



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Σχολή Χημικών Μηχανικών και Μηχανικών Περιβάλλοντος

Κατεύθυνση: Μηχανικών Περιβάλλοντος

«Έλεγχος αδρανοποίησης βακτηριακών και μυκητιακών παθογόνων σε υδατικές μήτρες»

Διπλωματική Εργασία της

Κωνσταντίνας Παπαδοπούλου

A.M. 2019050008



Τριμελής επιτροπή:

- **Δανάη Βενιέρη** (Επιβλέπουσα)
- **Νικόλαος Ξεκουκουλωτάκης**
- **Μιχαήλ Φουντουλάκης**

Χανιά, 2025

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας, νιώθω την ανάγκη να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη σε όλους όσους στάθηκαν δίπλα μου σε αυτή την πορεία, παρέχοντάς μου καθοδήγηση, στήριξη και έμπνευση. Πρώτα απ' όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα Δανάη Βενιέρη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντάς μου αυτό το θέμα, καθώς και για τη διαρκή καθοδήγησή της. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην Ε.Δ.Ι.Π. κα Ιωσηφίνα Γουνάκη, η οποία με την αφοσίωση, την υπομονή και την πολύτιμη βοήθειά της με στήριξε καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Χωρίς την καθοδήγησή της, η εργασία αυτή δεν θα μπορούσε να έχει ολοκληρωθεί με επιτυχία. Θερμές ευχαριστίες αξίζουν επίσης οι γονείς μου, οι οποίοι υπήρξαν το σταθερό μου στήριγμα σε όλη αυτή τη διαδρομή. Χωρίς την αγάπη, την ενθάρρυνση και την υποστήριξή τους, τίποτα από όλα αυτά δεν θα ήταν δυνατό. Επιπλέον η στήριξη και η καθοδήγηση της θείας μου Ε.Δ.Ι.Π. στο τμήμα Χημικών Μηχανικών του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, κα Αφροδίτη Παπαδοπούλου, ήταν ανεκτίμητες στα πρώτα μου βήματα στον ακαδημαϊκό χώρο. Την ευχαριστώ θερμά γι' αυτό. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου στους φίλους μου, τόσο εκείνους που γνώρισα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, όσο και εκείνους που μοιράστηκαν μαζί μου τις αμέτρητες ώρες στο εργαστήριο. Οι στιγμές που περάσαμε μαζί, οι συζητήσεις μας, η συνεργασία και η αλληλοϋποστήριξη που μου προσφέρατε, έκαναν αυτή την εμπειρία πραγματικά ανεκτίμητη. Σας ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου.

Περίληψη

Το νερό, καλύπτοντας το 71% της επιφάνειας της Γης, αποτελεί τον θεμελιώδη λίθο της ζωής και διατηρεί την ισορροπία του πλανήτη. Δυστυχώς, η ανθρωπογενής δραστηριότητα έχει οδηγήσει σε σημαντική υποβάθμιση αυτού του πολύτιμου πόρου. Η ρύπανση και η μόλυνση των υδάτων αποτελούν σοβαρά προβλήματα υγείας και περιβάλλοντος. Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην μόλυνση των υδάτων πιο συγκεκριμένα στην αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών, όπως το βακτήριο *Acinetobacter baumannii* και ο μύκητας *Candida albicans*, γνωστών για την υψηλή ανθεκτικότητά τους στα αντιβιοτικά. Σκοπός της έρευνας είναι να διερευνηθούν οι συνθήκες υπό τις οποίες οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί αδρανοποιούνται, εφαρμόζοντας δύο μεθόδους απολύμανσης: τη χλωρίωση με υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl) και την υπεριώδη ακτινοβολία (UVC). Οι πειραματικές συνθήκες περιλαμβάνουν τη χρήση διαφορετικών υδατικών μητρών, όπως το διάλυμα NaCl (0,8% w/v), νερό από τη λίμνη της Αγιάς και λύματα μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία από τις εγκαταστάσεις ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ. Η μελέτη αυτή αποσκοπεί στην ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών για την αντιμετώπιση της μικροβιακής ρύπανσης των υδάτων και την προστασία της δημόσιας υγείας.

Αρχικά, διεξήχθη μια σειρά πειραμάτων χλωρίωσης με στόχο την αποτίμηση της αποτελεσματικότητας του υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) έναντι των δύο μικροοργανισμών. Για κάθε μικροοργανισμό πραγματοποιήθηκαν οκτώ επαναλήψεις του πειράματος, μελετώντας παράλληλα την επίδραση δύο διαφορετικών συγκεντρώσεων απολυμαντικού για κάθε από τις τέσσερις διαφορετικές υδατικές μήτρες. Συγκεκριμένα, στα λύματα εφαρμόστηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις NaOCl , 5 mg/L και 10 mg/L ως προς διαθέσιμο χλώριο (Cl_2), ενώ στις υπόλοιπες υδατικές μήτρες χρησιμοποιήθηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις, 0.5 mg/L και 1 mg/L Cl_2 . Η διάρκεια των πειραμάτων ήταν 180 min για τον *A. baumannii* και 45 min για τον *C. albicans*, ενδεικτική της διαφορετικής ευαισθησίας των δύο μικροοργανισμών στις συνθήκες χλωρίωσης.

Στην συνέχεια, εφαρμόστηκε ακτινοβολία UVC από λαμπτήρα ισχύος 15W για την απολύμανση των υδατικών μητρών (0.8% NaCl , Λ. Αγιάς, ΔΕΥΑΧ). Κάθε μικροβιακό δείγμα υποβλήθηκε σε τριπλό πείραμα, διάρκειας 20 min.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, και οι δύο μέθοδοι απολύμανσης αποδείχθηκαν εξαιρετικά αποτελεσματικές στην αδρανοποίηση των μικροοργανισμών *A. baumannii* και *C. albicans*. Η χλωρίωση επιτυγχάνει την πλήρη αδρανοποίηση του βακτηρίου εντός 60-180 min και του μύκητα εντός 4-45 min, ανάλογα με τη συγκέντρωση

του απολυμαντικού και την υδατική μήτρα. Αντίθετα, η απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία (UVC) οδηγεί σε ταχύτερη αδρανοποίηση των μικροοργανισμών, με τον *A. baumannii* να αδρανοποιείται εντός 4-10 min και τον *C. albicans* εντός 4-6 min ανάλογα με την υδατική μήτρα. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι μετά από περίπου 24 h, οι μικροβιακοί οργανισμοί που είχαν εκτεθεί στην ακτινοβολία UVC εμφάνιζαν συχνά μηχανισμούς επιδιόρθωσης, με αποτέλεσμα να μην επιτυγχάνεται πάντα πλήρης εξάλειψη. Η υδατική μήτρα επηρεάζει κυρίως τον χρόνο που απαιτείται για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών και όχι την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας. Συγκεκριμένα, το διάλυμα NaCl 0.8% (χωρίς οργανική ύλη) οδήγησε σε ταχύτερη αδρανοποίηση σε σύγκριση με δείγματα από λίμνη ή απόβλητα, υποδηλώνοντας ότι η παρουσία οργανικής ύλης μπορεί να προστατεύσει τους μικροοργανισμούς από τις απολυμαντικές επιδράσεις.

Συνοψίζοντας, η αδρανοποίηση βακτηρίων επηρεάζεται σημαντικά από τη σύσταση της υδατικής μήτρας. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι απόβλητα και η λίμνη μειώνουν την αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών, επιτρέποντας σε σημαντικό ποσοστό των παθογόνων να επιβιώσουν. Αντίθετα, η χρήση διαλύματος NaCl (0.8%), το οποίο στερείται οργανική ύλη και άλλες ουσίες που ενδέχεται να παρεμποδίσουν τη διαδικασία, οδηγεί σε πλήρη εξάλειψη των βακτηριακών πληθυσμών. Οι παραπάνω παρατηρήσεις υπογραμμίζουν τη κρίσιμη σημασία της ποιότητας του νερού στις διαδικασίες απολύμανσης και επισημαίνουν την ανάγκη για περαιτέρω έρευνα προκειμένου να προσδιοριστούν οι ακριβείς μηχανισμοί που διέπουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παθογόνων, των απολυμαντικών και των διαφόρων συστατικών του νερού.

Abstract

Water covers 71% of the Earth's surface, it is the cornerstone of life and maintains the balance of the planet. Unfortunately, anthropogenic activity has led to a significant degradation of this precious resource. Water pollution and contamination are serious health and environmental problems. The present study focuses on water contamination, more specifically on the inactivation of pathogenic microorganisms, such as the bacterium *Acinetobacter baumannii* and the fungus *Candida albicans*, known for their high resistance to antibiotics. The purpose of the research is to investigate the conditions under which these microorganisms are inactivated, applying two disinfection methods: chlorination with sodium hypochlorite (NaOCl) and ultraviolet radiation (UVC). The experimental conditions include the use of different aqueous matrices, such as NaCl solution (0.8% w/v), water from Lake Agia and wastewater after secondary treatment from the DEYAX and DEYAVA facilities. This study aims to develop effective strategies for addressing microbial water pollution and protecting public health.

Initially, a series of chlorination experiments were conducted with the aim of evaluating the effectiveness of sodium hypochlorite (NaOCl) against the two microorganisms. For each microorganism, eight repetitions of the experiment were performed, while studying the effect of two different disinfectant concentrations for each of the four different aqueous matrices. Specifically, higher concentrations of NaOCl, 5 mg/L and 10 mg/L in terms of free chlorine (Cl_2), were applied to the wastewater, while lower concentrations, 0.5 mg/L and 1 mg/L Cl_2 , were used in the remaining aqueous matrices. The duration of the experiments was 180 min for *A. baumannii* and 45 min for *C. albicans*, indicative of the different sensitivity of the two microorganisms to chlorination conditions.

Subsequently, UVC radiation from a 15W lamp was applied to disinfect the aqueous matrices (0.8% NaCl, Lake Agia, DEYAX). Each microbial sample was subjected to a triplicate experiment, lasting 20 min.

According to the results of the study, both disinfection methods proved to be extremely effective in inactivating the microorganisms *A. baumannii* and *C. albicans*. Chlorination achieves complete inactivation of bacteria within 60-180 min and fungi within 4-45 min, depending on the concentration of the disinfectant and the aqueous matrix. In contrast, disinfection with ultraviolet radiation (UVC) leads to faster inactivation of microorganisms, with *A. baumannii* being inactivated within 4-10 min and *C. albicans* within 4-6 min, depending on the aqueous matrix. However, it was observed that after about 24 h, microbial organisms exposed to UVC radiation often exhibited repair mechanisms, as a result of

which complete elimination was not always achieved. The aqueous matrix mainly affects the time required for inactivation of microorganisms and not the effectiveness of the process. Specifically, the 0.8% NaCl solution (without organic matter) resulted in faster inactivation compared to samples from a lake or wastewater, suggesting that the presence of organic matter may protect microorganisms from disinfectant effects.

In summary, bacterial inactivation is significantly affected by the composition of the aqueous matrix. Experimental data show that wastewater and the pond reduce the effectiveness of disinfectants, allowing a significant percentage of pathogens to survive. In contrast, the use of a NaCl solution (0.8%), which is devoid of organic matter and other substances that may interfere with the process, leads to complete elimination of bacterial populations. The above observations highlight the critical importance of water quality in disinfection processes and point out the need for further research in order to determine the precise mechanisms governing the interactions between pathogens, disinfectants and various water components.

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	11
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
1.1 ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....	13
1.1.1 Το νερό ως σπάνιος πόρος	13
1.1.2 Το υδάτινο περιβάλλον ως κύριος φορέας μικροβιακών παθογόνων	13
1.1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του νερού.....	14
1.2 ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ	15
1.2.1 Η σημασία της απολύμανσης	15
1.2.2 Μέθοδοι απολύμανσης	16
1.2.3 Παράγοντες επιρροής της χρήσης απολυμαντικών	16
1.2.4 Επιλογή μεθόδου απολύμανσης.....	17
1.2.5 Νόμος Chick-Watson	17
1.2.6 Γινόμενο Ct	18
1.2.7 Χλωρίωση	19
1.2.7.1 Πλεονεκτήματα Χλωρίωσης.....	20
1.2.7.2 Μειονεκτήματα Χλωρίωσης	20
1.2.8 Ακτινοβολία UVC	21
1.2.8.1 Πλεονεκτήματα ακτινοβολίας UVC	21
1.2.8.2 Μειονεκτήματα ακτινοβολίας UVC	22
1.3 ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	23

1.3.1	Acinetobacter baumannii	23
1.3.2	Candida albicans	24
2.	ΣΚΟΠΟΣ	26
3.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	27
3.1.	ΥΛΙΚΑ.....	27
3.1.1	Θρεπτικά Υλικά	27
3.1.2	Χημικά Υλικά.....	27
3.1.3	Διαλύματα	27
3.1.4	Συσκευές και Όργανα	27
3.1.5	Μικροοργανισμοί	28
3.2.	ΜΕΘΟΔΟΙ.....	29
3.2.1	Προετοιμασία πειράματος.....	29
3.2.2	Πρότυπες Καμπύλες.....	29
3.2.3	Χλωρίωση	30
3.2.3.1	Προετοιμασία:	30
3.2.3.2	Τιτλοδότηση:	30
3.2.3.3	Πειραματική διαδικασία:	31
3.2.4	Ακτινοβολία UVC	32
3.2.4.1	Προετοιμασία	32
3.2.4.2	Πειραματική διαδικασία	32
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	34
4.1.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΜΠΥΛΩΝ	34
4.1.1	Acinetobacter baumannii	34
4.1.2	Candida albicans	35
4.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΧΛΩΡΙΩΣΗΣ.....	36

4.2.1	Acinetobacter baumannii	36
4.2.1.1	Υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v)	36
4.2.1.2	Υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς	37
4.2.1.3	Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ	38
4.2.1.4	Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ	39
4.2.2	Candida albicans	41
4.2.2.1	Υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v)	41
4.2.2.2	Υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς	42
4.2.2.3	Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ	43
4.2.2.4	Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ	44
4.2.3	Σύγκριση Υδατικών Μήτρων	46
4.2.3.1	Σύγκριση NaCl (0.8% w/v) και λίμνη Αγιάς	46
4.2.3.2	Σύγκριση ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ	49
4.2.4	Υπολογισμός γινομένου C*t	51
4.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ UVC	55
4.3.1	Acinetobacter baumannii	55
4.3.2	Candida albicans	57
4.3.3	Υπολογισμός κινητικής σταθεράς	59
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	63
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	65

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Αποτελέσματα απορρόφησης και αποικιών του <i>A.baumannii</i>	34
Πίνακας 2: Αποτελέσματα απορρόφησης και αποικιών του <i>C.albicans</i>	35
Πίνακας 3: Χημικοί παράγοντες ανά υδατική μήτρα	46
Πίνακας 4: Υπολογισμός της μείωσης του πληθυσμού του <i>A.baumannii</i> από την χλωρίωση και του C^*t	52
Πίνακας 5: Υπολογισμός της μείωσης του πληθυσμού του <i>C.albicans</i> από την χλωρίωση και του C^*t	53
Πίνακας 6: Επαναδραστηριοποίηση του <i>A.baumannii</i> έπειτα από 24h	56
Πίνακας 7: Επαναδραστηριοποίηση του <i>C.albicans</i> έπειτα από 24h	58
Πίνακας 8: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το <i>A.baumannii</i> στην UVC	59
Πίνακας 9: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το <i>C.albicans</i> στην UVC	60
Πίνακας 10: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το <i>A.baumannii</i> στην χλωρίωση .	60
Πίνακας 11: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το <i>C.albicans</i> στην χλωρίωση	61

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης <i>A.baumannii</i> στα 600nm οπτικής απορρόφησης	34
Διάγραμμα 2: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης <i>C.albicans</i> στα 420nm οπτικής απορρόφησης	35
Διάγραμμα 3: Αδρανοποίηση του <i>A.baumannii</i> για την υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v) με χλωρίωση.....	36
Διάγραμμα 4: Αδρανοποίηση του <i>A.baumannii</i> για την υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς με χλωρίωση.....	38
Διάγραμμα 5: Αδρανοποίηση του <i>A.baumannii</i> για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ με χλωρίωση.....	39
Διάγραμμα 6: Αδρανοποίηση του <i>A.baumannii</i> για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ με χλωρίωση.....	40
Διάγραμμα 7: Αδρανοποίηση του <i>C.albicans</i> για την υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v) με χλωρίωση.....	41
Διάγραμμα 8: Αδρανοποίηση του <i>C.albicans</i> για την υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς με χλωρίωση.....	43
Διάγραμμα 9: Αδρανοποίηση του <i>C.albicans</i> για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ με χλωρίωση	44
Διάγραμμα 10: Αδρανοποίηση του <i>C.albicans</i> για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ με χλωρίωση.....	45
Διάγραμμα 11: Συγκριτικό διάγραμμα, για 0.5mg/L NaOCl στο <i>A.baumannii</i> για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v).....	47
Διάγραμμα 12: Συγκριτικό διάγραμμα, για 1mg/L NaOCl στο <i>A.baumannii</i> για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)	47
Διάγραμμα 13: Συγκριτικό διάγραμμα, για 0.5mg/L NaOCl στο <i>C.albicans</i> για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)	48

Διάγραμμα 14: Συγκριτικό διάγραμμα, για 1mg/L NaOCl στο <i>C.albicans</i> για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)	48
Διάγραμμα 15: Συγκριτικό διάγραμμα, για 5mg/L NaOCl στο <i>A.baumannii</i> για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.....	49
Διάγραμμα 16: Συγκριτικό διάγραμμα, για 10mg/L NaOCl στο <i>A.baumannii</i> για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ	50
Διάγραμμα 17: Συγκριτικό διάγραμμα, για 5mg/L NaOCl στο <i>C.albicans</i> για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.....	50
Διάγραμμα 18: Συγκριτικό διάγραμμα, για 10mg/L NaOCl στο <i>C.albicans</i> για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.....	51
Διάγραμμα 19: Αδρανοποίηση του <i>A.baumannii</i> με UVC σε διαφορετικές υδατικές μήτρες	56
Διάγραμμα 20: Αδρανοποίηση του <i>C.albicans</i> με UVC σε διαφορετικές υδατικές μήτρες	58

1. Εισαγωγή

1.1 Υδάτινο περιβάλλον και Μικροοργανισμοί

1.1.1 Το νερό ως σπάνιος πόρος

Η διαθεσιμότητα του πόσιμου νερού, ενός θεμελιώδους πόρου για τη βιόσφαιρα και την ανθρώπινη ευημερία, παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις στον σύγχρονο κόσμο. Η γεωγραφική ανισότητα στην κατανομή των αποθεμάτων γλυκού νερού, σε συνδυασμό με την αύξηση του παγκοσμίου πληθυσμού, την αστικοποίηση και την εντατικοποίηση της γεωργίας, δημιουργεί έντονες πιέσεις στους ήδη περιορισμένους υδάτινους πόρους. Ενώ η Γη καλύπτεται σε μεγάλο βαθμό από νερό, το μεγαλύτερο μέρος του είναι θαλασσινό και ακατάλληλο για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση. Το γλυκό νερό, που βρίσκεται σε ποταμιά, λίμνες, υδροφόρους ορίζοντες και παγετώνες, αποτελεί ένα πολύ μικρότερο ποσοστό και είναι άνισα κατανεμημένο γεωγραφικά. Η κλιματική αλλαγή επιδεινώνει περαιτέρω το πρόβλημα, προκαλώντας αλλαγές στα πρότυπα βροχοπτώσεων, με αυξανόμενη εξάτμιση και άνοδο της στάθμης της θάλασσας, επηρεάζοντας αρνητικά τη διαθεσιμότητα γλυκού νερού σε πολλές περιοχές. Η ανάγκη για ολιστική διαχείριση των υδάτινων πόρων, που να λαμβάνει υπόψη περιβαλλοντικές, κοινωνικές και οικονομικές παραμέτρους, καθίσταται επιτακτική για την εξασφάλιση της πρόσβασης σε καθαρό νερό και την προστασία οικοσυστημάτων.¹

1.1.2 Το υδάτινο περιβάλλον ως κύριος φορέας μικροβιακών παθογόνων

Η ποιότητα του νερού αντιμετωπίζει σοβαρές απειλές λόγω της αυξανόμενης μόλυνσης. Οι πηγές μόλυνσης είναι ποικίλες και περιλαμβάνουν τόσο φυσικούς όσο και ανθρωπογενείς παράγοντες. Φυσικά φαινόμενα, όπως η διάλυση μετάλλων και ορυκτών στο νερό, μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα του. Ωστόσο, οι ανθρώπινες δραστηριότητες αποτελούν την κύρια αίτια μόλυνσης. Βιομηχανικές διαδικασίες απελευθερώνουν βαρέα μέταλλα και τοξικές ουσίες στα υδάτινα συστήματα. Η γεωργία συμβάλει στη μόλυνση με λιπάσματα και φυτοφάρμακα, ενώ η ακατάλληλη διαχείριση των αποβλήτων εισάγει παθογόνα μικρόβια και οργανικά απόβλητα. Οι επιπτώσεις της μόλυνσης του νερού είναι πολλαπλές και σοβαρές. Η κατανάλωση μολυσμένου νερού μπορεί να προκαλέσει μια σειρά από ασθένειες, ενώ η υποβάθμιση των οικοσυστημάτων έχει αρνητικές συνέπειες για την βιοποικιλότητα και τις υπηρεσίες που παρέχουν, όπως η παροχή καθαρού αέρα και η ρύθμιση του κλίματος.²

1.1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του νερού

Η αξιολόγηση της ποιότητας του νερού βασίζεται σε διάφορους παράγοντες, όπως οι οργανοληπτικές ιδιότητες (χρώμα, οσμή, γεύση), η θολότητα και η παρουσία συγκεκριμένων χημικών ουσιών και μικροοργανισμών. Το χρώμα του νερού μπορεί να υποδεικνύει την παρουσία οργανικών υλικών ή μετάλλων, ενώ η οσμή μπορεί να προκληθεί από την παρουσία βακτηρίων, φυκιών ή χημικών ουσιών. Η θολότητα αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό παράγοντα, καθώς τα αιωρούμενα σωματίδια, όπως ο άργιλος και η λάσπη, προσφέρουν καταφύγιο σε παθογόνα μικρόβια, καθιστώντας τα πιο ανθεκτικά στις διαδικασίες απολύμανσης. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του νερού είναι ποικίλοι και περιλαμβάνουν τόσο φυσικούς παράγοντες, όπως η γεωλογική σύσταση του εδάφους, οι κλιματικές συνθήκες και ο υδραυλικός κύκλος, όσο και ανθρωπογενείς παράγοντες, όπως η βιομηχανική δραστηριότητα, η γεωργία, η αστικοποίηση και η ανεπαρκής επεξεργασία λυμάτων.²

Η διασφάλιση της ποιότητας του νερού αποτελεί μια παγκόσμια πρόκληση που απαιτεί συνεργασία σε όλα τα επίπεδα. Η ανάπτυξη αποτελεσματικών συστημάτων επεξεργασίας νερού, η βιώσιμη διαχείριση των υδάτινων πόρων και η ευαισθητοποίηση του κοινού είναι απαραίτητα μέτρα για την αντιμετώπιση του προβλήματος. Μια ολιστική προσέγγιση που λαμβάνει υπόψη τις τοπικές συνθήκες και τις ανθρώπινες δραστηριότητες είναι απαραίτητη για να εξασφαλίσουμε τη διαθεσιμότητα καθαρού και ασφαλούς νερού για τις μελλοντικές γενιές. Η ποιότητα του νερού είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την υγεία των ανθρώπων και των οικοσυστημάτων. Η αντιμετώπιση της μόλυνσης του νερού απαιτεί μια μακροπρόθεσμη στρατηγική που να στοχεύει στην πρόληψη της μόλυνσης και στην αποκατάσταση των ήδη μολυσμένων υδάτων.²

1.2 Απολύμανση

1.2.1 Η σημασία της απολύμανσης

Η μόλυνση των υδάτινων συστημάτων αποτελεί μια σοβαρή απειλή για την υγεία των ανθρώπων και των οικοσυστημάτων παγκοσμίως. Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών, όπως βακτηρίων, ιών και παράσιτων, σε πηγές πόσιμου νερού, μπορεί να προκαλέσει μια ευρεία γκάμα ασθενειών, από ήπιες γαστρεντερίτιδες έως σοβαρές λοιμώξεις. Οι κύριες πηγές αυτής της μόλυνσης είναι τα αστικά λύματα, τα βιομηχανικά απόβλητα και οι απορροές από γεωργικές δραστηριότητες. Αυτά τα απόβλητα περιέχουν μια ποικιλία παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι μπορούν εύκολα να εισέλθουν στα υδάτινα συστήματα και να μολύνουν τις πηγές νερού που χρησιμοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση, άρδευση και άλλες χρήσεις.

Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι απολύμανσης του νερού. Η χλωρίωση είναι μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους, καθώς το χλώριο αποτελεσματικά εξουδετερώνει τα παθογόνα μικρόβια. Ωστόσο, η υπερβολική χρήση χλωρίου μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία επιβλαβών παραπροϊόντων. Άλλες μέθοδοι απολύμανσης περιλαμβάνουν την υπεριώδη ακτινοβολία, το φιλτράρισμα και την οζόνωση. Κάθε μέθοδος έχει τα δικά της πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα και η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η ποιότητα του νερού και ο προορισμός του.

Η μόλυνση του νερού αποτελεί μια σοβαρή απειλή για την υγεία του πλανήτη και απαιτεί άμεσες και αποτελεσματικές λύσεις. Η ανάπτυξη και εφαρμογή αποτελεσματικών μεθόδων απολύμανσης του νερού, σε συνδυασμό με την υιοθέτηση αυστηρών κανονισμών για την προστασία των υδάτινων πόρων, είναι απαραίτητες. Επιπλέον, η ευαισθητοποίηση του κοινού σχετικά με τη σημασία της καθαρής ύδρευσης και η προώθηση βιώσιμων πρακτικών διαχείρισης των υδάτων αποτελούν κρίσιμους παράγοντες για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος. Μόνο μέσω της συνεργασίας όλων των εμπλεκόμενων φορέων μπορούμε να εξασφαλίσουμε την προστασία των υδάτινων πόρων και να διασφαλίσουμε ένα ασφαλές και υγιές περιβάλλον για τις μελλοντικές γενιές.²

1.2.2 Μέθοδοι απολύμανσης

Η εξασφάλιση της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων μεθόδων απολύμανσης. Η χλωρίωση, η πιο διαδεδομένη μέθοδος, βασίζεται στην οξειδωτική δράση του χλωρίου, το οποίο εξουδετερώνει αποτελεσματικά τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Όμως, η αντίδρασή του με οργανικές ενώσεις μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία δυνητικά καρκινογόνων παραπροϊόντων. Η υπεριώδης ακτινοβολία προσφέρει μια φιλική προς το περιβάλλον εναλλακτική, καταστρέφοντας το γενετικό υλικό των μικροοργανισμών χωρίς τη δημιουργία παραπροϊόντων. Η χρήση φίλτρων, ιδιαίτερα των μεμβρανών, αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο για την απομάκρυνση σωματιδίων και μικροοργανισμών, συμπληρώνοντας συχνά άλλες μεθόδους απολύμανσης. Τέλος, η οζόνωση, αν και αποτελεσματική, χαρακτηρίζεται από υψηλό κόστος και περιορισμένη παραγωγή επιτόπου, περιορίζοντας τη χρήση της σε συγκεκριμένες εφαρμογές. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου απολύμανσης εξαρτάται από παράγοντες όπως η ποιότητα του προς επεξεργασία νερού, η απαιτούμενη ποιότητα του επεξεργασμένου νερού και οι οικονομικοί περιορισμοί.²

1.2.3 Παράγοντες επιρροής της χρήσης απολυμαντικών

Η αποτελεσματικότητα των διαδικασιών απολύμανσης επηρεάζεται σημαντικά από μια σειρά φυσικοχημικών παραγόντων. Η θερμοκρασία αποτελεί έναν κρίσιμο παράγοντα, καθώς η αύξησή της ενισχύει συνήθως τη μικροβιοκτόνο δράση των απολυμαντικών. Ωστόσο, υπερβολικές αυξήσεις θερμοκρασίας μπορεί να οδηγήσουν σε υποβάθμιση των απολυμαντικών, μειώνοντας την αποτελεσματικότητά τους. Το pH του διαλύματος απολύμανσης επιδρά επίσης σημαντικά στην αντιμικροβιακή δράση, καθώς μεταβάλλει τη μοριακή δομή των απολυμαντικών και επηρεάζει την κυτταρική επιφάνεια των μικροοργανισμών. Ενώ ορισμένα απολυμαντικά δρουν αποτελεσματικότερα σε όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον, άλλα παρουσιάζουν βέλτιστη δράση σε ουδέτερο pH.

Η σχετική υγρασία και η σκληρότητα του νερού αποτελούν δύο πρόσθετους παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης. Η σχετική υγρασία παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποδοτικότητα των αερίων απολυμαντικών, καθώς επηρεάζει τη διάχυση και την απορρόφηση του απολυμαντικού στις επιφάνειες. Αντίθετα, η σκληρότητα του νερού, που οφείλεται κυρίως στην παρουσία δισθενών κατιόντων όπως το ασβέστιο και το μαγνήσιο, μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα ορισμένων απολυμαντικών. Τα δισθενή

κατιόντα σχηματίζουν αδιάλυτα ιζήματα με τα απολυμαντικά, μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωση του ελεύθερου απολυμαντικού που είναι διαθέσιμο για την καταστροφή των μικροοργανισμών.³

1.2.4 Επιλογή μεθόδου απολύμανσης

Η επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου απολύμανσης του νερού απαιτεί προσεκτική εξέταση μιας σειράς κριτηρίων. Καταρχάς, η αποτελεσματικότητα της μεθόδου έναντι ενός ευρέος φάσματος παθογόνων μικροοργανισμών, όπως βακτήρια, ιοί και παράσιτα, αποτελεί βασική προϋπόθεση. Παράλληλα, η δυνατότητα συνεχούς παρακολούθησης και ελέγχου της διαδικασίας απολύμανσης, καθώς και η δημιουργία ενός υπολειμματικού απολυμαντικού που προσφέρει μακροπρόθεσμη προστασία, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες. Επιπλέον, η αισθητική ποιότητα του επεξεργασμένου νερού, δηλαδή η απουσία δυσάρεστων οσμών ή γεύσεων, αποτελεί ένα κρίσιμο στοιχείο για την αποδοχή του από τους καταναλωτές. Τέλος, η διαθεσιμότητα της τεχνολογίας και το κόστος εφαρμογής της μεθόδου σε μεγάλη κλίμακα αποτελούν καθοριστικούς οικονομικούς παράγοντες.

Η επιλογή της μεθόδου απολύμανσης δεν περιορίζεται μόνο στην εξουδετέρωση των παθογόνων μικροοργανισμών. Ιδιαίτερη σημασία αποδίδεται και στην παραγωγή παραπροϊόντων της απολύμανσης, τα οποία ενδέχεται να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία. Η δυνατότητα των διαφόρων μεθόδων να παράγουν ελάχιστα ή καθόλου επιβλαβή παραπροϊόντα αποτελεί ένα κρίσιμο στοιχείο που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την αξιολόγηση της συνολικής τους αποδοτικότητας. Επιπλέον, η ανάπτυξη τεχνολογιών που επιτρέπουν την εξάλειψη ή την απομάκρυνση των ανεπιθύμητων παραπροϊόντων αποτελεί ένα ενεργό πεδίο έρευνας, με στόχο την ανάπτυξη πιο βιώσιμων και ασφαλών μεθόδων απολύμανσης του νερού.⁴

1.2.5 Νόμος Chick-Watson

Η κινητική της μικροβιακής αδρανοποίησης, μια θεμελιώδης διαδικασία στην απολύμανση, περιγράφεται από μαθηματικά μοντέλα που αποσκοπούν στην κατανόηση της σχέσης μεταξύ των παραγόντων θεραπείας και της μείωσης του αριθμού των επιζώντων μικροοργανισμών. Η γραμμική σχέση που συχνά παρατηρείται μεταξύ των δύο αυτών παραγόντων υποδηλώνει μια σταθερή ταχύτητα αδρανοποίησης. Ωστόσο, πολλές φορές η σχέση αυτή είναι μη γραμμική, υποδεικνύοντας πιο πολύπλοκους μηχανισμούς αδρανοποίησης. Το μοντέλο Chick-Watson, ένα κλασικό παράδειγμα κινητικής μοντέλου, βασίζεται στην υπόθεση ότι η αδρανοποίηση των μικροοργανισμών ακολουθεί μια στοιχειομετρική σχέση με την

ποσότητα του απολυμαντικού. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, η ταχύτητα αδρανοποίησης είναι ανάλογη τόσο της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών όσο και της συγκέντρωσης του απολυμαντικού. Η πειραματική επαλήθευση του μοντέλου Chick-Watson επιτρέπει την εκτίμηση των κινητικών παραμέτρων της αδρανοποίησης, όπως η σταθερά ταχύτητας, και την πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας των διαδικασιών απολύμανσης υπό διαφορετικές συνθήκες.⁵

Το μοντέλο Chick-Watson εκφράζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt \Rightarrow \frac{C}{C_0} = e^{-kt}$$

όπου:

k: είναι η σταθερά του ρυθμού αδρανοποίησης (min⁻¹)

t: ο χρόνος (min)

C: είναι η τελική συγκέντρωση του μικροοργανισμού

C₀: είναι η αρχική συγκέντρωση του μικροοργανισμού

1.2.6 Γινόμενο C*t

Η έννοια του C*t αποτελεί ένα θεμελιώδες εργαλείο στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των διαδικασιών απολύμανσης νερού, βασισμένη στη θεωρία Chick-Watson. Αντιπροσωπεύει το γινόμενο της συγκέντρωσης του απολυμαντικού σε mg/L και του χρόνου έκθεσης σε λεπτά, και προσφέρει μια ποσοτική εκτίμηση της δόσης απολύμανσης που απαιτείται για την αδρανοποίηση ενός συγκεκριμένου ποσοστού παθογόνων μικροοργανισμών υπό δεδομένες συνθήκες pH & θερμοκρασίας. Η τιμή C*t επιτρέπει τη σύγκριση διαφορετικών συνδυασμών συγκέντρωσης απολυμαντικού και χρόνου επαφής, καθιστώντας δυνατή την επιλογή της βέλτιστης στρατηγικής απολύμανσης για κάθε συγκεκριμένη περίπτωση. Για παράδειγμα, μια υψηλότερη συγκέντρωση απολυμαντικού μπορεί να επιτύχει την ίδια αδρανοποίηση σε μικρότερο χρόνο, ενώ μια χαμηλότερη συγκέντρωση μπορεί να απαιτήσει μεγαλύτερο χρόνο επαφής. Η ευελιξία που προσφέρει η έννοια του C*t επιτρέπει την προσαρμογή των διαδικασιών απολύμανσης σε διαφορετικές συνθήκες και απαιτήσεις. Αξίζει να σημειωθεί ότι για την υπεριώδη ακτινοβολία, η αντίστοιχη παράμετρος είναι το γινόμενο της έντασης της ακτινοβολίας και του χρόνου έκθεσης (I*t), το οποίο εκφράζει την ενεργειακή δόση που απαιτείται για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών.⁶

1.2.7 Χλωρίωση

Η χλωρίωση αποτελεί μια από τις πλέον διαδεδομένες μεθόδους απολύμανσης υδάτων, βασισμένη στη χρήση διαφόρων ενώσεων χλωρίου. Οι πιο κοινές μορφές χλωρίου που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία νερού περιλαμβάνουν το αέριο χλώριο, το διοξείδιο του χλωρίου, το υποχλωριώδες νάτριο και το υποχλωριώδες ασβέστιο. Ο μηχανισμός δράσης των ενώσεων αυτών βασίζεται στην ισχυρή τους οξειδωτική ικανότητα, η οποία τους επιτρέπει να καταστρέφουν τα κυτταρικά συστατικά των παθογόνων μικροοργανισμών, όπως ένζυμα, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα. Η επιλογή του κατάλληλου παράγοντα χλωρίωσης εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, όπως η φύση των παθογόνων που πρόκειται να εξουδετερωθούν, η ποιότητα του προς επεξεργασία νερού, οι απαιτήσεις για την ποιότητα του εκροής και οι οικονομικοί περιορισμοί.⁷

Αν και όλες οι μορφές χλωρίου έχουν ως κοινό στόχο την απολύμανση του νερού, παρουσιάζουν διαφορετικά χαρακτηριστικά και εφαρμογές. Το αέριο χλώριο, αν και αποτελεσματικό, απαιτεί ειδικές εγκαταστάσεις χειρισμού λόγω της τοξικότητάς του. Το υποχλωριώδες νάτριο, ως υδατικό διάλυμα, είναι ευκολότερο στη χρήση και αποτελεί τη συνηθέστερη επιλογή. Ωστόσο, η σταθερότητα και η αποτελεσματικότητά του επηρεάζονται από παράγοντες όπως το pH του νερού και η παρουσία οργανικών ενώσεων. Το διοξείδιο του χλωρίου, αν και αποτελεσματικότερο από το χλώριο, απαιτεί ειδικό εξοπλισμό για την παραγωγή του επιτόπου. Τέλος, το υποχλωριώδες ασβέστιο, σε στερεή ή υδατική μορφή, προσφέρει μια εναλλακτική λύση, ιδιαίτερα σε περιοχές όπου το υποχλωριώδες νάτριο δεν είναι εύκολα διαθέσιμο. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το υποχλωριώδες νάτριο ως απολυμαντικό μέσο.^{7,8}

Το υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl) είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό που δρα διαταράσσοντας τις βασικές βιολογικές διεργασίες των μικροοργανισμών. Όταν διαλύεται στο νερό, το υποχλωριώδες νάτριο ιονίζεται, απελευθερώνοντας υποχλωριώδες οξύ (HOCl), το οποίο είναι η ενεργή μορφή του απολυμαντικού. Το HOCl διεισδύει εύκολα στα κυτταρικά τοιχώματα των μικροοργανισμών και αντιδρά με διάφορα κυτταρικά συστατικά, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια και νουκλεϊκά οξέα. Οι οξειδωτικές αντιδράσεις που προκαλούνται καταστρέφουν την κυτταρική μεμβράνη, αλλοιώνουν τα ένζυμα και το γενετικό υλικό των μικροοργανισμών, οδηγώντας τελικά στον θάνατό τους. Η αποτελεσματικότητά του υποχλωριώδους νατρίου εξαρτάται από παράγοντες όπως το pH του νερού, η θερμοκρασία, η παρουσία οργανικής ύλης και η συγκέντρωση των μικροοργανισμών.⁸

1.2.7.1 Πλεονεκτήματα Χλωρίωσης

- Η χλωρίωση αποτελεί μια ευρέως εφαρμοζόμενη διαδικασία απολύμανσης νερού, εξουδετερώνοντας αποτελεσματικά ένα ευρύ φάσμα παθογόνων μικροοργανισμών.
- Η προσθήκη χλωρίου επιτρέπει την άμεση και αποτελεσματική απολύμανση του νερού, μειώνοντας σημαντικά το χρόνο επαφής που απαιτείται για την εξουδετέρωση των παθογόνων.
- Αποτελεί μια οικονομικά αποδοτική μέθοδο απολύμανσης νερού. Το χαμηλό κόστος των αντιδραστηρίων χλωρίου και η απλή εφαρμογή της διαδικασίας καθιστούν την απολύμανση με χλώριο μια προσιτή λύση για την παροχή ασφαλούς πόσιμου νερού.
- Είναι μια ευέλικτη μέθοδος επεξεργασίας νερού, εφαρμοζόμενη τόσο σε επιφανειακά όσο και σε υπόγεια ύδατα. Η προσαρμοστικότητα της μεθόδου επιτρέπει την αποτελεσματική απολύμανση ποικίλων υδατικών πόρων, καθιστώντας την ιδανική επιλογή για κοινότητες με διαφορετικές υδρογεωλογικές συνθήκες.
- Πέρα από την απολύμανση του νερού, διασφαλίζει την οξειδωτική απομάκρυνση οργανικών ενώσεων που ευθύνονται για δυσάρεστες γεύσεις και οσμές⁹

1.2.7.2 Μειονεκτήματα Χλωρίωσης

Ένα σημαντικό μειονέκτημα της απολύμανσης με χλώριο είναι ο σχηματισμός παραπροϊόντων απολύμανσης (DBPs). Οι μονάδες επεξεργασίας νερού υποχρεούνται να ανταποκρίνονται σε όλο και αυστηρότερους κανονισμούς ποιότητας νερού, οι οποίοι περιλαμβάνουν όρια για τα υπολειμματικά επίπεδα χλωρίου και την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών. Παρότι η χλωρίωση αποτελεί μια αποτελεσματική και οικονομική μέθοδο απολύμανσης, η αντίδραση του χλωρίου με την οργανική ύλη που ενδέχεται να περιέχεται στο νερό οδηγεί αναπόφευκτα στο σχηματισμό διαφόρων παραπροϊόντων απολύμανσης (DBPs), πολλών εκ των οποίων έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν γονοτοξικές, μεταλλαξιογόνες και καρκινογόνες ιδιότητες. Αυτές οι ενώσεις δημιουργούνται όταν το χλώριο αντιδρά με φυσικά διαλυμένη οργανική ύλη (DOM) στο νερό. Τα DBPs περιλαμβάνουν ένα ευρύ

φάσμα ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των τριαλομεθανίων (THMs), των αλογονοοξικών οξέων (HAAs), των αλογονοακετονιτριλίων (HANs) και άλλων.^{10,11}

1.2.8 Ακτινοβολία UVC

Η τεχνολογία UV είναι μια μη χημική προσέγγιση για την απολύμανση. Η υπεριώδης ακτινοβολία είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με μήκος κύματος 100-400 nm μικρότερο από αυτό του ορατού φωτός (400–700 nm), αλλά μεγαλύτερο από τις ακτίνες X (<100 nm). Η υπεριώδης ακτινοβολία ταξινομείται σε τρεις ζώνες, την UVA, την UVB και την UVC. Αυτές οι 3 κατηγορίες ορίζονται ως εξής:

- **UVA (315-400nm):** Διαπερνά ανεμπόδιστα το στρώμα του όζοντος και φτάνει στην επιφάνεια της Γης.
- **UVB (280-315nm):** Φιλτράρεται σε μεγάλο βαθμό από το στρώμα του όζοντος, ωστόσο, ένα μέρος της καταφέρνει να φτάσει στην επιφάνεια της Γης.
- **UVC (100-280nm):** Απορροφάται εξ ολοκλήρου από το προστατευτικό στρώμα του όζοντος και την ατμόσφαιρα. Παρόλα αυτά, ένα υποσύνολο της UVC (207-222nm), έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό στην αδρανοποίηση βακτηρίων και ιών. Αυτό το συγκεκριμένο μήκος κύματος παρουσιάζει το πλεονέκτημα ότι δεν προκαλεί βλάβη στο δέρμα των θηλαστικών σε περίπτωση οξείας έκθεσης.

Η υπεριώδης ακτινοβολία UVC, με μήκος κύματος κυρίως στα 254nm, αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο αποστείρωσης λόγω της ικανότητάς της να προκαλεί φωτοχημικές βλάβες στο γενετικό υλικό (DNA ή RNA) των μικροοργανισμών. Αυτή η ακτινοβολία, που παράγεται από τεχνητές πηγές όπως οι λαμπτήρες ατμών υδραργύρου χαμηλής πίεσης, απορροφάται από τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων, προκαλώντας τη δημιουργία διμερών πυριμιδινών και άλλων φωτοπροϊόντων που διαταράσσουν τη δομή και τη λειτουργία του DNA, καθιστώντας αδύνατη την αναπαραγωγή των μικροοργανισμών. Το βέλτιστο μήκος κύματος για την μικροβιοκτόνο δράση της UVC κυμαίνεται μεταξύ 250-270nm, με τα 262nm να θεωρούνται ως το πιο αποτελεσματικό, ωστόσο, λόγω της ευκολίας παραγωγής της, η ακτινοβολία των 254nm είναι η πιο διαδεδομένη σε εφαρμογές αποστείρωσης.¹²

1.2.8.1 Πλεονεκτήματα ακτινοβολίας UVC

- Δεν παράγει παραπροϊόντα σε αντίθεση με άλλες μεθόδους όπως η χλωρίωση.

- Έχει ισχυρή μικροβιοκτόνο δράση, προκαλώντας φωτοχημικές βλάβες στο γενετικό υλικό των παθογόνων μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα την απενεργοποίησή τους.
- Δεν προκαλεί μεταβολές στη μεταλλική σύσταση του νερού.
- Πρόκειται για μια μη χημική μέθοδο που εξαλείφει την ανάγκη για δημιουργία, μεταφορά ή αποθήκευση τοξικών/επικίνδυνων ή διαβρωτικών χημικών ουσιών.
- Έχει μικρότερο χρόνο επαφής σε σύγκριση με άλλα απολυμαντικά.¹³

1.2.8.2 Μειονεκτήματα ακτινοβολίας UVC

- Οι οργανισμοί διαθέτουν ενδογενείς μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA που έχουν υποστεί βλάβη από την υπεριώδη ακτινοβολία. Αυτές οι διεργασίες, γνωστές ως φωτοενεργοποίηση και σκοτεινή επιδιόρθωση, περιλαμβάνουν τη μεταφορά ενέργειας ή την ενεργοποίηση ειδικών ενζύμων για την αποκατάσταση των βλαβών στο γενετικό υλικό.
- Εξαρτάται κρίσιμα από τη βέλτιστη επιλογή των παραμέτρων ακτινοβολίας και τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Παράγοντες όπως η συγκέντρωση οργανικών ουσιών, το μήκος κύματος, η ένταση και η διάρκεια έκθεσης, καθώς και οι ιδιότητες του εναιωρήματος και του μικροοργανισμού, επηρεάζουν σημαντικά την αποικοδόμηση του γενετικού υλικού των παθογόνων.
- Εξαρτάται από τη δοσομετρία και τη γεωμετρική διαμόρφωση των επιφανειών. Η παρουσία σκιών και η αδυναμία της ακτινοβολίας να διεισδύσει σε οπτικές παγίδες μειώνει την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας απολύμανσης.¹³

1.3 Μικροοργανισμοί

Οι μικροοργανισμοί είναι οργανισμοί με μέγεθος μικρότερο των 100 μm, χαρακτηρίζονται από απλή δομή και εξαιρετική βιοποικιλότητα. Διαδίδονται ευρέως σε όλα τα οικοσυστήματα, από το έδαφος και το νερό μέχρι τον αέρα και τους άλλους οργανισμούς. Η συνολική βιομάζα τους υπερβαίνει κατά πολύ αυτή των μακροσκοπικών οργανισμών, υπογραμμίζοντας τη σημασία τους για τη βιόσφαιρα. Ο ανθρώπινος οργανισμός φιλοξενεί ένα τεράστιο και ποικίλο μικροβίωμα, το οποίο συνυπάρχει σε συμβιωτική σχέση με τον ξενιστή. Παρόλο που μόνο ένα μικρό ποσοστό των μικροοργανισμών (1%) είναι καλλιεργήσιμο, η συμβολή τους στα οικοσυστήματα είναι καθοριστική. Συμμετέχουν σε βασικές βιογεωχημικές διεργασίες, όπως η ανακύκλωση θρεπτικών στοιχείων, και παίζουν κεντρικό ρόλο στην υγεία των οργανισμών, τη γεωργία, τη βιομηχανία και την ενέργεια. Οι μικροοργανισμοί αποτελούν ανεκτίμητο εργαλείο για την ανάπτυξη βιοτεχνολογικών εφαρμογών και την αντιμετώπιση περιβαλλοντικών προβλημάτων.¹⁴

Διακρίνονται σε τρεις βασικές ομάδες, με κριτήριο την κυτταρική τους δομή:

- 1) **Ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί** (με βάση το ευκαρυωτικό κύτταρο): Πρωτόζωα, μύκητες και φύκη.
- 2) **Προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί** (με βάση το προκαρυωτικό κύτταρο): Κυανοβακτήρια/ κυανοφύκη, Βακτήρια ή Σχιζομύκητες
- 3) **Ιοί** (με μέγεθος 20-300nm)

1.3.1 *Acinetobacter baumannii*

Τα βακτήρια, ως οι πιο απλοί και πολυάριθμοι μονοκύτταροι οργανισμοί στον πλανήτη, ανήκουν στην κατηγορία των προκαρυωτικών μικροοργανισμών, στερούμενα πυρήνα και περιπλεγμένων οργανιδίων, εκτός των ριβοσωμάτων.¹⁴

Το *Acinetobacter baumannii* αποτελεί ένα από τα πλέον ανησυχητικά παθογόνα βακτήρια στα νοσοκομεία παγκοσμίως, λόγω της αυξημένης αντοχής του σε αντιβιοτικά και της ικανότητάς του να επιβιώνει σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών. Αυτός ο Gram (-) κοκκοβάκιλλος έχει αποκτήσει την ικανότητα να επιζεί σε αντίξοες συνθήκες, όπως η ξήρανση και η παρουσία απολυμαντικών, καθιστώντας τον ιδιαίτερα ευρέως διαδεδομένο στο νοσοκομειακό περιβάλλον. Η πολυανθεκτικότητα του *A.baumannii*, συμπεριλαμβανομένης της αντοχής στις

καρβαπενέμες, αποτελεί μια σοβαρή απειλή για την ανθρώπινη υγεία, καθώς περιορίζει σημαντικά τις θεραπευτικές επιλογές. Ως εκ τούτου, το *Acinetobacter baumannii*, σε συνδυασμό με άλλα παθογόνα βακτήρια όπως ο *Enterococcus faecium*, ο *Staphylococcus aureus*, η *Klebsiella pneumoniae*, ο *Pseudomonas aeruginosa* και είδη *Enterobacter*, κατηγοριοποιείται στην ομάδα ESKAPE. Αυτά τα βακτήρια αποτελούν την πρωταρχική αιτία νοσοκομειακών λοιμώξεων παγκοσμίως, καθώς η πλειονότητα των στελεχών τους έχει αναπτύξει πολυανθεκτικότητα σε αντιμικροβιακούς παράγοντες, καθιστώντας τις λοιμώξεις που προκαλούν ιδιαίτερα δύσκολο να αντιμετωπιστούν και αποτελώντας μια από τις σημαντικότερες προκλήσεις στον τομέα της λοιμωξιολογίας σήμερα. Η ικανότητα του βακτηρίου να σχηματίζει βιομεμβράνες, να αποφεύγει τις άμυνες του ξενιστή και η γενετική του ευελιξία συμβάλλουν στην επιμονή του στον ξενιστή και στην ανάπτυξη νέων μηχανισμών ανθεκτικότητας. Οι λοιμώξεις από *A.baumannii* μπορούν να επηρεάσουν διάφορα συστήματα του οργανισμού, με τις λοιμώξεις του αναπνευστικού να αποτελούν την πιο συχνή εκδήλωση.

Η ενδημική παρουσία του *A.baumannii* σε πολλά νοσοκομεία παγκοσμίως υπογραμμίζει τη σημασία του περιβάλλοντος ως δεξαμενή και οχήματος μετάδοσης. Η ευρύτητα του μεταβολισμού του, που του επιτρέπει να αξιοποιεί ποικίλες πηγές άνθρακα και ενέργειας, σε συνδυασμό με την ανθεκτικότητά του σε ακραίες συνθήκες θερμοκρασίας και pH, του παρέχει ένα σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης στο νοσοκομειακό περιβάλλον. Η ικανότητα του *A.baumannii* να σχηματίζει βιοφίλμ προσκολλώντας σε διάφορες επιφάνειες, όπως ιατρικός εξοπλισμός και αντικείμενα, συμβάλλει στην επιμονή του και στην δυσκολία απολύμανσης. Επιπλέον, η γενετική του ευελιξία του επιτρέπει να αποκτά γρήγορα νέες αντιστάσεις σε αντιβιοτικά μέσω μηχανισμών όπως η οριζόντια μεταφορά γονιδίων, καθιστώντας την αντιμετώπιση των λοιμώξεων που προκαλεί ιδιαίτερα δύσκολη. Όλοι αυτοί οι παράγοντες συνεργάζονται, καθιστώντας το *A.baumannii* ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας και επιτείνοντας την ανάγκη για την ανάπτυξη νέων στρατηγικών για την πρόληψη και την αντιμετώπιση των λοιμώξεων που προκαλεί.^{15–18}

1.3.2 *Candida albicans*

Οι μύκητες αποτελούν μια ξεχωριστή και ευρύτατη ομάδα ευκαρυωτικών οργανισμών, που διακρίνονται από μοναδικά χαρακτηριστικά. Ως αχλωρόφυλλοι οργανισμοί, δεν είναι σε θέση να φωτοσυνθέτουν και εξαρτώνται από οργανικές πηγές άνθρακα για την επιβίωσή τους.¹⁴

Η *Candida albicans*, ένας ευρέως διαδεδομένος μύκητας της ανθρώπινης μικροχλωρίδας, παρουσιάζει μια μοναδική βιολογική πλαστικότητα που του επιτρέπει να προσαρμόζεται σε διαφορετικά περιβάλλοντα και αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα νοσοκομειακών λοιμώξεων παγκοσμίως, προκαλώντας ένα ευρύ φάσμα λοιμώξεων που κυμαίνονται από επιφανειακές μολύνσεις του βλεννογόνου, όπως η στοματίτιδα και η κολπίτιδα, μέχρι σοβαρές συστηματικές λοιμώξεις που απειλούν τη ζωή, ιδιαίτερα σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Η ικανότητά του να μεταμορφώνεται από ζυμομύκητα σε νηματώδη υφή, σε συνδυασμό με τη διπλοειδή φύση του, υποδηλώνει την ύπαρξη εξελιγμένων μηχανισμών γενετικής ανταλλαγής και προσαρμογής. Αυτή η γενετική ποικιλομορφία, σε συνδυασμό με την ικανότητα σχηματισμού βιοφίλμ, συμβάλλει στην παθογένεια του μύκητα, επιτρέποντάς του να αποφεύγει τις άμυνες του ξενιστή και να επιβιώνει σε αντιμυκητιασικά φάρμακα.¹⁹

2. Σκοπός

Η παρούσα διπλωματική εργασία στοχεύει στην διερεύνηση της αποτελεσματικότητας διαφόρων μεθόδων απολύμανσης για την αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών *Acinetobacter baumannii* και *Candida albicans* σε ποικίλες υδατικές μήτρες. Οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικοί αιτιολογικοί παράγοντες νοσοκομειακών λοιμώξεων λόγω της αυξημένης ανθεκτικότητάς τους σε αντιμικροβιακά φάρμακα. Στην παρούσα μελέτη, αξιολογείται η επίδραση της χλωρίωσης και της υπερϊώδους ακτινοβολίας UVC στην επιβίωση των μικροοργανισμών σε δείγματα νερού, υγρού αποβλήτου και επιφανειακού ύδατος (λίμνης). Πιο συγκεκριμένα, οι στόχοι της εργασίας είναι ο προσδιορισμός των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας (π.χ. δόση χλωρίου, χρόνος έκθεσης σε UVC) για την επίτευξη της αδρανοποίησης των μικροοργανισμών, καθώς και η μελέτη των παραγόντων που επηρεάζουν την ανθεκτικότητά τους στο υδάτινο περιβάλλον (π.χ. παρουσία οργανικής ύλης). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης αναμένεται να συμβάλουν στην ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών για την απολύμανση του νερού και την προστασία της δημόσιας υγείας.

3. Πειραματικό μέρος

3.1. Υλικά

3.1.1 Θρεπτικά Υλικά

- Nutrient Agar (Neogen Culture Media)
- Potato Dextrose Agar (Neogen Culture Media)

3.1.2 Χημικά Υλικά

- Οξικό οξύ (Honeywell Research Chemicals, Fluka)
- Ιωδιούχο Κάλιο (Honeywell Research Chemicals, Fluka)
- Θειοθειϊκό νάτριο (Panreac Quimica SAU)
- Χλωριούχο Νάτριο (Honeywell Research Chemicals, Fluka)
- Υποχλωριώδες Νάτριο (Fisher scientific)

3.1.3 Διαλύματα

- Διάλυμα NaOCl συγκέντρωσης 1000mg/L v/v (ως προς Cl₂)
- Διάλυμα Na₂S₂O₃ συγκέντρωσης 18mg/L w/v
- Διάλυμα NaCl συγκέντρωσης (0.8% w/v)
- Θειοθειϊκό νάτριο κανονικότητας 0.1N

3.1.4 Συσκευές και Όργανα

- Επωαστικός θάλαμος (Heraeus Incubator, Thermo Scientific)
- Κλίβανος ξήρανσης (Elvem)
- Αυτόκαυστο – Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (Raypa)
- Φασματοφωτόμετρο UV mini 1240 (Shimadzu)
- Υδατόλουτρο (GFL)
- Ζυγός ακριβείας (Cole Parmer)
- Λαμπτήρας ακτινοβολίας UVC 15W (Osram)
- Τρυβλία petri 9cm
- Κρίκοι εμβολιασμού
- Αυτόματη Πιπέτα 200μL, 1000μL και 5mL
- Πιπέτες Ογκομετρικές Γυάλινες 5mL και 10mL

3.1.5 Μικροοργανισμοί

Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν το βακτήριο *Acinetobacter baumannii* και ο μύκητας *Candida albicans*, τα οποία προήλθαν από κλινικά δείγματα του Νοσοκομείου Πατρών (Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»).

3.2. Μέθοδοι

3.2.1 Προετοιμασία πειράματος

Η πειραματική διαδικασία έλαβε χώρα από τις αρχές του Μαρτίου έως τα τέλη του Οκτωβρίου του 2024. Οι δειγματοληψίες των υδατικών μητρών που χρησιμοποιήθηκαν Λίμνη Αγιάς (τεχνητή λίμνη στον νομό Χανίων) και λύμα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας από την ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης Αποχέτευσης Χανίων) και την ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Δήμου Πλατανιά – Νομός Χανίων) πραγματοποιήθηκαν από τον Οκτώβριο του 2023 έως και το Οκτώβριο του 2024.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι όλα τα υλικά, διαλύματα και σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν, αποστειρώθηκαν στο αυτόκαυστο στους 121°C για 30 min.

Για την διεξαγωγή του πειράματος αρχικά πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια του *A.baumannii* σε θρεπτικό υλικό Nutrient Agar και του *C.albicans* σε θρεπτικό υλικό Potato Dextrose Agar. Τα θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται σύμφωνα με τις οδηγίες που αναγράφονται στο πίσω μέρος της συσκευασίας και μετά φυλάσσονται στο ψυγείο.

3.2.2 Πρότυπες Καμπύλες

Πριν το πείραμα πραγματοποιήθηκαν πρότυπες καμπύλες ανάπτυξης των δύο μικροοργανισμών για την περαιτέρω ποσοτικοποίησή τους και τη χρήση συγκεκριμένου πληθυσμού στα πειράματα απολύμανσης.

Βήμα 1°: Δημιουργήθηκε εναιώρημα των μικροοργανισμών σε υδατικό διάλυμα NaCl (0.8% w/v) ως βάση για της περαιτέρω μετρήσεις.

Βήμα 2°: Ακολούθησε σειρά φωτομετρήσεων (στα 420nm για το *C.albicans* και στα 600nm για το *A.baumannii*) αρχικά με μηδενισμό χρησιμοποιώντας τυφλό δείγμα (με την βέλτιστη απορρόφηση σε κάθε μικροοργανισμό).

Βήμα 3°: Από τα διάφορα δείγματα που συλλέχθηκαν κατά την φωτομέτρηση έγινε συσχέτιση του πληθυσμού των μικροοργανισμών στα τρυβλία και με βάση τα δεδομένα δημιουργήθηκαν οι κατάλληλες ανακαλλιέργειες των μικροοργανισμών.

3.2.3 Χλωρίωση

- Πραγματοποιήθηκε απολύμανση με χλώριο στους δύο μικροοργανισμούς (*A.baumannii* και *C.albicans*) με απολυμαντικό μέσο πυκνό διάλυμα NaOCl συγκέντρωσης 1000mg/L ως προς Cl₂.
- Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 300mL. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις (4) υδατικές μήτρες (NaCl 0.8% w/v), Λίμνη Αγιάς, ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ), εναιώρημα που παρασκευάστηκε από αποστειρωμένο νερό και αποικίες βακτηρίου και μύκητα.
- Η δόση χλωρίου που προστέθηκε διαφέρει ανάλογα με την υδατική μήτρα. Συγκεκριμένα στις υδατικές μήτρες χλωριούχο νάτριο (NaCl 0.8% w/v) και Λίμνη Αγιάς είναι 0.5mg/L και 1mg/L χλωρίου (Cl₂). Από την άλλη πλευρά στα απόβλητα που λήφθηκαν από τις μονάδες επεξεργασίας ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ η δοσολογία χλωρίου ήταν υψηλότερη στα 5mg/L και 10mg/L.

3.2.3.1 Προετοιμασία:

- Παρασκευή διαλύματος NaOCl: Παρασκευάστηκε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) με συγκέντρωση 1000mg/L ως προς το χλώριο (Cl₂) μέσω αραίωσης πυκνότερου διαλύματος.
- Η αρχική συγκέντρωση των μικροοργανισμών στο διάλυμα είναι ίση με 10⁷ CFUs/mL. Για να επιτευχθεί αυτό, πραγματοποιήθηκε μια δεκαδική αραίωση στο εναιώρημα που προήλθε από τα αποτελέσματα των πρότυπων καμπύλων που είχαν κατασκευαστεί για τον κάθε μικροοργανισμό.
- Διακοπή δράσης χλωρίου: Σε erendorf χωρητικότητας 1.5mL προστέθηκε ποσότητα 90μL διαλύματος θειοθειικού νατρίου (Na₂S₂O₃) συγκέντρωσης 18mg/L με σκοπό την διακοπή της δράσης του υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα, σε κάθε χρονική στιγμή της δειγματοληψίας.

3.2.3.2 Τιτλοδότηση:

Βήμα 1^ο: Σε μια κωνική φιάλη παρασκευάζεται ένα διάλυμα με 10mL διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) συγκέντρωσης 1000mg/L ως προς Cl₂, 5mL οξικού οξέος και 1gr ιωδιούχου καλίου (KI).

Βήμα 2°: Το διάλυμα που παρασκευάστηκε τιτλοδοτείται με διάλυμα $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ κανονικότητας 0.1N μέχρι να αποχρωματιστεί το δείγμα και μετράται η ποσότητα $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ που καταναλώθηκε.

Βήμα 3°: Υπολογίζονται πόσα g/L Cl_2 περιέχονται στο αρχικό διάλυμα NaOCl με βάση την παρακάτω σχέση:

$$\frac{g}{L} \text{Cl}_2 = \frac{(mL \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ που καταναλώθηκαν}) * 0.1N * 35.5}{10mL}$$

όπου:

10mL είναι η ποσότητα διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε για την Τιτλοδότηση και 35.5 είναι το Ar του χλωρίου.

3.2.3.3 Πειραματική διαδικασία:

Βήμα 1°: Σε ένα δοχείο ζέσεως 500mL προστίθενται 300mL υδατικής μήτρας.

Βήμα 2°: Το δοχείο τοποθετήθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα ώστε να υπάρχει συνεχής ανάδευση και προστίθεται ο μικροοργανισμός και το απολυμαντικό μέσο.

Βήμα 3°: Πριν την έναρξη της χρονομέτρησης, απομονώθηκε ένα δείγμα 1mL ως αρχικό σημείο αναφοράς για το χρόνο 0 min.

Βήμα 4°: Σε τακτά χρονικά διαστήματα μέχρι 180min για το *A.baumannii* και μέχρι 45min για το *C.albicans*, λαμβάνεται και τοποθετείται σε endorff 1.5mL ποσότητα ίση με 1mL δείγματος. Τα δείγματα αποθηκεύονται στο ψυγείο.

Βήμα 5°: Μετά από την ολοκλήρωση της χρονομέτρησης, προετοιμάστηκαν κατάλληλες αραιώσεις των δειγμάτων και πραγματοποιήθηκε στρώση 100μL σε τρυβλία Petri με θρεπτικό υλικό (Potato Dextrose Agar για το *C.albicans* και Nutrient Agar για το *A.baumannii*).

Βήμα 6°: Αφήνονται τα τρυβλία για 20min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ώστε να ενσωματωθεί στο θρεπτικό υλικό το δείγμα και στην συνέχεια τοποθετούνται σε επωαστικό θάλαμο για 24h στους 37°C.

Βήμα 7°: Τέλος γίνεται καταμέτρηση των αποικιών σε κάθε τρυβλίο και υπολογισμός του αριθμού αποικιών ανά mL (CFUs/mL).

3.2.4 Ακτινοβολία UVC

- Πραγματοποιήθηκε απολύμανση με ακτινοβολία UVC στους 2 μικροοργανισμούς (*A.baumannii* και *C.albicans*), χρησιμοποιώντας ως απολυμαντικό μέσο την ακτινοβολία UVC. Ο λαμπτήρας που χρησιμοποιήθηκε είναι Osram 15W.
- Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 300mL για 3 διαφορετικές υδατικές μήτρες (NaCl 0.8% w/v), Λίμνη Αγιάς και ΔΕΥΑΧ).
- Κατά την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιείται μαγνητική ανάδευση για λόγους ομογενοποίησης.

3.2.4.1 Προετοιμασία

Για την επίτευξη της επιθυμητής τελικής συγκέντρωσης των μικροοργανισμών στα 10^5 CFUs/mL στο διάλυμα, ακολουθείται μια διαδικασία παρόμοια με εκείνη στην χλωρίωση. Αρχικά, παρασκευάζεται ένα εναιώρημα το οποίο υποβάλλεται σε φωτομέτρηση. Στην συνέχεια πραγματοποιείται μια δεκαδική αραιώση έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση να είναι 10^7 CFUs/mL. Τελικά εφαρμόζοντας τον τύπο της αραιώσης

$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Rightarrow x * 10^7 = 10^5 * 300 \Rightarrow x = 3mL$, υπολογίζεται ότι απαιτούνται 3mL εναιωρήματος μικροοργανισμού για να προστεθούν σε ένα συνολικό όγκο διαλύματος 300mL, εξασφαλίζοντας έτσι την επιθυμητή τελική συγκέντρωση των 10^5 CFUs/mL.

3.2.4.2 Πειραματική διαδικασία

Βήμα 1°: Σε ένα δοχείο ζέσεως 500mL προστίθενται 300mL υδατικής μήτρας.

Βήμα 2°: Προστίθεται μια ακριβώς καθορισμένη ποσότητα εναιωρήματος μικροοργανισμού, ώστε να επιτευχθεί η συγκέντρωση των 10^5 CFUs/mL, και το δοχείο υποβάλλεται σε συνεχή ανάδευση. Για να καθοριστεί η αρχική κατάσταση του διαλύματος πριν την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία, συλλέχθηκε ένα δείγμα αναφοράς στο χρόνο μηδέν ($t=0min$).

Βήμα 3°: Το υπόλοιπο διάλυμα εκτέθηκε σε συνεχή ακτινοβολία UVC, ενώ ταυτόχρονα αναδεύονταν μαγνητικά. Σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα t (μέχρι 20min), συλλέχθηκαν δείγματα των 1mL και τοποθετιούνταν σε ependorf 1.5mL.

Βήμα 4°: Μετά από την ολοκλήρωση της χρονομέτρησης, πραγματοποιήθηκε στρώση 100μL σε τρυβλία Petri με θρεπτικό υλικό (Potato Dextrose Agar για το *C.albicans* και Nutrient Agar για το *A.baumannii*).

Βήμα 5°: Αφήνονται τα τρυβλία για 20min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ώστε να ενσωματωθεί στο θρεπτικό υλικό στο δείγμα και στην συνέχεια τοποθετούνται σε επωαστικό θάλαμο για 24h στους 37°C.

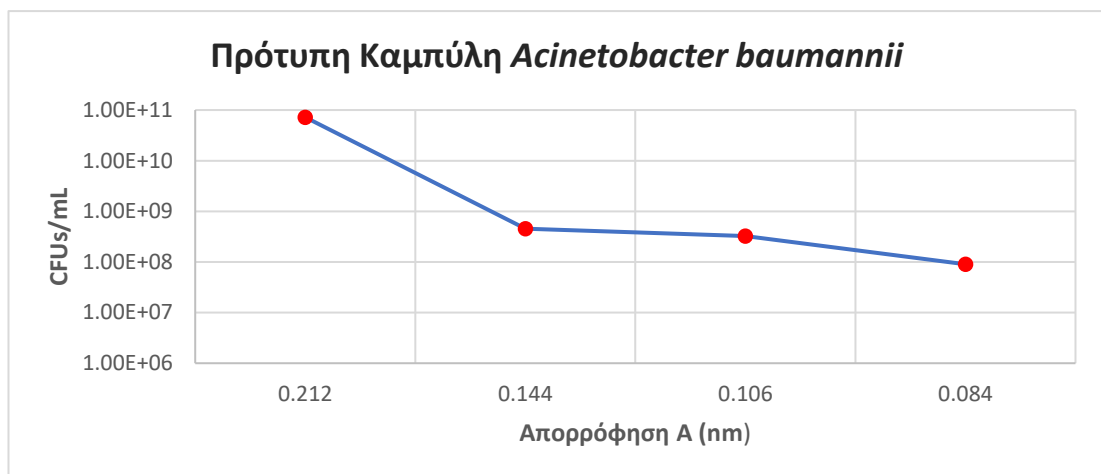
Βήμα 6°: Τέλος γίνεται καταμέτρηση των αποικιών σε κάθε τρυβλίο και υπολογισμός του αριθμού αποικιών ανά mL (CFUs/mL).

4. Αποτελέσματα και Συζήτηση

4.1. Αποτελέσματα πρότυπων καμπύλων

4.1.1 *Acinetobacter baumannii*

Πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση στα 600nm και σύμφωνα με το διάγραμμα 1 το πείραμα διεξήχθη με την τιμή απορρόφησης που επιλέχθηκε ως βέλτιστη ($A=0.106\text{nm}$) έτσι ώστε ο αριθμός αποικιών να είναι γύρω στο 10^8 CFUs/mL.



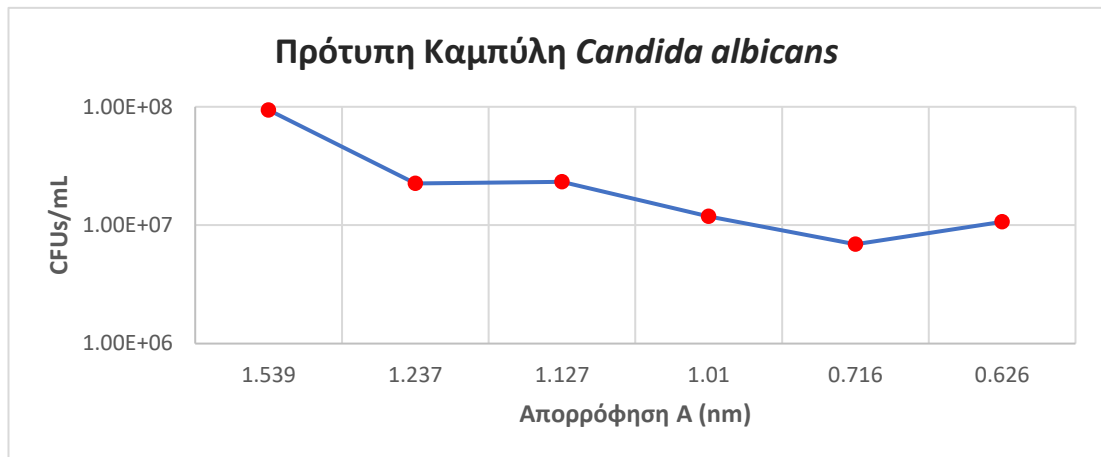
Διάγραμμα 1: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης *A.baumannii* στα 600nm οπτικής απορρόφησης

Πίνακας 1: Αποτελέσματα απορρόφησης και αποικιών του *A.baumannii*

Μέτρηση	A (nm)	CFUs/mL
1	0.212	7.20E+10
2	0.144	4.56E+08
3	0.106	3.27E+08
4	0.084	9.00E+07

4.1.2 *Candida albicans*

Πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση στα 420nm καθώς από έρευνες βρέθηκε ότι το συγκεκριμένο μήκος κύματος αποδεικνύεται το βέλτιστο για την επίτευξη μέγιστης απορρόφησης από τον *C. albicans*²⁰ και σύμφωνα με το διάγραμμα 2 η απορρόφηση που χρησιμοποιήθηκε είναι $A=1.539\text{nm}$ έτσι ώστε ο αριθμός αποικιών να είναι γύρω στο 10^8 CFUs/mL.



Διάγραμμα 2: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης *C.albicans* στα 420nm οπτικής απορρόφησης

Πίνακας 2: Αποτελέσματα απορρόφησης και αποικιών του *C.albicans*

Μέτρηση	A (nm)	CFUs/mL
1	1.539	9.40E+07
2	1.237	2.25E+07
3	1.127	2.33E+07
4	1.010	1.19E+07
5	0.716	6.90E+06
6	0.626	1.07E+07

Η ανάπτυξη πρότυπων καμπυλών είναι απαραίτητη για τον ακριβή έλεγχο της αρχικής συγκέντρωσης των μικροοργανισμών, γεγονός που είναι κρίσιμο για την αναπαραγωσιμότητα και την ερμηνεία των πειραματικών αποτελεσμάτων.

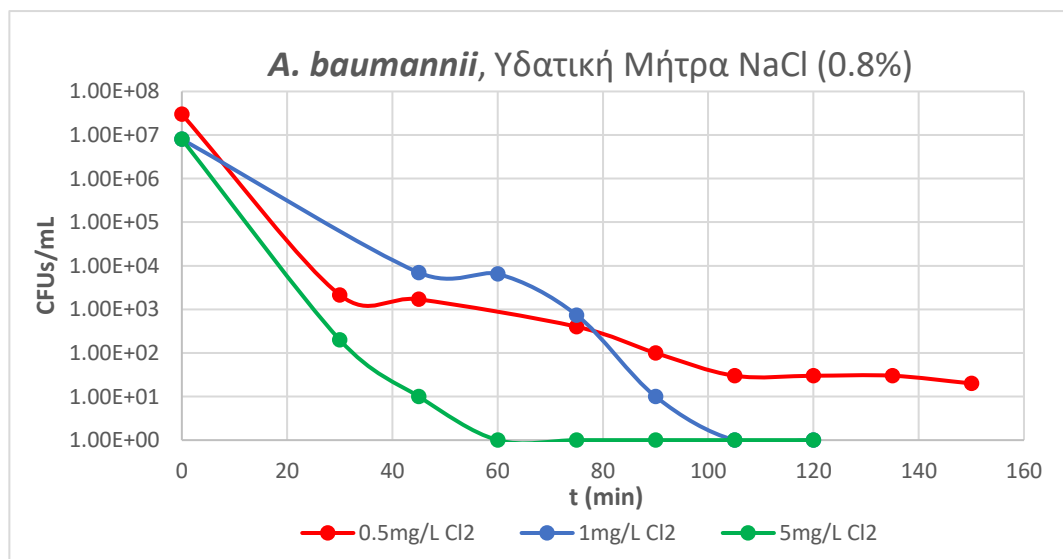
4.2 Αποτελέσματα χλωρίωσης

4.2.1 *Acinetobacter baumannii*

Το *Acinetobacter baumannii*, ένα πολυανθεκτικό Gram-αρνητικό βακτήριο, αποτελεί σημαντική πρόκληση στην κλινική πράξη λόγω της εκτεταμένης αντοχής του σε πολλαπλά αντιβιοτικά. Η προσαρμοστικότητα των βακτηρίων είναι αξιοσημείωτη, καθώς σχηματίζουν ανθεκτικά ενδοσπόρια ως απάντηση σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία της εξωτερικής μεμβράνης στα Gram (-) βακτήρια προσφέρει αυξημένη αντοχή σε αντιβιοτικά και απολυμαντικά, καθώς εμποδίζει τη διείσδυση πολλών τοξικών ουσιών. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα διευρύνθηκε η αποτελεσματικότητα διάφορων συγκεντρώσεων υποχλωριώδους νατρίου σε 4 διαφορετικές υδατικές μήτρες.¹⁴

4.2.1.1 Υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v)

Πρόκειται για μια υδατική μήτρα που προσομοιάζει στο νερό. Εφαρμόστηκαν τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις απολυμαντικού (0.5mg/L, 1mg/L και 5mg/L) για περίπου 150 min, όπως απεικονίζεται στο διάγραμμα 3.



Διάγραμμα 3: Αδρανοποίηση του *A.baumannii* για την υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v) με χλωρίωση

Τα πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του χλωρίου (Cl₂) και της ταχύτητας αδρανοποίησης του βακτηρίου *A.baumannii*. Η αύξηση της συγκέντρωσης του απολυμαντικού οδηγεί σε ταχύτερη μείωση του αριθμού των βακτηρίων αποικιών (CFU/mL). Ειδικότερα, η υψηλότερη

δοσολογία των 5mg/L προκαλεί πιο απότομη μείωση των βακτηρίων αποικιών, ενώ η χαμηλότερη δοσολογία των 0.5mg/L έχει την πιο ήπια επίδραση. Η αποτελεσματικότητα του Cl₂ επιβεβαιώνεται από την παρατήρηση μιας γρήγορης και συνεπής μείωσης του βακτηριακού φορτίου κατά τουλάχιστον έξι τάξεις μεγέθους εντός 90 min, από την αρχική τιμή των 10⁸ CFUs/mL στα 10² CFUs/mL.

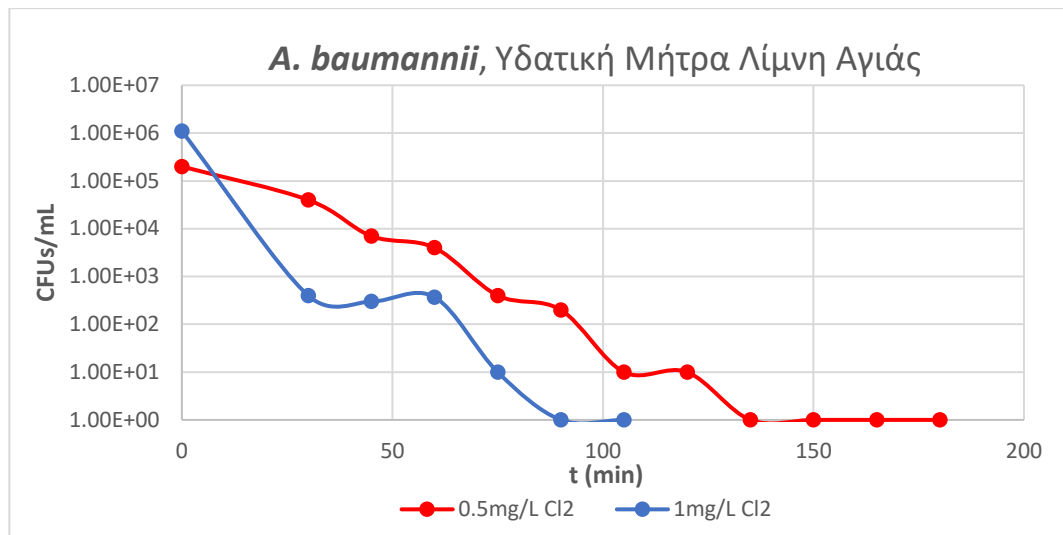
Η ανάλυση των δεδομένων αποκαλύπτει μια χαρακτηριστική ταχεία μείωση του αριθμού των βακτηρίων κατά τα πρώτα 40 min έκθεσης στο απολυμαντικό, ανεξάρτητα από την συγκέντρωση του Cl₂. Αυτό το φαινόμενο υποδηλώνει ότι το υποχλωριώδες νάτριο δρα γρηγορά και αποτελεσματικά στην αδρανοποίηση των βακτηρίων κυτάρων. Η αρχική αυτή φάση ταχείας μείωσης είναι πιθανό να οφείλεται στην άμεση επίδραση του απολυμαντικού στα εξωτερικά κυτταρικά συστατικά των βακτηρίων, προκαλώντας βλάβη σε κρίσιμα κυτταρικά συστατικά.

Έπειτα από περίπου 105 min έκθεσης, παρατηρείται μια σταθεροποίηση σε ένα χαμηλό επιπέδου του βακτηριακού πληθυσμού (10-100 CFUs/mL) στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις του απολυμαντικού (0.5mg/L). Αντίθετα στις υψηλότερες συγκεντρώσεις του Cl₂ (1mg/L και 5mg/L), παρατηρείται πλήρη απουσία αποικιών του βακτηρίου μετά από 105 min. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι οι υψηλότερες δόσεις του Cl₂ είναι επαρκείς για την πλήρη αδρανοποίηση του *A.baumannii* υπό τις συνθήκες του πειράματος.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης με προηγούμενες έρευνες σε άλλους βακτηριακούς δείκτες, παρατηρούμε ενδιαφέρουσες τάσεις ανθεκτικότητας. Συγκεκριμένα, υπό τις ίδιες συνθήκες επεξεργασίας με χλώριο (1mg/L για 60 min), το *A.baumannii* παρουσίασε υψηλότερη επιβίωση σε σχέση με τα *E.coli* και *K.pneumoniae*. Ωστόσο, το *S.aureus* αποδείχθηκε ακόμη πιο ανθεκτικό, καταδεικνύοντας μια τάξη μεγέθους υψηλότερη επιβίωση συγκριτικά με το *A.baumannii*. Αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν την υπόθεση ότι το *S.aureus* είναι ένα ιδιαίτερα ανθεκτικό βακτήριο στα απολυμαντικά, ενώ το *A.baumannii* εμφανίζει επίσης σημαντική αντοχή σε σχέση με άλλους κοινούς παθογόνους μικροοργανισμούς.²¹

4.2.1.2 Υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς

Η λίμνη της Αγιάς ένα επιφανειακό υδατικό σύστημα που δέχεται θρεπτικά φορτία από τον ποταμό Κερίτη υπεβλήθη σε πειραματική απολύμανση με υποχλωριώδες νάτριο σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.5mg/L και 1mg/L) για χρονικό διάστημα 180 min.



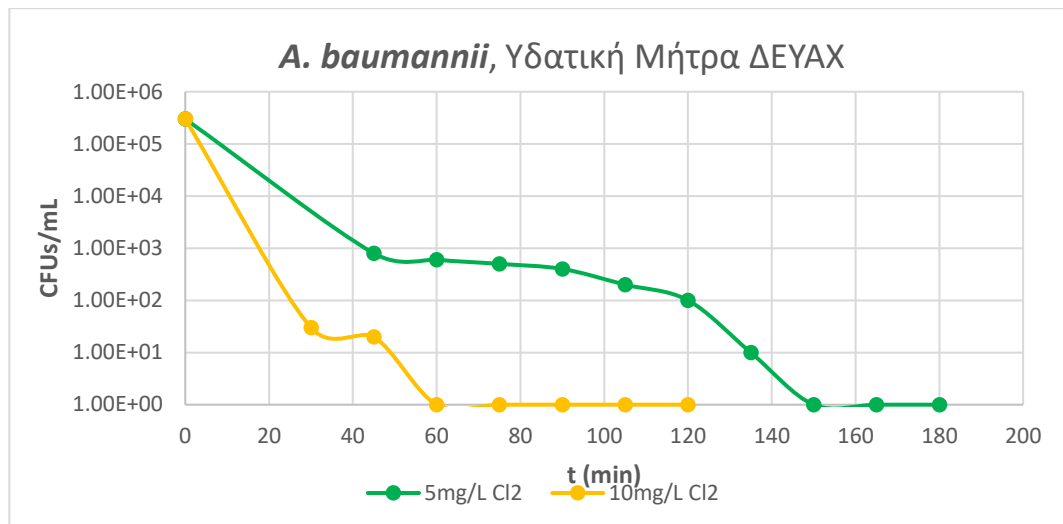
Διάγραμμα 4: Αδρανοποίηση του *A.baumannii* για την υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς με χλωρίωση

Τα πειραματικά δεδομένα κατέδειξαν ότι η υψηλότερη συγκέντρωση του Cl₂ (1mg/L) είχε ως αποτέλεσμα μια ταχύτερη και πιο έντονη βακτηριοκτόνο δράση σε σχέση με τη χαμηλότερη συγκέντρωση (0.5mg/L). Ειδικότερα, παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση των βακτηρίων αποικιών (CFUs/mL) κατά τα πρώτα 30 min έκθεσης στο απολυμαντικό, με την υψηλότερη συγκέντρωση να προκαλεί μείωση πολλών τάξεων μεγέθους. Αντίθετα, η χαμηλότερη συγκέντρωση, παρουσίασε πιο ήπια και σταδιακή μείωση βακτηρίων αποικιών.

Παρ' όλα αυτά, και στις δυο περιπτώσεις, παρατηρήθηκε πλήρης εξουδετέρωση του βακτηρίου μετά από συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Συγκεκριμένα, η υψηλότερη συγκέντρωση (1mg/L) οδήγησε σε πλήρη εξάλειψη των βακτηρίων αποικιών μετά από 105 min, ενώ η χαμηλότερη συγκέντρωση (0.5mg/L) απαιτούσε 135 min για επιτύχει το ίδιο αποτέλεσμα. Τα παραπάνω ευρήματα υποδηλώνουν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του Cl₂ κατά το διπλάσιο οδηγεί σε σημαντική επιτάχυνση της βακτηριοκτόνου δράσης μειώνοντας τον απαιτούμενο χρόνο για πλήρη εξουδετέρωση των βακτηρίων κατά 30 min.

4.2.1.3 Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ

Ως υδατικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε δείγμα λυμάτων δευτεροβάθμιας επεξεργασίας προερχόμενο από την ΔΕΥΑΧ. Το δείγμα υπεβλήθη σε πειραματική απολύμανση με υποχλωριώδες νάτριο σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις (5mg/L και 10mg/L) για χρονικό διάστημα 180 min.



Διάγραμμα 5: Αδρανοποίηση του *A.baumannii* για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ με χλωρίωση

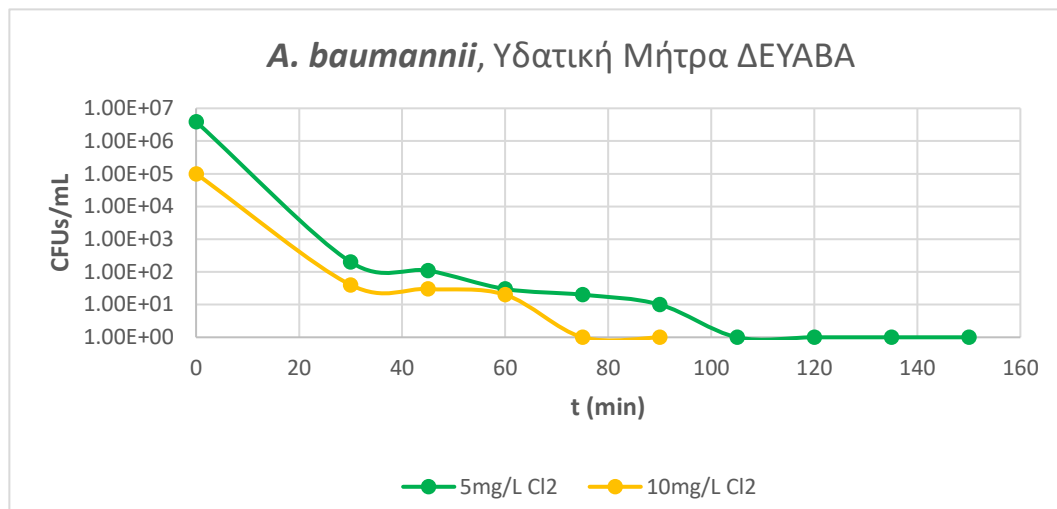
Από το διάγραμμα 5 παρατηρείται ότι και οι δυο συγκεντρώσεις προκαλούν μια αρχική απότομη μείωση των αποικιών του *A.baumannii* (CFUs/mL) κατά τα πρώτα 60 min. Ωστόσο παρατηρείται μια σημαντική διαφορά στην ταχύτητα με την οποία επιτυγχάνεται η μείωση των αποικιών. Η υψηλότερη συγκέντρωση (10mg/L) οδηγεί σε ταχύτερη μείωση βακτηρίων συγκριτικά με τη χαμηλότερη (5mg/L) κατά 110 min.

Κατά την χρονική περίοδο των 60 έως 120 min, παρατηρήθηκε σταθεροποίηση της καμπύλης του *A.baumannii* για την συγκέντρωση 5mg/L του απολυμαντικού, με μέσο αριθμό αποικιών να κυμαίνεται μεταξύ 102 - 103 CFUs/mL. Αντίθετα, η συγκέντρωση 10mg/L επέφερε ταχεία και ολοκληρωτική εξάλειψη του παθογόνου. Η σταθεροποίηση των αποικιών στην χαμηλότερη συγκέντρωση μπορεί να αποδοθεί στη φύση της υδατικής μήτρας, η οποία προέρχεται από τα λύματα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας της ΔΕΥΑΧ. Η παρουσία οργανικής ύλης στα στερεά σωματίδια των λυμάτων ευνοεί την δημιουργία βιοφίλμ. Το βιοφίλμ παρέχει ένα προστατευτικό μικροπεριβάλλον στα βακτήρια μειώνοντας την αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών. Συγκεκριμένα η χαμηλότερη συγκέντρωση (5mg/L) αποδείχθηκε ανεπαρκής για την ταχεία διείσδυση και αδρανοποίηση των βακτηρίων εντός του βιοφίλμ σε σύγκριση με την υψηλότερη συγκέντρωση (10mg/L).¹⁶

4.2.1.4 Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ

Τέλος χρησιμοποιήθηκε και υδατικό διάλυμα λυμάτων δευτεροβάθμιας επεξεργασίας προερχόμενο από την ΔΕΥΑΒΑ. Το δείγμα υπεβλήθη σε πειραματική

απολύμανση με υποχλωριώδες νάτριο σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις (5mg/L και 10mg/L) για χρονικό διάστημα 150 min.



Διάγραμμα 6: Αδρανοποίηση του *A.baumannii* για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ με χλωρίωση

Από το διάγραμμα 6 παρατηρήθηκε μια απότομη αρχική μείωση του αριθμού των βακτηρίων αποικιών και στις δυο δοσολογίες του Cl₂ κατά τα πρώτα 30 min της εφαρμογής του, υποδηλώνοντας μια γρήγορη και αποτελεσματική αρχική δράση του απολυμαντικού παράγοντα. Η παρόμοια τάση μείωσης στις δυο συγκεντρώσεις κατά τα πρώτα 60 min ενισχύει την παραπάνω παρατήρηση. Ωστόσο, διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά στον χρόνο πλήρους εξουδετέρωσης του βακτηρίου μεταξύ των δυο συγκεντρώσεων (5mg/L και 10mg/L) Cl₂. Ενώ στην υψηλότερη συγκέντρωση (10mg/L) επιτεύχθηκε πλήρης εξουδετέρωση σε 75 min, στην χαμηλότερη (5mg/L) πραγματοποιήθηκε στα 105 min.

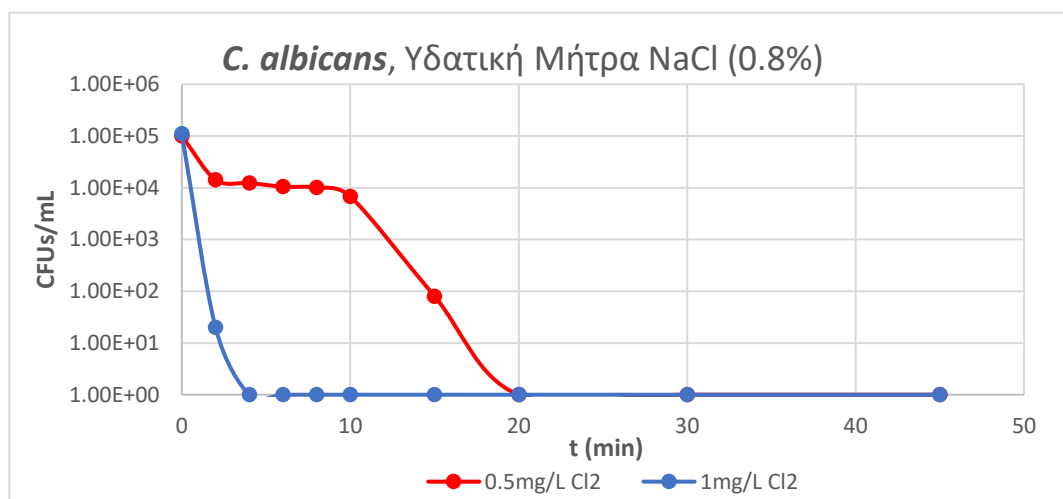
Συνεπώς, όπως στα προηγούμενα αποτελέσματα από το υδατικό διάλυμα της ΔΕΥΑΧ, η παρουσία στερεών στο λύμα φαίνεται να επηρεάζει την αποτελεσματικότητα του απολυμαντικού, οδηγώντας σε μια αρχική περίοδο σταθεροποίησης του αριθμού των βακτηρίων αποικιών. Αυτή η σταθεροποίηση πιθανότητα οφείλεται στην προστασία που παρέχουν τα στερεά σωματίδια στα βακτήρια, περιορίζοντας την άμεση επαφή τους με τον απολυμαντικό παράγοντα. Παρόλα αυτά, μετά από ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, παρατηρείται το απολυμαντικό να έχει πλήρη βακτηριοκτόνο δράση, υποδηλώνοντας ότι τελικά ο απολυμαντικός παράγοντας υπερσχύει και εξουδετερώνει πλήρως τους μικροοργανισμούς.

4.2.2 *Candida albicans*

Ο *Candida albicans*, ένας παθογόνος μύκητας, αποτελεί τον κυρίαρχο αιτιολογικό παράγοντα της μυκητίασης αιδοιοκολπίτιδας. Η αυξανόμενη ανθεκτικότητα του παθογόνου αυτού σε αντιμυκητιασικά φάρμακα αποτελεί σημαντικό κλινικό πρόβλημα. Σε πρόσφατη μελέτη, το 85% των απομονωμένων στελεχών *C.albicans* από ασθενείς εμφάνισε πολυανθεκτικότητα σε τρία ή περισσότερα αντιβιοτικά.²² Με στόχο την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του Cl_2 ως απολυμαντικού παράγοντα, διεξήχθησαν πειράματα σε τέσσερα διαφορετικά υδατικά διαλύματα: στα λύματα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ (σε συγκεντρώσεις Cl_2 5 και 10 mg/L) καθώς και στο NaCl (0.8% w/v) και στη λίμνη Αγιά (σε συγκεντρώσεις Cl_2 0.5 και 1 mg/L).

4.2.2.1 Υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v)

Χρησιμοποιήθηκε το ισοτονικό διάλυμα NaCl (0.8% w/v), παρέχοντας ένα ομοιογενές περιβάλλον καλλιέργειας για τον μύκητα. Για την αξιολόγηση της αντιμυκητιασικής δράσης του χλωρίου (Cl_2), διεξάχθηκαν δυο πειράματα σε διάφορες συγκεντρώσεις απολυμαντικού (0.5 και 1mg/L) για χρονικό διάστημα 45 min.



Διάγραμμα 7: Αδρανιοποίηση του *C.albicans* για την υδατική μήτρα NaCl (0.8% w/v) με χλωρίωση

Τα πειραματικά δεδομένα καταδεικνύουν μια απότομη μείωση στον αριθμό των κυττάρων του μύκητα ήδη από τις αρχικές χρονικές στιγμές έκθεσης σε συγκέντρωση 1mg/L του απολυμαντικού. Αυτό υποδηλώνει μια σχέση δόσης-απόκρισης, με την υψηλότερη συγκέντρωση να ασκεί ισχυρότερη

μυκητοκτόνο δράση. Αντίθετα, η συγκέντρωση των 0.5mg/L προκαλεί αρχικά μια σταδιακή μείωση, η οποία εντάθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου.

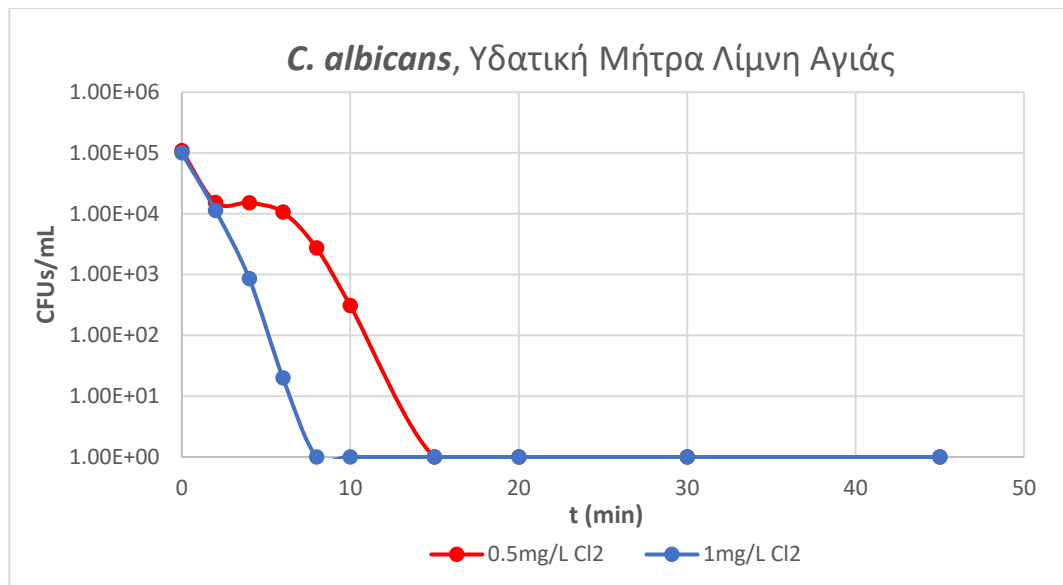
Συγκεκριμένα εντός των πρώτων 5 min της επίδρασης, η υψηλότερη συγκέντρωση του απολυμαντικού οδηγεί σε πλήρη εξουδετέρωση του μύκητα. Αντίθετα η χαμηλότερη συγκέντρωση προκαλεί σταδιακή μείωση του πληθυσμού τα πρώτα 10 min, ακολουθούμενη από μια απότομη μείωση μέχρι την πλήρη εξουδετέρωση του παθογόνου εντός των επόμενων 10 min.

Συνολικά τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν ότι η χλωρίωση αποτελεί αποτελεσματική μέθοδο για την καταπολέμηση του *Candida albicans*. Ακόμη και η χαμηλότερη συγκέντρωση που εξετάστηκε επέδειξε πλήρη μυκητοκτόνο δράση εντός σύντομου χρονικού διαστήματος.

Επιπλέον, σε προηγούμενη μελέτη που διεξήχθη το 2004 στο «*University Dental Hospital of Manchester*», αναφέρθηκε ότι η έκθεση σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου σε συγκέντρωση μόλις 0.5% επέφερε μείωση πληθυσμού του *Candida albicans* κάτω από το όριο ανίχνευσης εντός 10 δευτερολέπτων. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ωστόσο, δείχνουν σημαντικά διαφορετική αποτελεσματικότητα του Cl₂ έναντι του μύκητα. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε πλήρης εξόντωση του μικροοργανισμού σε συγκέντρωση 0.5mg/L εντός των πρώτων 4 min. Αυτή η διαφορά στα αποτελέσματα μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως η πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *C.albicans* στα απολυμαντικά κατά τη διάρκεια των τελευταίων δυο δεκαετιών, οι διαφορετικές πειραματικές συνθήκες (π.χ. θερμοκρασία, pH, θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια του μύκητα) ή η χρήση διαφορετικών στελεχών του μικροοργανισμού στις δυο μελετες.²³

4.2.2.2 Υδατική μήτρα Λίμνη Αγίας

Ως υδατικό διάλυμα επιλέχθηκε η λίμνη Αγίας, ένα επιφανειακό υδάτινο σώμα με μεταβαλλόμενη θρεπτική σύσταση ανάλογα με την εποχικότητα. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας δυο συγκεντρώσεις Cl₂ (0.5 και 1 mg/L).



Διάγραμμα 8: Αδρανοποίηση του *C.albicans* για την υδατική μήτρα Λίμνη Αγιάς με χλωρίωση

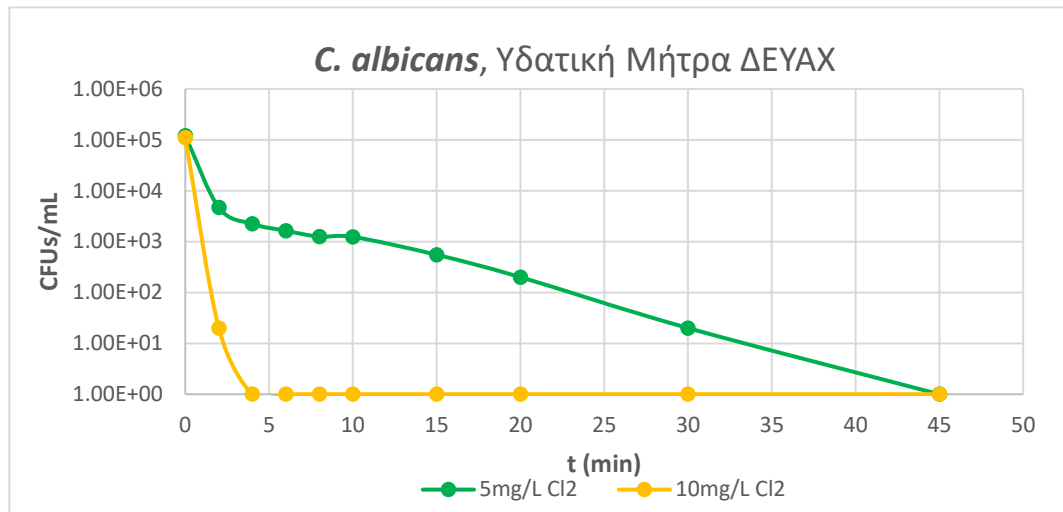
Η κινητική της μικροβιοκτόνου δράσης του χλωρίου (Cl_2) έναντι του *C.albicans* σε υδατικό διάλυμα λίμνη Αγιάς παρουσιάζει ενδιαφέρουσες διαφοροποιήσεις ανάλογα με τη συγκέντρωση του απολυμαντικού. Συγκεκριμένα, στη συγκέντρωση των 0.5mg/L παρατηρείται αρχικά μια φάση εκθετικής μείωσης του πληθυσμού του μύκητα, γεγονός που αποδίδεται στην άμεση και αποτελεσματική καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων. Ωστόσο, ακολουθεί μια φάση σταθεροποίησης, κατά την οποία η ταχύτητα απενεργοποίησης μειώνεται σημαντικά, πιθανότατα λόγω της παρουσίας οργανικής ύλης στο νερό που δρα ως προστατευτικό στρώμα για τα παθογόνα, της ανάπτυξης αντοχής σε ένα μικρό υποπληθυσμό κυττάρων ή της εξάντλησης του διαθέσιμου χλωρίου.

Αντίθετα στη συγκέντρωση 1mg/L η κινητική της απενεργοποίησης είναι ταχύτερη και πιο ομοιόμορφη, με πλήρη εξουδετέρωση του παθογόνου να επιτυγχάνεται στα 8 min δράσης του απολυμαντικού. Η υψηλότερη συγκέντρωση (1mg/L) φαίνεται να υπερνικά τους παράγοντες που επιβραδύνουν την απολύμανση στη χαμηλότερη συγκέντρωση (0.5mg/L), οδηγώντας σε πιο αποτελεσματική και ταχεία μικροβιοκτόνο δράση.

4.2.2.3 Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ

Στο επόμενο στάδιο της πειραματικής διαδικασίας, ως υδατικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα λύματος το οποίο προέκυψε από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία των αστικών λυμάτων της ΔΕΥΑΧ. Για την αξιολόγηση

της απολυμαντικής δράσης του Cl_2 , διεξήχθησαν πειράματα σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις, 5mg/L και 10mg/L.



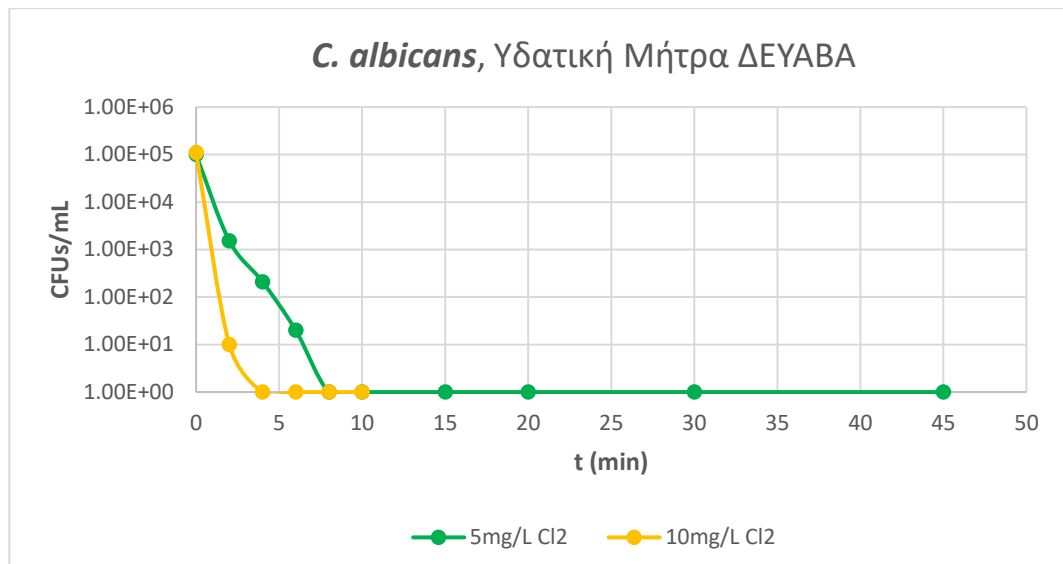
Διάγραμμα 9: Αδρανοποίηση του *C. albicans* για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΧ με χλωρίωση

Η έκθεση του *Candida albicans* σε συγκέντρωση χλωρίου (Cl_2) 5mg/L προκαλεί αρχικά μια φάση ταχείας μείωσης του πληθυσμού, γεγονός που αποδίδεται στην άμεση τοξική δράση του απολυμαντικού στις κυτταρικές μεμβράνες και τα ενδοκυττάρια του μύκητα. Καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου παρατηρείται σταδιακή μείωση του πληθυσμού, υποδεικνύοντας μια πιθανή ανάπτυξη μηχανισμών αντίστασης, όπως ο σχηματισμός βιοφίλμ. Ωστόσο η πλήρης εξάλειψη του μύκητα επιτυγχάνεται εντός 45 min, επιβεβαιώνοντας την αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης συγκέντρωσης Cl_2 στην απολύμανση.

Η αύξηση της συγκέντρωσης του Cl_2 στα 10mg/L οδηγεί σε μια σημαντικά ταχύτερη απενεργοποίηση του *C. albicans*. Η πλήρης εξάλειψη του μύκητα επιτυγχάνεται εντός 4 min, υποδεικνύοντας μια ισχυρή δόσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του απολυμαντικού και της ταχύτητας απενεργοποίησης. Ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης του Cl_2 οδηγεί σε σημαντική μείωση του χρόνου επαφής που απαιτείται για την πλήρη απολύμανση.

4.2.2.4 Υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ

Διεξήχθη πείραμα απολύμανσης χρησιμοποιώντας χλώριο (Cl_2) σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις (5 και 10 mg/L) σε δείγμα λύματος προερχόμενο από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία της ΔΕΥΑΒΑ, με στόχο την εξακρίβωση της αποτελεσματικότητας έναντι του *C. albicans*.



Διάγραμμα 10: Αδρανοποίηση του *C. albicans* για την υδατική μήτρα ΔΕΥΑΒΑ με χλωρίωση

Από την ανάλυση του διαγράμματος διαπιστώνεται ότι οι συγκεντρώσεις του χλωρίου (Cl_2), 5mg/L και 10mg/L, επιδεικνύουν αποτελεσματικότητα στην απολύμανση του *C. albicans*, όπως αποδεικνύεται από την μείωση του αριθμού των CFUs/mL. Ωστόσο, η συγκέντρωση των 10mg/L παρουσιάζει σαφώς ανώτερη απόδοση, επιτυγχάνοντας ταχύτερη και πιο δραστική μείωση του μυκητιακού φορτίου. Συγκεκριμένα, η υψηλότερη συγκέντρωση (10mg/L) οδηγεί σε κατακόρυφη πτώση του πληθυσμού του *C. albicans* σε εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα σχεδόν αμέσως μετά την αρχική επαφή με το απολυμαντικό μέσο. Αντίθετα, η συγκέντρωση 5mg/L, αν και αποτελεσματική, απαιτεί σημαντικά μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για να επιφέρει αντίστοιχη μείωση των μυκητιακών αποικιών. Αυτή η διαφορά στην ταχύτητα δράσης υποδηλώνει μια άμεση συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του Cl_2 και της μυκητοκτόνου δράσης του.

Περαιτέρω ανάλυση του διαγράμματος αποκαλύπτει μια σημαντική διαφορά στον χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη πλήρους μυκητοκτόνου δράσης μεταξύ των δυο συγκεντρώσεων. Εντός των πρώτων 4 min, η υψηλότερη συγκέντρωση (10mg/L) έχει ήδη επιτύχει πλήρη καταστροφή του μικροοργανισμού. Αντίστοιχα η χαμηλότερη συγκέντρωση (5mg/L) χρειάζεται περίπου 10 min για να επιτύχει παρόμοιο αποτέλεσμα. Αυτό το εύρημα υπογραμμίζει μια αξιοσημείωτη σχέση: ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης του απολυμαντικού (από 5mg/L σε 10mg/L) συνεπάγεται πρακτικά τον μισό χρόνο επαφής για την επίτευξη πλήρους μυκητοκτόνου δράσης του Cl_2 .

4.2.3 Σύγκριση Υδατικών Μήτρων

Η υδατική μήτρα ήταν το περιβάλλον που αναπτυσσόταν οι μικροοργανισμοί κατά την διάρκεια της απολύμανσης με χλωρίωση. Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικές υδατικές μήτρες. Το NaCl (0.8% w/v) που είναι ένα διάλυμα άλατος που χρησιμοποιείται ευρέως σε βιολογικά πειράματα, η λίμνη Αγιάς ένα επιφανειακό νερό που η σύνθεση της αλλάζει με βάση την εποχή δειγματοληψίας και λύμα μετά από δευτεροβάθμια επεξεργασία από τη ΔΕΥΑΧ και τη ΔΕΥΑΒΑ που πρόκειται για δημοτικές επιχειρήσεις ύδρευσης και αποχέτευσης των Χανίων και του βόρειου άξονα Χανίων αντίστοιχα.

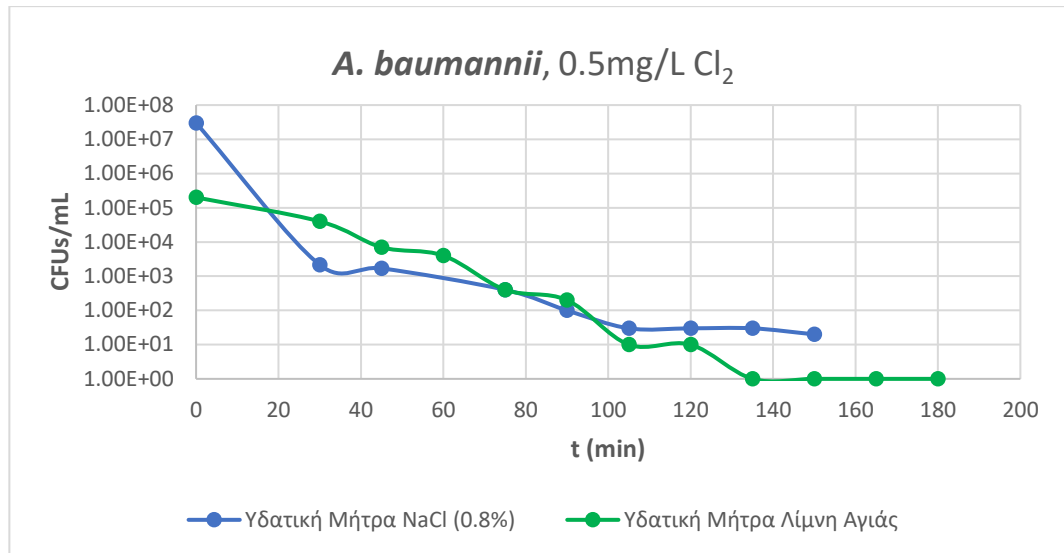
Πίνακας 3: Χημικοί παράγοντες ανά υδατική μήτρα

Υδατική Μήτρα	pH	Αγωγιμότητα (μS/cm)	Θολερότητα (NTU)	TP (μg/L)	Νιτρικά (mg/L)
NaCl 0.8%	6.5	0.1	0	0	0
Λίμνη Αγιά	8.1	396	3.5	305	2.7
ΔΕΥΑΧ	7.9	1150	1.5	1700	9.9
ΔΕΥΑΒΑ	-	-	-	3480	14

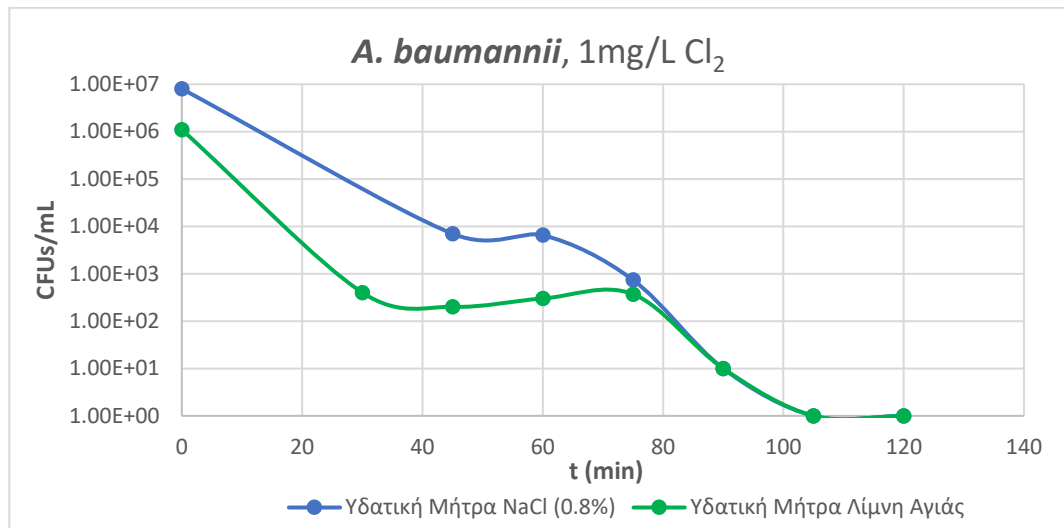
4.2.3.1 Σύγκριση NaCl (0.8% w/v) και λίμνη Αγιάς

Το NaCl (0.8% w/v) έχει σταθερή και γνωστή σύνθεση, καθιστώντας το ένα ελεγχόμενο περιβάλλον και ιδανικό για τα πειράματα.

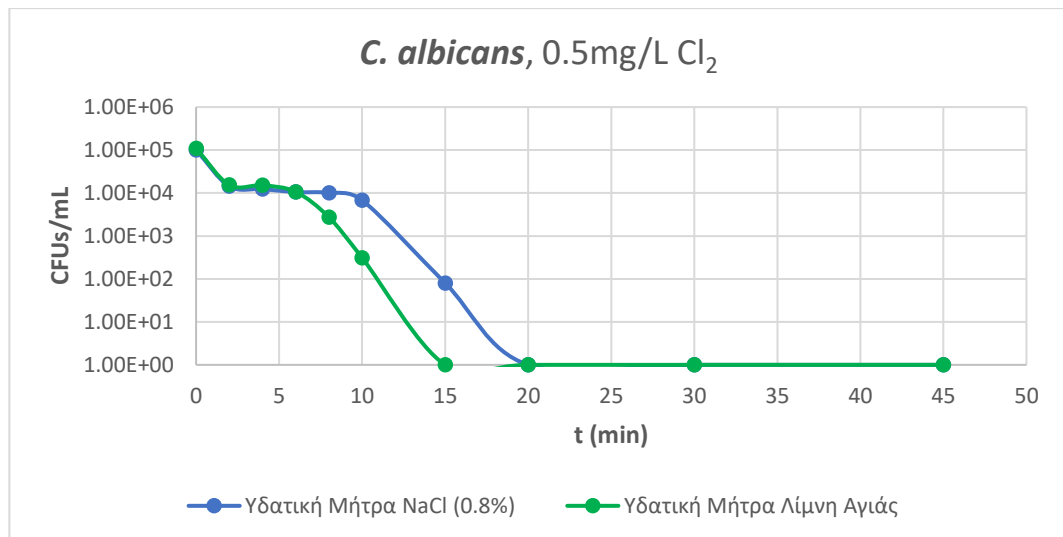
Η λίμνη Αγιάς είναι επιφανειακό νερό με μια μεταβλητή σύνθεση και επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως θερμοκρασία, η βροχόπτωση και οι ανθρωπίνοι παράγοντες.



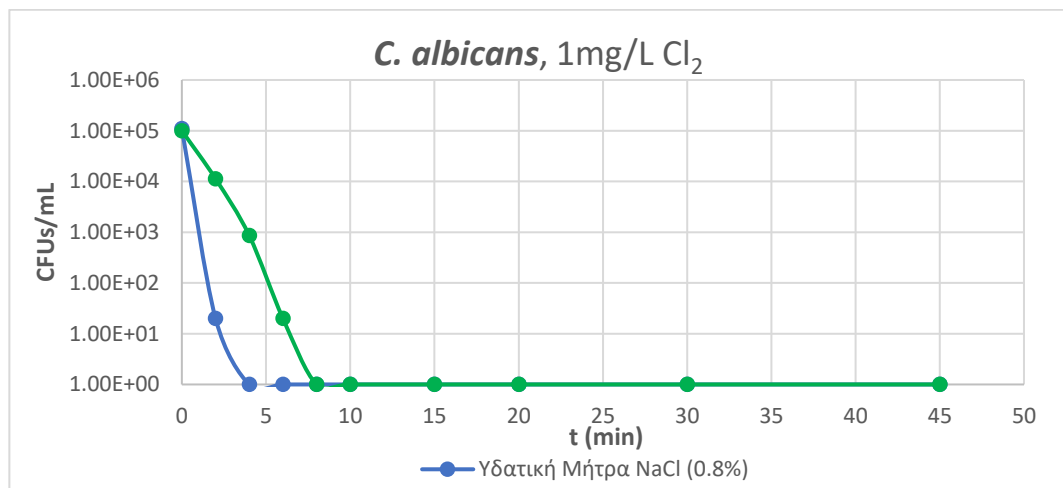
Διάγραμμα 11: Συγκριτικό διάγραμμα, για 0.5mg/L NaOCl στο *A.baumannii* για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)



Διάγραμμα 12: Συγκριτικό διάγραμμα, για 1mg/L NaOCl στο *A.baumannii* για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)



Διάγραμμα 13: Συγκριτικό διάγραμμα, για 0.5mg/L NaOCl στο *C.albicans* για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)



Διάγραμμα 14: Συγκριτικό διάγραμμα, για 1mg/L NaOCl στο *C.albicans* για τις υδατικές μήτρες Λίμνη Αγιάς και NaCl (0.8% w/v)

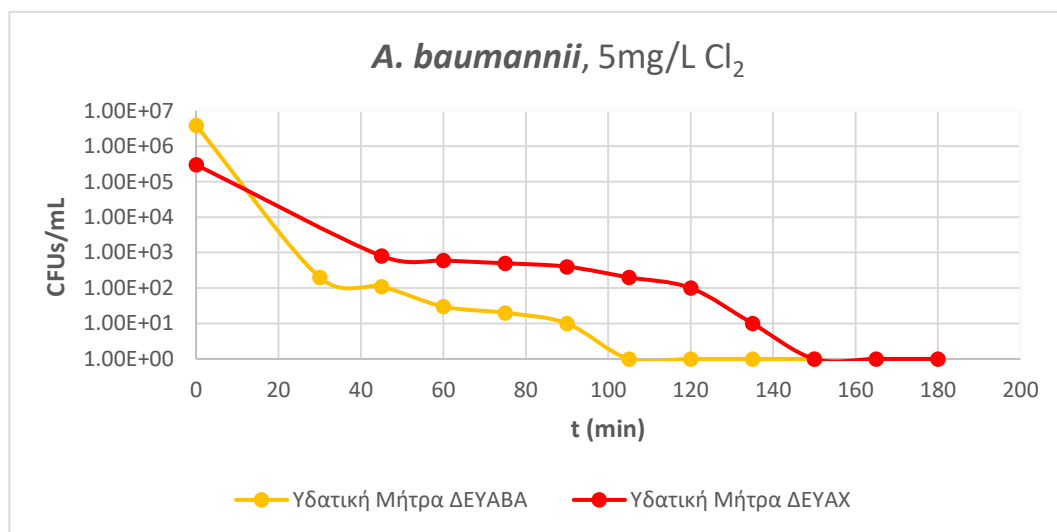
Οι συγκριτικές δοκιμές υδατικών διαλυμάτων NaCl (0.8% w/v) και Λ.Αγιάς με διαφορετικές δόσεις απολυμαντικού μέσου Cl_2 έδειξαν παρόμοια προφίλ αποκρίσεων. Συγκεκριμένα, το διάλυμα NaCl (0.8% w/v) παρουσίασε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην εξουδετέρωση των μικροοργανισμών στη δοσολογία 1mg/L Cl_2 σε σύγκριση με την δοσολογία 0.5mg/L. Ωστόσο, στις χαμηλότερες δόσεις απολυμαντικού, η λίμνη Αγιάς αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ ιόντων του NaCl και του Cl_2 , οι οποίες ενδέχεται να επηρεάζουν την απολυμαντική δράση του τελευταίου. Αντίθετα, η Λ.Αγιάς φαίνεται να παρουσιάζει πιο σταθερή αποτελεσματικότητα, ανεξαρτήτως της δοσολογίας του απολυμαντικού, επιτυγχάνοντας πλήρη εξάλειψη των μικροοργανισμών σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα.

4.2.3.2 Σύγκριση ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ

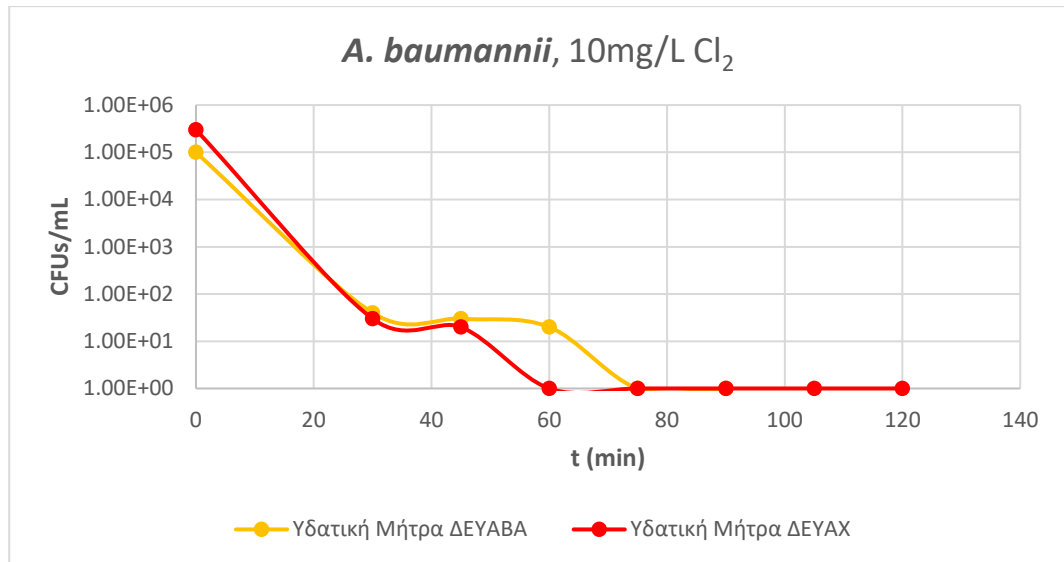
Ως αντικείμενο του παρόντος πειράματος χρησιμοποιήθηκαν λύματα προερχόμενα από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία δυο δημοτικών επιχειρήσεων ύδρευσης και αποχέτευσης στα Χανιά: της ΔΕΥΑΧ και της ΔΕΥΑΒΑ.

Η ΔΕΥΑΧ, η μεγαλύτερη από τις δυο εγκαταστάσεις, εξυπηρετεί τον Δήμο Χανίων και διαθέτει σχεδιαστική δυναμικότητα βιολογικού ισοδύναμου πληθυσμού 170.000 κατοίκων. Η μέση ημερήσια εισερχόμενη παροχή λυμάτων υπερβαίνει τα 23.600 m³/day.^{24,25}

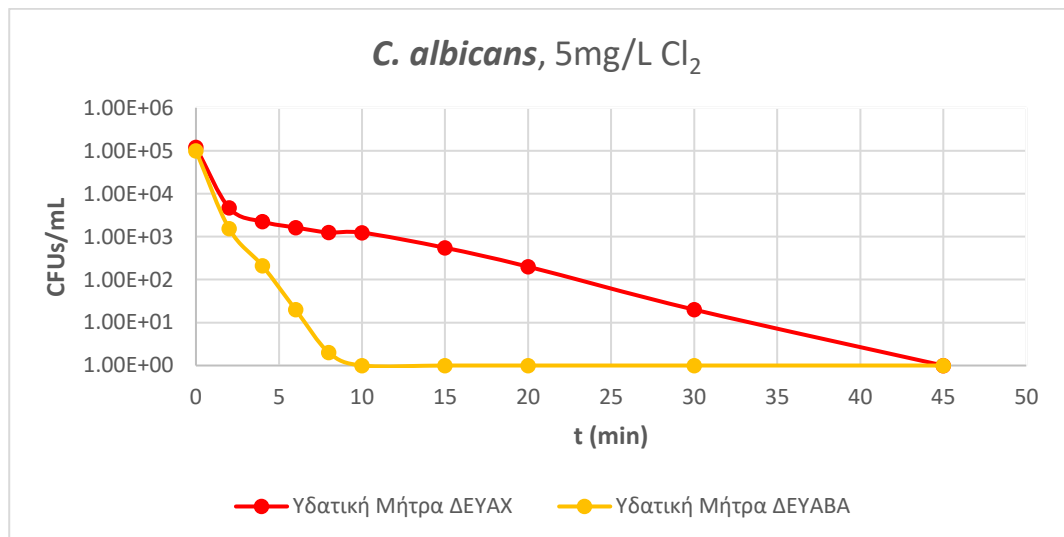
Η ΔΕΥΑΒΑ, που εξυπηρετεί τον βόρειο άξονα των Χανίων, διαθέτει δυναμικότητα βιολογικού ισοδύναμου πληθυσμού 60.000 κατοίκων. Λόγω του εντόνου τουριστικού χαρακτήρα της περιοχής, η ημερήσια παροχή εισερχόμενων λυμάτων παρουσιάζει σημαντικές εποχιακές διακυμάνσεις, κυμαινόμενη μεταξύ 4.000-5000 m³/day κατά την χειμερινή περίοδο και 10.000-12.000 m³/day κατά τη θερινή.^{26,27}



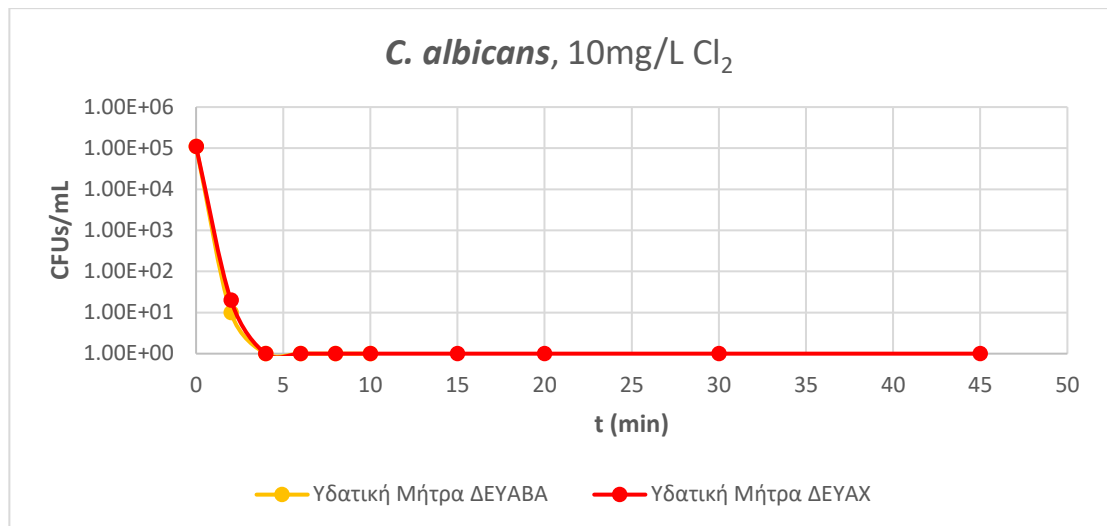
Διάγραμμα 15: Συγκριτικό διάγραμμα, για 5mg/L NaOCl στο *A.baumannii* για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ



Διάγραμμα 16: Συγκριτικό διάγραμμα, για 10mg/L NaOCl στο *A.baumannii* για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ



Διάγραμμα 17: Συγκριτικό διάγραμμα, για 5mg/L NaOCl στο *C.albicans* για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ



Διάγραμμα 18: Συγκριτικό διάγραμμα, για 10mg/L NaOCl στο *C. albicans* για τις υδατικές μήτρες ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων φάνηκε πως η ΔΕΥΑΒΑ ως υδατικό υπόστρωμα αδρανοποιεί πιο γρήγορα τους μικροοργανισμούς στην απολύμανση με χλώριο σε σύγκριση με τη ΔΕΥΑΧ. Η αυξανόμενη αποτελεσματικότητα της ΔΕΥΑΒΑ μπορεί να αποδοθεί σε μικρότερο μέγεθος της εγκατάστασης και συνεπώς στη χαμηλότερη συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών. Η μειωμένη παρουσία στερεών υλών εντός του συστήματος ενδέχεται να διευκολύνει την άμεση επαφή του απολυμαντικού με τους παθογόνους μικροοργανισμούς, βελτιώνοντας έτσι την απολυμαντική του δράση.

Όταν η συγκέντρωση του Cl_2 αυξήθηκε στα 10mg/L, παρατηρήθηκε παρόμοια αποτελεσματικότητα και στα δυο δείγματα, τόσο στο *A. baumannii* όσο και για το *C. albicans*. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια ελαφρώς ταχύτερη αδρανοποίηση του βακτηρίου στο δείγμα της ΔΕΥΑΧ. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι σε υψηλές συγκεντρώσεις απολυμαντικού, η άμεση τοξική δράση του Cl_2 κυριαρχεί έναντι άλλων παραγόντων, όπως η παρουσία στερεών ή η ανάπτυξη μηχανισμών αντίστασης από τους μικροοργανισμούς.

4.2.4 Υπολογισμός γινομένου $C \cdot t$

Η παραμετροποίηση $C \cdot t$ αποτελεί ευρέως αποδεκτό δείκτη της αποτελεσματικότητας ενός απολυμαντικού μέσου. Συγκεκριμένα, το γινόμενο της συγκέντρωσης του απολυμαντικού σε mg/L (C) και του χρόνου που απαιτείται για την επίτευξη 99% αδρανοποίησης του μικροβιακού πληθυσμού (t) παρέχει μια ποσοτική εκτίμηση της μικροβιοκτόνου δράσης. Χαμηλότερες τιμές $C \cdot t$ υποδηλώνουν αυξημένη αποτελεσματικότητα, καθώς υποδεικνύουν ότι απαιτείται

μικρότερη ποσότητα απολυμαντικού ή μικρότερος χρόνος έκθεσης για την εξουδετέρωση του παθογόνου. Η σχέση αυτή επιτρέπει την αντικειμενική σύγκριση διάφορων απολυμαντικών μέσων και την αξιολόγηση της δράσης τους έναντι ενός ευρέως φάσματος μικροοργανισμών.

A. baumannii:

Πίνακας 4: Υπολογισμός της μείωσης του πληθυσμού του *A. baumannii* από την χλωρίωση και του C^*t

Δόση Cl_2 (mg/L)	Υδατική Μήτρα	Χρόνος t για μείωση 99% πληθυσμού (min)	Θνησιμότητα (%)	C^*t
0.5	NaCl (0.8% w/v)	30	99.9	15
	Λίμνη Αγιάς	75	100	37.5
1	NaCl (0.8% w/v)	45	100	45
	Λίμνη Αγιάς	30	100	30
5	NaCl (0.8% w/v)	30	100	150
	ΔΕΥΑΧ	45	100	225
	ΔΕΥΑΒΑ	30	100	150
10	ΔΕΥΑΧ	30	100	300
	ΔΕΥΑΒΑ	30	100	300

C. albicans:Πίνακας 5: Υπολογισμός της μείωσης του πληθυσμού του *C.albicans* από την χλωρίωση και του C*t

Δόση Cl ₂ (mg/L)	Υδατική Μήτρα	Χρόνος t για μείωση 99% πληθυσμού (min)	Θνησιμότητα (%)	C*t
0.5	NaCl (0.8% w/v)	15	100	7.5
	Λίμνη Αγιάς	10	100	5
1	NaCl (0.8% w/v)	2	100	2
	Λίμνη Αγιάς	4	100	4
5	ΔΕΥΑΧ	15	100	75
	ΔΕΥΑΒΑ	4	100	20
10	ΔΕΥΑΧ	2	100	20
	ΔΕΥΑΒΑ	2	100	20

Η ανάλυση των τιμών Ct αποκαλύπτει σημαντικές διαφορές στην ευαισθησία των *Candida albicans* και *Acinetobacter baumannii* στα απολυμαντικά. Ειδικότερα, το *C.albicans* παρουσιάζει σημαντικά χαμηλότερες τιμές Ct (2-75) σε σύγκριση με το *A.baumannii* (15-300), υποδηλώνοντας υψηλότερη ευαισθησία του μύκητα στην απολύμανση.

Ως προς το *A.baumannii* το οποίο κατατάσσεται στην ομάδα των ESCAPE, παρατηρείται ότι τα λύματα (ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ) επηρεάζουν αρνητικά την αποτελεσματικότητα του χλωρίου, αυξάνοντας σημαντικά τις τιμές Ct κατά μια τάξη μεγέθους. Η συνδυαστική χρήση NaCl (0.8% w/v) και 0.5mg/L Cl₂ αποδεικνύεται η πιο αποτελεσματική απολύμανση στα λύματα, με τιμή Ct ίση με 15, αν και δεν επιτυγχάνεται πλήρης εξάλειψη του παθογόνου. Η λίμνη Αγιά σε συνδυασμό με 1mg/L Cl₂ αποτελεί την επόμενη καλύτερη επιλογή, εξασφαλίζοντας 100% εξουδετέρωση του βακτηρίου.

Παρόμοια τάση παρατηρείται και για το *C.albicans*, όπου τα λύματα παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές Ct σε σχέση με τις άλλες υδατικές μήτρες.

Ωστόσο, οι τιμές αυτές παραμένουν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με το *A.baumannii*, με ελάχιστη τιμή Ct ίση με 2 για την συνδυαστική χρήση NaCl (0.8% w/v) και 1mg/L Cl₂.

4.3 Αποτελέσματα ακτινοβολίας UVC

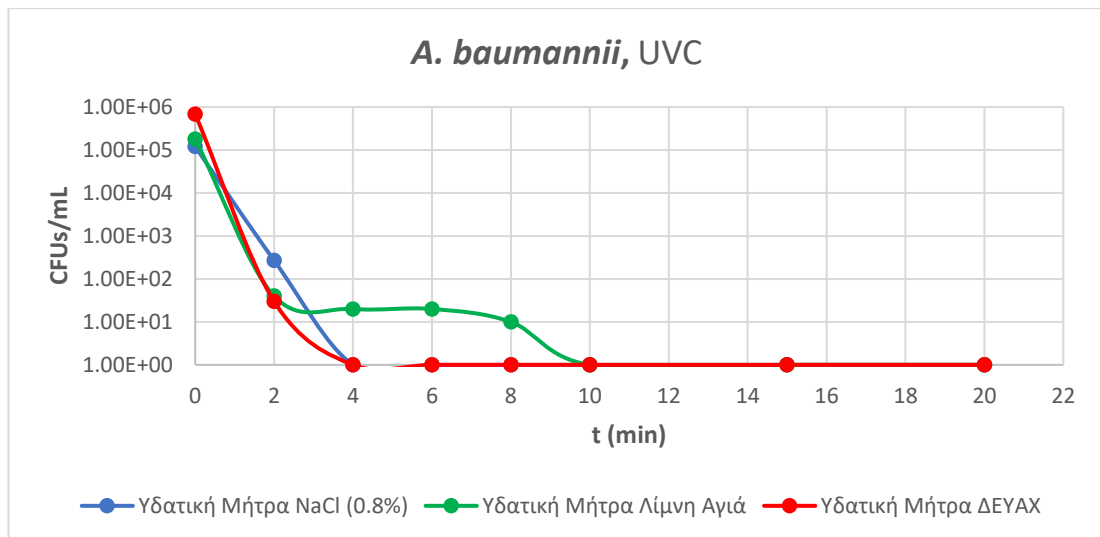
Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων, εξετάστηκε η απολυμαντική δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας UVC σε διαφορετικές υδατικές μήτρες για τους δυο μικροοργανισμούς (*A. baumannii* και *C. albicans*). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν τρεις τύποι υδατικών διαλυμάτων: νερό NaCl (0.8% w/v), νερό από τη λίμνη Αγίας και λύμα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας από την ΔΕΥΑΧ. Η αρχική συγκέντρωση των μικροοργανισμών σε όλα τα δείγματα κυμάνθηκε μεταξύ 10^5 και 10^6 CFUs/mL. Κατά την διάρκεια των πειραμάτων, όλοι οι παράμετροι παράμειναν σταθεροί (π.χ., ισχύς ακτινοβολίας, θερμοκρασία). Η έκθεση των δειγμάτων στην ακτινοβολία UVC διήρκεσε 20 min.

Η υπεριώδης ακτινοβολία UVC αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο απολύμανσης, καθώς η ακτινοβολία σε μήκος κύματος περίπου 260nm καταστρέφει το γενετικό υλικό των μικροοργανισμών και των ιών, αδρανοποιώντας τους. Οι πιο συνηθισμένες πηγές ακτινοβολίας UVC είναι οι λαμπτήρες ατμών υδράργυρου, οι οποίοι εκπέμπουν ακτινοβολία με μήκος κύματος κοντά στα 254nm. Ωστόσο η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η θολερότητα του υδατικού διαλύματος, καθώς η παρουσία αιωρούμενων σωματιδίων και οργανικής ύλης μπορεί να απορροφήσει ή να διασκορπίσει την ακτινοβολία, μειώνοντας την αποτελεσματικότητά της.

4.3.1 *Acinetobacter baumannii*

Το *Acinetobacter baumannii* έχει αναδειχθεί ως ένα από τα πλέον απειλητικά παθογόνα, λόγω της εκτεταμένης ανθεκτικότητας του στα αντιβιοτικά.²⁸ Η αυξανόμενη και πολυεπίπεδη αντίσταση του συγκεκριμένου Gram αρνητικού βακτηρίου αποτελεί σημαντική πρόκληση για την κλινική μικροβιολογία. Η ταξινόμηση του ως πολυανθεκτικό (MDR) και πανανθεκτικός (PDR) οργανισμός τον κατατάσσει σε μια κατηγορία υψηλού κινδύνου, σε αντίθεση με αλλά Gram αρνητικά βακτήρια, όπως το *Escherichia coli*, τα οποία παρουσιάζουν περιορισμένη ανθεκτικότητα.²⁹

Προκειμένου να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα της υπεριώδους ακτινοβολίας UVC στην αδρανοποίηση του *Acinetobacter baumannii*, πραγματοποιήθηκε πειραματική μελέτη. Εφαρμόστηκε ακτινοβολία UVC μέσω λαμπτήρα ισχύος 15W, με κύρια εκπομπή σε μήκος κύματος 254nm. Για την αξιολόγηση της μακροπρόθεσμης επίδρασης της ακτινοβολίας, τα δείγματα φυλάχθηκαν σε σκοτεινό περιβάλλον για 24 h, προκειμένου να καταγραφεί ενδεχόμενη ανάκαμψη του μικροοργανισμού.

Διάγραμμα 19: Αδρανοποίηση του *A. baumannii* με UVC σε διαφορετικές υδατικές μήτρεςΠίνακας 6: Επαναδραστηριοποίηση του *A. baumannii* έπειτα από 24h

Υδατική Μήτρα	Μετά από 24h (CFUs/mL)
NaCl (0.8% w/v)	0
Λίμνη Αγιάς	3
ΔΕΥΑΧ	1

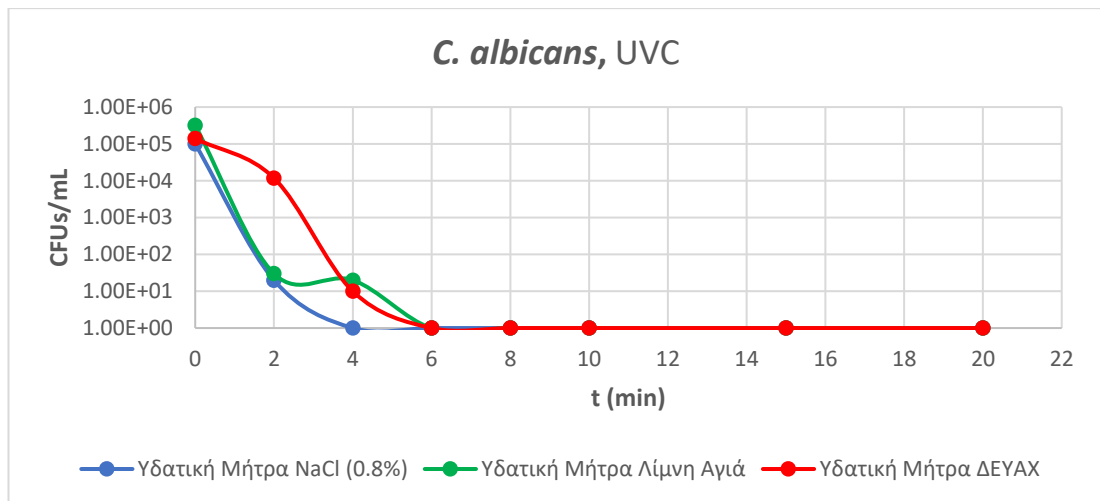
Τα αποτελέσματα του διαγράμματος αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της ακτινοβολίας UVC στην αδρανοποίηση του *A. baumannii* τόσο στο υδατικό διάλυμα NaCl (0.8% w/v) όσο και σε λύματα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας από την ΔΕΥΑΧ εντός των πρώτων 4 min έκθεσης. Αντιθέτως, η αδρανοποίηση του βακτηρίου στην υδατική μήτρα Λ. Αγιάς παρουσίασε μια αρχική σταθεροποίηση των αποικιών, επιτυγχάνοντας ύστερα πλήρη αδρανοποίηση εντός των πρώτων 10 min. Η διαφορετική αυτή συμπεριφορά μπορεί να αποδοθεί στη θολερότητα του νερού της λίμνης, η οποία πιθανότατα οφείλεται σε αυξημένη περιεκτικότητα σε οργανική ύλη. Η παρουσία οργανικής ύλης ενδέχεται να απορροφά μέρος της ακτινοβολίας UVC, μειώνοντας την αποτελεσματικότητά της. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι Τα λύματα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, τα οποία έχουν υποστεί βιολογική επεξεργασία με στόχο τη μείωση της οργανικής ύλης, παρουσιάζουν ταχύτερη αδρανοποίηση του μικροοργανισμού. Επιπλέον, η πλούσια χλωρίδα και πανίδα της λίμνης μπορεί να συμβάλλει στην αύξηση της οργανικής ύλης και, κατά συνέπεια, στην αύξηση της θολερότητας του νερού.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 6 υποδεικνύουν ότι η παρουσία οργανικής ύλης σε ένα υδατικό περιβάλλον επηρεάζει σημαντικά την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης με υπεριώδη ακτινοβολία. Ενώ η ακτινοβολία UVC προκαλεί βλάβες στο DNA των βακτηρίων, οδηγώντας στην αδρανοποίηση τους, η παρουσία οργανικής ύλης, όπως παρατηρήθηκε στα δείγματα νερού από την λίμνη Αγιά και λύματα από την ΔΕΥΑΧ, φαίνεται να ευνοεί την επιβίωση και την ανάκαμψη των μικροοργανισμών. Αντίθετα, στο NaCl (0.8% w/v), η απουσία οργανικής ύλης επέτρεψε την πλήρη αδρανοποίηση του βακτηρίου μετά την έκθεση στην ακτινοβολία UVC. Αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την παραπάνω υπόθεση ότι η οργανική ύλη μπορεί να προσφέρει προστασία στα βακτήρια από τις βλαβερές επιδράσεις της ακτινοβολίας, επιτρέποντας τους να διορθώσουν τις βλάβες στο DNA και να αναπτυχθούν εκ νέου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και σε σύγκριση με προηγούμενα ευρήματα για το *E. coli*, το *A. baumannii* παρουσιάζει αυξημένη ανθεκτικότητα στην ακτινοβολία UVC. Ειδικότερα, η ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η παρουσία οργανικής ύλης σε φυσικά υδατικά σύστημα, όπως η λίμνη Αγιάς επιμηκύνει σημαντικά τον χρόνο αδρανοποίησης και των δυο ειδών. Παρόλα αυτά, το *A. baumannii* απαιτεί σημαντικά μεγαλύτερο χρονικό διάστημα έκθεσης στην ακτινοβολία UVC για την πλήρη αδρανοποίηση του, σε σύγκριση με το *E. coli*. Χαρακτηριστικά, ενώ για το *E. coli* απαιτούνται περίπου 20-30 s, για το *A. baumannii* απαιτούνται 4-10 min υπό τις ίδιες συνθήκες.³⁰

4.3.2 *Candida albicans*

Ο μύκητας *C. albicans* γνωστός για την ανθεκτικότητά του σε αντιβιοτικά, υποβλήθηκε σε δοκιμές απολύμανσης με στόχο την αξιολόγηση της ευαισθησίας του σε διαφορετικές μεθόδους. Αρχικά, η χλωρίωση αποδείχθηκε αποτελεσματική στην εξάλειψη των αποικιών του παθογόνου σε λιγότερο από 30 min. Ωστόσο, για την αποφυγή παραπροϊόντων που σχετίζονται με τη χλωρίωση διεξάχθηκαν περαιτέρω πειράματα με ακτινοβολία UVC. Συγκεκριμένα, τρία διαφορετικά υδατικά διαλύματα (NaCl 0.8% w/v, Λ. Αγιάς και ΔΕΥΑΧ) μολυνθήκαν με τον μύκητα και εκτέθηκαν σε ακτινοβολία UVC για 20 min.

Διάγραμμα 20: Αδρανοποίηση του *C. albicans* με UVC σε διαφορετικές υδατικές μήτρεςΠίνακας 7: Επαναδραστηριοποίηση του *C. albicans* έπειτα από 24h

Υδατική Μήτρα	Μετά από 24h (CFUs/mL)
NaCl (0.8% w/v)	1
Λίμνη Αγιάς	0
ΔΕΥΑΧ	0

Το διάγραμμα 20 απεικονίζει την αποτελεσματικότητα της ακτινοβολίας UVC στην αδρανοποίηση του μύκητα σε διάφορα υδατικά διαλύματα. Παρατηρείται πλήρης αδρανοποίηση όλων των δειγμάτων εντός 6 min έκθεσης, υποδηλώνοντας υψηλή ευαισθησία του παθογόνου στην υπεριώδη ακτινοβολία UVC. Συγκεκριμένα, η υδατική μήτρα NaCl φαίνεται να επιταχύνει την διαδικασία αποστείρωσης κατά 2 min συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα. Η απουσία οργανικής ύλης στο διάλυμα NaCl ενδέχεται να ευνοεί την απεριόριστη διείσδυση της UVC, προκαλώντας εκτεταμένες βλάβες στο γεννητικό υλικό του *C. albicans*.

Αντίθετα, τα αποτελέσματα του πίνακα 7 για τις αποικίες που αναπτυχθήκαν μετά από 24ωρη περίοδο συντήρησης σε σκοτεινό περιβάλλον αποκαλύπτουν μια διαφορετική εικόνα. Η εμφάνιση μιας αποικίας στο δείγμα με NaCl υποδηλώνει ότι ένα μικρό ποσοστό κυττάρων ενδέχεται να επιβίωσε της αρχικής ακτινοβολίας και να επιδιόρθωσε τις προκληθείσες βλάβες. Η απουσία της οργανικής ύλης στο NaCl σε αυτή την περίπτωση θα μπορούσε να εξηγήσει την αποτελεσματικότερη επιδιόρθωση του DNA, καθώς η απουσία ελευθέρων ριζών, που ενδεχομένως παράγονται από την αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με οργανικές ενώσεις, περιορίζει τις επιπλέον

τοξικές επιδράσεις στα κύτταρα. Εναλλακτικά, η παρουσία οργανικής ύλης στα υπόλοιπα δείγματα θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών, οι οποίες να προκαλέσουν πιο εκτεταμένες και δυσπρόσιτες βλάβες στο DNA του μύκητα, καθιστώντας την επιδιόρθωση δυσκολότερη ή ακόμα και αδύνατη.

4.3.3 Υπολογισμός κινητικής σταθεράς

Οι πίνακες (7-10) παρουσιάζουν τα κινητικά δεδομένα των πειραμάτων απολύμανσης με υπεριώδη ακτινοβολία UVC και χλωρίωση, αναλύοντας τις μεταβλητές που επηρεάζουν την ταχύτητα αδρανοποίησης των δυο μικροβιακών στελεχών σε ποικίλες υδατικές μήτρες. Η διαδικασία απολύμανσης ακολουθεί ένα μοντέλο πρώτης τάξης, όπου η κινητική σταθερά αδρανοποίησης (k) καθορίζει την ταχύτητα με την οποία τα παθογόνα αδρανοποιούνται. Η τιμή της σταθεράς k εξαρτάται τόσο από τα χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών όσο και από τη σύσταση της υδατικής μήτρας. Συγκεκριμένα, υψηλότερες τιμές της σταθεράς k υποδηλώνουν ταχύτερη απολύμανση και αποτελεσματικότερη αδρανοποίηση των βακτηρίων.

Πίνακας 8: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το *A. baumannii* στην UVC

<i>A.baumannii</i>	t (min)	$\ln(C_0/C)$	k (min^{-1})	R^2
NaCl 0.8%	2	6.097	2.949	0.999
	4	11.695		
Λίμνη Αγιάς	2	8.412	1.926	0.878
	4	9.105		
	6	9.105		
ΔΕΥΑΧ	2	10.043	3.693	0.969
	4	13.444		

Πίνακας 9: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το *C. albicans* στην UVC

<i>C.albicans</i>	t (min)	ln(C ₀ /C)	k (min ⁻¹)	R ²
NaCl 0.8%	2	8.517	3.154	0.970
	4	11.513		
Λίμνη Αγιάς	2	99.275	2.381	0.933
	4	9.680		
	6	12.676		
ΔΕΥΑΧ	2	2.474	2.157	0.957
	4	9.547		

Πίνακας 10: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το *A. baumannii* στην χλωρίωση

<i>A.baumannii</i>	Δόση Cl ₂ (mg/L)	k (min ⁻¹)	R ²
NaCl 0.8%	0.5	0.119	0.932
	1	0.143	0.991
	5	0.289	0.989
Λίμνη Αγιάς	0.5	0.085	0.990
	1	0.135	0.956
ΔΕΥΑΧ	5	0.079	0.978
	10	0.225	0.979
ΔΕΥΑΒΑ	5	0.164	0.949
	10	0.163	0.966

Πίνακας 11: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης k για το *C. albicans* στην χλωρίωση

<i>C.albicans</i>	Δόση Cl_2 (mg/L)	k (min^{-1})	R^2
NaCl 0.8%	0.5	0.483	0.943
	1	3.183	0.970
Λίμνη Αγίας	0.5	0.648	0.952
	1	1.388	0.995
ΔΕΥΑΧ	5	0.299	0.912
	10	3.183	0.970
ΔΕΥΑΒΑ	5	1.469	0.993
	10	3.252	0.956

Παρατηρήθηκαν ενδιαφέρουσες διαφορές ανάλογα με τον τύπο του μικροοργανισμού και το περιβάλλον στο οποίο εφαρμόστηκε η μέθοδος. Συγκεκριμένα στην UVC, για το βακτήριο *A. baumannii*, η υδατική μήτρα που περιείχε λύματα από τη ΔΕΥΑΧ παρουσίασε τη μεγαλύτερη τιμή κινητικής σταθεράς αδρανοποίησης (k), σχεδόν διπλάσια από εκείνη που παρατηρήθηκε στη λίμνη Αγία και κατά 0.7 μονάδες μεγαλύτερη από την τιμή k για διάλυμα NaCl 0.8%. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι η ακτινοβολία UVC είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική και ταχεία στην αδρανοποίηση του *A. baumannii* σε υδατικά περιβάλλοντα που έχουν υποστεί δευτεροβάθμια επεξεργασία λυμάτων. Αντίθετα, για τον μύκητα *C. albicans*, η υδατική μήτρα που περιείχε λύματα αποδείχθηκε το λιγότερο ευνοϊκό περιβάλλον για την εφαρμογή της μεθόδου απολύμανσης με UVC. Το διάλυμα NaCl 0.8% παρουσίασε την υψηλότερη τιμή k , ενώ η λίμνη Αγία ακολούθησε με 0.8 μονάδες διαφορά. Στην συνέχεια κινητική σταθερά αδρανοποίησης (k) στην χλωρίωση επηρεάζεται σημαντικά από τη δοσολογία του χλωρίου, καθώς η αύξηση της δόσης συνοδεύεται από αύξηση της σταθεράς. Συγκεκριμένα, για το βακτήριο *A. baumannii* στην υδατική μήτρα NaCl 0.8%, παρατηρήθηκε η μέγιστη τιμή της σταθεράς k , αν και η διαφορά σε σχέση με την ακτινοβολία UVC δεν ήταν τόσο σημαντική. Ωστόσο, για τον μύκητα *C. albicans* διαπιστώθηκε ότι η μέγιστη τιμή της σταθεράς k επιτεύχθηκε στο λύμα της ΔΕΥΑΒΑ στη δόση των 1 mg/L Cl_2 . Τελος στο *C. albicans* τα αποτελέσματα των πειραμάτων κατέδειξαν μια σχεδόν διπλή αύξηση της κινητικής σταθεράς αδρανοποίησης στις υψηλότερες συγκεντρώσεις χλωρίου σε σύγκριση με τις χαμηλότερες.

Τα παραπάνω αποτελέσματα υπογραμμίζουν τη σημασία του τύπου του μικροοργανισμού και των χαρακτηριστικών του υδατικού περιβάλλοντος στην αποτελεσματικότητα της ακτινοβολίας UVC και της χλωρίωσης ως μεθόδους απολύμανσης.

5. Συμπεράσματα

Η χλωρίωση και η ακτινοβολία UVC αποτελούν δύο καθιερωμένες μεθόδους απολύμανσης νερού, με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης και αποδοτικότητα. Η αποτελεσματικότητά της χλωρίωσης εξαρτάται από παράγοντες όπως η συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου, ο χρόνος επαφής, το pH του νερού, η παρουσία οργανικών ουσιών και η θερμοκρασία. Από την άλλη πλευρά, η αποτελεσματικότητα της UVC επηρεάζεται από παράγοντες όπως η ένταση και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, ο χρόνος έκθεσης, η διαύγεια του νερού και η παρουσία προστατευτικών ουσιών. Και οι δύο μέθοδοι έχουν τα πλεονεκτήματά τους και τα μειονεκτήματά τους, και η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαρτάται από τις συγκεκριμένες συνθήκες κάθε εφαρμογής.

Για παράδειγμα, η χλωρίωση είναι μια οικονομική και ευρέως διαδεδομένη μέθοδος, αλλά μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία παραπροϊόντων χλωρίωσης, τα οποία ενδέχεται να είναι καρκινογόνα. Η ακτινοβολία UVC είναι μια φυσική μέθοδος χωρίς την παραγωγή παραπροϊόντων, αλλά απαιτεί υψηλότερο κόστος εγκατάστασης και λειτουργίας. Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα της UVC μπορεί να μειωθεί από την παρουσία θολωμάτων ή χρωμάτων στο νερό και η ανθεκτικότητα ορισμένων μικροοργανισμών στην ακτινοβολία UVC αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα. Μερικοί μικροβιακοί οργανισμοί διαθέτουν μηχανισμούς επιδιόρθωσης του γενετικού τους υλικού που τους επιτρέπουν να επιβιώνουν μετά την έκθεση στην ακτινοβολία, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μη πλήρη απολύμανση.

Με στόχο τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας των παραπάνω μεθόδων απολύμανσης υπό πραγματικές συνθήκες, διεξάχθηκαν πειράματα σε τέσσερις διαφορετικές υδατικές μήτρες: διάλυμα NaCl 0.8%, νερό λίμνης (λίμνη Αγιά) και λύματα εξόδου δευτεροβάθμιας επεξεργασίας από τις ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ. Οι συγκεκριμένες μήτρες επιλέχθηκαν λόγω της διαφορετικής τους σύστασης και της πιθανής επίδρασής τους στην αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών.

Για τους δυο μικροοργανισμούς: *Acinetobacter baumannii* και *Candida albicans*.

Τα κύρια συμπεράσματα βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας είναι:

- Η χλωρίωση ως μέθοδος αδρανοποίησης του *Acinetobacter baumannii* σε τέσσερις υδατικές μήτρες αποδείχθηκε εξαιρετικά αποτελεσματική, αν και χρονοβόρα. Ανεξαρτήτως της δοσολογίας του απολυμαντικού, παρατηρήθηκε πλήρης εξόντωση του βακτηρίου εντός χρονικού διαστήματος 2.5 έως 3 h. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι, παρά την επιθυμητή αποτελεσματικότητα, η χλωρίωση ενδέχεται

να απαιτεί σημαντικό χρονικό διάστημα για να επιτύχει απολύμανση σε περιβάλλοντα με παρουσία *A. baumannii*.

- Η χλωρίωση αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο αδρανοποίησης του *C. albicans*, επιτυγχάνοντας πλήρη εξάλειψη του μύκητα σε όλες τις υδατικές μήτρες. Σε σύγκριση με την αδρανοποίηση του βακτηρίου *A. baumannii*, η διαδικασία αυτή είναι σημαντικά ταχύτερη, ολοκληρώνοντας κατά μέσο όρο 2-2.5 h νωρίτερα.
- Η ακτινοβολία UVC αποδείχθηκε αποτελεσματική στην αδρανοποίηση και των δυο μικροοργανισμών στις τρεις υδατικές μήτρες εντός των πρώτων 10 min. Συγκεκριμένα, η υδατική μήτρα NaCl 0.8% παρουσίασε τα ταχύτερα αποτελέσματα, γεγονός που αποδίδεται στην απουσία οργανικής ύλης. Παρόλα αυτά, δεν επιτεύχθηκε πλήρης αδρανοποίηση σε όλες τις περιπτώσεις, καθώς μετά από 24 h φύλαξης σε σκοτεινό περιβάλλον παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικρών αποικιών.
- Η σύσταση της υδατικής μήτρας επηρέασε σημαντικά τον χρόνο αδρανοποίησης των μικροοργανισμών και στις δύο μεθόδους απολύμανσης που μελετήθηκαν. Συγκεκριμένα, τα λύματα παρουσίασαν τους μεγαλύτερους χρόνους αδρανοποίησης, ενώ το διάλυμα NaCl 0.8% τους μικρότερους. Αυτή η διαφοροποίηση αποδίδεται στις διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες των υδατικών μητρών, όπως το pH, η αγωγιμότητα, η παρουσία οργανικής ύλης και άλλων ουσιών, οι οποίες επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών. Παρόλα αυτά, καμία από τις εξεταζόμενες υδατικές μήτρες δεν ανέστειλε πλήρως την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών, αλλά επηρέασε αποκλειστικά τη χρονική διάρκεια της διαδικασίας.
- Σε γενικές γραμμές, παρατηρήθηκε ότι το βακτήριο παρουσίασε σημαντικά υψηλότερη ανθεκτικότητα σε σχέση με τον μύκητα, καθώς απαιτήθηκε περισσότερος χρόνος για την πλήρη αδρανοποίησή του, σε σύγκριση με τον μύκητα.

Παρόλα αυτά, υπάρχουν σημαντικά κενά γνώσης σχετικά με τους ακριβείς μηχανισμούς δράσης των απολυμαντικών, καθώς και τους παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητά τους σε σύνθετα περιβάλλοντα. Περαιτέρω μελέτες, ιδιαίτερα σε επίπεδο μοριακής βιολογίας, είναι απαραίτητες για να διερευνηθούν οι αλληλεπιδράσεις των απολυμαντικών με τα κυτταρικά συστατικά των παθογόνων μικροοργανισμών και να προσδιοριστούν οι μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας.

6. Βιβλιογραφία

- (1) Hughes Butts, K.; Butts, K. H. The Strategic Importance of Water. *Parameters* **1997**, 27 (1). <https://doi.org/10.55540/0031-1723.1809>.
- (2) Sharma, S.; Bhattacharya, A. Drinking Water Contamination and Treatment Techniques. *Applied Water Science* 2016 7:3 **2016**, 7 (3), 1043–1067. <https://doi.org/10.1007/S13201-016-0455-7>.
- (3) *Factors Affecting the Efficacy of Disinfection and Sterilization | Infection Control | CDC.* <https://www.cdc.gov/infection-control/hcp/disinfection-sterilization/efficacy-factors.html> (accessed 2025-01-22).
- (4) Committee, N. R. C. (US) S. D. W. The Disinfection of Drinking Water. **1980**.
- (5) Shimabuku, Q. L.; Ueda-Nakamura, T.; Bergamasco, R.; Fagundes-Klen, M. R. Chick-Watson Kinetics of Virus Inactivation with Granular Activated Carbon Modified with Silver Nanoparticles and/or Copper Oxide. *Process Safety and Environmental Protection* **2018**, 117, 33–42. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2018.04.005>.
- (6) Dong, S.; Massalha, N.; Plewa, M. J.; Nguyen, T. H. The Impact of Disinfection Ct Values on Cytotoxicity of Agricultural Wastewaters: Ozonation vs. Chlorination. *Water Res* **2018**, 144, 482–490. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2018.07.065>.
- (7) Γκίκας, Π. Σημειώσεις Σχεδιασμού 1: Χλωρίωση. May 15, 2020.
- (8) Taki, A. *Using Sodium Hypochlorite for Water Purification: A Detailed Guide – Alliance Chemical.* <https://alliancechemical.com/blogs/articles/using-sodium-hypochlorite-for-water-purification-a-detailed-guide> (accessed 2025-01-22).
- (9) *Benefits of Chlorine Water Disinfection | AQUAANALYTIC.* <https://aquaanalytic.ae/benefits-of-chlorine-water-disinfection/> (accessed 2025-01-23).
- (10) Sun, L.; Xu, G.; Tu, Y.; Zhang, H.; Zhang, W.; Zhu, X.; Liang, Y.; Li, A.; Xie, X. Synergistic Disinfection Effects and Reduction of Disinfection By-Products in Water Treatment Using Magnetic Quaternized Cyclodextrin Polymer Combined with Chlorine Disinfection Process. *Water Res* **2024**, 250, 121078. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2023.121078>.

- (11) Deng, Y.; Mo, S.; Korshin, G. V.; Yan, M. A Universal Model to Predict Yields of THMs and HAAs Based on UV–Visible Absorption Spectra. *Water Res* **2024**, *254*, 121367. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2024.121367>.
- (12) Memarzadeh, F. A Review of Recent Evidence for Utilizing Ultraviolet Irradiation Technology to Disinfect Both Indoor Air and Surfaces. *Appl Biosaf* **2021**, *26* (1), 52. <https://doi.org/10.1089/APB.20.0056>.
- (13) Environmental Protection Agency. *Wastewater Technology Fact Sheet: Ultraviolet Disinfection*; Washington D.C., 1999.
- (14) Βενιέρη, Δ. Σημειώσεις Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας. March 1, 2017.
- (15) Whiteway, C.; Breine, A.; Philippe, C.; Van der Henst, C. *Acinetobacter Baumannii*. *Trends Microbiol* **2022**, *30* (2), 199–200. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.11.008>.
- (16) Abbo, A.; Navon-Venezia, S.; Hammer-Muntz, O.; Krichali, T.; Siegman-Igra, Y.; Carmeli, Y. Multidrug-Resistant *Acinetobacter Baumannii*. *Emerg Infect Dis* **2005**, *11* (1), 22. <https://doi.org/10.3201/EID1101.040001>.
- (17) Alsan, M.; Klompas, M. *Acinetobacter Baumannii*: An Emerging and Important Pathogen. *J Clin Outcomes Manag* **2010**, *17* (8), 363.
- (18) Santajit, S.; Indrawattana, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int* **2016**, *2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.
- (19) Berman, J. *Candida Albicans*. *Current Biology* **2012**, *22* (16), R620–R622. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.043>.
- (20) Risović, D.; Maver-Bišćanin, M.; Mravak-Stipetić, M.; Bukovski, S.; Bišćanin, A. Quantitative Investigation of Efficiency of Ultraviolet and Visible Light in Eradication of *Candida Albicans* In Vitro. *Photomed Laser Surg* **2014**, *32* (4), 232. <https://doi.org/10.1089/PHO.2013.3691>.
- (21) Μαντζίκου Μαρία. Αδρανοποίηση Παθογόνων Βακτηρίων Στα Υγρά Απόβλητα Με Διάφορες Μεθόδους Απολύμανσης , Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, 2021.
- (22) Dhasarathan, P.; AlSalhi, M. S.; Devanesan, S.; Subbiah, J.; Ranjitsingh, A. J. A.; Binsalah, M.; Alfuraydi, A. A. Drug Resistance in *Candida Albicans* Isolates and Related Changes in the Structural Domain of Mdr1 Protein. *J Infect Public Health* **2021**, *14* (12), 1848–1853. <https://doi.org/10.1016/J.JIPH.2021.11.002>.

- (23) Radcliffe, C. E.; Potouridou, L.; Qureshi, R.; Hababbeh, N.; Qualtrough, A.; Worthington, H.; Drucker, D. B. Antimicrobial Activity of Varying Concentrations of Sodium Hypochlorite on the Endodontic Microorganisms *Actinomyces Israelii*, *A. Naeslundii*, *Candida Albicans* and *Enterococcus Faecalis*. *Int Endod J* **2004**, 37 (7), 438–446. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2004.00752.X>.
- (24) Πληροφορίες - Δ.Ε.Υ.Α. ΧΑΝΙΩΝ. <https://deyach.gr/viologikos/plirofories/> (accessed 2025-01-08).
- (25) Δ.Ε.Υ.Α.Χ. - Δ.Ε.Υ.Α. ΧΑΝΙΩΝ. <https://deyach.gr/about/> (accessed 2025-01-09).
- (26) Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων - ΔΕΥΑΒΑ. <https://www.deyava.gr/%CE%B5%CE%B3%CE%BA%CE%B1%CF%84%CE%AC%CF%83%CF%84%CE%B1%CF%83%CE%B7-%CE%B5%CF%80%CE%B5%CE%BE%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CE%AF%CE%B1%CF%82-%CE%BB%CF%85%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD/> (accessed 2025-01-09).
- (27) ΔΕΥΑΒΑ, ΔΕΥΑ ΒΟΡΕΙΟΥ ΑΞΟΝΑ ΧΑΝΙΩΝ, ΔΗΜΟΤΙΚΗ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΗ ΥΔΡΕΥΣΗΣ ΑΠΟΧΕΤΕΥΣΗΣ, ΥΔΡΕΥΣΗ, ΑΡΔΕΥΣΗ, ΑΠΟΧΕΤΕΥΣΗ, ΓΕΡΑΝΙ, ΠΛΑΤΑΝΙΑΣ, ΚΟΛΕΝΙ, ΒΟΥΚΟΛΙΕΣ. <https://www.deyava.gr/> (accessed 2025-01-09).
- (28) Kyriakidis, I.; Vasileiou, E.; Pana, Z. D.; Tragiannidis, A. *Acinetobacter Baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens* **2021**, 10 (3), 373. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10030373>.
- (29) Sobouti, B.; Mirshekar, M.; Fallah, S.; Tabaei, A.; Mehrabadi, J. F.; Darbandi, A. Pan Drug-Resistant *Acinetobacter Baumannii* Causing Nosocomial Infections among Burnt Children. *Med J Islam Repub Iran* **2020**, 34 (1), 24. <https://doi.org/10.34171/MJIRI.34.24>.
- (30) Κυριαζή, Α. «ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ», Πολυτεχνείο Κρήτης, 2021.