είναι ακόμη δυνατή η παροχή αποτελεσματικής δόσης με τροφή.

2.3. Αντοχή στους αντιβακτηριακούς παράγοντες που σχετίζονται με τη χρήση στην υδατοκαλλιέργεια

Συχνότητα χρήσης φαρμάκων και εμφάνιση αντίστασης. Υπάρχει ευρεία ανησυχία ότι η χρήση αντιβακτηριακών παραγόντων στην υδατοκαλλιέργεια οδήγησε στην εμφάνιση και την επιλογή ανθεκτικών βακτηρίων. Σε γενικές γραμμές, συμφωνείται ότι η αντιμικροβιακή αντίσταση συνδέεται με τη συχνότητα χρήσης σε ένα περιβάλλον και υπάρχουν αρκετές μελέτες που το παρουσιάζουν (Hamilton-Miller 1990, Kruse 1994). Στα ζώα παραγωγής τροφίμων που διατηρούνται υπό εντατικές συνθήκες, τα κοινά παθογόνα εμφανίστηκαν με αντίσταση έναντι των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται συνήθως. Έχουν αναφερθεί αυξημένες συχνότητες αντοχής στην πενικιλίνη του *Staphylococcus aureus* προκαλώντας μαστίτιδα στις γαλακτοπαραγωγικές εκμεταλλεύσεις (Prescott and Baggot 1988) και η αντίσταση του *Escherichia coli* από χοίρους σε σουλφοναμίδια, στρεπτομυκίνη και τετρακυκλίνη. Η ανταπόκριση σε αυτές τις βιομηχανίες ήταν η μετάβαση από το ένα φάρμακο στο άλλο καθώς η αντίσταση κατακτά. Στην υδατοκαλλιέργεια, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι συνέβη κάτι παρόμοιο: ότι η αυξημένη χρήση αντιβακτηριακών παραγόντων έχει οδηγήσει σε αύξηση της επίπτωσης της αντίστασης μεταξύ των σχετικών παθογόνων παραγόντων.

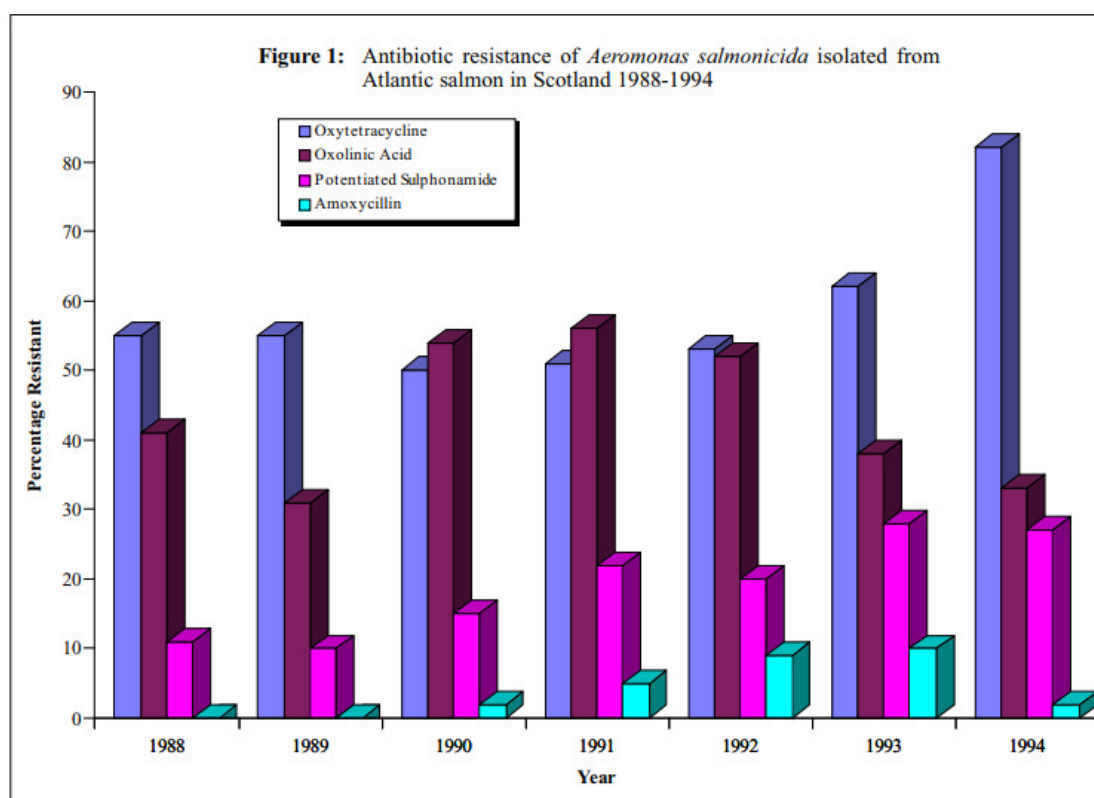
Εμφάνιση αντοχής στα νέα αντιβιοτικά. Μια αιτιώδης σχέση μεταξύ της χρήσης φαρμάκων και της επιλογής ανθεκτικών μεταλλαγμάτων μπορεί να συναχθεί από τις πρώτες αναφορές αντοχής στα φάρμακα που εισήχθησαν πρόσφατα στην υδατοκαλλιέργεια. Το ιστορικό της χρήσης της κινολίνης, του οξολινικού οξέος στην Ευρώπη είναι καλά τεκμηριωμένο. Διαπιστώθηκε ότι ήταν πολύ χρήσιμος στον έλεγχο της φουρουλκώσεως των σαλμονιδών στην Ευρώπη το 1983 (Austin et al., 1983), αν και είχε χρησιμοποιηθεί νωρίτερα στην Ιαπωνία. Αρχικά ήταν πολύ αποτελεσματικό στη θεραπεία της φουρούλκωσης στη Σκωτία, αλλά το 1987

σημειώθηκαν τα πρώτα κρούσματα που απέτυχαν να ανταποκριθούν στη θεραπεία και απομονώθηκαν ανθεκτικά στελέχη (Hastings and McKay 1987). Μέχρι τη δεκαετία του 1990, 40-50% των στελεχών του *Aeromonas salmonicida* στη Σκωτία ήταν ανθεκτικά (Inglis et al, 1991). Ομοίως, η αμοξυκιλλίνη δεν χρησιμοποιήθηκε στην υδατοκαλλιέργεια στο Ηνωμένο Βασίλειο πριν από το 1990. Χρησιμοποιήθηκε νωρίτερα στην Ιαπωνία, όπου αρχικά η θεραπεία της παστεριόλης στο κίτρινο κοκτέιλ ήταν πολύ επιτυχημένη. αλλά η αντίσταση άρχισε να εμφανίζεται το 1982 και είναι πλέον διαδεδομένη. Στο Ηνωμένο Βασίλειο, ωστόσο, τα στελέχη του *A. Salmonicida* που ελήφθησαν μεταξύ 1988-90 ήταν όλα ευαίσθητα (Inglis et al, 1991, Barnes et al, 1994). Ωστόσο, τρία χρόνια μετά την εισαγωγή του φαρμάκου το 1990, οι Inglis et al. (1993α) ανέφεραν ένα ξέσπασμα φουρουλκώσεως από το οποίο απομονώθηκαν ανθεκτικές παραλλαγές.

Έρευνες αντίστασης. Τα δεδομένα της έρευνας για την αξιολόγηση της έκτασης του προβλήματος ή για την αξιολόγηση των στρατηγικών παρέμβασης είναι ανεπαρκή. Επί του παρόντος, δεν είναι δυνατόν να γίνουν άμεσες συγκρίσεις μεταξύ των δημοσιευμένων πληροφοριών σχετικά με την ανθεκτικότητα των βακτηριακών παθογόνων ιχθύων λόγω της έλλειψης τυποποίησης διαδικασιών και συστημάτων για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, η σύνθεση των συνόλων δειγμάτων βακτηρίων που δοκιμάζονται είναι συχνά άσχημα καθορισμένη και υπόκειται σε πολυάριθμες προκαταλήψεις. Στην ιδανική περίπτωση, θα πρέπει να είναι στατιστικά αντιπροσωπευτικά ενός καθορισμένου υδατοσυστήματος, που αντικατοπτρίζει τη γεωγραφική εξάπλωση των περιοχών υδατοκαλλιέργειας και των ειδών ιχθύων που καλλιεργούνται και συλλέγονται με πληροφορίες σχετικά με την τοπική χρήση φαρμάκων. Συχνότερα, το σετ είναι μια συλλογή από ένα διαγνωστικό εργαστήριο όπου παθογόνα που υποβάλλονται σε συχνές αντιμικροβιακές θεραπείες είναι πιθανόν να υπερ εκπροσωπούν και μπορεί να συμπεριληφθούν επαναλαμβανόμενα απομονωμένα στελέχη από τον ίδιο τόπο ή την ίδια εστία. Η συνειδητοποίηση αυτών των πηγών σφαλμάτων μπορεί να βελτιώσει, αλλά όχι να εξαλείψει, προκατάληψη. Άλλα σύνολα δειγμάτων που αναφέρθηκαν φαίνεται να είναι λίγο παραπάνω από τυχαίες συλλογές, μερικές φορές συναρμολογημένες αρχικά για κάποιο άλλο λόγο, όπως ανάλυση αντιγόνου ή φαινοτυπία. Με βάση αυτές τις επιφυλάξεις, τα αρχεία των καθιερωμένων διαγνωστικών εργαστηρίων παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες που δίνουν κάποια εικόνα για τη χρήση αντιβιοτικών και τα πρότυπα αντίστασης στα

αντιβιοτικά για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, π.χ. για την Ελβετία (Meier et al., 1992) και τη Γερμανία (Schlotfeldt 1992).

Έχει διεξαχθεί έρευνα σχετικά με την αντίσταση του *Aeromonas salmonicida*, που απομονώθηκε στη Σκωτία από σολομό Ατλαντικού με φουρουλκίωση, μαζί με την παρακολούθηση των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται στη χώρα αυτή. Τα βακτήρια αυτής της μελέτης προήλθαν από 36 γεωγραφικά χωριστούς χώρους θαλάσσιου ύδατος ή γλυκού νερού που διανέμονται σε όλη τη βιομηχανία εκτροφής σολωμού της Σκωτίας. Μεταξύ του 1988 και του 1992, η αντίσταση στην οξετρακυκλίνη ήταν 50-55%, αλλά πιο πρόσφατα αυξήθηκε σε περισσότερο από 80%. Η αντίσταση στο οξολινικό οξύ ήταν 50% μεταξύ 1990 και 1992, αλλά μειώθηκε τα τελευταία χρόνια. Υπήρξε αργή σταδιακή αύξηση της αντοχής σε ενισχυμένο σουλφοναμίδιο και κάποια αντίσταση στην αμοξικιλίνη, αλλά με πολύ χαμηλή επίπτωση.



Εικόνα 1. Αντιβιοτική αντοχή του *Aeromonas salmonicida* που απομονώθηκε από σολομό Ατλαντικού στη Σκωτία 1988-1994

Από το 1991, οι πρακτικές διαχείρισης στον τομέα της καλλιέργειας σολομού του Ατλαντικού έχουν βελτιωθεί σημαντικά. έχουν εισαχθεί για πρώτη φορά αποτελεσματικά εμβόλια φρουγγουλόζης και τα κρούσματα της νόσου και η χρήση φαρμάκων έχουν μειωθεί σημαντικά. Μείωση των ποσοτήτων φαρμάκων που

χρησιμοποιήθηκαν στη Νορβηγία προηγήθηκε εκείνης της Σκωτίας. Μέχρι το 1993, η μείωση της αντοχής του *A. salmonicida* στην οξυτετρακυκλίνη είχε ήδη καταγραφεί στη Νορβηγία (Høie et al., 1992). Η μείωση της αντοχής του *Vibrio anguillarum* που σχετίζεται με μειωμένη χρήση φαρμάκων είχε προηγουμένως παρατηρηθεί στην Ιαπωνία (Aoki et al., 1985). Αυτό φαίνεται να παρέχει μόνο προσωρινή ανάπαυση, ωστόσο, επειδή τα επίπεδα ανθεκτικότητας έχουν βρεθεί να αυξάνονται και πάλι όταν τα φάρμακα επανεισάγονται στο σύστημα (M. Endo pers. Comm.).

Έχουν γίνει ορισμένες προσπάθειες για να συσχετιστεί η συχνότητα αντίστασης στην έκθεση σε αντιβακτηριακές θεραπείες, αλλά τα διαθέσιμα δεδομένα δεν είναι ικανοποιητικά. Έχει παρατηρηθεί συχνά ότι τα πρότυπα αντίστασης αντικατοπτρίζουν τα πρότυπα χρήσης, αλλά η επιλογή των παραγόντων που δοκιμάζονται συνήθως είναι μια αντανάκλαση των παραγόντων που είναι διαθέσιμοι για χρήση στην περιοχή από την οποία προήλθαν τα δείγματα (Aoki κ.ά., 1981, Takashima et al, 1985).

Για να αξιολογηθεί η σχέση μεταξύ της χρήσης φαρμάκων στην υδατοκαλλιέργεια και της ανάπτυξης αντοχής, είναι σημαντικό τα σύνολα βακτηριδίων που χρησιμοποιούνται να είναι αντιπροσωπευτικές συλλογές και οι έρευνες να επαναλαμβάνονται για να αναλύονται οι τάσεις. Σε μια προσπάθεια να μετρηθεί η σημερινή κατάσταση στη Νοτιοανατολική Ασία, δημιουργήθηκε ένα έργο με συμμετέχοντες από πέντε χώρες της περιοχής. Ο στόχος ήταν να συγκεντρωθεί μια αντιπροσωπευτική συλλογή παθογόνων υδρόβιων βακτηρίων από κάθε χώρα. Αρχικά, αυτό περιοριζόταν στα είδη *Vibrio* και *Aeromonas*. Δείγματα αντλούνται από ένα ευρύ φάσμα εγκαταστάσεων υδατοκαλλιέργειας σε κάθε χώρα και προσδιορίζονται τα αντιβιογράμματα κάθε απομονωμένου προϊόντος. Οι πληροφορίες για τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τη χρήση φαρμάκων συλλέχθηκαν ταυτόχρονα. Η συλλογή και τα αρχεία βακτηρίων φυλάσσονται από το Ινστιτούτο Έρευνας Υγείας Υδρόβιων Ζώων στην Μπανγκόκ (Inglis et al., 1997). Αυτό παρέχει μια βασική γραμμή βάσει της οποίας μπορούν να μετρηθούν οι αλλαγές είτε σε περιφερειακή βάση, οπότε θα χρειαστούν επανειλημμένες έρευνες κάθε 5 ή 10 χρόνια, είτε σε τοπικές μελέτες για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των ελεγχόμενων αποσύρσεων φαρμάκων.

Παρόλο που υπάρχει μια ανεπαρκής βάση δεδομένων για να αποδειχθεί η αιτιώδης επίδραση ή να αξιολογηθούν οι παρεμβάσεις, είναι γενικά αποδεκτό από την κοινότητα των επιστημονικών υδατοκαλλιεργητών ότι υπάρχει ανάγκη τροποποίησης της πρακτικής. Μολονότι δεν μπορεί να υπάρξει δικαιολογία για την καθυστέρηση της δράσης κατά τη συλλογή επιδημιολογικών δεδομένων, είναι χρήσιμο να αναθεωρηθεί η διαθέσιμη πληροφορία και να προσδιοριστεί τι χρειάζεται για να αποδειχθεί και να ποσοτικοποιηθεί η αιτιώδης επίδραση, να προσδιοριστούν οι πρακτικές υψηλού κινδύνου και οι τροποποιήσεις του σχεδιασμού και να επιτραπεί η αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων που πρέπει να αναλυθούν.

2.4 Επιλογή ανθεκτικών παραλλαγών στην υδατοκαλλιέργεια

Προϋποθέσεις προδιαθέσεως. Η αντίσταση προκαλείται ή επιλέγεται από την παρουσία αντιβακτηριακών παραγόντων σε συγκεντρώσεις ανεπαρκείς για την εξόντωση των επεξεργασμένων βακτηρίων και αρχίζουν να συσσωρεύονται στοιχεία που επιτρέπουν τον εντοπισμό των πρακτικών υψηλού κινδύνου στην υδατοκαλλιέργεια.

Είτε με χρωμοσωμική μετάλλαξη, με μεταφορά DNA είτε με επιλογή, η ανάπτυξη των ανθεκτικών παραλλαγών ευνοείται έντονα από παρατεταμένη έκθεση σε υπο-ανασταλτικές συγκεντρώσεις αντιβακτηριακού φαρμάκου. Αυτή η ευκαιρία μπορεί να προκύψει μέσα στα ψάρια, στο νερό ή στα ιζήματα στις λίμνες ψαριών, ή κάτω από τα κλουβιά ψαριών. Τα αντιβακτηριακά μπορούν να φθάσουν στο υδάτινο περιβάλλον και να εναποτεθούν σε ιζήματα ως αποτέλεσμα της έκπλυσης από την τροφή, της ανικανότητας στα ψάρια και της απέκκρισης των ενεργών μεταβολιτών. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε σχέση με τα πανταχού παρόντα παθογόνα. Υπο-ανασταλτικά επίπεδα μπορεί επίσης να εμφανιστούν σε ψάρια, λόγω ανεπαρκούς παροχής δόσης και κατά τη διάρκεια της περιόδου απομάκρυνσης. Η αποτελεσματικότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επαρκή συγκέντρωση του φαρμάκου που φθάνει στη σχετική θέση εντός του ξενιστή. Μικρή δουλειά αυτού του είδους έχει γίνει στα ψάρια. Η γενική παραδοχή είναι ότι απαιτείται ιστική

συγκέντρωση 3-4 φορές του MIC για την εκρίζωση του παθογόνου (Stamm 1989). Δεδομένου ότι το αίμα είναι εύκολο να συλλεχθεί, οι περισσότερες αναφερθείσες μελέτες μετρούν τις συγκεντρώσεις ορού του φαρμάκου. Αυτό μπορεί να είναι ένας καλός δείκτης στις γενικευμένες σηψαιμίες, αλλά είναι λιγότερο χρήσιμο στις εντοπισμένες λοιμώξεις. Στην πραγματικότητα, οι περισσότερες θεραπείες είναι προφυλακτικές. Η θεραπεία αρχίζει συνήθως κατά τα πρώτα σημάδια της νόσου στον πληθυσμό, αλλά ενώ η πλειοψηφία τους παραμένει ανεπηρέαστη και συνεπώς εξακολουθεί να τρώει ενεργά. Σε αυτό το στάδιο η λοίμωξη μπορεί να μην είναι ακόμη συστημική και σε πολλές ασθένειες (π.χ. φρουγγούλωση σε σαλμονίδες), δεν είναι σαφές που είναι η αρχική θέση μόλυνσης και, συνεπώς, ποιος είναι ο σχετικός ιστός για μια ανασταλτική συγκέντρωση φαρμάκου.

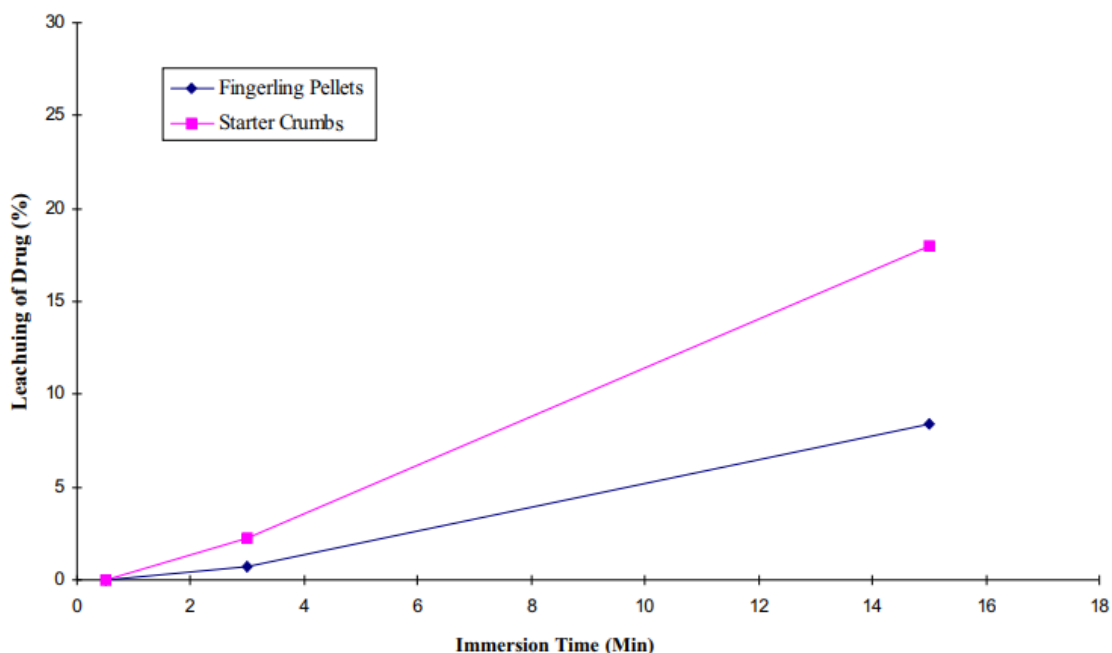
Η διάρκεια για την οποία διατηρούνται οι αποτελεσματικές συγκεντρώσεις είναι κρίσιμη για τον προσδιορισμό του αποτελέσματος. Λίγα είναι γνωστά για τα επίπεδα φαρμάκων που επιτυγχάνονται σε βασικούς ιστούς καθ' όλη τη διάρκεια της θεραπείας ως βάση για τον σχεδιασμό της πιο αποτελεσματικής στρατηγικής δοσολογίας. Χρησιμοποιήθηκαν δύο προσεγγίσεις: φαρμακοκινητικές μελέτες, είτε μετά από χορήγηση μιας δόσης με ενδοφλέβια, ενδομυϊκή, ενδοπεριτοναϊκή ή από του στόματος οδό ή κατά τη διάρκεια και μετά από μια πορεία φαρμακευτικής τροφής. Έχουν βρεθεί διακεκριμένες διαφορές ειδών και αξιοσημείωτη είναι η επίδραση της θερμοκρασίας στην εξάλειψη και μεταβολισμό του φαρμάκου. Αυτές οι μελέτες έχουν δείξει ότι η βιοδιαθεσιμότητα της οξυτετρακυκλίνης είναι πολύ χαμηλή, που είναι 0,38% για τον κυπρίνο και 1,25% για την πέστροφα μετά από μία δόση 60 mg / kg, ενώ οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα 0,65 και 0,37 μg / mL επιτυγχάνονται σε πέστροφα στους 10 ° C και 19 ° C και 0,15 και 0,81 μg / mL σε κυπρίνο στους 8 ° C και 20 ° C αντίστοιχα (Nouws et al., 1992). Πολύ λίγα έχουν γίνει για τη μέτρηση των επιπέδων των φαρμάκων κατά τη διάρκεια της στοματικής θεραπείας. Σε μια μελέτη σχετικά με τις συγκεντρώσεις οξινικού οξέος στον ορρό και τον ήλιο στον σολομό του Ατλαντικού κατά τη διάρκεια και μετά από θεραπεία 10 ημερών με οξολινικό οξύ στα 10 mg / kg, διαπιστώθηκε έως και τετραπλάσια διακύμανση μεταξύ των ατόμων που ελήφθησαν στο ίδιο σημείο δειγματοληψίας. Οι συγκεντρώσεις φαρμάκων ήταν υψηλότερες αμέσως μετά την ολοκλήρωση της 10-d πορείας. τα επίπεδα της μέσης πορείας ήταν παρόμοια με εκείνα μετά την απόσυρση 3 ημερών. Η επίδραση της θερμοκρασίας αποδείχθηκε με σαφήνεια, καθώς τα ψάρια

που είχαν υποβληθεί σε επεξεργασία στους 15 ° C είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις από εκείνα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στους 8 ° C, αλλά τα υπολείμματα επέμεναν περισσότερο σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (αδημοσίευτα αποτελέσματα). Οι επιδράσεις της θερμοκρασίας συζητούνται περαιτέρω αργότερα, ωστόσο, υπάρχει έλλειψη πληροφοριών σχετικά με τις συγκεντρώσεις ιστού που επιτυγχάνονται σε διαφορετικά είδη και τη σχέση μεταξύ της χορηγούμενης δόσης, των σκευασμάτων και των μεταβολών στους πληθυσμούς των ψαριών.

Η κλινική εμπειρία, η οποία προστέθηκε στις μελέτες φαρμακοκινητικής και τα δεδομένα MIC, παρέχουν από κοινού έναν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την έκβαση. Στις περισσότερες περιοχές της υδατοκαλλιέργειας, πληροφορίες και από τις τρεις πηγές δεν είναι διαθέσιμες.

Παράδοση δόσης. Η παροχή αποτελεσματικής δόσης εξαρτάται από την επιλογή ενός φαρμάκου στο οποίο είναι ευαίσθητο το παθογόνο και από ένα σύστημα φαρμακευτικής αγωγής που είναι σε θέση να επιτύχει επίπεδα στα ψάρια, για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, πέρα από το MIC. Με τις ολοένα και καλύτερες υπηρεσίες διαγνωστικών εργαστηρίων που υποστηρίζουν την υδατοκαλλιέργεια, η επιλογή ενός κατάλληλου φαρμάκου είναι απίθανο να αποτελέσει μείζον πρόβλημα, υπό την προϋπόθεση ότι οι εθνικοί κανονισμοί επιτρέπουν επαρκές εύρος επιλογής. Με όλο και αυστηρότερους κανονισμούς για την καταχώρηση φαρμάκων και αυστηρές απαιτήσεις δοκιμών καταλοίπων σε ορισμένες χώρες, αυτό μπορεί να γίνει δύσκολο.

Τα συστήματα παράδοσης αποτελούν σήμερα μια μεγαλύτερη πηγή δυσκολίας. Παρόλο που όλα είναι δυνατά με εμφύσηση, πλύσεις και ενέσεις (Austin και Austin 1993), η μέθοδος επιλογής είναι per os με φάρμακο που συνδέεται με τη ζωοτροφή (Rae 1992). Συνήθως αυτό επιτυγχάνεται με την απλή ανάμιξη του φαρμάκου με την τροφή, συχνά με επικάλυψη, όπως το λάδι, που εφαρμόζεται επίσης. Σε σύγκριση με την επεξεργασία λουτρού, οι ποσότητες του απαιτούμενου φαρμάκου είναι πολύ μικρότερες και οι επιπτώσεις στο περιβάλλον μειώνονται σημαντικά.

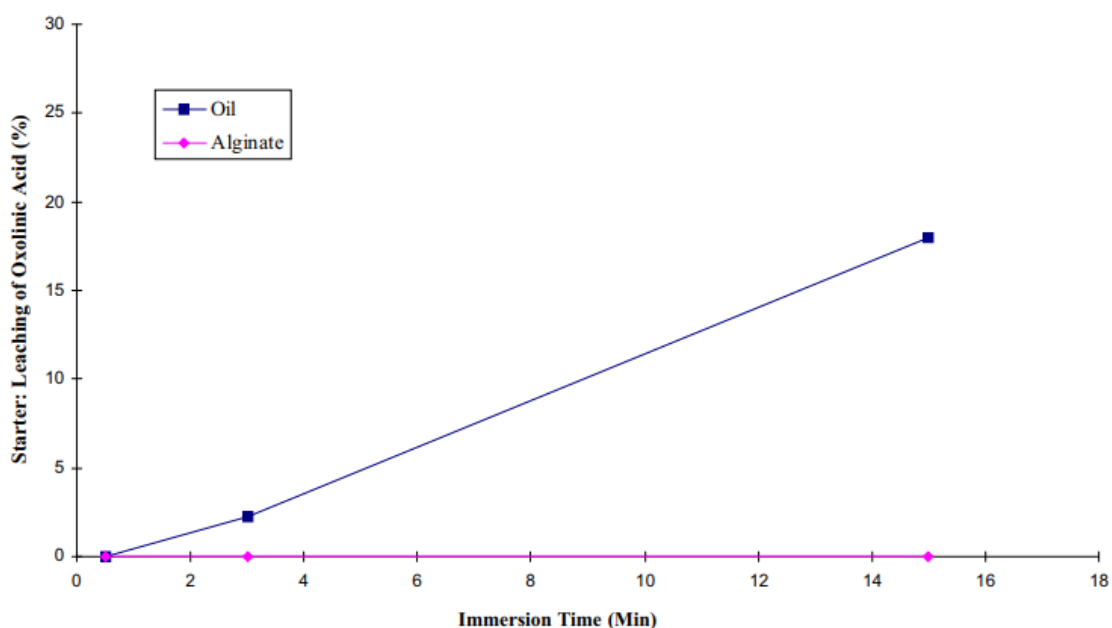


Εικόνα 2.4α Επίδραση του μεγέθους των σφαιριδίων στο ρυθμό έκπλυσης του οξολινικού οξέος

Παρόλα αυτά, με τη χρήση αυτής της μεθόδου, το φάρμακο μπορεί να χαθεί με έκπλυση από το επικαλυμμένο με την επιφάνεια σφαιρίδιο καθώς περνά μέσα από τη στήλη ύδατος. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε είδη όπως οι γαρίδες που τρέφονται αργά (Goldblatt et al., 1980), αλλά είναι σημαντικό για όλες τις ζωοτροφές που παραμένουν στο νερό για ακόμη λίγα λεπτά πριν το φαγητό τους (Fribourgh et al., 1969, Duis et al, 1995α). Ο ρυθμός απόπλυσης εξαρτάται από πολλές μεταβλητές, συμπεριλαμβανομένου του μεγέθους των σωματιδίων τροφίμων, της θερμοκρασίας του νερού και των αναταράξεων. Επίσης, ποικίλλει ανάλογα με τη διαλυτότητα του φαρμάκου. Οι ταχύτητες έκπλυσης του οξολινικού οξέος, της οξυτετρακυκλίνης, της ενισχυμένης σουλφοναμίδης και της αμοξικιλίνης από τα δισκία πέστροφας φαίνονται στο παρακάτω σχήμα. Η επίδραση του μεγέθους των δισκίων παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα, όπου η μεγαλύτερη αναλογία επιφάνειας προς όγκο σε μικρότερους σβώλους οδηγεί σε σχετικά μεγαλύτερη απώλεια φαρμάκου με απόπλυση.

Έχουν προταθεί πιο εξελιγμένα συστήματα παρουσίασης για να μειωθούν αυτές οι απώλειες. Η ενσωμάτωση αντιβιοτικών και χημειοθεραπευτών σε ζωντανούς οργανισμούς τροφίμων έχει προταθεί ως ένας οικονομικός και φιλικός προς το περιβάλλον τρόπος παράδοσης φαρμάκων στην κτηνοτροφία (Cherel and Nin 1992,

Verpraet et al., 1992). Η βιοκαψουλοποίηση στην Αρτέμια έχει επιτευχθεί με ενισχυμένα σουλφοναμίδια και χλωραμφενικόλη (Mohney et al., 1990) και με κινολόνες (Duis et al, 1995b). Παρόλο που υπήρχε μικρή απώλεια φαρμάκων από την Αρτέμια προτού ληφθεί από τα ψάρια, υπήρξε πολύ υψηλό επίπεδο σπατάλης στην προετοιμασία της φαρμακευτικής Αρτέμιας. Αυτή η μέθοδος έχει δυνατότητες μόνο σε εξειδικευμένες καταστάσεις, όπως η επεξεργασία πολύτιμων τηγανιών. Εξετάστηκαν επίσης εναλλακτικοί συνδετικοί παράγοντες για την αντικατάσταση του ελαίου, για παράδειγμα, η αποτελεσματικότητα ενός ευθυγραμμισμένου, συνήθως χρησιμοποιούμενου ως παράγοντα πύκνωσης και πηκτωματοποίησης στη βιομηχανία τροφίμων, διερευνήθηκε αντιβιοτικά επιφανειακού περιβλήματος για την ψύξη σφαιριδίων τροφής (Duis et al, 1995α) . Αυτό ήταν αποτελεσματικό για τη μείωση των απωλειών απόπλυσης έως και 50% ανάλογα με το φάρμακο, σε χρόνο εμβάπτισης 15 λεπτών.



Εικόνα 2.4β Επίδραση του παράγοντα επίστρωσης στο ρυθμό έκπλυσης του οξολινικού οξέος

Μια άλλη αποτελεσματική τροποποίηση η οποία μείωσε τις απώλειες από τη φαρμακευτική τροφή γαρίδας ήταν μια απλή αλλαγή στη χρήση ενός υδατικού διαλύματος οξυτετρακυκλίνης αντί ενός φαρμάκου σε μορφή σκόνης για εφαρμογή στην τροφή (Pearson and Chanratchakool 1993). Ενώ τα επιπρόσθετα βήματα για την προετοιμασία φαρμακώχων ζωοτροφών συχνά απορρίπτονται εκ πρώτης όψεως, επειδή συνεπάγονται κόστος και επιπλέον προσπάθεια, μπορεί να είναι πολύ

αποδοτικά από πλευράς κόστους. Απαιτούνται στενά ελεγχόμενες δοκιμές πεδίου για την ανάπτυξη αυτής της πτυχής.

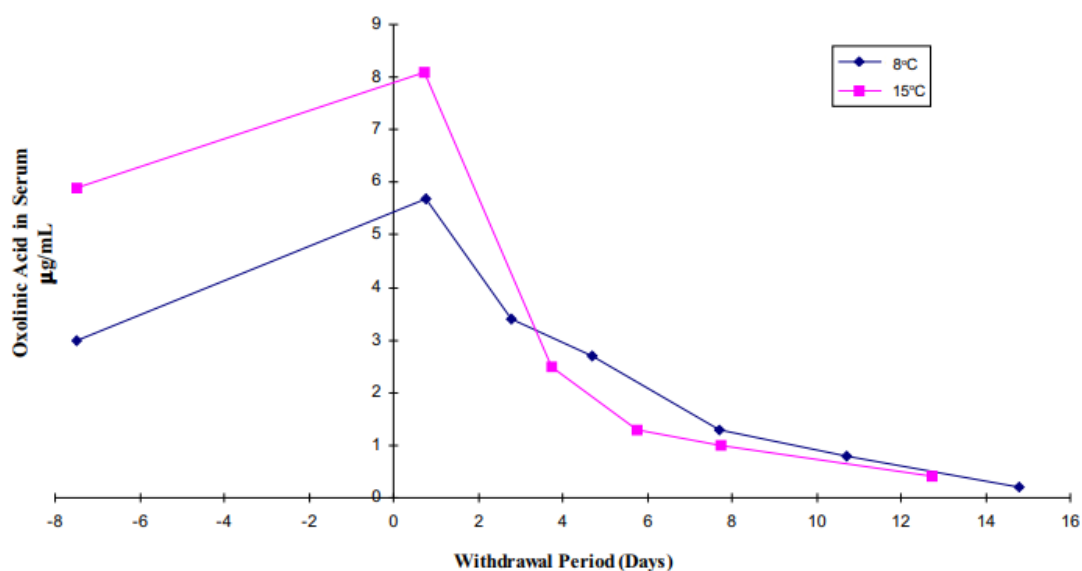
Διατροφή και φαρμακευτική αγωγή. Ένας άλλος παράγοντας στην αποτελεσματική εξάλειψη ενός παθογόνου είναι η ποσότητα φαρμακευτικής τροφής που λαμβάνεται από μεμονωμένα ψάρια. Είναι καλά αποδεκτό ότι οι ρυθμοί τροφοδοσίας διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των μεμονωμένων ψαριών σε έναν πληθυσμό, ακόμη και όταν αυτά αρχικά αντιστοιχίζονται για το μέγεθος (McCarthy et al., 1993). Δημιουργείται μια κοινωνική ιεραρχία, με επιθετικά άτομα που επηρεάζουν τη συμπεριφορά των άλλων. Αυτό έχει σημαντικό αντίκτυπο στην παραλαβή φαρμακευτικών ζωοτροφών. Σε μελέτες για την ευκαμψία των φαρμάκων, παρατηρήσαμε συχνά κυρίαρχα ψάρια τα οποία περιορίζουν τη συμπεριφορά διατροφής των άλλων στην ομάδα και έτσι η δόση του φαρμάκου δεν φτάνει στο άτομο.

Στην αυστηρά ελεγχόμενη δοκιμή που αναφέρθηκε προηγουμένως, υπήρξε μεγάλη διακύμανση της πρόσληψης οξολινικού οξέος μεταξύ υγιών ατόμων. Η ανομοιογένεια της πρόσληψης του φαρμάκου είναι ένας σημαντικός παράγοντας στις θεραπείες πεδίου. Σε μελέτες σχετικά με τη θεραπεία της φρουγγουλόζης στον σολομό του Ατλαντικού με αμοξικιλίνη, υπήρξαν μεγάλες διαφορές μεταξύ των επιπέδων ορού φαρμάκου σε πληθυσμούς ψαριών που λαμβάνουν την ίδια θεραπεία. Υπήρχαν επίσης μεγάλες διαφορές μεταξύ των μελών του ίδιου πληθυσμού (Inglis et al., 1993b). Ένας σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει σε αυτό είναι η κατάσταση υγείας του πληθυσμού. Η ανικανότητα είναι ένα από τα πρώτα κλινικά συμπτώματα της νόσου και εάν η θεραπεία δεν ξεκινήσει πολύ νωρίς σε μια επιζωοτική κατάσταση, η πρόσληψη του φαρμάκου μπορεί να είναι πολύ χαμηλή.

Έκλυση φαρμάκων. Η θερμοκρασία έχει αξιοσημείωτη επίδραση στην εξάλειψη των φαρμάκων από τα ψάρια, η απέκκριση είναι ταχύτερη σε υψηλότερη και όχι σε χαμηλότερη θερμοκρασία, εντός του εύρους ανοχής. Μια ευρέως διαδεδομένη σύμβαση περιγράφει το χρόνο απομάκρυνσης σε ημέρες βαθμού, αυτό είναι το προϊόν της θερμοκρασίας σε βαθμούς Κελσίου και της περιόδου αναμονής σε ημέρες από την διακοπή της θεραπείας. Σε αυτό το εύρος, προτείνεται να επιτραπεί η αύξηση του μεταβολικού ρυθμού κατά 10% για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 1 ° C. Ωστόσο, δεν υπάρχουν διαθέσιμα επαρκή σύνολα δεδομένων για πολλά φάρμακα και είδη ψαριών και ορισμένες μελέτες απλώς δίνουν ρυθμούς εξάλειψης για

συγκεκριμένες περιοχές θερμοκρασιών (π.χ., Jacobsen 1989). Υπάρχουν διαφορές στις περιόδους απομάκρυνσης που απαιτούνται από τα διάφορα είδη. Τα υπολείμματα οξυτετρακυκλίνης απομακρύνθηκαν από ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) σε 348 ημέρες, σε βαθμούς (στους 12 ° C) και από αφρικανικό γατόψαρο (*Clarias gariepinus*) σε 775 ημέρες (στους 25 ° C).

Η απομάκρυνση των διαφόρων αντιβιοτικών από τα ψάρια έχει αναθεωρηθεί από τον Ellis (1991). Συμπερασματικά, τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι η εξάλειψη είναι ταχύτερη σε υψηλότερες θερμοκρασίες, αλλά η σχέση δεν είναι πάντα γραμμική και επιπλέον διαφέρει μεταξύ των ειδών. Εν τούτοις, η απέκκριση μπορεί να είναι πολύ αργή σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και στο παρακάτω σχήμα μπορεί να φανεί ότι στη μελέτη οξολινικού οξέος η απέκκριση ήταν βραδύτερη στη χαμηλότερη θερμοκρασία και ανιχνεύσιμα υπολείμματα φαρμάκου ήταν παρόντα στο αίμα και στο ήπαρ για 10 ημέρες. Η αργή απέκκριση παρέχει την ευκαιρία για επιλογή ανθεκτικών βακτηριδίων μεταξύ της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου και των παθογόνων παραμένων στον ξενιστή. Αυτός είναι ένας πιθανός κίνδυνος στη θερμοκρασία κρύου νερού. Ακόμη και στους 15 ° C, η απέκκριση ήταν πολύ ταχύτερη, υποδηλώνοντας ότι αυτός ο κίνδυνος μπορεί να είναι ελάχιστος μόνο στα συστήματα θερμού νερού.



Εικόνα 2.4γ Υπολείμματα οξολινικού οξέος στους ορούς σολομού Ατλαντικού σε γλυκό νερό, μετά από στοματική αγωγή με 10 µg / kg για 10 ημέρες στους 8 ° C και 15 ° C

Οι αντιβακτηριακοί παράγοντες χρησιμοποιούνται ευρέως στην υδατοκαλλιέργεια και αυτό είναι πιθανόν να παραμείνει στο προσεχές μέλλον. Το καθήκον που

απασχολούν τους επιστήμονες της υδατοκαλλιέργειας είναι να αναπτύξουν και να υποστηρίξουν την εφαρμογή κώδικα ορθής πρακτικής για να εξασφαλίσουν τα μέγιστα οφέλη από άποψη αποτελεσματικότητας και εμπορικού χαρακτήρα, με ελάχιστες περιβαλλοντικές επιπτώσεις και βλάβες στην υγεία.

Η πραγματική χρήση των αντιβακτηριακών παραγόντων επηρεάζεται έντονα από τις εμπορικές δυνάμεις του κόστους και της προσφοράς, τις υπηρεσίες των κτηνιάτρων και των διαγνωστικών εργαστηρίων, τις διαθέσιμες οδηγίες για την ορθή διαδικασία και την τοπική πρακτική. Η συμφωνία και η υιοθέτηση ενός προγράμματος για την αντιβακτηριακή χημειοθεραπεία στην υδατοκαλλιέργεια πρέπει να επιτευχθεί μετά από ευρεία συζήτηση και διαπραγμάτευση για κάθε χώρα στην περιοχή της Ασίας. Τα ακόλουθα υπογραμμίζουν τα σημεία που πρέπει να συμπεριληφθούν σε αυτή τη συζήτηση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.- ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

3.1 Εισαγωγή

Η αύξηση της χρήσης αντιβιοτικών στις Ελληνικές υδατοκαλλιέργειες οδηγεί στην ανάπτυξη πολλών προβληματισμών . Επειδή τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στις μονάδες δεν είναι πάντα τα εγκεκριμένα και ο τρόπος χορήγησής τους δεν είναι ο ορθότερος, προκύπτουν πολλά προβλήματα. Οι προϋποθέσεις για την χορήγηση άδειας χρήσης ενός αντιβιοτικού στις υδατοκαλλιέργειες αφορούν τρεις καίριες κατευθύνσεις: Αρχικά το αντιβιοτικό θα πρέπει να είναι αποδεδειγμένα ασφαλές για τα εκτρεφόμενα ψάρια, τους υδρόβιους οργανισμούς και τον άγριο ιχθυοπληθυσμό και θα πρέπει να μην προκαλεί τοξικές ή αλλεργικές αντιδράσεις παρασκευαστή του μίγματος. Η δεύτερη κατεύθυνση αφορά την ποιότητα του σκευάσματος το οποίο θα πρέπει να είναι σταθερό σε συνήθεις συνθήκες αποθήκευσης αλλά και από παρτίδα σε παρτίδα. Το αντιβιοτικό επίσης θα πρέπει να έχει συγκεκριμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μορφή που να το κάνουν γευστικό για τα ψάρια. Η Τρίτη κατεύθυνση αφορά την αποτελεσματικότητα ενός αντιβιοτικού το οποίο θα πρέπει να έχει ειδικό τρόπο δράσης ενάντια στα βακτήρια, υψηλό βαθμό βιοδιαθεσιμότητας και να μην είναι εύκολη η ανάπτυξη ανθεκτικότητας από βακτηριακά στελέχη. Η μελέτη των επιπέδων του αντιβιοτικού που επιτυγχάνονται στους ιστούς των ψαριών έχει εξαιρετική σημασία για την κατανόηση των μηχανισμών που επιδρούν αλλά και χάραξη αποτελεσμάτων θεραπευτικών σχημάτων. Σημαντικό επίσης είναι το ενδιαφέρον για την τύχη του αντιβιοτικού στους ιστούς των ψαριών, από την πλευρά της διασφάλισης της υγείας και της προστασίας του καταναλωτή. Ένα αντιβιοτικό για να χαρακτηριστεί ως ιδανικό πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

Να απορροφάτε γρήγορα και σε υψηλό ποσοστό

Να κατανέμετε στους ιστούς

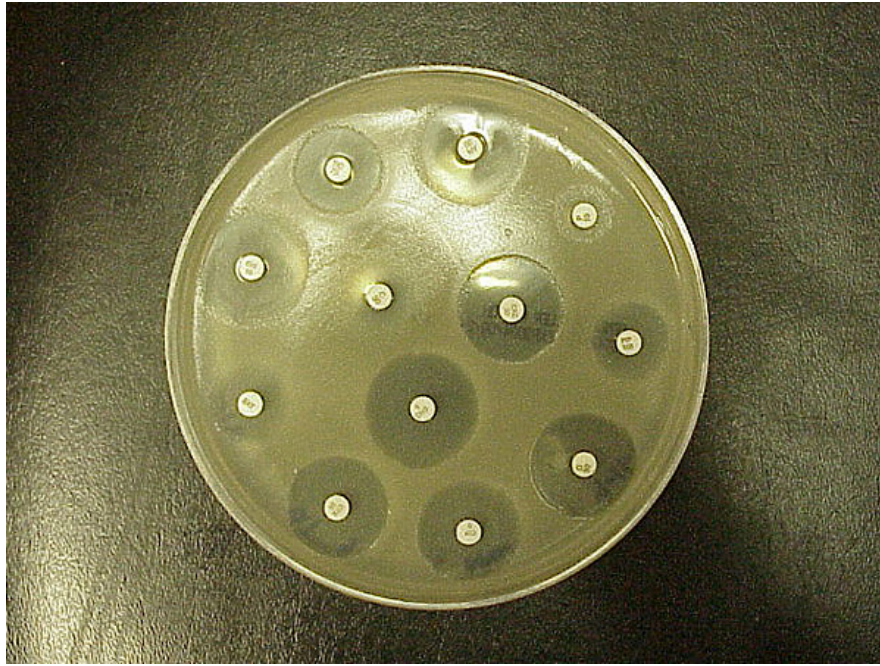
Να έχει μικρό χρόνο ημιζωής

Να μην προκαλεί ανθεκτικότητα στα βακτήρια Η ιδανική δόση ώστε να μην υπάρχει κίνδυνος πρέπει να καθορίζετε με βάση τους παράγοντες που αφορούν αφενός το αντιβιοτικό και την κινητική του και αφετέρου τον πληθυσμό των ψαριών στα οποία θα χορηγηθεί. Οι φαρμακολογικοί παράγοντες είναι: η καθαρότητα, ο βαθμός

απορρόφησης, η βιοδιαθεσιμότητα, ο βαθμός σύνδεσης με τις πρωτεΐνες του αίματος και ο προσανατολισμός του σε συγκεκριμένους ιστούς. Οι παράγοντες που αφορούν τα ψάρια είναι : το είδος, η ηλικία, το φύλο, η γεννητική ωριμότητα, το βάρος, η διατροφή και η τυχόν λήψη άλλων φαρμάκων.

3.2 Μέθοδος Kirby-Bauer ή Αντιβιογράμμα

Ένα πραγματικό αντιβιοτικό είναι ένα αντιμικροβιακό χημικό που παράγεται από μικροοργανισμούς έναντι άλλων μικροοργανισμών. Η ανθρωπότητα έχει κάνει πολύ καλή χρήση αυτών των αντιμικροβιακών στην καταπολέμησή των μολυσματικών ασθενειών. Πολλά φάρμακα είναι πλέον εντελώς συνθετικά ή το φυσικό φάρμακο τροποποιείται με τρόπο τέτοιο ώστε να αλλάξει κάπως τη δομή του και ονομάζεται ημισυνθετικό. Τα βακτήρια αποκρίνονται με διαφορετικούς τρόπους στα αντιβιοτικά και στα χημειοσυνθετικά φάρμακα, ακόμη και στο ίδιο είδος. Για παράδειγμα, ο *Staphylococcus aureus* είναι ένα κοινό φυσιολογικό βακτήριο χλωρίδας που βρίσκεται στο σώμα. Εάν απομονώσουμε αυτό το βακτήριο από 5 διαφορετικούς ανθρώπους, τα 5 προϊόντα απομόνωσης θα είναι πιθανώς διαφορετικά στελέχη, δηλαδή ελαφρώς διαφορετικά γενετικά. Είναι επίσης πιθανό ότι εάν πραγματοποιηθούν δοκιμές αντιβιοτικής ευαισθησίας σε αυτά τα προϊόντα απομόνωσης, τα αποτελέσματα να διαφέρουν ανάλογα με τα διαφορετικά χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά (Garrod & O' Grady, 1971).



Εικόνα 3.2. Δοκιμή Kirby-Bauer για τη μέτρηση της ευαισθησίας των αντιβιοτικών

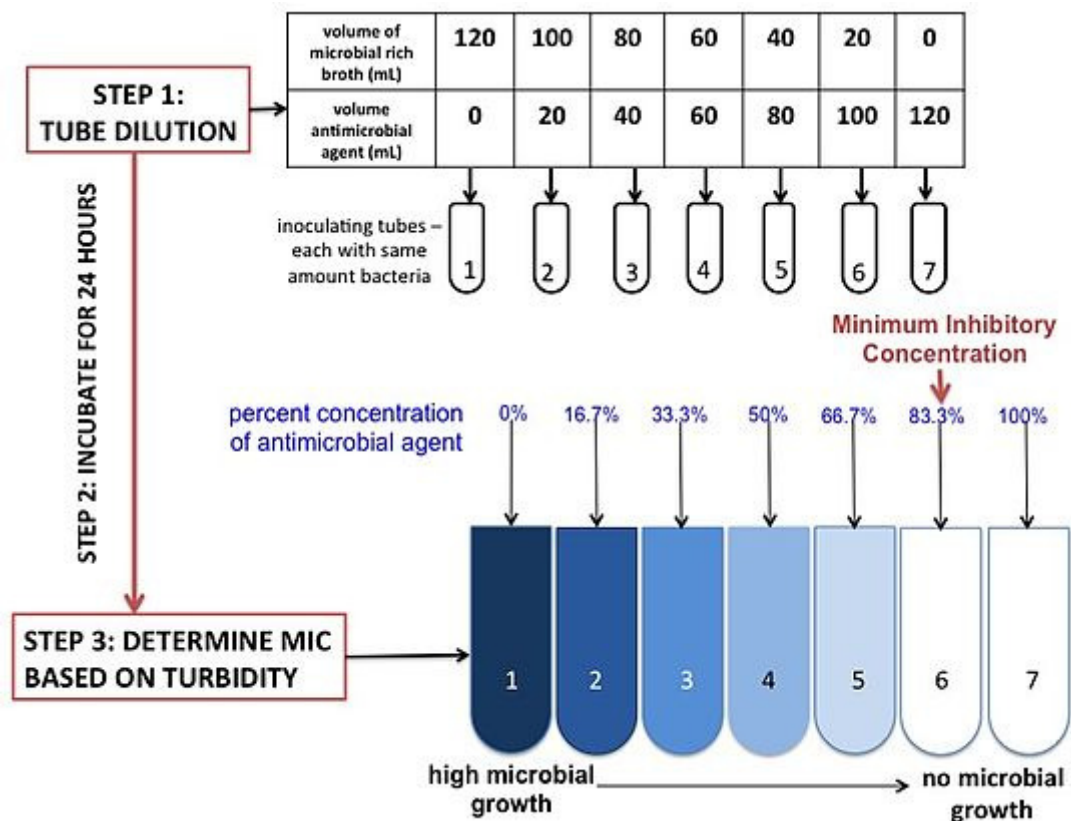
Η μέθοδος Kirby-Bauer για ευαισθησία στα αντιβιοτικά (που ονομάζεται επίσης δοκιμή διάχυσης δίσκου) είναι ένα πρότυπο που έχει χρησιμοποιηθεί εδώ και χρόνια. Αρχικά αναπτύχθηκε στη δεκαετία του 1950, εξευγενίστηκε από τους W. Kirby και A. Bauer, και στη συνέχεια τυποποιήθηκε από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας το 1961. Έχει αντικατασταθεί σε κλινικά εργαστήρια με αυτοματοποιημένες δοκιμές. Ωστόσο, το τεστ K-B εξακολουθεί να χρησιμοποιείται σε ορισμένα εργαστήρια, ή χρησιμοποιείται με ορισμένα βακτήρια με τα οποία ο αυτοματισμός δεν λειτουργεί καλά. Αυτή η δοκιμασία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αντοχής ή της ευαισθησίας αερόβιων ή προαιρετικά αναερόβιων βακτηρίων σε συγκεκριμένα χημικά, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τον κλινικό ιατρό για τη θεραπεία ασθενών με βακτηριακές λοιμώξεις. Η παρουσία ή η απουσία μιας ανασταλτικής περιοχής γύρω από τον δίσκο ταυτοποιεί την βακτηριακή ευαισθησία στο φάρμακο (Roth, et al, 1993).

Το βακτήριο επαλείφεται στο άγαρ και οι δίσκοι αντιβιοτικών τοποθετούνται στην κορυφή. Το αντιβιοτικό διαχέεται από το δίσκο στο άγαρ σε μειούμενες ποσότητες όσο πιο μακριά είναι από το δίσκο. Εάν ο οργανισμός θανατωθεί ή ανασταλεί από τη συγκέντρωση του αντιβιοτικού, δεν θα υπάρξει ανάπτυξη στην άμεση περιοχή γύρω από τον δίσκο. Αυτό ονομάζεται ζώνη αναστολής. Τα μεγέθη ζωνών εξετάζονται σε ένα τυποποιημένο διάγραμμα για να δώσουν ένα αποτέλεσμα ευαίσθητων,

ανθεκτικών ή ενδιάμεσων. Πολλά διαγράμματα έχουν μια αντίστοιχη στήλη που δίνει επίσης το MIC (ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση) για αυτό το φάρμακο. Το MIC αποτελεί επί του παρόντος το πρότυπο δοκιμαστικό τεστ για τη δοκιμή ευαισθησίας στα αντιβιοτικά, διότι παράγει πιο σχετικές πληροφορίες σχετικά με τις ελάχιστες δοσολογίες. Το μέσο Mueller-Hinton που χρησιμοποιείται για τη δοκιμή Kirby-Bauer έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (Roth, et al, 1993).

3.3 Προσδιορισμός Ελάχιστης Ανασταλτικής Συγκέντρωσης ή MIC

Στη μικροβιολογία, η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση ενός χημικού που εμποδίζει την ορατή ανάπτυξη ενός βακτηρίου. Αυτό διαφέρει από την ελάχιστη βακτηριοκτόνο συγκέντρωση (MBO) η οποία είναι η συγκέντρωση που έχει ως αποτέλεσμα τον θάνατο του μικροβίου όπως ορίζεται από την αδυναμία επαναδημιουργίας βακτηρίων. Όσο πιο κοντά είναι η MIC στην MBC, τόσο πιο βακτηριοκτόνος είναι η ένωση (Daniel, 2009).



Εικόνα 3.3 Η μέθοδος Προσδιορισμού Ελαχίστης Ανασταλτικής Συγκέντρωσης ή MIC

Η MIC μιας χημικής ουσίας προσδιορίζεται παρασκευάζοντας διαλύματα της χημικής ουσίας *in vitro* σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις, επωάζοντας τα διαλύματα με τις ξεχωριστές παρτίδες των καλλιεργημένων βακτηρίων και μετρώντας τα αποτελέσματα χρησιμοποιώντας αραίωση άγαρ ή μικροδιαδήθηση ζωμού. Τα αποτελέσματα έχουν ταξινομηθεί σε ευαίσθητα, ενδιάμεσα ή ανθεκτικά για ένα συγκεκριμένο αντιβιοτικό χρησιμοποιώντας ένα σημείο αποκοπής. Τα σημεία αποκοπής συμφωνούνται με τις τιμές που δημοσιεύονται στις κατευθυντήριες γραμμές ενός φορέα αναφοράς, όπως το Αμερικανικό Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI), η Βρετανική Εταιρεία Αντιμικροβιακής Χημειοθεραπείας (BSAC) ή η Ευρωπαϊκή Επιτροπή για τη Δοκιμή Αντιμικροβιακής Ευαισθησίας (EUCAST). Η MIC εξαρτάται από τον μικροοργανισμό, τον πληγέντα (μόνο *in vivo*) και το αντιβιοτικό (Park, et al, 1994).

Οι *in vitro* MIC βασίζονται σε συγκεντρώσεις αντιβιοτικών που λαμβάνονται *in vivo* (π.χ. σε αίμα, ορό ή CSF). Ωστόσο, αυτές οι συγκεντρώσεις *in-vivo* εξαρτώνται από αυθαίρετα χορηγούμενες δόσεις. Οι γενικές κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με τις

MIC για τα αντιβιοτικά επιβλήθηκαν με βάση τη συναίνεση των κυρίων υποκινητών (δηλαδή των πολιτικών και των φαρμακευτικών εταιρειών).

Έχουν υπάρξει σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των συστάσεων διαφόρων ευρωπαϊκών χωρών με την πάροδο των ετών και μεταξύ αυτών της Ευρωπαϊκής Επιτροπής Αντιμετώπισης της Αντιμικροβιακής Ευαισθησίας (EUCAST) και του Αμερικανικού Ινστιτούτου Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI). Στην ιατρική, η καλλιέργεια του οργανισμού που μολύνει έναν ασθενή με τα διαθέσιμα αντιβιοτικά φάρμακα και προσδιορισμό των MIC, είναι σημαντικά στοιχεία για να προσδιοριστεί το σωστό φάρμακο που θα πρέπει να χορηγηθεί στον ασθενή (Park, et al, 1994).

Το πρώτο βήμα στην ανακάλυψη φαρμάκων είναι συχνά η διαλογή ενός υποψήφιου φαρμάκου, με βάση τις MIC ενάντια στα βακτήρια ενδιαφέροντος. Ως εκ τούτου, οι MIC είναι συνήθως το σημείο εκκίνησης για μεγαλύτερες προκλινικές αξιολογήσεις νέων αντιμικροβιακών παραγόντων.

3.4 Έτοιμα Συστήματα Ελέγχου Ευαισθησίας

3.4.1. Σύστημα Δια Χειρός: E-Test (Ab Biodisk)

Το Etest (γνωστό στο παρελθόν ως δοκιμή Epsilonmeter) που κατασκευάζεται από την bioMérieux είναι μια χειροκίνητη διαγνωστική συσκευή in vitro που χρησιμοποιείται από τα εργαστήρια για τον προσδιορισμό της MIC (Minimal Inhibitory Concentration) και αν ένα συγκεκριμένο στέλεχος βακτηρίου ή μύκητα είναι επιρρεπές στη δράση ενός συγκεκριμένου αντιμικροβιακού. Αυτός ο τύπος δοκιμής χρησιμοποιείται συχνότερα στις εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης για να βοηθήσει τους γιατρούς στη θεραπεία ασθενών υποδεικνύοντας ποια συγκέντρωση αντιμικροβιακού θα θεραπεύσει επιτυχώς μια λοίμωξη (Athanasopoulou, et al, 2009).

Η ταινία Etest περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1988 και εισήχθη εμπορικά το 1991 από την AB BIODISK. Η bioMérieux απέκτησε την AB BIODISK το 2008 και

συνεχίζει να κατασκευάζει και να εμπορεύεται αυτή την γκάμα προϊόντων με το σήμα Etest.

Οι εφαρμογές του Etest περιλαμβάνουν πολλές ομάδες εύθραυστων οργανισμών, μύκητες (ζυμομύκητες και μούχλα) και μυκοβακτηρίδια καθώς και ανίχνευση διαφόρων μηχανισμών αντίστασης και δοκιμή MIC βασικών αντιβιοτικών με κρίσιμα δείγματα π.χ. αίματος και εγκεφαλικού νωτιαίου υγρού (CSF) (Migliore, et al, 2000).



Εικόνα 3.4.1 Μέθοδος E-test

Το Etest είναι μια ποσοτική τεχνική για τον προσδιορισμό της αντιμικροβιακής ευαισθησίας (AST) και της MIC (σε $\mu\text{g} / \text{mL}$) Gram-αρνητικών και Gram-θετικών αερόβιων βακτηριδίων όπως τα είδη Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Staphylococcus και Enterococcus και των απαιτητικών βακτηρίων όπως τα αναερόβια, N. Gonorrhoeae, S. pneumoniae, Streptococcus και Haemophilus.

Το Etest είναι μια πλαστική αντιδραστική ταινία «έτοιμη προς χρήση», αδρανής και μη πορώδης, με προκαθορισμένη βαθμίδωση αντιβιοτικού, που καλύπτει ένα εύρος συνεχούς συγκέντρωσης, για τον προσδιορισμό ακριβών τιμών MIC ευρέος φάσματος αντιμικροβιακών παραγόντων έναντι διαφορετικών ομάδων οργανισμών.

Όταν το Etest εφαρμόζεται στην επιφάνεια μίας πλάκας άγαρ εμβολιασμένης με το δοκιμαστικό στέλεχος, υπάρχει στιγμιαία απελευθέρωση της αντιμικροβιακής βαθμίδωσης από τον πλαστικό φορέα στο άγαρ ώστε να σχηματιστεί μια σταθερή και συνεχής βαθμίδωση ακριβώς κάτω από την ταινία (Migliore, et al, 2000).

Η επώαση και οι χρόνοι ανάγνωσης του Etest, προσδιορίστηκαν με βάση τα εγγενή χαρακτηριστικά ανάπτυξης του οργανισμού και τις ειδικές συνθήκες επώασης. Συνεπώς, για αξιόπιστα και αναπαραγωγίμα αποτελέσματα, η σταθερότητα της βαθμίδωσης πρέπει να διατηρηθεί για πολλές ώρες. Η προκαθορισμένη βαθμίδωση του Etest παραμένει σταθερή για τουλάχιστον 18 έως 24 ώρες, δηλαδή, μια περίοδο που καλύπτει τους κρίσιμους χρόνους πολλών ειδών απαιτητικών και μη απαιτητικών οργανισμών.

Όταν η ταινία Etest τοποθετείται σε επιφάνεια άγαρ, η βαθμίδωση του αντιβιοτικού στη λωρίδα απλώς μεταφέρεται στη μήτρα άγαρ δημιουργώντας ένα αποτύπωμα της βαθμίδωσης στη λωρίδα μέσα στο άγαρ. Η ανάπτυξη των βακτηρίων γίνεται ορατή μετά την επώαση και παρατηρείται μία συμμετρική έλλειψη αναστολής που επικεντρώνεται κατά μήκος της ταινίας. Η τιμή MIC διαβάζεται από την κλίμακα σε όρους $\mu\text{g} / \text{mL}$ όπου η άκρη της ελλείψεως τέμνει τη λωρίδα (Carone, et al, 1996).

Το Etest μπορεί να χρησιμοποιηθεί με πολλά διαφορετικά είδη μέσου άγαρ AST, εφόσον το μέσο υποστηρίζει την καλή ανάπτυξη του οργανισμού δοκιμής και δεν παρεμβαίνει στη δραστηριότητα του αντιμικροβιακού παράγοντα. Ωστόσο, για να μεγιστοποιηθεί η αναπαραγωγιμότητα, το επιλεγμένο μέσο θα πρέπει να πληροί τις βασικές απαιτήσεις ως μέσο δοκιμής ευαισθησίας. Τα παρακάτω μέσα AST συνιστώνται για χρήση με το Etest:

Αερόβια: Άγαρ Mueller Hinton όπως το MHE (bioMérieux)

Αναερόβια: Άγαρ αίματος Brucella με κατάλληλα συμπληρώματα

Αυτά τα μέσα μπορεί να απαιτούν συμπληρωματικές θρεπτικές ουσίες για να επιτύχουν αυξημένη ανάπτυξη θρεπτικώς απαιτητικών οργανισμών όπως οι πνευμονόκοκκοι, οι στρεπτόκοκκοι, η Abiotrophia, ο Haemophilus, οι γονοκοκκικοί, οι μηνιγγοκοκκικοί και το καμπυλοβακτηρίδιο. Γενικά, οι συστάσεις σχετικά με τα μέσα από το CLSI (Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων) και από την

EUCAST (Ευρωπαϊκή Επιτροπή για τη δοκιμή ευαισθησίας κατά της μικροβιακής αντοχής) θεωρούνται κατάλληλες για το Etest (Laanto, et al, 2015).

Μετά την απαιτούμενη περίοδο επώασης και μόνο είναι ορατή η ομοιόμορφη ανάπτυξη, η τιμή MIC μπορεί να αναγνωσθεί όπου η άκρη της έλλειψης αναστολής τέμνει την πλευρά της ταινίας. Η πλάκα δεν πρέπει να διαβάζεται εάν η καλλιέργεια εμφανίζεται ανάμεικτη ή εάν η κλίμακα της ανάπτυξης είναι πολύ ελαφριά ή πολύ βαριά. Τα τελικά σημεία MIC του Etest είναι συνήθως ξεκάθαρα, αν και μπορούν να παρατηρηθούν διαφορετικά μοτίβα ανάπτυξης/ αναστολής.

Διατίθενται προϊόντα Etest για περισσότερους από 100 αντιμικροβιακούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των αντιβιοτικών, των αντιμυκητιασικών παραγόντων και των αντιμικροβιακών παραγόντων. Επιπλέον, είναι διαθέσιμα ειδικά προϊόντα Etest για την ανίχνευση συγκεκριμένων μηχανισμών αντίστασης (π.χ. ESBL (βήτα-λακταμάση εκτεταμένου φάσματος), MBL (μεταλλο βήτα-λακταμάση), AmpC βήτα-λακταμάση και VISA/ h VISA) (Alves, et al, 2011).

Το Etest έχει εγκριθεί από τον FDA και έχει σημασθεί με CE για πολλούς οργανισμούς, συγκρίνοντας το με συμβατικές μεθόδους αναφοράς αραίωσης ζωμού/ άγαρ και έχει δειχθεί ότι έχει εξαιρετική συσχέτιση.

3.4.2 Ημιαυτοματοποιημένα Συστήματα

Το πρώτο σύστημα που μπορεί να αναφερθεί είναι το ATB system (bioMerieux). Πρόκειται για ταινία με 22 βυθίσματα τα οποία περιέχουν τα αντιβιοτικά σε αποξηραμένη μορφή. Το κάθε αντιβιοτικό περιλαμβάνεται σε δύο κρίσιμες συγκεντρώσεις (μικρή και μεγάλη). Γίνεται προσθήκη του βακτηριακού εναιωρήματος και μετά από επώαση 18-24 ωρών γίνεται ανάγνωση των αποτελεσμάτων σε ειδικό μηχάνημα: ανάπτυξη (εμφάνιση θολερότητας) και στις δύο συγκεντρώσεις του αντιβιοτικού σημαίνει αντοχή, καμία ανάπτυξη σημαίνει ευαισθησία και ανάπτυξη μόνο στη μικρή συγκέντρωση ενδιάμεση ευαισθησία. Η ανάγνωση μπορεί να γίνει και απευθείας με γυμνό οφθαλμό (Redshaw, 1995).

Ένα ακόμη σύστημα είναι το MICROSCAN, AUTOSCAN-4 (DABE BEHRING). Αποτελείται από έτοιμες πλάκες μικροτιτλοποίησης για την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό της MIC ή breaking points (BP) των Gram(+) και Gram(-) μικροβίων. Το σύστημα εξασφαλίζει πραγματικές MIC ή BP τιμές ανεξάρτητες από την ταυτοποίηση του βακτηρίου, έχει δυνατότητα ταυτόχρονης ταυτοποίησης και MIC ή BP, ελαχιστοποιεί την ανάγκη για έλεγχο επιπλέον ιδιοτήτων, δίνει αποτελέσματα ταυτοποίησης και MIC ή BP σε 16-18 ώρες για τα Gram(-) και Gram(+), έχει εύκολο και γρήγορο εμβολιασμό κάθε ομάδας δοκιμασιών με μία μόνο κίνηση με την βοήθεια ειδικού εξαρτήματος (RENOK). Δίνει τη δυνατότητα ανάγνωσης των δοκιμασιών με γυμνό οφθαλμό και διαθέτει ένα πολύ αναπτυγμένο λογισμικό για την διαχείριση και την αποθήκευση των πληροφοριών (Roth, et al, 1993).

Τέλος, υπάρχει και το σύστημα Wider I σύστημα (Francisco Soria Melguizo, S.A.). Πρόκειται για ημιαυτόματο σύστημα, το οποίο επεξεργάζεται εικόνα για την ταυτοποίηση και έλεγχο ευαισθησίας σε πλάκες με συγκεκριμένες αραιώσεις αντιβιοτικών, σύμφωνα με την CLSI. Το σύστημα διαθέτει λογισμικό για την ψηφιακή επεξεργασία των απεικονίσεων και μετατροπή τους σε αριθμητικές τιμές, εξελιγμένο πρόγραμμα «expert rules» σύμφωνα με τους κανόνες της CLSI με δυνατότητα συνεχούς ενημέρωσης με τα νεότερα δεδομένα, προγράμματα αρχιεπιτήρησης, αναζήτησης και ελέγχου ποιότητας των αποτελεσμάτων (Carone, et al, 1996).

3.5 Αυτοματοποιημένα Συστήματα

Πρόκειται για μέθοδο μικροαραίωσης με τη χρησιμοποίηση 64- μικροϋποδοχών, μία υποδοχή ελέγχου ανάπτυξης βακτηρίου και υποδοχές προμετρημένων ποσοτήτων 19-20 αντιμικροβιακών παραγόντων σε συνδυασμό με υλικό καλλιέργειας. Αφού γίνει το εναιώρημα συγκεκριμένης θολερότητας, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, η πλήρωση, το σφράγισμα της κάρτας και η τοποθέτηση της στη μονάδα επώασης και ανάγνωσης του οργάνου γίνεται αυτοματοποιημένα. Γίνεται παρακολούθηση ανάπτυξης σε κάθε υποδοχή της κάρτας ανά 15 min (φθορισμός, θολερότητα, χρώμα)

και προσδιορίζεται η MIC σε 4-18 ώρες. Μπορεί να γίνει επαγωγή αποτελεσμάτων για 4-10 επιπλέον αντιβιοτικά, έτσι ώστε να δίνονται αποτελέσματα για 23-30 αντιβιοτικά συνολικά ανά κάρτα. Συνοδεύεται από ειδικό σύστημα, για την ερμηνεία και διόρθωση των αποτελεσμάτων σύμφωνα με τους κανόνες του CLSI (Shao, 2001).

3.5.1. Σύστημα Phoenix (BD Diagnostics Systems)

Πρόκειται για μακρομέθοδο. Περιλαμβάνει σειρά ιδιοτήτων ταυτοποίησης και αντιβιογράμματος. Για το αντιβιογράμμα, περιλαμβάνει 84 βυθίσματα και ένα βύθισμα ως μάρτυρα ανάπτυξης. Υπάρχουν τουλάχιστον 3 αραιώσεις ανά αντιβιοτικό. Ο τρόπος ανάγνωσης είναι διπλός: θολερότητα ως δείκτης ανάπτυξης και χρώμα ως αντίδραση μικροβιακού μεταβολισμού. Γίνεται μέτρηση ανάπτυξης κινητικής μορφής ανά 20 min. Με το σύστημα γίνεται προσδιορισμός της MIC. Συνοδεύεται από το σύστημα BDXpert TM για την ερμηνεία και διόρθωση των αποτελεσμάτων, σύμφωνα με τους κανόνες του CLSI (Daniel, 2009).

3.5.2 Microscan WalkAway σύστημα (Dade Behring)

Είναι ανάλογο σύστημα με το Microscan, Autoscan-4 με την διαφορά ότι η επώαση και ανάγνωση των πλακών γίνεται αυτοματοποιημένα (Daniel, 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 – ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΑ

4.1 Εισαγωγή

Η εκτροφή των ψαριών στις ιχθυοκαλλιέργειες απαιτεί μεγάλο αριθμό παρεμβάσεων, οι οποίες, προκειμένου να γίνουν με ευκολία και ασφάλεια, καθιστούν αναγκαία τη χρήση αναισθητικών ουσιών. Η χρήση αναισθητικών ουσιών διευκολύνει τους χειρισμούς και μειώνει το στρες που προκαλείται κατά την εκτέλεση τους, ενώ επιτρέπει την εκτέλεση επώδυνων επεμβάσεων. Ενέργειες, όπως η διαλογή μεγέθους, το τεστ νηκτικής κύστης, ο εμβολιασμός, η σήμανση, η μεταφορά, η αιμοληψία και η τεχνητή γονιμοποίηση, απαιτούν τη χρήση αναισθητικών ουσιών σε δόσεις, οι οποίες, ανάλογα με την περίπτωση, εξασφαλίζουν από ελαφρά ηρέμηση μέχρι βαθιά χειρουργική αναισθησία. Το ιδανικό αναισθητικό για ψάρια ιχθυοκαλλιεργειών πρέπει να εξασφαλίζει γρήγορη εγκατάσταση και ανάνηψη από την αναισθησία, να είναι ασφαλές για τα ψάρια και το χρήστη, να μην αφήνει κατάλοιπα στους ιστούς και να είναι οικονομικό και εύχρηστο. Τα αναισθητικά συνήθως προσλαμβάνονται μέσω των βραγχίων, αφού πρώτα διαλυθούν στο νερό στο οποίο βρίσκονται τα ψάρια. Η ανάνηψη από την αναισθησία γίνεται με τοποθέτηση των ψαριών σε νερό απαλλαγμένο από την αναισθητική ουσία. Η ανταπόκριση των ψαριών στα αναισθητικά εξαρτάται από το είδος, το μέγεθος και το σωματικό βάρος του ψαριού, την αναλογία μεταξύ του σωματικού βάρους και της επιφάνειας των βραγχίων του, τη λιποπεριεκτικότητα, το φύλο, τη σεξουαλική ωριμότητα, τη φυσική κατάσταση και την κατάσταση της υγείας του, αλλά και τη θερμοκρασία, το pH και την περιεκτικότητα του νερού στο οποίο διαβιεί σε άλατα, μέταλλα και οξυγόνο. Τα αναισθητικά που χρησιμοποιούνται σήμερα συχνότερα στα περισσότερα είδη ψαριών είναι η τρικαΐνη, η βενζοκαΐνη, η φαινοξυαιθανόλη, η κιναλδίνη, η θεική κιναλδίνη, το γαριφαλέλαιο και η μετομιδάτη. (Η. Τσαντήλας, Α. Δ. Γαλάτος, Φ. Αθανασοπούλου 2005)

4.2 Αναισθητικά Φάρμακα

- **ΤΡΙΚΑΙΝΗ** είναι η μόνη αναισθητική ουσία που έχει άδεια από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ για χρήση σε ψάρια ιχθυοκαλλιέργειών. Είναι εύχρηστη και θεωρείται ασφαλής για τα ψάρια και το χρήστη, έχει όμως υψηλό κόστος αγοράς και απαιτείται χρόνος αναμονής 21 ημερών μετά τη χρήση της.
- **ΒΕΝΞΟΚΑΙΝΗ** είναι ουσία παρόμοια με την τρικαΐνη, αλλά πολύ λιγότερο υδατοδιαλυτή, οπότε τα διαλύματα της πρέπει να παρασκευάζονται με αιθανόλη ή ακετόνη. Είναι όμως πιο οικονομική, μετά τη χρήση της απαιτείται χρόνος αναμονής μόνο 24 ωρών και θεωρείται αρκετά ασφαλής για τα ψάρια και το χρήστη.
- **ΜΕΤΟΜΙΔΑΤΗ** εξασφαλίζει ταχεία εγκατάσταση, ενώ η ανάνηψη από την αναισθησία μπορεί να είναι παρατεταμένη όταν ο χρόνος έκθεσης είναι μεγάλος. Επιπλέον, φαίνεται να πλεονεκτεί έναντι των άλλων αναισθητικών ουσιών, λόγω του ότι πιθανώς προκαλεί το λιγότερο στρες στα ψάρια κατά τη διαδικασία αναισθητοποίησής τους. Λέξεις ευρετηρίασης: αναισθητικές ουσίες, ψάρια,
- **MS-222** : Είναι λευκή σκόνη που χρησιμοποιείται για την αναισθησία, καταστολή, ή και την ευθανασία των ψαριών. Είναι σε πολλές χώρες το μόνο εγκεκριμένο φάρμακο, είναι πολύ διαλυτή στο νερό, έχει πολύ καλή λιποφιλικότητα και αποδομείται από το φώς. Είναι εύχρηστη και θεωρείται ασφαλής για τα ψάρια και τον χρήστη, έχει όμως υψηλό κόστος αγοράς και απαιτείται χρόνος αναμονής 21 ημερών μετά την χρήση της.
- **ΒΕΝΖΟΚΑΪΝΗ** : Η βενζοκαΐνη είναι ουσία παρόμοια με την τρικαΐνη, αλλά πολύ λιγότερο υδατοδιαλυτή, με αποτέλεσμα τα διαλύματα της πρέπει να παρασκευάζονται με αιθανόλη ή ακετόνη. Είναι όμως πιο οικονομική, μετά τη χρήση της απαιτείται χρόνος αναμονής μόνο 24 ωρών και θεωρείται αρκετά ασφαλής για τα ψάρια και τον χρήστη. Αποβάλλεται από τα βράγχια κυρίως, αλλά και από τα ούρα.
- **ΦΑΙΝΟΞΥΑΙΘΑΝΟΛΗ**: Η φαινοξυαιθανόλη είναι άχρωμο ελαιώδες υγρό, μετρίως υδατοδιαλυτή, διαλύεται όμως εύκολα σε αιθανόλη. Είναι

οικονομική, εύχρηστη, αρκετά ασφαλής για τα ψάρια, αλλά όχι πάντα ασφαλής για τον χρήστη, ενώ τα διαλύματα της έχουν, πέραν της αναισθητικής, αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση. Επίσης, δεν συσσωρεύεται στο ψάρι μετά τη χρήση.

- **ΚΙΝΑΛΔΙΝΗ ΚΑΙ ΘΕΙΚΗ ΚΙΝΑΛΔΙΝΗ:** είναι εύχρηστες, αλλά η θεική κιναλδίνη ενώ είναι περισσότερο ασφαλής είναι ιδιαίτερα ακριβή. Μπορούν να προκαλέσουν ερεθισμό των βραγχίων και βλάβες του κερατοειδούς χιτώνα των ψαριών, καθώς επίσης και αναπνευστικά προβλήματα στον χρήστη.
- **ΓΑΡΙΦΑΛΕΛΑΙΟ:** είναι ελαιώδες υγρό το οποίο περιέχει τις δραστικές ουσίες ευγενόλη και ισο-ευγενόλη. Είναι οικονομικό και εύχρηστο, έχει αντιμυκητιακή και αντιβακτηριακή δράση, θεωρείται αρκετά ασφαλές για τα ψάρια και τον χρήστη και δεν απαιτείται χρόνος αναμονής μετά την χρήση του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

5.1 Εισαγωγή

Τα παράσιτα είναι απειλή για την υγεία και την ευημερία των εκτρεφόμενων πληθυσμών, καθώς συχνά φθάνουν σε επιδημικές διαστάσεις προκαλώντας πολλά προβλήματα για την οικονομική βιωσιμότητα και την τεχνική διαχείριση των ψαριών, δεδομένου ότι εκτός από τις άμεσες παθολογικές επιπτώσεις, προκαλούν γενικό στρες και εξασθένηση με συνέπεια την επιβράδυνση της ανάπτυξης των ζώων-ξενιστών. Τα παράσιτα μπορούν να επιφέρουν δευτερογενείς λοιμώξεις όπου μερικές φορές οδηγούν τα ψάρια σε θνησιμότητα, γι αυτό πρέπει οποσδήποτε να λαμβάνονται επιδημιολογικά μέτρα προληπτικού ελέγχου με στόχο την παρεμπόδιση των.

Τα παθογόνα είδη που εμπλέκονται σε παρασιτορίες σε θαλάσσια ψάρια της Μεσογείου είναι ωοειδή και ο κύκλος ζωής του περιλαμβάνει ωάρια προνύμφες (oncomiracidia) και ενήλικα παράσιτα.

Η θερμοκρασία είναι ο πιο κρίσιμος παράγοντας για την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη /ωρίμανση των παρασίτων και φυσικά τη σίτηση/ παρασιτική τους δραστηριότητα μαζί με τις παθολογικές τους επιπτώσεις στους οικοδεσπότες. Επίσης η θερμοκρασία επηρεάζει τη φυσιολογία του ιχθύος-ξενιστή συμπεριλαμβανομένων των ανοσολογικών αποκρίσεων καθώς και της ικανότητας να αντέχει σε κάθε είδους επιθετική θεραπεία.

Θεραπευτική μεθοδολογία, στρατηγικές και παραδείγματα

Μια αποτελεσματική σειρά θεραπειών θα εξάλειφε όλα τα στάδια της ζωής των παρασίτων εφαρμόζοντας ένα στρατηγικό χρονοδιάγραμμα μέτρων εμποδίζοντας τη διαδοχή των γενεών, αλλά αυτό είναι δύσκολο να επιτευχθεί σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής γιατί τα άγρια ψάρια είναι πολύ κοντά στους αιχμαλωτισμένους πληθυσμούς. Αυτό επίσης μπορεί να είναι εξαιρετικά απαιτητικό από οικονομικής και τεχνικής πλευράς. Μια πιο προσωρινή μέθοδος θα μπορούσε να είναι πιο

ρεαλιστικός στόχος αλλά δεν είναι απολύτως ικανοποιητικός. Το χρονικό διάστημα για ένα αποδεκτό θεραπευτικό επίπεδο μπορεί να εξαρτάται από οποιονδήποτε συνδυασμό αβιοτικών, βιοτικών και τεχνικών παραμέτρων της συγκεκριμένης μονάδας εκτροφής.

Η αποξήρανση ή η χρήση πολύ επιθετικών χημικών ουσιών (π.χ. υποχλωριώδες νάτριο) πρέπει να χρησιμοποιείται όπου ενδείκνυται για σκοπούς εκρίζωσης στις κύριες εγκαταστάσεις παραγωγής και στον σχετικό εξοπλισμό. Η μηχανική απομάκρυνση των αυγών από το νερό της καλλιέργειας με διήθηση ή με παγίδες είναι σίγουρα αξιόπαινη και ποιά οικονομικά βιώσιμη και τεχνικά εφικτή.

Η χρήση φαρμακευτικών ουσιών αναγκαστικά είναι η καλύτερη για οποιαδήποτε στρατηγική κλινικού ελέγχου σε συνδυασμό με σωστές προσπάθειες υγιεινής και ευεξίας. Για κάθε δίπολο ξενιστή-παρασίτου το θεραπευτικό περιθώριο (ασφάλεια) κάθε χημικής ουσίας μπορεί να ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με την φυσιολογική κατάσταση των συμμετεχόντων ζώων καθώς και την ποιότητα των υδάτων.

Όταν χρησιμοποιούμε αντιπαρασιτικές ουσίες που εφαρμόζονται εξωτερικά με λουτρό ή βουτιά/έκπλυση μετά από αραίωση στο νερό του ξενιστή, αυτές θεωρούνται ότι είναι ευνοϊκές για τον ξενιστή. Όταν πρόκειται για τα βράγχια αυτό δεν ισχύει και είναι δυσμενές.

Ως εκ τούτου όλα τα εξωτερικά εφαρμοζόμενα απολυμαντικά που αποσκοπούν στην απομάκρυνση των παρασίτων από τα βράγχια πρέπει να χρησιμοποιούνται με τη μέγιστη δυνατή προσοχή ώστε να μη βλάπτονται αυτά τα λεπτά όργανα, ενώ ταυτόχρονα λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα μέτρα μέχρι την επόμενη θεραπεία, ώστε να εξασφαλιστεί η ελαχιστοποίηση του στρες και η καλή ανάκτηση για τα ζώα-ξενιστές.

Πλεονεκτήματα απολυμαντικών

- Το μονογενές παρασιτικό φορτίο μειώνεται
- Άλλα, μη μονογονικά εκτοπάρασιτα και μικρόβια μπορούν επίσης να μειωθούν ταυτόχρονα
- Δεν μπορεί να υπάρξει σημαντική εσωτερικοποίηση της χρησιμοποιούμενης ουσίας από τα ψάρια και δεν υπάρχουν μακροχρόνιες επιπλοκές

- Η ανάπτυξη αντίστασης από τα παράσιτα είναι εξαιρετικά απίθανη

Μειονεκτήματα απολυμαντικών

- Τα ψάρια που απολυμαίνονται υποβάλλονται σε άγχος και υποφέρουν από βραχυπρόθεσμες τοξικές παρενέργειες
- Οι ερεθιστικές ουσίες προκαλούν υπερκάλυψη του βλενογόνου
- Η εφαρμογή της ουσίας είναι μάλλον περίπλοκη και επίπονη
- Μπορεί να απαιτείται επανάληψη καθώς ο παρασιτικός πληθυσμός μπορεί να ανακάμψει αρκετά γρήγορα

5.2 Αντιπαρασιτικά Φάρμακα

Α) Φορμαλδεΐδη: Είναι ουσία γενικής χρήσης για την θεραπεία ενός ευρέως φάσματος εξωπαρασιτικών προσβολών καθώς και μικροβιακών επιφανειακών μολύνσεων. Πρέπει να υπάρχει καλή οξυγόνωση νερού κατά την θεραπεία. Τα αποτελέσματα είναι συχνά διφορούμενα και οδηγούν στην ανάγκη επανάληψης. Οι επαναλήψεις δημιουργούν στρες στα ψάρια και μαζί με υψηλές θερμοκρασίες τα παράσιτα αναπαράγονται ταχύτερα. Η μεθανάλη ή φορμαλδεΐδη (φορμόλη) είναι οργανική χημική ένωση, που περιέχει άνθρακα, οξυγόνο και υδρογόνο. Η φορμόλη χρησιμοποιείται στις υδατοκαλλιέργειες για την καταπολέμηση των παρασίτων. Η φορμόλη μαζί με το θαλασσινό νερό περνάει απ' το στόμα του ψαριού και όταν την αποβάλλει απ' τα βράγχια εξοντώνει τα παράσιτα. Η φορμόλη διοχετεύεται στα ψάρια με τα γνωστά μπάνια φορμόλης.

- Σύμφωνα με τον ενιαίο φορέα ελέγχου τροφίμων (ΕΦΕΤ) η φορμόλη είναι μια απαγορευμένη τοξική ουσία
- Σύμφωνα με την Διεύθυνση Κτηνιατρικών Φαρμάκων για τις υδατοκαλλιέργειες ισχύει ότι μπορούν να χρησιμοποιούν συγκεκριμένα φαρμακευτικά σκευάσματα εγκεκριμένα από τον (ΕΟΦ) με αντιπαρασιτικές ιδιότητες που χορηγούνται μόνο με κτηνιατρική συνταγή

- Η φορμόλη έχει μηδενικό χρόνο αναμονής από την λήψη της από τα ψάρια μέχρι την ανθρώπινη κατανάλωση

B) Οξειδωτικοί παράγοντες . Χλωραμίνη-Γ, υπεροξείδιο του υδρογόνου (ή καλύτερα υπερανθρακικό νάτριο) και κάλιο. Το υπερμαγγανικό άλας έχει χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση μολύνσεων σε πολλά είδη ψαριών της μεσογειακής εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας με κάποιο βαθμό επιτυχίας. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Γ) Οξικό οξύ. Διαπιστώθηκε ότι ήταν αρκετά αποτελεσματικό έναντι των μονογονιδιακών παρασίτων του *Mugil liza* στο 25% της LC 50-1h, αυξάνοντας έτσι τη δυνατότητα για μια εναλλακτική λύση στη φορμαλδεΰδη. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Δ) Μεταλλικά άλατα. Πολύ λιγότερο επιθετικά από τα παραπάνω χημικά και έχουν καλύτερες προοπτικές από άποψη τοξικότητας. Παρατεταμένες ενβυθίσεις σε διάλυμα θεικού χαλκού είναι κάπως αποτελεσματικά σε θαλάσσια ψάρια, ενώ άλλα μεταλλικά άλατα δηλαδή θειικός κασσίτερος, αλουμίνιο, ψευδάργυρος έχουν δοκιμαστεί σε ψάρια γλυκού νερού. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Ε) Βενζιμιδαζόλια. Η μεβενδαζόλη χορηγείται από το στόμα και είναι αποτελεσματική για παράσιτα στα βράγχια. Η ανάπτυξη αντιστάσεων παρασίτων αυτής της ομάδας χημικών είναι δυνατή καθώς και αυξημένη τοξικότητα για τον ξενιστή. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Ζ) Οργανοφωσφορικά. Ενθαρρυντικά αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στην Ευρωπαϊκή θάλασσα. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Η) Praziquantel. Έχει εμφανιστεί ως φάρμακο επιλογής το οποίο πιστοποιείται από πολλές μελέτες. Η χορήγηση σιμετιδίνης βελτιώνει την θεραπευτική επίδοση του Praziquantel. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Θ) Καπρυλικό οξύ. Είναι μια επιλογή για συντηρητική θεραπεία μετά από μια πιο δραστική, με στόχο να μειώσει την ένταση της μόλυνσης. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Ι) Εκχυλίσματα βοτάνων. Έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για την φυσική θεραπεία των λοιμωδών νόσων των ψαριών τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Τον τελευταίο καιρό, ένα φυτικό φάρμακο (με την εμπορική ονομασία "Vaccium210") αποτελούμενο από φυτό του οποίου τα αιθέρια έλαια έδειξαν υψηλή αποτελεσματικά στην απομάκρυνση των εκτοπαρασίτων με μία απλή βραχεία χορήγηση λουτρού και με ένα μάλλον αποδεκτό περιθώριο ασφαλείας. Τέτοια προϊόντα έχουν δοκιμαστεί επανειλημμένα δεδομένου ότι θεωρούνται φιλικά για το περιβάλλον και για τους καταναλωτές. Η σχέση κόστους αποτελεσματικότητας μπορεί να είναι το κύριο εμπόδιο για την βιομηχανική εφαρμογή τους. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

Κ) Άλλες χημικές ουσίες. Υπάρχουν και άλλα χημειοθεραπευτικά όπως η νικοσαμίδα, το νιτροσκανικό, και η νιτροξινίλη. (Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 2018)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 – ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ Η ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΟΥΣ

6.1 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΕΥΡΥΑΛΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΙΟΥΣ (Α. Πράπας 2000)

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Λεμφοκύστη (Lymphocystis)	Θεραπεία δεν υπάρχει . Αντιβιοτικά μπορούν να χορηγηθούν για την καταπολέμηση δευτερογενών μολύνσεων. Τα ψάρια συνήθως αναρρώνουν αυτόματα, αλλά μόνο μετά από μερικές εβδομάδες ή μήνες
Ιογενής Εγκεφαλοπάθεια και Αμφιβληστροειδοπάθεια (Viral encephalopathy and retinopathy)	Δεν υπάρχει θεραπεία. Υπάρχει δυνατότητα μόνο βελτίωσης της διαχείρισης, με εξάλειψη παραγόντων stress όπως είναι η υψηλή ιχθυοφόρτιση και οι χειρισμοί καθώς επίσης και η λήψη υγειονομικών μέτρων όπως η απομάκρυνση και η υγειονομική καταστροφή των νεκρών και προσβεβλημένων ψαριών, οι απολυμάνσεις οχημάτων, συσκευών, εγκαταστάσεων κ.λ.π

6.2 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΕΥΡΥΑΛΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΧΛΑΜΥΔΙΕΣ ΚΑΙ ΡΙΚΕΤΣΙΕΣ (Α. Πράπας 2000)

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Επιθηλιοκύστη (Epitheliocystis)	Ουσιαστικά δεν υπάρχει θεραπεία. Στην βιβλιογραφία αναφέρεται βελτίωση της κατάστασης με χορήγηση χλωροφαινικόλης. (Σημ. συγγραφέα η ουσία αυτή δεν είναι εγκεκριμένη για χορήγηση στα ψάρια)
Νέκρωση νευρικού συστήματος (Nervous necrosis due to Rickettsia – like organisms)	Βιβλιογραφικά οι Ρικέτσιας θεωρούνται ευαίσθητες σε μια σειρά αντιβιοτικών όπως οι τετρακυκλίνες και οι πενικιλίνες. Στην Ελλάδα οι απόπειρες ελέγχου της νόσου με χορήγηση τετρακυκλινών είχαν ποικίλα αποτελέσματα

6.3 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΕΥΡΥΑΛΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (Α.Πράπας 2000)

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Δονακίωση (Vibriosis)	Η χορήγηση αντιβιοτικών είναι συνήθως αποτελεσματική. Θα πρέπει πάντα να προηγείται δοκιμή ευαισθησίας του υπεύθυνου στελέχους σε μια σειρά αντιβιοτικών γιατί τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση της ανθεκτικότητας των στελεχών. Η επανάληψη της θεραπευτικής αγωγής για δύο ή και

	περισσότερες φορές κρίνεται συχνά απαραίτητη γιατί η νόσος συνήθως υποτροπιάζει.
Παστεριδίαση (Pasteurellosis)	Θεραπευτικά η χορήγηση των κατάλληλων αντιβιοτικών με την τροφή δίνει πολύ καλά αποτελέσματα. Απαιτείται πάντα η εκτέλεση δοκιμών ευαισθησίας.
Μυξοβακτηριδίαση (Myxobacteriosis)	Η χορήγηση αντιβιοτικών είτε με μπάνιο είτε με την τροφή δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα

6.4 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΕΥΡΥΑΛΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΟΣΤΡΑΚΟΕΙΔΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΠΑΡΑΣΙΤΑ (Φ. Αθανασοπούλου 2000)

6.4.1 Εξωπαράσιτα - πρωτόζωα

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Αμυλοδινίαση (Amyloodinium ocellatum)	Θευκός χαλκός (CuSO ₄) υπό μορφή συνεχούς μπάνιου, για 12-14 ημέρες μπορεί να βοηθήσει στην καταπολέμηση των μορφών του παρασίτου. Επίσης μπάνιο διάρκειας 3-5 λεπτών με γλυκό νερό βοηθά στην απόρριψη των τροχοζωιτών από το δέρμα και τα βράγχια
Κρυπτοβίωση (Cryptobia)	Μπάνια με φορμόλη έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά
Cryptocaryon irritans	Πρέπει να γίνει άμεσα διάγνωση γιατί το παράσιτο πολλαπλασιάζεται πολύ γρήγορα. Μπάνια με συνδιασμό πράσινο

	του μαλαχίτη / φορμόλη είναι αποτελεσματικά. Επίσης μπάνια σε νερό μειωμένης αλατότητας έχουν αναφερθεί σαν αποταλεσματικά
Τριχοδινίαση (Trichodina sp.)	Μπάνια με συνδιασμό πράσινο του μαλαχίτη και φορμόλη είναι τα πιο αποτελεσματικά

6.4.2 Μονογενή Τρηματώδη

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Microcotyle sp. Lamellodiscus sp. Gyrodactylus sp. Furnestinia echeneis, Diplectanum sp. Serranicotyle sp.	Μπάνια με φορμόλη είναι τα πιο αποτελεσματικά όμως πολλές φορές αν το παρασιτικό φορτίο είναι μεγάλο οι αλλοιώσεις που έχουν ήδη γίνει από τα παράσιτα μπορεί να κάνουν πιο ευαίσθητα τα ψάρια σε θεραπευτικές αγωγές

6.4.3 ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ

Ισόποδα

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Anilocra physodes Nerocila orbigny	Οργανοφωσφορικά. Πειραματικά η ιβερμεκτίνη με την τροφή έδωσε καλά αποτελέσματα

Κωπήποδα

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Ergasilus sp. Caligous sp. Lernathropus sp. Lernaocera sp.	Οργανοφωσφορικά και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Πειραματικά η ιβερμεκτίνη με την τροφή έδωσε καλά αποτελέσματα

6.4.4 Ενδοπαράσιτα - Πρωτόζωα

Μικροσπορίδια

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Pleistophora sp.	Μακροχρόνια (1-3 μήνες) θεραπεία με fumagillin στην τροφή ή με τις καινούργιες συνθετικές ανάλογες ουσίες (TNP-470) περιορίζει τις θνησιμότητες όμως οι αλλοιώσεις στους μύες δεν εξαφανίζονται ολοσχερώς. Είναι πολύ σημαντική η διάγνωση και η θεραπεία να γίνεται έγκαιρα γιατί η ουσία είναι πιο δραστική σε πρώιμα στάδια

	σπορογένεσης. Μεγαλύτερες δόσεις fumagillin προκαλούν τοξικότητα
--	--

Ριζόποδα

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Paramoeba sp.	Μπάνια με νερό χαμηλής αλατότητας (5‰) φαίνεται να δρουν εναντίον του ωσμωτικού stress στα βράγχια. Το υπεροξειδίο του υδρογόνου μειώνει τον αριθμό των παρασίτων η αναλόγως της δόσης, τα παράσιτα σκοτώνονται τελείως. Πάντως η δράση του φαρμάκου αυτού είναι αποδεκτή από πολλούς ερευνητές και το φαρμακευτικό φάσμα σε σχέση με την τοξικότητα πολύ μικρό, ιδίως σε αυξημένες θερμοκρασίες

Μυξοσπορίδια

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Ceratomyxa spp.	Μακροχρόνια (1-3 μήνες) θεραπεία με fumagillin στην τροφή η με τις καινούργιες συνθετικές ανάλογες ουσίες (TNP-470) περιορίζει τις θνησιμότητες. Η διάγνωση και η θεραπεία πρέπει να γίνεται έγκαιρα γιατί η ουσία είναι πιο δραστική. Μεγάλες δόσεις από fumagillin δημιουργούν τοξικότητα στα εσωτερικά όργανα
Myxidium leei n. sp.	Δεν υπάρχει ικανοποιητική θεραπεία ιδίως στην χιόνα. Πολλά σκευάσματα

	έχουν χρησιμοποιηθεί χωρίς καλά αποτελέσματα. Η μακροχρόνια (1-3μήνες) θεραπεία με furmagillin στην τροφή η με ουσίες (TNP-470) μπορεί να περιορίσει τις θνησιμότητες αν η διάγνωση γίνει έγκαιρα
Sphaerospora sp.	Δεν υπάρχει ικανοποιητική θεραπεία ιδίως στην χιόνα. Πολλά σκευάσματα έχουν χρησιμοποιηθεί χωρίς καλά αποτελέσματα. Η μακροχρόνια (1-3μήνες) θεραπεία με furmagillin στην τροφή η με ουσίες (TNP-470) μπορεί να περιορίσει τις θνησιμότητες αν η διάγνωση γίνει έγκαιρα
Polysporoplasma sparis	
Henneguya sp.	
Kudoa sp.	Δεν υπάρχει ικανοποιητική θεραπεία ιδίως στην χιόνα. Η μακροχρόνια (1-3μήνες) θεραπεία με furmagillin στην τροφή μπορεί να περιορίσει τις αλλοιώσεις αν η διάγνωση γίνει έγκαιρα
Zschokkella mugilis n. sp.	

Νηματώδη

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Anisakis sp.	Δεν υπάρχει

6.5 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΕΥΡΥΑΛΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΑΙΤΙΑ (Α. Πράπας 2000)

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Συστηματική κοκκιωμάτωση (Systemic granuloma)	Η χορήγηση μεγάλων δόσεων βιταμίνης C στα πρώτα στάδια της νόσου είναι δυνατόν να ελαττώσει τις βιοχημικές μεταβολές και να προλάβει την εξέλιξη της νόσου
Χειμερινό σύνδρομο (Winter syndrome)	Έχουν δοκιμαστεί διάφορα αντιβιοτικά και βιταμινούχα σκευάσματα με μέτρια αποτελέσματα. Συνηθέστερα συνιστάται η εφαρμογή ενός χαμηλού συντελεστού διατροφής σε συνδιασμό με βιταμινούχα σκευάσματα και ανοσοενισχυτικές ουσίες που ως κύριο στόχο έχουν την ενίσχυση του αμυντικού συστήματος του ψαριού

6.6 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΓΛΥΚΩΝ ΝΕΡΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΙΟΥΣ (Γ. Σαββίδης 2000)

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Ιογενής αιμορραγική σηψαιμία (Viral Haemorrhagic Septicaemia, VHS)	Η δυνατότητα θεραπευτικής παρέμβασης είναι αδύνατη όπως συμβαίνει με όλα τα ιογενή νοσήματα. Είναι δυνατόν να επιτευχθεί μείωση της προκαλούμενης θνησιμότητας με την χορήγηση διαμέσου της τροφής φαρμακευτικών ιδιοσκευασμάτων με απώτερο τον έλεγχο

	δευτερογενών βακτηριακών λοιμώξεων.
Λοιμώδης Αιμοποιητική Νέκρωση (Infectious Haematopoietic Necrosis IHN)	Θεραπευτικά δεν υπάρχει δυνατότητα παρέμβασης ενώ δεν έχει επιτευχθεί ακόμη η παραγωγή ικανοποιητικού εμβολίου.
Λοιμώδης Παγκρεατική Νέκρωση (Infectious Pancreatic Necrosis IPN)	Δεν υπάρχει
Εαρινή Ιαιμία του Κυπρίνου (Spring Viraemia of Carp, SVC)	Σχετική μείωση της προκαλούμενης θνησιμότητας είναι δυνατόν να επιτευχθεί με την χορήγηση φαρμακικών ιδιοσκευασμάτων με σκοπό τον έλεγχο δευτερογενών βακτηριακών επιμολύνσεων

6.7 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΓΛΥΚΩΝ ΝΕΡΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΜΥΚΗΤΕΣ (Γ. Σαββίδης 2000)

6.7.1 Βακτηριακά νοσήματα

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Ερυθροστοματίτιδα της Πέστροφας (Enteric Redmouth Disease, ERD)	Η ερυθροστοματίτιδα μπορεί να αντιμετωπιστεί επιτυχώς με την χορήγηση μέσω της τροφής διαφόρων αντιμικροβιακών ουσιών.
Ερυθροστοματίτιδα του Κυπρίνου (Carp Erythrodermatitis, CE)	Το νόσημα αντιμετωπίζεται με την χορήγηση αντιβιοτικών
Aeromonas και Pseudomonas	Η κατάσταση αντιμετωπίζεται κυρίως με την βελτίωση των συνθηκών εκτροφής και με την χορήγηση μέσω της τροφής των κατάλληλων αντιβιοτικών
Myxobacteria	Η αντιμετώπιση γίνεται κυρίως με την λήψη μέτρων βελτίωσης των επικρατουσών συνθηκών, την διενέργεια απολυμάνσεων με την χρήση απολυμαντικών μέσων (φορμόλη Chlormin T, τεταρτοταγείς ενώσεις αμμωνίου) καθώς και με την χορήγηση των κατάλληλων αντιμικροβιακών ουσιών

6.7.2 Μυκητιακά νοσήματα

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Ιχθυοσποριδίαση - Ιχθυοφονίαση (Ichthyosporidiosis – Ichthyophoniasis)	Θεραπευτικά δεν υπάρχει δυνατότητα παρέμβασης

Σαπρολεγκνίαση	Χρησιμοποιούνται αντιμυκητιακά λουτρά
----------------	---------------------------------------

6.8 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΓΛΥΚΩΝ ΝΕΡΩΝ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΠΑΡΑΣΙΤΑ (Γ. Σαββίδης 2000)

ΝΟΣΟΣ	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Ιχθυοφθειρίαση	Θεραπευτικά στην πράξη για την αντιμετώπιση της Ιχθυοφθειρίασης χρησιμοποιούνται διαλύματα φορμόλης και πράσινου του μαλαχίτη καθώς επίσης και χλωριούχο νάτριο
Τριχοδινίαση	Θεραπευτικά χρησιμοποιούνται κυρίως διαλύματα φορμόλης με μορφή λουτρών
Pseudodactylogyus στα βράγχια των Χελιών	Η θεραπεία της νόσου είναι αρκετά δύσκολη. Χρησιμοποιείται η Μεμπενταζόλη
Anguillicola crassus στη νηκτική κύστη των Χελιών	Η θεραπεία και η απαλλαγή της μονάδας από τα παράσιτα είναι δύσκολη. Η θεραπεία με λουτρά λεβαμιζόλης μακράς διάρκειας έχει κάποια αποτελέσματα
Δερμοκυστιδίωση των χελιών	Μπορεί να παρατηρηθεί βελτίωση της κατάστασης με την αλλαγή του υδάτινου περιβάλλοντος και την μετατροπή του γλυκού νερού σε υφάλμυρο(αλατότητα 10‰)
Μυξιδίωση των χελιών	
Ηπατική καπιλλαρίαση της πέστροφας	

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η υδατοκαλλιέργεια έχει αναπτυχθεί γρήγορα σε παγκόσμιο επίπεδο ως σημαντική βιομηχανία, παρέχοντας όχι μόνο οικονομικά έσοδα και προϊόντα υψηλής ποιότητας, αλλά και απασχόληση εκατοντάδων χιλιάδων ειδικευμένων και ανειδίκευτων εργαζομένων. Έχει προβλεφθεί μέχρι το 2050, ο συνολικός πληθυσμός του πλανήτη θα είναι περίπου 9 δισεκατομμύρια. Συνεπώς, η υδατοκαλλιέργεια θα διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην κάλυψη της αυξημένης ζήτησης πρωτεϊνούχων τροφίμων. Έχει διαπιστωθεί ότι όλα τα συστήματα ζωικής παραγωγής έχουν προκλήσεις που σχετίζονται με ασθένειες και ο καλύτερος τρόπος για την επίλυση του προβλήματος αυτού είναι συχνά μέσω αποτελεσματικών πρακτικών διαχείρισης μέσω της διαχείρισης των αποθεμάτων, του εδάφους, του νερού, της διατροφής και του περιβάλλοντος. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι συχνά εμφανίζονται προβλήματα που σχετίζονται με ασθένειες και επιδείνωση παραμέτρων ποιότητας περιβάλλοντος και ότι το τελικό αποτέλεσμα μπορεί να καταλήξει σε σοβαρές οικονομικές απώλειες. Ως εκ τούτου, οι ασθένειες στα συστήματα υδατοκαλλιέργειας θεωρούνται πλέον ως ένας από τους κρίσιμους περιοριστικούς παράγοντες σε αυτόν τον κλάδο και δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην επίλυση τους.

Πολλές επιστημονικές μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι οι μολυσματικές ασθένειες έχουν παραμείνει ως σημαντικό πρόβλημα στο σύστημα υδατοκαλλιέργειας παγκοσμίως και πρέπει να ληφθούν κατάλληλες προσεγγίσεις διαχείρισης για τον μετριασμό της επίδρασης των παθογόνων παραγόντων στα εκτρεφόμενα ζώα. Πρόσφατες μελέτες μέχρι σήμερα έχουν δείξει ότι πολλά αντιμικροβιακά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων των αντιβιοτικών, έχουν εγκριθεί και χρησιμοποιούνται σε πολλές χώρες για τη θεραπεία βακτηριακών ασθενειών στην υδατοκαλλιέργεια και ο αριθμός των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται σε συστήματα υδατοκαλλιέργειας έχει ασκήσει μια πολύ ισχυρή πίεση επιλογής προς τα βακτήρια αντίστασης.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός για την Υγεία των Ζώων (WOAH) έχει αναπτύξει πρότυπα στον Κώδικα Υγείας των Υδρόβιων Ζώων (AAHC) σχετικά με την υπεύθυνη και συνετή χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων σε υδρόβια ζώα. Έχει δημοσιευθεί κατάλογος των αντιμικροβιακών ουσιών κτηνιατρικής σημασίας (Παγκόσμιος Οργανισμός για την Υγεία των Ζώων 2015), ο οποίος στοχεύει στη

βελτιστοποίηση της ισορροπίας μεταξύ των αναγκών υγείας των ζώων και των προβλημάτων δημόσιας υγείας. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει εναρμονισμένο σύστημα επιτήρησης σε παγκόσμιο επίπεδο και η κυκλοφορία των αντιμικροβιακών παραγόντων στην υδατοκαλλιέργεια είναι ευρέως διαθέσιμη. Στον κόσμο, χρησιμοποιούνται αντιβακτηριακές χημικές ουσίες στην υδατοκαλλιέργεια για την πρόληψη και τη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων στα ψάρια και στα ασπόνδυλα. Παραδείγματος χάριν, στο Ηνωμένο Βασίλειο χρησιμοποιούνται 2 τόνοι αντιβιοτικών στην παραγωγή ψαριών (UK-VARSS 2014). Στον Καναδά και την Νορβηγία επιτρέπουν τη χρήση οξυτετρακυκλίνης, χλωρφαινικόλης και κινολονών στην υδατοκαλλιέργεια. Το κλασικό παράδειγμα είναι η χρήση της ποσότητας αντιβιοτικών για την καλλιέργεια σολομού όπου μπορεί να κυμαίνεται έως και 175 φορές (π.χ., 0,008-1,4 kg αντιμικροβιακού) και εξαρτάται από τη χώρα παραγωγής (Cabello et al., 2013). Το μεγαλύτερο ποσοστό αντιβιοτικών quinolone (κατά μάζα) που χρησιμοποιήθηκε στη Νορβηγία για παραγωγή σολομού ήταν 821.997 τόνοι το 2007), ακολουθούμενο από οξολινικό οξύ (681 kg το 2008), florfenicol, συνθετικό παράγωγο χλωραμφενικόλης (166 kg το 2010) και οξυτετρακυκλίνη kg το 2012) αντίστοιχα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aoki T, Kitao T, Kawano K. (1981). Changes in drug resistance of *Vibrio anguillarum* in cultured ayu, *Plecoglossus altivelis* Temminck and Schegel, in Japan. *J. Fish Dis.* 4:223-230.
- Austin B, Rayment J, Alderman DJ. (1983). Control of furunculosis by oxolinic acid. *Aquaculture*, 31:101-108.
- Aoki T, Kanazawa T, Kitao T. (1985). Epidemiological surveillance of drug resistant *Vibrio anguillarum* strains. *Fish Pathol.* 20:199-208.
- Alderman, D. J. (1988). Fisheries chemotherapy: a review. In *Recent advances in aquaculture* (pp. 1-61). Springer, Dordrecht.
- Austin B, Austin DA. (1993). *Bacterial Fish Pathogens*. 2nd ed. Ellis Horwood, Chichester.
- Athanassopoulou, F., Pappas, I. S., & Bitchava, K. (2009). An overview of the treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. *Options Méditerr Ser A*, 86, 65-83.
- Alves, E., Faustino, M. A., Tomé, J. P., Neves, M. G., Tomé, A. C., Cavaleiro, J. A., ... & Almeida, A. (2011). Photodynamic antimicrobial chemotherapy in aquaculture: photoinactivation studies of *Vibrio fischeri*. *PLoS One*, 6(6), e20970.
- Bryan LE. 1989. Two forms of antimicrobial resistance: bacterial persistence and positive function resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 23:817-819.
- Barnes AC, Hastings TS, Amyes SGB. (1994). Amoxycillin resistance in Scottish isolates of *Aeromonas salmonicida*. *J. Fish Dis.* 17:357-364.
- Barnes AC, Hastings TS, Amyes SGB. (1995). Aquaculture antibacterials are antagonized by seawater cations. *J. Fish Dis.* 18:463-466.
- Burka, J. F., Hammell, K. L., Horsberg, T. E., Johnson, G. R., Rainnie, D. J., & Speare, D. J. (1997). Drugs in salmonid aquaculture—a review. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 20(5), 333-349.

Chopra I. (1985). Mode of action of the tetracyclines and the nature of bacterial resistance to them. In: Hlavka JJ, Boothe JH. eds. Tetracycline. p. 317-392. Springer-Verlag. Berlin.

Courvalin P. (1990). Plasmid-mediated 4-quinolone resistance: a real or apparent absence? *Antimicrob. Agents Chemother.* 34:681-684.

Cherel P, Nin F. (1992). Antibiotherapy using biocarriers (*Artemia salina*) in hatcheries. In: Michel C, Alderman DJ. eds. *Chemotherapy in Aquaculture*. Office International des Epizooties, Paris, p. 389-393.

Capone, D. G., Weston, D. P., Miller, V., & Shoemaker, C. (1996). Antibacterial residues in marine sediments and invertebrates following chemotherapy in aquaculture. *Aquaculture*, 145(1-4), 55-75.

Chien, Y. H., Lai, H. T., & Liu, S. M. (1999). Modeling the effects of sodium chloride on degradation of chloramphenicol in aquaculture pond sediment. *Science of the total environment*, 239(1-3), 81-87.

Duis K, Inglis V, Beveridge MCM, Hammer C. (1995a). Leaching of four different antibacterials from oil- and alginate-coated fish-feed pellets. *Aquacult. Res.* 26:549-556.

Duis K, Hammer C, Beveridge MCM, Inglis V, Braum E. (1995b). Delivery of quinolone antibacterial to turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), via bioencapsulation: quantification and efficacy trial. *J. Fish Dis.* 18:229-238.

Daniel, P. (2009). Available chemotherapy in Mediterranean fish farming: use and needs. In *Options Mediterraneennes A, The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*. C. Rogers and B. Basurco (Eds). Series A: *Mediterranean Seminars, Zaragoza, CIHEAM/FAO, ISSN* (pp. 1016-121).

Ellis AE. (1991). Tissue residues of chemotherapeutants in fish. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 11:22-29.

Fribourgh JH, Meyer FP, Robinson JA. (1969). Oxytetracycline leaching from medicated fish feeds. *US Bur. Sport Fish. Wildl. Techn. Pap.* 40, p. 3-7.

Garrod, L. P., & O' Grady, F. (1971). Antibiotic and chemotherapy. *Antibiotic and chemotherapy.*, (3rd Edition).

Goldblatt MJ, Conclin DE, Brown WD. (1980). Nutrient leaching from coated crustacean rations. *Aquaculture*, 19:383-388.

Gudding, R., & Van Muiswinkel, W. B. (2013). A history of fish vaccination: science-based disease prevention in aquaculture. *Fish & shellfish immunology*, 35(6), 1683-1688.

Hastings TS, McKay A. (1987)P. Resistance of *Aeromonas salmonicida* to oxolinic acid. *Aquaculture*, 61:165-171.

Hooper DC, Wolfson JS. (1989). Mode of action of the quinolone antimicrobial agents - review of recent information. *Rev. Infect. Dis.* 11 (Suppl. 5):S902-S916.

Hamilton-Miller JMI. (1990). The emergence of antibiotic resistance: myths and facts in clinical practice. *Intens. Care Med.* 16 (Suppl. 13):206-211.

Høie S, Martinsen B, Sohlberg S, Horsberg TE. (1992). Sensitivity patterns of Norwegian clinical isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* to oxolinic acid, flumequine, oxytetracycline and sulphadiazine/trimethoprim. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 12:142- 144.

Inglis V, Frerichs GN, Millar SD, Richards RH. 1991. Antibiotic resistance of *Aeromonas salmonicida* isolated from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *J. Fish Dis.* 14:353- 358.

Inglis V, Richards RH. (1991). The in vitro susceptibility of *Aeromonas salmonicida* and other fishpathogenic bacteria to 29 antimicrobial agents. *J. Fish Dis.* 14:641-650.

Inglis V, Millar SD, Richards RH. (1993a). Resistance of *Aeromonas salmonicida* to amoxicillin. *J. Fish Dis.* 10:389-395.

Inglis V, Palmer R, Shatwell JP, Branson EJ, Richards RH. (1993b). Amoxicillin concentrations in the serum of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during furunculosis therapy. *Vet. Rec.* 133 (25/26):617-621.

Inglis V, Robertson D, Miller K, Thompson KD, Richards RH. (1996). Antibiotic protection against recrudescence of latent infection during vaccination against furunculosis. *J. Fish Dis.* 19:341-348.

Inglis V, Abdullah SZ, Angka SL, Chinabut S, Chowdhury MBR, Leano EM, MacRae IH, Sasongko A, Somsiri T, Yambot AV. (1997). Survey of resistance to antibacterial agents used in aquaculture in five South East Asian countries. In: Flegel TW, MacRae IH. eds. *Diseases in Asian Aquaculture III*. p. 331-337. Fish Health Sect., Asian Fish. Soc., Manila, Philippines.

Inglis, V. (2000). Antibacterial chemotherapy in aquaculture: review of practice, associated risks and need for action. In *Use of Chemicals in Aquaculture in Asia: Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia 20-22 May 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines* (pp. 7-22). Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.

Jacobsen MD. (1989). Withdrawal times of freshwater rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after treatment with oxolinic acid, oxytetracycline and trimetoprim. *J. Fish Dis.* 12:29- 36.

Kruse H. (1994). Antimicrobial resistance - epidemiological aspects. Thesis for degree of Doctor Scientiarum. Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo.

Lee SW, Edlin G. (1985). Expression of tetracycline resistance in PBR 322 derivatives reduces the reproductive fitness of plasmid-containing *Escherichia coli*. *Gene*, 39:173-180.

Levy SB. (1989). Evolution and spread of tetracycline resistance determinants. *J. Antimicrob. Chemother.* 24:1-3.

Lewin CS, Allen RA, Amyes SGB. (1990). Potential mechanisms of resistance to the modern fluorinated 4-quinolones. *J. Med. Microbiol.* 31:153-161.

Laanto, E., Bamford, J. K., Ravanti, J. J., & Sundberg, L. R. (2015). The use of phage FCL-2 as an alternative to chemotherapy against columnaris disease in aquaculture. *Frontiers in microbiology*, 6, 829.

Logothetis P.1*, Kanlis G.1, Nathanailides C.2, Poulos C.1, Dendrinis P.1 (2018)

Therapeutic approaches for monogenean gill parasitoses in Mediterranean fish culture: An overview Volos 2018

Mohney LL, Lightner DV, Williams RR, Brauerlein M. (1990). Bioencapsulation of therapeutic quantities of the antibacterial Romet-30 in nauplii of the brine shrimp *Artemia* and in the nematode *Panagrellus redivivus*. *J. World Aquacult. Soc.* 21:186-191.

Modi RI, Wilke CM, Rosenzweig RF, Adams J. (1991). Plasmid macro-evolution - selection of deletions during adaptation in a nutrient-limited environment. *Genetica*, 84:195-202.

Meier W, Schmitt M, Wahli T. (1992). Resistance of antibiotics used in the treatment of freshwater fish during a ten year period (1979-1988) in Switzerland. In: Michel C, Alderman DJ. eds. *Chemotherapy in Aquaculture*. Office International des Epizooties, Paris, p. 263- 275.

McCarthy ID, Houlihan DF, Carter CG, Moutou K. (1993). Variation in individual food consumption rates of fish and its implications for the study of fish nutrition and physiology. *Proc. Nutr. Soc.* 52:427-436.

Migliore, L., Cozzolino, S., & Fiori, M. (2000). Phytotoxicity to and uptake of flumequine used in intensive aquaculture on the aquatic weed, *Lythrum salicaria* L. *Chemosphere*, 40(7), 741-750.

Nouws JFM, Grondel JL, Boon JH, Van Ginneken VJT. (1992). Pharmacokinetics of antimicrobials in some fresh water fish species. In: Michel C, Alderman DJ. eds. *Chemotherapy in Aquaculture*. Office International des Epizooties, Paris, p. 437-447.

Prescott JJ, Baggot JD. (1988). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Blackwell Scientific Publications, Boston.

Pearson MD, Chanratchakool P. (1993). Leaching of oxytetracycline from surface-coated shrimp feed. Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Aquatic Animal Health and the Environment. 25-29 October, 1993, Phuket, Thailand. Scientific Sessions Abstracts, Abstract PP 30, p. 101. Fish Health Sect., Asian Fish. Soc.

Park, E. D., Lightner, D. V., & Park, D. L. (1994). Antimicrobials in shrimp aquaculture in the United States: regulatory status and safety concerns. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 1-20). Springer, New York, NY.

Rae GH. (1992). Constraints on chemotherapy: the fish farming industry view. In: Michel C, Alderman DJ. eds. *Chemotherapy in Aquaculture*. Office International des Epizooties, Paris. p. 95-102.

Roth, M., Richards, R. H., & Sommerville, C. (1993). Current practices in the chemotherapeutic control of sea lice infestations in aquaculture: a review. *Journal of Fish Diseases*, 16(1), 1-26.

Redshaw, C. J. (1995). Ecotoxicological risk assessment of chemicals used in aquaculture: a regulatory viewpoint. *Aquaculture Research*, 26(9), 629-637.

Smith HW. (1975). Persistence of tetracycline resistance in pig *E. coli*. *Nature*, 258:628-630.

Stamm JM. (1989). In vitro resistance by fish pathogen to aquaculture antibacterials, including the quinolones difloxacin (A-56619) and sarafloxacin (A-56620). *J. Aquat. Anim. Health* 1:135-141.

Schlotfeldt HJ. (1992). Current practices of chemotherapy in fish culture. In: Michel C, Alderman DJ. eds. *Chemotherapy in Aquaculture*. Office International des Epizooties, Paris, p. 25- 38.

Smith P, Hiney MP, Samuelson OB. (1994). Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Ann. Rev. Fish Dis.* 4:273-313.

Shao, Z. J. (2001). Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: current perspectives and future possibilities. *Advanced drug delivery reviews*, 50(3), 229-243.

Takashima N, Aoki T, Kitao T. (1985). Epidemiological surveillance of drug-resistant strains of *Pasteurella piscicida*. *Fish Pathol.* 20:209-217.

Verpraet R, Chair M, Leger P, Helis HJ, Sorgeloos P, de Leenheer A. (1992). Live-food-mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture: the enrichment of therapeutic in rotifers and *Artemia nauplii*. *Aquacult. Eng.* 11:133-139.

Κωλέτση Αθανασία , Νικολοπούλου Ασπασία Ειρήνη . Πτυχιακή εργασία
(Αντιβιοτικά στα ψάρια) ΤΕΙ Μεσολογγίου

Πράπας Α, Σαββίδης Γ, Αθανασοπούλου Φ, Χριστοφιλογιάννης Π, (Πρακτικός
οδηγός ιχθυοπαθολογίας) Υπουργείο Γεωργίας Γενική Δ/ση Αλιείας (2000)

Τσαντήλας Η, Γαλάτος Α.Δ., Αθανασοπούλου Φ : Περιοδικό της Ελληνικής
Κτηνιατρικής Εταιρείας 2005,56(2) journal of the Hellenic veterinary medical society
2005,56(2)<https://ejournals.epublishing.ekt.gr/index.php/jhvms/article/viewFile/15077/13>
557