

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**« ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ
ΣΕ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΕΛΩΔΙΜΩΝ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ ΚΑΙ
ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *CORNU ASPERSUM
MAXIMUM* ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ»**

**“INVESTIGATION FOR THE PRESENCE OF THE PARASITIC
PROTOZOA IN NATURAL POPULATIONS AND FARMED SNAILS OF
THE SPECIES *CORNU ASPERSUM MAXIMUM* IN GREECE”**

ΚΑΛΛΙΓΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: ΜΑΡΙΑΝΘΗ ΧΑΤΖΗΩΑΝΝΟΥ

Τριμελής επιτροπή:

1. Μαριάνθη Χατζηϊωάννου, Αν.. Καθηγήτρια, Εκτροφή Σαλιγκαριών και Βατράχων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα

2. Σμαράγδα Σωτηράκη, Διευθύντρια Ερευνών, Εργαστήριο Παρασιτολογίας, Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Θεσσαλονίκη, Μέλος

3. Κωνσταντίνος Αποστόλου, Επιστημονικός Συνεργάτης, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα προπτυχιακή διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βόλο το έτος 2022, με την βοήθεια του Τμήματος Παρασιτολογίας του Ινστιτούτου Κτηνιατρικών Ερευνών ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ στη Θέρμη Θεσσαλονίκης.

Ευχαριστώ θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα Μαριάνθη Χατζηιώννου, τον διδάκτορα κο Κωνσταντίνο Αποστόλου και την κα Σμαράγδα Σωτηράκη για την βοήθεια που μου πρόσφεραν για την υλοποίηση της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τους φίλους και συμφοιτητές μου για να στήριξη και την ανταλλαγή απόψεων ως προς το αντικείμενο της εργασίας και όσους συνείσφεραν στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ από τα βάθη της ψυχής μου, τους γονείς μου, οι οποίοι με στήριξαν από την πρώτη μέρα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΟΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
1.1 ΓΕΝΙΚΑ	5
1.2 ΣΑΛΙΓΚΑΡΟΤΡΟΦΙΑ	6
1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ	7
1.4 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ	7
1.5 ΕΙΔΟΣ CORNU ASPERSUM MAXIMUM	8
1.6 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ <i>Cornu aspesum maximum</i>	9
1.7 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΣΑΛΙΓΚΑΡΟΤΡΟΦΙΑΣ	10
1.8 ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	11
1.9 ΤΡΟΦΟΛΗΨΙΑ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ	11
1.10 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΙΝΗΣΗΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΥΚΑΡΥΩΤΩΝ	11
1.11 ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ	12
1.12. ΚΥΡΙΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ	12
1.12.1 ΦΥΛΟ <i>Retortamonada</i>	12
1.12.2 ΦΥΛΟ <i>Parabasala</i>	13
1.12.3 ΦΥΛΟ <i>Heterolobosea</i>	14
1.12.4 ΦΥΛΟ <i>Euglenozoa</i>	14
1.12.5 ΦΥΛΟ <i>Stramenopiles</i>	15
1.12.6 ΦΥΛΟ <i>Oomycetes</i>	15
1.12.7 ΦΥΛΟ <i>Alveolata</i>	15
1.12.8 ΦΥΛΟ <i>Ciliophora</i>	16
1.12.9 ΦΥΛΟ <i>Dinoflagellata</i>	16
1.12.10 ΦΥΛΟ <i>Coccidia</i>	17
1.13 Κύκλος ζωής <i>Cryptosporidium</i>	18
1.14 ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ <i>Toxoplasma gondii</i>	19
1.15 ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	22
2.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	22
2.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	22
2.3 ΕΞΑΓΩΓΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ	23
2.4 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ GIARDIA, CRYPTOSPORIDIUM SPP. ΚΑΙ T.GONDII	24
2.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	26
3.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	26

3.2 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ.....	26
3.2.1 ΚΟΚΚΙΔΙΑΚΑ ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΣΕ ΣΑΛΙΓΚΑΡΑ	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	34
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	35

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

Η παρούσα προπτυχιακή διατριβή ασχολείται με την σχέση μεταξύ των πρωτόζωων παρασίτων και των χερσαίων – υδρόβιων σαλιγκαριών, πειραματικά αλλά και βιβλιογραφικά. Κατά το πειραματικό κομμάτι, το οποίο πραγματοποιήθηκε στο τμήμα παρασιτολογίας του Ινστιτούτου Κτηνιατρικών Ερευνών ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ στη Θέρμη Θεσσαλονίκης, αναλύθηκαν σαλιγκάρια από φυσικούς πληθυσμούς αλλά και εκτρεφόμενα, από διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Σκοπός του πειράματος ήταν η ανίχνευση του πρωτόζωου παράσιτου *T. gondii*, αλλά έγινε και ανάλυση για ακόμη δύο είδη παρασίτων (*Cryptosporidium* spp. και *Giardia* spp.). Κατά το βιβλιογραφικό κομμάτι της εργασίας, χρησιμοποιήθηκαν έξι έρευνες σχετικές με πρωτόζωα και σαλιγκάρια ώστε να αποτυπωθεί η σχέση τους με βάση την μέχρι τώρα παγκόσμια βιβλιογραφία.

SUMMARY:

This undergraduate thesis focuses on the connection between the protozoan parasites and the terrestrial - aquatic snails, bibliographically and experimentally. During the experimental research, which was conducted at the Veterinary Research Institute ELGO DEMETER CAMPUS in Themi, Thessaloniki, snails from natural populations and farms from different areas in Greece were analyzed. The purpose of the experiment was the detection of the protozoan parasite *T. Gondii*. Additionally, there was a further analysis of two other parasites, named *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. Furthermore, within the bibliographic part of the thesis, six research academic papers were used, in relevance with protozoan and snails, in order to reproduce the connection between them, based on the global scientific bibliography.

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η ζωή στη Γη υπολογίζεται γύρω στα 3.5 δις χρόνια. Τα πρώτα κύτταρα έμοιαζαν με βακτήρια και ήταν σαφώς προκαρυωτικοί οργανισμοί. Οι απόγονοι αυτών, εντάσσονται μέχρι και σήμερα σε δύο ταξινομικές ομάδες, τα βακτήρια και τα Αρχαία. Στη συνέχεια η δημιουργία των ευκαριωτικών οργανισμών προήλθε από την συμβιογένεση δυο εξελικτικών γραμμών των αρχέγονων προκαρυωτών. Μετά από εγκόλπωση του ενός κυττάρου από το άλλο, χωρίς να γίνει πέψη του κυττάρου που εγκολπώθηκε, δημιουργήθηκε ένα οργανίδιο το οποίο υποπλάστηκε και μετατράπηκε μέσα στο κύτταρο ξενιστή.

Οι ευκαριωτικοί οργανισμοί αναφέρονται συνήθως ως πρωτόζωα. Με το δεύτερο συνθετικό “ζώα” καθίσταται σαφής ο χαρακτήρας των ζωικών οργανισμών, ως προς την απουσία κυτταρικού τοιχώματος και την δυνατότητα κίνησης σε ένα τουλάχιστον στάδιο του κύκλου ζωής. Παρόλα αυτά ο διαχωρισμός των φυτών από τα ζώα, στις μονοκύτταρες, είναι ιδιαίτερα δύσκολος λόγω των πολλών κινούμενων μορφών που εμπεριέχουν φωτοσυνθετικά πλαστίδια.

Τα πρωτόζωα αποτελούν πλήρεις οργανισμούς, διότι διεξάγονται εντός της πλασματικής μεμβράνης όλες οι απαραίτητες λειτουργίες για να ζήσει ο οργανισμός. Ειδικότερα, διαθέτουν εξαιρετική ικανότητα προσαρμογής και μετακίνησης. Στις συνθήκες επιβίωσης των ευκαρυωτών παίζει σημαντικό ρόλο η ύπαρξη υγρασίας. Τα μέρη που συναντώνται οι οργανισμοί αυτοί είναι πρακτικά οπουδήποτε υπάρχει ζωή, όπως για παράδειγμα θαλάσσια ενδιαιτήματα, σε γλυκά ύδατα, στο έδαφος, στην οργανική ύλη που αποσυντίθενται, σε ζώα και φυτά. Τα πρωτόζωα επίσης, περιλαμβάνουν προσκολλημένες και ελεύθερα κολυμβητικές μορφές και μεγάλο μέρος αυτών απαρτίζει το πλαγκτόν.

Περίπου 10.000 είναι τα είδη των μονοκύτταρων ευκαρυωτών που συμβιώνουν επάνω ή στο εσωτερικό των ζώων και φυτών ή και άλλων πρωτόζωων γεγονός που οδήγησε σε τρεις συμβιωτικές σχέσεις μεταξύ των οργανισμών. Πιο συγκεκριμένα η πρώτη έχει τη μορφή αμοιβαιότητας, κατά την οποία οι δυο οργανισμοί έχουν κοινό όφελος, η δεύτερη είναι σχέση ομοσιτισμού, όπου και υπάρχει όφελος του ενός, χωρίς όμως αυτό να δημιουργεί πρόβλημα στο άλλο. Τέλος η τρίτη σχέση η οποία αφορά και την παρούσα προπτυχιακή διατριβή είναι η σχέση παρασιτισμού, όπου το ένα είδος ωφελείται σε βάρος του άλλου.

1.2 ΣΑΛΙΓΚΑΡΟΤΡΟΦΙΑ

Τα σαλιγκάρια αποτελούν τροφή, η οποία καταναλώνεται από εκατομμύρια ανθρώπους σε ολόκληρο τον κόσμο (Jess & Marks 1998, Murphy 2001, Milinsk et al. 2006). Τα βρώσιμα χερσαία σαλιγκάρια είναι ένα υψηλής διατροφικής αξίας προϊόν. Από τα σαλιγκάρια εξάγονται προϊόντα όπως χαβιάρι σαλιγκαριών, βλέννα, διάφορες βιοδραστικές ουσίες από το σώμα ή τις εκκρίσεις των σαλιγκαριών και το κολλαγόνο. Μεγάλη είναι η εμπορική τους αξία και διαθέτουν σταθερή ζήτηση σε εξασφαλισμένες αγορές. Η εντατική του κατανάλωση ξεκίνησε από τα τέλη του 19ου αιώνα, εξαιτίας κυρίως της μεγάλης προβολής των γαστρονομικών του προσόντων.

Οι κύριοι καταναλωτές των σαλιγκαριών είναι οι Ευρωπαίοι πολίτες, με κυριότερη καταναλώτρια χώρα, τη Γαλλία. Η εκτροφή σαλιγκαριών, έχει μεγάλη οικονομική σημασία

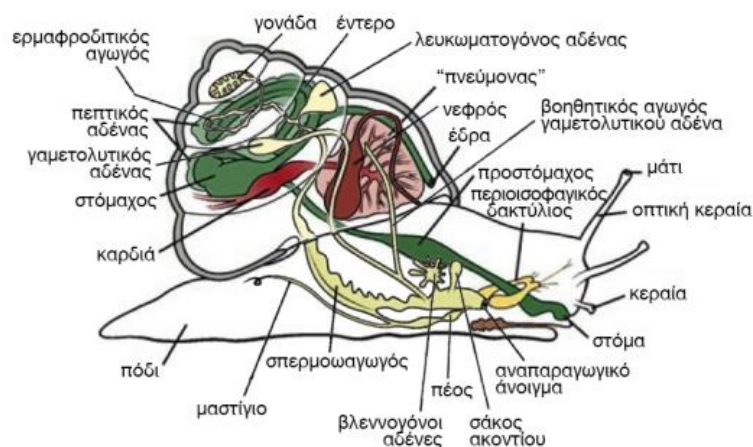
και απαιτεί μια αξιόλογη επένδυση σε χρόνο, εξοπλισμό, και πόρους. Σε χώρες, όπως η Γαλλία, η Ιταλία, η Ισπανία, αλλά και η Αυστραλία, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι εκτατικού και εντατικού τύπου εκτροφής σαλιγκαριών (Elmslie 1989, Igglessias et al. 1996, Begg & Mcinness 2003). Η εκτροφή τους παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, καθώς τα σαλιγκάρια έχουν μεγάλη ικανότητα προσαρμογής και παρουσιάζουν σχετικά γρήγορη αναπαραγωγική διαδικασία. Μόνο στην Γαλλία, καταναλώνονται 40.000 τόνοι σαλιγκαριών ετησίως (Anonymous 1998).

1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ

Τα σαλιγκάρια ανήκουν στην κλάση, Γαστερόποδα (Gastropoda) του φύλου των Μαλακίων (Mollusca). Τα γαστερόποδα, τα οποία αποτελούν και την πλειοψηφία των σύγχρονων ειδών μαλακίων, διαιρούνται σε τρεις υποκλάσεις. Ειδικότερα, η πρώτη υπόκλαση είναι τα Προσοβράγχια (Prosobranchia), τα οποία αναπνέουν με βράγχια που βρίσκονται στο πρόσθιο μέρος του σώματος. Στη συνέχεια τα Οπισθοβράγχια (Oristhobranchia), τα οποία αναπνέουν με βράγχια που βρίσκονται στο οπίσθιο μέρος του σώματος και τέλος τα Πνευμονοφόρα (Pulmonata) τα οποία αναπνέουν μέσω πνεύμονα που αποτελεί τροποποίηση του μανδύα.

1.4 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ

Τα σαλιγκάρια διαθέτουν μαλακό σώμα, το οποίο καλύπτεται από το κέλυφος. Το σώμα χωρίζεται σε δύο τμήματα. Το ένα τμήμα περιλαμβάνει το πόδι, το κεφάλι, τα αισθητήρια όργανα, τα εγκεφαλικά γάγγλια, η αρχή του πεπτικού συστήματος και το όργανο κίνησης. Το άλλο τμήμα που αποτελεί την σπλαχνική μάζα, περιλαμβάνει το υπόλοιπο πεπτικό σύστημα, τα νεύρα και τα γάγγλια, το κυκλοφορικό, το απεκκριτικό, το αναπνευστικό και το αναπαραγωγικό σύστημα.



Εικόνα 1.1 Εσωτερική οργάνωση ενός χερσαίου σαλιγκαριού

Η σπλαχνική μάζα είναι διαρκώς προστατευμένη στο εσωτερικό του κελύφους, ενώ το πόδι, με τα όργανα που φέρει εκβάλλουν από το κέλυφος, όταν το σαλιγκάρι έρπεται, τρέφεται ή αναπαράγεται. Μπορεί επίσης να διεισδύει στο εσωτερικό του κελύφους σε περιόδους ανάπαυσης. Η ένωση του σώματος με το κέλυφος αλλά και η απόσυρση του ποδιού μέσα στο κέλυφος, γίνεται με τη σύσπαση ενός μυός, που ονομάζεται μυς του στυλίσκου και προσφύεται στον άξονα περιέλιξης του κελύφους, που ονομάζεται στυλίσκος. Κατά την διάρκεια των περιόδων της καλοκαιρινής και της χειμερινής νάρκης, το σαλιγκάρι αποσύρει ολόκληρο το σώμα του μέσα στο κέλυφος και καλύπτει το άνοιγμα του κελύφους με το επίφραγμα, το οποίο κατασκευάζεται για προσωρινή χρήση από αποξηραμένη βλέννα και αποθέσεις ασβεστίου και το οποίο απορρίπτεται όταν οι συνθήκες είναι κατάλληλες για να δραστηριοποιηθεί το σαλιγκάρι εκ νέου.

1.5 ΕΙΔΟΣ CORNU ASPERSUM MAXIMUM

Το είδος *Cornu aspersum maximum* είναι ένα από τα πιο γνωστά εδώδιμα εμπορικά σαλιγκάρια, καλύπτοντας το 40% της Ευρωπαϊκής αγοράς (Lazaridou-Dimitriadou et al. 1998). Για πολλά χρόνια το αποδεκτό όνομα του είδους θεωρούνταν το *Helix aspersa*, μέλος του γένους *Helix*. Το είδος αυτό αποτελεί ένα από τα πιο επιτυχημένα εξελεγκτικά είδη μεταξύ των πνευμονοφόρων γαστερόποδων, γεγονός που αποδίδεται στην εξαιρετική προσαρμοστικότητα του. Γενικά, προτιμά σταθερά περιβάλλοντα, με αρκετή υγρασία και αποθέματα τροφής (Dekle & Fasulo 2001). Οι πιο συχνοί βιότοποι στους οποίους εμφανίζεται είναι αγροτικές περιοχές, δάση, κήποι και γενικότερα περιοχές με ασβεστούχα εδάφη (Ports 1975).

Το ενήλικο άτομο έχει ένα σκληρό και λεπτό ασβεστούχο κέλυφος διαμέτρου 25-40 χιλιοστών και ύψους 25-35 χιλιοστών, με 4 ή 5 στροβίλους. Φέρει μεγάλη ποικιλομορφία στην απόχρωση του σώματος αλλά γενικά έχει ένα δικτυωτό μοτίβο σκούρου καφέ, καστανό προς χρυσό ή καστανού με κίτρινες ρίγες, κηλίδες ή ραβδώσεις. Είναι ερμαφρόδιτος οργανισμός, που παράγει και αρσενικούς και θηλυκούς γαμέτες. Η αναπαραγωγή είναι συνήθως μεταξύ δυο ατόμων, αλλά έχει παρατηρηθεί και αυτογονιμοποίηση. Περίπου δύο εβδομάδες μετά την γονιμοποίηση, το σαλιγκάρι γεννά μια παρτίδα από περίπου 80 σφαιρικά άσπρα μαργαριταρένια αυγά, σε σχισμές του εδάφους ή κάτω από πέτρες. Σε ένα χρόνο μπορεί να

γεννήσει περίπου έξι παρτίδες αυγών με το μέγεθος των αυγών να είναι 4mm, ενώ τα νεαρά σαλιγκάρια χρειάζονται ένα έως δύο χρόνια για να φτάσουν στην ωριμότητα.



Εικόνα 1.2 Διαφορετικά χρωματικά πρότυπα στο κέλυφος σαλιγκαριών του είδους *Cornu aspersum maximum*. (Alexandra Staikou, 2015)



Εικόνα 1.3 Διαφορά στο μέγεθος και στο χρώμα του μανδύα μεταξύ του είδους *Cornu aspersum* (επάνω σειρά) και του υποείδους *Cornu aspersum maximum* (κάτω σειρά) (Alexandra Staikou, 2015).

1.6 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ *Cornu aspersum maximum*

Σύμφωνα με έρευνα του Murphy (2001), για την πάχυνση των σαλιγκαριών απαιτείται ήπιο κλίμα με μέτρια θερμοκρασία που κυμαίνεται από 20 έως και 25 ° C, σε συνδυασμό με

υψηλή υγρασία (75-95%) αν και τα περισσότερα είδη μπορούν να διαβιώσουν σε ένα ευρύτερο φάσμα θερμοκρασιών που κυμαίνεται από 5 έως και 30°C. Σε περιπτώσεις πτώσης της θερμοκρασίας στους 5° C, τα σαλιγκάρια περνούν σε χειμéria νάρκη, ενώ κάτω από τους 15°C η αύξηση των σαλιγκαριών παρουσιάζει πτωτική τάση.

Η σημαντικότητα της υγρασίας για την επιβίωση των σαλιγκαριών τονίζεται από την Begg (2006). Η ιδανική υγρασία εδάφους είναι αυτή με κατακράτηση 80% (Runham 1989). Κατά τη διάρκεια της νύχτας, η υγρασία της ατμόσφαιρας όταν είναι πάνω από 80% συμβάλει στο μέγιστο ώστε τα σαλιγκάρια να δραστηριοποιούνται και να αναπτύσσονται. Η νυχτερινή δροσιά, διευκολύνει την κίνηση των σαλιγκαριών στο χώρο, ενώ κατά το μεγαλύτερο μέρος της ημέρας παραμένουν στα καταφύγια, τα οποία είναι συνήθως ξύλινες κατασκευές (Elmslie 1989). Όπως αναφέρεται από την Attia (2004), η υψηλή θερμοκρασία και η χαμηλή σχετική υγρασία μπορεί να προκαλέσει την πλήρη παύση των δραστηριοτήτων τους.

1.7 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΣΑΛΙΓΚΑΡΟΤΡΟΦΙΑΣ

Οι κίνδυνοι που αντιμετωπίζουν τα σαλιγκάρια είναι πολλοί, οι οποίοι πρέπει να συμπεριληφθούν σοβαρά στην προφύλαξη της εκτροφής από τους παραγωγούς, ώστε να προστατέψουν την σαλιγκαροτροφία τους. Η θνησιμότητα άλλωστε αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα στις εκτροφές, ιδίως στις εκτροφές του ανοιχτού τύπου, που πρέπει να περιοριστεί στο ελάχιστο για να διασφαλιστεί η επιτυχία της εκτροφής. Στις εκτροφές ανοιχτού τύπου, δίνεται προτεραιότητα στην πρόληψη των εισβολών και στην αντιμετώπιση των θηρευτών.

ΘΗΡΕΥΤΕΣ ΣΑΛΙΓΑΡΙΩΝ	
Θηλαστικά	Ποντίκια, Αρουραίοι, Νυφίτσες, Σκαντζόχοιροι, Κουνάβια
Πτηνά	Κοράκια, Καρακάξες, Κοτσύφια, Κότες, Τσίγλες
Ερπετά	Φίδια και Σαύρες
Αμφίβια	Βατράχια
Έντομα	Δίπτερα, Κολεόπτερα, Προνύμφες
Παράσιτα	Τρηματώδη, Πλατυέλμινθες, Νηματώδη, Ακάρεα
Μικρόβια	Μύκητες, Βακτήρια, Πρωτόζωα

1.8 ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Οι μικροοργανισμοί είναι υπεύθυνοι για τις περισσότερες αλλοιώσεις που συμβαίνουν στα τρόφιμα τα οποία καταναλώνει ο άνθρωπος. Είτε μέσω τροφολοίμωσης, δηλαδή απευθείας προσβολή του εντερικού σωλήνα του ανθρώπου, είτε μέσω τροφοτοξίνωσης, δηλαδή προσβολή από μεταβολικά προϊόντα μικροοργανισμών που περιέχουν τοξίνες, αποτελούν τον μεγαλύτερο κίνδυνο για εκδήλωση τροφικής δηλητηρίασης. Στα χερσαία σαλιγκάρια, το μικροβιακό φορτίο, προέρχεται από την χλωρίδα που υπάρχει φυσιολογικά σε αυτά και από την μικροχλωρίδα επιμόλυνσης που προέρχεται από το περιβάλλον στο οποίο ζούνε, καθώς και τη χλωρίδα του εδάφους και των φυτών που καταναλώνουν. Τα σαλιγκάρια τα οποία βρίσκονται σε χειμέρια νάρκη και έχουν σχηματίσει επίφραγμα, εμφανίζουν μικρότερο φορτίο μικροβιακής χλωρίδας, ενώ αυτά που έχουν μολυνθεί, έχουν το μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο στο πεπτικό και γεννητικό τους σύστημα. Τέλος έχει παρατηρηθεί πως αν το περιβάλλον γενικά είναι μολυσμένο, τότε, τα κελύφη μολύνονται περισσότερο από τα σώματα τους.

1.9 ΤΡΟΦΟΛΗΨΙΑ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ

Οι τρόποι πρόσληψης τροφής των ετερότροφων πρωτόζωων τα χωρίζουν στις κατηγορίες των φαγότροφων και των ολοζωικών, που λαμβάνουν ορατά σωματίδια και στις κατηγορίες των ωσμάτροφων και σαπροζωικών, οι οποίοι προσλαμβάνουν διαλυμένη τροφή. Πολλές είναι όμως και οι περιπτώσεις των αυτότροφων πρωτόζωων, στα οποία εμπεριέχονται χλωροπλάστες και χρησιμοποιούν την διαδικασία της φωτοσύνθεσης για να εξασφαλίσουν την απαραίτητη ενέργεια.

1.10 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΙΝΗΣΗΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΥΚΑΡΥΩΤΩΝ

Ως προς την κίνηση των μονοκύτταρων ευκαριωτών παρατηρούμε 4 κλάσεις. Η κλάση Σπορόζωα, μια παρασιτική ομάδα δίχως κάποιο όργανο κίνησης, πού διαθέτει μόνο ένα οργανίδιο που το καθιστά ικανό προς διείσδυση στο εσωτερικό των ξενιστών. Επιπλέον, σημαντική κλάση, αυτή των μαστιγωτών, που περιλαμβάνει οργανισμούς που χρησιμοποιούν ως συνηθώς δύο μαστίγια, που προεξέχουν από το σώμα τους. Ακόμη, η κλάση των βλεφαριδωτών, όπου η κυτταρική μεμβράνη διαθέτει εξωτερικά βλεφαρίδες που ωθούν στην επιθυμητή κατεύθυνση, ενώ ιδιαίτερη είναι η παλμική τους κίνηση. Μεγάλη κατηγορία

αποτελούν οι αμοιβάδες, οι οποίες χρησιμοποιούν ψευδοπόδια για να κινηθούν, τα οποία χωρίζονται επιμέρους σε λοβοπόδια με αμβλύ άκρο, οξύληκτα και λεπτά νηματοπόδια, πολυκλαδισμένα νηματοπόδια που ονομάζονται ριζοπόδια, αξονοπόδια και δικτυοπόδια. Μερικές αμοιβάδες δημιουργούν κελύφη που ονομάζονται θηκαμοιβάδες.

1.11 ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ

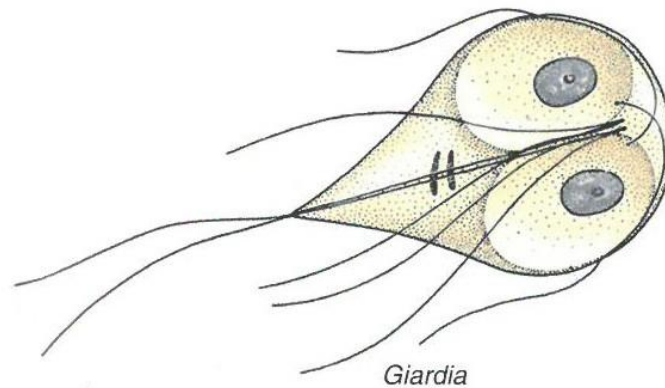
Αναπαραγωγικά, τα πρωτόζωα, ακολουθούν διαδικασίες εγγενούς και αγενούς αναπαραγωγής καθώς και εκβλάστησης. Πιο συγκεκριμένα, δεν υπάρχουν έμβρυα στα πρωτόζωα και πραγματοποιείται υποδιπλασιαστική διαίρεση του αριθμού των χρωμοσωμάτων, ανάπτυξη γαμετικών κυττάρων και σύντηξη γαμετικών πυρήνων κατά τον εγγενή τρόπο αναπαραγωγής. Από την άλλη, στην αγενή αναπαραγωγή συμβαίνει διχοτόμηση και δημιουργούνται δυο πανομοιότυπα άτομα. Κατά την εκβλάστηση, ο απόγονος οργανισμός έχει πολύ μικρότερο μέγεθος από το αρχικό ενήλικο και στην συνέχεια με την πάροδο του χρόνου καταλήγει σε μέγεθος ενηλικού που και αυτό με την σειρά του θα δώσει με εκβλάστηση τους επόμενους απογόνους. Κύριο ρόλο στην αναπαραγωγή παίζει η πολλαπλή διαίρεση ή σχιζογονία, διαδικασία στην οποία ο πυρήνας διαιρείται πολλαπλές φορές πριν την διαίρεση του κυτοπλάσματος. Τέλος, όταν η σχιζογονία σχετίζεται με ένωση γαμετών τότε η διαδικασία ονομάζεται σπορογονία. Η επιβίωση των πρωτόζωων είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ικανότητα τους να δημιουργούν κύστες. Οι δυσμενείς συνθήκες, ειδικότερα, σηματοδοτούν την εγκύστωση των πρωτόζωων και η επαναφορά των φυσιολογικών συνθηκών, την αποκύστωση. Οι κύστες είναι λανθάνουσες, δηλαδή σε αδράνεια, μορφές ζωής που έχουν ένα ανθεκτικό περίβλημα και το στάδιο αυτό αποτελείται από πλήρη παύση του μεταβολισμού. Είναι δυνατή η πραγματοποίηση της αναπαραγωγής σε ορισμένα είδη, όπως διαίρεση εκβλάστηση και συγγαμία.

1.12. ΚΥΡΙΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΠΡΩΤΟΖΩΩΝ

1.12.1 ΦΥΛΟ *Retortamonada*

Στο φύλο *Retortamonada* δεν υπάρχουν μιτοχόνδρια και σωμάτια Golgi. Αποτελούν παράσιτα του πεπτικού σωλήνα του ανθρώπου και η παρουσία του σε αυτόν είναι κυρίως ασυμπτωματική αλλά μερικές φορές προκαλεί διάρροια. Η μετάδοση του γίνεται μέσω των κοπράνων που εμπεριέχουν κύστες του παρασίτου που καταλήγουν να μολύνουν το νερό. Ένα

χαρακτηριστικό είδος είναι το *Giardia lamblia* που ζει στις δυτικές ΗΠΑ σε λίμνες με κάστορες.



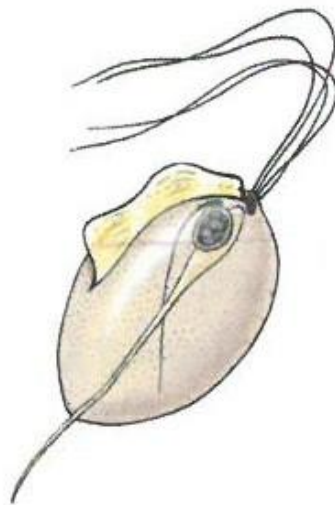
Εικόνα 1.4 Απεικόνιση είδους *Giardia lamblia*, το οποίο προκαλεί διάρροια στον άνθρωπο (Hickman J. et al., 2010)

Οι ωοκύστες *Giardia* μπορούν να μολύνουν τα τρόφιμα, το νερό και τις επιφάνειες και μπορούν να προκαλέσουν μόλυνση όταν καταποθούν σε αυτό το στάδιο του κύκλου ζωής τους. Η μόλυνση εμφανίζεται όταν ένα άτομο καταπίνει κύστες *Giardia* από μολυσμένο νερό, φαγητό, χέρια, επιφάνειες ή αντικείμενα. Όταν οι κύστες *Giardia* καταπίνονται, περνούν από το στόμα, τον οισοφάγο και το στομάχι, στο λεπτό έντερο όπου κάθε κύστη απελευθερώνει δύο τροφοζώιτες μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται αποκύστωση. Οι τροφοζώιτες *Giardia* στη συνέχεια τρέφονται και απορροφούν θρεπτικά συστατικά από το μολυσμένο άτομο. Οι τροφοζώιτες *Giardia* πολλαπλασιάζονται με διάσπαση στα δύο, παραμένοντας στο λεπτό έντερο όπου μπορούν να είναι ελεύθερα ή να προσκολληθούν στην εσωτερική επένδυση του λεπτού εντέρου. Οι τροφοζώιτες *Giardia* στη συνέχεια κινούνται προς το παχύ έντερο και μετατρέπονται ξανά σε μορφή κύστης μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται εγκύστωση. Η ωοκύστη *Giardia* είναι το στάδιο που εντοπίζεται πιο συχνά στα κόπρανα. Τόσο οι ωοκύστες *Giardia* όσο και οι τροφοζώιτες μπορούν να βρεθούν στα κόπρανα κάποιου που πάσχει και μπορεί να παρατηρηθούν μικροσκοπικά για τη διάγνωση. Οι κύστες *Giardia* είναι αμέσως μολυσματικές όταν περνούν στα κόπρανα ή λίγο μετά, και οι κύστες μπορούν να επιβιώσουν αρκετούς μήνες σε κρύο νερό ή χώμα.

1.12.2 ΦΥΛΟ Parabasala

Ανήκουν τα *Trichomonas* και άλλα 400 περίπου είδη τα οποία διαθέτουν αξονόστυλο, δηλαδή μια άκαμπτη ράβδο που αποτελείται από μικροσωληνίσκους κατά μήκος του

σωματικού άξονα. Χαρακτηρίζονται από τη ύπαρξη παραβασικού σωματίου, πιο συγκεκριμένα από μια τροποποιημένη περιοχή στο σύμπλεγμα Golgi, ύπαρξη υδρογονοσωμάτων. Επίσης, από ένα χαρακτηριστικό μαστιγωτό στάδιο στον κύκλο ζωής τους και από ένα μοναδικό τύπο μίτωσης. Παράδειγμα είδους είναι το *Trichomonas vaginalis*, σεξουαλικά μεταδιδόμενο παράσιτο στον άνθρωπο και προσβάλλει τον ουρογεννητικό σωλήνα προκαλώντας κολπίτιδα στα θηλυκά άτομα, ενώ η παρουσία του στα αρσενικά άτομα είναι ασυμπτωματική.



Trichomonas

Εικόνα 1.5 Απεικόνιση είδους *Trichomonas vaginalis*. (Hickman J. et al., 2010)

1.12.3 ΦΥΛΟ Heterolobosea

Στα ετερολοβωτά ανήκουν οι γυμναμοιβάδες που έχουν απότομο σχηματισμό ψευδοποδίων και αποτελούνται και από μαστιγωτά στάδια ανάπτυξης, γι' αυτό και ονομάζονται αμοιβαδομαστιγωτά ή σχιζοπύρηνα. Το μαστιγωτό στάδιο είναι καλύτερα προσαρμοσμένο στην αναζήτηση τροφής από ότι το αμοιβαδικό στάδιο.

1.12.4 ΦΥΛΟ Euglenozoa

Τα Euglenozoa ή ευγληνόζωα είναι μέρος μονοφυλετικής ομάδας και χωρίζονται σε δυο υπόφυλα, τα Euglenida (ευγλήνιδα) και τα kinetoplasta (κινητόπλαστα). Τα κινητόπλαστα έχουν χλωροπλάστες με τροποποιημένο μιτοχόνδριο, που είναι συνδεδεμένο με το κινητόσωμα που φέρει μεγάλους δίσκους DNA και οι οργανισμοί αυτοί παρασιτούν σε άλλους, ζωικούς ή φυτικούς. Από την άλλη, τα ευγλήνιδα φέρουν χλωροπλάστες, έχουν διπλή κυτταρική

μεμβράνη και έχουν πράσινο χρώμα. Χαρακτηριστικό είδος αποτελεί το *Euglenida viridis*, το οποίο ζει εσωτερικά νερά, ρέματα λίμνες, όπου υπάρχει βλάστηση από φυτικούς οργανισμούς και έχει συνολικό μήκος 60μm.

1.12.5 ΦΥΛΟ Stramenopiles

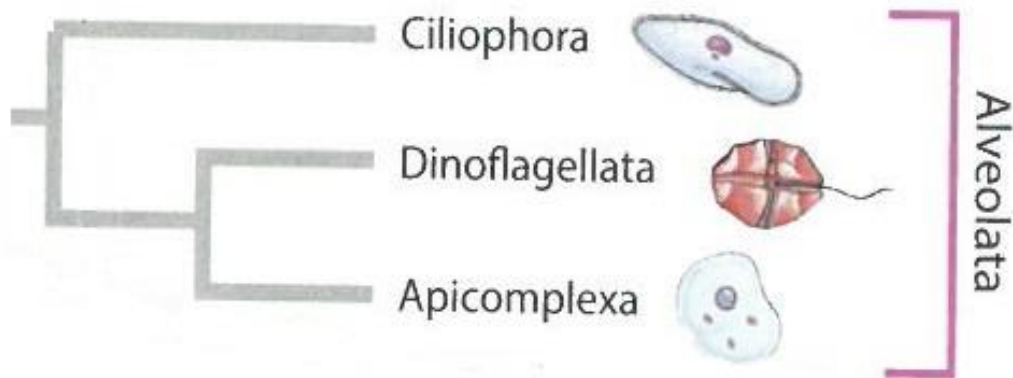
Τα αχυρότρυχα είναι μια μονοφυλετική ταξινομική μονάδα. Ανήκουν στα ετερόκοντα μαστιγωτά και έχουν δυο μαστίγια, εκ των οποίων το ένα είναι μακρύ και τριχωτό που εξυπηρετεί την κίνηση του προς τα εμπρός, ενώ το άλλο είναι κοντό και λείο και ωθεί το σώμα προς τα πίσω. Τα ετερόκοντα χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες, τα φαιοφύκη, τα χρυσοφύκη και τα διάτομα. Χρησιμοποιούν πλαστίδια για τη πρόσληψη ενέργειας, αλλά υπάρχουν και ετερότροφες μορφές που δεν διαθέτουν πλαστίδια. Παραδείγματα αυτών είναι τα οπαλινίδια τα οποία ομοσιτούν στους βατράχου, τα λαβυρινθουλίδια ή αλλιώς μυξοδίκτυα τα οποία ομοσιτούν στα φυτά και παρασιτούν στα χερσαία γρασίδια (χλωτοάπιτες golf).

1.12.6 ΦΥΛΟ Oomycetes

Το πιο γνωστό γένος ωμοκλήτων είναι τα *phytophthora*, εκ του γένους αυτού πρωταγωνιστεί το είδος *P. Infestaus*, που προκαλεί τη νόσο Ερυσίβη στις πατάτες όπως επίσης προκάλεσε και τον λοιμό της Ιρλανδίας. Ενώ άλλο είδος αυτών, έγινε αιτία για τον θάνατο των δρυών, σε μεγάλες εκτάσεις δέντρων στην Καλιφόρνια.

1.12.7 ΦΥΛΟ Alveolata

Τα κυψελιδωτά, ένα υπέρφυλο με τρία φύλα, χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη κυψελίδων (alveoli), δηλαδή θύλακες που εγκλείονται από μεμβράνη ακριβώς κάτω από την κυτταρική μεμβράνη. Τα ciliophora σχηματίζουν υμενίδια, ενώ τα dinoflagellata σχηματίζουν πλακίδια θήκης και αποτελούν ομάδα θωρακισμένων μαστιγωτών. Το τρίτο φύλο είναι τα apicomplexa τα οποία είναι ενδοκυτταρικά παράσιτα και παλαιότερα εντασσόταν στα σποροζώα με κυψελίδες δομικού χαρακτήρα.



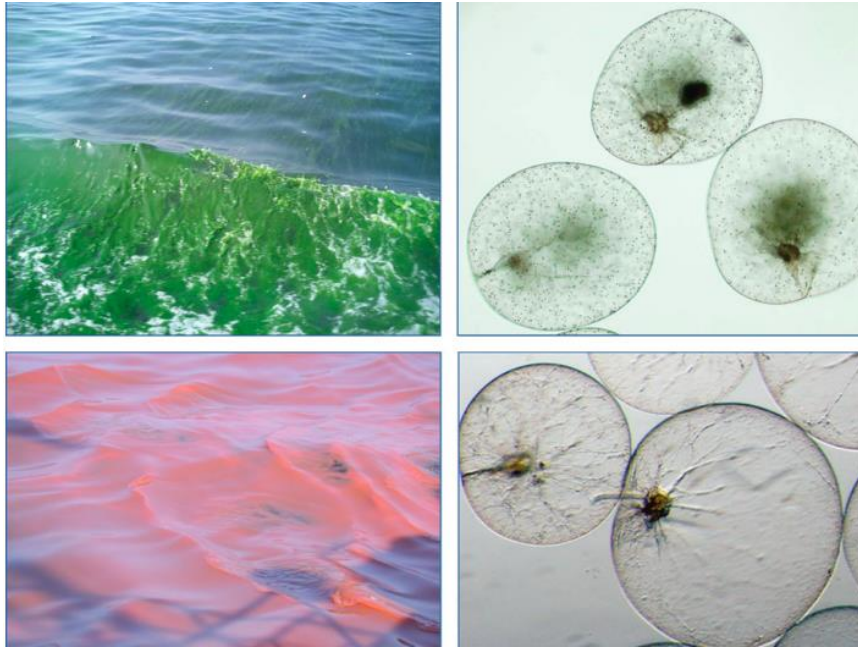
Εικόνα 1.6 Απεικόνιση φύλου Alveolata (Hickman J. et al., 2010)

1.12.8 ΦΥΛΟ Ciliophora

Τα ciliophora δομικά, παρουσιάζουν τις πιο πολύπλοκες μορφές πρωτόζωων. Διαθέτουν βλεφαρίδες που πάλλονται συντονισμένα και ρυθμικά με σκοπό την κίνηση τους. Είναι από τις μεγαλύτερες ομάδες πρωτόζωων με μήκος 10 μm - 3mm και αποτελούν, συνήθως, ελεύθερες κολυμβητικές μορφές στα υδάτινα ενδιαιτήματα. Υπάρχουν ομοσιτικά και παρασιτικά είδη. Άλλα είναι μονήρη σε κινούμενη μορφή, άλλα είναι προσκολλημένα, ενώ άλλα δημιουργούν αποικίες. Όλα τα βλεφαριδωτά είναι πολυπύρρηνα και διαθέτουν ένα μακροπυρήνα (macronucleus) και ένα μικροπυρήνα (micronucleus), καθώς επίσης εμπεριέχουν τριχοκύστες (trichocysts), τοξικούστες (toxicysts) οι οποίες εκτοξεύουν νηματοειδείς δομές που προσφέρουν αμυντική λειτουργία στους οργανισμούς αυτούς.

1.12.9 ΦΥΛΟ Dinoflagellata

Τα δινομαστιγωτά παίζουν χαρακτηριστικό οικολογικό ρόλο, καθώς βρίσκονται ανάμεσα στους πιο σημαντικούς πρωτογενείς παραγωγούς του θαλάσσιου περιβάλλοντος. Το μισά περίπου είδη είναι φωτοαυτότροφα, ενώ τα υπόλοιπα δεν διαθέτουν χλωροπλάστες και είναι ετερότροφα. Το γένος *Ceratium*, περικλείεται από ένα παχύ σωματικό περίβλημα με μακριές άκανθες. Το γένος *Noctiluca*, δεν περιλαμβάνει χρωστικές είναι αδηφάγο και συμπεριλαμβάνεται στους θαλάσσιους οργανισμούς που παράγουν φως (βιοφωτισμός).



Εικόνα 1.7 Δύο μορφές *Noctiluca scintillans*: η πράσινη μορφή (άνω) και η ετερότροφη κόκκινη μορφή (κάτω) (GEOHAB, 2010).

Τα δινομαστιγωτά, επίσης, μπορεί να γίνουν βλαπτικά προς άλλους οργανισμούς, όπως για παράδειγμα στις περιπτώσεις ερυθράς παλίρροιας. Στους ανθρώπους, που καταναλώνουν ψάρια που έχουν συσσωρεύσει τοξίνη που εκκρίνεται από δινομαστιγωτά, προκαλείται η νόσος σιγκουατέρα. Άλλο ένα παράδειγμα βλαπτικών οργανισμών του φύλου είναι το γένος *Phiesteria* που περιλαμβάνει 20 σωματικούς τύπους με μαστιγωτές και αμοιβαδωτές μορφές. Το *Phiesteria piscicida*, κατά μήκος των ακτών του Ατλαντικού ωκεανού, νότια της Βόρειας Καρολίνας, όπου η ορμόνη που εκκρίνεται δημιουργεί δερματικές κακώσεις στα ψάρια, σοκ ή ακόμη και μοιραίο θάνατο.

1.12.10 ΦΥΛΟ Coccidia

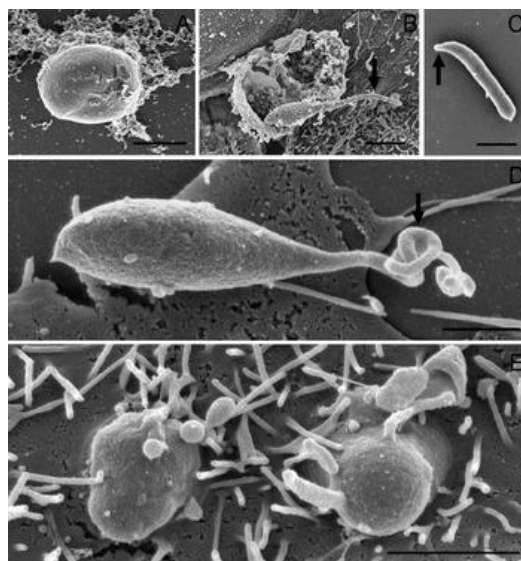
Τα κοκκίδια είναι μια ομάδα υποχρεωτικών ενδοκυτταρικών παρασίτων. Ο κύκλος ζωής τους χωρίζεται σε τρία μέρη, την σπορογονία, την εγκύστωση και την ενδογενή ανάπτυξη. Ειδικότερα, παρασιτούν στον άνθρωπο, στους σκύλους, στις γάτες στα πτηνά και σε άλλα σπονδυλωτά και ασπόνδυλα. Τα συμπτώματα των ανθρώπων είναι ήπια, πέραν των περιπτώσεων που νοσούν από AIDS, όπου και προκαλούνται σοβαρά προβλήματα. Το τοξόπλασμα (*Toxoplasma gondii*) προκαλεί τοξοπλάσμωση στις γάτες και τον άνθρωπο. Τα είδη του γένους *Cryptosporidium* επικρατούν σε όλο τον πλανήτη και παρασιτούν στον άνθρωπο και σε πολλά άλλα ζώα. Το είδος *Eimeria tenella* προσβάλλει πτηνά, εισέρχεται στο

έντερο και οδηγεί τους ξενιστές του σε θάνατο όταν αυτοί βρίσκονται σε νεαρή ηλικία. Ακόμη, ένα κοινό κοκκίδιο, που παρασιτεί στους χοίρους και τον άνθρωπο, είναι το *Balantidium coli*, το οποίο ανήκει στα βλεφαριδωτά

1.13 Κύκλος ζωής *Cryptosporidium*

Οι ωοκύστες που περιέχουν 4 σποροζωίτες, απεκκρίνονται από τον μολυσμένο ξενιστή μέσω των κοπράνων και πιθανώς άλλων οδών, όπως αναπνευστικές εκκρίσεις. Η μετάδοση πραγματοποιείται κυρίως μέσω της κατάποσης μολυσμένου από κόπρανα νερού ή τροφής (π.χ. νοπό γάλα) ή μετά από άμεση επαφή με μολυσμένα ζώα ή ανθρώπους.

Οι σποροζωίτες απελευθερώνονται και παρασιτούν στα επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα και πιθανώς της αναπνευστικής οδού. Σε αυτά τα κύτταρα τα παράσιτα αναπαράγονται με σχιζογονία και στη συνέχεια γίνεται αναπαραγωγή με γαμέτες παράγοντας μικρογαμέτες (αρσενικοί) και μακρογαμέτες (θηλυκοί). Κατά τη γονιμοποίηση των μακρογαμέτων από τους μικρογαμέτες, αναπτύσσονται ωοκύστες και σποριώνονται στον μολυσμένο ξενιστή. Τα ζυγωτά δημιουργούν δύο διαφορετικούς τύπους ωοκύστεων (παχύ και λεπτό τοιχώματος). Οι ωοκύστες με παχύ τοίχωμα απεκκρίνονται από τον ξενιστή στο περιβάλλον, ενώ οι ωοκύστες με λεπτό τοίχωμα εμπλέκονται στον εσωτερικό μολυσματικό κύκλο και δεν κατευθύνονται προς τα κόπρανα. Οι ωοκύστες είναι μολυσματικές κατά την απέκκριση, επιτρέποντας έτσι την άμεση και έμμεση μετάδοση.



Εικόνα 1.8 Εκκύστωση ωοκύστης *Cryptosporidium* και εισβολή σποροζωίτη στο κυττάρου ξενιστή. (A) Άθικτη ωοκύστη από υπερκείμενο, 3 ώρες μετά τον εμβολιασμό. (B) Εκκύστωση

ωοκύστης *in vitro*, 48 ώρες μετά τον εμβολιασμό. (C) Ελεύθερος σποροζωΐτης που απομονώθηκε από το υπερκείμενο 3 ώρες μετά τον εμβολιασμό. (D) Ελεύθερος σποροζωΐτης στο κύτταρο ξενιστή, 7 ώρες μετά τον εμβολιασμό. Τα βέλη δείχνουν τις κορυφαίες περιοχές των σποροζωΐτών. (E) Ενθυλακωμένα από την κορυφαία μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή, τα εισβάλλοντα σποροζωΐδια μετατρέπονται στο τροφοζωΐτικό στάδιο επικυτταρικά, στις 6 και 24 ώρες αντίστοιχα. Ράβδοι κλίμακας: (A) 4 μm; (B) 2 μm; (C,D,E) 1 μm. (Borowski H. et al. 2009)

Το *Cryptosporidium* μπορεί να μολύνει ένα ευρύ φάσμα σπονδυλωτών ξενιστών, συμπεριλαμβανομένων των πτηνών, των ερπετών και των θηλαστικών. Πολλά είδη και γονότυποι είναι προσαρμοσμένα στον ξενιστή, αλλά έχουν αναφερθεί ανθρώπινες περιπτώσεις που προκαλούνται από είδη και γονότυπους που είναι παθογόνα σε άλλα θηλαστικά ή ζώα (π.χ. *C. meleagridis*). Μολύνει κυρίως τον άνθρωπο αν και υπάρχουν σποραδικές αναφορές σε ζώα ξενιστές. Οι οικογένειες ζωνοσογόνων υποτύπων του *C. parvum* που εμπλέκονται σε ανθρώπινες λοιμώξεις συνδέονται συνήθως με βοοειδή, ιδιαίτερα μοσχάρια.

1.14 ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ *Toxoplasma gondii*

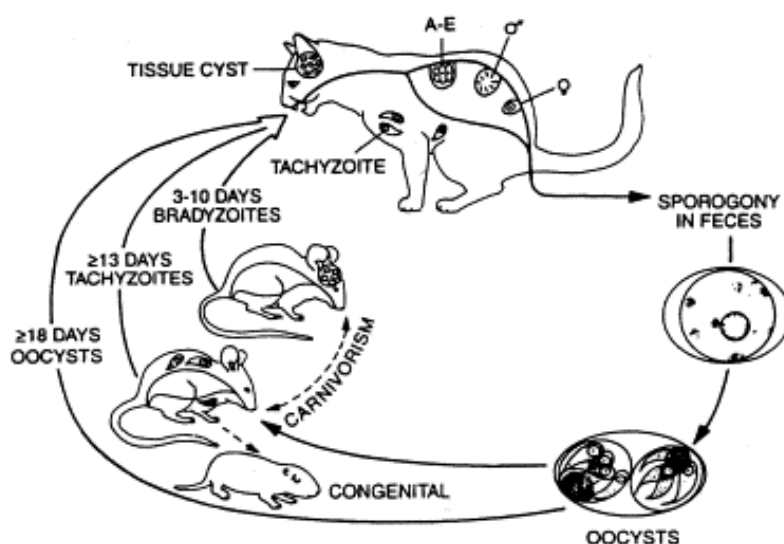
Το τοξόπλασμα είναι παράσιτο που προσβάλλει κυρίως γάτες, αλλά και διάφορα άλλα θηλαστικά όπως όλα τα παραγωγικά ζώα, τρωκτικά, τον άνθρωπο αλλά και αρκετά πτηνά. Διάφορα στάδια του κύκλου ζωής του παρασίτου είναι εκτός του εντέρου του ξενιστή. Αρχικά οι σποροζωΐτες περνούν μέσω της τροφοληψίας του ξενιστή και καταλήγει στο έντερο, όπου και ξεκινάει η διαδικασία της αναπαραγωγής τους. Μόλις ο οργανισμός του ξενιστή ανοσοαποκρηθεί, τότε οι ιστοκύστες είναι αυτές που εγκλείουν τους σποροζωΐτες με σκοπό την επιβίωση τους. Στο στάδιο αυτό αποκαλούνται βραδυζωΐτες. Οι μολυσματικοί, για μήνες - έτη σε αυτή τη μορφή, βραδυζωΐτες, συσσωρεύονται μέσα στις ιστοκύστες κατά μεγάλους αριθμούς. Ο άνθρωπος προσβάλλεται από συνήθως από μολυσμένο κρέας που δεν έχει μαγειρευτεί σωστά.

Η περιβαλλοντική ρύπανση πιθανότατα οφείλεται στη μόλυνση από ωοκύστες *T. gondii* τόσο των γλυκών υδάτων όσο και των θαλάσσιων υδάτινων περιβαλλόντων, όπου η μόλυνση από τοξόπλασμα ανιχνεύεται συχνά σε πολλά θαλάσσια θηλαστικά (Fayer, Dubey, & Lindsay, 2004) που βρίσκονται στην κορυφή των υδρόβιων τροφίμων αλυσίδα. Οι έρευνες δείχνουν ότι μέχρι οκτώ οικογένειες θαλάσσιων θηλαστικών είναι επιρρεπείς σε μόλυνση από

T. gondii (Dabritz et al., 2007) συμπεριλαμβανομένης της ενυδρίδας της νότιας θάλασσας (*Ephydra lutris nereis*) στην οποία η τοξοπλάσμωση ευθύνεται για την υψηλή θνησιμότητα και τον αργό ρυθμό της ανάκαμψης του πληθυσμού (Conrad et al., 2005) Τα κητοειδή, επίσης, είναι ευαίσθητα σε λοίμωξη από *T. gondii* που συχνά εντοπίζεται σε άτομα που έχουν προσαραχθεί στις ακτές της Μεσογείου, λόγω μόλυνσης με ιογενή παθογόνα και βακτήρια (*Morbillivirus*, *Herpesvirus* και *Brucella spp*) (Di Guardo & Mazzariol, 2016), με τοξοπλάσμωση.

Η ανθρωπογενής ρύπανση των ακτών με αστικά λύματα ή επιφανειακή απορροή γλυκού νερού μολυσμένη με τις ωοκύστες *T. gondii* είναι πιθανότατα ο βασικός παράγοντας στην επιδημιολογία της τοξοπλάσμωσης στο θαλάσσιο περιβάλλον, με άγριες και οικόσιτες γάτες να παίζουν τον ρόλο της μοναδικής πηγής ωοκύστεων.

Μετά τη μόλυνση, μία γάτα μπορεί να ρίξει εκατομμύρια ωοκύστες μέσα σε 1 εβδομάδα και χρειάζονται 1 έως 10 ωοκύστες για να μολυνθεί επιτυχώς ένα θηλαστικό. Επίσης, η συμπεριφορά της απόδευσης των γατών, όπως η ταφή κοπράνων σε σκιερές περιοχές, αυξάνει την επιβίωση των ωοκύστεων που μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον περισσότερο από 1 χρόνο. Οι φυσικές εκδηλώσεις που σχετίζονται με τις πλημμύρες θα μπορούσαν επίσης να οδηγήσουν στη μετάδοση χερσαίων παθογόνων όπως το *T. gondii* ειδικά σε εκβολές.



Εικόνα 1.9 Κύκλος ζωής *T.gondii* (Dubey J. P.,1998)

1.15 ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Σκοπός του πειράματος ήταν η ανίχνευση του πρωτόζωου *T. gondii* σε σαλιγκάρια του είδους *C. aspersum aspersum*, τα οποία συλλέχθηκαν από φυσικούς πληθυσμούς, από τις περιοχές της Κρήτης, της Κοζάνης, της Άρτας και της Καστοριάς (σαλιγκάρια εκτροφής). Πέρα από το πειραματικό κομμάτι της εργασίας τέθηκε ως στόχος και η βιβλιογραφική ανασκόπηση για όλα τα πρωτόζωα που έχουν βρεθεί σε χερσαία σαλιγκάρια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Για τις ανάγκες του πειράματος συλλέχθηκαν σαλιγκάρια του είδους *C. aspersum aspersum* από φυσικούς πληθυσμούς από διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν ζωντανά συσκευασμένα σαλιγκάρια που πωλείται από αλυσίδα καταστημάτων σούπερ μάρκετ της Κρήτης και προορίζονταν για κατανάλωση. Επίσης, συλλέχθηκαν σαλιγκάρια από την περιοχή της Άρτας, από την Κοζάνη. Επιπρόσθετα στην έρευνα συμπεριλήφθηκαν σαλιγκάρια εκτροφής, από την περιοχή της Καστοριάς.

Από την συλλογή της κάθε περιοχής, οι οποίες περιείχαν ένα αρκετά μεγάλο αριθμό σαλιγκαριών, έγινε τυχαία διαλογή 30 σαλιγκαριών και έτσι το σύνολο των δειγμάτων ήταν 120 δείγματα, τα οποία αναλύθηκαν, ανά περιοχή, για τη ανεύρεση του παρασίτου *Toxoplasma gondii*. Τα σαλιγκάρια, έπειτα από την τυχαία διαλογή, χωρίστηκαν σε επιμέρους 6 ομάδες των 5 ατόμων ανά περιοχή.



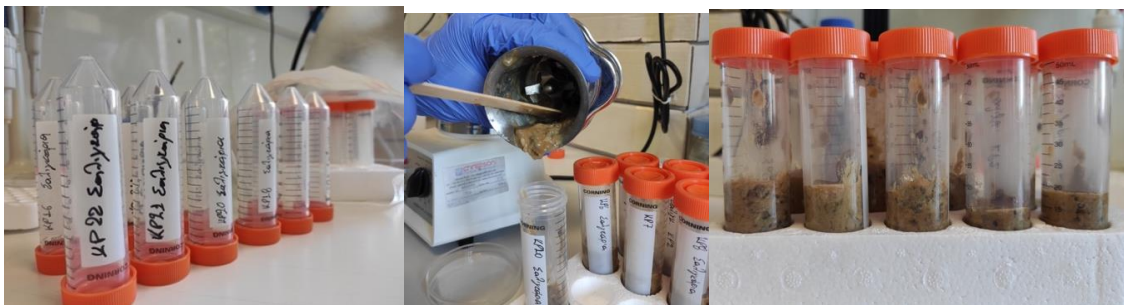
Εικόνα 2.1 Δείγματα σαλιγκαριών του είδους *C. aspersum aspersum* (προσωπικό αρχείο).

2.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Κατά το πρώτο στάδιο της διαδικασίας τα σαλιγκάρια του πειράματος θανατώθηκαν με και πολτοποιήθηκαν. Πιο συγκεκριμένα, η θανάτωση έγινε κατά διαχωρισμό του κελύφους από το σώμα του σαλιγκαριού. Το σώμα του σαλιγκαριού, στη συνέχεια, τοποθετήθηκε σε ειδική συσκευή πολτοποίησης και το πολτοποιημένο αποτέλεσμα με τη σειρά του τοποθετήθηκε σε δοχεία τύπου corning στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Εικόνα 2.2 Συσκευή πολτοποίησης (προσωπικό αρχείο).



Εικόνα 3.3 Τοποθέτηση πολτοποιημένου ιστού σε δοχεία Corning.. (προσωπικό αρχείο)

2.3 ΕΞΑΓΩΓΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Το γονιδιωματικό υλικό DNA εξήχθη από τα ομογενοποιημένα δείγματα σαλιγκαριού χρησιμοποιώντας το QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Γερμανία) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, ενσωματώνοντας ένα αρχικό βήμα 5 κύκλων κατάψυξης-απόψυξης (κατάψυξη σε υγρό άζωτο για 5 λεπτά και θέρμανση στους 95°C για 5 λεπτά) για να μεγιστοποιηθεί η διάσπαση των οσκύστεων για την εξαγωγή του DNA.



Εικόνα 3.4 Τοποθέτηση δειγμάτων σε υγρό άζωτο (προσωπικό αρχείο).

2.4 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ *GIARDIA*, *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* ΚΑΙ *T.GONDII*

Για την ανίχνευση του παρασίτου *Giardia*, χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο που στοχεύει το γονίδιο β-γιαρδίνη (Lalle et al., 2005), ενώ το γονίδιο 18S rDNA (Ryan et al., 2003) ενισχύθηκε για την ανίχνευση του *Cryptosporidium spp.* Το γονίδιο B1 (Burg et al., 1989) και ο παράγοντας στοιχείου 529 bp (Hermann et al., 2012) χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση του *T. gondii*. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε ένα θετικό DNA δείγμα μάρτυρα από ένα θετικό δείγμα κοπράνων του σχετικού γονιδίου και ένα αρνητικό δείγμα μάρτυρα, όπου συμπεριλήφθηκαν σε κάθε εκτέλεση PCR. Τα προϊόντα ενίσχυσης οπτικοποιήθηκαν σε πηκτές αγαρόζης 1,5% βαμμένες με βρωμιούχο αιθίδιο.

2.5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ

Η βιβλιογραφική επισκόπηση πραγματοποιήθηκε με την συλλογή στοιχείων από έρευνες που σχετίζονται με πρωτόζωα παράσιτα. Πιο συγκεκριμένα, από μηχανές αναζήτησης ακαδημαϊκών ερευνών χρησιμοποιήθηκαν έξι έρευνες σχετικές με το αντικείμενο της διατριβής οι οποίες παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Απεικόνιση βασικών στοιχείων, από τις έρευνες που χρησιμοποιήθηκαν.

A/A	ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΡΕΥΝΑΣ	ΕΙΔΟΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ	ΕΙΔΟΣ ΠΡΩΤΟΖΩΟΥ	ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ
1η ΕΡΕΥΝΑ	Fernanda et al.	ΚΑΛΙΦΟΡΝΙΑ, ΗΠΑ	<i>Chlorostoma spp.</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	2013
2η ΕΡΕΥΝΑ	Moltmann U. G.	Mechenheim, ΓΕΡΜΑΝΙΑ	<i>Cepaea nemoralis</i>	<i>Klossia helicina</i>	1980
3η ΕΡΕΥΝΑ	Yildirim F. K. et. al.	Βύυύκκονυκ, ΚΥΠΡΟΣ	<i>Helix pomatia</i>	-	2020
4η ΕΡΕΥΝΑ	Cunningham A. A. et.al.	ΛΟΝΔΙΝΟ, ΑΓΓΛΙΑ	<i>Partula turgida</i>	<i>Steinhausia spp.</i>	1998
5η ΕΡΕΥΝΑ	Dias et al.	ΣΑΟ ΠΑΟΛΟ, ΒΡΑΖΙΛΙΑ	<i>Pomacea canaliculata</i>	<i>Vorticella campanula et.al.</i>	2006
6η ΕΡΕΥΝΑ	Azevedo C. et al.	ΦΕΡΝΑΝΤΟ ΝΤΕ ΝΟΡΟΝΙΑ, ΒΡΑΖΙΛΙΑ	<i>Nerita ascencionis</i>	<i>Nematopsis gigas</i>	2005

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Στα 120 δείγματα σαλιγκαριών του είδους *C. aspersum aspersum* που προήλθαν από φυσική διαλογή από διάφορα μέρη της Ελλάδος και τέθηκαν προς ανάλυση, δεν βρέθηκαν παράσιτα για τα οποία εξετάστηκαν. Ειδικότερα, στις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με σκοπό την ανίχνευση θετικών δειγμάτων σε *Giardia*, *Cryptosporidium spp.* και *T. gondii* δεν παρατηρήθηκε κανένα θετικό δείγμα σαλιγκαριού σε κανένα από τα παραπάνω παράσιτα.

3.2 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ

3.2.1 ΚΟΚΚΙΔΙΑΚΑ ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΣΕ ΣΑΛΙΓΚΑΡΑ

Οι Fernanda et al., 2013 σε έρευνα που έγινε στην Καλιφόρνια, ΗΠΑ, εξέτασαν σαλιγκάρια είδους *Chlorostoma spp.*. Στόχος της μελέτης ήταν να αποδείξει ότι η επιφάνεια των *Macrocystis pyrifera* ευνοεί την προσκόλληση των ωοκύστεων του *T. gondii*. Τοποθετήθηκαν σαλιγκάρια στο εργαστήριο, μέσα σε βάζα με θαλασσινό νερό μαζί με φύλλα από το *Macrocystis pyrifera*, έτσι ώστε να τραφούν από την επιφάνεια του φύκους και στην συνέχεια να αναλυθούν. Βρήκαν ότι τα θαλάσσια σαλιγκάρια λειτουργούν ως μεταφορείς του παρασίτου προς τους υπολοίπους υδρόβιους οργανισμούς. Τα υδρόβια σαλιγκάρια είναι μια πιθανή οδός στην μετάδοση του παρασίτου στη θαλάσσια ενυδρίδα, η οποία αντιμετωπίζει μεγάλο πρόβλημα θνησιμότητας από *T. gondii*. Αυτό συμβαίνει διότι τα αστικά λύματα των περιοχών αυτών είναι μολυσμένα με εκατομμύρια μολυσματικές ωοκύστες, οι οποίες καταλήγουν να προσκολλώνται στις επιφάνειες των kelps, μέρος το οποίο αποτελεί "βοσκοτόπι" των θαλάσσιων σαλιγκαριών.

Ο. Moltmann, 1980 εξέτασε δείγματα χερσαίων σαλιγκαριών του είδους *Cerpea nemoralis* και βρέθηκαν φυσικά μολυσμένα, από το κοκκίδιο του είδους *Klossia helicina*. Στη περιοχή Mechenhein της Γερμανίας συλλέχθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος 300 δείγματα σαλιγκαριών του είδους *C. nemoralis*, κατά τους μήνες μεταξύ του Μαρτίου και του Οκτωβρίου. Το κοκκιδιακό παράσιτο *Klossia helicina* αναπτύσσεται στο επιθήλιο των νεφρών των πνευμονικών σαλιγκαριών και έχει μελετηθεί εκτενώς ο κύκλος ζωής του στο παρελθόν. Ύστερα από τέσσερις ημέρες καλλιέργειας των νεφρών των σαλιγκαριών, οι καλλιέργειες

ελέγχονταν μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας κάθε 24 ώρες μέχρι την ημέρα 10, προκειμένου να μελετηθεί η ανάπτυξη των παρασίτων. Στην *in vitro* καλλιέργεια ανιχνεύθηκαν τα 150 δείγματα, θετικά με το παράσιτο. Παρατηρήθηκαν διαφορετικοί αριθμοί μεροζωιτών του παρασίτου στα νεφρά των σαλιγκαριών.



Εικόνα 3.1 Σαλιγκάρι του είδους *Cepaea nemoralis* (Balashov et. al. 2021).

Οι Yildirim et. al., 2020 ερεύνησαν την ανίχνευση παρασίτων, σε χερσαία βρώσιμα σαλιγκάρια του είδους *Helix pomatia*, στην περιοχή της Κύπρου. Η έρευνα είχε ως στόχο την ανάλυση των σαλιγκαριών που συλλέγουν οι πολίτες της περιοχής με σκοπό να τραφούν και να ανιχνεύσουν οποιαδήποτε πιθανή παρουσία παρασίτων. Εξετάστηκαν 250 δείγματα άγριου φυσικού πληθυσμού σαλιγκαριών με στόχο την ανίχνευση παρασίτων, της περιοχής Būyūkkonuk, που βρίσκεται στο βόρειο τμήμα της Κύπρου. Τα εσωτερικά όργανα και το ηπατοπάγκρεας των σαλιγκαριών, αφού τεμαχίστηκαν σε μικρά κομμάτια και παρέμειναν για λίγο μέσα σε τρυβλία Πέτρι σε συνδυασμό με φυσιολογικό ορό, εξετάστηκαν στερεοσκοπικά. Το υγρό μέρος του τρυβλίου εξετάστηκε μικροσκοπικά. Τα αποτελέσματα της παρασιτολογικής ανάλυσης δεν εμφάνισαν παρουσία παρασίτων σε κανένα από τα δείγματα.



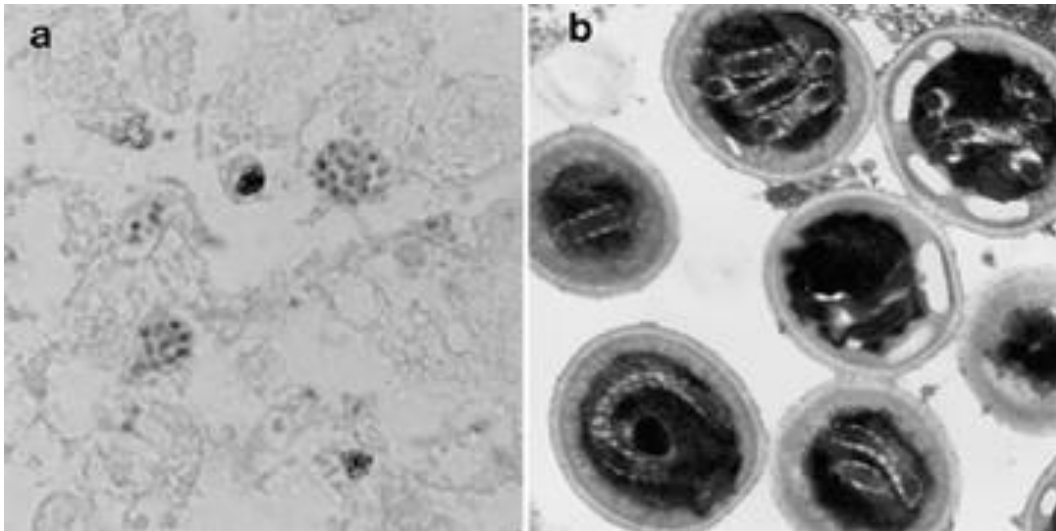
Εικόνα 3.2 Χάρτης της περιοχής που συλλέχθηκαν τα σαλιγκάρια του είδους *Helix pomatia*, χερσόνησος Καραζ και Büyükkonuk, Κύπρος (Yildirim et al. 2020)



Εικόνα 3.3 Τυπικό δείγμα σαλιγκαριού *Helix pomatia* (Yildirim et al. 2020).

Οι Cunningham & Daszak, 1998, σε έρευνα που έγινε στο Λονδίνο, μελέτησαν το γένος σαλιγκαριών *Partula* και πιο συγκεκριμένα, την εξαφάνιση του είδους *P. turgida*, που πιθανότατα εξαφανίστηκε λόγω παρασιτικής μόλυνσης. Στόχος της μελέτης ήταν να γίνει η πρώτη αναφορά μιας μολυσματικής νόσου που προκαλεί την εξαφάνιση ενός είδους. Το γένος *Partula*, αποτελείται από σαλιγκάρια τα οποία είναι ενδημικά των περιοχών του Ειρηνικού και πολλά από τα είδη του γένους βρίσκονται υπό εξαφάνιση. Το *P.turgida* (ενδημικό είδος του νησιού Raiatea) βρέθηκε τελευταία φορά στη φύση, το έτος 1991. Έκτοτε, για πέντε έτη ακόμη (έως το 1996) ο πληθυσμός διατηρήθηκε σε αιχμαλωσία (World Conservation Union 1996). Ύστερα από την εξαφάνιση του είδους, εξετάστηκαν δείγματα του πληθυσμού τα οποία

βρέθηκαν όλα θετικά σε πρωτόζωο του γένους *Steinhausia*, που προκαλεί θάνατο σε πνευμονοφόρα σαλιγκάρια. Η αιτία εξαφάνισης του είδους δεν αποδίδεται με βεβαιότητα στην μόλυνση από το παράσιτο, αλλά η διερεύνηση του θέματος ίσως αποτρέψει παρόμοιες εξαφανίσεις στα άλλα είδη του γένους.



Εικόνα 3.4 Ο πεπτικός αδένας του τελευταίου γνωστού δείγματος του *Partula turgida* που μολύνθηκε με το *Steinhausia spp.* Ιστολογική εξέταση του αδένου (α). Αρκετά κύτταρα ξενιστές που περιέχουν παράσιτα είναι ορατά. Ηλεκτρονική μικροσκοπική εξέταση των σπορίων του παρασίτου (β) (Cunningham & Daszak, 1998).

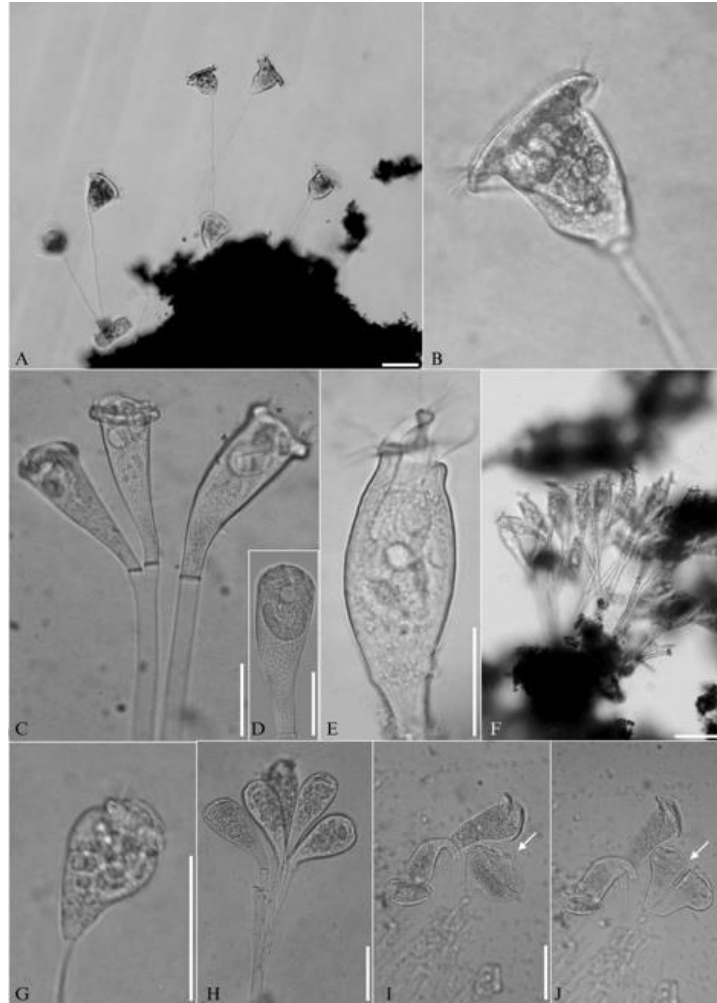


Εικόνα 3.5 Σαλιγκάρια του γένους *Partula* (Zarones L.,2014)

Οι Dias et al. (2006) κατέγραψαν, για πρώτη φορά, οχτώ γένη βλεφαριδωτών (*Peritrichs*, *Carchesium*, *Epistylis*, *Opercularia*, *Vaginicola*, *Vorticella*, *Acineta* και *Tokophyra*) που ζουν και επιβιώνουν σε υδρόβια σαλιγκάρια του γένους *Pomacea* (εικόνα 3.6), σε αρδευτικά αυλάκια στη Βραζιλία. Στόχος αυτής της μελέτης ήταν η καταγραφή και η ανάλυση του επιπολασμού των βλεφαριδωτών πρωτόζωων που σχετίζονται με προσοβράγχια σαλιγκάρια του είδους *Pomacea figulina*. Εξετάστηκαν μικροσκοπικά, μικρά κομμάτια από τα κελύφη των σαλιγκαριών. Τα είδη των πρωτόζωων βλεφαριδωτών, βρέθηκαν στο είδος σαλιγκαριού *P. figulina* απεικονίζονται σε In vivo φωτομικρογραφικές εικόνες βλεφαριδωτών στην εικόνα 3.7. Τα σαλιγκάρια *P. figulina* είναι ιδανικός ξενιστής για τα βλεφαριδωτά, διότι παρέχουν ένα προστατευόμενο μικροπεριβάλλον με την δυνατότητα τους να μεταφέρονται σε πιο οξυγονωμένα ύδατα και μακριά από σημεία ρύπανσης. Η σχέση μεταξύ των σαλιγκαριών και των βλεφαριδωτών δεν χαρακτηρίστηκε από την έρευνα ως επιβλαβής.



Εικόνα 3.6 *Pomacea canaliculata* (A) και *Pomacea diffusa* (B) που συλλέχθηκαν στις πολιτείες Minas Gerais και São Paulo, Βραζιλία. Μπάρα κλίμακας: 10 mm. (De-Carli et al. 2014)



Εικόνα 3.7 In vivo φωτομικρογραφικές εικόνες βλεφαριδωτών που βρέθηκαν στο είδος *Pomacea figulina*. (A–B) *Vorticella campanula*, (C–D) *Epistylis plicatilis*, (E–F). *Opercularia* sp, (G) Σύμπλεγμα μικροστομίου *Vorticella*., (H–J) *Epistylis* sp.. Ράβδοι κλίμακας: 50 μm . (Dias et al. 2010)

Οι Azevedo et al. (2005) βρήκαν πολυάριθμες ωοκύστες ενός νέου είδους πρωτόζωου του γένους *Nematopsis*, στα υδρόβια σαλιγκάρια του είδους *Nerita ascencionis*. Στόχος της έρευνας ήταν η καταγραφή της δομής της ωοκύστης του νέου πρωτόζωου παράσιτου *N. gigas* και η πλήρης περιγραφή του γένους *Nematopsis*. Ειδικότερα, εξετάστηκαν μικροσκοπικά, 25 δείγματα σαλιγκαριών, που συλλέχθηκαν από το νησί Φερνάντο Ντε Νορόνια, το οποίο βρίσκεται κοντά στη Βορειοανατολική ακτή της Βραζιλίας. Στα αποτελέσματα της ανάλυσης, βρέθηκαν πολυάριθμες ωοκύστες στα 5 από τα 25 δείγματα. Το εν λόγω παράσιτο καρκινοειδών, το οποίο ονομάζεται *N. gigas*, είναι το πρώτο καταγεγραμμένο πρωτόζωο παράσιτο του νησιού και δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση σαλιγκάρια του συγκεκριμένου είδους.



Εικόνα 3.8 Σαλιγκάρι του γένους *Nerita* (Hillewaert H, 1989)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στόχος του πειράματος ήταν η ανίχνευση του παράσιτου *Toxoplasma gondii* σε σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum*, αλλά αναλύθηκαν και για την ανεύρεση των παράσιτων *Giardia spp* και *Cryptosporidium spp*. Τα σαλιγκάρια συλλέχθηκαν από φυσικούς πληθυσμούς, από τις περιοχές της Κρήτης, της Κοζάνης, της Άρτας και της Καστοριάς (σαλιγκάρια εκτροφής). Επίσης, σκοπός ήταν να εξεταστεί τον αν το σαλιγκάρι αποτελεί ενδιάμεσο ξενιστή παρασίτων για άλλα ζώα ή και τον άνθρωπο. Πέρα από το πειραματικό κομμάτι της εργασίας τέθηκε ως στόχος και η βιβλιογραφική αποτύπωση της σχέσης μεταξύ των σαλιγκαριών και των πρωτόζωων.

Στην έρευνα για την ανίχνευση των παρασίτων, στα σαλιγκάρια του είδους *C. aspersum aspersum* δεν βρέθηκε κανένα θετικό δείγμα στα παράσιτα. Το πείραμα, χρησιμοποίησε σαλιγκάρια τα οποία προορίζονταν προς κατανάλωση από τους πολίτες της κάθε περιοχής. Η απουσία θετικών δειγμάτων στα βρώσιμα σαλιγκάρια είναι ένα καθησυχαστικό αποτέλεσμα, αλλά δεν αποδεικνύει την πλήρη απουσία των παρασίτων σε αυτά.

Αντίθετα, στην βιβλιογραφία, βρέθηκαν σε μελέτες πρωτόζωα σε φυσικούς πληθυσμούς σαλιγκαριών χερσαίων και υδρόβιων. Έτσι, επιλέχθηκαν 6 έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε άλλα είδη σαλιγκαριών. Πιο συγκεκριμένα, στην έρευνα των Fernanda et al., 2013, βρήκαν ότι τα θαλάσσια σαλιγκάρια λειτουργούν ως μεταφορείς του παρασίτου προς τους υπολοίπους υδρόβιους οργανισμούς. Η δεύτερη έρευνα που χρησιμοποιήθηκε, του Moltmann, 1980, η οποία εξέτασε δείγματα χερσαίων σαλιγκαριών του είδους *Cerpea nemoralis* και βρήκε φυσικώς μολυσμένα, από το κοκκίδιο του είδους *Klossia helicina* στα νεφρά των σαλιγκαριών. Στην τρίτη και γεωγραφικά αλλά και βιολογικά πιο κοντινή έρευνα, οι Yildirim et al., 2020, ερεύνησαν την ανίχνευση παρασίτων, σε χερσαία βρώσιμα σαλιγκάρια του είδους *Helix pomatia*, στην περιοχή της Κύπρου που επίσης δεν βρέθηκε κανένα θετικό δείγμα. Η τέταρτη έρευνα, κατά την οποία οι Cunningham & Daszak, 1998, που έγινε στο Λονδίνο, μελέτησαν το γένος σαλιγκαριών *Partula* και πιο συγκεκριμένα, την εξαφάνιση του είδους *P. turgida*, που πιθανότατα εξαφανίστηκε λόγω παρασιτικής μόλυνσης. Στην επόμενη έρευνα, οι Dias et al. (2006) κατέγραψαν, για πρώτη φορά, επτά γένη βλεφαριδωτών και η σχέση μεταξύ των σαλιγκαριών και των βλεφαριδωτών δεν χαρακτηρίστηκε επιβλαβής. Στην τελευταία έρευνα που χρησιμοποιήθηκε για τις ανάγκες της διατριβής, οι Azevedo et al. (2005) βρήκαν πολυάριθμες ωκύστες ενός νέου είδους πρωτόζωου του γένους *Nematopsis*, στα υδρόβια σαλιγκάρια του είδους *Nerita ascencionis*, το οποίο είναι το πρώτο καταγεγραμμένο

πρωτόζωο παράσιτο της περιοχής που διεξήχθη η έρευνα και δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση σαλιγκάρια του συγκεκριμένου είδους.

Η αντιμετώπιση των παρασίτων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυσικών πληθυσμών των σαλιγκαριών και στην εκτροφή (Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015, Rae R., Williams A.J., 2015, Apostolou K. et al., 2018 και Apostolou K. et al. , 2019)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Είναι γνωστό ότι τα σαλιγκάρια είναι ξενιστές για ορισμένα από τα παράσιτα που μπορεί να θέτουν σοβαρούς κινδύνους για την υγεία του ανθρώπου. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο είναι σημαντικό να τεθούν αυτά τα βρώσιμα μαλάκια στο προσκήνιο της έρευνας.
- Συμπερασματικά, παρατηρούμε ότι τα σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum* που αναλύθηκαν, δεν ήταν μολυσμένα από το *Toxoplasma gondii*, παρόλα αυτά δεν επιβεβαιώνεται η ολική απουσία τους.
- Από το βιβλιογραφικό ανασκόπηση, συμπεραίνεται ότι πολλά είδη πρωτοζώων έχουν βρεθεί σε χερσαία ή υδρόβια σαλιγκάρια τα οποία κατά κύριο λόγο αποτελούν ενδιάμεσους ξενιστές τους.
- Εν τέλει καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η αντιμετώπιση των παρασίτων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυσικών πληθυσμών των σαλιγκαριών και στην εκτροφή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία.

1. Αποστόλου Κ. (2012). Μελέτη της επίδρασης δροσισμού με εξάτμιση στο μικροκλίμα του διχτυοκηπίου και στη δραστηριότητα των εκτρεφόμενων σαλιγκαριών, Μεταπτυχιακή διατριβή, Π.Θ.
2. Παππάς Ε. Ζ.(2013) «Επίδραση του μικροκλίματος του διχτυοκηπίου στην επιβίωση και την ανάπτυξη του γαστεροπόδου *Helix lucorum*» Προπτυχιακή διπλωματική εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας Σχολή Γεωπονικών Επιστημών Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος.
3. Χατζηιωάννου Μ., Στάικου Α., (2016). Βιολογία & Εκτροφή Γαστεροπόδων, Σαλιγκαροτροφία
4. Μακρυγιάννης Γεώργιος (2018) «Ορθή εκτίμηση της ποσότητας του νερού που απαιτείται για την κάλυψη των αναγκών των εκτρεφόμενων σαλιγκαριών σε διχτυοκήπιο και ανοιχτή εκτροφή» Μεταπτυχιακή Διπλωματική, Π.Θ

Ξένη Βιβλιογραφία

- Apostolou K., Neofitou C., Aifanti S., Katsoulas N., Kittas C., Hatzioannou M., (2014). Research of the cooling effect with evaporation in the microclimate of net-covered greenhouse and in the growth of farmed snails. 1st International Congress on Applied Ichthyology and Aquatic Environment-HydroMedit, Volos, Hellas; November 13 – 15
- Apostolou K., Hatzioannou M., Sotiraki S. (2018) Preliminary study of parasitic nematodes in farmed snails (*Helix aspersa maxima*) in Greece. Proceedings of 69th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP), Dubrovnik (Croatia), 27 – 31 August
- Apostolou K., Hatzioannou M., Sotiraki S. (2019) Potential risks of nematode parasitism in farmed snails in Greece. Proceedings of 70th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP), Ghent (Belgium), 26 - 30 August.
- Aksoy U., M.Marangi, R.Papini, S.Ozkoc, S.Bayram Delibas, A.Giangaspero (2014) Detection of *Toxoplasma gondii* and *Cyclospora cayetanensis* in *Mytilus galloprovincialis* from Izmir Province coast (Turkey) by Real Time PCR/High-Resolution Melting analysis (HRM)
- Attia J. (2004) Behavioural rhythms of land snails in the field. *Biological Rhythm Research*, 35:35-41

- Azevedo C., Padovan I. (2005) *Nematopsis gigas* n. sp. (Apicomplexa), a Parasite of *Nerita ascencionis* (Gastropoda, Neritidae) from Brazil
- Bailey S.E.R. (1981) Circannual and Circadian Rhythms in the Snail *Helix aspersa* Miiller and the Photoperiodic Control of Annual Activity and Reproduction. *Journal of Comparative Physiology*
- Begg S., McInness P. (2003) *Farming Edible Snails - Lessons from Italy*. Publication No. 03/137, Printed by Union Offset Printing, Canberra, Australia: 1-13.
- Begg S. (2006) *Free-range snail farming in Australia*. Publication No 06/104, Rural Industries Research and Development Corporation, KINGSTON, Australia
- Borowski H., R. C. A. Thompson, T. Armstrong and P. L. Clode (2009) Morphological characterization of *Cryptosporidium parvum* life-cycle stages in an in vitro model system
- Burg, L.J., Grover, C.M., Pouletty, P., Boothroyd, J. (1989). Direct and sensitive detection of a pathogen protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, p. 1787 – 1792
- Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED) (2021) *Pathogen and Environment*
- Conrad P.A., Miller M.A., Kreuder C., James E.R., Mazet J., Dabritz H., Jessup D.A., Gulland F., Grigg M.E. (2005) *Transmission of Toxoplasma: Clues from the study of sea otters as sentinels of Toxoplasma gondii flow into the marine environment*
- Cunningham A. A., Daszak P., (1998) *Extinction of a Species of Land Snail Due to Infection with a Microsporidian Parasite*
- Dabritz H. A., Miller M. A., Atwill E. R., Gardner I. A., Leutenegger C. M., Melli A. C., Conrad P. A. (2007) *Detection of Toxoplasma gondii-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden*
- De-Carli B. P., M. Rotundo, L. R. Paschoal, D. P. Andrade, D. Cavallari, A. Ocegüera-Figueroa, Diogo D. Alonso (2014) *Scientific Note First record of the association between the leech Helobdella triserialis (Hirudinea, Glossiphoniidae) and two species of Pomacea (Gastropoda, Ampullariidae) in Brazil*
- Dekle G. W., Fasulo T. R. (2001) *Brown Garden Snail, Cornu aspersum (Müller, 1774) (Gastropoda: Helicidae)*

- Dias R. J. P., D'ávila S., Wieloch A. H. , D'Agosto M. (2010) Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of south-east Brazil
- DPDx - Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern, Centers for Disease Control and Prevention (2019) Cryptosporidiosis
- Dubey J.P. (1998) Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*
- Elmslie L.J. (1989) Snail farming in field pens in Italy. British Crop Protection Council Monograph, 41: 19-25.
- Fayer R., Dubey J.P., Lindsay D. S. (2004) Zoonotic protozoa: from land to sea
- Fernanda F. M., Shapiro K., Silver M. W. (2013) A New Pathogen Transmission Mechanism in the Ocean: The Case of Sea Otter Exposure to the Land-Parasite *Toxoplasma gondii*
- Fritsche T. R. (1987) Studies on the Coccidian Parasites (Apicomplexa: Eimeriidae and Pfeifferinellidae) of Pulmonate Gastropods
- Grattarola C., Giorda F., Iulini B. et al. (2016) Meningoencephalitis and *Listeria monocytogenes*, *Toxoplasma gondii* and *Brucella* spp. coinfection in a dolphin in Italy
- Hermann, D., Bärwald, A., Mksimov, A., Pantchev, N., Vrhovec, M.G., Conraths, F., Schares, G. (2012). *Toxoplasma gondii* sexual cross in a single naturally infected feline host: generation of highly mouse-virulent and avirulent clones, genotypically different from clonal types I, II and III. *Vet Res*, 43:39
- Hickman, J. et. al. (2010) *Zoology* 404-420, 537-545, 575-578
- Jess S., Marks R.J. (1998) Effect of temperature and photoperiod on growth and reproduction of *Helix aspersa* var. *maxima*
- Lalle M., Pozio E., Capelli G., Bruschi F., Crotti D., Cacciò, S.M. (2005). Genetic heterogeneity at the β -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int. J. Parasitol.* 35, 207–213.
- Lazaridou-Dimitriadou M, Alpoyanni E., Baka M., Brouziotis T., Kifonidis N., Mihaloudi E., Sioula D. and Vellis G. (1998). Growth, mortality and fecundity in successive generations of *Helix aspersa* Muller cultured indoors and crowding effects on fast-, medium-and slow-growing snails of the same clutch. *Journal of Molluscan Studies*.

- Milinsk M. C., Padre R. G., Hayashi C., Oliveira C. C., Visentainer J. V., Souza N. E., Matsushita M. (2006) Effects of feed protein and lipid contents on fatty acid profile of snail (*Helix aspersa maxima*) meat
- Moltmann U. G. (1980) Light and electron microscopic studies on the merogony of *Klossia helicina* (Coccidia; Adeleidea) in snail kidney tissue cultures
- .Murphy B. (2001) Breeding and Growing Snails Commercially in Australia. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC
- Rae, R., Williams, A.J. (2015) Susceptibility of the Giant African snail (*Achatina fulica*) exposed to the gastropod parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. *Journal of Invertebrate Pathology* 217, 122- 126
- Runham N.W. (1989) Snail farming in the UK. In: Henderson I.F. (eds) *Slugs and Snails in world agriculture*. Monograph 41, British crop protection council, Thornton Heath
- Wang H., Wang T., Luo Q, Huo X., Wang L., Liu T., Xu X., Wang Y, Lu F., Lun Z., Yu L., Shen J. (2012) Prevalence, Risk Factors, and Genotypes of *Toxoplasma gondii* in Food Animals and Humans (2000–2017) From China
- Yildirim F. K., Ulusoy B. H., Erdogmus S. Z., Hecer C.(2020) A Survey Study on Parasite Presence of Edible Wild Terrestrial Snails (*Helix pomatia* L.) in Northern Cyprus