ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ: «ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ-ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΥΔΡΟΒΙΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ»

ΛΑΤΤΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

Διερεύνηση της γενετικής ποικιλότητας βακτηρίων του είδους Photobacterium damselae sbsp. piscicida απομονωμένα από νοσούντα εκτρεφόμενα είδη ιχθύων στην Ελλάδα και ανθεκτικότητα των στελεχών του είδους σε αντιβιοτικά

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εξεταστική επιτροπή:

Μπιτχαβά Κωνσταντίνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια (Επιβλέπουσα)
Γουρζιώτη Ευγενία, Ερευνήτρια
Λάμπου Ειρήνη, Ερευνήτρια

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2023

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

UNIVERCITY OF IOANNINA
DEPARTMENT OF AGRICULTURE

UNIVERSITY OF THESSALY
FACULTY OF VETERINARY SCIENCE

UNIVERCITY OF THESSALY

SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

FACULTY OF VETERINARY SCIENCE

POSTGRADUATE STUDY PROGRAMME: «AQUACULTURE-AQUATIC ANIMAL HEALTH»

LATTOS ATHANASIOS

Investigation of bacterial genetic diversity of Photobacterium damselae sbsp. piscicida isolated from diseased cultured species and resistance of the bacterial strains in antibiotics

Master Thesis

Committee:

Bitchava Konstantina, Associate Professor (Supervisor)
Gourzioti Evgenia, Researcher
Lampou Eirini, Researcher

KARDITSA 2023

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Table of Contents

1. Εισαγωγή.....**7**

1.1. Υδατοκαλλιέργεια 7

1.2. Παστερέλλωση 9

1.3. Λοιμογόνοι Παράγοντες Βακτηρίων.....13

1.4. Παθογόνοι μηχανισμοί του βακτηρίου *Phdp*..... 14

1.5. Αντιβιοτικά και κίνδυνος χρήσης τους.....16

1.6. Στόχοι έρευνας.....18

2. Υλικά και Μέθοδοι.....19

2.1. Δειγματοληψία.....19

2.2. Μικροβιολογικές καλλιέργειες.....21

2.3. Μοριακή Ταυτοποίηση των βακτηρίων και φυλογενετική ανάλυση τους.....21

2.4. Ανίχνευση λοιμογονικών παραγόντων των βακτηριακών στελεχών.....22

2.5. Αντιβιόγραμμα.....23

3. Αποτελέσματα.....25

3.1. Μακροσκοπικά ευρήματα και ταυτοποίηση παθογόνου παράγοντα.....25

3.2. Ανίχνευση λοιμογονικών παραγόντων των βακτηρίων *Photobacterium* spp. 28

3.3. Αντιβιόγραμμα.....29

4. Συζήτηση.....33

5. Συμπεράσματα.....40

6. Βιβλιογραφία.....41

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Πρόλογος

Η μελέτη για την παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά το πρώτο εξάμηνο του ακαδημαϊκού έτους 2020-2021 στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Υδατοκαλλιέργειες-Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών», του τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η εργασία πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του κυρίας Κωνσταντίνας Μπιτχαβά, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας του τμήματος Γεωπονίας, του Πανεπιστημίου Αθηνών με συνεξεταστές την ερευνήτρια Γουρζιώτη Ευγενία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων και την ερευνήτρια Ειρήνη Λάμπου.

Αντικείμενο της συγκεκριμένης εργασίας αποτελεί η διερεύνηση την παρουσίας, της ανοχή στα εμπορικά αντιβιοτικά και η διερεύνηση του προφίλ λοιμογονικών παραγόντων των φωτοβακτηριδιών που προέρχονται από ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα μονάδων απ’ όλη την Ελλάδα.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω την τριμελή επιτροπή για την καθοδήγηση τους και ιδιαίτερα την επιβλέπουσα της εργασίας Αν. Καθηγήτρια κα. Κωνσταντίνα Μπιτχαβά για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια της στο στάδιο εκπόνησης της διατριβής.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένεια μου για την αμέριστη στήριξη τους σε όλο το διάστημα εκπόνησης της έρευνας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Περίληψη

Βακτήρια που ανήκουν στο είδος *Photobacterium damselae* αποτελούν παθογόνα για τα εκτρεφόμενα θαλάσσια είδη ιχθύων προκαλώντας νόσους υψηλής σημασίας όπως η παστερέλλωση. Συνεπώς αποτελούν αυτά τα είδη βακτηρίων και άμεση απειλή για τον κλάδο της υδατοκαλλιέργειας.

Παρόλη την σημασία που παρουσιάζει για την ελληνική οικονομία η υδατοκαλλιέργεια, τα συγκεκριμένα βακτήρια δεν έχουν διερευνηθεί σε ικανοποιητικό βαθμό στην Ελλάδα. Έχοντας αυτό υπόψιν, ο σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν να διερευνήσει την παρουσία, την αντοχή στα εμπορικά αντιβιοτικά και το προφίλ λοιμογονικών παραγόντων των φωτοβακτηριδιών που προέρχονται από ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα μονάδων απ’ όλη την Ελλάδα.

Τα δείγματα συλλέχθηκαν από τρία είδη ψαριών, Τσιπούρα, Λαβράκι, Φαγκρί από το Αιγαίο και το Ιόνιο πέλαγος από ψάρια που εμφάνιζαν σημάδια της νόσου. Δείγματα που πάρθηκαν από ιστούς καλλιεργήθηκαν σε μικροβιολογικές μέσα και οι αποικίες που προέκυψαν εξετάστηκαν μοριακά με ειδικούς και μη ειδικούς εκκινητές για φωτοβακτηρίδια. Επιπλέον, στα στελέχη που προέκυψαν διερευνήθηκε και η ύπαρξη λοιμογονικών παραγόντων όπως επίσης και το προφίλ ανθεκτικότητας που παρουσιάζουν στα αντιβιοτικά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τα βακτήρια που εντοπίστηκαν κατανέμονται σε όλες τις μονάδες που πάρθηκαν δείγματα και χαρακτηρίστηκαν από υψηλό βαθμό παθογένειας με βάση τα γονίδια που εντοπίστηκαν. Επιπλέον, η πλειονότητα των ανιχνευθέντων στελεχών εμφάνισε κάποια ανοχή σε ορισμένα αντιβιοτικά.

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα της έρευνας καταδεικνύουν την αναγκαιότητα για συστηματική παρακολούθηση και μελέτη της ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, εξαιτίας τους γεγονότος ότι αποτελούν μεγάλο κίνδυνο τα συγκεκριμένα στελέχη για τον κλάδο.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Abstract

Bacteria belonging to the species *Photobacterium damselae* are pathogens of cultured marine fish, causing diseases of high importance, such as Pasteurellosis. Thus, they are considered a major threat to the aquaculture sector.

Despite the great importance of fish mariculture for the Greek economy, the distribution and abundance of these bacteria are not well documented in aquaculture units in Greece. Keeping this in mind, the scope of the present study was to investigate the presence, antibiotic profile, and virulence of *Photobacterium* bacteria originating from a representative sample of mariculture units throughout Greece.

Samples were collected from diseased fish belonging to three different cultured fish species, namely *Sparus aurata*, *Dicentrarchus labrax,* and *Pagrus pagrus,* from both the Aegean and the Ionian Sea. Tissue samples were cultured in agar media, and bacteria were molecularly identified using both bacterial universal and species-specific primer pairs for *Photobacterium* spp. Additionally, the identified strains were characterized for the presence of virulence genes as well as antibiotic profiles.

According to the results, the aforementioned bacteria are distributed in the Greek aquaculture units and are characterized by high pathogenicity based on the abundance of virulence genes. Furthermore, the majority of the detected strains exhibit some level of antibiotic resistance.

In summary, our results indicate the need for systematic surveillance and study of their antibiotic profiles in Greek aquaculture since these bacteria constitute a major threat to the sector.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

1. Εισαγωγή

1.1. Υδατοκαλλιέργεια

Η υδατοκαλλιέργεια είναι ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος κλάδος παραγωγής τροφίμων στον κόσμο, με μέσο ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης 8,9% από το 1970, σε σύγκριση με μόλις 1,2% για την αλιεία και 2,8% για τα χερσαία συστήματα παραγωγής κρέατος εκτροφής την ίδια περίοδο [1,2]. Τα πιο πρόσφατα στατιστικά στοιχεία δείχνουν ότι ο τομέας έφτασε σε υδρόβια παραγωγή 9,4% ετήσιο ποσοστό αύξησης (ΣΕΠΕ) σε σύγκριση με την παραγωγή κρέατος εκτρεφόμενων χερσαίων ζώων όπως οι χοίροι (ΑΠΡ 3,1%), τα πουλερικά (5,1%), το βόειο κρέας και τα άλευρα (APR 1,2%) και τα υπόλοιπα είδη ζωικής παραγωγής (αμνοερίφια) (APR 1,0%) [1]. Η κατά κεφαλήν προσφορά από την υδατοκαλλιέργεια αυξήθηκε από 0,7 kg το 1970 σε 6,4 kg το 2002, δίνοντας ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης 7,2%. Το 2002, η συνολική παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιέργειας (συμπεριλαμβανομένων των υδρόβιων φυτών) αναφέρθηκε ότι ήταν 51,4 εκατομμύρια τόνοι κατ' όγκο και 60,0 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ κατ' αξία [1,2]. Αυτό αντιπροσωπεύει ετήσια αύξηση 6,1% σε όγκο και 2,9% σε αξία, αντίστοιχα, σε σχέση με τα αναφερόμενα στοιχεία για το 2000. Η Ασία παρήγαγε το 91,2% (κατ' όγκο) και το 82,0% (κατ' αξία) της παγκόσμιας παραγωγής υδατοκαλλιέργειας. Από το παγκόσμιο σύνολο, η Κίνα παρήγαγε το 71,2% του συνολικού όγκου και το 54,7% της συνολικής αξίας της παραγωγής υδατοκαλλιέργειας. Το 2002, οι άλλοι εννέα κορυφαίοι παραγωγοί ήταν η Ινδία, η Ινδονησία, η Ιαπωνία, το Μπαγκλαντές, η Ταϊλάνδη, η Νορβηγία, η Χιλή, το Βιετνάμ και οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής [1,2]. Η πλειονότητα της υδατοκαλλιέργειας παραγωγής ψαριών, μαλακόστρακων και μαλακίων

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

συνεχίζει να προέρχεται από εκτροφή σε εσωτερικά ύδατα (57,7% κατ' όγκο και 48,4% κατ' αξία). Η θαλάσσια καλλιέργεια συνεισφέρει το 36,5% της παραγωγής και το 35,7% της συνολικής αξίας. Αν και η παραγωγή σε υφάλμυρο νερό αντιπροσώπευε μόνο το 5,8% του όγκου παραγωγής το 2002, συνεισέφερε το 15,9% της συνολικής αξίας, αντικατοπτρίζοντας την εξέχουσα θέση των μαλακόστρακων και των ψαριών υψηλής αξίας [1].

Η υδατοκαλλιέργεια είναι μια σημαντική κοινωνικοοικονομική δραστηριότητα, ειδικά για τις αγροτικές κοινότητες, που συμβάλλει στη διαβίωση, την επισιτιστική ασφάλεια και την ανακούφιση της φτώχειας μέσω μηχανισμών όπως η δημιουργία εισοδήματος, η απασχόληση, οι υπηρεσίες, η χρήση τοπικών πόρων, οι διαφοροποιημένες γεωργικές πρακτικές, το εγχώριο και διεθνές εμπόριο και άλλες οικονομικές επενδύσεις που εξυπηρετούν τον κλάδο [1].

Σύμφωνα με τον Tacon [3], τα προϊόντα αλιείας και υδατοκαλλιέργειας, το «ψάρι ως τροφίμο», έχει διατροφικό προφίλ ανώτερο από όλα τα χερσαία είδη ζωικής παραγωγής, καθώς είναι εξαιρετική πηγή ζωικής πρωτεΐνης υψηλής ποιότητας και εξαιρετικά εύπεπτης ενέργειας, καθώς και εξαιρετικά πλούσια πηγή ωμέγα-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), λιποδιαλυτών βιταμίνες (A, D και E), υδατοδιαλυτές βιταμίνες (σύμπλεγμα B) και μέταλλα (ασβέστιο, φώσφορος, σίδηρος, ιώδιο και σελήνιο). Επί του παρόντος, τα ιχθυηρά αντιπροσωπεύουν την πρωταρχική πηγή ζωικής πρωτεΐνης (συνεισφέροντας περισσότερο από το 25% της συνολικής προσφοράς ζωικής πρωτεΐνης) για περίπου ένα δισεκατομμύριο ανθρώπους σε 58

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

χώρες παγκοσμίως, συμπεριλαμβανομένων πολλών αναπτυσσόμενων χωρών και χωρών με χαμηλό εισόδημα με τροφικό έλλειμμα (η τιμή δεν περιλαμβάνει την Κίνα)[4]. Η κατανάλωση ωμέγα-3 λιπαρών οξέων προερχόμενη από ιχθυηρά (συμπεριλαμβανομένων αυτών από την υδατοκαλλιέργεια) έχει αποδειχθεί ότι προλαμβάνει ή βελτιώνει ορισμένους τύπους ασθενειών (για παράδειγμα τη ρευματοειδή αρθρίτιδα) [4].

Λαμβάνοντας υπόψη την παγκόσμια αύξηση του πληθυσμού, είναι σαφές ότι η μελλοντική ζήτηση για υδρόβια προϊόντα, ακόμη και στο σημερινό επίπεδο της κατά κεφαλήν κατανάλωσης, δεν μπορεί να καλυφθεί από την αλιεία και ως εκ τούτου, το μεγαλύτερο μέρος θα πρέπει να προέλθει από την υδατοκαλλιέργεια. Ο στόχος αυτός αντιμετωπίζει σημαντικές προκλήσεις, συμπεριλαμβανομένης της διαχείρισης της υγείας των υδρόβιων ζώων, που αποτελεί ήδη έναν από τους σημαντικότερους περιορισμούς για την ανάπτυξη και την επέκταση του τομέα [1,2].

1.2. Παστερέλλωση

Ο τομέας της υδατοκαλλιέργειας είναι ένας από τους ταχύτερα αναπτυσσόμενους κλάδους στη βιομηχανία τροφίμων, παρέχοντας ψάρια και οστρακοειδή για ανθρώπινη κατανάλωση παγκοσμίως [5–8]. Αν και θεωρείται να είναι ο κύριος προμηθευτής ζωικής θαλάσσιας πρωτεΐνης για ανθρώπινη κατανάλωση, η εντατικοποίηση της παραγωγής, ως αποτέλεσμα της υψηλής ζήτησης συνεπάγεται

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

προβλήματα παραγωγής και σε πολλές περιστάσεις, κρούσματα μολυσματικών ασθενειών [9,10]. Περιστασιακά, οι απώλειες παραγωγής στον κλάδο της υδατοκαλλιέργειας, συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με εμφάνιση μολυσματικών ασθενειών [11]. Οι εξάρσεις ασθενειών θεωρούνται σημαντική απειλή για τον τομέα της υδατοκαλλιέργειας παγκοσμίως και εκτιμάται ότι κοστίζει πολλά δισεκατομμύρια δολάρια ετησίως, θέτοντας σε κίνδυνο μεγάλες επενδύσεις [12]. Επιπλέον, η κλιματική αλλαγή τείνει να εντείνει τα κρούσματα μολυσματικών ασθενειών τόσο σε άγριους όσο και σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς με αρνητικές επιπτώσεις στο κόστος παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας [13].

Η μόλυνση από το *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* (Phdp), επίσης γνωστή ως Παστερέλλωση, είναι μια βακτηριακή σηψαιμική νόσος που προσβάλει λοιμώξεις σε ένα ευρύ φάσμα ειδών τόσο στο θαλάσσιο περιβάλλον όσο και σε είδη που ενδημούν στα εσωτερικά ύδατα, προκαλώντας τεράστιες οικονομικές απώλειες στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας παγκοσμίως [14–16].

Το αλόφιλο βακτήριο *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* (πρώην *Pasteurella piscicida*) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της παστερέλλωσης. Λόγω αυτής της αλλαγής στη θέση ταξινόμησης του αιτιολογικού παράγοντα της παστερέλλωσης, ορισμένοι συγγραφείς έχουν μετονομάσει αυτή τη νόσο ως φωτοβακτηριδίωση [14].

Η ασθένεια περιγράφηκε για πρώτη φορά σε άγριους πληθυσμούς της λευκής πέρκας (*Morone americanus*) και του είδους *Morone saxatilis* το 1963, όταν μια μαζική έξαρση συνέβη στον κόλπο Chesapeake (ΗΠΑ) [16]. Ο Sniezsko και οι συνάδελφοί του κατέταξαν τον μικροοργανισμό που

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

απομονώθηκε κατά τη διάρκεια αυτού του περιστατικού ως πρώτο περιστατικό του γένους *Pasteurella* στη βάση των μορφολογικών και βιοχημικών ιδιοτήτων του.

Αργότερα, οι Jansen και Surgalla [13-16] μελέτησαν τον μικροοργανισμό και βρήκαν επαρκείς διακρίσεις σε φυσιολογικά και ορολογικά χαρακτηριστικά από άλλα είδη του γένους και προτάθηκε έτσι η επαναταξινόμηση του με το νέο όνομα του είδους *Pasteurella piscicida*. Λίγα χρόνια αργότερα, η παστερέλλωση προκάλεσε σοβαρά προβλήματα στα είδη *Seriola quinqueradiata* και *Plecoglosus altivelis* σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς στην Ιαπωνία [13, 16]. Στην συνεχεία, η ασθένεια εξαπλώθηκε σε άλλα είδη ψαριών στην Ιαπωνία και αρκετές εξάρσεις της νόσου περιγράφηκαν και σε άλλα είδη όπως το είδος *Acanthopagrus schlegeli*, η κόκκινη σφυρίδα *Epinephelus akaara*, το είδος *Navodan modestus* και υβριδικό είδος *M. saxatilis* (*M. chrysops*) [13].

Στην Ευρώπη, απομόνωση του βακτηρίου από τα είδη *Scardinius erythrophthalmus*, *Coregonus zenithicus*, Salmo salar, Salmo trutta, Silurus glanis αναφέρθηκε σε διαφορετικές χώρες όπως η Αγγλία, η Νορβηγία και η Ουγγαρία, αλλά ο μολυσματικός παράγοντας επιβεβαιώθηκε αργότερα ως το βακτήριο *Aeromonas salmonicida*. Καμία περίπτωση παστερέλωσης δε σημειώθηκε στην ήπειρο μέχρι το 1990. Ο Τοράντζο et al. [14] περιέγραψε την πρώτη έξαρση της νόσου στην Ισπανία, η οποία επηρέασε πληθυσμούς από νεαρές τσιπούρες του είδους *Sparus aurata* στη βορειοδυτική περιοχή. Σχεδόν ταυτόχρονα, εμφανίστηκαν και κρούσματα παστερέλωσης στη νοτιοδυτική Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία, Ισραήλ, Ελλάδα και Πορτογαλία, κυρίως σε πληθυσμούς τσιπούρας και λαβρακιού [14]. Έκτοτε η παστερέλλωση έχει γίνει ένας

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

σημαντικός περιοριστικός παράγοντας στην καλλιέργεια αυτών των ειδών ψαριών στην περιοχή της Μεσογείου.

Σήμερα, οι φυσικοί ξενιστές του παθογόνου είναι μία μεγάλη ποικιλία θαλάσσιων ψαριών. Η παστερέλλωση είχε μεγάλο οικονομικό αντίκτυπο στην Ιαπωνία, όπου επηρεάζει κυρίως την καλλιέργεια του είδους *Seriola quinqueradiata*, και στον χώρο της Μεσογείου, λόγω των απωλειών που προκαλεί σε τσιπούρες και λαβράκια. Για αυτούς τους λόγους, πολλές πτυχές της νόσου και του αιτιολογικού παράγοντα *P. damselae* subsp. *piscicida* έχουν μελετηθεί εκτενώς, με αποτέλεσμα μια αρκετά πλήρη εικόνα της παστερέλωσης των ψαριών [14].

Η χρόνια μορφή της νόσου χαρακτηρίζεται από τυπικά υπόλευκα φυμάτια σε εσωτερικά όργανα, τα οποία αποτελούνται από συσσωρεύσεις βακτηρίων [16,17]. Από την άλλη πλευρά, στην οξεία μορφή της νόσου, τα κλινικά σημεία είναι συνήθως δυσδιάκριτα, εκτός από ελαφριά αιμορραγία στον ξενιστή [16]. Η παστερέλλωση έχει χαρακτηριστεί ως «ψευδοφυματίωση» [15,16,18] λόγω της υψηλής ομοιότητας των κλινικών σημείων της νόσου με τα κλινικά σημεία της μυκοβακτηριδίωσης. Έχει αποδειχθεί ότι οι συνθήκες καταπόνησης, όπως η απώλεια του βλεννογόνου, οι δερματικές βλάβες και χαμηλή ποιότητα νερού, εμπλέκονται στη μετάδοση του παθογόνου μέσω των βραγχίων, του δέρματος και του εντέρου [19].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

1.3. Λοιμογόνοι παράγοντες βακτηρίων

Ιστορικά, ο ακριβής ορισμός της λοιμογόνου δράσης ήταν δυσνόητος επειδή η λοιμογόνος δύναμη είναι μόνο ένα αποτέλεσμα που προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ μικροβίων και ξενιστή. Συνεπώς, υπάρχουν πολυάριθμοι ορισμοί για τη μολυσματικότητα στη βιβλιογραφία που έχουν διατυπωθεί όπως μικροβιακή παθογένεση, που αναφέρεται ο ορισμός με με επίκεντρο το μικρόβιο και τον ξενιστή [20].

Για την υιοθέτηση ενός ορισμού αποδεκτού από την επιστημονική κοινότητα χρησιμοποιήθηκε το πλαίσιο βλάβης – απόκρισης του ξενιστή που βασίζεται σε τρεις αρχές οι οποίες ωστόσο είναι αυτονόητες και αδιαμφισβήτητες: (1) Μικροβιακή παθογένεια, το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο οντοτήτων, δηλαδή ένα συγκεκριμένο μικρόβιο και ο ξενιστής του. (2) Το σχετικό αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης ξενιστή - μικροβίου καλείται αλλοίωση για τον ξενιστή και (3) Η ζημιά του ξενιστή μπορεί να αντικατοπτρίζει τη δράση μικροβιακών παραγόντων, την απόκριση του ξενιστή ή και τα δύο [17-20]. Η ζημιά δεν αποτελεί μια σταθερή έκβαση, αλλά μπορεί να μεταβληθεί σε συνάρτηση της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή ή του χρόνου [20]. Στο ίδιο πλαίσιο βλάβης-απόκρισης, παθογόνος ονομάζεται ο μικροοργανισμός που μπορεί να προκαλέσει ζημιά στον ξενιστή, λοιμογόνος δύναμη είναι η σχετική ικανότητα του μικροβίου να προκαλεί βλάβη σε έναν ευάλωτο οργανισμό και παράγοντας λοιμογόνου δράσης, ένα μικροβιακό συστατικό η διεργασία, που μπορεί να βλάψει τον ευάλωτο ξενιστή [18-20].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

1.4. Παθογόνοι μηχανισμοί του βακτηρίου *Phdp*

Οι λοιμογόνοι παράγοντες αυτού του παθογόνου περιλαμβάνουν την εξωτοξίνη της μεταλλοπρωτεάσης A-B (AIP56) που εκκρίνεται άφθονα από παθογόνα στελέχη [8-10]. Η τοξίνη AIP56 προκαλεί απόπτωση σε μακροφάγα και ουδετερόφιλα των ψαριών, μειώνοντας την φαγοκυτταρική άμυνα, ευνοώντας τη διάδοση των παθογόνων και προάγοντας επίσης την απελευθέρωση του περιεχομένου των φαγοκυττάρων που προκαλεί στον ιστό αλλοίωση [9,11,12]. Εκτός από το AIP56, μια άλλη άφθονη πρωτεΐνη ανιχνεύτηκε στα εξωκυτταρικά προϊόντα του *Phdp.* Είναι μια πρωτεΐνη 55 kDa (P55) που προσδιορίζεται ως πρωτεΐνη της οικογένειας NlpC/P60. Αν και δεν έχει χαρακτηριστεί ο ρόλος της συγκεκριμένης πρωτεΐνης στο *Phdp*, ομόλογες πρωτεΐνες έχουν δείξει να διαδραματίζουν ρόλο στην λοιμογονικότητα gram αρνητικών βακτηρίων αλλά και στην λοιμογονικότητα *Mycobacterium marimum* κατά την διάρκεια λοίμωξης στο Danio rerio [15,16].

ΔΟι ικανότητες προσκόλλησης και εισβολής στον ξενιστή, είναι απαραίτητες στα αρχικά στάδια αρκετών βακτηριακών λοιμώξεων. Το *Phdp* έχει αναφερθεί ότι έχει ασθενώς ή μέτρια συγκολλητική και διεισδυτική ικανότητα σε ορισμένες κυτταρικές σειρές ψαριών [13,14], σε μακροφάγα [15] και είναι ιδιαίτερα προσκολλητική στα εντερικά κύτταρα [17]. Σε περιστατικό θνησιμοτήτων ο εντοπισμός μιας λιποπρωτεΐνης (PDP_0080) που εμπλέκεται στην προσκόλληση του βακτηρίου στα επιθηλιακά κύτταρα είχε ως αποτέλεσμα την περαιτέρω μελέτη της [18]. Ως αποτέλεσμα, ο εμβολιασμός του *λαβρακιού* με ανασυνδυασμένη λιποπρωτεΐνη PDP_0080 οδήγησε σε αυξημένη επιβίωση όταν τα ψάρια προσβλήθηκαν με *Phdp*. Ωστόσο, πληροφορίες

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

σχετικά με την in vivo έκφραση των παραγόντων λοιμογόνου δράσης που συμβάλλουν σε εισβολή *Phdp* στα κύτταρα των ψαριών, είναι ακόμη ανεπαρκείς.

Όταν η ποσότητα ελεύθερου σιδήρου στους μολυσμένους ξενιστές είναι εξαιρετικά περιορισμένη, τα παθογόνα πρέπει να ξεπεράσουν αυτή την δυσμενή κατάσταση έτσι ώστε να επιβιώσουν. Το *Phdp* είναι σε θέση να αποκτήσει σίδηρο από την αιμίνη και την αιμοσφαιρίνη με μηχανισμούς που διαθέτει [18,19]. Ένα σύστημα πρόσληψης αίμης κωδικοποιημένο σε εννέα γονίδια διατεταγμένα σε δύο οπερόνια, hutWXZ και tonBexbBDhutBCD, επιτρέπει στο *Phdp* να εκκρίνει πρωτεΐνες για να εξάγει την αίμη από την αιμογλοβίνη που περιέχει πρωτεϊνικό σύμπλεγμα και να την μεταφέρει σε έναν υποδοχέα εξωτερικής μεμβράνης [16]. Στη συνέχεια, η αίμη μεταφέρεται στο περίπλασμα από το σύστημα TonB, διασχίζοντας τελικά την κυτταροπλασματική μεμβράνη με δέσμευση από το ATP σύστημα κασέτας [21]. Σε αυτή τη διάταξη, τα γονίδια tonBexbBD κωδικοποιούν τα στοιχεία του συστήματος Ton, τα γονίδια hutBCD, την περιπλασματική πρωτεΐνη δέσμευσης αιμίνης, την περμεάση της εσωτερικής μεμβράνης και την πρωτεΐνη Μεταφορέα ABC ATPase [20]. Επιπλέον, η ικανότητα απομάκρυνσης σιδήρου από τον ξενιστή χρησιμοποιώντας υψηλής συγγένειας σιδηροφόρα που δεσμεύουν τον σίδηρο έχουν επίσης αναφερθεί στο *Phdp* [18,22], όπως επίσης και σιδηροφόρα που ονομάζονται πισιβακτίνες και κωδικοποιούνται σε ένα σύμπλεγμα γονιδίων που μοιάζει με το νησί υψηλής παθογένειας που συντίθεται από το βακτήριο *Yersinia* spp. [23]. Αυτό το σιδηροφόρο συντίθεται μέσω ενός μηχανισμού με συμμετοχή μη ριβοσωματικών πεπτιδικών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

συνθετάσεων συμπεριλαμβανομένου ενός που κωδικοποιείται στο γονίδιο irp1 [25].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

1.5. Αντιβιοτικά και κίνδυνος χρήσης τους

Τα αντιβιοτικά είναι η πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια στις εξάρσεις παστερέλλωσης στην υδατοκαλλιέργεια [13], ωστόσο θα πρέπει να σημειωθεί ότι η γνώση όσον αφορά τη μετάδοση της νόσου είναι ακόμη ελλιπής. Λαμβάνοντας υπόψη τον αναδυόμενο κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών, οι τρέχουσες προσπάθειες επικεντρώνονται στην αποτελεσματική ανάπτυξη εμβολίων για την πρόληψη των εστιών αυτής της ασθένειας [13]. Στην περίπτωση των μολυσματικών ασθενειών, οι χημειοθεραπευτικές πρακτικές περιλαμβάνονται και αυτές στην αντιμετώπιση παθογόνων βακτηρίων [20]. Για την πρόληψη και τη θεραπεία ασθενειών, μια μεγάλη ποικιλία αντιβιοτικών έχει χρησιμοποιηθεί εντατικά στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας [21]. Ωστόσο, εμφανίστηκαν πολλές απειλές τα τελευταία χρόνια στην χρήση αυτών των χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Ιδιαίτερα τα αντιβιοτικά έχουν δημιουργήσει προβλήματα συνήθως σε υπεράκτια συστήματα εκτροφής ιχθύων, καθώς και σε χερσαία συστήματα εκτροφής, όπως αυτά της καλλιέργειας ιριδίζουσας πέστροφας και γαρίδας [21,22]. Τα αντιβιοτικά μπορούν να δράσουν ως αναστολείς στον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων με μια πληθώρα μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της αναστολής δημιουργίας κυτταρικών τοιχωμάτων, αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης, αναστολή στη σύνθεση νουκλεϊκού οξέος και αντιμεταβολιτική δράση, δρώντας ταυτόχρονα ως τοξικοί ρυπαντές στο περιβάλλον [23,25].

Η χορήγησή τους λαμβάνει χώρα συνήθως ως συμπλήρωμα στη ζωοτροφή ή με εμβάπτιση του εκτρεφόμενου ζωικού κεφαλαίου σε κλειστές δεξαμενές [25].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Όσον αφορά τη χρήση αντιβιοτικών και τα μέγιστα όρια υπολειμμάτων στην υδατοκαλλιέργεια, η χρήση των αντιβιοτικών ρυθμίζεται από τους κανονισμούς του Συμβουλίου της ΕΕ αριθ. 37/2010, αριθ. 470/2009 και αριθ. 6/2019.

Μετά τη χρήση αντιβιοτικών συμπληρωματικών στη διατροφή, ένα μέρος των αντιβιοτικών καταλήγει άμεσα στο περιβάλλον από την διάσπαση της τροφής στο νερό. Ένα άλλο μέρος εκκρίνεται από τα ψάρια μέσω των κοπράνων ως μέρος που δεν απορροφάται, και το απορροφούμενο μέρος των αντιβιοτικών απελευθερώνεται από τα ούρα και άλλες εκκρίσεις [26-26].

Αυτά τα υπολείμματα αντιβιοτικών συσσωρεύονται στο περιβάλλον (ιζήματα, κλωβοί καλλιέργειας) και παραμένουν ενεργά ανάλογα με τον κύκλο ζωής τους και άλλους αβιοτικούς παράγοντες [23,29,30] Στη συνέχεια, τα υπολείμματα αντιβιοτικών μπορούν να προκαλέσουν αντοχή στα αντιβιοτικά ακόμη και σε ελάχιστες συγκεντρώσεις, προάγοντας την ανάπτυξη των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά βακτηρίων στις μονάδες εκτροφής [31-33]. Τα αντιβιοτικά με άδεια χρήσης στην Ελλάδα που προορίζονται για ψάρια είναι: οξυτετρακυκλίνη, φλορφενικόλη, φλουμεκίνη, οξολινικό οξύ και σουλφαμεθοξαζόλη/τριμεθοπρίμη και χρησιμοποιήθηκαν όλα για τα προφίλ αντιβιοτικών στην παρούσα μελέτη. Η χρήση αντιμικροβιακών σε κάθε ανθρώπινη δραστηριότητα έχει άμεσο αντίκτυπο στο περιβάλλον. Η αντοχή στα αντιβιοτικά είναι ένα σημαντικό πρόβλημα σε διάφορες ανθρώπινες δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένων των υδατοκαλλιεργειών. Επιπρόσθετα, οι τυφλές θεραπείες με αντιβιοτικά προκαλούν ανθεκτικότητα, και ως εκ τούτου η θεραπεία των ψαριών με αντιβιοτικά πρέπει να γίνεται μόνο μετά τη διεξαγωγή ενός

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

αντιβιογράμματος.

Επιπλέον, η μετάδοση ανθεκτικών γονιδίων μεταξύ θαλάσσιων και χερσαίων βακτηρίων μπορεί να ενέχουν μεγάλους κινδύνους τόσο στη δημόσια υγεία για τη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων όσο και στην υδατοκαλλιέργεια για τον ίδιο λόγο.

1.6. Στόχοι έρευνας

Η ελληνική υδατοκαλλιέργεια είναι εξαιρετικά μεγάλης αξίας και σημασίας για την εθνική οικονομία, ενώ έχει κυρίως εξαγωγικό χαρακτήρα. Η Ελλάδα τοποθετείται σε μια από τις πρώτες θέσεις στην παραγωγή τσιπούρας παγκοσμίως [35,36]. Ωστόσο, παρά τον καθοριστικό ρόλο του *Phdp* για τον κλάδο, η παρουσία μολυσματικών παραγόντων στο γονιδίωμα στελεχών που απομονώθηκαν από ελληνικές θαλάσσιες ιχθυοκαλλιέργειες δεν έχει τεκμηριωθεί καλά. Πρέπει να επισημανθεί ότι η ελληνική υδατοκαλλιέργεια, σύμφωνα με παγκόσμιες τάσεις, συχνά υποφέρει από εξάρσεις ασθενειών, χωρίς να εξετάζονται λεπτομερώς οι αιτιολογικοί παράγοντες.

Έχοντας αυτό υπόψη, στόχος αυτής της έρευνας ήταν να διερευνήσει την παρουσία και να ταυτοποιήσει το υποείδος *Photobacterium damselae* σε μονάδες υδατοκαλλιέργειας παράλληλα με την ανίχνευση παραγόντων λοιμογόνου δράσης μεταξύ των ανιχνευθέντων στελεχών που φιλοξενούν διάφορα είδη ψαριών, καθώς επίσης να εκτιμηθεί η βιοποικιλότητα και η γενετική τους ποικιλότητα και τέλος την ευαισθησία τους σε εμπορικά χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για όλα τα ζωικά είδη.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Δειγματοληψία

Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν από ελληνικές εταιρείες υδατοκαλλιέργειας κατά τη διάρκεια εξάρσεων της νόσου που παρατηρήθηκαν στην περίοδο 2019–2021 (Πίνακας 1). Οι περισσότερες από τις ελληνικές μονάδες που έγιναν δειγματοληψίες βρίσκονται κοντά στην ακτογραμμή. Στην περιοχή της Θεσπρωτίας, τα δείγματα συλλέχθηκαν από μονάδες που απέχουν 150–800 μ. από την ακτογραμμή, ενώ το ίδιο ισχύει και για τις υπόλοιπες μονάδες από τις οποίες απομονώθηκαν τα στελέχη. Το σύστημα σε όλες τις εκτροφές ήταν εντατικής καλλιέργειας και τα δείγματα ελήφθησαν από μικρές εταιρείες παραγωγής 500 περίπου τόνων ετησίως. Όλες οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε περιστατικά έξαρσης της ασθένειας, την Άνοιξη και το Φθινόπωρο, με τις θερμοκρασίες του θαλασσινού νερού να κυμαίνονται πάνω από τους 20 ^{o}C. Τα δείγματα αποτελούνταν από 8-10 ψάρια ανά κλουβί και υποβάλλονταν σε ευθανασία με υπερδοσολογία φαινοξυαιθανόλης. Τα ψάρια εξετάστηκαν για την παρουσία παρασίτων και βακτηρίων προκειμένου να βρεθεί ο αιτιολογικός παράγοντας των εξάρσεων θνησιμότητας. Για την παρουσία βακτηρίων, συλλέχθηκαν δείγματα άσηπτα από τον σπλήνα και τον πρόσθιο νεφρό νοσούντων ψαριών. Τα στελέχη που αναλύθηκαν σε αυτή τη μελέτη ανήκουν σε διαφορετικές εκτροφές που είχαν κρούσματα ασθενειών σε διαφορετικά χρονικά σημεία (Πίνακας 1).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Κωδικός δειγματοληψίας	Μοριακή ταυτοποίηση	Μήνας δειγματοληψίας	Θερμοκρασία νερού (° C)	Περιοχή	Ξενιστής
222	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Οκτώβριος 2019	24	Θεσπρωτία	sea bass
407	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	21	Θεσπρωτία	red porgy
354	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Οκτώβριος 2020	22	Χαλκιδική	sea bass
415	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	21	Θεσπρωτία	red porgy
120	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Οκτώβριος 2019	25	Εύβοια	sea bass
214	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Οκτώβριος 2019	22	Χαλκιδική	sea bream
355	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Οκτώβριος 2020	25	Θεσπρωτία	red porgy
367	*P. damselae* sbsp. *damselae*	Οκτώβριος 2020	24	Θεσπρωτία	sea bass
228	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Δεκέμβριος 2020	21	Αιγαίο πέλαγος	sea bream
399	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	23	Πελοπόννησος	sea bass
406	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	23	Πελοπόννησος	sea bass
400	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	22	Πελοπόννησος	sea bass
371	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Δεκέμβριος 2021	17	Θεσπρωτία	sea bream
417	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	23	Πελοπόννησος	sea bream
405	*P. damselae* sbsp. *piscicida*	Νοέμβριος 2021	20	Θεσπρωτία	red porgy

Πίνακας 1. Κωδικός δείγματος, Ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους, μήνας δειγματοληψίας, θερμοκρασία δειγματοληψίας, μέρος δειγματοληψίας και ξενιστής στο οποίο απομονώθηκαν τα στελέχη Phdp.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

2.2. Μικροβιολογικές καλλιέργειες

Τρυπτικάση σόγια άγαρ (TSA, Oxoid) συμπληρωμένο με 2% αλάτι (NaCl) και αιματούχο άγαρ χρησιμοποιήθηκαν ως μη εκλεκτικά μέσα για την απομόνωση οποιουδήποτε πιθανού βακτηριακού μικροοργανισμού εμπλέκεται στις εξάρσεις της νόσου. Τα τρυβλία μετά την σπορά επωάστηκαν για 24-48 ώρες στους 25°C και παρατηρήθηκαν για την ανάπτυξη βακτηρίων. Για απομόνωση, επιλέχθηκαν μεμονωμένες αποικίες και αναπτύχθηκαν σε νέα τρυβλία. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε ζωμός τρυπτικής σόγιας (TSB, Oxoid) με 2% NaCl για την συντήρηση των στελεχών στους -80 ^{o}C σε τελική αραίωση με παρουσία γλυκερόλης σε ποσοστό 15%.

2.3. Μοριακή Ταυτοποίηση των βακτηρίων και φυλογενετική ανάλυση τους

Καθαρές καλλιέργειες βακτηρίων που αποθηκεύτηκαν στους -80 ^{o}C, επωάστηκαν σε TSA άγαρ με προσθήκη άλατος (NaCl) 2% για 24–48 ώρες για την απομόνωση του DNA. Πραγματοποιήθηκε εξαγωγή DNA χρησιμοποιώντας το κιτ DNAEasy Blood and Tissue (QIAGEN, Duren, Γερμανία) σύμφωνα με οδηγίες του κατασκευαστή. Η ποιότητα και η ποσότητα του εξαγόμενου DNA μετρήθηκαν σε Q5000 φασματοφωτόμετρο UV μικρο-όγκου (Quawell, Κίνα) καθώς και με ηλεκτροφόρηση σε Γέλη αγαρόζης 1,5%. Για σκοπούς ταυτοποίησης, ενισχύθηκε ένα κομμάτι 267 βάσεων του 16s rRNA χρησιμοποιώντας τους εκκινητές CAR-1 και CAR-2 και το ένζυμο πολυμεράσης FastGene Taq 2x Ready Mix (NIPPON Genetics, Ευρώπη) σε 20 μl PCR ολικού όγκου αντίδρασης καθώς και στους γενικούς εκκινητές βακτηρίων 27f-CM και 1492r με ίδιους όγκους αντίδρασης και κιτ ενίσχυσης. Οι συνθήκες για

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

τους εκκινητές CAR1-CAR2 ήταν: 3 λεπτά στους 95 ^{o} C (αποδιάταξη), ακολουθούμενοι από 38 κύκλους (προσαρμογή εκκινητών στο DNA εκμαγείο) στους 94 ^{o} C για 30 δευτερόλεπτα, 51 ^{o} C για 40 και 72 ^{o} C για 45 δευτερόλεπτα, με ένα τελικό βήμα επέκτασης στους 72 ^{o} C για 5 λεπτά, ενώ για το 27f-CM-1492r ήταν ακριβώς όπως στο Lattos et al. [39]. Τα επιτυχώς ενισχυμένα προϊόντα, σύμφωνα με ηλεκτροφόρηση σε γέλη αγαρόζης 1%, καθαρίστηκαν χρησιμοποιώντας το κιτ καθαρισμού NucleoSpin Gel και PCR (Macherey-Nagel, Γερμανία) και αλληλουχήθηκαν εφαρμόζοντας τη μεθοδολογία Sanger σε γενετικό αναλυτή ABI-PRISM 3130xl χρησιμοποιώντας τόσο πρόσθιους όσο και τους ανάστροφους εκκινητές. Για την επεξεργασία και ανάλυση των ακολουθιών χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό MEGA 7.0 [40]. Πραγματοποιήθηκε φυλογενετική ανάλυση με την εφαρμογή της Μεθοδολογίας μέγιστης πιθανότητας σε σύγκριση με δύο αντιπροσωπευτικές αλληλουχίες, ένα για το *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* (αριθμός καταχώρησης: ON564501) και ένα για *Photobacterium damselae* subsp. *damselae* (αριθμός καταχώρησης: MK482016) που ανακτήθηκαν από την βάση δεδομένων Genbank μετά από αναζητήσεις BLAST των ακολουθιών που περιγράφηκαν πρόσφατα.

2.4. Ανίχνευση λοιμογονικών παραγόντων των βακτηριακών στελεχών

Επιπλέον, για τη διερεύνηση της παθογένειας της νόσου του ανιχνευθέντος *Photobacterium* spp., η παρουσία λοιμογονικών γονιδίων εξετάστηκε όπως περιγράφεται από τους Nunez-Diaz et al. [34]. Τα γονίδια που εξετάστηκαν ήταν η επαγόμενη από την διεργασία της απόπτωσης πρωτεΐνη (Aip56), η λιποπρωτεΐνη προσκόλλησης (pdp-

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

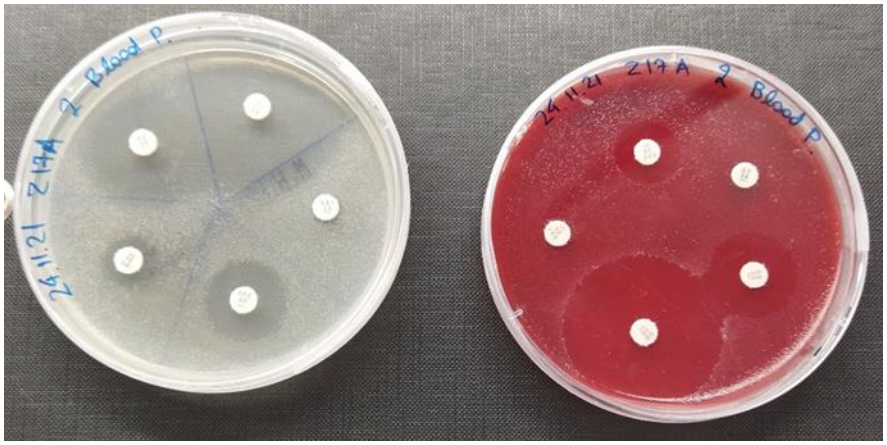
0080), η περιπλασματική πρωτεΐνη που δεσμεύει την αιμίνη (hutB), ο μεταφορέας ABC ATPάση (hutD) και η πρωτεΐνη 55 (p55). Εν συντομία, το εξαγόμενο DNA από κάθε καλλιέργεια ενισχύθηκε σε πέντε PCR με ζεύγη εκκινητών aip56F-aip56R, pdp-0080F-pdp-0080R, hutBF-hutBR, hutDF-hutDR, και p55F-p55R σύμφωνα με τους Nunez-Diaz et al. [34], σε όγκους αντίδρασης 10 μL που περιέχουν 5 μL FastGene Taq 2x Ready Mix, 0,3 pmol από κάθε εκκινητή, 25 ng εκχυλισμένου DNA και νερό μέχρι τον τελικό όγκο. Οι συνθήκες PCR ήταν 95 ^{o} C για 3 λεπτά, ακολουθούμενο από 36 κύκλους 94 ^{o} C για 30 δευτερόλεπτα, 55 ^{o} C για 40 δευτερόλεπτα, και 72 ^{o} C για 50 δευτερόλεπτα, και στο τέλος, ένα τελικό βήμα επέκτασης 72 ^{o}C για 7 λεπτά. Τα προϊόντα PCR οπτικοποιήθηκαν σε υπεριώδες φως μετά από ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1,5%.

2.5. Αντιβιόγραμμα

Η ευαισθησία των απομονωμένων στελεχών σε διάφορα αντιβιοτικά προσδιορίστηκε μέσω της μεθόδου διάχυσης δίσκου, σύμφωνα με τις οδηγίες των εργαστηρίων αναφοράς [41]. Τα βακτηριακά στελέχη εμβολιάστηκαν σε υγρή καλλιέργεια Mueller-Hinton (Oxoid) που περιέχει 2% NaCl και επωαζόταν όλη τη νύχτα στους 25 ^{o} C. Στη συνέχεια, κάθε δείγμα προσαρμόστηκε στη θολερότητα ενός προτύπου 0,5 McFarland και απλώθηκε σε τρυβλία με άγαρ Muller-Hinton (Oxoid) παρουσία 2% NaCl. Τα αντιβιογράμματα παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας 16 δίσκους αντιβιοτικών: φλορφενικόλη (FFC, 30 μg), ερυθρομυκίνη (E, 15 μg), κεφαλοθίνη (KF, 30 μg), κεφοταξίμη (CTX, 30 μg), αμπικιλλίνη (AMP, 10 μg), αμοξικιλλίνη/κλαβουλονικό (AMC, 20 μg και 10 μg, αντίστοιχα), καναμυκίνη (K, 30 μg), νεομυκίνη (N, 30 μg), γενταμυκίνη (GM, 10 μg),

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

στρεπτομυκίνη (S, 10 μg), σουλφαμεθοξαζόλη/τριμεθοπρίμη (SXT, 1,25 μg και 23,75 μg, αντίστοιχα), σιπροφλοξασίνη (CIP, 5 μg (NOR, 10 μg) και τετρακυκλίνη (TE, 30 μg). Οι δίσκοι αντιβιοτικών τοποθετήθηκαν στα τρυβλία που στη συνέχεια επωάστηκαν για 24 ώρες στους 25°C. Η διάμετρος της ζώνης περιορισμού, γύρω από το δίσκο, μετρήθηκε και καταγράφηκε. Τα αποτελέσματα ταξινομήθηκαν ως ανθεκτικά (R), ενδιάμεσα ανθεκτικά (I) ή ευαίσθητα (S) σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του συστήματος CLSI [41]. Σε ορισμένες περιπτώσεις, χρησιμοποιήθηκαν επίσης τρυβλία Mueller-Hinton και τρυβλία με αιματούχο άγαρ για να έχει το αντιβιόγραμμα, πιο ορατό και πιο εύκολο στην επεξεργασία αποτέλεσμα (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Αντιβιόγραμμα σε Mueller-Hinton (Αριστερό τρυβλίο) και αντιβιόγραμμα σε Blood agar (Δεξί τρυβλίο).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

3. Αποτελέσματα

3.1. Μακροσκοπικά ευρήματα και ταυτοποίηση του παθογόνου παράγοντα

Κατά τη δειγματοληψία, στις περισσότερες περιπτώσεις, τα κλασικά συμπτώματα της παστερέλωσης ήταν παρόντα στα ψάρια, όπως η σπληνομεγαλία, οι αιμορραγίες και τα υπόλευκα φυμάτια στον σπλήνα και τους νεφρούς (Εικόνες 2 και 3). Οι θνησιμότητες που αναφέρθηκαν στις εκτροφές διέφεραν μεταξύ τους κατά 5–12%. Κατά την παρασιτολογική εξέταση, μικροί αριθμοί *Sparicotyle chrysophrii* εντοπίστηκαν στα βράγχια του είδους *Sparus aurata* και *Diplectanum aequans* στα βράγχια του είδους *Dicentrarchus labrax*, ωστόσο η ένταση ήταν χαμηλή και δεν υπήρχαν συμπτώματα (για παράδειγμα, αναιμία, νέκρωση στα βράγχια ή απώλεια βάρους) για να υποθέσουμε ότι η ασθένεια προκλήθηκε από τα παράσιτα. Δεν απομονώθηκαν επιπλέον βακτήρια από τα ψάρια που προήλθαν από την συγκεκριμένη κατάσταση.

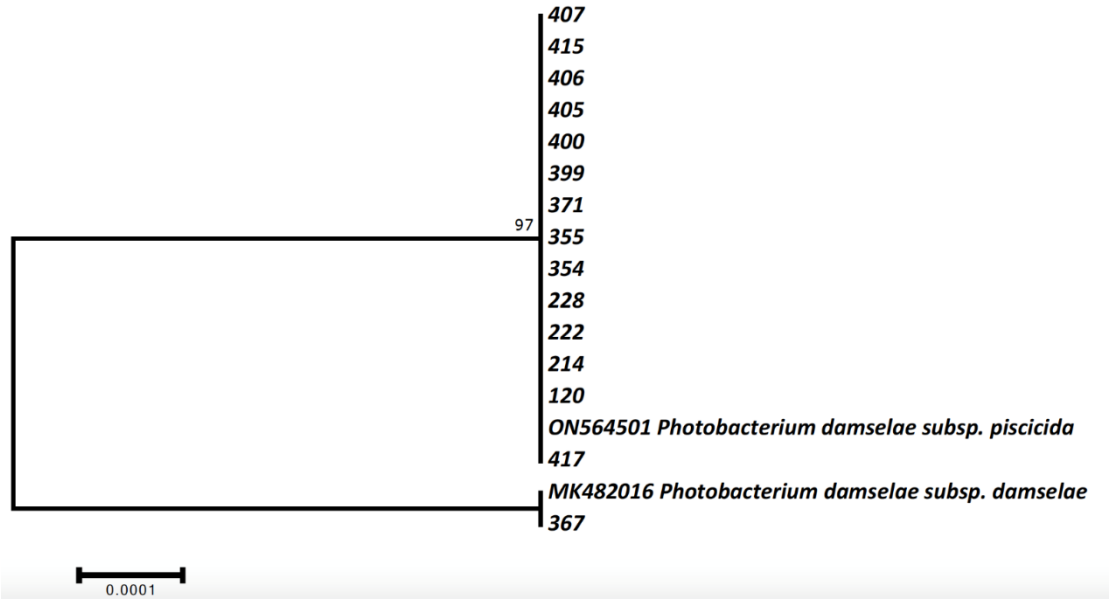
Εικόνα 2. Σπληνομεγαλία και υπεραιμία σε τσιπούρα (αριστερή εικόνα) και λευκά φυμάτια στον σπλήνα νοσούντος ατόμου που εξετάστηκε.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Εικόνα 3. Σπληνομεγαλία σε φαγκρί (αριστερή εικόνα) και σπληνομεγαλία με παρουσία λευκών φυμάτιων στον σπλήνα νοσούντος ατόμου λαβρακιού.

Όλα τα στελέχη, εκτός από ένα, που απομονώθηκαν σε TSA άγαρ και αιματούχο ταυτοποιήθηκαν ως *Photobacterium damselae* sbsp. *piscicida* (Πίνακας 1) χρησιμοποιώντας και τις δύο εφαρμοσμένες τεχνικές. Η φυλογενετική ανάλυση μέγιστης πιθανότητας του τμήματος 16S rRNA έδειξε μόνο δύο απλότυπους πανομοιότυπους με τους ήδη διαθέσιμους *P. damselae* sbsp. *piscicida* και *P. damselae* sbsp. *damselae* στη βάση δεδομένων GenBank (Εικόνα 4). Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τη μοριακή ταυτοποίηση των καλλιεργούμενων βακτηρίων ως *P. damselae* sbsp. *piscicida* και *P. damselae* sbsp. *damselae* (Πίνακας 1).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38



Φυλογενετική ανάλυση μέγιστης πιθανότητας των στελεχών Photobacterium spp. που ανιχνευθήκαν στην έρευνα. Η κωδικοποίηση και τα στοιχεία του κάθε στελέχους αναφέρεται στον Πίνακα 1.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

3.2. Ανίχνευση Λοιμογονικών παραγόντων των βακτηρίων *Photobacterium* spp.

Επιπλέον, για την ανίχνευση της παθογένειας της νόσου, η παρουσία λοιμογόνου δράσης διερευνήθηκε ανιχνεύοντας παράγοντες που σχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου. Όλα τα στελέχη ήταν θετικά στα γονίδια λοιμογόνου δράσης *pdp-0080*, *hutB*, *hutD* και *p55*, με εξαίρεση το γονίδιο *Aip56*, που ανιχνεύθηκε σε 14 από τα 15 στελέχη (Πίνακας 2).

Photobacterium damselae* sbs *Piscicida	**Γονίδια λοιμογονικότητας**				
Κωδικός απομονωμένου βακτηρίου	***Aip56***	***pdp-0080***	***hutB***	***p55***	***hutD***
222	+	+	+	+	+
407	+	+	+	+	+
354	+	+	+	+	+
415	+	+	+	+	+
120	+	+	+	+	+
214	+	+	+	+	+
355	-	+	+	+	+
367	+	+	+	+	+
228	+	+	+	+	+
399	+	+	+	+	+
406	+	+	+	+	+
400	+	+	+	+	+
371	+	+	+	+	+
417	+	+	+	+	+
405	+	+	+	+	+

Πίνακας 2. Ανίχνευση γονιδίων λοιμογονικότητας στα βακτήρια που καλλιεργήθηκαν. Η κωδικοποίηση και τα στοιχεία του κάθε στελέχους αναφέρεται στον Πίνακα 1. Το σύμβολο ‘’+’’ υποδεικνύει το ύπαρξη του γονιδίου στο στέλεχος που εξετάστηκε ενώ το σύμβολο ‘’-‘’ την απουσία του γονιδίου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

3.3. Αντιβιόγραμμα

Η πλειοψηφία των απομονωμένων στελεχών ήταν ευαίσθητα σε όλα τα αντιβιοτικά που δοκιμάστηκαν. Πέντε από τα δεκαπέντε στελέχη, που ισοδυναμούν με το ένα τρίτο των στελεχών, εμφάνισαν κάποιο βαθμό ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά που έχουν δοκιμαστεί. Τα συγκεκριμένα στελέχη (228, 407, 400, 417 και 354) που εξετάστηκαν και απομονώθηκαν από την Πελοπόννησο, τη Θεσπρωτία, τη Χαλκιδική και το Αιγαίο Πέλαγος προήλθαν όλα από δειγματοληψίες του 2020 και του 2021. Τα αντιβιοτικά στα οποία εντοπίστηκε κάποιος βαθμός ανθεκτικότητας είναι η στρεπτομυκίνη, οι σουλφοναμίδες, η αμπισιλλίνη, νοβοβιοκίνη, τετρακυκλίνη, και νιτροφουραντοΐνη (Πίνακας 3,4).

	Cephalosporin	**Penicillins**		**Aminoglycosides**		**Macrolide**	**Sulfonamide**	**Phenicol**
ΣΤΕΛΕΧΟΣ	**CTX**	**AMP**	**AX**	**S**	**GM**	**E**	**SXT**	**FFC**
120	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
214	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
222	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
228	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**R**	**S**
354	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
355	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
367	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
371	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
399	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
400	**R**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**
405	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
406	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
407	**S**	**R**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**
415	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
417	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Πίνακας 3. Απεικόνιση όλων των στελεχών βακτηρίου και αντιβιώσεων που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη. (CTX: cefotaxime, AMP: ampicillin, AX: amoxicillin, S: streptomycin, GM: gentamicin, S: streptomycin, E: erythromycin, SXT: sulfamethoxazone/trimethoprim, FFC: florfenicol. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται ως R: resistant (Ανθεκτικό), S: susceptible (Ευαίσθητο), and I: intermediate (Ενδιάμεσο).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

		Fluoroquinolones		Tetracycline	Aminocoumarin	Quinolones	Antimycobacterials		
ΣΤΕΛΕΧΟΣ	**ΕΙΔΟΣ**	**CIP**	**ENR**	**TE**	**NV**	**NA**	**RD**	**O/129**	**Nitrofurantoin (F)**
120	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
214	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
222	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
228	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**I**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**
354	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
355	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
367	*P. damselae* subsp. *damselae*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
371	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
399	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
400	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
405	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
406	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
407	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**R**
415	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**
417	*P. damselae* subsp. *piscicida*	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Πίνακας 4. Απεικόνιση όλων των στελεχών βακτηρίου και αντιβιώσεων που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη (CIP: ciprofloxacin, ENR: enrofloxacin, TE: tetracycline, NV: novobiocin, NA: nalidixic acid, RD: rifampicin, 0/129: vibriostatic). Τα αποτελέσματα απεικονίζονται ως R: resistant (Ανθεκτικό), S: susceptible (Ευαίσθητο), and I: intermediate (Ενδιάμεσο).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

4. Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια γενική ολιστική προσπάθεια διερεύνησης της παρουσίας των βακτηρίων *Photobacterium* σε ελληνικές ιχθυοκαλλιέργειες, χώρα ιδιαίτερης σημασίας για την Μεσογειακή βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας. Γενικά, η θεμελιώδης πρόκληση για τις υδατοκαλλιέργειες τα τελευταία χρόνια είναι η μεγιστοποίηση της παραγωγής θαλασσινών με το χαμηλότερο κόστος προκειμένου να καλυφθεί η ζήτηση για θαλασσινά από τον συνεχώς αυξανόμενο παγκόσμιο πληθυσμό [42]. Ωστόσο, η εντατικοποίηση της παραγωγής συνοδεύεται τις περισσότερες περιπτώσεις από μεγάλες ιχθυοφορτίσεις δημιουργώντας έτσι ιδανικό περιβάλλον για τον πολλαπλασιασμό και την εξάπλωση διαφόρων παθογόνων [9]. Έχει τεκμηριωθεί ότι η κλιματική αλλαγή επηρεάζει αρνητικά τις αντιδράσεις της φυσιολογίας και της ανοσολογίας σε καλλιεργούμενα είδη μετατρέποντάς τα σε πιο ευπαθή, διευκολύνοντας επιπλέον τη μετάδοση ενδεχόμενης νόσου [43-45]. Επιπλέον, οι μολυσματικές ασθένειες σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας θαλάσσιου περιβάλλοντος θα τείνουν να δημιουργούν εξάρσεις σε διάφορες νόσους με υψηλότερη συχνότητα με αποτέλεσμα και την αυξημένη εμφάνιση κρουσμάτων θνησιμότητας σε υδατοκαλλιέργειες [46]. Όσον αφορά τους ευκαιριακούς παθογόνους, εκμεταλλευόμενοι την ανοσοκαταστολή του καλλιεργούμενου είδους λόγω των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής, θα έχουν περισσότερες ευκαιρίες να δημιουργήσουν παθολογικές καταστάσεις [47,48]. Επιπλέον, όσον αφορά τη μετάδοση της νόσου σε νέα ενδιαιτήματα, πολλά κρούσματα έχουν δημιουργηθεί, ως αποτέλεσμα των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής, σε θαλάσσια περιβάλλοντα, όπως η εξάπλωση

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

του *Perkinsus marinus* και του *Haplosporidium nelsoni* στο *Crassostrea gigas* [49-51].

Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από το *Phdp* αποτελούν ένα από τα πιο δύσκολα ζητήματα για τις θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες που συμβάλλουν σε αρκετές περιπτώσεις θνησιμότητας [33]. Η παστερέλλωση συνήθως σχετίζεται σε αύξηση της θερμοκρασίας πάνω από 20 ^{o} C. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί και κρούσματα σε εκτρεφόμενα είδη σε θερμοκρασίες μεταξύ 18–19 ^{o} C [52,53]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η συντριπτική πλειοψηφία από τα ψάρια που εξετάστηκαν βρέθηκε θετική στην πλειονότητα των παραγόντων λοιμογόνου δράσης που εξετάστηκαν (Πίνακας 2), υποδεικνύοντας την υψηλή παθογονικότητα και των δύο υποειδών του *Photobacterium* υποείδος *damselae* που ανιχνεύθηκαν σε ελληνικές μονάδες υδατοκαλλιέργειας. Σχετικά με την ανάπτυξη της μόλυνσης, στα αρχικά στάδια, παρατηρείται διήθηση μακροφάγων και ουδετερόφιλων στους μολυσμένους ιστούς [49,50]. Αργότερα, με την πρόοδο της μόλυνσης, η εκτεταμένη έκκριση της πρωτεΐνης 56 kDa (AIP56), εξουδετερώνει την άμυνα των φαγοκυττάρων του ξενιστή με την αποπτωτική καταστροφή μακροφάγων και ουδετερόφιλων, οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό του παθογόνου και τελικά σε νεκρωτικές επιδράσεις [49-53]. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της τοξίνης, όπως η απελευθέρωση κυτταροτοξικών μορίων, επάγει τη λύση των φαγοκύτταρων του ξενιστή, συμβάλλοντας σε βλάβες ιστών και νεκρωτικές αλλοιώσεις [54,59]. Επιπλέον, η τοξικότητα που προκαλεί η επαγωγή της AIP56 έχει τεκμηριωθεί ότι εμπλέκεται σε προβλήματα έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα NF-kB p65 που οδηγεί εν τέλη σε μειωμένη έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών [60,61]. Παρά την εμφάνιση

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

του σημαντικού παράγοντα λοιμογόνου δράσης AIP56, οι ικανότητες προσκόλλησης και εισβολής είναι απαραίτητες στις λοιμώξεις με *Phdp*. Όσον αφορά την προσκόλληση του *Phdp*, η λιποπρωτεΐνη (PDP_0080), παίζει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση του βακτηρίου στα επιθηλιακά κύτταρα [62]. Σχετικά με την έκφραση παραγόντων λοιμογόνου δράσης που συμβάλλουν στους μηχανισμούς εισβολής του βακτηρίου στα κύτταρα του ξενιστή, δεν υπάρχουν παράγοντες που να σχετίζονται άμεσα με τους μηχανισμούς εισβολής του βακτηρίου [63,64]. Τα βακτήρια χρειάζονται σίδηρο για την επιβίωσή τους και έχουν αναπτυχθεί μονοπάτια προκειμένου να το αποκτήσουν από τους ξενιστές τους. Τα βακτήρια μπορούν να λάβουν σίδηρο μέσω της τρανσφερίνης, των σιδεροφόρων, ή της αίμης [65]. Το *Phdp* μπορεί να αποκτήσει σίδηρο από την αιμίνη και την αιμοσφαιρίνη μέσω ενός συστήματος πρόσληψης σιδήρου, που περιλαμβάνει, ένα εξαρτώμενο από τον TonB υποδοχέα εξωτερικής μεμβράνης, μιας περιπλασμικής πρωτεΐνης δέσμευσης και ενός συστήματος κασέτας σύνδεσης ATP (ABC) [66]. Η πρόσληψη σιδήρου από το *Phdp* από τον ξενιστή μπορεί να πραγματοποιηθεί με σύνθεση και μεταφορά του σιδεροφόρου πισιβακτίνης στο κύτταρο μέσω του υποδοχέα της εξωτερικής μεμβράνης FrpA [11,67].

Επιπλέον, είναι γνωστό ότι το *Phdp* διαθέτει ένα σύμπλεγμα γονιδίων που εμπλέκεται στη βιοσύνθεση μιας πισιβακτίνης και ένα πλασμίδιο αυτού του συμπλέγματος το οποίο μπορεί να μεταφερθεί σε άλλα gram-αρνητικά βακτήρια όπως το *Vibrio alginolyticus*, διευκολύνοντας την ανάπτυξη τους σε περιβάλλον περιορισμένο σε σίδηρο [10,66]. Η επίκτητη αντίσταση των βακτηρίων στα αντιβιοτικά είναι βιολογικό φαινόμενο που οφείλεται είτε σε τυχαίες μεταλλάξεις

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

στο γονιδίωμα του μικροοργανισμού, που μεταδίδονται κάθετα στις επόμενες γενιές, είτε στην απόκτηση εξωγενών γενετικά στοιχείων όπως τα πλασμίδια, τα οποία φέρουν γονίδια που προσδίδουν αντίσταση. Σχετικά με την παρουσία μολυσματικών γονιδίων στις βακτηριακές αποικίες που απομονώθηκαν από εξάρσεις στη μελέτη μας, στα δείγματα βρέθηκαν σχεδόν όλα τα γονίδια λοιμογόνου δράσης που επιλέχθηκαν για ανάλυση. Σημαντικό στοιχείο αποτελεί η παρουσία γονιδίων HutB που η συμμετοχή τους σχετίζεται με την κωδικοποίηση πρωτεϊνών μεταφοράς αίμης στον μεταφορέα ABC από τον υποδοχέα και ανιχνεύθηκε σε όλα τα βακτηριακά δείγματα που μελετήθηκαν [64]. Αυτό είναι σε αντιστοιχία με τις υπόλοιπες μελέτες, επιδεικνύοντας την ικανότητα εκμετάλλευσης σιδήρου από κύτταρα του ξενιστή το οποίο αποτελεί και σημαντικό μηχανισμό για τη βακτηριακή παθογένεια. Η παρουσία γονιδίου HutD επιβεβαιώθηκε επίσης σε όλα τα στελέχη, και οι επιπτώσεις της στην πρόσληψη σιδήρου είχαν τεκμηριωθεί τόσο στο *Phdp* όσο και σε *Vibrio* spp. σε προηγούμενες μελέτες [68,69]. Όσον αφορά το γονίδιο p55, του οποίου ο ρόλος δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, ανιχνεύθηκε, επίσης, σε όλα τα στελέχη *Phdp*. Παρά την έλλειψη γνώσης για τη συμμετοχή του στην παθογένεια του *Phdp*, ομόλογα αυτής της πρωτεΐνης έχουν εμπλακεί σε αρκετές gram-αρνητικές βακτηριακές πρωτεΐνες και καταδείχθηκε η εμπλοκή του στην παθογένεια του *Mycobacterium marinum* κατά τη διάρκεια πειραματικής μόλυνσης σε *Danio rerio* [70,71]. Σχετικά με την προσκόλληση του παθογόνου στα κύτταρα ξενιστές, η λιποπρωτεΐνη pdp_0080 έχει αναφερθεί ότι εμπλέκεται στη λειτουργία αυτή [53]. Η παρουσία αυτού του παράγοντα λοιμογόνου δράσης ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα αυτής της έρευνας, επιβεβαιώνοντας τον πιθανό υποχρεωτικό ρόλο αυτής της πρωτεΐνης

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

στην παθογένεια των βακτηριακών ειδών. Παρά το ρόλο τους στην προσκόλληση, οι λιποπρωτεΐνες παρουσιάζουν σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ παθογόνου και ξενιστή στην ικανότητα προσκόλλησης, μετατόπισης και διαφυγής στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή [34,72,73]. Το AIP56 είναι μια τοξίνη AB που εκκρίνεται από το *Phdp* και αποτελεί ένα βασικό λοιμογόνο παράγοντα [56]. Η παρουσία αυτού του λοιμογόνου παράγοντα ανιχνεύθηκε σε 14 από τα 15 δείγματα. Το στέλεχος 355 δεν περιείχε αυτό το γονίδιο, ωστόσο το στέλεχος (355) είναι λοιμογόνο από όσο γνωρίζουμε αφόσον απομονώθηκε από νοσούν ψάρι. Έχει δηλωθεί άλλωστε ότι η απουσία AIP56 δεν καθιστά απαραίτητα το στέλεχος μη μολυσματικό [58].

Προκειμένου να αντιμετωπιστεί η ασθένεια μετά την εισβολή του παθογόνου στο εκτρεφόμενο ζωικό κεφάλαιο, η χρήση αντιβιοτικών εξακολουθεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο, παρά τις ανησυχίες για τη μεταφορά γονίδιων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά μεταξύ των βακτηριακών πληθυσμών [74]. Ωστόσο, η ανακάλυψη των αντιβιοτικών ήταν ένα σημαντικό εργαλείο για τη διασφάλιση της υγείας των ζώων από μολυσματικές ασθένειες [75]. Το πρόβλημα της αλόγιστης χρήσης αντιβιοτικών συνιστά σοβαρή παγκόσμια απειλή και απαιτούνται επειγόντως εναλλακτικές θεραπείες κατά των πολυανθεκτικών βακτηρίων για να διασφαλιστεί το ζωικό κεφάλια απέναντι σε βακτηριακές μολυσματικές ασθένειες στο μέλλον [76]. Τα αντιβιοτικά έχουν χρησιμοποιηθεί στην υδατοκαλλιέργεια για περισσότερα από 50 χρόνια, σκοτώνοντας βακτηριακούς πληθυσμούς ή αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους [77]. Αν και η ανάπτυξη εμβολίων τα τελευταία χρόνια, παράλληλα με τη βελτιστοποίηση των διαχειριστικών πρακτικών, έχει οδηγήσει σε μεγάλη μείωση της χρήσης αντιβιοτικών, οι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

αντιβακτηριακές θεραπείες εξακολουθούν να είναι η τελευταία επιλογή για την αντιμετώπιση βακτηριακών λοιμώξεων [78-81]. Από τα στελέχη που αναλύθηκαν σε αυτή τη μελέτη, η πλειονότητα ήταν ευαίσθητη στα περισσότερα από τα αντιβιοτικά που δοκιμάστηκαν. Ωστόσο, πέντε από τα 15 στελέχη, που ισοδυναμούν με το ένα τρίτο των στελεχών, εμφάνισαν κάποιο βαθμό αντοχής στα αντιβιοτικά που δοκιμάστηκαν (228, 407, 400, 417, 354). Αυτά τα στελέχη απομονώθηκαν τόσο το 2020 όσο και το 2021 και προήλθαν σχεδόν από το σύνολο της δειγματοληψίας σε τοποθεσίες αντιπροσωπευτικές της ευρύτερης περιοχής ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελλάδα, όπως αναφέρεται στον Πίνακας 1. Ανθεκτικά βακτηριακά στελέχη αναφέρθηκαν σε στρεπτομυκίνη, σουλφοναμίδες, αμπισιλλίνη, και νοβοβιοκίνη. Συγκεκριμένα, τρία στελέχη ήταν ανθεκτικά στη στρεπτομυκίνη και δύο στελέχη σε σουλφοναμίδες, αμπικιλλίνη και νοβοβιοσίνη. Αντοχή στην τετρακυκλίνη και τη νιτροφουραντοΐνη αναφέρθηκε μόνο σε ένα στέλεχος, αντίστοιχα. Λαμβάνοντας υπόψη τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην ελληνική βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας, πρέπει να σημειωθεί ότι πρόκειται για τετρακυκλίνες, σουλφοναμίδες και κινολόνες (flumequine, florfenicol και oxolinic acid). Σύμφωνα με τους Thyssen και Ollevier [82], οι οποίοι μελέτησαν την in vitro αντιμικροβιακή ευαισθησία των στελεχών *Phdp* που απομονώθηκαν από διαφορετικές χώρες, η διαφορά στη διαθεσιμότητα φαρμάκων από κάθε χώρα αντιστοιχεί σε αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά που χρησιμοποιούνται πιο συχνά. Στη μελέτη μας, αναπτύχθηκε ανθεκτικότητα σε 2 στελέχη για σουλφοναμίδες και σε ένα στέλεχος για την τετρακυκλίνη, αν και οι περισσότερες από τις αντοχές ήταν σε αντιμικροβιακά που δεν χρησιμοποιήθηκαν στον κλάδο της

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

υδατοκαλλιέργειας. Αυτό θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα της μετάδοσης ανθεκτικών γονιδίων από περιβαλλοντικά βακτήρια μη παθογόνα σε είδη ψαριών ως αποτέλεσμα της αλόγιστης χρήσης αντιβιοτικών από τον άνθρωπο.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

5. Συμπεράσματα

Στη μελέτη αυτή, απομονώθηκαν παθογόνα στελέχη *Phdp* τόσο στο Ιόνιο όσο και στο Αιγαίο σε τρία διαφορετικά μεσογειακά εκτρεφόμενα είδη ψαριών. Η κατανομή αυτών των στελεχών στην ελληνική υδατοκαλλιέργεια υποδηλώνει τη σημασία τους ως παθογόνα και την ανάγκη για την εφαρμογή αποτελεσματικότερων μέτρων για την καταπολέμησή τους. Συστηματική επιτήρηση στα πρώιμα στάδια και τακτική δειγματοληψία, μαζί με τη χρήση εμβολίων σε όλα τα μεγέθη και είδη ψαριών, θα μπορούσε να αποτελέσει μια στρατηγική για την πρόληψη ανεπιθύμητων φαινομένων που απειλούν τη βιωσιμότητα του κλάδου. Η παρουσία του υποείδους *damselae* θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω αφού δεν υπάρχουν εμπορικά εμβόλια για αυτό το είδος. Η έλλειψη κατάλληλων διαχειριστικών μέτρων υγείας σε ιχθυοκαλλιέργειες έχει ως αποτέλεσμα τη λανθασμένη διάγνωση και την αναποτελεσματική χρήση αντιβιοτικών λόγω της αδυναμία διενέργειας αντιβιογραμάτων. Αυτό τελικά οδηγεί στην υπερβολική χρήση αντιβιοτικών και την εμφάνιση ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

6. Βιβλιογραφία

1. FAO (Ed.) *The State of World Fisheries and Aquaculture—Meeting the Sustainable Development Goals*; FAO: Rome, Italy, 2018.
2. Asche, F.; Roll, K.H.; Tveteras, R. Economic inefficiency and environmental impact: An application to aquaculture production. *J. Environ. Econ. Manage.* **2009**, *58*, 93–105, doi:10.1016/j.jeem.2008.10.003.
3. Tacon, A.G.J. Trends in Global Aquaculture and Aquafeed Production: 2000–2017. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* **2020**, *28*, 43–56, doi:10.1080/23308249.2019.1649634.
4. Asche, F.; Bjørndal, T.; Young, J.A. Market interactions for aquaculture products. *Aquac. Econ. Manag.* **2001**, *5*, 303–318, doi:10.1080/13657300109380296.
5. Anderson, J.L.; Asche, F.; Garlock, T.; Chu, J. Aquaculture: Its role in the future of food. *Front. Econ. Glob.* **2017**, *17*, 159–173. https://doi.org/10.1108/S1574-871520170000017011.
6. Houston, R.D.; Bean, T.P.; Macqueen, D.J.; Gundappa, M.K.; Jin, Y.H.; Jenkins, T.L.; Selly, S.L.C.; Martin, S.A.M.; Stevens, J.R.; Santos, E.M.; et al. Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. *Nat. Rev. Genet.* **2020**, *21*, 389–409. https://doi.org/10.1038/s41576-020-0227-y.
7. Lattos, A.; Chaligiannis, I.; Papadopoulos, D.; Giantsis, I.A.; Petridou, E.I.; Vafeas, G.; Staikou, A.; Michaelidis, B. How Safe to Eat Are Raw Bivalves? Host Pathogenic and Public Health Concern Microbes within Mussels, Oysters, and Clams in Greek Markets. *Foods* **2021**, *10*, 2793. https://doi.org/10.3390/foods10112793.
8. Bondad-Reantaso, M.G.; Subasinghe, R.P.; Arthur, J.R.; Ogawa, K.; Chinabut, S.; Adlard, R.; Tan, Z.; Shariff, M. Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet. Parasitol.* **2005**, *132*, 249–272. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.07.005.
9. Pérez-Sánchez, T.; Mora-Sánchez, B.; Balcázar, J.L. Biological Approaches for Disease Control in Aquaculture: Advantages, Limitations and Challenges. *Trends Microbiol.* **2018**, *26*, 896–903. https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.05.002.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

10. Assefa, A.; Abunna, F. Maintenance of Fish Health in Aquaculture: Review of Epidemiological Approaches for Prevention and Control of Infectious Disease of Fish. *Vet. Med. Int.* **2018**, *2018*, 5432497. https://doi.org/10.1155/2018/5432497.
11. Defoirdt, T.; Sorgeloos, P.; Bossier, P. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Curr. Opin. Microbiol.* **2011**, *14*, 251–258. https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.03.004.
12. Lafferty, K.D.; Harvell, C.D.; Conrad, J.M.; Friedman, C.S.; Kent, M.L.; Kuris, A.M.; Powell, E.N.; Rondeau, D.; Saksida, S.M. Infectious diseases affect marine fisheries and aquaculture economics. *Ann. Rev. Mar. Sci.* **2015**, *7*, 471–496. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010814-015646.
13. Romalde, J. *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*: An integrated view of a bacterial fish pathogen. *Int. Microbiol.* **2002**, *1*, 3–9.
14. Toranzo, A.E.; Magariños, B.; Romalde, J.L. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture* **2005**, *246*, 37–61.
15. Pham, T.H.; Cheng, T.; Wang, P.; Chen, S. Genotypic diversity, and molecular and pathogenic characterization of *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* isolated from different fish species in Taiwan. *J. Fish Dis.* **2020**, *43*, 757–774. https://doi.org/10.1111/jfd.13173.
16. Magariños, B.; Osorio, C.R.; Toranzo, A.E.; Romalde, J.L. Applicability of Ribotyping for Intraspecific Classification and Epidemiological Studies of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Syst. Appl. Microbiol.* **1997**, *20*, 634–639. https://doi.org/10.1016/s0723-2020(97)80035-5.
17. Bakopoulos, V.; Peric, Z.; Rodger, H.; Adams, A.; Richards, R. First Report of Fish Pasteurellosis from Malta. *J. Aquat. Anim. Health* **1997**, *9*, 26–33. https://doi.org/10.1577/1548-8667(1997)009<0026:frofpf>2.3.co;2.
18. Abu-Elala, N.M.; Abd-Elsalam, R.M.; Marzouk, M.S. Molecular and Immunohistochemical Diagnosis of Photobacterium damselae Subspecies *piscicida* During Naturally Occurring Disease in Egypt. *J. World Aquac. Soc.* **2015**, *46*, 583–595. https://doi.org/10.1111/jwas.12237.
19. Baseggio, L.; Silayeva, O.; Engelstädter, J.; Barnes, A.C. The Evolution of a Specialized, Highly Virulent Fish Pathogen through Gene Loss and Acquisition of Host-Specific Survival Mechanisms.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Appl. Environ. Microbiol. **2022**, *88*, e00222-22. https://doi.org/10.1128/aem.00222-22.
20. Casadevall A, Pirofski LA. Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage–response framework. Journal of water and health. ***2009*** Aug 1;*7(S1)*:S2-18.
21. Lagana, P.; Caruso, G.; Minutoli, E.; Zaccone, R.; Delia, S. Susceptibility to antibiotics of vibrio spp. and *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* strains isolated from italian aquaculture farms. *New Microbiol.* **2011**, *34*, 53–63.
22. Liu, X.; Steele, J.C.; Meng, X.Z. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environ. Pollut.* **2017**, *223*, 161–169. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.003.
23. Cabello, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: A growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.* **2006**, *8*, 1137–1144. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01054.x.
24. Kümmerer, K. Antibiotics in the aquatic environment—A review—Part I. *Chemosphere* **2009**, *75*, 417–434. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.
25. Pepi, M.; Focardi, S. Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the mediterranean area. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 5723. https://doi.org/10.3390/ijerph18115723.
26. Sarmah, A.K.; Meyer, M.T.; Boxall, A.B.A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* **2006**, *65*, 725–759. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.026.
27. Sapkota, A.; Sapkota, A.R.; Kucharski, M.; Burke, J.; McKenzie, S.; Walker, P.; Lawrence, R. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. *Environ. Int.* **2008**, *34*, 1215–1226. https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.04.009.
28. Cabello, F.C.; Godfrey, H.P.; Tomova, A.; Ivanova, L.; Dölz, H.; Millanao, A.; Buschmann, A.H. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: Its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ. Microbiol.* **2013**, *15*, 1917–1942. https://doi.org/10.1111/1462-2920.12134.
29. Hektoen, H.; Berge, J.A.; Hormazabal, V.; Yndestad, M. Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture* **1995**, *133*, 175–184. https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00310-K.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

30. Serwecińska, L. Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health. *Water* **2020**, *12*, 3313.
31. Gullberg, E.; Cao, S.; Berg, O.G.; Ilbäck, C.; Sandegren, L.; Hughes, D.; Andersson, D.I. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathog.* **2011**, *7*, e1002158. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158.
32. Andersson, D.I.; Hughes, D. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resist. Updat.* **2012**, *15*, 162–172. https://doi.org/10.1016/j.drup.2012.03.005.
33. Bengtsson-Palme, J.; Larsson, D.G.J. Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation. *Environ. Int.* **2016**, *86*, 140–149. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.015.
34. Núñez-Díaz, J.A.; Fumanal, M.; Do Vale, A.; Fernández-Díaz, C.; Moriñigo, M.Á.; Balebona, M.C. Transcription of iviat and virulence genes in *photobacterium damselae* subsp. *Piscicida* infecting solea senegalensis. *Microorganisms* **2018**, *6*, 67. https://doi.org/10.3390/microorganisms6030067.
35. Perdikaris, C.; Paschos, I. Organic aquaculture in Greece: A brief review. *Rev. Aquac.* **2010**, *2*, 102–105. https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01025.x.
36. Makri, V.; Feidantsis, K.; Papadopoulos, D.; Lattos, A.; Georgoulis, I.; Michaelidis, B.; Giantsis, I.A. Natural-like pigmentation in cultured fish stocks, not only a matter of nutrition. A review of Salmonidae and Sparidae families, with a particular focus on the red porgy Pagrus pagrus. *Aquac. Res.* **2021**, *52*, 2942–2953. https://doi.org/10.1111/are.15156.
37. Osorio, C.R.; Collins, M.D.; Toranzo, A.E.; Barja, J.L.; Romalde, J.L. 16S rRNA gene sequence analysis of *Photobacterium damselae* and nested PCR method for rapid detection of the causative agent of fish pasteurellosis. *Appl. Environ. Microbiol.* **1999**, *65*, 2942–2946. https://doi.org/10.1128/aem.65.7.2942-2946.1999.
38. Frank, J.A.; Reich, C.I.; Sharma, S.; Weisbaum, J.S.; Wilson, B.A.; Olsen, G.J. Critical Evaluation of Two Primers Commonly Used for Amplification of Bacterial 16S rRNA Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 2461–2470. https://doi.org/10.1128/aem.02272-07.
39. Lattos, A.; Bitchava, K.; Giantsis, I.A.; Theodorou, J.A.; Batargias, C.; Michaelidis, B. The implication of vibrio bacteria in the winter mortalities of the critically endangered *Pinna nobilis*. *Microorganisms* **2021**, *9*, 922.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

40. Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* **2016**, *33*, 1870–1874. https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW054.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Standard, *Approved Standard—8th Edition*; CLSI Document M07-A8; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2009.
42. Reverter, M.; Sarter, S.; Caruso, D.; Avarre, J.-C.; Combe, M.; Pepey, E.; Pouyaud, L.; Vega-Heredía, S.; De Verdal, H.; Gozlan, R.E. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 65. https://doi.org/10.1038/s41467-020-15735-6.
43. Rosa, R.; Marques, A.; Nunes, M.L. Impact of climate change in Mediterranean aquaculture. *Rev. Aquac.* **2012**, *4*, 163–177. https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01071.x.
44. Lattos, A.; Feidantsis, K.; Georgoulis, I.; Giantsis, I.A.; Karagiannis, D.; Theodorou, J.A.; Staikou, A.; Michaelidis, B. Pathophysiological responses of pinna nobilis individuals enlightens the etiology of mass mortality situation in the mediterranean populations. *Cells* **2021**, *10*, 2838. https://doi.org/10.3390/cells10112838.
45. Morash, A.J.; Alter, K. Effects of environmental and farm stress on abalone physiology: Perspectives for abalone aquaculture in the face of global climate change. *Rev. Aquac.* **2016**, *8*, 342–368. https://doi.org/10.1111/raq.12097.
46. Sae-Lim, P.; Kause, A.; Mulder, H.A.; Olesen, I. Breeding and genetics symposium: Climate change and selective breeding in aquaculture. *J. Anim. Sci.* **2017**, *95*, 1801–1812. https://doi.org/10.2527/jas2016.1066.
47. Marcogliese, D.J. The impact of climate change on the parasites and infectious diseases of aquatic animals. *OIE Rev. Sci. Tech.* **2008**, *27*, 467–484. https://doi.org/10.20506/rst.27.2.1820.
48. Lattos, A.; Giantsis, I.A.; Karagiannis, D.; Theodorou, J.A.; Michaelidis, B. Gut Symbiotic Microbial Communities in the IUCN Critically Endangered Pinna nobilis Suffering from Mass Mortalities, Revealed by 16S rRNA Amplicon NGS. *Pathogens* **2020**, *9*, 1002. https://doi.org/10.3390/pathogens9121002.
49. Lafferty, K.D. Calling for an ecological approach to studying climate change and infectious diseases.. *Ecology* **2009**, *90*, 932–933. https://doi.org/10.1890/08-1767.1.
50. Cook, T.; Folli, M.; Klinck, J.; Ford, S.; Miller, J. The relationship between increasing sea-surface temperature and the northward

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

spread of Perkinsus marinus (Dermo) disease epizootics in oysters. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **1998**, *46*, 587–597. https://doi.org/10.1006/ecss.1997.0283.
51. Burreson, E.M.; Ford, S.E. A review of recent information on the Haplosporidia, with special reference to Haplosporidium nelsoni (MSX disease). *Aquat. Living Resour.* **2004**, *17*, 499–517. https://doi.org/10.1051/alr:2004056.
52. Cascarano, M.C.; Stavrakidis-Zachou, O.; Mladineo, I.; Thompson, K.D.; Papandroulakis, N.; Katharios, P. Mediterranean aquaculture in a changing climate: Temperature effects on pathogens and diseases of three farmed fish species. *Pathogens* **2021**, *10*, 1205. https://doi.org/10.3390/pathogens10091205.
53. Korun, J.; Timur, G. The first pasteurellosis case in cultured sea bass (Dicentrarchus labrax L.) at low marine water temperatures in Turkey. *Isr. J. Aquac. Bamidgeh* **2005**, *57*, 197–206. https://doi.org/10.46989/001c.20408.
54. do Vale, A.; Costa-Ramos, C.; Silva, A.; Silva, D.S.P.; Gärtner, F.; dos Santos, N.M.S.; Silva, M.T. Systemic macrophage and neutrophil destruction by secondary necrosis induced by a bacterial exotoxin in a Gram-negative septicaemia. *Cell. Microbiol.* **2007**, *9*, 988–1003. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00846.x.
55. Vale, A.D.; Pereira, C.; Osorio, C.R.; dos Santos, N.M.S. The Apoptogenic Toxin AIP56 Is Secreted by the Type II Secretion System of *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*. *Toxins* **2017**, *9*, 368. https://doi.org/10.3390/toxins9110368.
56. Do Vale, A.; Silva, M.T.; Dos Santos, N.M.S.; Nascimento, D.S.; Reis-Rodrigues, P.; Costa-Ramos, C.; Ellis, A.E.; Azevedo, J.E. AIP56, a novel plasmid-encoded virulence factor of *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* with apoptogenic activity against sea bass macrophages and neutrophils. *Mol. Microbiol.* **2005**, *58*, 1025–1038. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04893.x.
57. do Vale, A.; Cabanes, D.; Sousa, S. Bacterial toxins as pathogen weapons against phagocytes. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 42. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00042.
58. Freitas, I.L.; Teixeira, A.; Loureiro, I.; Lisboa, J.; Saraiva, A.; dos Santos, N.M.S.; Vale, A.D. Susceptibility of Sea Bream (*Sparus aurata*) to AIP56, an AB-Type Toxin Secreted by *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*. *Toxins* **2022**, *14*, 119. https://doi.org/10.3390/toxins14020119.
59. Silva, M.T.; Do Vale, A.; Dos Santos, N.M.N. Secondary necrosis in multicellular animals: An outcome of apoptosis with pathogenic

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

implications. *Apoptosis* **2008**, *13*, 463–482. https://doi.org/10.1007/s10495-008-0187-8.
60. Silva, D.S.; Pereira, L.M.G.; Moreira, A.R.; Ferreira-da-Silva, F.; Brito, R.M.; Faria, T.Q.; Zornetta, I.; Montecucco, C.; Oliveira, P.; Azevedo, J.E.; et al. The Apoptogenic Toxin AIP56 Is a Metalloprotease A-B Toxin that Cleaves NF-κb P65. *PLoS Pathog.* **2013**, *9*, e1003128. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003128.
61. Wu, P.; Liu, X.W.; Feng, L.; Jiang, W.D.; Kuang, S.Y.; Tang, L.; Shi, H.Q.; Zhou, X.Q.; Liu, Y. (2-Carboxyethyl) dimethylsulfonium bromide supplementation in non-fish meal diets for on-growing grass carp (Ctenopharyngodon idella): Beneficial effects on immune function of the immune organs via modulation of NF-κB and TOR signalling pathway. *Fish Shellfish Immunol.* **2020**, *107*, 309–323. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.08.032.
62. Magariños, B.; Romalde, J.L.; Noya, M.; Barja, J.L.; Toranzo, A.E. Adherence and invasive capacities of the fish pathogen Pasteurella *piscicida*. *FEMS Microbiol. Lett.* **1996**, *138*, 29–34. https://doi.org/10.1016/0378-1097(96)00076-6.
63. Núñez-Díaz, J.A.; Fumanal, M.; Viguera, E.; Moriñigo, M.A.; Balebona, M.C. Use of in vivo induced technology to identify antigens expressed by *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* during infection of Senegalese sole (Solea senegalensis). *Fish Shellfish Immunol.* **2017**, *64*, 446–456. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.044.
64. Sandy, M.; Butler, A. Microbial Iron Acquisition: Marine and Terrestrial Siderophores. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4580–4595. https://doi.org/10.1021/cr9002787.
65. Andreoni, F.; Boiani, R.; Serafini, G.; Bianconi, I.; Dominici, S.; Gorini, F.; Magnani, M. Expression, purification, and characterization of the recombinant putative periplasmic hemin-binding protein (hutb) of *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2009**, *73*, 1180–1183. https://doi.org/10.1271/bbb.80732.
66. Souto, A.; Montaos, M.A.; Rivas, A.J.; Balado, M.; Osorio, C.R.; Rodríguez, J.; Lemos, M.L.; Jiménez, C. Structure and biosynthetic assembly of piscibactin, a siderophore from *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*, predicted from genome analysis. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 5693–5700. https://doi.org/10.1002/ejoc.201200818.
67. Osorio, C.R.; Rivas, A.J.; Balado, M.; Fuentes-Monteverde, J.C.; Rodríguez, J.; Jiménez, C.; Lemos, M.L.; Waldor, M.K. A transmissible plasmid-borne pathogenicity island confers

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

piscibactin biosynthesis in the fish pathogen *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*. *Appl. Environ. Microbiol.* **2015**, *81*, 5867–5879. https://doi.org/10.1128/AEM.01580-15.
68. Osorio, C.R.; Juiz-Río, S.; Lemos, M.L. A siderophore biosynthesis gene cluster from the fish pathogen *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* is structurally and functionally related to the Yersinia high-pathogenicity island. *Microbiology* **2006**, *152*, 3327–3341. https://doi.org/10.1099/mic.0.29190-0.
69. Río, S.J.; Osorio, C.R.; Lemos, M.L. Heme uptake genes in human and fish isolates of *Photobacterium damselae:* Existence of hutA pseudogenes. *Arch. Microbiol.* **2005**, *183*, 347–358. https://doi.org/10.1007/s00203-005-0779-4.
70. Gao, L.-Y.; Pak, M.; Kish, R.; Kajihara, K.; Brown, E.J. A Mycobacterial Operon Essential for Virulence In Vivo and Invasion and Intracellular Persistence in Macrophages. *Infect. Immun.* **2006**, *74*, 1757–1767. https://doi.org/10.1128/iai.74.3.1757-1767.2006.
71. Parthasarathy, G.; Lun, S.; Guo, H.; Ammerman, N.C.; Geiman, D.E.; Bishai, W.R. Rv2190c, an NlpC/P60 Family Protein, Is Required for Full Virulence of Mycobacterium tuberculosis. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e43429. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043429.
72. Tokuda, H.; Matsuyama, S.-I. Sorting of lipoproteins to the outer membrane in E. coli. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1693*, 5–13. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2004.02.005.
73. Kovacs-Simon, A.; Titball, R.W.; Michell, S.L. Lipoproteins of Bacterial Pathogens. *Infect. Immun.* **2011**, *79*, 548–561. https://doi.org/10.1128/iai.00682-10.
74. Zhou, S.-Y.-D.; Zhu, D.; Giles, M.; Daniell, T.; Neilson, R.; Yang, X.-R. Does reduced usage of antibiotics in livestock production mitigate the spread of antibiotic resistance in soil, earthworm guts, and the phyllosphere? *Environ. Int.* **2020**, *136*, 105359, https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105359.
75. Ferriol-González, C.; Domingo-Calap, P. Phage therapy in livestock and companion animals. *Antibiotics* **2021**, *10*, 559. https://doi.org/10.3390/antibiotics10050559.
76. Czaplewski, L.; Bax, R.; Clokie, M.; Dawson, M.; Fairhead, H.; Fischetti, V.A.; Foster, S.; Gilmore, B.F.; Hancock, R.E.W.; Harper, D.; et al. Alternatives to antibiotics-a pipeline portfolio review. *Lancet Infect. Dis.* **2016**, *16*, 239–251. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00466-1.
77. Mostafa Shamsuzzaman, M.; Kumar Biswas, T. Aqua chemicals in shrimp farm: A study from south-west coast of Bangladesh. *Egypt.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

J. Aquat. Res. **2012**, *38*, 275–285. https://doi.org/10.1016/j.ejar.2012.12.008.
78. Lillehaug, A.; Lunestad, B.; Grave, K. Epidemiology of bacterial diseases in Norwegian aquaculture–A description based on antibiotic prescription data for the ten-year period 1991 to 2000. *Dis. Aquat. Org.* **2003**, *53*, 115–125. https://doi.org/10.3354/dao053115.
79. Burridge, L.; Weis, J.S.; Cabello, F.; Pizarro, J.; Bostick, K. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture* **2010**, *306*, 7–23. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.020.
80. Chuah, L.-O.; Effarizah, M.E.; Goni, A.M.; Rusul, G. Antibiotic Application and Emergence of Multiple Antibiotic Resistance (MAR) in Global Catfish Aquaculture. *Curr. Environ. Health Rep.* **2016, *3*, 118–127**. https://doi.org/10.1007/s40572-016-0091-2.
81. Lulijwa, R.; Rupia, E.J.; Alfaro, A.C. Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: A review of the top 15 major producers. *Rev. Aquac.* **2020**, *12*, 640–663. https://doi.org/10.1111/raq.12344.
82. Thyssen, A; Ollevier, F. In vitro antimicrobial susceptibility of *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* to 15 different antimicrobial agents. *Aquaculture* **2001**, *200*, 259–269.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
03/05/2026 01:15:07 EEST - 216.73.217.38