



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ε. ΠΕΤΕΙΝΑΚΗ

**Πνευμονία της κοινότητας: Βακτηριακά αίτια και
μικροβιολογική διερεύνηση**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΝΕΟΚΛΕΟΥΣ

ΙΑΤΡΟΣ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΟΣ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2013

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ε. ΠΕΤΕΙΝΑΚΗ

**Πνευμονία της κοινότητας: Βακτηριακά αίτια και
μικροβιολογική διερεύνηση**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΝΕΟΚΛΕΟΥΣ

ΙΑΤΡΟΣ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΟΣ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2013

“Πνευμονία της κοινότητας: Βακτηριακά αίτια και μικροβιολογική διερεύνηση”

© 2013 Χαράλαμπος Νεοκλέους

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

Η τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

Ευθυμία Πετεινάκη (Επιβλέπουσα): Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας,
Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γεώργιος Νταλέκος: Καθηγητής Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης: Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επταμελής εξεταστική επιτροπή

Ευθυμία Πετεινάκη : Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γεώργιος Νταλέκος: Καθηγητής Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης: Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επαμεινώνδας Ζακυνθινός: Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας , Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ζωή Δανιήλ: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Χρυσή Χατζόγλου: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νικόλαος Γατσέλης: Λέκτορας Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΝΕΟΚΛΕΟΥΣ

“Πνευμονία της κοινότητας: Βακτηριακά αίτια και μικροβιολογική διερεύνηση”

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΝΕΟΚΛΕΟΥΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2013

**Πνευμονία της κοινότητας: Βακτηριακά αίτια και
μικροβιολογική διερεύνηση**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Αριθμός προκαταρκτικών σελίδων: 25
Συνολικός αριθμός σελίδων: 189
Συνολικός αριθμός εικόνων: 22
Συνολικός αριθμός πινάκων: 40
Συνολικός αριθμός γραφημάτων: 1
Συνολικός αριθμός βιβλιογραφικών παραπομπών: 220

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η πνευμονία της κοινότητας αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου από λοίμωξη στις αναπτυγμένες χώρες, το τρίτο κύριο αίτιο θανάτου σε ολόκληρο τον κόσμο, το δεύτερο στην Αγγλία και το όγδοο στις Η.Π.Α. Η πνευμονία της κοινότητας ανάλογα με τον υπεύθυνο αιτιολογικό μικροοργανισμό διακρίνεται σε βακτηριακής αιτιολογίας πνευμονία και σε πνευμονία ιογενούς αιτιολογίας. Οι, βακτηριακής αιτιολογίας, πνευμονίες διακρίνονται σε αυτές που προκαλούνται από κοινούς παθογόνους μικροοργανισμούς (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, κλπ) και σε εκείνες που προκαλούνται από τους λεγόμενους άτυπους μικροοργανισμούς (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*). Δύο είναι οι άξονες των στόχων στη διάγνωση της πνευμονίας. Ο πρώτος αφορά στην τεκμηρίωση της ύπαρξης πνευμονίας και γίνεται με την κλινική εξέταση, την ακτινογραφία θώρακος, τη γενική εξέταση αίματος και διάφορους βιοχημικούς δείκτες φλεγμονής και ο δεύτερος αφορά στην ταυτοποίηση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας και γίνεται με διάφορες μικροβιολογικές μεθόδους.

Η αρχική αντιμικροβιακή αγωγή των ασθενών με βακτηριακή πνευμονία της κοινότητας είναι κατά βάση εμπειρική καθώς δεν είναι διαθέσιμα τα αποτελέσματα ευαισθησίας των μικροοργανισμών στα διάφορα αντιβιοτικά κατά τη στιγμή της διάγνωσης της πνευμονίας. Ενώ η επίπτωση των άτυπων παθογόνων σε ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας ποικίλει στις διάφορες μελέτες, δεδομένου ότι τα άτυπα παθογόνα θεωρούνται σημαντικοί αιτιολογικοί παράγοντες στην πρόκληση της πνευμονίας της κοινότητας, τα πιο συνήθη αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται ως αρχική εμπειρική θεραπεία στην πνευμονία της κοινότητας είναι συνδυασμός β-λακταμικών και μακρολίδων ή κινολονες ως μονοθεραπεία. Στη χώρα μας λόγω των ελάχιστων δεδομένων σχετικά με τη συχνότητα των παθογόνων βακτηρίων που ενέχονται στην πρόκληση της πνευμονίας της κοινότητας, οι κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν ως αρχική εμπειρική θεραπεία των ασθενών, με βακτηριακής αιτιολογίας πνευμονία της κοινότητας, τη χρήση συνδυασμού β-λακταμικών με μακρολίδες ή κινολόνες.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη του είδους και της συχνότητας των παθογόνων μικροοργανισμών που ενέχονται στην πρόκληση βακτηριακής πνευμονίας της κοινότητας στην περιοχή της Θεσσαλίας σε ασθενείς που νοσηλεύθηκαν, καθώς και η σύγκριση των κλασικών (gram χρώση, καλλιέργειες), ορολογικών και νεότερων (μοριακές τεχνικές, αντιγόνο του *Streptococcus Pneumonia*

και της *Legionella pneumophila* στα ούρα) μικροβιολογικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση αυτών.

Το πειραματικό μέρος της διδακτορικής διατριβής πραγματοποιήθηκε στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας υπό τη διεύθυνση της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας, κυρίας Ευθυμίας Πετεινάκη. Η συλλογή των δειγμάτων από τους ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας έγινε από την Πνευμονολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας υπό τη διεύθυνση του Καθηγητή, κυρίου Κωνσταντίνου Γουργουλιάνη.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη έγινε υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Μικροβιολογίας **κ. Πετεινάκη Έυθυμίας**, την οποία ευχαριστώ ιδιαίτερα και τα μέγιστα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Την ευχαριστώ ακόμη για τη σημαντική καθοδήγηση και για την πολυποίκιλη συμβολή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνηση της μελέτης αυτής με αποτέλεσμα να καταστεί δυνατή η διεκπεραίωσή της.

Επίσης ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, κ. **Νταλέκο Γεώργιο**, Καθηγητή Παθολογίας και κ. **Γουργουλιάνη Κωνσταντίνο**, Καθηγητή Πνευμονολογίας, **του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας** καθώς και την κ. **Ειρήνη Γερογιάννη** Επιμελήτρια Πνευμονολογικής Κλινικής οι οποίοι με τη συμβολή τους βοήθησαν να διεξαχθεί και να ολοκληρωθεί με τον καλύτερο δυνατό τρόπο η παρούσα μελέτη.

Ευχαριστίες θα πρέπει να εκφράσω και στο Διευθυντή της Παιδιατρικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Δράμας, κ. **Τζανέτη Φώτιο** για την αμέριστη κατανόηση και τη διευκόλυνση που είχα για να μπορέσω να συγγράψω τη διατριβή.

Πολλές ευχαριστίες οφείλω και στη **Δρ. Σπανού Χρυσούλα** για τη βοήθεια στη συγγραφή αλλά και στην επιμέλεια της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Νιώθω την ανάγκη να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες, επίσης, σε όλους τους συναδέλφους αλλά και στο υπόλοιπο νοσοκομειακό προσωπικό του **Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας**, οι οποίοι με τη θετική τους συμβολή συνέτειναν να συγκεντρώσω όλα τα αναγκαία στοιχεία από τους διάφορους ασθενείς, των οποίων το ιατρικό τους πρόβλημα ενδιέφερε τη μελέτη μου. Ευχαριστώ και το προσωπικό του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου **του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας** για την όλη βοήθεια, το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε κατά την εργαστηριακή μου εργασία και την ασφαλή φύλαξη του υλικού έρευνας.




Θερμές ευχαριστίες οφείλω και στο Ίδρυμα A.G. Leventis του οποίου την οικονομική ενίσχυση είχα, αξιοποιώντας φιλοπρόοδο πρόγραμμα που συγκαταλέγεται στις ευρύτερες δραστηριότητές του και σκοπό έχουν την προώθηση της έρευνας και γενικά την ανάπτυξη της επιστήμης.

Θα ήταν σοβαρή παράλειψη, πρώτιστα και περισσότερο από οποιοδήποτε άλλο, να μην ευχαριστούσα τους σεβαστούς και φιλομαθείς γονείς μου, οι οποίοι με αγάπη μού συμπαραστάθηκαν ηθικά και οικονομικά και άλλωστε, καθ' όλη τη διάρκεια των πανεπιστημιακών και μεταπτυχιακών μου σπουδών.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Χαράλαμπος Νεοκλέους, Ιατρός
Ειδικευόμενος Παιδιατρικής

Αριθμός Άδειας ασκήσεως επαγγέλματος: 3347/26ΑΑΠΡ2007
GMC(full registration with license to practice) ref.number:7448047

 Θρασυβούλου 7, 15343, Αθήνα, Ελλάδα
 xneos@yahoo.gr
 00306955099935

Ημερ.Γέννησης: 09 ΑΠΡ. 1980 **ΥΠΗΚΟΟΤΗΤΑ:** ΚΥΠΡΙΑΚΗ

ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ-ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

ΙΑΝ2013- **Ειδικευόμενος Παιδιατρικής**
ΜΑΙΟΣ 2013 Γ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο ΑΤΤΙΚΟΝ, Αθήνα

ΦΕΒΡ2010- **Ειδικευόμενος Παιδιατρικής**
ΝΟΕΜΒ2011 Παιδιατρική Κλινική Γενικού Νοσοκομείου Δράμας

ΝΟΕΜ2007- **Υποψήφιος Διδάκτορας**
Σήμερα Εργαστήριο Μικροβιολογίας Ιατρική Σχολή Λάρισας

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

2000-2007 **Ιατρική Σχολή**
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Ιατρική Σχολή Λάρισας
Πτυχίον Ιατρικής, Βαθμός 8.09/10 (ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ)

2007-2013 **Υποψήφιος Διδάκτορας**
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Ιατρική Σχολή Λάρισας
Επιβλέπουσα: Ευθυμία Πετεινάκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Εργαστήριο Μικροβιολογίας Ιατρική Σχολή Λάρισας
PhD Dissertation title: “Πνευμονία της κοινότητας: Βακτηριακά αίτια και
μικροβιολογική διερεύνηση”.

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΕΙΑ

ΟΚΤ2007- " **Antimicrobial agents: Action- Resistance-Treatment**" Institute of
ΜΑΙΟΣ2008 Biomedical Research and Technology (IBET) Larisa

ΝΟΕΜ 2013 " **Neonatal life support (NLS)**" Hellenic Society of Resuscitation

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

2000-2006 Υποτροφία για προπτυχιακές σπουδές στην Ιατρική Σχολή Λάρισας από το ΙΚΥ
Κύπρου

2008–2010 Υποτροφία από το Ίδρυμα Α.Γ. Leventis για μεταπτυχιακές σπουδές

ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

2007- 2010 Συμμετοχή στα εργαστηριακά μαθήματα Μικροβιολογίας, 3ετών φοιτητών
Ιατρικής Σχολής (Ιατρική Σχολή Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά Certificate of GCE O' LEVEL in English, University of London (1995)

ΜΕΛΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Ιατρικός σύλλογος Αθηνών (Αριθμός μέλους 074748)

ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

2013 Πρόγραμμα εμβολιασμού (BCG) στα παιδιά σχολικής ηλικίας του Δήμου Αιγάλεω, Αθήνα
Υπο την ευθύνη των τοπικών αρχών και του Υπουργείου Υγείας

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

A. ΔΙΕΘΝΗ PEER- REVIEW ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ [impact factors (IF) 2010, JCR Science Edition]

1. **Ch. Neocleous**, A. Adramerina, C. Spanou, G. Spyrou, A. Mitsios, M. Dragoumi, F. Tzanetis.
How accurate are diagnostic tools for Epstein-Barr virus (EBV) to establish causal association of
an uncommon clinical condition with EBV? **2013 REVIEW Acta Virologica** Vol.57, No.3, p.283-
291. [IF: 0.680]

2. **Ch. Neocleous**, C. Spanou, A. Adramerina, G. Spyrou, F. Tzanetis. Painful vaso-occlusive crisis as a prodromal phase of Acute Chest Syndrome. Is only one chest x-ray enough? A case report. **2013** *Praque Medical Report* Vol. 114 No. 3, p. 180–185.
3. **Ch. Neocleous**, C. Spanou, E. Mpampalis, S. Xatzigeorgiou, Ch. Pavlidou, E. Poulos, F. Tzanetis. Unnecessary diagnostic investigations in Benign Acute Childhood Myositis: A case series report. **2012**, *Scottish Medical Journal* **57**(3):182. [IF: 0.397]
4. **Ch. Neocleous**, A. Damani, I. Gerogianni, K. Gourgoulianis, E. Petinaki. Necrotizing pneumonia in Greece caused by a USA400 (ST1) *Staphylococcus aureus* harboring SSCmec Type V. **2010**, *Infection*, **38**: 76–77. [IF: 2.659]
5. K. P. Makaritsis, **Ch. Neocleous**, N. Gatselis, E. Petinaki, G. N. Dalekos. An immunocompetent patient presenting with severe septic arthritis due to *Ralstonia pickettii* identified by molecular-based assays: a case report. **2009**, *Cases Journal*, **2**:8125.
6. A. Liakopoulos, **Ch. Neocleous**, D. Klapsa, M. Kanellopoulou, I. Spiliopoulou, K. D. Mathiopoulos, E. Papafrangas, E. Petinaki. A T2504A mutation in the 23S rRNA gene responsible for high-level resistance to linezolid of *Staphylococcus epidermidis*. **2009** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **64**(1):206-7. [IF: 5.068]
7. E. Malli, I. Spiliopoulou, F. Kolonitsiou, **Ch. Neocleous**, D. Klapsa, K. Pantelidi, M. Panopoulou, S. Grapsa, E. Alepopoulou, I. Neonakis, S. Alexiou-Daniel, D. Bakola, C. Koutsia-Carouzou, H. Malamou-Lada, L. Zerva, E. Vlahaki, S. Kartali-Ktenidou, E. Anastassiou and E. Petinaki, *In vitro* activity of tigecycline against Gram-positive cocci: a multicentre study in Greece. **2008** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **62** (5):1158-1160. [IF: 5.068]
8. A. Adramerina, C. Spanou, F. Tzanetis, E. Mpampalis, S. Xatzigeorgiou, **Ch. Neocleous** Parents' ignorance as a cause of foreign body aspiration in preschool children. A case series report *Pediatric Emergency care journal* (ahead of print)
9. **Ch. Neocleous**, I. Gerogianni, K. Gourgoulianis, E. Petinaki. Prevalence of atypical bacterial pathogens in hospitalized adult patients with community acquired pneumonia in Central Greece. **2013** *Indian Journal of Medical Microbiology* (ahead of print).
10. **C.Neocleous**, I.Gerogianni, A.Liakopoulos, K.Gourgoulianis, E.Petinaki Bacterial etiology of community acquired pneumonia in hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease in Central Greece. *British Journal of Biomedical Sciences* (ahead of print)
11. **Ch. Neocleous**, A. Adramerina, Limneos S., S. Symeonidis, M. Malakozi, C. Spanou, E. Mpampalis, F. Tzanetis. A comparison between Transcutaneous and Total Serum Bilirubin in healthy term newborn Greek infants with clinical jaundice. **2013** *Praque medical report* (ahead of print).

B. ΕΛΛΗΝΙΚΑ PEER-REVIEW ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

12. C. Skoulakis, J. Hajjiannou, J. Bizakis, C. Papadakis, **Ch. Neocleous**, E. Petinaki. Levels of immunoglobulins and complement in children with recurrent acute otitis media. **2010**, *Otorhinolaryngologia – Head and Neck Surgery* **40**: 16-19.

Γ. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

13. I. Gerogianni, **C. Neocleous**, K. Gourgoulianis, E. Petinaki Prevalence of atypical bacterial pathogens in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. European Respiratory Society (ERS) Annual congress Barcelona Spain 7-11 September **2013**

14. G. Tychalas, **Ch. Neocleous**, D. Tychalas, E. Poulos C. Tychala, A. Adramerina, K. Basdekas, T. Impeisat. Early diagnosis of PFAPA syndrome can reduce the unnecessary use of antibiotics. 6th Europaediatrics, Glasgow, 5-8 June **2013**.

15. **Ch. Neocleous**, D. Klapsa, A. Liakopoulos, I. Gerogianni, K. Gourgoulianis, E. Petinaki. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* and *Legionella pneumophila* among patients with atypical pneumonia in Central Greece 19th ECCMID Helsinki 16-19 May **2009** *Clinical Microbiology and Infection* Special Issue: Abstracts of the 19th ECCMID, Helsinki, Finland, 16-19 May 2009 Volume 15, Issue Supplement s4 page page S611.

16. A. Liakopoulos, **Ch. Neocleous**, M. Kanellopoulou, N. Skarmoutsou, M. Martsoukou, E. Papafrangas, E. Petinaki. A C2534T mutation in the 23S rRNA gene responsible for linezolid resistance in a clinical *Staphylococcus epidermidis* isolate. 19th ECCMID Helsinki 16-19 May **2009** *Clinical Microbiology and Infection*, Special Issue: Abstracts of the 19th ECCMID, Helsinki, Finland, 16-19 May 2009 Volume 15, Issue Supplement s4 page S124.

17. M. Karanika, D. Klapsa, **Ch. Neocleous**, I. Spiliopoulou, C. Koutsia-Carouzou, M. Economou, K. Karaiskos, K. Kouraki, D. Krikou, M. Anifantaki, E. Vlahaki, E. Petinaki. Epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Greek hospitals by PFGE and MLST. 18th ECCMID Barcelona 19-22 April **2008** *Clinical Microbiology and Infection*.

Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΕΘΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

18. **X. Νεοκλέους**, Α. Αδραμερινά, Σ. Συμεωνίδης, Χ. Σπανού, Μ. Μαλακόζη, Ε. Μπαμπαλής, Φ. Τζανέτης Μελέτη αξιοπιστίας διαδερμικής μεθόδου μέτρησης χολερυθρίνης στην εκτίμηση του νεογνικού ικτέρου 51^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη 21-23 Ιουνίου **2013**.

19. Γ. Τυχάλας, **X. Νεοκλέους**, Α. Καραχάλιος, Α. Κυριακοπούλου, Γ. Παπαδόπουλος, Δ. Τυχάλας, Χ. Τυχάλα, Α. Αδραμερινά, Τ. Ιμπεσιάτ. Ψυχογενούς αιτιολογίας διαταραχές όρασης σε κορίτσια 12 ετών 51^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη 21-23 Ιουνίου **2013**.
20. Γ. Τυχάλας, **X. Νεοκλέους**, Α. Αδραμερινά, Γ. Παπαδόπουλος, Δ. Τυχάλας, Χ. Τυχάλα, Τ. Ιμπεσιάτ. PFAPA σύνδρομο. Πως επαναλαμβανόμενα επεισόδια εμπυρέτου θέτουν την υπόνοια ενός συνδρόμου 51^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη 21-23 Ιουνίου **2013**.
21. Γ. Τυχάλας, Χ. Λάππα, Ε. Πούλος, Δ. Τυχάλας, Χ. Τυχάλα, Τ. Ιμπεσιάτ, Γ. Παπαδόπουλος, Ν. Δρονούδας, Γ. Τεντζιρίδης, **X. Νεοκλέους**. Βαθμός συμμόρφωσης στον αντιφυματικό εμβολιασμό παιδιών σε περιφερειακό νομό της Βόρειας Ελλάδας. 51^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη 21-23 Ιουνίου **2013**.
22. Α. Αδραμερινά, Σ. Χατζηγεωργίου, **X. Νεοκλέους**, Τ. Κασσάνδρα, Μ. Μαλακόζη, Ο. Σαμόγλου, Ε. Μπαμπαλής, Φ. Τζανέτης. Εισρόφηση ξένου σώματος σε προνήπια. Η σημασία ενός λεπτομερούς ιστορικού στη διάγνωση 51^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη 21-23 Ιουνίου **2013**.
23. Α. Αδραμερινά, **X. Νεοκλέους**, Ι. Λουκάς, Ο. Σαμόγλου, Χ. Παυλίδου, Ε. Πούλος, Σ. Χατζηγεωργίου, Ε. Μπαμπαλής, Φ. Τζανέτης. Παροδική έξαρση κρουσμάτων γαστρεντερίτιδας από ροταϊό. Ανάγκη χορήγησης εμβολίου στα βρέφη. 50^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Ιωάννινα, 1-3 Ιουνίου **2012**.
24. **X. Νεοκλέους**, Α. Αδραμερινά, Κ. Ταταροπούλου, Μ. Μαλακόζη, Κ. Κεμεντζή, Ε. Ζαβιάλοβα, Ε. Μπαμπαλής, Φ. Τζανέτης. Λοιμώδης Μονοπυρήνωση από EBV. Ασυνήθη σύνδρομο στα πλαίσια συνηθούς λοιμώδους συνδρομής. 50^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Ιωάννινα, 1-3 Ιουνίου **2012**.
25. **X. Νεοκλέους**, Ι. Λουκάς, Ν. Τσικριτσής, Ε. Μπαμπαλής, Σ. Χατζηγεωργίου, Χ. Παυλίδου, Α. Κεμεντζή, Ε. Πούλος, Φ. Τζανέτης. Οξεία καλοήγητος μυοσίτιδα της παιδικής ηλικίας. 49^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Πελοπόννησος, 10-12 Ιουνίου **2011**.
26. **X. Νεοκλέους**, Ε. Καρακεκέ, Ε. Καναβούρα, Κ. Ταταροπούλου, Ε. Μπαμπαλής, Σ. Χατζηγεωργίου, Χ. Παυλίδου, Ε. Ζαβιάλοβα, Φ. Τζανέτης. Οξύ θωρακικό σύνδρομο της δρεπανοκυτταρικής νόσου σε αγόρι 10 χρονών με κοιλιακό άλγος. 49^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Πελοπόννησος, 10-12 Ιουνίου **2011**.
27. **X. Νεοκλέους**, Α. Μπακώση, Χ. Χατεδάκη, Ε. Γερογιάννη, Κ. Γουργουλιάνης, Ε. Πετεινάκη. Συχνότητα Mycoplasma pneumoniae σε ενήλικες ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας στην περιοχή της Θεσσαλίας. 4^ο Εθνικό Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας & Κλινικών Λοιμώξεων. Αθήνα 12-14 Φεβρουάριος **2009**, σελ 117.

28. Α. Νταμάνη, **Χ. Νεοκλέους**, Δ. Κλάψα, Μ. Πανοπούλου, Ι. Σπηλιοπούλου, Φ. Κολονίτσου, Σ. Γράψα, Ε. Αλεποπούλου, Κ. Κουράκη, Δ. Κρίκου, Ε. Βλαχάκη, Χ. Κούτσια-Καρούζου, Λ. Ζερβά, Σ. Καρτάλη-Κτενίδου, Ε. Αναστασίου, Α. Μανιάτης, Ε. Πετεινάκη. Παγκόσμιοι επιδημικοί κλώνοι Βανκομυκίνη-Ανθεκτικού *Enterococcus-faecium* σε Ελληνικά Νοσοκομεία. 4^ο Εθνικό Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας & Κλινικών Λοιμώξεων. Αθήνα 12-14 Φεβρουάριος 2009, σελ 22.

29. Π. Σεργουνιώτης, Α. Σεργουνιώτη, **Χ. Νεοκλέους**, Δ. Μπουργανός, Ε. Πετεινάκη, Ε. Παπούλια. Μελέτη στελεχών *Enterococcus spp* από ασθενείς μονάδας τεχνητού νεφρού σε περιφερειακό νοσοκομείο. 4^ο Εθνικό Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας & Κλινικών Λοιμώξεων. Αθήνα 12-14 Φεβρουάριος **2009**, σελ 21.

Στην οικογένεια μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	vii
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	ix
ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	x
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	xx
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	xxii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΕΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	xxiv
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	xxv

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
1.1. Ορισμός	3
1.2. Ιστορική αναδρομή	3
1.3. Ταξινόμηση πνευμονιών	5
1.3.1. Πνευμονία της κοινότητας.....	5
1.3.2. Νοσοκομειακή Πνευμονία	5
1.3.3. Πνευμονία του Αναπνευστήρα.....	6
1.3.4. Πνευμονία αποκτημένη σε χώρο φροντίδας	7
2. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	7
2.1. Τρόποι αποικισμού κατώτερου αναπνευστικού	7
2.2. Φυσιολογικοί μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος	9
2.2.1. Μη ειδικοί μηχανισμοί άμυνας	9
2.2.2. Ειδικοί μηχανισμοί άμυνας.....	14
3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	15
4. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ	19
5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	22
5.1. Κλινική εικόνα-Τυπική πνευμονία	22
5.2. Κλινική εικόνα-Άτυπη πνευμονία	22
6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΕΣ	23
6.1. Πνευμονίες από τυπικά παθογόνα	23
6.1.1. Πνευμονιοκοκκική πνευμονία	23
6.1.2. Πνευμονία από <i>Haemophilus influenzae</i>	25
6.1.3. Σταφυλοκοκκική πνευμονία.....	27
6.1.4. Πνευμονίες από Gram αρνητικούς βακίλους.....	28
6.2. Πνευμονίες από άτυπα παθογόνα	28
6.2.1. Πνευμονία από <i>Chlamydia pneumoniae</i>	28
6.2.2. Πνευμονία από <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	30
6.2.3. Πνευμονία από <i>Legionella pneumophila</i>	32
6.3. Ιογενείς πνευμονίες	35
6.3.1. Γρίπη (Influenza).....	35
6.3.2. Παραγρίπη (Parainfluenza).....	38
6.3.3. Αναπνευστικός Συγκυτιακός ιός (Respiratory Syncytial virus).....	39
6.3.4. Ανθρώπινος Μεταπνευμονιός (Human Metapneumovirus).....	40
6.3.5. Αδενοϊός (Adenovirus).....	40

6.3.6. Ίλαρά (Measles).....	41
6.3.7. Ανεμευλογιά (Varicella).....	41
7. ΔΙΑΓΝΩΣΗ	42
7.1. Χαρακτηριστικές ακτινολογικές εικόνες πνευμονίας της κοινότητας.....	46
7.2. Γενικός εργαστηριακός έλεγχος.....	48
7.3. Ανίχνευση αιτιολογικού παράγοντα.....	48
7.3.1. Έλεγχος αιτιολογικού παράγοντα σε ασθενή που δεν νοσηλεύεται.....	48
7.3.2. Έλεγχος αιτιολογικού παράγοντα σε ασθενή που νοσηλεύεται.....	48
7.4. Έλεγχος για συγκεκριμένα παθόγονα.....	50
7.4.1. Άτυπα παθόγονα.....	50
7.4.1.1. <i>Chlamydophilia pneumoniae</i>	50
7.4.1.2. <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	51
7.4.1.3. <i>Legionella pneumophila</i>	52
7.4.1.4. <i>Chlamydia psittaci</i>	54
7.4.1.5. <i>Coxiella Burnetti</i>	55
7.4.2. Τυπικά παθόγονα.....	56
7.4.2.1. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	56
7.4.3. Ιογενείς πνευμονίες.....	57
7.4.3.1. Γρίπη (Influenza).....	57
7.4.3.2. Παραγρίπη (Parainfluenza).....	57
7.4.3.3. Αναπνευστικός Συγκυτιακός ιός (RSV).....	58
7.4.3.4. Αδενοϊός (Adenovirus).....	58
8. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ	59
8.1. Προβλήματα στην ερμηνεία καλλιέργειας πτυέλων.....	59
8.2. Προβλήματα στην ερμηνεία ορολογικών μεθόδων.....	60
8.3. Προβλήματα στην ερμηνεία μοριακών μεθόδων.....	62
9. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΜΕ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ	63
10. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΒΑΡΕΙΑΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ	67
11. ΘΕΡΑΠΕΙΑ	71
11.1. Χορήγηση αντιβιοτικών.....	71
11.2. Διάρκεια θεραπείας.....	72
11.3. Μετατροπή της iv σε per os αγωγή.....	73
11.4. Αίτια αποτυχίας της θεραπείας.....	73
11.5. Θεραπεία της ιογενούς πνευμονίας.....	75
11.6. Κριτήρια εξόδου από το νοσοκομείο.....	76
12. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	81
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	83
1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	85
1.1. Υλικά.....	85
1.1.1. Πληθυσμός της μελέτης.....	85
1.1.2. Κριτήρια επιλογής πληθυσμού μελέτης.....	85

1.1.3.	Κριτήρια αποκλεισμού από τον πληθυσμό μελέτης.....	86
1.1.4.	Συλλογή στοιχείων.....	86
1.1.5.	Συλλογή δειγμάτων.....	87
1.2.	Μεθοδολογία.....	88
1.2.1.	Πτύελα-πλευριτικά υγρά.....	88
	Gram χρώση: Έλεγχος καταλληλότητας δείγματος πτυέλων και	
1.2.1.1.	προσδιορισμός παρουσίας μικροοργανισμών στα πτύελα και	
	πλευριτικά υγρά.....	88
1.2.1.2.	Καλλιέργεια Πτυέλων-Πλευριτικών υγρών: Προσδιορισμός	
	παρουσίας μικροοργανισμών-Αντιβιογράμμα.....	90
1.2.1.3.	PCR: Ανίχνευση γενετικού υλικού παθογόνων μικροοργανισμών	93
1.2.2.	Ορός αίματος.....	100
1.2.2.1.	ELISA: Προσδιορισμός ειδικών αντισωμάτων έναντι άτυπων	
	παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού.....	100
1.2.3.	Ούρα.....	104
	Ag <i>Streptococcus pneumoniae</i> και <i>Legionella pneumophila</i> : Έλεγχος	
1.2.3.1.	αντιγόνου <i>Streptococcus pneumoniae</i> και <i>Legionella pneumophila</i>	
	σε δείγματα ούρων.....	104
1.3.	Κριτήρια σίγουρης αιτιολογικής διάγνωσης.....	106
2.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	107
2.1.	Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης.....	107
2.2.	Δείγματα προς μελέτη - Μικροβιολογική διερεύνηση.....	107
2.2.1.	Πτύελα-πλευριτικά υγρά.....	109
2.2.1.1.	Gram χρώση.....	109
2.2.1.2.	Καλλιέργεια.....	112
2.2.1.3.	Μοριακές μέθοδοι (PCR, nested-PCR).....	113
2.2.2.	Ορός αίματος.....	115
	Ορολογικός έλεγχος παρουσίας ειδικών αντισωμάτων έναντι των	
2.2.2.1.	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> και <i>Legionella</i>	
	<i>pneumophila</i>	115
2.2.3.	Ούρα.....	118
2.2.3.1.	Έλεγχος αντιγόνου <i>Streptococcus pneumoniae</i> και <i>Legionella</i>	
	<i>pneumophila</i> σε δείγματα ούρων.....	118
2.3.	Συχνότητα παθογόνων μικροοργανισμών.....	118
3.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	121
4.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	141
	SUMMARY.....	145
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	147

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<u>Εικόνα 1:</u>	Α. Βρογχικό επιθήλιο. Σε εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διακρίνονται: CC= κροσσωτά κύτταρα, BrC= ψηκτροειδή κύτταρα, GC= καλυκοειδή κύτταρα, NCC= κύτταρα χωρίς κροσσούς, BC= βασικά κύτταρα, N= νευρικό κύτταρο με υποδοχείς. Β. Η κίνηση των κροσσών διακρίνεται σε δύο φάσεις, μία ταχεία προς τα εμπρός και μία βραδεία επανόδου, κατά την οποία οι κροσσοί διαδοχικά κάμπτονται προς την επιφάνεια του κυττάρου (Επίτομη Πνευμονολογία: Οι Μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος).	10
<u>Εικόνα 2:</u>	Ο ρόλος του αναπνευστικού επιθηλίου στην άμυνα ενάντια στη λοίμωξη. Εκκρινόμενες ουσίες από το αναπνευστικό επιθήλιο κατά τη διάρκεια φλεγμονής (στον αυλό του αναπνευστικού συστήματος και στην κυκλοφορία).	12
<u>Εικόνα 3:</u>	Διαδικασία μη ειδικής ανοσολογικής απάντησης στις κυψελίδες. Συμμετοχή κυτοκινών, χημειοκινών, κυττάρων φλεγμονής, ενδοθηλίου και επιθηλιακών κυττάρων των κυψελίδων.	14
<u>Εικόνα 4:</u>	Ο <i>S. pneumoniae</i> στην gram χρώση. Gram θετικός διπλόκοκκος σχήματος λόγχης.	23
<u>Εικόνα 5:</u>	(α) Ο <i>Haemophilus influenzae</i> απαιτεί τους παράγοντες X (αιματίνη), και V (νουκλεοτίδια φωσφοπυριδίνης, NAD ή NADP) για να αναπτυχθεί (β) Ο <i>Haemophilus influenzae</i> στην gram χρώση, gram αρνητικός κοκκοβάκιλλος.	26
<u>Εικόνα 6:</u>	Ο <i>Staphylococcus aureus</i> στην gram χρώση	27
<u>Εικόνα 7:</u>	Ιοσώματα (virions) του ιού Α της ινφλουέντζας (βέλη) εικονίζονται να εκβλαστάνουν στην επιφάνεια κυττάρων νεφρών πιθήκων rhesus (K). Στο πλαίσιο κάτω αριστερά, ο πυκνός νουκλεοπρωτεϊνικός πυρήνας του ιού (βέλη) μπορεί να διακριθεί από το διαυγέστερο θύσανο των μεμονωμένων προσεκβολών αιμοσυγκολλητίνης και νευραμινιδάσης (κεφαλές βελών).	36
<u>Εικόνα 8:</u>	Σχηματική παράσταση της δομής του Αναπνευστικού Συγκυτιακού Ιού (RSV) και του Ιού της Παραγρίπης (PIV).	39
<u>Εικόνα 9:</u>	Πνευμονία από πνευμονιόκοκκο. Πάντοτε πρέπει να γίνεται κατά μέτωπο και πλάγια ακτινογραφία θώρακος για την αποκάλυψη οπισθοπερικαρδιακών ή προκαρδιακών πυκνώσεων.	43
<u>Εικόνα 10:</u>	Πνευμονία δεξιού κάτω πνευμονικού πεδίου πριν (άνω) και μετά τη θεραπεία (κάτω).	44
<u>Εικόνα 11:</u>	Πλευριτική συλλογή δεξιά και παρεγχυματικές διηθήσεις αριστερού κάτω πνευμονικού πεδίου πριν (αριστερά) και μετά τη θεραπεία (δεξιά).	45
<u>Εικόνα 12:</u>	Πνευμονία από <i>Klebsiella</i> καταλαμβάνει το δεξιό άνω λοβό.	46
<u>Εικόνα 13:</u>	Πνευμονία από πνευμονιόκοκκο. Η πυκνωση καταλαμβάνει τα 2/3 του δεξιού πνεύμονα. Δεν υπάρχει απώλεια πνευμονικού όγκου.	46
<u>Εικόνα 14:</u>	Η σταφυλοκοκκική πνευμονία. Διάσπαρτες οζώδεις σκιάσεις και στα δύο πνευμονικά πεδία. Μερικές εμφανίζουν κεντρική τήξη. Η εικόνα αυτή, μαζί με την πλευρίτιδα (δεν υπάρχει στην ακτινογραφία), αποτελούν τα χαρακτηριστικά ακτινολογικά στοιχεία της νόσου.	46
<u>Εικόνα 15:</u>	Πνευμονία δεξιού κάτω πνευμονικού πεδίου με σπήλαια.	47
<u>Εικόνα 16:</u>	Πνευμονία από ιό γρίπης (τύπου C) σε άνδρα 46 ετών με δύσπνοια. Από αριστερά προς τα δεξιά: (α) Η αρχική α/α θώρακος δείχνει	47

	διάχυτες δικτυοοζώδεις σκιάσεις σε αμφοτέρους τους πνεύμονες. (β) Δεκαπέντε ημέρες μετά υπάρχει επιδείνωση με διάχυτη πύκνωση σε όλη την έκταση αμφοτέρων των πνευμόνων. (γ) HRCT (1mm) μία ημέρα μετά την (β) δείχνει διάχυτες σκιάσεις τύπου ground glass με κάποιες ακανόνιστες γραμμοειδείς σκιάσεις άμφω.	
<u>Εικόνα 17:</u>	Διαδικασία Gram χρώσης	89
<u>Εικόνα 18:</u>	Συνήθη στερεά θρεπτικά υλικά Αιματούχο (α), Αιματούχο οπτοχίνη (+) <i>S. pneumoniae</i> (β), Σοκολατόχρωμο <i>H. Influenzae</i> (γ), MacConkey άγαρ (Λακτόζη (+), Λακτόζη (-)) (δ).	92
<u>Εικόνα 19:</u>	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης είναι δυνατό να παραχθούν πολλαπλάσια αντίγραφα μιας επιλεγμένης περιοχής του DNA στόχου.	95
<u>Εικόνα 20:</u>	Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης (α) B2 σφαιρίνη PCR, Προϊόν αντίδρασης 280bp (β) 16SrRNA PCR, Προϊόν αντίδρασης 600bp (γ) <i>S. pneumoniae</i> PCR, Προϊόν αντίδρασης 319bp (δ) <i>Mycoplasma pneumoniae</i> PCR, Προϊόν αντίδρασης 210bp (ε) <i>C. pneumoniae</i> , Προϊόν αντίδρασης 1397bp και 858 bp.	99
<u>Εικόνα 21:</u>	Τεχνική ELISA. Βήματα ELISA (α). Μικροπλάκα ELISA (β).	101
<u>Εικόνα 22:</u>	Κιτ για την ανίχνευση αντιγόνου του <i>Streptococcus pneumoniae</i> στα ούρα.	105

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1:	Οι λειτουργίες των πνευμονικών κυψελιδικών μακροφάγων	11
Πίνακας 2:	Δέκα κύριες αιτίες θανάτου, όλων των ηλικιών στις Η.Π.Α., 2002	16
Πίνακας 3:	Δέκα κύριες αιτίες θανάτου, όλων των ηλικιών στο Ηνωμένο Βασίλειο, 2002	16
Πίνακας 4:	Επίπτωση πνευμονίας της κοινότητας σε ασθενείς που χρήζουν νοσηλείας / 1000 κατοίκους στην Αγγλία	18
Πίνακας 5:	Αιτιολογία πνευμονιών (<i>British Thoracic Society, 2001</i>)	20
Πίνακας 6:	Επιδημιολογικοί παράγοντες στην αιτιολογία της πνευμονίας της κοινότητας. <i>Εταιρεία λοιμώξεων των ΗΠΑ (Infectious Diseases Society of America, IDSA)</i>	21
Πίνακας 7:	Ακτινολογική διάγνωση του αιτίου της πνευμονίας	44
Πίνακας 8:	Συνήθεις εργαστηριακές εξετάσεις στο νοσοκομείο σε πνευμονία κοινότητας	50
Πίνακας 9:	Μικροβιολογικές εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης άτυπης πνευμονίας	56
Πίνακας 10:	Οργανισμοί που εποικίζουν το στοματοροφάρυγγα	60
Πίνακας 11:	Κλίμακα CURB-65	64
Πίνακας 12:	Υπολογισμός του δείκτη βαρύτητας πνευμονίας (<i>Pulmonary Severity Index, PSI</i>)	66
Πίνακας 13:	Κριτήρια διάγνωσης βαρειάς πνευμονίας της κοινότητας (BTS, 2001; ATS, 1993). Οι οδηγίες της ATS και οι τροποποιήσεις τους. Η παρουσία δύο ελασσόνων ή ενός μείζονος κριτηρίου θεωρείται αρκετή για το χαρακτηρισμό μιας πνευμονίας ως βαρειάς	68
Πίνακας 14:	Abbreviated mental test (BTS, 2001). Αξιολόγηση του βαθμού σύγχυσης του ασθενούς. Κάθε ορθή απάντηση χρεώνεται με ένα βαθμό. Score ≤ 8 ορίζει την παρουσία διανοητικής σύγχυσης στα τροποποιημένα κριτήρια της BTS	69
Πίνακας 15:	Κατευθυντήριες οδηγίες της IDSA για τη θεραπεία της πνευμονίας	77
Πίνακας 16:	Οδηγίες (IΦET 2006) για την αντιμετώπιση της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας σε ασθενείς χωρίς συνοδά νοσήματα	78
Πίνακας 17:	Οδηγίες (IΦET 2006) για την αντιμετώπιση της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας σε ασθενείς με συνοδά νοσήματα	79
Πίνακας 18:	Συστάσεις για εμπειρική αγωγή στη βαρεία πνευμονία της κοινότητας	80
Πίνακας 19:	Συνολικός αριθμός και μέθοδοι επεξεργασίας των δειγμάτων στην παρούσα μελέτη	87
Πίνακας 20:	Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη	97
Πίνακας 21:	Όρια οπτικών πυκνοτήτων (O.D) ορών ελέγχου για τη διάγνωση λοίμωξης από <i>Mycoplasma pneumoniae</i> (IgM, IgA, IgG) (450/620nm)	101
Πίνακας 22:	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (IgM, IgA, IgG <i>Mycoplasma pneumoniae</i>) με βάση την οπτική πυκνότητα (O.D) των εξεταζόμενων δειγμάτων	102
Πίνακας 23:	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό αντισωμάτων IgG, IgA και IgM για τη διάγνωση λοίμωξης από <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	102
Πίνακας 24:	Όρια οπτικών πυκνοτήτων (O.D) ορών ελέγχου για τη διάγνωση λοίμωξης <i>Legionella pneumophila</i> (IgM, IgG) (450/620nm)	102
Πίνακας 25:	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (IgM, IgG <i>Legionella pneumophila</i> (serogroup 1) με βάση την οπτική πυκνότητα (O.D.) των εξεταζόμενων δειγμάτων	102

Πίνακας 26:	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό αντισωμάτων IgG, και IgM για τη διάγνωση λοίμωξης από <i>Legionella pneumophila</i>	103
Πίνακας 27:	Όρια οπτικών πυκνοτήτων (O.D) ορών ελέγχου για τη διάγνωση λοίμωξης <i>Chlamydia pneumoniae</i> (IgM, IgG,IgA) (450nm)	103
Πίνακας 28:	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (IgM, IgG, IgA <i>Chlamydia pneumoniae</i> με βάση την οπτική πυκνότητα (O.D) των εξεταζόμενων δειγμάτων	103
Πίνακας 29:	Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό αντισωμάτων IgM, IgG, IgA και για τη διάγνωση λοίμωξης από <i>Chlamydia pneumonia</i>	103
Πίνακας 30:	Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης	108
Πίνακας 31:	Συνολικός αριθμός και μέθοδοι επεξεργασίας των δειγμάτων στην παρούσα μελέτη	109
Πίνακας 32:	Μορφολογία παθογόνου μικροοργανισμού στην gram χρώση πτυέλων και πλευριτικού υγρού και μικροοργανισμοί που ανιχνεύθηκαν στις καλλιέργειες την PCR και τις ορολογικές μεθόδους	110
Πίνακας 33:	Ευαισθησία και ειδικότητα της gram χρώσης στη διάγνωση της λοίμωξης από <i>Streptococcus pneumonia</i>	111
Πίνακας 34:	Ευαισθησία και ειδικότητα της gram χρώσης στη διάγνωση της λοίμωξης από <i>Haemophilus Influenzae</i>	111
Πίνακας 35:	Ευαισθησία και ειδικότητα της gram χρώσης στη διάγνωση της λοίμωξης από gram (-) (<i>CNEB+Ps.aeruginosa</i>)	112
Πίνακας 36:	Ταυτοποίηση των μικροοργανισμών με την καλλιέργεια, την PCR, Ag <i>S. pneumoniae</i> και <i>L. pneumophila</i> στα ούρα και ορολογικές μεθόδους	115
Πίνακας 37:	Ορολογική ένδειξη λοίμωξης από <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> και <i>Legionella pneumophila</i>	116
Πίνακας 38:	Επιπολασμός αντισωμάτων έναντι άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού	117
Πίνακας 39:	Αριθμός ασθενών που ανιχνεύθηκε μικροοργανισμός με διάφορες μικροβιολογικές μεθόδους	118
Πίνακας 40:	Συχνότητα απομονωθέντων μικροοργανισμών σε ασθενείς με Πνευμονία της κοινότητας	119

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΕΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Σχεδιάγραμμα 1: Αξιολόγηση της βαρύτητας της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας με την κλίμακα CURB-65 προκειμένου να γίνει είσοδος του ασθενή στο Νοσοκομείο (Κοντοπυργίας & Χείλας)

65

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

IDSA Infectious diseases society of America

ATS American Thoracic Society

ERS European Respiratory Society

BTS British Thoracic Society

ΜΕΘ Μονάδα Εντατικής Θεραπείας

ΧΑΠ Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια

ΙΦΕΤ Ινστιτούτο Φαρμακευτικής Έρευνας & Τεχνολογίας

PSI Pulmonary Severity Index

PORT Patient Outcomes Research Team

GNEB gram negative enteric bacilli

Ht Αιματοκρίτης

Hb Αιμοσφαιρίνη

CRP C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

ΤΚΕ Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών

CURB-65 Confusion, Urea, Respiratory rate, Blood pressure

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Ως πνευμονία ορίζεται η φλεγμονή τού πνευμονικού παρεγχύματος (κυψελιδικού και περικυψελιδικού χώρου), που μπορεί να προκληθεί από μια ποικιλία αιτιολογικών παραγόντων λοιμωδών και μη λοιμωδών.

Στα μη λοιμώδη αίτια περιλαμβάνονται η εισρόφηση γαστρικού οξέως, τροφής, ξένων σωμάτων, υδρογονανθράκων και λιποειδών ουσιών, αντιδράσεις υπερευαισθησίας καθώς και η πνευμονίτιδα που προκαλείται από φάρμακα ή ακτινοβολία (Besman & Lyons, 1959).

Οι περισσότερες όμως περιπτώσεις πνευμονίας προκαλούνται από λοιμώδεις μικροοργανισμούς. Σε αυτή την περίπτωση η πνευμονία ορίζεται ως μια εξαιρετικά ετερογενής ομάδα λοιμώξεων τού κατώτερου αναπνευστικού (κυψελιδικού και περικυψελιδικού χώρου) με ποικιλία αιτιολογικών μικροβιακών παραγόντων, επιδημιολογικών χαρακτηριστικών, παθογένειας και φυσικής ιστορίας. Είναι η συχνότερη λοίμωξη που επιβάλλει εισαγωγή σε νοσοκομείο με σημαντική θνησιμότητα (Woodhead, 2002).

1.2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η πνευμονία, ως παθολογική κατάσταση έχει διαπιστωθεί από τα αρχαία χρόνια, με τις πρώτες περιπτώσεις πνευμονίας να αναγνωρίζονται στις μούμιες των Αρχαίων Αιγυπτίων που είχαν ζήσει μεταξύ 1250 και 1000 π.Χ. Στην Ευρώπη πρωτοπεριγράφηκε από τους Αρχαίους Έλληνες (Ιπποκράτης (460 π.Χ.-360 π.Χ.) με τον όρο *περιπνευμονία*. Ο Κέλσιος (Jokinen et al., 1993) αναφέρει ότι οι αρχαίοι Έλληνες περιέγραφαν την «περιπνευμονία» ως μία οξεία και σοβαρή νόσο με χαρακτηριστικά συμπτώματα όπως πυρετό οξείας έναρξης, βήχα και δύσπνοια. Στη συνέχεια αναφορές για την πνευμονία βρίσκουμε σε διάφορα έγγραφα καθ' όλη τη διάρκεια της Ευρωπαϊκής ιστορίας.

Για πρώτη φορά ακριβή περιγραφή της πνευμονίας βρίσκουμε το 17^ο αιώνα στα έγγραφα του Thomas Willis (Αγγλία) ο οποίος αναφέρει ότι, «η περιπνευμονία παρουσιάζεται με πυρετό οξείας έναρξης, βήχα και δυσκολία στην αναπνοή» (Lieberman et al., 1996). Αργότερα, το 1830, ο Laennec πρώτος περιγράφει τις παθολογικές μεταβολές που παρατηρούνται στην πνευμονία (Woodhead, 2002; Willis, 1684; Laennec,

1830). Είναι ο πρώτος που περιέγραψε τους τρίζοντες ήχους ως παθογνωμονικό αντικειμενικό εύρημα της περιπνευμονίας. Με την ανάπτυξη της ιατροδικαστικής αναγνωρίστηκαν δύο διαφορετικά είδη φλεγμονής στον πνεύμονα, τα οποία ο Rokitansky (Heffron, 1939), το 1842, χαρακτήρισε ως λοβώδη πνευμονία και ως βρογχοπνευμονία. Οι ορισμοί αυτοί χρησιμοποιούνται ακόμη και σήμερα.

Το 1875 ο Edwin Klebs (Γερμανο-Ελβετός παθολόγος) ανακάλυψε βακτήρια σε βρογχικά δείγματα ασθενών που πέθαναν από πνευμονία, αλλά δεν εκτίμησε τη σημαντικότητα αυτών των ευρημάτων (Woodhead, 2002; Klebs, 1875). Στη Γαλλία το 1881 ο Pasteur πρώτος, ακολουθούμενος μετά από τρεις μήνες από τον Sternberg (Νέα Ορλεάνη) περίγραψε τον πνευμονιόκοκκο που απομονώθηκε από κουνέλια, στα οποία έγινε ενοφθαλμισμός πτυέλων από παιδί 5 ετών που πέθανε από πνευμονία (Woodhead, 2002; Pasteur, 1881; Sternberg, 1881). Το 1882/1883 ο Γερμανός Karl Friedlander ήταν ο πρώτος που εισηγήθηκε τη σχέση μεταξύ πνευμονίας και βακτηρίων έχοντας βρει τέτοιους μικροοργανισμούς σε 50 ασθενείς με πνευμονία (Woodhead, 2002; Friedlander, 1882; Friedlander, 1883). Με την εργασία του ο Friedlander έκανε μια εισαγωγή στην Gram χρώση η οποία περιγράφηκε αργότερα το 1884 από τον Christian Gram (Friedlander, 1882; Gram 1884). Η πρώτη μικροβιολογική μελέτη σε ασθενείς με πνευμονία έγινε το 1886 από τον Αυστριακό Weichselbaum ο οποίος είχε αναφέρει 129 περιπτώσεις πνευμονίας από τις οποίες στις 94, αιτιολογικός παράγοντας ήταν ο *Streptococcus pneumoniae* στις 9 η *Klebsiella pneumoniae* και στις 5 ο *Staphylococcus aureus* (Woodhead, 2002; Weichselbaum, 1886).

Ο Sir William Osler από τον Καναδά γνωστός και ως ο πατέρας της σύγχρονης ιατρικής το 1918 πρώτος εκτίμησε τη νοσηρότητα και θνητότητα της πνευμονίας αναφέροντας την πνευμονία ως "captain of the men of death".

Στον 20 αιώνα οι μελέτες επικεντρώθηκαν στη μελέτη του είδους των μικροοργανισμών που προκαλούν πνευμονία στην κοινότητα και ιδιαίτερα των άτυπων και ιογενών πνευμονιών. Ο όρος άτυπη πνευμονία πρωτοχρησιμοποιήθηκε από τον Reimann το 1933 στις ΗΠΑ και ενοχοποιήθηκε ως αιτιολογικός παράγοντας αυτής το *Mycoplasma pneumoniae* (Chanock, 1963). Αν και η ψιττάκωση ως κλινική οντότητα πρωτοπεριγράφηκε στην Ελβετία το 1880 ο αιτιολογικός παράγοντας *Chlamydia psittaki* δεν περιγράφηκε μέχρι το 1930 και μετά ταυτόχρονα στην Αγγλία, Γερμανία και ΗΠΑ (Ritter, 1980). Ο ιός της γρίπης περιγράφηκε στην Αγγλία το 1933 (Smith et al., 1933) και η *Coxiella burnetti* το αίτιο του πυρετού Q ανακαλύφθηκε στην Αυστραλία το 1933 (Burnet & Freeman, 1937). Πιο πρόσφατα τέθηκαν ως αιτιολογικοί παράγοντες της

πνευμονίας της κοινότητας η *Legionella pneumophila* (1977) (McDade et al., 1977) και το *Chlamydia pneumoniae* (1986) (Grayston et al., 1986) που πρωτοπεριγράφηκαν στις ΗΠΑ.

1.3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΠΝΕΥΜΟΝΙΩΝ

Με βάση τα επιδημιολογικά δεδομένα τέσσερις τύποι πνευμονίας μπορούν να διακριθούν με διαφορετική επίπτωση, πρόγνωση, αιτιολογία και θεραπεία ο κάθε ένας από αυτούς (ATS guidelines).

1.3.1. Πνευμονία της κοινότητας

Πρόκειται για την πνευμονία που αναπτύσσεται έξω από νοσοκομειακό περιβάλλον, σε άτομο που δεν έχει πρόσφατα νοσηλευθεί και δεν είναι ανοσοκατασταλμένο. Τα αίτια που την προκαλούν εξαρτώνται από την ηλικία του ασθενούς με τα πιο συχνά να είναι ο *Streptococcus pneumoniae*, ο *Haemophilus influenzae*, η *Moraxella catarrhalis*, άτυπα βακτήρια (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) και ιοί (ιός της Γρίπης, της Ιός της Παραγρίπης, Αναπνευστικός Συγκυτιακός Ιός, Αδενοϊοί και ο πρόσφατα αναγνωρισθείς Ανθρώπινος Μεταπνευμονοϊός.) Δυνατόν επίσης να αποτελέσει επιπλοκή της Ιλαράς και της Ανεμευλογιάς. Ο Μεγαλοκυτταροϊός και ο Ιός του Απλού Έρπητα αν και δυνητικά αίτια πνευμονίας της κοινότητας συνήθως προσβάλλουν ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Τα Gram (-) βακτήρια προκαλούν πνευμονία της κοινότητας σε ασθενείς με επιβαρυντικούς παράγοντες (συνυπάρχοντα νοσήματα) (Kollef et al., 2005; Carratalà et al., 2007; Niedelman et al., 2005; Kollef et al., 2005b).

1.3.2. Νοσοκομειακή Πνευμονία

Πρόκειται για την πνευμονία που αναπτύσσεται 48 ή περισσότερες ώρες μετά την είσοδο σε νοσοκομείο για νοσηλεία για κάποιον άλλο λόγο αφού αποκλειστεί κάθε λοίμωξη που προϋπάρχει ή βρίσκεται υπό εξέλιξη το προηγούμενο διάστημα. Οι ασθενείς αυτοί πιθανόν να έχουν συνυπάρχοντα νοσήματα (καρδιακά, χρόνια πνευμονικά, ανοσοκαταστολή, νεοπλάσματα) που τους καθιστούν ευπαθείς στην ανάπτυξη πνευμονίας. Επιπρόσθετα οι μικροοργανισμοί που εκτίθενται στο

νοσοκομειακό περιβάλλον είναι διαφορετικοί από αυτούς στην κοινότητα. Πιθανά αίτια στην πρόκληση νοσοκομειακής πνευμονίας είναι ο *Staphylococcus aureus* και κυρίως ο MRSA και Gram (-) αερόβιοι βακτηρίδια όπως *Pseudomonas* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp. και *Klebsiella* spp. (American Thoracic Society, 2005).

Κατά άλλους η νοσοκομειακή πνευμονία πρώιμης έναρξης (δηλαδή αυτή που εμφανίζεται μετά από νοσοκομειακή παραμονή μικρότερη των 5 ημερών) όταν δεν συνδυάζεται με άλλη πρόσφατη νοσηλεία, διαμονή σε ιδρύματα παροχής χρόνιας φροντίδας και λήψη αντιβιοτικών, προκαλείται συνήθως από τα παθογόνα της πνευμονίας της κοινότητας ή αναερόβια μικρόβια. Αντίθετα, η νοσοκομειακή πνευμονία όψιμης έναρξης (δηλαδή εκείνη που αναπτύσσεται μετά την 5^η ημέρα νοσηλείας ή όταν συντρέχουν οι παράγοντες που αναφέρθηκαν) είναι συνήθως αποτέλεσμα της προσβολής του πνευμονικού παρεγχύματος από ανθεκτικά στα περισσότερα αντιβιοτικά gram-αρνητικά βακτηρίδια ή από τον ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

1.3.3. Πνευμονία του Αναπνευστήρα

Η πνευμονία του αναπνευστήρα κατά άλλους αποτελεί υποκατηγορία της νοσοκομειακής πνευμονίας και ορίζεται ως η πνευμονία που αναπτύσσεται σε ασθενή μετά από διασωλήνωση της τραχείας και τουλάχιστον 48h μηχανικού αερισμού. Η τοποθέτηση τραχειοσωλήνα για την εφαρμογή μηχανικού αερισμού έχει ως αποτέλεσμα την παράκαμψη των μηχανισμών προστασίας που διαθέτει το ανώτερο αναπνευστικό έναντι της εισόδου μικροβίων στους πνεύμονες. Αποτέλεσμα είναι ο αποικισμός του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος από δυνητικά παθογόνα μικρόβια. Η παραμονή του τραχειοσωλήνα οδηγεί στη δημιουργία μιας βιομεμβράνης που επαλείφει τον αυλό του και αποτελείται από ένα μίγμα οργανικών ουσιών και μικροβίων. Η εισρόφηση αυτού του υλικού καθώς και των εκκρίσεων που συσσωρεύονται στο στοματοφάρυγγα, έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν σημαντικούς μηχανισμούς πρόκλησης της πνευμονίας που σχετίζεται με τη χρήση του αναπνευστήρα. Τα παθογόνα αίτια είναι κοινά με αυτά της νοσοκομειακής πνευμονίας, κυριαρχώντας σε αυτή την κατηγορία τα MDR παθογόνα (Niedelman et al., 2005).

1.3.4. Πνευμονία αποκτημένη σε χώρο φροντίδας

Πρόκειται για καινούρια κατηγορία πνευμονίας, συγγενής από πλευράς επιδημιολογίας και αιτιοπαθογένειας της νοσοκομειακής πνευμονίας. Ορίζεται ως η πνευμονία που αναπτύσσεται έξω από το νοσοκομείο:

- σε ασθενείς που έλαβαν ενδοφλέβια θεραπεία (π.χ αντιβιοτικά), χημειοθεραπεία ή ειδική θεραπεία (π.χ τεχνητή αιμοκάθαρση) 30 ημέρες πριν την ανάπτυξη πνευμονίας,
- σε ασθενείς που νοσηλεύτηκαν σε νοσοκομείο για ≥ 2 ημέρες τις προηγούμενες 90 ημέρες,
- σε μόνιμα νοσηλευόμενους σε κέντρα φροντίδας ή άλλου παρόμοιου είδους κέντρα φροντίδας.

Τα αίτια που την προκαλούν είναι τα ίδια με τη νοσοκομειακή πνευμονία (Kollef et al., 2005; Carratalà et al., 2007; Niedelman et al., 2005; Kollef et al., 2005b).

2. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ**2.1. Τρόποι αποικισμού κατώτερου αναπνευστικού**

Δύο συνθήκες πρέπει να πληρούνται ώστε να εγκατασταθεί λοίμωξη στους πνεύμονες. Η πρώτη αφορά στην ικανότητα του παθογόνου μικροοργανισμού να αποκτήσει πρόσβαση στο, φυσιολογικά, στείρο κατώτερο αναπνευστικό (*είσοδος στο αναπνευστικό σύστημα*) και η δεύτερη στην αποτυχία των φυσιολογικών μηχανισμών άμυνας του αναπνευστικού συστήματος να απομακρύνουν τον παθογόνο μικροοργανισμό με αποτέλεσμα τον αποικισμό του κατώτερου αναπνευστικού και την έναρξη φλεγμονώδους αντίδρασης. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να εισβάλουν στο κατώτερο αναπνευστικό με τους εξής τρόπους:

- Άμεση εγκατάσταση μέσω αιωρούμενων λοιμωδών σταγονιδίων,
- Αιματογενής διασπορά από μια άλλη εστία λοίμωξης,
- Αποικισμός του ανώτερου αναπνευστικού από παθογόνους μικροοργανισμούς και εισρόφηση των στοματοφαρυγγικών εκκρίσεων. Αποτελεί το βασικό παθογενετικό μηχανισμό στους μη διασωληνωμένους ασθενείς και ιδίως στα

άτομα που έχουν μειωμένο αντανεκλαστικό κατάποσης (Twigg, 2004; Rennard & Romberger, 2000; Mason & Nelson, 1992; Busse, 1991).

- Επανεργοποίηση παρελθούσας λοίμωξης (συχνά σε ανοσοκατασταλμένα άτομα) (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press)
- Εγκατάσταση λοίμωξης κατά συνέχεια ιστών από μια γειτονική εστία λοίμωξης. (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press)
- Άμεσος ενοφθαλμισμός εξαιτίας ιατρικών διαγνωστικών πράξεων (π.χ αναρροφήσεις βρογχικών εκκρίσεων ή αερολυμάτων ή βρογχοσκοπήσεις) Θεωρείται λιγότερος σημαντικός μηχανισμός.
- Η μικροβιακή αλλόθεση (microbial translocation) από το γαστρεντερικό σύστημα πιθανό να ευθύνεται για μέρος των νοσοκομειακών πνευμονιών. Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή, στους βαριά πάσχοντες με αιμοδυναμική αστάθεια ή shock, δίνεται η δυνατότητα στα μικρόβια που περιέχονται στο γαστρεντερικό σωλήνα να διαφύγουν προς τη συστηματική κυκλοφορία καθώς η ισχαιμία δημιουργεί μικρορωγμές του εντερικού βλεννογόνου που καταργούν την ακεραιότητα του φυσιολογικού αυτού φραγμού. Έτσι τα μικρόβια μπορούν να φθάσουν σε απομακρυσμένα όργανα -όπως ο πνεύμονας- και να προκαλέσουν πνευμονία (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Αποικισμός του ανώτερου αναπνευστικού από παθογόνους μικροοργανισμούς μπορεί να συμβεί οποτεδήποτε αλλά αυξάνει σημαντικά σε περιόδους επιδημίας από τυπικά παθογόνα του κατώτερου αναπνευστικού και σε περιπτώσεις στενού συγχρωτισμού. Εισρόφηση μικρών ποσοτήτων στοματοφαρυγγικών εκκρίσεων που περιέχουν ικανή ποσότητα παθογόνων μικροοργανισμών για να προκαλέσουν πνευμονία, συμβαίνει συχνά κυρίως κατά τον ύπνο αλλά στα υγιή άτομα οι μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος επιτυγχάνουν τον καθαρισμό των αεραγωγών και των κυψελίδων. Αποτυχία των μηχανισμών άμυνας στον καθαρισμό των αεραγωγών έχει ως αποτέλεσμα τον αποικισμό του κατώτερου αναπνευστικού από τον παθογόνο μικροοργανισμό, την έναρξη της φλεγμονώδους αντίδρασης και την πρόκληση πνευμονίας (Johanson et al., 1969; Fuxench-Lopez & Ramirez-Ronda, 1978).

2.2. Φυσιολογικοί μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος

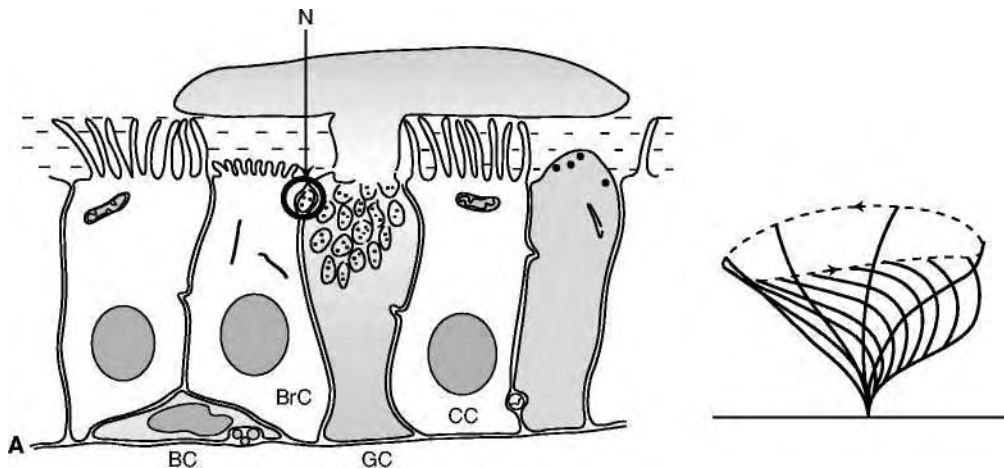
Γενικά οι μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος διακρίνονται στους μη ειδικούς και στους ειδικούς μηχανισμούς άμυνας. Στους μη ειδικούς μηχανισμούς άμυνας ανήκουν οι ανατομικοί/μηχανικοί φραγμοί και οι μη ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί και στους ειδικούς οι ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί.

2.2.1. Μη ειδικοί μηχανισμοί άμυνας

α. Ανατομικοί- Μηχανικοί

- Το ψευδοπολύστοιβο και κυβοειδές επιθήλιο του τραχειβρογχικού δένδρου που αποτελείται από κροσσωτά και βλεννοεκκριτικά κύτταρα παρέχει ένα μηχανισμό βλεννοκροσσωτής κάθαρσης, αφού εισπνεόμενοι μικροοργανισμοί παγιδεύονται στο βλεννώδες υλικό που επικαλύπτει τα κροσσωτά κύτταρα και έπειτα με την συντονισμένη κίνηση των κροσσών οδηγούνται στο ανώτερο αναπνευστικό όπου και αποβάλλονται με το βήχα διαμέσου του στοματοφάρυγγα είτε καταπίνονται (Εικόνα 1) (Hippenstiel et al., 2006; Twigg, 2004; Rennard & Romberger, 2000; Kazmierowski, 1977). Κάθε κύτταρο του κροσσωτού επιθηλίου έχει 200 περίπου κροσσούς. Αυτοί δονούνται με συχνότητα 20 δονήσεων ανά λεπτό με κατεύθυνση προς το λάρυγγα. Το στρώμα βλέννας που επικαλύπτει το κροσσωτό επιθήλιο αποτελείται από δυο στιβάδες. Την ιξώδη βλέννα που είναι πλούσια σε γλυκοπρωτεΐνες και εκκρίνεται από καλκοειδή κύτταρα και τους υποβλεννογονίους βρογχικούς αδένες. Η ιξώδης βλέννα επικαλύπτει την υδαρή βλέννα που καταλαμβάνει το χώρο που βρίσκεται ανάμεσα στους κροσσούς. Οι κορυφές μόνο των κροσσών εφάπτονται του στρώματος της ιξώδους βλέννας. Η υδαρής βλέννα παράγεται από τα βασικά επιθηλιακά κύτταρα. Οι δονήσεις των κροσσών μετακινούν το στρώμα βλέννας των βρόγχων προς τον οροφάρυγγα. Σωματίδια μεταφέρονται με το σύστημα βλέννας-κροσσών στον οροφάρυγγα και καταπίνονται. Αν για οποιοδήποτε λόγο το βλεννοκροσσωτό σύστημα κάθαρσης υποστεί βλάβη, (π.χ. κάπνισμα, Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)) με αποτέλεσμα η συντονισμένη κίνηση των κροσσών αλλά και η φυσιολογική σύνθεση της βλέννας μεταβληθούν, τότε οι μικροοργανισμοί μπορεί να αποικίσουν το φυσιολογικά στείρο κατώτερο αναπνευστικό.

- Οι φυσιολογικές διακλαδώσεις του βρογχικού δένδρου επίσης δρουν σαν ένας φυσιολογικός ανατομικός φραγμός στη δίοδο μικροοργανισμών στο κατώτερο αναπνευστικό (Mason & Nelson, 1992).
- Η λειτουργία της γλωττίδας που φυσιολογικά κατά την κατάποση αποκλείει το αναπνευστικό, το προφυλάσσει από την έκθεση στους μικροοργανισμούς που έχουν αποικίσει το ανώτερο αναπνευστικό και αποτελεί ακόμη ένα σημαντικό ανατομικό φραγμό προς το κατώτερο αναπνευστικό (Twigg, 2004; Kazmierowski, 1977; Camner, 1980).
- Το αντανακλαστικό του βήχα επίσης αποτελεί σημαντικό τρόπο με τον οποίο οι μικροοργανισμοί που εισήλθαν στο ανώτερο αναπνευστικό μπορούν να αποβληθούν στο εξωτερικό περιβάλλον εμποδίζοντας έτσι την είσοδό τους στο κατώτερο αναπνευστικό.



Εικόνα 1: **A.** Βρογχικό επιθήλιο. Σε εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διακρίνονται: CC= κροσσωτά κύτταρα, BrC=ψηκτροειδή κύτταρα, GC= καλυκοειδή κύτταρα, NCC= κύτταρα χωρίς κροσσούς, BC= βασικά κύτταρα, N= νευρικό κύτταρο με υποδοχείς. **B.** Η κίνηση των κροσσών διακρίνεται σε δύο φάσεις, μία ταχεία προς τα εμπρός και μία βραδεία επανόδου, κατά την οποία οι κροσσοί διαδοχικά κάμπτονται προς την επιφάνεια του κυττάρου (Επίτομη Πνευμονολογία: Οι Μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος).

β. Μη ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί

Το μη ειδικό ανοσολογικό σύστημα άμυνας του αναπνευστικού συστήματος αποτελεί έναν μη ειδικό μηχανισμό άμυνας σχεδιασμένο να αναγνωρίζει μια ποικιλία παθογόνων μικροοργανισμών. Αποτελεί το **άμεσο σύστημα** που αντιδρά στην εισβολή των μικροοργανισμών τη στιγμή που οι ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί είναι ακόμη ανώριμοι, καθυστερημένοι στην πλήρη τους ανάπτυξη και που απαιτούν μια ποικιλία

αλληλεπιδράσεων μέσω ειδικών υποδοχέων ώστε να δώσουν μια πλήρη και κατάλληλη για τον μικροοργανισμό ανοσολογική απάντηση (Medzhitov & Janeway, 2000; Strieter et al., 2002). Η αποτελεσματική δράση των μη ειδικών ανοσολογικών μηχανισμών άμυνας είναι απαραίτητη για τη μετάβαση και την πλήρη ανάπτυξη των ειδικών μηχανισμών άμυνας που χωρίς αυτούς οι πνεύμονες θα ήταν συνεχώς εκτεθειμένοι στις τοπικές και απομακρυσμένες μη ειδικές ανοσολογικές απαντήσεις, με αποτέλεσμα τον τραυματισμό του πνευμονικού ιστού και την αυξημένη θνητότητα (Strieter et al., 2002).

Σε όλη αυτή τη μη ειδική ανοσολογική διαδικασία άμυνας, ρόλο παίζουν κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος (κυψελιδικά μακροφάγα, μονοκύτταρα του αίματος, πολυμορφοκύτταρα φαγοκύτταρα) μη ανοσολογικά κύτταρα (επιθήλιο αεραγωγών, κυψελιδικά κύτταρα τύπου 1 και τύπου 2) και πλήθος εκκρινόμενων από αυτά τα κύτταρα ουσιών (διαμεσολαβητές φλεγμονής, χημειοτακτικές ουσίες και διάφορα αντιμικροβιακά πεπτίδια).

Η εξαγγείωση στις κυψελίδες των ουδετεροφίλων, ηωσινοφίλων, βασεοφίλων και των μονοκύτταρων κυττάρων αποτελεί ένα σιωπηρό χαρακτηριστικό της μη ειδικής ανοσολογικής απάντησης στην είσοδο των μικροοργανισμών στους πνεύμονες, με αποτέλεσμα την απομάκρυνσή τους (Frevort et al., 1995; Villard et al., 1995; Standiford et al., 1997; Tsai et al., 1998).

- Τα πνευμονικά κυψελιδικά μακροφάγα (ΠΚΜ) προέρχονται από τα μονοκύτταρα του αίματος και βρίσκονται στις κυψελίδες και τις αεροφόρους οδούς. Είναι φαγοκύτταρα και μπορούν να καταστρέφουν μικροοργανισμούς και να μεταφέρουν σωματίδια. Η ικανότητά τους να καταστρέφουν μικροοργανισμούς αυξάνεται, όταν ενεργοποιούνται από λεμφοκίνες που εκκρίνονται από τα T λεμφοκύτταρα. Τα ενεργοποιημένα ΠΚΜ εκκρίνουν πρωτεάσες, ελαστάση, και στοιχεία του συμπληρώματος (Πίνακας 1) (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Πίνακας 1: Οι λειτουργίες των πνευμονικών κυψελιδικών μακροφάγων

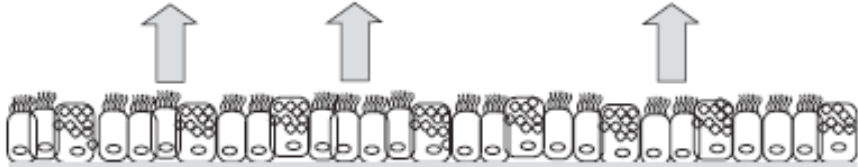
Αμυντικές λειτουργίες	Άλλες ιδιότητες
Καταστρέφουν ή αδρανοποιούν βακτήρια	Σύνθεση μεταβολιτών του αραχιδονικού οξέος
Προσλαμβάνουν αδρανή σωματίδια	Σύνθεση PAF
Προσλαμβάνουν και παρουσιάζουν αντιγόνα	Σύνθεση παράγοντα που ενεργοποιεί τους ινοβλάστες
Καταστρέφουν αντιγόνα και σωματίδια	Σύνθεση αναστολέων ενζύμων
Συνθέτουν interferon	
Συνθέτουν χυμοτακτικούς παράγοντες	
Συνθέτουν παράγοντες που αναστέλλουν την ανάπτυξη όγκων	

(Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

- Τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα είναι ευκίνητα κύτταρα, βραχύβια, που έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν με φαγοκυττάρωση σημαντικό αριθμό μικροοργανισμών. Αποτελούν χαρακτηριστικά κύτταρα της φλεγμονής και προσελκύονται από το αίμα στη θέση της εισβολής των βακτηρίων με τη βοήθεια του συμπληρώματος (C_{3a} , C_5). Η φαγοκυττάρωση επιτυγχάνεται έπειτα από σύνδεση του αντιγόνου με τα τοιχώματα του βακτηρίου με ειδική *IgG* (opsonization) σφαιρίνη (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Στις εκκρίσεις του πνεύμονα υπάρχουν διάφορες ουσίες με σημαντικές αντιμικροβιακές ιδιότητες (Strieter et al., 2002; Busse, 1991; Bals & Hiemstra, 2004) οι οποίες παράγονται τόσο από το αναπνευστικό επιθήλιο όσο και από τα διάφορα κύτταρα φλεγμονής (Εικόνα 2).

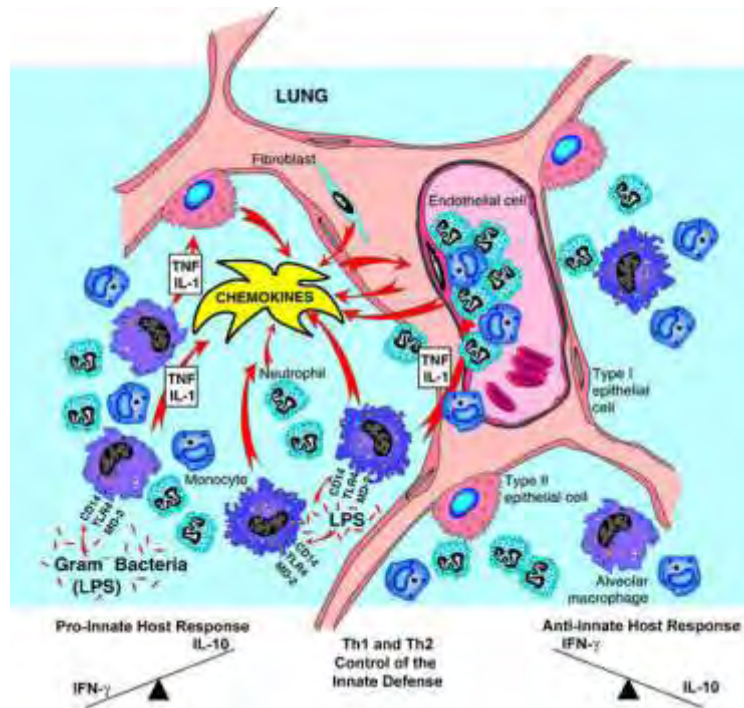
Διαμεσολαβητές φλεγμονής	Χημειοτακτικοί διαμεσολαβητές	Αντιμικροβιακές ουσίες	
Κυτοκίνες Χημειοκίνες Λευκοτριένια Καλπροφεκτίνη	LL-37/CAP-18 β-defensins Χημειοκίνες Λευκοτριένια	β-defensins LL-37/CAP-18 Λυσοζύμη Λακτοφερίνη SLPI	Καλπροφεκτίνη Φωσφολιπάση A2 SP-A, SP-D Ανιονικά πεπτίδια



Εικόνα 2: Ο ρόλος του αναπνευστικού επιθηλίου στην άμυνα ενάντια στη λοίμωξη. Εκκρινόμενες ουσίες από το αναπνευστικό επιθήλιο κατά τη διάρκεια φλεγμονής (στον αυλό του αναπνευστικού συστήματος και στην κυκλοφορία) (Bals & Hiemstra, 2004).

- Μικρές ποσότητες συμπληρώματος έχουν βρεθεί σε πνευμονικές εκκρίσεις οι οποίες όμως αυξάνονται κατά τη διάρκεια διαφόρων φλεγμονωδών πνευμονικών αντιδράσεων. Τα C_{3a} και C_{3b} προκαλούν την απελευθέρωση της ισταμίνης από τα σιτευτικά κύτταρα και αυξάνουν τη διαπερατότητα των τριχοειδών. Το C_{5a} προσελκύει τα πολυμορφοπύρρηνα, προάγει τη συγκόλλησή τους και την απελευθέρωση των ενζύμων των λυσοσωματίων τους. Η λυσοζύμη διαλύει το μουραμικό οξύ της κυτταρικής μεμβράνης των *Gram* θετικών βακτηρίων. Το εξωτερικό λιποπρωτεϊνικό περίβλημα των *Gram* αρνητικών βακτηρίων τα προστατεύει από τη λυσοζύμη.

- Οι *ιντερφερόνες* είναι μια οικογένεια γλυκοπρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται από τον τύπο του κυττάρου που τις παράγει. Έχουν μοναδικές ιδιότητες εναντίον των λοιμώξεων με ιούς. Η δράση τους έχει δυο στάδια. Το πρώτο συνίσταται στη σύνθεση και παραγωγή ιντερφερόνης από το κύτταρο που προσβλήθηκε από τον ιό. Σε δεύτερο στάδιο η ιντερφερόνη προκαλεί την παραγωγή ενός ενδοκυττάριου πολυπεπτιδίου που προστατεύει τα κύτταρα που δεν προσβλήθηκαν από τον ιό. Έχει διαπιστωθεί ότι ιντερφερόνη παράγεται από τα κυψελιδικά μακροφάγα.
- Η διαδικασία καταστροφής των βακτηρίων από τα πολυμορφοπύρρηνα και μακροφάγα συνεπάγεται την απελευθέρωση τοξικών ελευθέρων ριζών O_2 και πρωτεολυτικών ενζύμων, που πρέπει να εξουδετερωθούν για να μην καταστραφεί το πνευμονικό παρέγχυμα. Από τις ουσίες που αναστέλλουν τη δράση των πρωτεολυτικών ενζύμων η α_1 αντιθρυψίνη είναι ποσοτικά τουλάχιστον η πλέον σημαντική. Για την εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών O_2 υπάρχουν σημαντικοί ενδοκυτταρικοί και εξωκυτταρικοί προστατευτικοί μηχανισμοί, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση, η καταλάση, η περοξειδάση της γλουταθειόνης και το κυτόχρωμα C (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).
- Στην όλη διαδικασία εμπλέκονται και οι κυτοκίνες των Th1, Th2 λεμφοκυττάρων και συγκριμένα οι κυτοκίνες Th1 (IFN- γ , IL-2, TNF, IL-12, και IL-18) και Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, και IL-13). Οι κυτοκίνες των Th1 εμπλέκονται στην ενεργοποίηση μακροφάγων, ουδετεροφίλων, την αύξηση της φαγοκυτταροεξαρτώμενης λειτουργίας και στην ειδική κυτταροεξαρτώμενη ανοσολογική απάντηση, ενώ αντιθέτως οι κυτοκίνες των Th2 αναστέλλουν πολλούς μηχανισμούς της μη ειδικής απάντησης (λειτουργίες μακροφάγων και ουδετεροφίλων). Η ισορροπία μεταξύ των Th1 και Th2 κυτοκινών επηρεάζει τη μη ειδική ανοσολογική απάντηση και αποτελεί το κλειδί για τη μετάβαση στην ειδική ανοσολογική απάντηση (Εικόνα 3) (Strieter et al., 2002).



Εικόνα 3: Διαδικασία μη ειδικής ανοσολογικής απάντησης στις κυψελίδες. Συμμετοχή κυτοκινών, χημειοκινών, κυττάρων φλεγμονής, ενδοθηλίου και επιθηλιακών κυττάρων των κυψελίδων (Strieter et al., 2002).

2.2.2. Ειδικοί μηχανισμοί άμυνας

Ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί

Οι ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί εξαρτώνται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λεμφοκυττάρων (T και B λεμφοκύτταρα) και των ειδικών αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα και άλλα B λεμφοκύτταρα). Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι ο αντιγονοεξαρτώμενος κλωνικός πολλαπλασιασμός των T και B λεμφοκυττάρων και η εγκατάσταση μακράς διάρκειας ανοσολογικής μνήμης (κυτταροεξαρτώμενης και εξαρτώμενης από αντισώματα) έναντι του υπεύθυνου εισβολέα μικροοργανισμού ώστε μετά από έκθεση στο συγκεκριμένο αντιγόνο να κινητοποιηθούν άμεσα οι ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί.

Ο μηχανισμός με τον οποίο ένα αντιγόνο προκαλεί μια ανοσιακή αντίδραση περιλαμβάνει πολλά στάδια:

1. Το αντιγόνο αναγνωρίζεται από τα μονοκύτταρα ή τα κυψελιδικά μακροφάγα και παρουσιάζεται σε προεκτεθειμένα και αντιδρώντα με το αντιγόνο λεμφοκύτταρα.
2. Τα λεμφοκύτταρα αυτά πολλαπλασιάζονται και παράγουν ευαισθητοποιημένα T ή B

λεμφοκύτταρα ή συνηθέστερα T και B λεμφοκύτταρα, με μια διαδικασία που ελέγχεται από ανοσορυθμιστικά T λεμφοκύτταρα.

3. Τα πλήρως διαφοροποιημένα B λεμφοκύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν αντισώματα ενώ τα αντίστοιχα T λεμφοκύτταρα παράγουν τις λεμφοκίνες ή ασκούν άμεση κυτταροτοξική δράση.

Η όλη διαδικασία ελέγχεται με πολύπλοκους μηχανισμούς, ώστε να εξασφαλίζεται το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα χωρίς ο οργανισμός να βλάπτεται. Δεν είναι γνωστό αν η παραπάνω διαδικασία συμβαίνει στον πνεύμονα ανεξάρτητα ως τοπική αντίδραση ή εκδηλώνεται στο πλαίσιο γενικευμένης ανοσιακής αντίδρασης που αφορά όλο τον οργανισμό (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Σε αντίθεση όμως από τους μη ειδικούς μηχανισμούς άμυνας οι ειδικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί δεν δρουν άμεσα ως απάντηση σε ένα αντιγόνο ή παθογόνο και αυτή η καθυστέρηση χωρίς την παρουσία των μη ειδικών ανοσολογικών μηχανισμών άμυνας θα μπορούσε να προκαλέσει το θάνατο (Strieter et al., 2002; Reiner & Seder, 1995).

Η άμυνα του οργανισμού, γενική και τοπική, παίζει σημαντικό ρόλο στην πιθανότητα ανάπτυξης της πνευμονίας καθώς και στην έκβασή της. Οι μηχανισμοί της άμυνας είναι πολύπλοκοι και δεν έχουν διευκρινισθεί πλήρως. Αναμφίβολα όμως η έκπτωση της μηχανικής και βλεννοκροσσωτής κάθαρσης των ασθενών καθώς και η τροποποιητική επίδραση των κυτταροκινών και των χημειοτακτικών παραγόντων (που εκλύονται ως αποτέλεσμα της φλεγμονής) στην ικανότητα των πολυμορφοκυττάρων και μακροφάγων κυττάρων να εξαλείψουν τα παθογόνα μικρόβια, έχουν καθοριστική σημασία στην εξέλιξη της λοίμωξης.

3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Δεδομένου ότι η πνευμονία της κοινότητας αποτελεί νόσημα που μπορεί είτε να αντιμετωπιστεί εξωνοσοκομειακά είτε ενδονοσοκομειακά, η επίπτωση στο γενικό πληθυσμό δύσκολα μπορεί να υπολογιστεί. Επίσης, είναι επισφαλής η σύγκριση της επίπτωσής της, σε ασθενείς που νοσηλεύονται σε διαφορετικές χώρες, λόγω διαφορετικών κατευθυντήριων οδηγιών που ακολουθούνται για εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο. Λίγες μελέτες έχουν γίνει στην Ευρώπη για τον υπολογισμό της

επίπτωσης της πνευμονίας της κοινότητας, με τις περισσότερες από αυτές να έχουν ως πληθυσμό μελέτης, ασθενείς με πνευμονία που χρήζουν νοσηλείας.

Η πνευμονία αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου που οφείλεται σε μολυσματική νόσο στις αναπτυγμένες χώρες, την τρίτη κύρια αιτία θανάτου σε ολόκληρο τον κόσμο (Hippenstiel et al., 2006), τη δεύτερη στην Αγγλία και την όγδοη στις Η.Π.Α. (WHO) (Πίνακες 2 και 3).

Πίνακας 2: Δέκα κύριες αιτίες θανάτου, όλων των ηλικιών στις Η.Π.Α., 2002 (WHO)

Αιτίες	Θάνατοι		Years of Life Lost
	(000)	(%)	(%)
Σύνολο αιτιών	2420	100	100
Ισχαιμικό καρδιακό επεισόδιο	514	21	15
Αγγειακά εγκεφαλικά	163	7	4
Καρκίνος τραχείας, βρόγχων, πνευμόνων	157	7	7
ΧΑΠ	128	5	4
Νόσος Alzheimer	93	4	1
Σακχαρώδης Διαβητής	76	3	3
Καρκίνοι παχέως εντέρου	64	3	3
Λοιμώξεις κατώτερου αναπνευστικού	59	3	2
Καρκίνος μαστού	45	2	2
Οδικά ατυχήματα	45	2	6

Πίνακας 3: Δέκα κύριες αιτίες θανάτου, όλων των ηλικιών στο Ηνωμένο Βασίλειο, 2002 (WHO)

Αιτίες	Θάνατοι		Years of Life Lost
	(000)	(%)	(%)
Σύνολο αιτιών	599	100	100
Ισχαιμικό καρδιακό επεισόδιο	120	20	17
Λοιμώξεις κατώτερου αναπνευστικού	65	11	6
Καρδιαγγειακά νοσήματα	59	10	7
Καρκίνος τραχείας, βρόγχων, πνευμόνων	33	6	6
ΧΑΠ	28	5	4
Καρκίνοι παχέως εντέρου	19	3	3
Καρκίνος μαστού	14	3	4
Νόσος Alzheimer	13	2	1
Καρκίνος προστάτη	10	2	1
Λεμφώματα, Πολλαπλούν μυέλωμα	8	1	2

Η επίπτωσή της διαφέρει σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, στις διάφορες ηλικιακές ομάδες, ανάμεσα στα δύο φύλα και μεταξύ των διαφόρων εποχών. Η μεγαλύτερη επίπτωση παρατηρείται στα πολύ μικρά παιδιά (< 5 ετών), στους υπερήλικες (> 85 ετών) (ακραίες ηλικίες) (McIntosh, 2002), στους άρρηνες ασθενείς (Woodhead,

2002), το χειμώνα παρά το καλοκαίρι (Ochoa-Gondar et al., 2008; Almirall et al., 2000; Almirall et al., 1993).

Στις Η.Π.Α. νοσούν από πνευμονία της κοινότητας πάνω από 4 εκατομμύρια άτομα τον χρόνο (Bartlett & Mundy, 1995; Niederman & Peters, 1998), με 1 εκατομμύριο από αυτές τις περιπτώσεις να αποτελούν οι ασθενείς άνω από 65 ετών (Jackson et al., 2004). Το ετήσιο οικονομικό κόστος στις Η.Π.Α. για την πνευμονία της κοινότητας ανέρχεται στα 23 δισεκατομμύρια δολάρια τον χρόνο (Niederman & Peters, 1998). Η επίπτωση στις Η.Π.Α. σε ασθενείς που χρηρίζουν νοσηλείας κυμαίνεται από 2,7-3,7 νέες περιπτώσεις/1000 κατοίκους/χρόνο (Marston et al., 1997; Niederman et al., 1998) (1/1000/χρόνο σε άτομα με ηλικία < 45 ετών, 3 σε άτομα με ηλικία 45-64, 10 σε άτομα με ηλικία 65-69 (Marston et al., 1997) 26 σε ηλικίες 75- 84 και 51 σε ηλικίες > 85 ετών (Fry et al., 2005)). Η επίπτωση είναι μεγαλύτερη στους άρρενες ασθενείς (3,37 vs 2,53 νέες περιπτώσεις /1000 κατοίκους/χρόνο) (Marston et al., 1997).

Από μεγάλη μελέτη στην Αγγλία καταδεικνύεται ότι η επίπτωση της πνευμονίας της κοινότητας σε ασθενείς που χρηρίζουν νοσηλείας έχει αυξηθεί κατά 34% (από 1,48 νέες περιπτώσεις/1000 κατοίκους/χρόνο σε 1,91 νέες περιπτώσεις) κατά τη διάρκεια μιας οχταετίας (1997-2004) (Trotter et al., 2008) (Πίνακας 4). Οι ασθενείς που χρειάζονται συνήθως νοσηλεία είναι αυτοί με ηλικία μεγαλύτερη των 65 ετών (στις ηλικίες 0-4 ετών το 10% των ασθενών με πνευμονία της κοινότητας χρηρίζουν νοσηλείας, στις ηλικίες 5-14 ετών το 5%, στις ηλικίες 15-64 ετών το 20% και στις ηλικίες >65 ετών το 65% (Trotter et al., 2008). Ανάλογες επιπτώσεις και διακυμάνσεις αυτής ανάλογα με την ηλικία έχουν αναφερθεί και σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες (1,2-1,9 νέες περιπτώσεις στην Ισπανία (Almirall et al., 2000; Almirall et al., 1993), 2,66 νέες περιπτώσεις στον ενήλικο πληθυσμό στην Πορτογαλία (Froes, 2003). Στη Δανία από το 1993-2004 η επίπτωση της πνευμονίας της κοινότητας που αντιμετωπίζεται στο νοσοκομείο αυξήθηκε από 2,88 νέες περιπτώσεις/1000 άτομα/χρόνο σε 4,42 (Thomsen et al., 2006). Στην Ιταλία η επίπτωση στο σύνολο των ασθενών με πνευμονία της κοινότητας (νοσηλευόμενοι και εξωτερικοί ασθενείς) είναι 0,7 και 3,3 νέες περιπτώσεις ανά 1000 κατοίκους το χρόνο στις ηλικίες 14- και στις ηλικίες 64+ αντίστοιχα (Viegi et al., 2006). Ποσοστό γύρω στο 30% χρηρίζουν νοσηλείας.

Πίνακας 4: Επίπτωση πνευμονίας της κοινότητας σε ασθενείς που χρήζουν νοσηλείας / 1000 κατοίκους στην Αγγλία (Trotter et al., 2008)

HES χρόνος (April trough March)	Όλες οι ηλικίες				
	<65 ετών	65-74 ετών	75-84 ετών	≥85 ετών	
1997-98	1,48	0,70	2,63	6,84	15,99
1998-99	1,67	0,72	3,02	8,08	18,59
1999-2000	1,62	0,65	3,04	8,05	18,80
2000-01	1,5	0,65	2,67	7,08	16,75
2001-02	1,67	0,71	3,02	7,73	18,89
2002-03	1,77	0,75	3,20	8,14	19,62
2003-04	1,91	0,78	3,46	8,79	22,41
2004-05	1,98	0,84	3,55	8,77	22,18
% αλλαγή από 1997-98 μέχρι 2004-05	34	20	35	28	39

Η πνευμονία της κοινότητας αποτελεί ένα σημαντικό αίτιο θνητότητας κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα. Η θνητότητα αυξάνει σημαντικά μεταξύ ασθενών με ηλικία < 65 ετών και ασθενών με ηλικία > 85 ετών. Έχει αναφερθεί θνητότητα 20%-47% σε άτομα με ηλικία μεγαλύτερη των 85 ετών έναντι 5% σε ασθενείς < 65 ετών (Ochoa-Gondar et al. 2008; Trotter et al., 2008; Fry et al., 2005). Η θνητότητα είναι μικρότερη στους ασθενείς που αντιμετωπίζονται εξωνοσοκομειακά (2%) από αυτούς που νοσηλεύονται (15%) με τη θνητότητα των ασθενών με πνευμονία της κοινότητας στην εντατική μονάδα να φθάνει το 40% (Ochoa-Gondar et al., 2008). Το φύλο δεν επηρεάζει τη θνητότητα ενώ αυξάνει σημαντικά με την αύξηση των συνυπαρχόντων νοσημάτων στον ασθενή (12% θνητότητα όταν υπάρχουν συνυπάρχοντα νοσήματα έναντι 7,5% όταν δεν υπάρχουν συνυπάρχοντα νοσήματα) καθώς και με τη σοβαρότητα της πνευμονίας (Ochoa-Gondar et al. 2008; Trotter et al., 2008; Thomsen et al., 2006; Kaplan et al., 2002; Markowitz et al., 1996).

4. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η αιτιολογία της πνευμονίας της κοινότητας ποικίλει και τα παθογόνα έχουν χωριστεί με βάση την κλινική εικόνα της πνευμονίας που προκαλούν, σε τυπικά παθογόνα που προκαλούν την τυπική κλινική εικόνα της πνευμονίας σε άτυπα παθογόνα που προκαλούν άτυπη κλινική εικόνα και σε ιογενείς πνευμονίες που προκαλούν την ιογενή πνευμονία.

- Τα κύρια τυπικά παθογόνα που προκαλούν πνευμονία της κοινότητας είναι: *Streptococcus Pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* (κυρίως μη τυποποιούμενα στελέχη), *Moraxella catarrhalis* *Staphylococcus aureus* και διάφορα Gram(-) βακτήρια (*Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp.)
- Τα άτυπα παθογόνα είναι: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* *Legionella* spp. (κυρίως *L. pneumophila*), *Chlamydia psittaci* και *Coxiella burnetti*.
- Οι ιογενείς πνευμονίες προκαλούνται από τους εξής ιούς: Ιό της Γρίπης Α και Β, της Παραγρίπης, Αναπνευστικός Συγκυτιακός Ιός, Αδενοϊοί και τον πρόσφατο αναγνωρισθέντα Ανθρώπινο Μεταπνευμονοϊό - δυνατόν επίσης να αποτελέσει επιπλοκή Ιλαράς και Ανεμευλογιάς-. Ο Μεγαλοκυτταροϊός και ο Ιός του Απλού Έρπητα προσβάλλουν ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς.

Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν μελέτες που να συμφωνούν σε ό,τι αφορά την αιτιολογία της πνευμονίας της κοινότητας. Είναι βέβαιο ότι υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στις διάφορες περιοχές του πλανήτη. Όλες όμως οι μελέτες συμφωνούν ότι το πιο συχνό παθογόνο είναι ο *Streptococcus pneumoniae*. Στις περισσότερες προοπτικές μελέτες δεν ήταν δυνατή η απομόνωση του παθογόνου μικροοργανισμού στο 40%-60% των περιπτώσεων πνευμονίας της κοινότητας.

Η Βρετανική Θωρακική Εταιρεία (British Thoracic Society, BTS) παραθέτει τον πίνακα 5 σχετικά με την αιτιολογία της πνευμονίας της κοινότητας και διαχωρίζει τα αποτελέσματα ανάλογα με το χώρο (κοινότητα, νοσοκομείο, μονάδα εντατικής θεραπείας) στον οποίο έχουν πραγματοποιηθεί οι διάφορες μελέτες. Η πραγματική επίπτωση των πολυμικροβιακών πνευμονιών της κοινότητας δεν είναι γνωστή και εξαρτάται από την επιμονή των θεραπόντων σε εξετάσεις για την απομόνωση των παθογόνων μικροβίων (Κοντοπυργιάς & Χείλας).

Πίνακας 5: Αιτιολογία πνευμονιών (*British Thoracic Society, 2001*)

Αίτιο	Κοινότητα		Νοσοκομείο		ΜΕΘ	
	(%)	95% CI	(%)	95% CI	(%)	95% CI
<i>S. pneumoniae</i>	36,0	29,9-42,1	39	36,1-41,8	21,6	15,9-28,3
<i>H. Influenzae</i>	10,2	6,3-14,0	5,2	4,0-6,6	3,8	1,5-7,6
<i>Legionella</i> spp.	0,4	0,01-2,3	3,6	2,6-4,9	17,8	12,6-24,1
<i>S. aureus</i>	0,8	0,1-3,0	1,9	1,2-2,9	8,7	5,0-13,7
<i>M. catarrhalis</i>	?		1,9	0,6-4,3	?	
Gram (-)	1,3	0,3-3,7	1,0	0,5-1,7	1,6	0,3-4,7
<i>M. pneumoniae</i>	1,3	0,3-3,7	10,8	9,0-12,6	2,7	0,9-6,2
<i>C. pneumoniae</i>	?	?	13,1	9,1-17,2	?	?
<i>C. psittaci</i>	1,3	0,3-3,7	2,6	1,7-3,6	2,2	0,6-5,4
<i>C. burnetii</i>	0	0-1,6	1,2	0,7-2,1	0	0-2,0
Ιοί	13,1	8,8-17,4	12,8	10,8-14,7	9,7	5,9-14,9
Influenza A & B	8,1	4,9-12,3	10,7	8,9-12,5	5,4	2,6-9,7
Πολυμικροβιακή	11,0	7,0-15,0	14,2	12,2-16,3	6,0	3,0-10,4
Άλλα	1,7	0,5-4,3	2	1,3-3	4,9	2,3-9,0
Δεν βρέθηκε κανένα	45,3	39,0-51,7	30,8	28,1-33,5	32,4	25,7-39,7

Δεν υπάρχει σαφής συσχέτιση συμπτωμάτων, σημείων ή βασικών εργαστηριακών εξετάσεων με συγκεκριμένους αιτιολογικούς παράγοντες της πνευμονίας της κοινότητας. Η διάκριση της πνευμονίας της κοινότητας σε τυπική και άτυπη δεν συνιστάται πλέον, καθώς υπονοεί λανθασμένα ότι αποτελούν διακριτές κλινικές οντότητες. Παρόλα αυτά, η Βρετανική Θωρακική Εταιρεία εξακολουθεί να χρησιμοποιεί τον όρο άτυπα παθογόνα, στα οποία συμπεριλαμβάνει τα *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* και *Coxiella burnetii* και την *Legionella pneumophila*.

Κοινά χαρακτηριστικά των άτυπων παθογόνων είναι:

- η δύσκολη απομόνωσή τους σε σύντομο χρονικό διάστημα,
- δεν είναι ευαίσθητα σε αντιβιοτικά του τύπου των β-λακταμών, αλλά σε άλλα όπως είναι οι μακρολίδες, οι τετρακυκλίνες και οι κινολόνες και
- έχουν την τάση να συγκεντρώνονται ενδοκυτταρίως όπου και είναι η θέση πολλαπλασιασμού τους.

Ορισμένα παθογόνα προκαλούν πνευμονία συχνότερα σε ασθενείς με ειδικούς παράγοντες κινδύνου. Έτσι η πνευμονία από *Streptococcus pneumoniae* είναι συχνότερη στους ηλικιωμένους καθώς και σε όσους πάσχουν από χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, αιματολογικές κακοήθειες, λοίμωξη από HIV, σε ασθενείς με υπογαμμασφαιριναιμία και σε αλκοολικούς (IDSA). Η *Legionella* είναι σημαντικό παθογόνο σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια καθώς και σε μεταμοσχευθέντες, ενώ εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με χρόνια

πνευμονική νόσο, σε καπνιστές και σε πάσχοντες από HIV. Το *Mycoplasma pneumoniae* φαίνεται να προκαλεί πνευμονία της κοινότητας σε υγιείς ενήλικες όλων των ηλικιών ενώ αρχικά είχε θεωρηθεί ότι προσβάλλει συνήθως παιδιά και νέους ενήλικες. Το λεπτομερές ιστορικό μπορεί να φανεί πολύ χρήσιμο στη διάγνωση της αιτίας μιας πνευμονίας της κοινότητας. Οι επιδημιολογικοί παράγοντες που μπορούν να βοηθήσουν συνοψίζονται στον Πίνακα 6 της Εταιρείας Λοιμώξεων των ΗΠΑ (Infectious Diseases Society of America, IDSA).

Πίνακας 6: Επιδημιολογικοί παράγοντες στην αιτιολογία της πνευμονίας της κοινότητας. *Εταιρεία λοιμώξεων των ΗΠΑ (Infectious Diseases Society of America, IDSA)*

Επιδημιολογικά στοιχεία	Παθογόνα
Αλκοολισμός	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (και Drug resistant pneumococci, DRSP), αναερόβια, Gram(-), <i>M. Tuberculosis</i>
ΧΑΠ – κάπνισμα	<i>S. pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Legionella</i>
Διαβίωση σε ίδρυμα	<i>S. pneumoniae</i> , Gram(-), <i>H. influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , αναερόβια, <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>M. Tuberculosis</i>
Κακή στοματική υγιεινή	Αναερόβια
Επιδημία νόσου λεγεωνάριων	<i>Legionella</i> species
Επαφή με νυχτερίδες	<i>Histoplasma capsulatum</i>
Επαφή με πουλιά	<i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>H. capsulatum</i>
Επαφή με κουνέλια	<i>Francisella tularensis</i>
Ταξίδι στις ΝΔ ΗΠΑ	<i>Coccidioidomycosis</i>
Επαφή με ζώα αγροκτήματος ή έγκυες γάτες	<i>Coxiella burnetii</i> (πυρετός Q)
Επιδημία γρίπης	<i>Influenza</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>H. influenzae</i>
Υποψία εισρόφησης	Αναερόβια, χημική πνευμονίτιδα ή απόφραξη
Βρογχεκτασίες, κυστική ίνωση	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>S. Aureus</i>
Χρήση ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών	<i>S. aureus</i> , αναερόβια, <i>M. tuberculosis</i> , <i>Pneumocystis carinii</i>
Ενδοβρογχική απόφραξη	Αναερόβια
Πρόσφατη αντιμικροβιακή αγωγή	DRSP, <i>P. aeruginosa</i>

5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Οι πνευμονίες παραδοσιακά διαχωρίζονται σε **τυπικές**, **άτυπες** και **ιογενείς** με βάση την κλινική εικόνα που προκαλούν και ανάλογα οι ασθενείς λαμβάνουν διαφορετική αντιβιοτική αγωγή. Γενικά οι άτυπες πνευμονίες είναι πιο ήπιες, με αρνητικές καλλιέργειες πτυέλων και αίματος, υπάρχουν λίγα ακροαστικά ευρήματα σε σύγκριση με τα περισσότερα ακτινολογικά ευρήματα. Παρόλα αυτά πρέπει να τονιστεί πως η τυπική κλινική εικόνα (υψηλός πυρετός 39°C, ρίγος, βήχας, βλεννοπυώδης απόχρεμψη, πλευριτικός πόνος), καθώς και η τυπική λοβώδης πνευμονία υπάρχει μόνο στο 1/3 περίπου των περιπτώσεων πνευμονοκοκκικής πνευμονίας (τυπικής πνευμονίας). Επίσης οι άτυπες πνευμονίες μπορεί να εκδηλωθούν κλινικά και ακτινολογικά ως τυπικές πνευμονίες.

5.1. Κλινική εικόνα-Τυπική πνευμονία

Η τυπική πνευμονία χαρακτηρίζεται από οξεία έναρξη με πυρετό και ρίγος, υποθερμία, η οποία μπορεί να είναι ανησυχητικό σημείο σε ηλικιωμένους, δύσπνοια, βήχα με βλεννοπυώδη απόχρεμψη, πλευριτικού τύπου πόνο, ταχύπνοια, ταχυκαρδία, κυάνωση σε σοβαρές περιπτώσεις, καταβολή, αιμόπτυση, ανορεξία, κεφαλαλγία, κοιλιακό άλγος. Τα ακροαστικά ευρήματα στο θώρακα κατά την κλινική εξέταση είναι κυρίως μη μουσικοί ρόγχοι (τριζόντες-υποτριζόντες ρυγμοί), σωληνώδες φύσημα, μείωση του αναπνευστικού ψιθυρίσματος. Παρατηρείται αύξηση των φωνητικών δονήσεων και ενίοτε ήχος πλευριτικής τριβής (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Στην παρακλινική εξέταση παρατηρείται λοβώδης ή τμηματική κατανομή των διηθήσεων στην απλή ακτινογραφία θώρακος, λευκοκυττάρωση και θετική για βακτήρια *Gram* χρώση στα πτύελα, συνήθως ενός τύπου. Η τυπική πνευμονία, όπως αναφέρθηκε και πριν, συνήθως οφείλεται σε εξωκυττάρια βακτήρια όπως ο *S. Pneumoniae*, ο *Staphylococcus aureus* και ο *H. Influenzae* (Michelow et al., 2004).

5.2. Κλινική εικόνα-Άτυπη πνευμονία

Η άτυπη πνευμονία χαρακτηρίζεται από προοδευτική έναρξη, πυρετό χωρίς φρίκια και ρίγος, μη παραγωγικό βήχα, κεφαλαλγία, μυαλγίες και αρκετές φορές

ανάλογα με το αίτιο εξωπνευμονικά συμπτώματα. Πολύ πιθανόν να συνυπάρχει λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Κατά την κλινική εξέταση παρατηρούνται διάχυτα ακροαστικά ευρήματα στον θώρακα (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

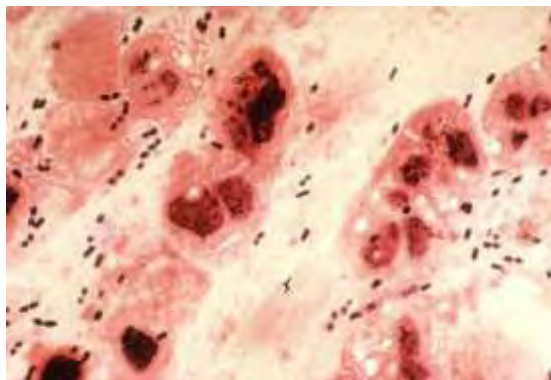
Στον παρακλινικό έλεγχο παρατηρείται διάχυτη κατανομή των διηθήσεων στην απλή ακτινογραφία θώρακος, ήπια λευκοκυττάρωση και αρνητική για βακτήρια Gram χρώση στα πτύελα. Η άτυπη πνευμονία συνήθως οφείλεται σε ενδοκυττάρια βακτήρια και ιούς. Δυστυχώς όπως και προαναφέρθηκε τα συμπτώματα και τα αντικειμενικά ευρήματα δεν είναι πάντα παθογνωμονικά της τυπικής ή της άτυπης πνευμονίας και ο διαχωρισμός αυτός τείνει να εγκαταλειφθεί (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΕΣ

6.1. Πνευμονίες από τυπικά παθογόνα

6.1.1. Πνευμονιοκοκκική πνευμονία

Ο αργότερα επονομαζόμενος πνευμονιόκοκκος (στρεπτόκοκκος της πνευμονίας) απομονώθηκε το 1881 ταυτόχρονα αλλά ανεξάρτητα από τον στρατιωτικό ιατρό των αμερικάνικων δυνάμεων George Sternberg και από τον Γάλλο χημικό Louis Pasteur. Το 1926 ονομάστηκε διπλόκοκκος της πνευμονίας λόγω της χαρακτηριστικής του εμφάνισης στην Gram χρώση πτυέλων και μετονομάστηκε σε στρεπτόκοκκο της πνευμονίας το 1974 λόγω της ανάπτυξής του σε αλυσίδες σε υγρά καλλιεργητικά μέσα. Ο στρεπτόκοκκος της πνευμονίας είναι Gram θετικός, σχήματος λόγχης, διπλόκοκκος με κάψα. Στα υγρά του σώματος και στα καλλιεργητικά μέσα, ο μικροοργανισμός μπορεί να ανευρεθεί ως μεμονωμένος κόκκος ή διατεταγμένος σε αλυσίδες (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Ο *S. pneumoniae* στην Gram χρώση. Gram θετικός διπλόκοκκος σχήματος λόγχης.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Αποτελεί την πιο συχνή πνευμονία των ενηλίκων. Είναι ιδιαίτερα συχνή σε ηλικιωμένους, σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, σε σπληνεκτομηθέντες, σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία, σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες π.χ μυέλωμα, με ηπατική και νεφρική ανεπάρκεια καθώς και σε όσους πάσχουν από χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, λοίμωξη από HIV, σε ασθενείς με υπογαμμασφαιριναιμία και σε αλκοολικούς (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press, IDSA). Ο τρόπος μετάδοσης του μικροοργανισμού είναι από άτομο σε άτομο μέσω λοιμωδών εκκρίσεων του αναπνευστικού από άτομα που νοσούν.

Υπάρχουν 90 ορότυποι πνευμονιόκοκκου βάσει το πολυσακχαριδικό αντιγόνο του ελύτρου του. Τα πολυσακχαριδικά αντιγόνα επάγουν την παραγωγή ειδικών για τον ορότυπο προστατευτικών αντισωμάτων προάγοντας την φαγοκυττάρωση και την οψωνοποίηση (The Centers for Disease Control and Prevention, 1999; Tuomanen et al., 1995; Henrichsen, 1995; Kalin, 1998; Henriques et al., 2000).

Το μικρόβιο εισπνέεται και εγκαθίσταται στις κυψελίδες και τις μικρές αεροφόρους οδούς. Σε άτομα που έχουν ανοσία στα πολυσακχαριδικά αντιγόνα του ελύτρου συνδέονται με *IgA* αντισώματα που υπάρχουν στη βλέννα και προκαλούν έκκριση αγγειοκινητικών ουσιών από τα μονοκύτταρα (π.χ. ισταμίνη). Αυτές, μαζί με τοξίνες, προκαλούν έντονη φλεγμονή στις κυψελίδες. Σε μη ανοσοποιημένα άτομα η φλεγμονή προκαλεί, μέσα σε λίγες μέρες, την παραγωγή *IgM* αντισωμάτων που συγκεντρώνονται στην περιοχή της βλάβης. Τα ειδικά *IgM* αντισώματα στην αρχή, και κατόπιν και τα *IgG* και *IgA*, παράγονται από πλασματοκύτταρα στα οποία εξελίχθηκαν τα Β λεμφοκύτταρα που δέσμευσαν στους ειδικούς υποδοχείς τους τα πολυσακχαριδικά αντιγόνα. Αντιγόνα δεσμευμένα με ειδικές *IgM* (και *IgG*) σφαιρίνες προκαλούν ενεργοποίηση του συμπληρώματος, απελευθέρωση νέων αγγειοκινητικών ουσιών και επίταση των φλεγμονωδών φαινομένων, καθώς και προσέλκυση ουδετεροφίλων. Τα κύτταρα αυτά καταστρέφουν τα μικρόβια με φαγοκυττάρωση (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

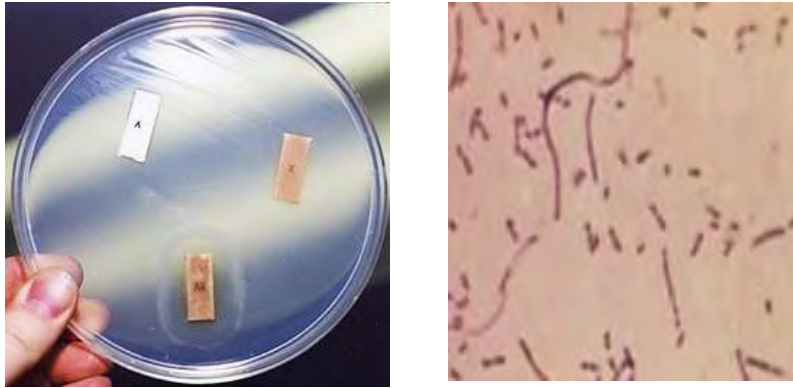
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η κλινική εικόνα είναι αυτή της τυπικής πνευμονίας. Η βαρύτητα με την οποία εκδηλώνεται η νόσος ποικίλλει. Συνήθως η ακτινολογική εικόνα είναι λοβώδους πνευμονίας χωρίς μεταβολή του πνευμονικού όγκου. Στις επιπλοκές συγκαταλέγονται το εμπύημα, η μηνιγγίτιδα, η ενδοκαρδίτιδα και η περιτονίτιδα. Οι τελευταίες έγιναν σπάνιες μετά την εισαγωγή των αντιβιοτικών (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

6.1.2. Πνευμονία από *Haemophilus influenzae*

Ο *Haemophilus influenzae* αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια επιδημίας γρίπης στην Ευρώπη το 1889-1892 όταν ο Richard Pfeiffer (Γερμανός παθολόγος) ταυτοποίησε ένα βακτηρίδιο από τα πτύελα πολλών ασθενών με γρίπη και για αυτό του δόθηκε το 1920 από τον Winslow και τους συνεργάτες του, το όνομα αιμόφιλος ινφλουένζα. Η συνειδητοποίηση ότι ο αιμόφιλος ινφλουένζα ήταν αίτιο αρκετών σοβαρών λοιμωδών συνδρόμων και όχι το αίτιο της γρίπης προήλθε το 1933 από τον Hamilton Smith (Αμερικανός Μικροβιολόγος) και τους συνεργάτες του. Η Margaret Pittman το 1931 με την εργασία της αποκάλυψε ότι ο αιμόφιλος ινφλουένζα μπορεί να απομονωθεί με έλυτρο και χωρίς έλυτρο και αναγνώρισε 6 ορότυπους αιμόφιλου με διαφορετική σύσταση ελύτρου (a-f). Ο ορότυπος b είναι ο πλέον παθογόνος ορότυπος. (Pittman, 1931).

Ο *Haemophilus influenzae* είναι Gram αρνητικό πολυμορφικό κοκκοβακτηρίδιο (1 μm X 0.3 μm), μέλος της οικογένειας *Pasteurellaceae* (Kuhnert & Christensen, 2008; Kenneth, 2008) που απαιτεί τους παράγοντες X (αιματίνη), και V (νουκλεοτίδια φωσφοπυριδίνης, NAD ή NADP) για να αναπτυχθεί. Αυτοί οι παράγοντες υπάρχουν μέσα στα ερυθροκύτταρα και το γεγονός ότι η παρουσία των παραγόντων αυτών είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του αιμόφιλου αποτελεί τη βάση ταυτοποίησής του στο εργαστήριο (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: (α) Ο *Haemophilus influenzae* απαιτεί τους παράγοντες X (αιματίνη), και V (νουκλεοτίδια φωσφοπυριδίνης, NAD ή NADP) για να αναπτυχθεί (β) Ο *Haemophilus influenzae* στην Gram χρώση, Gram αρνητικός κοκκοβάκιλλος.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η πνευμονία που οφείλεται στον *H. influenzae* είναι ιδιαίτερα συχνή σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Τα τελευταία έτη έχει αυξηθεί η συχνότητα της νόσου, όπως και ο αριθμός των στελεχών που είναι ανθεκτικά στην αμπικιλίνη. Η απομόνωση οργανισμού που φέρει έλυτρο στα πτύελα και στο αίμα θέτει τη διάγνωση της πνευμονίας από *H. influenzae*. Τα μη τυποποιούμενα στελέχη του αιμόφιλου ινφλουένζα ενώ μπορεί να αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του ανώτερου αναπνευστικού (80-90% των απομονούμενων στελεχών) ενοχοποιούνται και ως αίτιο λοιμώξεων (Trottier, 1989; Eng et al., 1980). Η συχνότητα φορέας των τυποποιούμενων αιμόφιλων είναι σπάνια με περίπου 60% από αυτούς που απομονώνονται να είναι ο αιμόφιλος τύπου b (Eng et al., 1980; Turk & May, 1967).

Τρόπος μετάδοσης του μικροοργανισμού είναι η μετάδοση από άτομο σε άτομο μέσω λοιμώδων εκκρίσεων του αναπνευστικού από άτομα που νοσούν ή είναι αποικισμένα από αιμόφιλο ινφλουένζα.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ο αιμόφιλος ινφλουένζα και κυρίως ο τύπος b αποτελεί αίτιο πνευμονίας αλλά και διεισδυτικής νόσου κυρίως στα μικρά παιδιά (4 μηνών ως 4 ετών) ενώ στους ενήλικες μη τυποποιούμενα στελέχη αιμόφιλου μπορεί να θεωρηθούν ως αίτια πνευμονίας σε άτομα με υποκείμενη πάθηση του πνευμονικού παρεγχύματος (π.χ ΧΑΠ) (Woodhead, 2002) ή σε

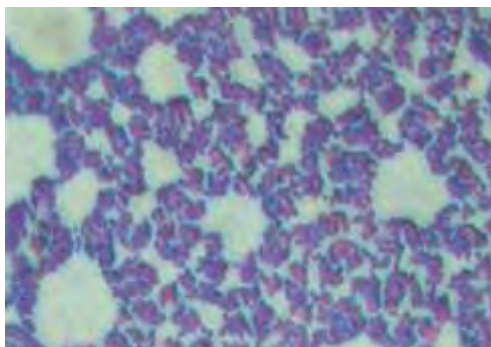
αλκοολικούς. Τα μη τυποποιούμενα στελέχη έχουν επίσης συσχετισθεί με χρόνια βρογχίτιδα στους ενήλικες.

6.1.3. Σταφυλοκοκκική πνευμονία

Ο σταφυλόκοκκος αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1878 από τον Pasteur. Ανήκει στο γένος των βακτηρίων που είναι θετικοί κατά Gram κόκκοι. Κάτω από το μικροσκόπιο το βακτήριο του σταφυλόκοκκου φαίνεται σε ομάδες που μοιάζουν με τσαμπί σταφυλιού που σχηματίζονται όταν οι κόκκοι διαιρούνται τυχαία και εκεί οφείλει και την ονομασία του (Εικόνα 6).

Η πνευμονία από *Staphylococcus aureus* συνοδεύει επιδημίες γρίπης. Είναι αρκετά συχνή σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια καθώς και σε χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών. Απαντάται συχνά και στην παιδική ηλικία, καθώς και σε ασθενείς που πάσχουν από κυστική ίνωση (IDSA, Επίτομη Πνευμονιολογία, Λοιμώξεις Αναπνευστικού). Αποτελεί μόνο το 1% των εξωνοσοκομειακών πνευμονιών. Αντίθετα, είναι πιο συχνή σε ασθενείς που νοσηλεύονται και στις περιπτώσεις αυτές τα στελέχη του σταφυλόκοκκου είναι συνήθως ανθεκτικά στην πενικιλίνη και η κλινική συνδρομή είναι ιδιαίτερα σοβαρή.

Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη βαρύτητα, ιδίως στα βρέφη και σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Εκτός από τα αντικειμενικά σημεία της πνευμονικής πύκνωσης, δεν είναι σπάνια και η μετατόπιση του μεσαυλίου από πνευμονικές κύστεις. Η καταπληξία είναι συχνή σε ενδονοσοκομειακές πνευμονίες από σταφυλόκοκκο. Η ιστοπαθολογική εικόνα χαρακτηρίζεται από αιμορραγικό πνευμονικό οίδημα που έχει ιδιαίτερη τάση να σχηματίζει πολλαπλά αποστήματα. Οι κοιλότητες αυτές είναι δυνατό να διαταθούν και να μεταμορφωθούν σε κυστικά μορφώματα και να επιπλακούν από πνευμοθώρακα. Συχνά σχηματίζεται εμπύημα.



Εικόνα 6: Ο *Staphylococcus aureus* στην gram χρώση.

6.1.4. Πνευμονίες από Gram αρνητικούς βακίλους

Οι πνευμονίες αυτές είναι συνήθως ενδονοσοκομειακές, μπορεί όμως να παρατηρηθούν και σε ασθενείς που δεν νοσηλεύονται σε νοσοκομεία, αν αυτοί είναι υπερήλικες, αλκοολικοί ή πάσχουν από βαριά χρόνια νοσήματα (IDSA). Οι πνευμονίες αυτές απαντούν συχνά σε ασθενείς που νοσηλεύονται από πυρετό, πυώδη απόχρεμψη και ελάχιστα συνήθως αντικειμενικά ευρήματα. Συχνά παρατηρείται καταπληξία. Η θνητότητα είναι μεγάλη. Ιδιαίτερη μέριμνα πρέπει να δοθεί στη διάκριση περιπτώσεων αποικισμού των ανώτερων αεροφόρων οδών από τα μικρόβια αυτά, σε αντιδιαστολή προς την πραγματική λοίμωξη.

6.2. Πνευμονίες από άτυπα παθογόνα

6.2.1. Πνευμονία από *Chlamydia pneumoniae*

Τα χλαμύδια είναι υποχρεωτικά ενδοκυτταριοί μικροοργανισμοί, που αναπτύσσονται στο πρωτόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων ενώ παλαιότερα θεωρήθηκαν ιοί (Ward, 2002; Murray et al., 1994). Ωστόσο γρήγορα, έγινε σαφές ότι πρόκειται για βακτήρια (Moulder, 1966) και το 1966 δημιουργήθηκε το γένος *Chlamydia* (Page, 1966), το οποίο αρχικά διαιρέθηκε σε δύο είδη: (α) το είδος *Chlamydia trachomatis*, που προκαλεί λοιμώξεις των οφθαλμών και του γεννητικού συστήματος στον άνθρωπο και (β) το είδος *Chlamydia psittaci*, που έχει ως ξενιστές διάφορα θηλαστικά και τα πτηνά και προκαλεί νόσο σε ζώα και στον άνθρωπο (Page, 1968; Μανίκα Κ et al., 2010)). Τα είδη *Chlamydia pneumoniae*, που προκαλεί αναπνευστικές λοιμώξεις (Grayston et al., 1989) και *Chlamydia pecorum*, που προκαλεί νόσο σε ζώα (Fukushi & Hirai, 1992) θεωρήθηκαν αρχικά στελέχη του *C. psittaci* και αναγνωρίστηκαν ως ξεχωριστά είδη το 1989 και 1992 αντίστοιχα.

Σύμφωνα με νέα ταξινόμηση και ονοματολογία των στελεχών των χλαμυδίων, της οποίας όμως έχει αμφισβητηθεί η χρησιμότητα (Schachter et al., 2001), η οικογένεια *Chlamydiaceae* αποτελείται από δύο γένη, *Chlamydia* και *Chlamydophila*. Το γένος *Chlamydia* διακρίνεται σε δύο τύπους, έναν που προκαλεί τράχωμα, επιπεφυκίτιδα από έγκλειστα και άλλες λοιμώξεις οφθαλμών και γεννητικού συστήματος και έναν δεύτερο που προσβάλλει το γεννητικό σύστημα και τους λεμφαδένες (καλοήθης λεμφοκοκκιωμάτωση ή νόσος των Nicolas-Favre) (Ward, 2002; Chatzidimitriou, 2007).

Το γένος *Chlamydophila* προσβάλλει θηλαστικά και πτηνά, και αποτελείται από έξι είδη: *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. abortus*, *C. caviae*, *C. pecorum* και *C. felis*. Λοιμώξεις αναπνευστικού στον άνθρωπο προκαλούνται από τα είδη *C. pneumoniae* και *C. psittaci*.

Τα χλαμύδια είναι μικρά, ακίνητα βακτήρια. Διαθέτουν τους τυπικούς λιποπολυσακχαρίτες (LPS) των Gram-αρνητικών βακτηρίων, που λειτουργούν ως ήπιες ενδοτοξίνες και εμπεριέχουν μία αντιγονική περιοχή, ειδική του γένους, η οποία χρησιμοποιείται για τη διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων (Ward, 2002).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το *C. pneumoniae* είναι σύνηθες παθογόνο του αναπνευστικού συστήματος παγκοσμίως, καθώς εμπλέκεται σε ευρύ φάσμα λοιμώξεων σε ανοσοεπαρκή και σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα (Miyashita et al., 2006; Blasi et al., 2009). Οι λοιμώξεις από το *C. pneumoniae* φαίνεται ότι είναι συχνότερες σε άτομα με χρόνιες αναπνευστικές παθήσεις (Blasi, 2004).

Ουσιαστικά μεγάλη πλειοψηφία του πληθυσμού θα νοσήσει από το βακτήριο στη διάρκεια της ζωής του (Miyashita et al., 2006). Συνήθως είναι ενδημική νόσος, αλλά επιδημίες από το *C. pneumoniae* έχουν αναφερθεί σε οικογένειες, σχολεία, στρατόπεδα, νοσοκομεία και γενικά σε τόπους στενού συγχρωτισμού (Blasi, 2004). Συχνά αναφέρεται συνλοίμωξη με ιούς (π.χ. ιό γρίπης, αναπνευστικό συγκυτιακό ιό) ή και με βακτήρια (Blasi, 2004).

Οροεπιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι, οι περισσότερες πρωτοπαθείς λοιμώξεις εμφανίζονται στα παιδιά της σχολικής ηλικίας και στους νεαρούς έφηβους. Στην Ευρώπη η συχνότητα ανεύρεσης αντισωμάτων έναντι του *C. pneumoniae* είναι περίπου 10% στην ηλικία 5-10 ετών, αυξάνει κατακόρυφα στο 35-45% στην ενηλικίωση και ξεπερνάει το 75% στους υπερήλικες. Επειδή φυσιολογικά τα αντισώματα λίγα χρόνια μετά την πρωτολοίμωξη δεν ανιχνεύονται, αυτή η σταθερή τους αύξηση στο γενικό πληθυσμό φαίνεται να οφείλεται σε επαναλοιμώξεις ή σε χρόνιες λοιμώξεις. Οι επαναλοιμώξεις είναι συχνές και τα αντισώματα του ορού δεν φαίνεται να είναι προστατευτικά. Περισσότεροι από τους μισούς ενήλικες στις περισσότερες χώρες και στην Ελλάδα έχουν αντισώματα έναντι του *C. Pneumoniae* (Chatzidimitriou et al., 2011). Νεότερες μελέτες που χρησιμοποίησαν PCR για τη διάγνωση της λοίμωξης από το *C. pneumoniae*, σε αντίθεση με τις ορολογικές μελέτες, ανέφεραν χαμηλότερα ποσοστά λοιμώξεων από τον μικροοργανισμό (Blasi et al., 2009).

Η λοίμωξη από το *C. pneumoniae* μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο, πιθανώς μέσω σταγονιδίων και δεν εγκαταλείπει προστατευτική ανοσία (Ward, 2002). Η επανενεργοποίηση προϋπάρχουσας λοίμωξης και η επαναλοίμωξη είναι συχνές και διακρίνονται δύσκολα (Ward, 2002; Hogan et al., 2004).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Το *C. pneumoniae* μπορεί να προκαλέσει πνευμονία, φαρυγγίτιδα, βρογχίτιδα, ωτίτιδα και παραρρινοκολπίτιδα, με χρόνο επώασης 21 μέρες. Θεωρείται ένα από τα συχνότερα αίτια πνευμονίας της κοινότητας, αν και συχνά η λοίμωξη υποδιαγιγνώσκεται λόγω δυσκολιών που υπάρχουν κυρίως στην εργαστηριακή διάγνωση (Ward, 2002). Οι περισσότερες αναπνευστικές λοιμώξεις από *C. pneumoniae* είναι πιθανότατα ήπιες σε σχέση με την κλασική εικόνα της άτυπης πνευμονίας ή και ασυμπτωματικές. Εντούτοις, έχουν αναφερθεί αρκετά περιστατικά με βαριά νόσο, ακόμη και με θανατηφόρο εξέλιξη, αν και δεν έχει διευκρινιστεί επαρκώς η σχέση με συννοσηρότητες (Blasi, 2004).

Σχετικά με τη ΧΑΠ, είναι γνωστό ότι οι παροξύνσεις της νόσου μπορεί να οφείλονται στο *C. pneumoniae* σε μικρό σχετικά αριθμό περιπτώσεων (Clements et al., 2002). Υπάρχουν όμως μελέτες που υποστηρίζουν και την πιθανή συμμετοχή του χλαμυδίου στην παθογένεια της νόσου (Littman et al., 2005). Όσον αφορά στο βρογχικό άσθμα, υπάρχουν στη βιβλιογραφία πολλές μελέτες πάνω στο ρόλο του μικροοργανισμού στο χρόνια σταθερό άσθμα, στο άσθμα όψιμης ή πρώιμης έναρξης και στις παροξύνσεις του άσθματος (Johntson et al., 2006).

6.2.2. Πνευμονία από *Mycoplasma pneumoniae*

Το πρώτο μυκόπλασμα απομονώθηκε το 1898 από βοοειδή και ονομάστηκε παράγων της πλευροπνευμονίας των βοοειδών (bovine pleuropneumonia agent) (Nocard & Roux, 1898). Το 1944 απομονώθηκε από τα πτύελα ασθενή με άτυπη πνευμονία το *M. pneumoniae*, που αρχικά πήρε το όνομα "παράγοντας του Eaton" από τον ερευνητή που το ανακάλυψε (Eaton et al., 1944). Η ονομασία μυκόπλασμα προέρχεται από τις λέξεις "μύκης" και "πλάσμα" και οφείλεται σε κάποιες ομοιότητες που ορισμένα είδη εμφανίζουν με τους μύκητες και στο μεταβαλλόμενο σχήμα τους (Taylor-Robinson, 2002; Μανίκα et al., 2010).

Το *M. pneumoniae* είναι αερόβιο ή προαιρετικά αναερόβιο, ακίνητο μικρόβιο χωρίς κυτταρικό τοίχωμα, με σχήμα ατρακτοειδές. Λόγω της απουσίας κυτταρικού τοιχώματος, τα μυκοπλάσματα δε χρωματίζονται με τη χρώση κατά Gram (Παπαπαναγιώτου & Κυριαζοπούλου, 2004).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το *M. pneumoniae* ευθύνεται για 10-20% των πνευμονιών της κοινότητας και 40% των άτυπων πνευμονιών. Η συχνότητα αυτή είναι μεγαλύτερη για τα παιδιά άνω των 5 ετών και τους εφήβους, όπου ανέρχεται στο 25% περίπου και ελαττώνεται στο 10% στους νεαρούς ενήλικες (Taylor-Robinson, 2002). Από εκεί και πέρα η συχνότητα γίνεται ακόμη μικρότερη, αλλά η βαρύτητα της λοίμωξης τείνει να αυξάνει με την ηλικία (Taylor-Robinson, 2002).

Αν και η πνευμονία είναι η πιο σοβαρή νόσος που προκαλείται από το μυκόπλασμα, μόνο το 3-10% των ατόμων που μολύνονται από *M. pneumoniae* αναπτύσσουν πνευμονία (Thibodeau & Viera, 2004). Οι λοιμώξεις από *M. pneumoniae* δεν εμφανίζουν κάποια ιδιαίτερη εποχιακή κατανομή κατά τη διάρκεια του έτους (Thibodeau & Viera, 2004). Καθώς όμως τα υπόλοιπα παθογόνα έχουν μικρότερη επίπτωση τους καλοκαιρινούς μήνες, η σχετική συχνότητα των λοιμώξεων από μυκόπλασμα αυξάνει τους μήνες αυτούς (Feikin et al., 1999).

Το *M. pneumoniae* μεταδίδεται μέσω σταγονιδίων από άνθρωπο σε άνθρωπο (Waites & Talkington, 2004). Άτομα με οξεία λοίμωξη φέρουν το μικρόβιο στη ρινική κοιλότητα, το φάρυγγα, την τραχεία και τα πτύελα (Παπαπαναγιώτου & Κυριαζοπούλου, 2004). Η μετάδοση διευκολύνεται με το βήχα και συνήθως απαιτεί μεγάλα σταγονίδια (Παπαπαναγιώτου & Κυριαζοπούλου, 2004). Συνήθως οι λοιμώξεις από *M. pneumoniae* διασπείρονται στα μέλη μιας οικογένειας, λόγω όμως της στενής επαφής που απαιτείται για τη μετάδοση, απαντώνται συχνά σε στρατώνες, νοσοκομεία και σχολεία (Παπαπαναγιώτου & Κυριαζοπούλου, 2004; Waites & Talkington, 2004). Ο χρόνος επώασης είναι 1-3 εβδομάδες (Παπαπαναγιώτου & Κυριαζοπούλου, 2004; Waites & Talkington, 2004). Σε διάφορες μελέτες έχει αναφερθεί η πιθανότητα ορισμένα άτομα να είναι φορείς για μεγάλο διάστημα μετά από τη λοίμωξη, αποτελώντας με αυτόν τον τρόπο μία δεξαμενή για τη μετάδοση του μικροβίου σε άλλα άτομα (Dorigo-Zetsma et al. 2001; Gnarp et al., 1992).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Το *M. pneumoniae* προκαλεί λοιμώξεις του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού συστήματος, μερικές φορές και με τη μορφή επιδημίας (Taylor-Robinson, 2002; Waites & Talkington, 2004). Η γενική κλινική εικόνα δεν είναι ιδιαίτερα βαριά (τυπικό παράδειγμα "περιπατητικής πνευμονίας", "walking pneumonia"). Οι υπεζωκοτικές συλλογές είναι συνήθως μικρές και παρατηρούνται στο 5-20% των ασθενών. Η πιο συχνή κλινική συνδρομή από *M. pneumoniae* ιδίως στα παιδιά, είναι η τραχειοβρογχίτιδα, που συχνά συνοδεύεται από προσβολή του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Προκαλεί ακόμα ρινίτιδα και φαρυγγίτιδα. Ο βήχας αποτελεί το χαρακτηριστικότερο κλινικό σημείο της λοίμωξης από μυκόπλασμα. Αυξάνει τις πρώτες 1-2 ημέρες και μπορεί να είναι ιδιαίτερα βασανιστικός.

Το *M. pneumoniae* είναι ένας από τους κατεξοχήν μικροοργανισμούς που ενοχοποιούνται στην παρόξυνση του άσθματος και στις παροξύνσεις της ΧΑΠ (Nisar et al., 2007).

Μπορεί να προσβάλει και άλλα συστήματα εκτός από το αναπνευστικό (Waites & Talkington, 2004). Ενοχοποιείται ως αιτιολογικός παράγοντας πολύμορφου ερυθήματος, αρθρίτιδας, περικαρδίτιδας, μυοκαρδίτιδας, σπειραματονεφρίτιδας, παγκρεατίτιδας και προσβολής του κεντρικού νευρικού συστήματος, που μπορεί να εκδηλωθεί μεταξύ άλλων ως μηνιγγίτιδα, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα ή αύξηση της ενδοκράνιας πίεσης (Waites & Talkington, 2004). Έχει επίσης ενοχοποιηθεί για προσβολή του δέρματος με ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις. Η λοίμωξη από μυκόπλασμα αποτελεί τη συχνότερη αιτία λοιμώδους ανάπτυξης του συνδρόμου Stevens-Johnson (Waites & Talkington, 2004). Είναι αξιοσημείωτο ότι οι εξωπνευμονικές εκδηλώσεις μπορεί να εμφανιστούν πριν, κατά τη διάρκεια ή μετά τις εκδηλώσεις από το αναπνευστικό ή ακόμα και χωρίς αυτές (Waites & Talkington, 2004).

6.2.3. Πνευμονία από *Legionella pneumophila*

Τα βακτήρια του γένους *Legionella* προκαλούν στον άνθρωπο οξεία πνευμονική λοίμωξη, που ονομάζεται νόσος των λεγεωνάριων (legionnaires' disease) και μία εμπύρετη νόσο, χωρίς πνευμονική εντόπιση, που ονομάζεται πυρετός Pontiac (pontiac fever) (Edelstein & Cianciotto, 2005; Μανίκα et al., 2010). Επίσης η λοίμωξη από λεγεωνέλλα μπορεί να διαδράμει ασυμπτωματικά, με μόνη ένδειξη την εμφάνιση

αντισωμάτων (Boshuizen et al., 2001). Η λεγεωνέλλα είναι το πιο σημαντικό από τα άτυπα παθογόνα του αναπνευστικού από άποψη βαρύτητας νόσου (Cunha, 2006).

Το καλοκαίρι του 1976 στη Φιλαδέλφεια των ΗΠΑ, σε ένα συνέδριο βετεράνων πολεμιστών της Αμερικανικής Λεγεώνας, σημειώθηκαν κρούσματα μίας οξείας αναπνευστικής νόσου. Συνολικά νόσησαν 221 άτομα, από τα οποία τα 34 κατέληξαν (Fraser et al., 1977). Τελικά το 1977 οι McDade και Shepard ανακοίνωσαν την ανακάλυψη ενός νέου Gram-αρνητικού μικροβίου, που απομονώθηκε στους πνεύμονες ασθενή που κατέληξε από αυτή τη νόσο, που ονομάστηκε "νόσος των λεγεωναριών" (McDade et al., 1977).

Το μικρόβιο ονομάστηκε *Legionella pneumophila* και οδήγησε στην ανακάλυψη μίας νέας οικογένειας μικροβίων, της οικογένειας *Legionellaceae*. Μέχρι σήμερα, έχουν ανακαλυφθεί πάνω από 50 νέα είδη λεγεωνέλλας, με πολλούς ορότυπους. Από τα είδη αυτά, είκοσι είναι παθογόνα για τον άνθρωπο (Fields et al., 2002). Οι *Legionella* spp είναι μικροί, υποχρεωτικά αερόβιοι, Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί, με ειδικές θρεπτικές απαιτήσεις. Ως αποτέλεσμα, δεν αναπτύσσονται στα κοινά θρεπτικά υλικά (Edelstein & Cianciotto, 2005). Το φυσικό περιβάλλον των *Legionella* spp είναι το νερό με θερμοκρασία που κυμαίνεται από 5°C ως πάνω από 50°C. Δεκατέσσερα είδη αμοιβάδας και δύο είδη βλεφαριδοφόρων πρωτόζωων αποτελούν τους φυσικούς ξενιστές. Η λοίμωξη των ανθρώπινων φαγοκυττάρων είναι πιθανόν ευκαιριακή (Fields et al., 2002). Οι *Legionella* spp μπορούν ακόμη να επιβιώσουν και εξωκυττάρια μέσα σε βιολογικές μεμβράνες (biofilm).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Οι μικροοργανισμοί *Legionella* spp. αποτελούν σήμερα μία σημαντική αιτία πνευμονίας της κοινότητας και νοσοκομειακής πνευμονίας, που μπορεί να εμφανιστεί είτε σποραδικά είτε με τη μορφή επιδημιών. Η περίοδος επώασης είναι συνήθως 2-10 ημέρες (Fields et al., 2002).

Η πνευμονία της κοινότητας που οφείλεται σε *Legionella* spp. προκαλείται στο 90% των περιπτώσεων στην Αμερική και την Ευρώπη από την *pneumophila* και ειδικότερα από τον ορότυπο 1 (στο 85% του συνόλου των περιπτώσεων) (Maiwald et al., 1998). Η συχνότητα της λοίμωξης από *Legionella* spp. ποικίλει στις διάφορες μελέτες και κυμαίνεται από 1 ως 16% επί του συνόλου των πνευμονιών της κοινότητας (Maiwald et al., 1998; Bennin et al., 2002). Οι *Legionella* spp. αποτελούν τον τρίτο κατά συχνότητα

αιτιολογικό παράγοντα της πνευμονίας της κοινότητας και συχνή αιτία άτυπης πνευμονίας (Bennin et al., 2002; Muder & Yu, 2001). Η εκτίμηση της επίπτωσης της νόσου είναι δύσκολη, καθώς πολλά κρούσματα δε δηλώνονται, είτε γιατί οι ασθενείς θεραπεύονται εμπειρικά, είτε γιατί οι διαγνωστικές δοκιμασίες είναι ψευδώς αρνητικές, είτε γιατί δε δηλώνονται στις υπηρεσίες οι διαγνωσμένες περιπτώσεις (Muder & Yu, 2001). Υπολογίζεται ότι 8.000 ως 18.000 περιπτώσεις εμφανίζονται κάθε χρόνο στις ΗΠΑ (Edelstein & Cianciotto, 2005), ενώ στην Ευρώπη η επίπτωση κυμαίνεται από 1 ως 30 περιπτώσεις ανά 1.000.000 πληθυσμού (Ricketts et al., 2006).

Η γεωγραφική κατανομή της νόσου των λεγεωνάριων είναι ευρεία. Επιδημίες έχουν αναφερθεί στη Βόρεια και τη Νότια Αμερική, την Αφρική, την Αυστραλία και την Ευρώπη (Muder & Yu, 2001). Το 65-75% των κρουσμάτων της νόσου είναι σποραδικές περιπτώσεις, ενώ το υπόλοιπο εμφανίζεται με τη μορφή επιδημιών (Edelstein & Cianciotto, 2005). Αν και δεν υπάρχει σαφής εποχιακή κατανομή τα κρούσματα που δηλώνονται στο CDC αυξάνονται το καλοκαίρι (Fields et al., 2002). Επιδημίες της λοίμωξης σχετιζόμενες με πύργους ψύξης εμφανίζονται συχνότερα τους θερινούς μήνες (Fields et al., 2002), όπως και τα κρούσματα σε ταξιδιώτες (Ricketts et al., 2006). Δεν είναι γνωστό αν η αύξηση των κρουσμάτων το καλοκαίρι οφείλεται σε αλλαγή της οικολογίας του μικροοργανισμού ή είναι αποτέλεσμα των δραστηριοτήτων του ανθρώπου το διάστημα αυτό (Ricketts et al., 2006). Οι νοσοκομειακές περιπτώσεις νόσου των λεγεωνάριων εμφανίζονται με την ίδια συχνότητα όλο το χρόνο (Fields et al., 2002). Σχετικά με την εμφάνιση της νόσου σε διάφορες ηλικίες, η λοίμωξη είναι συχνότερη σε άτομα 50-65 ετών, με αναλογία ανδρών - γυναικών 3:1, ενώ σε παιδιά αναφέρεται σε λίγες περιπτώσεις (κάτω του 1% των πνευμονιών), και αφορά κυρίως ανοσοκατεσταλμένα άτομα (Edelstein & Cianciotto, 2005).

Σχετικά με τα σταγονίδια, μέσω των οποίων γίνεται η μόλυνση με *Legionella* spp., όσο μικρότερα είναι τόσο πιο πιθανή είναι η μόλυνση, καθώς τα μικρά σταγονίδια (με διάμετρο μικρότερη των 5μm φθάνουν στις κατώτερες αεροφόρες οδούς πιο εύκολα) (Ricketts et al., 2006). Μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο, ή από μολυσμένα ζώα σε άνθρωπο, δεν έχουν αναφερθεί (Edelstein & Cianciotto, 2005; Ricketts et al., 2006). Εισπνοή μολυσμένου αεροζόλ από πύργους ψύξης, σιντριβάνια, ιαματικά λουτρά, πισίνες, συστήματα ζεστού και κρύου νερού, υγρανητές είναι η αιτία πολλών κρουσμάτων της νόσου των λεγεωνάριων, ιδίως επιδημιών. Στις περιπτώσεις αυτές η απόσταση από την πηγή της μόλυνσης και η διάρκεια της έκθεσης αποτελούν παράγοντες κινδύνου (Liang et al., 2006). Η μόλυνση μπορεί επίσης να οφείλεται σε

μικροεισροφήσεις μολυσμένου νερού στους πνεύμονες (Edelstein & Cianciotto, 2005). Αυτός ο τρόπος μετάδοσης είναι υπεύθυνος κυρίως για περιπτώσεις νοσοκομειακής λοίμωξης σε ασθενείς με ρινογαστρικό καθετήρα. Η κατανάλωση μολυσμένου νερού παίζει πολύ μικρό ρόλο στη μετάδοση της νόσου (Edelstein & Cianciotto, 2005).

Στον πυρετό Pontiac, η επίπτωση είναι άγνωστη. Η μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων εμφανίζεται με τη μορφή επιδημιών, που προκαλούνται από μολυσμένα αεροζόλ (Muder & Yu, 2001). Το ποσοστό μόλυνσης είναι πολύ υψηλό και κυμαίνεται από 70 ως 90% (Liang et al., 2006). Τα μη ειδικά και συνήθως αυτοπεριοριζόμενα συμπτώματα καθιστούν την αναγνώριση σποραδικών κρουσμάτων δυσχερή (Edelstein & Cianciotto, 2005).

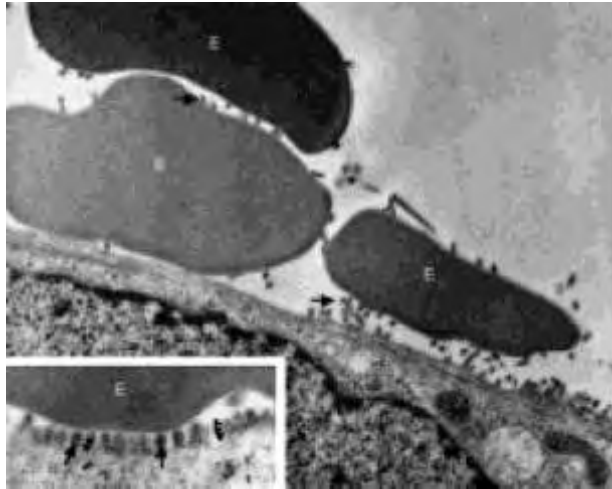
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η λοίμωξη από *Legionella* spp. εκδηλώνεται με δύο ξεχωριστές κλινικές οντότητες, τη νόσο των λεγεωνάριων και τον πυρετό Pontiac. Η νόσος των λεγεωνάριων είναι μία συστηματική νόσος που εκδηλώνεται με πυρετό, μη παραγωγικό βήχα, μυαλγίες, δύσπνοια, διάρροια, παραλήρημα. Δεν υπάρχουν ειδικά κλινικά ή ακτινολογικά ευρήματα που να συμβάλλουν στη διαφορική διάγνωση από πνευμονία άλλης αιτιολογίας (Fields et al., 2002; Den Boer & Yzerman, 2004). Ο πυρετός Pontiac αποτελεί μια αυτοπεριοριζόμενη κλινική συνδρομή που μιμείται τα συμπτώματα γριπώδους συνδρομής (Muder & Yu, 2001).

6.3. Ιογενείς πνευμονίες

6.3.1. Γρίπη (INFLUENZA)

Ευθύνεται για το 50% των περιπτώσεων ιογενούς πνευμονίας σε μη-ανοσοκατεσταλμένους ενήλικες (Richard et al., 1999). Ανήκει στην οικογένεια των ορθομυξοϊών (Εικόνα 7).



Εικόνα 7: Ιοσώματα (virions) του ιού A της ινφλουέντζας (βέλη) εικονίζονται να εκβλαστάνουν στην επιφάνεια κυττάρων νεφρών πιθήκων rhesus (K). Στο πλαίσιο κάτω αριστερά, ο πυκνός νουκλεοπρωτεϊνικός πυρήνας του ιού (βέλη) μπορεί να διακριθεί από το διαυγέστερο θύσσανο των μεμονωμένων προσεκβολών αιμοσυγκολλητίνης και νευραμινιδάσης (κεφαλές βελών) (Τσουκαλάς et al., 2005).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Έχουν αναγνωρισθεί τρεις τύποι ιού που συμβολίζονται με τους λατινικούς χαρακτήρες A, B και C. Ο ιός A ευθύνεται για τις πιο βαριές και εκτεταμένες προσβολές ενώ ο ιός C δεν φαίνεται να είναι παθογόνος. Τα μείζονα αντιγόνα στην επιφάνεια του ιού είναι η αιμοσυγκολλητίνη και η νευραμινιδάση. Η αιμοσυγκολλητίνη υφίσταται περιοδικές μεταβολές, ελάσσονες (αντιγονικές μετατοπίσεις - antigenic drifts από σημειακές μεταλλάξεις) ή μείζονες (αντιγονικές μεταθέσεις - antigenic shifts από ανασυνδυασμούς γενετικού υλικού μεταξύ στελεχών). Το μεγαλύτερο μέρος της ανοσιακής απάντησης του ξενιστή κατευθύνεται έναντι της αιμοσυγκολλητίνης. Τα αντιγονικά “shifts” οδηγούν σε πανδημίες καθώς βρίσκουν απροετοίμαστη την ανοσία του πληθυσμού της κοινότητας, ενώ τα αντιγονικά “drifts” οδηγούν σε μικρότερης έκτασης επιδημίες (Richard et al., 1999). Αντιγονικά “shifts” και πανδημίες παρατηρούνται τυπικά με τον ιό A, και υποστηρίζεται ότι λαμβάνει χώρα γενετικός ανασυνδυασμός σε χοίρους μεταξύ στελεχών που προσβάλλουν ανθρώπους και στελεχών που προσβάλλουν πτηνά (Lawrence et al., 2005; Greenberg, 2002).

Τα τελευταία έτη περιγράφηκαν περιπτώσεις απευθείας μετάδοσης διαφόρων υποτύπων ιών από πουλερικά στον άνθρωπο (γρίπη των πουλερικών), ορισμένων εξ αυτών ιδιαίτερα παθογόνων που προκάλεσαν επιδημικές εξάρσεις με σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα. Οι ιοί φαίνεται ότι προσέβαλαν και άλλα ζώα (π.χ. τίγρεις,

λεοπαρδάλεις, γάτες αλλά και χοίρους, πάπιες, τρωκτικά) και ότι μετάδοση μεταξύ αυτών αλλά και προς τον άνθρωπο ήταν δυνατή (Fouchier et al., 2005; Greenberg, 2002). Υπό αυτές τις περιστάσεις κίνδυνος μιας καταστροφικής πανδημίας είναι υπαρκτός.

Οι επιδημίες συμβαίνουν κυρίως φθινόπωρο και χειμώνα και διαρκούν περί τις 5-6 εβδομάδες. Η μετάδοση γίνεται κυρίως με σταγονίδια, αρχίζει λίγο πριν από την εκδήλωση των συμπτωμάτων και συνεχίζεται για 5-10 ημέρες. Ο χρόνος επώασης είναι 1-4 ημέρες. Οι οικονομικές επιπτώσεις της γρίπης είναι ιδιαίτερα σημαντικές (Richard et al., 1999).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ο ιός μπορεί να προκαλέσει μέση ωτίτιδα, παραρρινοκολπίτιδα, βρογχίτιδα και πνευμονία. Η προσβολή του πνεύμονα μπορεί να οφείλεται στον ίδιο τον ιό (πρωτογενής πνευμονία), οπότε και ακολουθεί την οξεία νόσηση, αλλά συχνότερα είναι αποτέλεσμα βακτηριακής επιλοίμωξης (δευτερογενής πνευμονία) και εμφανίζεται μετά από μια περίοδο κλινικής βελτίωσης. Συχνότερα βακτηριακά αίτια είναι ο πνευμονιόκοκκος (*S. pneumoniae*), ο αιμόφιλος της γρίπης (*H. Influenza*) και ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος (*S. aureus*) (Zeller & Bricaire, 2003). Είναι αξιοσημείωτο ότι ιός και βακτήρια ενισχύουν αμοιβαία τη δράση τους (Lawrence et al., 2005). Συνύπαρξη πρωτογενούς και δευτερογενούς πνευμονίας δεν αποκλείεται (Richard et al., 1999).

Η νόσος τυπικά εισβάλλει οξέως με βήχα, φαρυγγαλγία, υπεραιμία επιπεφυκώτων, ρινική καταρροή και συμφόρηση, πυρετό, μυαλγίες, κεφαλαλγία και κακουχία. Είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη. Επανεμφάνιση ή επιδείνωση των αναπνευστικών συμπτωμάτων θα πρέπει να θέσει την υποψία προσβολής του πνεύμονα αν και ακτινογραφικά ευρήματα είναι δυνατό να υφίστανται απουσία κλινικών ενδείξεων (Richard et al., 1999; Lawrence et al., 2005; Zeller & Bricaire, 2003).

Τυπικά, η ακτινογραφική εικόνα της πρωτογενούς πνευμονίας συνίσταται σε διάχυτες, διάμεσες ή κατά τόπους (patchy) διηθήσεις (Franquet, 2001; Kim et al., 2002). Η νοσηρότητα και η θνητότητα της γριπώδους πνευμονίας είναι υψηλές. Η κλινική κατάσταση μπορεί να επιδεινωθεί μέχρι την εκδήλωση ARDS. Στην περίπτωση αυτή, το ενδεχόμενο δευτερογενούς επιλοίμωξης είναι πολύ ισχυρό (Richard et al., 1999; Lawrence et al., 2005; Zeller & Bricaire, 2003).

6.3.2. Παραγρίπη (PARAINFLUENZA)

Ο ιός της παραγρίπης ανήκει στην οικογένεια των παραμυξοϊών, ώστε παρά το όνομά του συγγενεύει στενά με τον RSV και όχι με αυτόν της γρίπης.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η συμπεριφορά του ιού έχει πολλά κοινά σημεία με αυτή του RSV, αλλά γενικά είναι καθ' όλα ηπιότερη. Πιο συχνή στα παιδιά, η λοίμωξη από τον ιό της παραγρίπης είναι σχετικά σπάνια στους ενήλικες. Αφορά κυρίως στο ανώτερο αναπνευστικό και λιγότερο συχνά προσβάλλει το κατώτερο αναπνευστικό. Έχουν αναγνωριστεί τέσσερις ορότυποι. Από αυτούς, ο ορότυπος 4 σπάνια αναγνωρίζεται ως λοιμώδης αίτιο. Ο ορότυπος 1 ευθύνεται για τις μεγαλύτερες επιδημικές εξάρσεις, ανά δυο έτη, τους φθινοπωρινούς μήνες των μονών ετών! Οι επιδημικές εξάρσεις του ορότυπου 2 ακολουθούν αυτές του ορότυπου 1. Οι εξάρσεις του ορότυπου 3 παρατηρούνται ετησίως, κυρίως την άνοιξη και το καλοκαίρι (Richard et al., 1999; Breese, 2001).

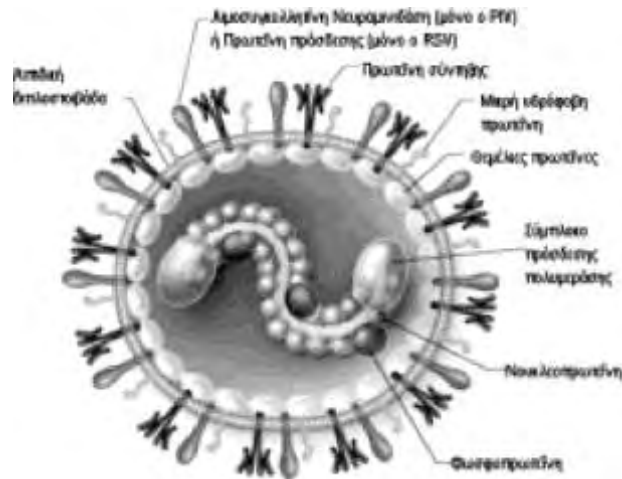
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ο ιός μπορεί να προσβάλει το ανώτερο αναπνευστικό, και η λοίμωξη ορισμένες φορές επιπλέκεται από οξεία μέση ωτίτιδα. Χαρακτηριστική είναι η οξεία λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα (Croup), συνήθως από τον ορότυπο 1.

Βρογχολίτιδα και πνευμονία προκαλούνται συχνότερα από τον ορότυπο 3. Η κλινική εικόνα είναι συνήθως ήπια. Όταν ο ιός προσβάλει τον πνεύμονα, η κλινική και απεικονιστική εικόνα είναι αυτή μιας άτυπης πνευμονίας. Η φυσική ανοσία που καταλείπει η λοίμωξη δεν είναι ούτε πλήρης, ούτε μόνιμη. Επαναλοιμώξεις συμβαίνουν κυρίως σε παιδιά, ευάλωτοι ωστόσο είναι και οι ηλικιωμένοι καθώς και οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς. Έχει υποστηριχθεί ότι παροξύνσεις ΧΑΠ και άσθματος μπορεί να σχετίζονται με λοίμωξη από τον ιό της παραγρίπης (όπως επίσης και από τον RSV) (Richard et al., 1999; Breese, 2001).

6.3.3. Αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS)

Ανήκει στην οικογένεια των παραμυξοϊών. Αναγνωρίζονται δυο τύποι, Α και Β (Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Σχηματική παράσταση της δομής του Αναπνευστικού Συγκυτιακού Ιού (RSV) και του Ιού της Παραγρίπης (PIV) (Breese, 2001).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Οι επιδημίες συμβαίνουν μεταξύ Νοεμβρίου και Μαΐου και διαρκούν 1-5 μήνες. Η μετάδοση γίνεται διά του αναπνευστικού, με σταγονίδια, αερομεταφερόμενα σωματίδια ή επαφή. Ο ενοφθαλμισμός γίνεται είτε από τα χέρια είτε με σταγονίδια ή σωματίδια στα μάτια και τη μύτη, αλλά σπάνια στο στόμα. Η περίοδος επώασης είναι 2-8 (μέση 5) ημέρες (Breese, 2001).

Ο ιός προσβάλλει συχνότερα παιδιά, για τα οποία αποτελεί το συχνότερο αίτιο λοίμωξης ανώτερου αναπνευστικού και πνευμονίας. Σήμερα αναγνωρίζεται ως σημαντικό παθογόνο και στους ενήλικους (δεύτερη ιογενής αιτία πνευμονίας της κοινότητας), στους οποίους λόγω της ποικίλης και λιγότερο χαρακτηριστικής κλινικής εικόνας συχνά παραμένει αδιάγνωστο. Η φυσική ανοσία είναι ατελής και παροδική. Έτσι, οι επαναλοιμώξεις δεν προκαλούν έκπληξη. Βαριές πνευμονικές λοιμώξεις έχουν περιγραφεί σε ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένους. Ιδιαίτερα ευαίσθητοι είναι επίσης οι ασθενείς με χρόνια καρδιακά ή αναπνευστικά νοσήματα και ειδικά οι πάσχοντες από κυστική ίνωση. Ο ιός επάγει εκτός των άλλων και την παραγωγή IgE, το μέγεθος της οποίας σχετίζεται με τη μετέπειτα εμφάνιση επεισοδίων συριγμού (Richard et al., 1999; Breese, 2001).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η προσβολή του ανώτερου αναπνευστικού ακολουθείται στο 25-40% των περιπτώσεων από επέκταση στο κατώτερο αναπνευστικό, 2-3 ημέρες αργότερα. Αναπτύσσεται βρογχολίτιδα ή/και πνευμονία. Και στις δυο περιπτώσεις παράγονται ακτινογραφικά ευρήματα, τα οποία μπορεί να είναι διάμεσες διηθήσεις ή να έχουν λοβώδη κατανομή. Στον πνεύμονα ο ιός προκαλεί νέκρωση και απόπτωση του επιθηλίου των μικρών αεραγωγών και αυξημένη παραγωγή βλέννης προκαλώντας έτσι την απόφραξή τους. Η επανεμφάνιση κροσσωτών κυττάρων καθυστερεί για τουλάχιστον δυο εβδομάδες και η πλήρης ιστολογική αποκατάσταση είναι ιδιαίτερα παρατεταμένη, διάρκειας 4-8 μηνών, γεγονός που συμφωνεί με την παραμονή βήχα και συριγμού για σημαντικό χρονικό διάστημα. Η διάρκεια των συμπτωμάτων, είτε από το ανώτερο είτε από το κατώτερο αναπνευστικό, και ο συνοδός συριγμός, είναι στοιχεία χαρακτηριστικά του RSV (Breese, 2001).

6.3.4. Ανθρώπινος μεταπνευμονιός (HUMAN METAPNEUMOVIRUS)

Αναγνωρίστηκε πρόσφατα, μόλις το 2001 και ανήκει στην οικογένεια των παραμυξοϊών εμφανίζοντας γενετική συγγένεια με τον RSV. Ο ιός έχει ανιχνευθεί σε ασθενείς κάθε ηλικίας με λοίμωξη αναπνευστικού, τόσο στην κοινότητα όσο και ενδονοσοκομειακά. Φαίνεται ότι ιδιαίτερα ευπαθείς ομάδες είναι τα παιδιά, οι ηλικιωμένοι και οι ανοσοκατεσταλμένοι. Ενέχεται τόσο σε σποραδικά κρούσματα όσο και σε επιδημίες. Το φάσμα της προκαλούμενης νόσου εκτείνεται από ένα απλό “κρυολόγημα” έως πνευμονία. Επίσης, έχει σχετισθεί με παροξύνσεις ΧΑΠ και βρογχικού άσθματος (Fouchier et al., 2005).

6.3.5. Αδενοϊός (ADENOVIRUS)

Συγκροτεί ιδιαίτερη οικογένεια ιών. Υπάρχουν πάνω από 40 ορότυποι αδενοϊών που προσβάλλουν τον άνθρωπο (Lawrence et al., 2005). Προσβάλλονται περισσότερο παιδιά όλων των ηλικιών αλλά και νεοσύλληκτοι (Lawrence et al., 2005). Προκαλούν μια ποικιλία συνδρόμων, μεταξύ των οποίων και λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού η οποία εκδηλώνεται ως βρογχολίτιδα ή πνευμονία. Η μόλυνση μπορεί να γίνει διά του αέρα, επίσης όμως και με την κόπρανοστοματική οδό. Οι λοιμώξεις είναι συχνότερες

μεταξύ φθινοπώρου και άνοιξης. Η περίοδος επώασης είναι 4-9 ημέρες. Προδιαθεσικούς παράγοντες αποτελούν η μεγάλη ηλικία, οι νεοπλασματικές νόσοι (ιδιαίτερα οι λευχαιμίες), οι μεταμοσχεύσεις οργάνων και άλλες καταστάσεις που συνοδεύονται από ανοσοκαταστολή. Τα ακτινολογικά ευρήματα, όπως και στις υπόλοιπες ιογενείς πνευμονίες δεν είναι ειδικά. Υπεζωκοτική συλλογή είναι πιθανή.

6.3.6. Ιλαρά (MEASLES)

Πρόκειται επίσης για παραμυξοϊό. Πύλες εισόδου είναι το αναπνευστικό και οι επιπεφυκότες. Το κατώτερο αναπνευστικό προσβάλλεται στο 5-50% των περιπτώσεων με τη μορφή βρογχίτιδας, βρογχοπνευμονίας, πνευμονίας, ή βρογχιολίτιδας στα παιδιά και μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή αναπνευστική δυσχέρεια. Εξάλλου, η βακτηριακή επιλοίμωξη αποτελεί συχνή και σοβαρή επιπλοκή. Στις ΗΠΑ, η πνευμονία είναι υπεύθυνη για το 60% των θανάτων από ιλαρά στα παιδιά (Richard et al., 1999). Η πνευμονία από τον ιό της ιλαράς απεικονίζεται με δικτυοοζώδεις παρεγχυματικές διηθήσεις και μπορεί να συνοδεύεται από πυλαία λεμφαδενοπάθεια και πλευριτικές συλλογές (Richard et al., 1999).

6.3.7. Ανεμευλογία (VARICELLA)

Ο ανθρώπινος ερπητοϊός 3 (Varicella-Zoster Virus) είναι υπεύθυνος για την ανεμευλογία και τον έρπητα ζωστήρα. Μία από τις επιπλοκές της ανεμευλογιάς (όχι όμως και του ζωστήρα) είναι η διάμεση πνευμονία. Είναι 25 φορές πιο συχνή στους ενηλίκους απ' ό τι στα παιδιά (Mohsen et al., 2001). Ως προδιαθεσικοί παράγοντες πνευμονίας έχουν περιγραφεί η ανοσοκαταστολή, οι ακραίες ηλικίες, η κύηση, ο καρκίνος, το κάπνισμα, η χρήση εισπνεόμενων στεροειδών, η ΧΑΠ και τέλος το σοβαρό εξάνθημα (Parsons & Heffner, 2001; Mohsen et al., 2001; Frangides & Pneumatikos, 2004). Αναπτύσσεται 1-6 ημέρες μετά την εμφάνιση του εξανθήματος με δύσπνοια και βήχα.

Παρουσιάζει συνήθως πολλαπλές οζώδεις σκιάσεις σε όλη την έκταση των πνευμόνων οι οποίες μετά την καταλείπουν χαρακτηριστικά έντονα αποτιτανωμένα οζίδια διαμέτρου 2-3 mm. Η τελική αυτή εικόνα μπορεί να αποτελεί και τυχαίο ακτινολογικό εύρημα. Πυλαία λεμφαδενοπάθεια και υπεζωκοτικές συλλογές συνυπάρχουν περιστασιακά στην οξεία φάση (Richard et al., 1999). Η πνευμονία από τον

ιό της ανεμευλογιάς-έρπητα ζωστήρα μπορεί να καταλήξει σε ARDS (Frangides & Pneumatikos, 2004; Hanley & Welsh, 2003).

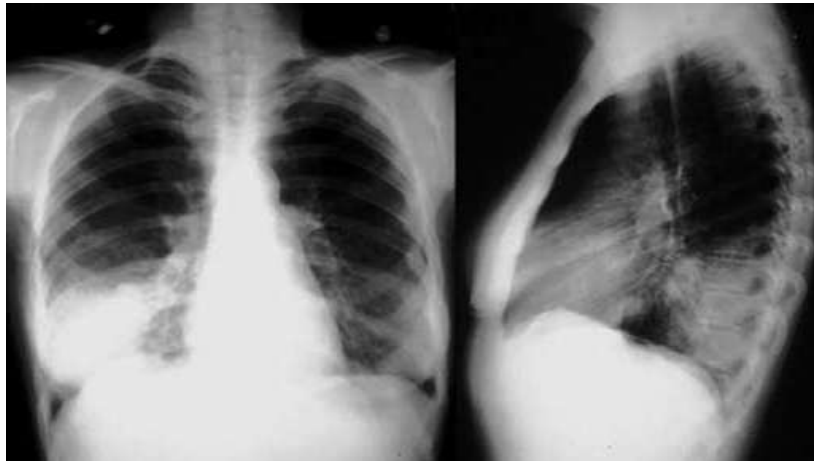
Η ανεμευλογία έχει επίσης αναφερθεί να καταλείπει παροδική περιοριστική διαταραχή, όπως μετράται με τη σπιρομέτρηση και τη διάχυση. Η επιπλοκή είναι συχνότερη όταν υπάρχει ακτινολογική συμμετοχή του πνεύμονα. Η διαταραχή της διάχυσης μπορεί να παραμένει και πέραν του ενός έτους από τη νόσηση (Mohsen et al., 2001).

7. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Δύο είναι οι άξονες των στόχων στη διάγνωση της πνευμονίας. Ο πρώτος αφορά στην τεκμηρίωση της ύπαρξης πνευμονίας και θα γίνει με την κλινική εξέταση, την ακτινογραφία θώρακος και τη γενική εξέταση αίματος και ο δεύτερος αφορά στην εξακρίβωση του αιτίου της πνευμονίας και θα γίνει με εξειδικευμένες μικροβιολογικές μεθόδους. Η διάγνωση της πνευμονίας είναι κατά βάση κλινική, ακτινολογική και εργαστηριακή.

Η υποψία ύπαρξης πνευμονίας πρέπει να εγείρεται σε κάθε ασθενή που εμφανίζει νέα συμπτώματα από το κατώτερο αναπνευστικό, όπως βήχα, ιδιαίτερα με παραγωγή πτυέλων και δύσπνοια, ιδιαίτερα όταν αυτά συνοδεύονται από πυρετό και ακροαστικά ευρήματα συμβατά με πνευμονία (όπως εντοπισμένοι μη μουσικοί ρόγχοι (κυρίως τελοεισπνευστικοί), σωληνώδες φύσημα, αύξηση φωνητικών δονήσεων ή μείωση του αναπνευστικού ψιθυρίσματος). Η φυσική εξέταση δεν είναι ούτε επαρκώς ευαίσθητη ούτε επαρκώς ειδική για τη διάγνωση της πνευμονίας (Τόσκας Επιστημονικά Θέματα).

Η ακτινογραφία θώρακος είναι μια ευαίσθητη εξέταση και γι' αυτό θεωρείται η gold standard εξέταση για τη διάγνωση της πνευμονίας (Woodhead et al., 1996; Τόσκας Επιστημονικά Θέματα). Πρέπει να περιλαμβάνεται στον έλεγχο ρουτίνας όλων των ασθενών με πιθανή πνευμονία. Η ακτινογραφία θώρακος είναι αυτή που θα επιβεβαιώσει τη διάγνωση και θα καθορίσει την πορεία της θεραπείας. Πάντοτε πρέπει να γίνεται κατά μέτωπο και πλάγια ακτινογραφία θώρακος για την αποκάλυψη οπισθοπερικαρδιακών ή προκαρδιακών πυκνώσεων (Εικόνα 9).



Εικόνα 9: Πνευμονία από πνευμονιόκοκκο. Πάντοτε πρέπει να γίνεται κατά μέτωπο και πλάγια ακτινογραφία θώρακος για την αποκάλυψη οπισθοπερικαρδιακών ή προκαρδιακών πυκνώσεων (Τόσκας Επιστημονικά Θέματα).

Με την ακτινογραφία θώρακος ενώ θέτουμε τη διάγνωση πνευμονίας, σπανίως μπορούμε να εκφέρουμε γνώμη για την αιτία της λοίμωξης. Ωστόσο, ορισμένα χαρακτηριστικά ακτινολογικά ευρήματα, μας βοηθούν να προσανατολιστούμε με επιφύλαξη προς μια κατεύθυνση (Πίνακας 7) Π.χ.

- Κατάληψη του κορυφαίου τμήματος του κάτω λοβού ή του οπισθίου του άνω λοβού είναι συχνή σε πνευμονία από εισρόφηση.
- Οι άνω λοβοί είναι δυνατόν να προσβληθούν σε πνευμονίες διαφόρων αιτιολογιών, αλλά είναι πιο συχνή η εντόπιση πνευμονίας από *Klebsiella* ή σε φυματίωση.
- Η ύπαρξη κοιλοτήτων με υδραερικό επίπεδο υποδηλώνει απόστημα συχνά από αναερόβια ή Gram (+) αερόβια βακτήρια (Πίνακας 7) (Τόσκας Επιστημονικά Θέματα).

Πίνακας 7: Ακτινολογική διάγνωση του αιτίου της πνευμονίας (Τόσκας Επιστημονικά Θέματα).

	Πνευμονιόκοκκος	Μυκόπλασμα πνευμονίας
Λοβώδης-Λοβιακή πύκνωση	15-25%	10%
Μονήρης ομοιογενής πύκνωση (όχι τμηματική)	15-20%	40-80%
Εστιακή ανομοιογενής πύκνωση (Βρογχοπνευμονία)	60-70%	<20%
Ατελεκτασία υποτμηματική		20%
Αμφοτερόπλευρες κυψελιδικές διηθήσεις (βρογχοπνευμονικές εστίες)	<5%	25-75%
Αμφοτερόπλευρες διάμεσες ± κυψελιδικές διηθήσεις	OXI	15-20%
Πλευριτική συλλογή	25-57%	15-25%
Εμπύημα	5-10%	OXI

Επίσης, με την ακτινογραφία θώρακα μπορούμε να αξιολογήσουμε την εξέλιξη των ακτινολογικών αλλοιώσεων. Σε ασθενείς που παρουσιάζουν, έπειτα από κατάλληλη αντιβίωση, κλινική βελτίωση η ακτινολογική εικόνα αποκαθίσταται αργά (Εικόνα 10, 11). Συνήθως σε νεαρά άτομα η ακτινογραφία θώρακος αποκαθίσταται εντός 4 εβδομάδων, αλλά σε ηλικιωμένους η αποκατάσταση μπορεί να διαρκέσει και 4 μήνες. Εάν ο χρόνος της αποκατάστασης παραταθεί ή εάν η πνευμονία υποτροπιάσει στην ίδια περιοχή ή διαπιστωθεί απώλεια πνευμονικού όγκου, τότε πρέπει να αποκλειστεί η νεοπλασία με βρογχοσκόπηση. Σε ασθενείς που τα κλινικά σημεία της λοίμωξης παραμένουν και η ακτινογραφία θώρακος δεν βελτιώνεται, πρέπει να διερευνηθεί η πιθανότητα δημιουργίας αποστήματος, εμπύηματος ή μιας νέας πνευμονίας με νέο μικροοργανισμό ανθεκτικό στη συγκεκριμένη θεραπεία (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

**Εικόνα 10:** Πνευμονία δεξιού κάτω πνευμονικού πεδίου πριν (άνω) και μετά τη θεραπεία (κάτω).

Η συνύπαρξη πλευρίτιδας (παρουσία πλευρικού υγρού στην ακτινογραφία θώρακος) έχει ιδιαίτερο διαγνωστικό και θεραπευτικό ενδιαφέρον. Πλευρίτιδα εκδηλώνεται συχνά κατά τη διαδρομή πνευμονίας από *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus*, *Klebsiella* και αναερόβιους οργανισμούς. Το *Mycoplasma pneumoniae* προκαλεί σχετικά σπάνια πλευρίτιδα και πλευρικό υγρό. Η γρίπη και η *Legionella* σπανίως προκαλούν υπεζωκοτική αντίδραση. Η παρακέντηση δεν βοηθά μόνο στην αιτιολογική διάγνωση της νόσου με την απομόνωση του αιτιολογικού παράγοντα, αλλά είναι σημαντική και για τη διάγνωση πιθανού εμπύματος. Στις περιπτώσεις αυτές επιβάλλεται ευρεία παροχέτευση του πύου.



Εικόνα 11: Πλευρική συλλογή δεξιά και παρεγχυματικές διηθήσεις αριστερού κάτω πνευμονικού πεδίου πριν (αριστερά) και μετά τη θεραπεία (δεξιά).

7.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ



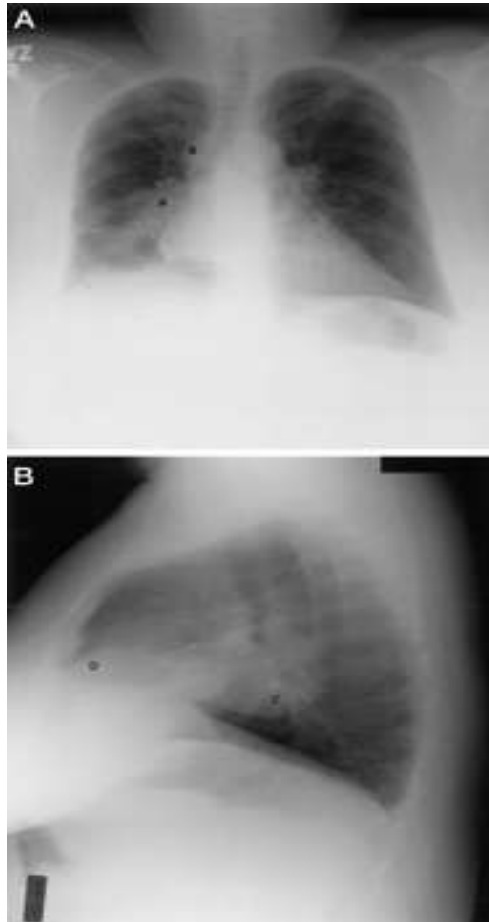
Εικόνα 12: Πνευμονία από *Klebsiella* καταλαμβάνει τον δεξιό άνω λοβό.



Εικόνα 13: Πνευμονία από πνευμονιόκοκκο. Η πύκνωση καταλαμβάνει τα 2/3 του δεξιού πνεύμονα. Δεν υπάρχει απώλεια πνευμονικού όγκου.



Εικόνα 14: Η σταφυλοκοκκική πνευμονία. Διάσπαρτες οζώδεις σκιάσεις και στα δύο πνευμονικά πεδία. Μερικές εμφανίζουν κεντρική τήξη. Η εικόνα αυτή, μαζί με την πλευρίτιδα (δεν υπάρχει στην ακτινογραφία), αποτελούν τα χαρακτηριστικά ακτινολογικά στοιχεία της νόσου.



Εικόνα 15: Πνευμονία δεξιού κάτω πνευμονικού πεδίου με σπήλαια.



Εικόνα 16: Πνευμονία από ιό γρίπης (τύπου C) σε άνδρα 46 ετών με δύσπνοια. Από αριστερά προς τα δεξιά: (α) Η αρχική α/α θώρακος δείχνει διάχυτες δικτυοοζώδεις σκιάσεις σε αμφοτέρους τους πνεύμονες. (β) Δεκαπέντε ημέρες μετά υπάρχει επιδείνωση με διάχυτη πύκνωση σε όλη την έκταση αμφοτέρων των πνευμόνων. (γ) HRCT (1mm) μία ημέρα μετά την (β) δείχνει διάχυτες σκιάσεις τύπου ground glass με κάποιες ακανόνιστες γραμμοειδείς σκιάσεις άμφω (Kim et al., 2002).

7.2. ΓΕΝΙΚΟΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Πέραν της ακτινογραφίας θώρακα στους ασθενείς που νοσηλεύονται στο νοσοκομείο πρέπει να γίνονται γενική αίματος, ουρία, γλυκόζη, ηλεκτρολύτες και έλεγχος ηπατικής λειτουργίας έλεγχος C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και (Ταχύτητας καθίζησης ερυθρών) ΤΚΕ. Επίσης πρέπει να ελέγχεται ο κορεσμός της αιμοσφαιρίνης σε οξυγόνο (Πίνακας 8).

Τα λευκοκύτταρα είναι εντός των φυσιολογικών ορίων σε 55-72% των περιπτώσεων των αναπνευστικών λοιμώξεων (Woodhead, 1988; Shaw & Fry, 1955) αλλά ακόμη και όταν είναι αυξημένα δεν επιτρέπουν τη διάκριση μεταξύ βακτηριακών και άλλων λοιμώξεων ή μεταξύ των διαφόρων βακτηριακών λοιμώξεων. Η CRP βοηθά στη διαφορική διάγνωση της πνευμονίας από την έξαρση της χρόνιας βρογχίτιδας (Smith & Lipworth, 1995) αλλά δεν βοηθά στο διαχωρισμό των διαφόρων πνευμονιών (Woodhead, 1988).

7.3. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ

7.3.1. Έλεγχος αιτιολογικού παράγοντα σε ασθενή που δεν νοσηλεύεται: δεν υπάρχει κάποιος δεδομένος έλεγχος που πρέπει να γίνει, αλλά ένα δείγμα πτυέλων από βαθύ βήχα σε αντικειμενοφόρο πλάκα πριν την έναρξη της αγωγής ίσως φανεί αργότερα χρήσιμο.

7.3.2. Έλεγχος αιτιολογικού παράγοντα σε ασθενή που νοσηλεύεται

Γενικά σε νοσηλεύομενους ασθενείς πέραν του γενικού ελέγχου ακολουθούνται και οι πιο κάτω εξετάσεις με σκοπό την ανίχνευση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας:

- Εξέταση πτυέλων με άμεση χρώση Gram και καλλιέργεια (ένα δείγμα πτυέλων με > 25 λευκοκύτταρα και < 10 κυβοειδή επιθηλιακά κύτταρα ανά οπτικό πεδίο θεωρείται κατάλληλο για καλλιέργεια). Η διατραχειακή αναρρόφηση, η διαθωρακική αναρρόφηση και η βρογχοσκόπηση πρέπει να γίνονται σε επιλεγμένους ασθενείς από ιατρούς με την κατάλληλη εμπειρία. Ο έλεγχος των προκλητών πτυέλων έχει αποδεδειγμένη αξία στην ανίχνευση μυκοβακτηριδίων της φυματίωσης και *Pneumocystis carinii*. Στον μη διασωληνωμένο ασθενή μπορεί να συζητηθεί διαθωρακική αναρρόφηση με λεπτή βελόνα, εφόσον ο ασθενής είναι συνεργάσιμος. Αυτή γίνεται με καθετήρα ο οποίος προωθείται

στους βρόγχους, έπειτα από παρακέντηση της κρικοθυρεοειδούς μεμβράνης. Η μέθοδος ενδείκνυται σε ασθενείς που δεν μπορούν να δώσουν επαρκή δείγματα πτυέλων, σε ασθενείς για τους οποίους υποπτευόμαστε πνευμονία με αναερόβια μικρόβια ή σ' εκείνους που η επιδείνωση της κατάστασής τους οφείλεται σε νέα μικροβιακή λοίμωξη. Οι επιπλοκές με μορφή τοπικής αιμορραγίας ή υποδορίου εμφυσήματος είναι συνήθως σπάνιες. Τελευταία γίνεται χρήση διαύλων καθετήρων (double lumen) που προωθούνται στους βρόγχους από το ρινοφάρυγγα ή από τον τραχειοσωλήνα στις περιπτώσεις που οι ασθενείς νοσηλεύονται σε αναπνευστήρα. Με τη χρήση τους αποφεύγεται η πρόσμιξη του δείγματος πτυέλων που λαμβάνεται από τους βρόγχους με στοματικές εκκρίσεις. Δεν απαιτείται ακτινολογικός έλεγχος, διότι και η συλλογή δείγματος εκκρίσεων από βρόγχους που είναι σε απόσταση από την πνευμονία δίνει, έπειτα από καλλιέργεια, τους ίδιους παθογόνους μικροοργανισμούς (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

- Στο διασωληνωμένο ασθενή μπορούν να γίνουν ποσοτικές καλλιέργειες υλικού που έχει ληφθεί με βρογχοσκοπικές τεχνικές (προστατευμένη βούρτσα ή BAL). Μία άλλη προσέγγιση είναι οι ποσοτικές καλλιέργειες υλικού που αναρροφάται από την τραχεία .
- Επί σημαντικής πλευριτικής συλλογής πρέπει να γίνεται **διαγνωστική θωρακοκέντηση** και εξετάσεις του πλευριτικού υγρού (κ/ες, gram χρώση).
- **Καλλιέργεια αίματος** όπου στο 33% αναμένεται να είναι θετική.
- Έλεγχος στα ούρα για αντιγόνο έναντι της *Legionella*, ιδίως αν ο ασθενής υπερβαίνει το 40^ο έτος, είναι ανοσοκατασταλμένος, δεν ανταποκρίνεται στις β-λακτάμες, έχει συμβατή κλινική εικόνα ή υπάρχει σχετική επιδημία.
- **Αντιγόνο του *Streptococcus pneumoniae*** στα ούρα
- **Ορολογικός έλεγχος** (δύο δείγματα με διαφορά δύο εβδομάδων) για *Legionella pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Coxiella Burnetti*, ιούς γρίπης Α και Β, ιούς παραινφλουένζας 1 – 3, αναπνευστικό συγκυτιακό (RSV) και αδενοϊούς. Τα δείγματα μπορούν να διατηρηθούν σε ψύξη και να εξετασθούν σε δεύτερο χρόνο αν η πορεία προς πνευμονίας εγείρει ερωτηματικά.
- Η ανίχνευση οξυαντόχων μικροοργανισμών με άμεση χρώση των πτυέλων κατά τη μέθοδο Ziehl-Neelsen συχνά θέτει εγκαίρως τη διάγνωση πνευμονικής φυματίωσης.

Πρέπει να τονιστεί ότι η απόπειρα ταυτοποίησης του υπεύθυνου παθογόνου δεν δικαιολογεί σημαντική καθυστέρηση προς έναρξης αγωγής.

Πίνακας 8: Συνήθεις εργαστηριακές εξετάσεις στο νοσοκομείο σε πνευμονία κοινότητας

- | | |
|--|---|
| • Γενική αίματος | • Ορολογικές εξετάσεις για άτυπες πνευμονίες αν κριθεί απαραίτητο |
| • Βιοχημικές εξετάσεις | • PCR σε επιλεγμένες περιπτώσεις |
| • Αέρια αίματος ή οξυμετρία | • Ανίχνευση στα ούρα ειδικού αντιγόνου έναντι λεγιονέλλας (ορολογικής ομάδας τύπου I) και έναντι πνευμονιόκοκου |
| • Καλλιέργειες, χρώση Gram και Ziehl-Neelsen (στα πτύελα*) και στο υπεζωκοτικό υγρό (αν υπάρχει) | |
| • Καλλιέργειες αίματος | |

*Τα πτύελα είναι κατάλληλα προς εξέταση όταν έχουν < 10 επιθηλιακά κύτταρα και > 25 πυοσφαίρια /οπτικό πεδίο

7.4. ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ

7.4.1. Άτυπα παθογόνα

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται συνολικά οι μέθοδοι διάγνωσης για όλα τα άτυπα παθογόνα.

7.4.1.1. Chlamydia pneumoniae

(α) Ορολογικός έλεγχος παρουσίας ειδικών αντισωμάτων: Οι ορολογικές μέθοδοι για τη διάγνωση του *C. pneumoniae* είναι η αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος (CF), η ανοσοενζυμική τεχνική (ΕΙΑ) και ο μικροανοσοφθορισμός (microimmunofluorescence, MIF) (Kumar & Hammerschlag, 2007).

(β) Καλλιέργεια: Το *Chlamydia pneumoniae* είναι υποχρεωτικώς ενδοκυττάριο μικρόβιο και πρέπει να καλλιεργηθεί μέσα σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο ξενιστή. Η ειδικότητα της μεθόδου εξαρτάται από την ικανότητα του εξεταστή να διακρίνει τα χαρακτηριστικά έγκλειστα των χλαμυδίων μετά από χρώση με φθορίζον αντίσωμα. Η μέθοδος δεν έχει μεγάλη ευαισθησία, λόγω των διατροφικών απαιτήσεων του χλαμυδίου. Οι πιο ευαίσθητες κυτταρικές σειρές για την καλλιέργεια του *C. pneumoniae* είναι η HL (ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα) και η Her-2 (καρκινικά κύτταρα λάρυγγα) (Yoshizawa et al., 1992; Maass et al., 1993).

(γ) Ανίχνευση σε ιστούς: Το *C. pneumoniae* έχει ανιχνευθεί σε δείγματα ιστών με διάφορες μεθόδους, από τις οποίες ο ανοσοφθορισμός, η ανοσοϊστοχημεία και ο *in situ* υβριδισμός έχουν το πλεονέκτημα ότι διατηρούν τη μορφολογία των ιστών επιτρέποντας με αυτό τον τρόπο τον ακριβή εντοπισμό του χλαμυδίου (Kumar & Hammerschlag, 2007). Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η ανοσοϊστοχημεία.

(δ) Μοριακές μέθοδοι: Μέχρι σήμερα έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετές PCR με διαφορετικές περιοχές στόχους, διαφορετικού μεγέθους προϊόντα και διαφορετικούς τρόπους ανίχνευσης του προϊόντος, με τη *real-time* PCR να υπερτερεί έναντι της συμβατικής, στο χρόνο και στην ευκολία της τεχνικής. Ο ευρύτερα χρησιμοποιούμενος στόχος είναι η πρωτεΐνη MOMP (major outer membrane protein), ενώ άλλες περιοχές στόχοι είναι το 16S rRNA, και το κλωνοποιημένο *Pst*I fragment (Apfalter et al., 2005). Οι μοριακές μέθοδοι πλεονεκτούν έναντι της καλλιέργειας στη δυνατότητα ανίχνευσης οργανισμών που κατέστησαν μη βιώσιμοι κατά τη μεταφορά, αλλά μειονεκτούν στη διάκριση μεταξύ ζώντων και νεκρών μικροοργανισμών (Blasi et al., 2009).

7.4.1.2. *Mycoplasma pneumoniae*

(α) Ορολογικές μέθοδοι: Αποτελούν τη βάση για τη διάγνωση των λοιμώξεων του αναπνευστικού από *M. pneumoniae*, αλλά και για επιδημιολογικές μελέτες. Σε κάθε περίπτωση πρέπει να εξετάζονται παράλληλα, για *IgM* και *IgG* αντισώματα, δύο δείγματα ορού αίματος, με διαφορά 2-3 εβδομάδες (Thacker & Talkington, 2000). Τετραπλάσια αύξηση του τίτλου είναι ενδεικτική πρόσφατης λοίμωξης (Waites & Talkington, 2004). Η πρώτη ορολογική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος, που έχει αντικατασταθεί από άλλες ορολογικές μεθόδους με μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα, όπως ο έμμεσος ανοσοφθορισμός, η έμμεση αιμοσυγκόλληση και η ανοσοενζυμική μέθοδος (Waites & Talkington, 2004).

(β) Απομόνωση: μπορεί να γίνει από πτύελα, εκκρίσεις που λαμβάνονται με στυλεό από τη ρινική κοιλότητα και το φάρυγγα, πλευριτικό υγρό, βιοψία πνεύμονα ή εγκεφαλονωτιαίο υγρό (Taylor-Robinson, 2002; Παπαπαναγιώτου & Κυριαζοπούλου, 2004). Το βασικό θρεπτικό υλικό από το οποίο παρασκευάζονται τα υπόλοιπα, ανάλογα με το είδος του μυκοπλάσματος, είναι το PPLO (pleuro-pneumonia-like organisms). Το CDC έχει προτείνει ως θρεπτικό υλικό εκλογής για την απομόνωση του *M. pneumoniae*

το MBGD υλικό (Methy-lene-Blue-Glucose Diphasic medium) (Souliou et al., 2007). Η απομόνωση του *M. pneumoniae* με καλλιέργεια είναι μέθοδος επίπονη, ακριβή και χρονοβόρα (Waites & Talkington, 2004). Συγκρινόμενη με την PCR έχει ευαισθησία 60% (Waites & Talkington, 2004). Είναι βέβαια απολύτως ειδική, με την προϋπόθεση ότι θα γίνουν όλες οι δοκιμασίες για την ταυτοποίηση του είδους (Waites & Talkington, 2004).

(γ) Μοριακές μέθοδοι: Από το 1980 έχουν αναπτυχθεί πολλές PCR που χρησιμοποιούν ως στόχους, μεταξύ άλλων, το γονίδιο της P1, περιοχές του 16S rRNA και το γονίδιο της ATPase του μυκοπλάσματος. Μερικές φορές η PCR χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με καλλιέργεια ή ορολογικές μεθόδους (Daxboeck et al., 2005).

(δ) Μέθοδοι ανίχνευσης αντιγόνων: Οι μέθοδοι αυτές περιλαμβάνουν τον άμεσο ανοσοφθορισμό, την ανοσοηλεκτροφόρηση, την ανοσοαποτύπωση και την ανοσοενζυμική μέθοδο (Waites & Talkington, 2004). Η χρησιμότητά τους έχει ελαττωθεί τελευταία λόγω της χαμηλής τους ευαισθησίας, και των διασταυρούμενων αντιδράσεων που εμφανίζουν με άλλα μυκοπλάσματα του αναπνευστικού (Waites & Talkington, 2004).

(ε) Μέθοδοι υβριδισμού του DNA: Οι μέθοδοι αυτές έχουν την ίδια περίπου ευαισθησία με τις μεθόδους ανίχνευσης αντιγόνων και χρησιμοποιούν ως στόχους 16S rRNA γονίδια και rDNA. Η χρήση τους έχει περάσει στο περιθώριο, λόγω της ευρύτερης χρήσης των μοριακών μεθόδων που δεν απαιτούν ραδιοϊσότοπα (Waites & Talkington, 2004).

7.4.1.3. *Legionella pneumophila*

(α) Αντιγόνο των ούρων: Αποτελεί τη συχνότερα χρησιμοποιούμενη μέθοδο (Blyth et al., 2009). Για την ανίχνευση του αντιγόνου χρησιμοποιήθηκε αρχικά η ραδιοανοσολογική μέθοδος, που αντικαταστάθηκε από την ανοσοενζυμική μέθοδο (EIA) τη δεκαετία του 1980, ενώ σήμερα χρησιμοποιούνται και ανοσοχρωματογραφικές δοκιμασίες (Fields et al., 2002). Η συνολική ευαισθησία της μεθόδου είναι 70-80%, ενώ η ειδικότητα ανέρχεται σε πάνω από 99% (Edelstein & Cianciotto, 2005).

(β) Ορολογικός έλεγχος παρουσίας ειδικών αντισωμάτων: Η ανίχνευση αντισωμάτων έναντι της λεγεωνέλλας στον ορό του αίματος μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους, όπως η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA), η δοκιμασία μικροσυγκόλλησης (MAT) και ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (I-FA) (Blyth et al., 2009). Η μέθοδος IFA είναι αυτή που σήμερα χρησιμοποιείται συχνότερα. Η ευαισθησία της μεθόδου κυμαίνεται από 20 ως 70% (Fields et al., 2002). Η ειδικότητα της μεθόδου είναι 95-99% και επηρεάζεται από την παρασκευή του αντιγόνου, το στέλεχος αναφοράς που χρησιμοποιείται και το αν το αντιγόνο είναι πολυδύναμο ή όχι (Edelstein & Cianciotto, 2005). Τελευταία συστήνεται η χρησιμοποίηση αντιγόνων μόνο του ορότυπου 1 της *L. pneumophila* και η αποφυγή πολυδύναμων αντιγόνων (Fields et al., 2002; Blyth et al., 2009).

(γ) Καλλιέργεια των αναπνευστικών εκκρίσεων σε ειδικά θρεπτικά υλικά: Η απομόνωση *Legionella* spp. από παθολογικά υλικά είναι ο χρυσός κανόνας για τη διάγνωση της λοίμωξης (Fields et al., 2002). Το καλλιεργητικό υλικό εκλογής είναι το buffered charcoal-yeast extract (BCYE) άγαρ, που περιέχει εκχύλισμα ζύμης, άνθρακα και ακετογλουταρικό κάλιο (Fields et al., 2002). Τα παθολογικά υλικά εκλογής για την απομόνωση του μικροοργανισμού είναι τα πτύελα, και σε περιπτώσεις που ο βήχας δεν είναι παραγωγικός, τα βρογχικά και βρογχοκυψελιδικά εκπλύματα (Maiwald et al., 1998). Η ευαισθησία της μεθόδου κυμαίνεται από 20-95% και εξαρτάται από την προηγηθείσα χορήγηση αντιβιοτικών, ενώ η ειδικότητα ανέρχεται στο 100% (Edelstein & Cianciotto, 2005). Η μέθοδος, όμως, είναι χρονοβόρα και απαιτεί ειδικές τεχνικές και εξειδικευμένο προσωπικό.

(δ) Έλεγχος με μοριακές μεθόδους: Τα παθολογικά υλικά τα οποία μέχρι στιγμής έχουν χρησιμοποιηθεί στην PCR είναι πνευμονικές εκκρίσεις, βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, φαρυγγικό επίχρισμα, ούρα, ορός και περιφερικά λευκοκύτταρα (Tronel & Hartemann, 2009). Οι γονιδιακές περιοχές-στόχοι που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι κυρίως αυτές που κωδικοποιούν το 5S rRNA, το 16S rRNA και τη Mir πρωτεΐνη (Tronel & Hartemann, 2009). Η ευαισθησία της μεθόδου ποικίλλει από 20 ως 90% και σε δείγματα βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος είναι ίση ή μεγαλύτερη από την ευαισθησία της καλλιέργειας (Blyth et al., 2009). Η ειδικότητα της μεθόδου βρίσκεται στο 90-95% (Blyth et al., 2009).

(ε) Άμεση παρατήρηση: Η παρατήρηση με μικροσκόπιο δειγμάτων με τη χρήση άμεσου ανοσοφθορισμού ήταν η πρώτη που εφαρμόστηκε για την ανίχνευση *Legionella* spp. σε υλικό από βιοψία πνεύμονα και σε αναπνευστικές εκκρίσεις (Fields et al., 2002). Τα δείγματα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι τα ίδια με αυτά που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια. Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 20-50%, ενώ η ειδικότητα εξαρτάται από την ειδικότητα των αντιορών που χρησιμοποιούνται, αλλά είναι κατά κανόνα υψηλή και ανέρχεται στο 99% (Edelstein & Cianciotto, 2005). Οι αντιοροί μπορεί να είναι ειδικοί για κάθε είδος και ορολογική ομάδα, αν και υπάρχουν και πολυδύναμοι οροί, η χρήση των οποίων μπορεί να έχει ψευδώς θετικά αποτελέσματα και δεν συνιστάται από κάποιους ερευνητές (Edelstein & Cianciotto, 2005). Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η ταχύτητα της διάγνωσης, η μεγάλη της ειδικότητα και η δυνατότητα ανίχνευσης όλων των ειδών και οροτύπων της λεγεωνέλλας με τη χρήση των κατάλληλων αντιορών. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η χαμηλή της ευαισθησία ακόμη και στην περίπτωση σοβαρής πνευμονίας, οι υψηλές τεχνικές απαιτήσεις και η εξειδίκευση του προσωπικού (Fields et al., 2002).

7.4.1.4. *Chlamydia psittaci*

Η διάγνωση συνήθως βασίζεται σε ορολογικές μεθόδους και συνήθως γίνεται με σύνδεση συμπληρώματος (Murray et al., 1994; Smith et al., 2005). Ωστόσο με τη μέθοδο αυτή τα αντισώματα που ανιχνεύονται μπορεί να μην είναι ειδικά του είδους και να αφορούν *C. trachomatis* ή *C. pneumoniae*. Αν το ιστορικό του ασθενή υποδεικνύει πιθανή ψιττάκωση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν MIF και PCR για την εξακρίβωση του είδους του γλαμυδίου.

Το βακτήριο μπορεί επίσης να απομονωθεί από πτύελα, πλευριτικό υγρό ή αίμα κατά την οξεία φάση της λοίμωξης και πριν τη χορήγηση αντιβιοτικών. Σε γενικές γραμμές όμως, η καλλιέργεια του *C. psittaci* γίνεται από ελάχιστα εργαστήρια εξαιτίας τεχνικών δυσκολιών και για λόγους ασφάλειας (Smith et al., 2005).

Η διάγνωση της ψιττάκωσης σε ασθενή με συμβατή κλινική εικόνα θεωρείται επιβεβαιωμένη όταν, *C. psittaci* καλλιεργείται από τις αναπνευστικές εκκρίσεις, ή υπάρχει αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων μεταξύ οξείας (με τουλάχιστον 2 εβδομάδες διαφορά) με τη χρήση σύνδεσης του συμπληρώματος ή MIF, ή ανιχνεύονται *IgM* αντισώματα με MIF. Η διάγνωση σε ασθενή με συμβατή κλινική εικόνα θεωρείται πιθανή όταν ο ασθενής συνδέεται επιδημιολογικά με άλλο επιβεβαιωμένο κρούσμα ή

όταν έχει ένα τίτλο αντισωμάτων με MIF ή σύνδεση συμπληρώματος σε δείγμα ορού αίματος που λήφθηκε μετά την έναρξη των συμπτωμάτων (Smith et al., 2005).

7.4.1.5. *Coxiella Burnetti*

(α) Απομόνωση: Η απομόνωση της *C. burnetii* από κλινικά δείγματα γίνεται σε πολύ μικρό αριθμό εργαστηρίων, λόγω του υψηλού κινδύνου μετάδοσης και της χαμηλής ευαισθησίας της μεθόδου (Fournier et al., 1998). Η *C. burnetii* έχει απομονωθεί επιτυχώς από πειραματόζωα, αλλά αυτές οι τεχνικές τείνουν να δώσουν τη θέση τους σε καλλιέργειες σε κυτταρικές σειρές (Hartzell et al., 2008).

(β) Ορολογικές μέθοδοι: Οι ορολογικές μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι η αιμοσυγκόλληση, η σύνδεση του συμπληρώματος, ραδιοανοσολογικές μέθοδοι, ανοσοενζυμικές μέθοδοι (EIA), ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IFA), western blotting και dot immunoblotting (Fournier et al., 1998). Σήμερα εξέταση εκλογής για τη διάγνωση λοιμώξεων από *C. burnetii* θεωρείται ο IFA. Ο μικροανοσοφθορισμός (micro-immunofluorescence test, MIF) έχει το πλεονέκτημα της πολύ μικρής ποσότητας αντιγόνου που απαιτείται (Fournier et al., 1998). Τίτλος IgG αντισωμάτων φάσης I >1:800 έχει 98% θετική προγνωστική αξία και 100% ειδικότητα για τη διάγνωση του χρόνιου πυρετού Q, ενώ τίτλος >1:1600 έχει 100% θετική προγνωστική αξία. Η EIA είναι πολύ ευαίσθητη και ανιχνεύει αντισώματα φάσης I και II αλλά ίσως είναι δυσκολότερη στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων και δεν χρησιμοποιείται ευρέως (Fournier et al., 1998). Η αιμοσυγκόλληση είναι απλή και ευαίσθητη, αλλά απαιτεί μεγάλες ποσότητες αντιγόνου.

(γ) Μοριακές μέθοδοι: Για την ανίχνευση της *C. burnetii* έχουν χρησιμοποιηθεί συμβατική PCR και real-time PCR (Berri et al., 2009). Οι περιοχές στόχοι είναι πολλές, όπως η 16S rDNA, sodB και gltA. Η χρήση των μοριακών μεθόδων είναι περιορισμένη (Hartzell et al., 2008).

Σύμφωνα με τις οδηγίες της ομάδας της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τους βιολογικούς και χημικούς παράγοντες, η διάγνωση της λοίμωξης από *C. burnetii* είναι βέβαιη όταν η εργαστηριακή διάγνωση, που τίθεται με απομόνωση του μικροβίου ή ανίχνευση του γενετικού του υλικού με PCR ή ορολογική διάγνωση με IFA (IgM και IgG

αντισώματα έναντι αντιγόνων φάσης II για την οξεία λοίμωξη και IgG αντισώματα έναντι αντιγόνων φάσης I σε τίτλο >1:800 για τη χρόνια λοίμωξη), συνδυάζεται με συμβατή κλινική εικόνα ή συνδέεται επιδημιολογικά με τη νόσο (Bossi et al., 2004).

Πίνακας 9: Μικροβιολογικές εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης άτυπης πνευμονίας (Μανίκα et al., 2010)

Μικρόβιο	Καλλιέργεια	Ορολογικές μέθοδοι	PCR (γονίδια-στόχοι)	Άλλες μέθοδοι
<i>C. pneumoniae</i>	Κυτταρικές σειρές • HL (ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα), • Hep-2 (καρκινικά κύτταρα λάρυγγα). Εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας	MIF* CF, EIA	MOMP, 16S rRNA, Cloned <i>PstI</i> fragment	Ανοσοϊστοχημεία
<i>C. psittaci</i>	Κυτταρικές σειρές Εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας	MIF, CF	ompA	
<i>M. pneumoniae</i>	PPLO, MBGD	CF, EIA, IFA, PA	ATPase, PI, 16sRNA, tuf	Ψυχοσυγγολλητίνες DFA, ανοσοηλεκτροφόρηση, ανοσοαποτύπωση, DNA υβριδισμός
<i>L. pneumophila</i>	BCYEA	EIA, IFA, MAT	5SrRNA, 16SrRNA, Mip πρωτεΐνη	Ανίχνευση αντιγόνου στα ούρα, DFA
<i>C. burnetii</i>		MIF, CF, EIA, IFA	16SrRNA, sodB, gltA	Western ανοσοαποτύπωση, ανοσοαποτύπωση κηλίδας

MIF* = μικροανοσοφθορισμός, CF= σύνδεση συμπληρώματος, EIA= ανοσοενζυμικός προσδιορισμός, IFA= έμμεσος ανοσοφθορισμός, PA= συγκολλητινοαντίδραση, MAT= μικροσκοπική συγκολλητινοαντίδραση, DFA= άμεσος ανοσοφθορισμός.

7.4.2. Τυπικά Παθογόνα

Streptococcus pneumoniae, *Haemophilus Influenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, gram(-)βάκιλλοι: οι καθιερωμένες μέθοδοι είναι η καλλιέργεια αίματος, η χρώση Gram και καλλιέργεια πτυέλων.

7.4.2.1. *Streptococcus pneumoniae*

(α) Αντιγόνο στα ούρα: Το αντιγόνο του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα, είναι μια μέθοδος που επαυξάνει τη διαγνωστική ακρίβεια των καθιερωμένων μεθόδων που

προαναφέρθηκαν με το πρόσθετο πλεονέκτημα της ταχύτητας των αποτελεσμάτων (παρόμοια με της χρώσης *Gram*). Σε ασθενείς με βακτηριαμική πνευμονιοκοκκική πνευμονία, η ευαισθησία της μεθόδου είναι στην περιοχή του 70-80%. Σε ασθενείς με πιθανή πνευμονιοκοκκική πνευμονία (πνευμονιόκοκκος στα πτύελα), η ευαισθησία είναι αρκετά χαμηλότερη (40-60%). Ενδιαφέρον είναι ότι στο 25,7% των ατόμων με πνευμονία, χωρίς ανίχνευση κάποιου παθογόνου με άλλα μέσα, ανιχνεύεται αντιγόνο για τον πνευμονιόκοκκο στα ούρα. Η ειδικότητα της μεθόδου είναι πολύ υψηλή (97,2%).

(β) Μοριακές μέθοδοι: Μοριακές μέθοδοι (PCR) με ποικίλα ειδικά γονίδια στόχους του μικροοργανισμού (*lytA*, *ply*, *psaA* κλπ.) έχουν σχεδιασθεί για γρήγορη και ακριβή διάγνωσή του κυρίως σε δείγματα DNA πτυέλων (Klugman et al., 2008).

Μοριακές μέθοδοι (PCR) για τη διάγνωση του *H. influenzae* (P6 γονίδιο), της *M. catarrhalis* (copB γονίδιο) και του *Staphylococcus aureus* έχουν επίσης σχεδιαστεί.

7.4.3. Ιογενείς πνευμονίες

7.4.3.1. Γρίπη (INFLUENZA)

Άμεση διάγνωση μπορεί να επιτευχθεί με :

- καλλιέργεια αναπνευστικών εκκρίσεων ή πνευμονικού ιστού. Η μέθοδος χρειάζεται 2-5 ημέρες.
- ανεύρεση αντιγόνων με τεχνικές ανοσοφθορισμού ή ELISA σε κύτταρα που λαμβάνονται με έκπλυση ή απόξεση από τη μύτη ή το φάρυγγα. Η μέθοδος απαιτεί 15 λεπτά.
- αναζήτηση αντιγόνων σε αναπνευστικές εκκρίσεις. Ταχύτερη αλλά λιγότερο ευαίσθητη τεχνική. (Richard et al., 1999)

Η έμμεση διάγνωση προϋποθέτει την κατάδειξη τετραπλασιασμού του τίτλου των αντισωμάτων σε διάστημα 10-14 ημερών. Κατά συνέπεια χρησιμοποιείται κυρίως για επιδημιολογικούς σκοπούς.

7.4.3.2. Παραγρίπη (PARAINFLUENZA)

Η διάγνωση μπορεί να τεθεί με καλλιέργεια, αναζήτηση αντιγόνου, RT-PCR ή ορολογικό έλεγχο (Richard et al., 1999; Breese, 2001).

7.4.3.3. Αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV)

Μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους τρόπους:

- Καλλιέργεια αναπνευστικών εκκρίσεων, ρινοφαρυγγικού εκπλύματος ή φαρυγγικού επιχρίσματος. Απαιτούνται 2-7 ημέρες. Αποτελεί την εξέταση αναφοράς.
- Τεχνικές ανίχνευσης αντιγόνου με ανοσοφθορισμό ή με ELISA σε ρινικό έκκριμα ή υλικό απόξεσης. Παρέχουν γρήγορα αποτελέσματα. Η ευαισθησία τους κυμαίνεται από 65-90%. Η ELISA έχει μικρότερη ευαισθησία. Οι τεχνικές αυτές έχουν χαμηλή ευαισθησία σε ηλικιωμένους, σε ανοσοκατεσταλμένους καθώς και μετά την οξεία νόσηση οπότε και ο αριθμός των ιών στο ανώτερο αναπνευστικό μειώνεται.
- RT-PCR. Έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από τις παραπάνω ταχείες τεχνικές.
- Ορολογικό έλεγχο. Η αντισωματική απάντηση δεν είναι τόσο χαρακτηριστική όσο σε άλλες ιώσεις ενώ μπορεί να απαιτήσει ως και 6 εβδομάδες (Breese, 2001).

7.4.3.4. Αδενοϊός (ADENOVIRUS)

Η διάγνωση μπορεί να τεθεί με ποικίλους τρόπους: καλλιέργεια, ανίχνευση αντιγόνων ή ιστολογική εξέταση βιοψιών (όπου διακρίνονται βασεόφιλα ενδοκυτταρικά έγκλειστα). Επίσης, ορολογικά, οπότε απαιτούνται δυο δείγματα σε κάποια χρονική απόσταση. Πρόσφατη διαγνωστική εξέλιξη αποτελεί και εδώ η PCR (Lawrence et al., 2005).

8. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ

8.1. Προβλήματα στην ερμηνεία καλλιέργειας πτυέλων

Η απομόνωση ενός μικροοργανισμού στις καλλιέργειες πτυέλων σε κοινά θρεπτικά υλικά δεν σημαίνει κατά ανάγκη ότι πρόκειται και για τον παθογόνο μικροοργανισμό που προκάλεσε την πνευμονία. Αυτό οφείλεται σε δύο παράγοντες, της φυσιολογικής χλωρίδας του στόματος και του εποικισμού του οροφάρυγγα, οι οποίοι πάντοτε πρέπει να συνεκτιμώνται στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων των καλλιεργειών πτυέλων που λήφθηκαν από τους ασθενείς χωρίς εξειδικευμένες ενέργειες.

- Η φυσιολογική χλωρίδα του στόματος

Στο στόμα και στο φάρυγγα φυσιολογικών ατόμων υπάρχει μικροβιακή χλωρίδα με πυκνότητα μικροβίων 10^7 - 10^9 ανά ml. Στον Πίνακα 10 αναφέρεται η σύνθεση της χλωρίδας αυτής. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι πιθανό να αναπτυχθούν σε καλλιέργειες πτυέλων που δεν έχουν συλλεχθεί με την κατάλληλη μέθοδο και φυσικά δεν είναι δυνατό να θεωρηθούν αίτια πνευμονίας.

- Η διάκριση εποικισμού από τη λοίμωξη

Εποικισμός του οροφάρυγγα με μικρόβια είναι φυσιολογικό φαινόμενο. Ηλικιωμένα άτομα ή άτομα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αντιβιοτικά για διάφορα εξωπνευμονικά νοσήματα παρουσιάζουν συχνά Gram αρνητικά βακτήρια στα πτύελα. Ο θεραπευτής έχει να αντιμετωπίσει το πρόβλημα σε τρεις περιπτώσεις.

1. Σε υπερήλικες με πνευμονία είναι δύσκολο να καθοριστεί ο τύπος του παθογόνου μικροοργανισμού. Αν η εξέταση αφορά κατάλληλα πτύελα και σ' αυτά αναπτύσσεται μικρός μόνον αριθμός αποικιών Gram (-) βακτηρίων, αυτές είναι μάλλον προϊόντα αποικισμού, δεδομένου ότι πτύελα πνευμονίας με Gram αρνητικά μικρόβια περιέχουν μεγάλο αριθμό μικροβίων. Επίσης, σε περιπτώσεις υπερηλικών ασθενών οι οποίοι θεραπεύονται με αντιβιοτικό που δεν προσβάλλει ειδικά τα αναπτυχθέντα στην καλλιέργεια Gram αρνητικά βακτήρια και οι οποίοι

παρουσιάζουν σημαντική κλινική βελτίωση, το αποτέλεσμα της καλλιέργειας δεν πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για την επιλογή του αντιβιοτικού.

2. Συχνά σε ασθενείς που δεν πάσχουν από πνευμονία αλλά και από άλλο σοβαρό νόσημα, έχουμε πυρετό και παθολογική ακτινογραφία θώρακος. Η ανάπτυξη λίγων αποικιών στα πτύελα, η απουσία πολυμορφοκυττάρων στη χρώση Gram των πτυέλων και η βελτίωση της κλινικής εικόνας χωρίς αντιβίωση αποκλείουν την πνευμονία.
3. Τέλος, σε ασθενείς που βρίσκονται στην ανάρρωση από σταφυλοκοκκική ή Gram αρνητική πνευμονία και παρουσιάζουν εκ νέου πυρετό, η απάντηση στο ερώτημα αν πρόκειται για επιλοίμωξη ή για αποικισμό είναι ιδιαίτερα δύσκολο να δοθεί με βάση το αποτέλεσμα μιας καλλιέργειας. Η παρουσία μεγάλου αριθμού αποικιών συνηγορεί για επιλοίμωξη.

Πίνακας 10: Οργανισμοί που εποικίζουν το στοματοροφάρυγγα

Μικροοργανισμός	Συχνότητα απομόνωσης (%)
<i>S. aureus</i>	30-40
<i>S. pyogenes</i> (group A)	0-9
<i>S. pneumoniae</i>	0-50
<i>N. meningitidis</i>	0-15
<i>H. influenzae</i>	5-20
Gram (-) βακτήρια	2*

Σε ηλικιωμένα άτομα 10% και σε άτομα που ζουν σε ιδρύματα 6-40%.

8.2. Προβλήματα στην ερμηνεία ορολογικών μεθόδων

Οι δυσκολίες των ορολογικών μεθόδων συνίστανται στην αναγκαιότητα λήψης δύο δειγμάτων από τον ασθενή σε διάστημα τουλάχιστον δύο εβδομάδων, στην έλλειψη προτυποποιημένων μεθόδων, στην αδυναμία τους να εντοπίζουν τη λοίμωξη, και στην παρουσία διασταυρούμενων αντιδράσεων (Blasi et al., 2009; Dowell et al., 2001). Καθώς για τη διάγνωση της οξείας λοίμωξης απαιτείται η ανεύρεση τετραπλασιασμού του τίτλου αντισωμάτων στη φάση της ανάρρωσης, η διάγνωση τίθεται αναδρομικά και δεν μπορεί να προσφέρει στην επιλογή του κατάλληλου αντιβιοτικού. Ωστόσο, οι ορολογικές μέθοδοι είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στην ανίχνευση των αιτίων μιας επιδημίας και σε επιδημιολογικές μελέτες (Dowell et al., 2001).

(i) *Chlamydia pneumoniae*

Στα μειονεκτήματα περιλαμβάνονται η ανάγκη εξέτασης δύο δειγμάτων, για την οξεία φάση και τη φάση ανάρρωσης και στην ύπαρξη *IgG* αντισωμάτων σε μεγάλο μέρος του πληθυσμού. Η ανεύρεση αντισωμάτων σε ένα μόνο δείγμα δε θέτει τη διάγνωση οξείας λοίμωξης και πρέπει να ερμηνεύεται με προσοχή, καθώς ηλικιωμένα άτομα και ασθενείς με ΧΑΠ έχουν *IgG* αντισώματα έναντι *C. pneumoniae* σε υψηλούς τίτλους, χωρίς εμφανή λοίμωξη (Miyashita et al., 2008). Η επεξεργασία των δειγμάτων με αντί-*IgG* πριν την εξέταση για *IgM* αντισώματα είναι επιβεβλημένη, προκειμένου να μην προκύψουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα, λόγω παρουσίας ρευματοειδούς παράγοντα στον ορό (Dowell et al., 2001). Τέλος, έχουν αναφερθεί περιστατικά λοίμωξης από *C. pneumoniae* επιβεβαιωμένα με καλλιέργεια, χωρίς την εμφάνιση αντισωμάτων, συνηθέστερα σε παιδιά (Dowell et al., 2001).

(ii) *Mycoplasma pneumoniae*

Στα μειονεκτήματα περιλαμβάνονται επίσης η ανάγκη εξέτασης δύο δειγμάτων, για την οξεία φάση και τη φάση ανάρρωσης, και η πιθανότητα μη εμφάνισης αντισωμάτων σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα (Waites & Talkington, 2004). Σε κάθε περίπτωση πρέπει να εξετάζονται παράλληλα, για *IgM* και *IgG* αντισώματα, δύο δείγματα ορού αίματος, με διαφορά 2-3 εβδομάδες (Thacker & Talkington, 2000). Τετραπλάσια αύξηση του τίτλου είναι ενδεικτική πρόσφατης λοίμωξης. Η καθυστερημένη αύξηση των *IgG* αντισωμάτων, η παρουσία *IgG* αντισωμάτων που παραμένουν για πολύ καιρό μετά τη λοίμωξη και η απουσία εμφάνισης *IgM* στους ενήλικες θέτουν ορισμένους περιορισμούς στη χρήση των ορολογικών μεθόδων, ως μοναδικού μέσου διάγνωσης των λοιμώξεων από μυκόπλασμα.

(iii) *Legionella pneumophila*

Ψευδώς θετικά αποτελέσματα, λόγω διασταυρούμενων αντιδράσεων, έχουν αναφερθεί σε περιπτώσεις πνευμονίας από *Bacteroides fragilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, μυκόπλασμα, μυκοβακτηρίδια και άλλους μικροοργανισμούς (Fields et al., 2002). Βασικά μειονεκτήματα είναι και σε αυτή την περίπτωση η αναγκαιότητα δύο δειγμάτων και η αναδρομική διάγνωση της νόσου (Fields et al., 2002). Πρέπει επίσης να

σημειωθεί ότι χαμηλοί τίτλοι αντισωμάτων έναντι της λεγεωνέλλας ανιχνεύονται σε υγιείς εθελοντές, αιμοδότες και διάφορους ασθενείς. Οι τίτλοι αυτοί είναι ενδεικτικοί παλιάς έκθεσης στο μικροοργανισμό (Den Boer & Yzerman, 2004). Υποκλινική ορομετατροπή παρατηρείται σποραδικά ή κατά τη διάρκεια επιδημιών (Boshuizen et al., 2001).

8.3. Προβλήματα στην ερμηνεία μοριακών μεθόδων

Οι μοριακές μέθοδοι πλεονεκτούν έναντι της καλλιέργειας στη δυνατότητα ανίχνευσης οργανισμών που κατέστησαν μη βιώσιμοι κατά τη μεταφορά, αλλά μειονεκτούν στη διάκριση μεταξύ ζώντων και νεκρών μικροοργανισμών (Blasi et al., 2009).

(i) *Mycoplasma pneumoniae*

Η χρησιμοποίηση της PCR ως μοναδικής μεθόδου διάγνωσης εγείρει ορισμένους προβληματισμούς, καθώς δεν είναι μέχρι σήμερα γνωστό αν υπάρχει κάποιο ποσοτικό όριο κάτω από το οποίο το μυκόπλασμα βρίσκεται φυσιολογικά στους ιστούς του αναπνευστικού συστήματος. Έτσι, η ιδανική προσέγγιση για τη διάγνωση λοίμωξης αναπνευστικού από *M. pneumoniae* είναι ο συνδυασμός ορολογικών και μοριακών μεθόδων (Waites & Talkington, 2004). Παράλληλα, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται με προσοχή. Οι Dorigo-Zetsma et al. έδειξαν ότι υπάρχουν ηλικιωμένοι ασθενείς με θετική PCR και αρνητικές ορολογικές δοκιμασίες, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στην αναμενόμενη, λόγω της ηλικίας, φυσιολογική εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος (Murray et al., 1994).

(ii) *Legionella pneumophila*

Αναφέρονται ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω ομολογίας με *Acinetobacter* και *Gemella* (Blyth et. al., 2009). Είναι αξιοσημείωτο πως παρά τα πλεονεκτήματα των μοριακών μεθόδων, αυτές παραμένουν στην περίπτωση των *Legionella* spp. επίπονες και δύσκολες στην εφαρμογή (Tronel & Hartemann, 2009).

9. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΜΕ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ

Μεγάλη ποικιλία κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων συνεκτιμώνται ώστε να καθορισθεί το επίπεδο κινδύνου του ασθενούς και να ληφθεί η απόφαση για νοσηλεία του ασθενούς ή όχι, για μεταφορά στη ΜΕΘ ή όχι.

Στοιχεία που συνηγορούν για την εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο, είναι:

- η ηλικία: (> 65 ετών),
- η ύπαρξη συνυπαρχόντων νοσημάτων: (ΧΑΠ, βρογχεκτασίες, κακοήθεια, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, σακχαρώδης διαβήτης, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, χρόνια ηπατική νόσος, αλκοολισμός, νευρολογικές παθήσεις, σπληνεκτομή, κακό επίπεδο θρέψης, ανοσοκαταστολή)
- Ευρήματα από την κλινική εξέταση: (αναπνευστική συχνότητα >30/λεπτό, καρδιακή συχνότητα >125/λεπτό, συστολική πίεση <90/mmHg, θερμοκρασία < 35°C ή > 40°C, διανοητική σύγχυση σε προηγουμένως υγιές άτομο, ενδείξεις ύπαρξης εξωπνευμονικών εστιών λοίμωξης)
- Εργαστηριακά ευρήματα: WBC < 4.000 ή > 30.000/μL ή PMN < 1.000/μL PaO₂<60 mmHg ή PaCO₂>50 mmHg (FiO₂=0.21) Διαταραχή νεφρικής λειτουργίας (Creat>1.2 ή BUN>20 mg/dL) Ht <30% ή Hb <9 mg/dL. Ενδείξεις σήψης ή δυσλειτουργίας οργάνων (π.χ. μεταβολική οξέωση, διαταραχές πηκτικότητας κλπ.), pH<7,35
- Ακτινολογικά ευρήματα: (>1 λοβός, κοιλότητα, υπεζωκοτική συλλογή ή ταχεία ακτινολογική επιδείνωση) (ATS, IDSA)

Η παρουσία πολλών παραγόντων κινδύνου αποτελεί σοβαρή ένδειξη εισαγωγής στο νοσοκομείο. Θα πρέπει επίσης να λαμβάνονται υπόψη κοινωνικοί παράγοντες, δυνατότητα αυτοεξυπηρέτησης ή φροντίδας, ικανότητα λήψης φαρμάκων, ιστορικό κατάχρησης ουσιών και διαταραχή νοητικών λειτουργιών. Ακόμη και σε μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν αυστηρά τα κριτήρια, τουλάχιστον 30% των ασθενών "χαμηλού κινδύνου" εισάγονται στο νοσοκομείο. Η απόφαση για εισαγωγή παραμένει στην κρίση του γιατρού ("art of medicine").

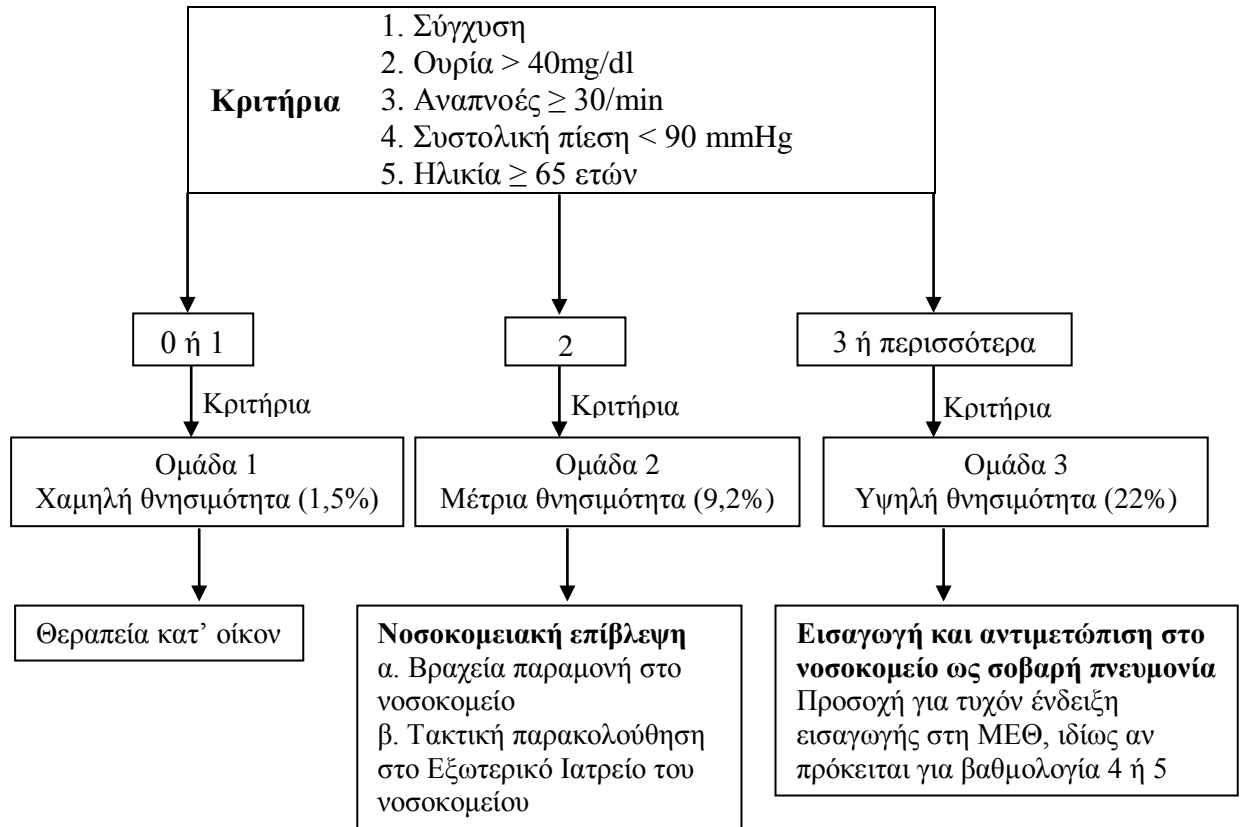
Η βαρύτητα της πνευμονίας, η οποία συνδέεται άμεσα και με τη θνητότητα, έχει αξιολογηθεί με πολλά συστήματα βαθμολόγησης. Υπάρχουν δύο βασικά συστήματα

εκτίμησης της βαρύτητας της πνευμονίας. Και τα δύο συστήματα χρησιμοποιούν ως βασικά κριτήρια υπολογισμού της βαρύτητας της πνευμονίας συνδυασμό των πιο πάνω κριτηρίων σοβαρότητας της πνευμονίας και είναι το CURB-65 (Πίνακας 11, Σχεδιάγραμμα 1) το οποίο προτείνεται από την British Thoracic Society και το PORT (Pneumonia Patient Outcomes Research Team) ή PSI (pneumonia severity index) (Πίνακας 12) το οποίο προέκυψε από τα αποτελέσματα μελέτης 38000 ασθενών με πνευμονία από 257 νοσοκομεία των ΗΠΑ. Η Αμερικανική Θωρακική Εταιρεία (American Thoracic Society, ATS) και η Αμερικανική Εταιρεία Λοιμώξεων (Infectious Diseases Society of America, IDSA) υιοθετούν τον προγνωστικό κανόνα των Fine et al, που προέκυψε από τη μελέτη PORT (Patient Outcomes Research Team), για να επιλέξουν τους ασθενείς με πνευμονία που θα εισαχθούν τελικά στο νοσοκομείο. Ο προγνωστικός κανόνας της Εταιρείας Λοιμώξεων των ΗΠΑ δεν αναπτύχθηκε ωστόσο με κύριο στόχο τον προσδιορισμό ασθενών με βαρεία πνευμονία της κοινότητας που απαιτούν νοσηλεία σε ΜΕΘ, αλλά για τη διάκριση ασθενών που απαιτούν νοσοκομειακή νοσηλεία από εκείνους οι οποίοι μπορούν να νοσηλευθούν στο σπίτι.

Πίνακας 11: Κλίμακα CURB-65 (Κοντοπυργιάς & Χείλας)

CURB-65	
Σύγχυση	1
Ουρία > 40mg/dL	1
Αναπνοές \geq 30/min	1
Συστολική πίεση < 90mmHg ή Διαστολική πίεση \leq 60mmHg	1
Ηλικία \geq 65yrs	1

Σχεδιάγραμμα 1: Αξιολόγηση της βαρύτητας της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας με την κλίμακα CURB-65 προκειμένου να γίνει είσοδος του ασθενή στο Νοσοκομείο (Κοντοπυργίας & Χείλας)



Πίνακας 12: Υπολογισμός του δείκτη βαρύτητας πνευμονίας (*Pulmonary Severity Index, PSI*)

Ευρήματα	Βαθμός
Ηλικία	
Άνδρες	Ηλικία σε έτη
Γυναίκες	Ηλικία σε έτη - 10
Διαβίωση σε ίδρυμα	10
Συνυπάρχοντα νοσήματα	
Νεοπλασίες	30
Ηπατική νόσος	20
Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια	10
Αγγειακή εγκεφαλική νόσος	10
Νεφρική νόσος	10
Φυσική εξέταση	
Διανοητική σύγχυση	20
Αναπνευστική συχνότητα ≥ 30 /λεπτό	20
ΣΑΠ < 90 mmHg	20
$\Theta < 35^{\circ}\text{C}$ ή $\geq 40^{\circ}\text{C}$	15
Καρδιακή συχνότητα ≥ 125 /λεπτό	10
Εργαστηριακά και ακτινολογικά ευρήματα	
Αρτηριακό pH < 7,35	30
BUN ≥ 30 mg/dl	20
Na ορού < 130 mmol/l	20
Γλυκόζη ορού ≥ 250 mg/dl	10
Ht < 30%	10
PaO ₂ < 60 mmHg	10
Πλευριτική συλλογή	10

Εάν ο ασθενής πληροί τα επόμενα κριτήρια κατατάσσεται στην ομάδα I: ηλικία <50 ετών, κανένα από τα επόμενα υποκείμενα νοσήματα: νεοπλάσματα, ηπατοπάθεια, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και νεφρική νόσος, φυσιολογικά ή ελαφρώς διαταραγμένα ζωτικά σημεία και φυσιολογική νοητική κατάσταση.

Εάν ο ασθενής δεν ανήκει στην ομάδα κινδύνου I, κατατάσσεται σε μία από τις ομάδες II έως V με βάση τους βαθμούς που προκύπτουν από το σύστημα βαθμολόγησης PSI.

- Ομάδα II: ασθενείς με 70 βαθμούς (θνητότητα 0,6-0,7%)
- Ομάδα III: ασθενείς με 71-90 βαθμούς (θνητότητα 0,9-2,8%)
- Ομάδα IV: ασθενείς με 91-130 βαθμούς (θνητότητα 8,2-9,3%)
- Ομάδα V: ασθενείς ≥ 131 βαθμούς (θνητότητα 27-31%)

Για τις ομάδες κινδύνου I, II και III η νοσηλεία συνήθως δεν είναι απαραίτητη. Για τις ομάδες IV και V ο ασθενής συνήθως πρέπει να εισαχθεί στο νοσοκομείο και πολύ πιθανόν να χρειαστεί νοσηλεία στην ΜΕΘ.

10. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΒΑΡΕΙΑΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ

Ως βαρεία πνευμονία της κοινότητας χαρακτηρίζεται συνήθως η πνευμονία που απαιτεί νοσηλεία σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Ωστόσο, η πολιτική εισαγωγών σε ΜΕΘ για πνευμονία της κοινότητας, ποικίλλει σημαντικά από χώρα σε χώρα και από νοσοκομείο σε νοσοκομείο, ανάλογα με τον αριθμό των διαθέσιμων κρεβατιών. Το αποτέλεσμα είναι να υπάρχει από μελέτη σε μελέτη σημαντική ετερογένεια στα δεδομένα που αναφέρονται για τη βαρεία πνευμονία της κοινότητας. Π.χ. σειρές που προέρχονται από τη Μ. Βρετανία, απαρτίζονται από ασθενείς με πολύ βαρύτερη κατάσταση, που συνήθως απαιτούν μηχανικό αερισμό. Η εικόνα διαφέρει σε σειρές από τη Γαλλία ή την Ισπανία, όπου αρκετές εισαγωγές σε ΜΕΘ γίνονται για παρακολούθηση, χωρίς να απαιτείται μηχανική υποστήριξη της αναπνοής (Δαμιανός & Μάρκου, 2003; Ortqvist, 1994; Ewig & Torres, 1999).

Κριτήρια βαρείας νόσου διατυπώθηκαν από την Αμερικανική Εταιρεία Νοσημάτων Θώρακα (American Thoracic Society-ATS, 1993). Τα κριτήρια αυτά είχαν ευαισθησία 98% αλλά ειδικότητα μόλις 32% και θετική προγνωστική αξία 24% (Ewig et al., 1998). Οι Ewig et al. έχουν προτείνει τροποποίηση των κριτηρίων της ATS. Η ευαισθησία των τροποποιημένων κριτηρίων ήταν 78%, η ειδικότητά τους 94% και η θετική προγνωστική αξία 75% (Ewig et al., 1998). Η ATS, στην πρόσφατη αναθεώρηση των οδηγιών της, συστήνει είτε τη χρήση των αρχικών 9 κριτηρίων (μειζόνων και ελασσόνων) είτε τη χρήση των τροποποιημένων κριτηρίων των Ewig et al. (Πίνακας 13). Προσθέτει ότι είναι πιθανό και άλλα κριτήρια όπως η παρουσία σύγχυσης ή η αύξηση της ουρίας να έχουν επίσης αξία, αλλά δεν έχει μελετηθεί αν η συνεκτίμησή τους βελτιώνει την προγνωστική αξία των κριτηρίων της ATS (American Thoracic Society, 2001).

Τα πιο κάτω κριτήρια ταξινομούνται σε μείζονα και ελάσσονα κριτήρια (Πίνακας 13). Η παρουσία δύο ελάσσονων ή ενός μείζονος κριτηρίου θεωρείται αρκετή για το χαρακτηρισμό της πνευμονίας ως βαρείας.

- 1. Ευρήματα σοβαρής έκπτωσης της αναπνευστικής λειτουργίας** (αναπνευστική συχνότητα κατά την εισαγωγή $>30/\lambda\epsilon\pi\tau\acute{o}$, $PaO_2/PafIO_2 < 250$ mmHg, αναγκαία η υποστήριξη της αναπνευστικής λειτουργίας με μηχανικό αερισμό)
- 2. Ακτινογραφικά ευρήματα** (πολυλοβώδης συμμετοχή (>2 λοβοί) ή παρουσία βλαβών και στους δύο πνεύμονες, προοδευτικά επιδεινούμενες βλάβες (αύξηση του μεγέθους των

ακτινογραφικά απεικονιζόμενων βλαβών $\geq 50\%$ μετά από 48 ώρες χωρίς κλινική ένδειξη ανταπόκρισης στη θεραπεία).

3. Στοιχεία έκπτωσης κυκλοφορικής λειτουργίας (συστολική πίεση $< 90\text{mmHg}$ ή διαστολική πίεση $< 60\text{mmHg}$, κρεατινίνη ορού $\geq 2\text{mg/dl}$ ή αύξηση $\geq 2\text{mg/dl}$ σε ασθενείς με νεφρική νόσο, οξεία νεφρική ανεπάρκεια που απαιτεί αντιμετώπιση του ασθενούς με αιμοδιάλυση ($< 80\text{ mL}$ ούρων σε 4 ώρες), υποστήριξη της κυκλοφορίας με αγγειοσυσταλτικά ≥ 4 ώρες (κυκλοφορικό shock)) (Κριτήρια ATS 1993, Ruiz et al. AJRCCM 1998).

Πίνακας 13: Κριτήρια διάγνωσης βαρειάς πνευμονίας της κοινότητας (BTS, 2001; ATS, 1993). Οι οδηγίες της ATS και οι τροποποιήσεις τους. Η παρουσία δύο ελλασσόνων ή ενός μείζονος κριτηρίου θεωρείται αρκετή για το χαρακτηρισμό μιας πνευμονίας ως βαρειάς (Δαμιανός & Μάρκου, 2003)

ATS (1993)	Ewig S, et al
A. Ελάχιστονα κριτήρια που αξιολογούνται κατά την εισαγωγή του ασθενούς	
<ul style="list-style-type: none"> • Αναπνευστική συχνότητα > 30 αναπνοές /λεπτό • $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250\text{ mmHg}$ • Αμφοτερόπλευρα διηθήματα ή προσβολή που αφορά σε περισσότερους των δύο λοβών στην ακτινογραφία θώρακα • Συστολική αρτηριακή πίεση $< 90\text{ mmHg}$ • Διαστολική αρτηριακή πίεση $< 60\text{ mmHg}$ 	<ul style="list-style-type: none"> • $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250\text{ mmHg}$ • Προσβολή που αφορά σε περισσότερους των δύο λοβών στην ακτινογραφία θώρακα • Συστολική αρτηριακή πίεση $< 90\text{ mmHg}$
B. Μείζονα κριτήρια που αξιολογούνται κατά την εισαγωγή του ασθενούς ή κατά τη διάρκεια της νοσηλείας	
<ul style="list-style-type: none"> • Ανάγκη μηχανικού αερισμού • Αύξηση μεγέθους των διηθημάτων κατά $\geq 50\%$, με ταυτόχρονη απουσία κλινικής ανταπόκρισης ή και περαιτέρω κλινική επιδείνωση παρά την αγωγή • Ανάγκη αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων για περισσότερες από 4 ώρες • Κρεατινίνη ορού $\geq 2\text{ mg/dl}$ (ή αύξηση $\geq 2\text{ mg/dl}$ σε προϋπάρχουσα νεφρική νόσο ή οξεία νεφρική ανεπάρκεια που απαιτεί αιμοδιύλυση) 	<ul style="list-style-type: none"> • Ανάγκη μηχανικού αερισμού • Ανάγκη αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων για περισσότερες από 4 ώρες

Η ERS (European respiratory society, 1998) από την πλευρά της συστήνει εισαγωγή στη ΜΕΘ επί παρουσίας ή επιμονής ενός από τα παρακάτω:

- Βαρεία αναπνευστική ανεπάρκεια. Θεωρείται παρούσα όταν υπάρχει ένα από τα ακόλουθα: α) Αναπνευστική συχνότητα > 30 αναπνοές/λεπτό, β) $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250\text{ mmHg}$ ($< 200\text{ mmHg}$ σε ασθενείς με ΧΑΠ), γ) Ανάγκη μηχανικού αερισμού, δ) Αύξηση του μεγέθους της σκίασης κατά 50% και πλέον κατά τις πρώτες 48 ώρες από την εισαγωγή στο νοσοκομείο.
- Αιμοδυναμική αστάθεια. Θεωρείται παρούσα όταν υπάρχει ένα από τα ακόλουθα: α) συστολική αρτηριακή πίεση $< 90\text{ mmHg}$ ή διαστολική αρτηριακή πίεση < 60

mmHg, β) ανάγκη αγγειοδραστικών φαρμάκων για περισσότερες από 4 ώρες, γ) παραγωγή ούρων < 20 ml/ώρα επί απουσίας υποογκαιμίας).

- Μεταβολικά και αιματολογικά κριτήρια όπου αρκεί ένα από τα ακόλουθα): α) pH < 7,30, β) διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, γ) οξεία νεφρική ανεπάρκεια που απαιτεί αιμοδιάλυση.
- Άλλες βαρείες ανεπάρκειες οργάνων.

Τα πιο εύχρηστα ίσως κριτήρια βαρείας νόσου είναι της Βρετανικής Εταιρείας Νοσημάτων Θώρακα (British Thoracic Society - BTS), που θα παρατεθούν στην αναθεωρημένη μορφή τους. Σύμφωνα με την BTS, αυξημένος κίνδυνος θανάτου από πνευμονία υφίσταται όταν πληρούνται τουλάχιστον τα δύο από τα παρακάτω τέσσερα κριτήρια (BTS, 2001; 1987):

- Σύγχυση (που δεν προϋπήρχε). Για την εκτίμησή της μπορεί να χρησιμοποιηθεί το abbreviated-mental test score. Αξιολογούνται τιμές < 8 (Πίνακα 14).
- Ουρία > 8 mmol/l
- Αναπνευστική συχνότητα > 30 αναπνοές/λεπτό
- Συστολική πίεση < 90 mmHg ή διαστολική πίεση < 60 mmHg.

Πίνακας 14: Abbreviated mental test (BTS, 2001). Αξιολόγηση του βαθμού σύγχυσης του ασθενούς. Κάθε ορθή απάντηση χρεώνεται με ένα βαθμό. Score ≤ 8 ορίζει την παρουσία διανοητικής σύγχυσης στα τροποποιημένα κριτήρια της BTS (Δαμιανός & Μάρκου, 2003)

Υποβάλλονται στον ασθενή οι ακόλουθες 10 ερωτήσεις:

- Ποια είναι η ηλικία σας
- Ποια είναι η ημερομηνία γεννήσεως
- Τι ώρα έχουμε (προσέγγιση ώρας)
- Σε ποιο νοσοκομείο είστε
- Αναγνώριση δύο προσώπων (π.χ. γιατρός, νοσηλεύτης)
- Ποια είναι η διεύθυνσή σας
- Πότε έγινε ο 1^{ος} Παγκόσμιος πόλεμος
- Ποιος είναι ο πρόεδρος της Δημοκρατίας/πρωθυπουργός
- Μετρήστε προς τα πίσω ξεκινώντας από το 20

Ασθενείς με δύο ή περισσότερους δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες θεωρείται ότι έχουν βαρεία πνευμονία της κοινότητας. Ασθενείς με ένα δυσμενή προγνωστικό παράγοντα, έχουν επίσης σχετικά αυξημένο κίνδυνο θανάτου. Σε ασθενείς με ένα δυσμενή προγνωστικό παράγοντα, για την απόφαση νοσηλείας σε ΜΕΘ συνενεκτιμώνται τα ακόλουθα: α) ηλικία 50 ετών, β) συνυπάρχοντα νοσήματα, γ) SaO₂ < 92% ή PaO₂ < 60 mmHg, δ) αμφοτερόπλευρη ή πολυλοβώδης νόσος στην ακτινογραφία θώρακα. Άσχετα από το ποιο σύστημα κριτηρίων χρησιμοποιείται, αυτό που έχει

μεγαλύτερη σημασία είναι η ευαισθητοποίηση των ιατρών του τμήματος επειγόντων περιστατικών, ώστε να εξασφαλίζεται έγκαιρη αναγνώριση, στενή παρακολούθηση και επιθετική αντιμετώπιση των ασθενών με βαρεία πνευμονία της κοινότητας, πριν αρχίσει έκπτωση λειτουργίας ζωτικών οργάνων. Υπενθυμίζεται ότι ο κλινικά σταθερός ασθενής με βαρεία πνευμονία της κοινότητας, ο οποίος απαιτεί υψηλά μείγματα οξυγόνου, μπορεί μέσα σε λίγες ώρες να εμφανίζει shock, ανουρία ή να χρειάζεται διασωλήνωση.

Οι πρώτες ώρες από την υποδοχή του ασθενούς ως την είσοδο στη ΜΕΘ έχουν μεγάλη σημασία. Σε ασθενείς που συγκεντρώνουν χαρακτηριστικά βαρείας πνευμονίας της κοινότητας και δεν μεταφέρονται άμεσα σε ΜΕΘ επιβάλλεται, πλην του ολοκληρωμένου διαγνωστικού ελέγχου και της έγκαιρης διόρθωσης τυχόν φυσιολογικών εκτροπών (π.χ. με χορήγηση όγκου), η άμεση έναρξη αντιβίωσης, η τακτική και συχνή επαναξιολόγηση της κατάστασης από τον θεράποντα και η εκτίμηση από εντατικολόγο. Ίσως ο καταλληλότερος χώρος για την αρχική τουλάχιστον αντιμετώπιση ασθενών με βαρεία πνευμονία κοινότητας, που δεν απαιτούν άμεση έναρξη μηχανικού αερισμού ή αιματηρό αιμοδυναμικό monitoring, θα ήταν ένα τμήμα αυξημένης φροντίδας (ΜΑΦ) (Baudouin, 2002).

11. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

11.1. Χορήγηση αντιβιοτικών

Η σύγχρονη αντιβιοτική θεραπεία άλλαξε ριζικά τη φυσική ιστορία της πνευμονίας. Αν και θεωρήθηκε αρχικά πανάκεια, η αντιβιοτική θεραπεία επηρεάστηκε και επηρέασε την επιδημιολογία των μικροβίων, την οργάνωση των συστημάτων υγείας, τις κοινωνικές και οικονομικές συνισταμένες κάθε τόπου.

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες προέκυψε η ανάγκη της κατάρτισης θέσεων ομοφωνίας για την αποφυγή της αλόγιστης φαρμακείας, της ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών και την ορθολογική, εμπειρική αγωγή της πνευμονίας της κοινότητας. Η συνεξέταση αυτών των θέσεων αναδεικνύει τις ομοιότητες και τις διαφορές μεταξύ των διαφόρων χωρών της γης. Οι διαφορές προκύπτουν όχι μόνο από την ξεχωριστή επιδημιολογική εικόνα κάθε τόπου, αλλά επίσης κι από μεθοδολογικά προβλήματα, όπως είναι η διαφορετική ομαδοποίηση ασθενών και η εισαγωγή τους σε ομάδες ανοσοκατεσταλμένων ή νοσηλευόμενων κατ' οίκον ασθενών.

Σημαντικό ρόλο στην επιλογή του αντιβιοτικού παίζουν επίσης και οι προβλεπόμενες από κάθε ιατρική εταιρεία ενέργειες προκειμένου να καθοριστεί το αίτιο της πνευμονίας. Προβληματική παραμένει η προσέγγιση της πνευμονίας της κοινότητας ως “τυπική” και “άτυπη” κλινική εικόνα, μια προσέγγιση που χαρακτηρίζει τις γαλλικές και τις γερμανικές θέσεις ομοφωνίας. Τέλος, η επιλογή των αντιβιοτικών φαρμάκων επηρεάζεται επίσης από τις δυνατότητες που υπάρχουν σε κάθε κοινωνία. Η πολυμορφία στην προσέγγιση και θεραπεία της πνευμονίας της κοινότητας, δεν πρέπει πάντως να συσκοτίζει το γεγονός ότι η εφαρμογή των οδηγιών των ιατρικών αρχών κάθε τόπου μειώνει σημαντικά τη θνητότητα των κρουσμάτων πνευμονίας (Κοντοπυργιάς & Χείλας).

Ο γιατρός θα πρέπει να αξιολογήσει αρκετά δεδομένα όταν επιλέγει εμπειρική αγωγή σε ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας: φάσμα δράσης του φαρμάκου, μικροβιακή αντοχή, ποσοστά επιτυχίας, αποδοχή από τον ασθενή και ευκολία χορήγησης. Στους περισσότερους ασθενείς η κατάλληλη θεραπευτική αγωγή θα έχει ως αποτέλεσμα τουλάχιστον τη μερική ύφεση των συμπτωμάτων σε 24 με 48 ώρες από την έναρξη της θεραπείας.

Από τις δεκάδες κατευθυντήριες οδηγίες, παρατίθενται αυτές της IDSA, οι οποίες δημοσιεύθηκαν το Δεκέμβριο του 2003 (Πίνακας 15) και οι οδηγίες ΙΦΕΤ 2006 για την

αντιμετώπιση της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας σε ασθενείς με και χωρίς συνοδά νοσήματα (Πίνακες 16, 17). Επίσης παρατίθενται στον Πίνακα 18 οι συστάσεις για εμπειρική αγωγή στη βαρεία πνευμονία της κοινότητας (Bodmann, 2005; Janssens, 2005; Mills et al., 2005).

Η συνήθης πρακτική αντιμετώπισης της πνευμονίας της κοινότητας στην Ελλάδα ήταν ο κύριος γνώμονας επιλογής παράθεσης των συγκεκριμένων οδηγιών. Δεν θα πρέπει, όμως να παραβλεφθεί ότι μια αδρή επισκόπηση των θέσεων ομοφωνίας αρκεί για να αναδείξει ορισμένες προτιμήσεις με γεωγραφική κατανομή. Για παράδειγμα, οι Ευρωπαϊκές Εταιρείες εμπιστεύονται περισσότερο τις β-λακτάμες, ενώ οι Βορειοαμερικανικές Εταιρείες συστήνουν ως πρώτη επιλογή τις φθοριοκινολόνες. Επιπλέον οι Αμερικανικές Εταιρείες εμπιστεύονται τη μονοθεραπεία με μακρολίδες, ενώ οι Ευρωπαϊκές υπολογίζουν περισσότερο στη διαπιστωμένα συχνή εμφάνιση ανθεκτικών στις μακρολίδες πνευμονιόκοκκων στη Νότια Ευρώπη (*MRSP-macrolide resistant Streptococcus Pneumoniae*).

11.2. Διάρκεια θεραπείας

Η διάρκεια της θεραπείας γενικά είναι 7-10 ημέρες και εξατομικεύεται όταν είναι γνωστός ο λοιμογόνος παράγοντας που προκάλεσε την πνευμονία. Έτσι η ενδεδειγμένη διάρκεια της θεραπείας είναι:

- για πνευμονιοκοκκική πνευμονία μέχρι να παραμείνει άπύρετος ο ασθενής για 72 ώρες
- για πνευμονία από *Mycoplasma pneumoniae* η διάρκεια της θεραπείας με τα νεότερα φάρμακα δεν έχει ακόμη καθοριστεί,
- για πνευμονία από *C. pneumoniae* οι πολυάριθμες μελέτες δείχνουν καλή κλινική ανταπόκριση με θεραπεία 7-14 ημερών,
- για πνευμονία από *Legionella* 10-21 ημέρες
- και για τα παθογόνα που μπορεί να προκαλέσουν πνευμονική νέκρωση (*S.aureus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella species* ή αναερόβια) περισσότερο από 2 εβδομάδες (Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων, Centers for Disease Control and Prevention, CDC; Κοντοπυργίας & Χείλας).

11.3. Μετατροπή της iv σε per os αγωγή

Η μετατροπή της ενδοφλέβιας (iv) αντιβιοτικής αγωγής σε από του στόματος (peros) αγωγή μπορεί να γίνει όταν ο ασθενής πληροί τις παρακάτω προϋποθέσεις:

- Παρουσιάζει κλινική βελτίωση
- Είναι αιμοδυναμικά σταθερός
- Είναι σε θέση να λάβει τα φάρμακά του από το στόμα
- Έχει καλή λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος

11.4. Αίτια αποτυχίας της θεραπείας

Η αναμενόμενη απάντηση στη θεραπεία της πνευμονίας της κοινότητας, σχετίζεται με την ανοσολογική ικανότητα του αρρώστου, τη σοβαρότητα της πνευμονίας, το παθογόνο και τα ακτινολογικά ευρήματα. Κλινική βελτίωση συνήθως παρατηρείται σε 1-3 ημέρες. Το πιο αξιολογήσιμο στοιχείο για την επιβεβαίωση της κλινικής βελτίωσης του ασθενούς είναι ο πυρετός. Σε νέους με πνευμονιοκοκκική πνευμονία, ο πυρετός υποχωρεί μέσα σε 2-3 ημέρες από την έναρξη της αγωγής, ενώ σε ηλικιωμένους υποχωρεί αργότερα. Οι καλλιέργειες αίματος σε μικροβιακή πνευμονία είναι συνήθως αρνητικές μέσα σε 24-48 ώρες από την έναρξη της πνευμονίας. Τα ακτινολογικά ευρήματα βελτιώνονται αργότερα από τα κλινικά ευρήματα. Μάλιστα, στις περισσότερες περιπτώσεις, τις πρώτες ημέρες της πνευμονίας υπάρχει επιδείνωση της ακτινολογικής εικόνας παρά την κλινική βελτίωση του ασθενούς. Εάν όμως ο ασθενής δεν παρουσιάσει βελτίωση από την εισαγωγή της θεραπείας, θα πρέπει να αναζητηθούν τα αίτια της αποτυχίας της συγκεκριμένης θεραπείας.

Τα αίτια αυτά ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες

1. Λανθασμένη διάγνωση

Ο ασθενής δεν πάσχει από πνευμονία παρουσιάζει όμως, κλινική και ακτινολογική εικόνα, συμβατή με πνευμονία. Στα νοσήματα που πρέπει να ληφθούν υπόψη στη διαφορική διάγνωση περιλαμβάνονται τα παρακάτω:

- α. Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια
- β. Πνευμονική εμβολή
- γ. Νεόπλασμα (κυρίως βρογχοκυψελιδικό, λέμφωμα)

- δ. Ατελεκτασία
- ε. Σαρκοείδωση
- στ. ARDS
- ζ. Πνευμονική αιμορραγία
- η. Αγγειίτιδα
- θ. Ηωσινοφιλική πνευμονία
- ι. Αποφρακτική βρογχολίτιδα – Οργανοποιός πνευμονία (BOOP).

2. Σωστή διάγνωση

Ο ασθενής πάσχει από πνευμονία και η μη ανταπόκρισή του οφείλεται σε:

A. Αίτια που σχετίζονται με τον ασθενή

- α. Ανεπαρκής ανοσολογική απάντηση
- β. Εντοπισμένες βλάβες που προκαλούν βρογχική απόφραξη (ξένο σώμα, νεοπλασία)
- γ. Επιπλοκές (π.χ. εμπύημα, ενδοκαρδίτιδα, απόστημα)
- δ. Επιπλοκές σχετιζόμενες με τη νοσηλεία (π.χ. σήψη από ενδοφλέβια γραμμή).

B. Αίτια που σχετίζονται με τη φαρμακευτική αγωγή

- α. Λανθασμένη επιλογή φαρμάκου
- β. Λανθασμένη δόση
- γ. Ανεπιθύμητες ενέργειες φαρμάκου
- δ. Μη συμμόρφωση του ασθενή
- ε. Κακή απορρόφηση του φαρμάκου
- στ. Αλληλεπιδράσεις φαρμάκων.

Γ. Αίτια που σχετίζονται με το παθογόνο

- α. Μικροοργανισμοί με αντοχή στα αντιβιοτικά
- β. Παρουσία περισσότερων από ένα παθογόνα (πολυμικροβιακή)
- γ. Μυκοβακτηρίδια ή νοκάρδια
- δ. Μη βακτηριακή πνευμονία (ιοί-μύκητες) (Κοντοπυργίας & Χείλας).

11.5. Θεραπεία της ιογενούς πνευμονίας

Οι αδαμανταμίνες (αμανταδίνη, ριμανταδίνη) δρουν κατά του ιού της influenza A ενώ οι αναστολείς της νευραμινιδάσης (οσελταμβίρη και ζανεμιβίρη) δρουν και στους δύο τύπους του ιού (A και B). Ενδείκνυται ως χημειοπροφύλαξη σε άτομα που εκτίθενται σε γρίπη στο οικογενειακό περιβάλλον, κατά τη διάρκεια επιδημιών και σε άτομα υψηλού κινδύνου τις πρώτες δύο εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό με αδρανοποιημένους ιούς (χρόνος που απαιτείται για την ανάπτυξη επαρκούς ανοσολογικής απάντησης). Μπορεί επίσης να χορηγηθούν όταν ο εμβολιασμός αντενδείκνυται ή είναι αναποτελεσματικός, καθώς και σε άτομα υψηλού κινδύνου σε περιπτώσεις πανδημίας από ιό που δεν περιέχεται στο εμβόλιο. Ως θεραπεία πρέπει να χορηγούνται μέσα στις πρώτες 48 ώρες από την έναρξη των συμπτωμάτων. Αν και έχει δειχθεί ότι μειώνουν τη διάρκεια και τη βαρύτητα της νόσου στους υγιείς, στους ασθενείς υψηλού κινδύνου δεν επηρεάζουν τη συχνότητα των επιπλοκών, την ανάγκη νοσηλείας στο νοσοκομείο και τη θνητότητα. Επειδή η επίδρασή τους στην αποτελεσματικότητα του εμβολιασμού με ζώντες εξασθενημένους ιούς δεν είναι γνωστή, το εμβόλιο αυτό δεν πρέπει να χορηγείται πριν περάσουν 48 ώρες από τη διακοπή τους, ενώ η χορήγηση των φαρμάκων αντενδείκνυται τις πρώτες δύο εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό.

Δεν υπάρχει αντικός παράγοντας με αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα για τη θεραπεία ενηλίκων με πνευμονικές λοιμώξεις από *Parainfluenza Virus*, αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (*RSV*), *Adenovirus*, *Metapneumovirus*. Στις περιπτώσεις αυτές η αντιμετώπιση είναι υποστηρικτική.

11.6. Κριτήρια εξόδου από το νοσοκομείο

Το προηγούμενο της εξόδου 24ωρο, ο ασθενής δεν θα πρέπει να έχει περισσότερα από 1 από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- α) Θερμοκρασία $>37,8^{\circ}\text{C}$,
- β) Σφυγμοί $>100/\text{min}$,
- γ) Αναπνευστική συχνότητα >24 αναπνοές/ min ,
- δ) Συστολική αρτηριακή πίεση $< 90\text{mmHg}$,
- ε) Κορεσμό οξυγόνου αίματος $< 90\%$ και
- στ) Ανικανότητα πρόσληψης τροφής (Κοντοπυργίας & Χείλας).

Πίνακας 15: Κατευθυντήριες οδηγίες της IDSA για τη θεραπεία της πνευμονίας (Κοντοπυργίας & Χείλας).

Κατάσταση ασθενούς	Προτιμώμενη θεραπευτική επιλογή
Εξωτερικός ασθενής	
<ul style="list-style-type: none"> • Προηγούμενος υγιής Χωρίς πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακών Πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακών ²	Μια μακρολίδη ¹ ή δοξυκυκλίνη Μονοθεραπεία με κινολόνη ³ , συνδυασμό νεότερης μακρολίδης ⁴ με υψηλή δόση αμοξικιλίνης ⁵ ή νεότερης μακρολίδης με υψηλή δόση αμοξικιλίνης-κλαβουλανικού οξέος ⁶
<ul style="list-style-type: none"> • Υποκείμενα νοσήματα (ΧΑΠ, διαβήτης, νεφροπάθεια, καρδιακή ανεπάρκεια ή νεόπλασμα) Χωρίς πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακού Πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακού	Μια νεότερη μακρολίδη ⁴ ή μια κινολόνη Μονοθεραπεία με αναπνευστική κινολόνη ³ ή συνδυασμό νεότερης μακρολίδης με β-λακτάμη ⁷
Υποψία εισροφίσεως με λοίμωξη	Αμοξικιλίνη-κλαβουλανικό ή κλινδαμυκίνη
Γρίπη με βακτηριακή επιλοίμωξη	Μια β-λακτάμη ή μια κινολόνη
Νοσηλεύόμενος ασθενής	
<ul style="list-style-type: none"> • Κοινός θάλαμος νοσηλείας Χωρίς πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακού Πρόσφατη λήψη αντιμικροβιακού	Μονοθεραπεία με κινολόνη ή συνδυασμό νεότερης μακρολίδης με β-λακτάμη ⁸ Συνδυασμό νεότερης μακρολίδης με β-λακτάμη ή μονοθεραπεία με αναπνευστική κινολόνη (η επιλογή του σχήματος θα βασιστεί στο είδος του πρόσφατου αντιμικροβιακού)
<ul style="list-style-type: none"> • ΜΕΘ Χωρίς υποψία λοίμωξης από <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Χωρίς υποψία λοίμωξης από <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , αλλά ο ασθενής είναι αλλεργικός στις β-λακτάμες Υποψία λοίμωξης από <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ¹⁰ Υποψία λοίμωξης με <i>Pseudomonas aeruginosa</i> στις β-λακτάμες	Συνδυασμό μιας β-λακτάμης ⁹ με είτε μία νεότερη μακρολίδη ή μία αναπνευστική κινολόνη Μία κινολόνη με ή χωρίς κλινδαμυκίνη Είτε συνδυασμό ενός αντιψευδομοναδικού ¹¹ με σιπροφλοξασίνη ή ενός αντιψευδομοναδικού με αμινογλυκοσίδη ¹² και με κινολόνη ή μακρολίδη Είτε συνδυασμό αζτρεονάμης με λεβοφλοξασίνη ¹³ ή και αλλεργία αζτρεονάμης με μοξιφλοξασίνη ή γκατιφλοξασίνη, με ή χωρίς αμινογλυκοσίδη
Ασθενής σε ίδρυμα	
<ul style="list-style-type: none"> • Θεραπεία στο ίδρυμα 	Μονοθεραπεία με κινολόνη ή συνδυασμό αμοξικιλίνης- κλαβουλανικού με νεότερη μακρολίδη
<ul style="list-style-type: none"> • Θεραπεία στο νοσοκομείο 	Το ίδιο με το θάλαμο νοσηλείας νοσοκομείου και τη ΜΕΘ

¹Ερυθρομυκίνη, αζιθρομυκίνη ή κλαριθρομυκίνη.²Αυτό σημαίνει ότι ο ασθενής έλαβε αντιμικροβιακό σχήμα για κάποια λοίμωξη τους προηγούμενους 3 μήνες, μη συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας πνευμονίας. Αυτό το αντιμικροβιακό σχήμα αυξάνει τον κίνδυνο για πολυανθεκτικό πνευμονιόκοκκο (*Streptococcus pneumoniae*) και πιθανώς για λοίμωξη από gram αρνητικούς βακίλους. Ανάλυση της ομάδας αντιμικροβιακών που χορηγήθηκαν πρόσφατα θα είναι και η επιλογή τωρινού σχήματος. Η πρόσφατη λήψη μιας κινολόνης μπορεί να υπαγορεύει την επιλογή ενός σχήματος χωρίς κινολόνη και αντιστρόφως.³Μοξιφλοξασίνη, γκατιφλοξασίνη, λεβοφλοξασίνη ή γεμιφλοξασίνη.⁴Αζιθρομυκίνη ή κλαριθρομυκίνη.⁵Δοσολογία: 1g po 3 φορές ημερησίως.⁶Δοσολογία: 2g po 2 φορές ημερησίως.⁷Υψηλή δόση αμοξικιλίνης, υψηλή δόση αμοξικιλίνης κλαβουλανικού, κεφποδοξίμη, κεφπροξίλη, ή κεφουροξίμη.⁸Κεφοταξίμη, κεφτριαξόνη, αμπικιλίνη - σουλβακτάμη ή ερταπενέμη (η τελευταία εγκρίθηκε πρόσφατα γι' αυτή την ένδειξη σε παρεντερική χορήγηση άπαξ ημερησίως, αλλά η εμπειρία μ' αυτό το φάρμακο ακόμα είναι μικρή).⁹Οι παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από ψευδομονάδα (*Pseudomonas*) είναι η σοβαρή ανατομική νόσος των πνευμόνων (π.χ. βρογχεκτασίες) και η πρόσφατη αντιμικροβιακή θεραπεία ή πρόσφατη παραμονή σε νοσοκομείο (ειδικά στη ΜΕΘ). Για ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας στη ΜΕΘ θα πρέπει πάντοτε να υπάρχει κάλυψη για πνευμονιόκοκκο (*S. pneumoniae*) και *Legionella*. Η πιπερακιλίνη-ταζοβακτάμη, η ιμιπενέμη, η μεροπενέμη και η κεφεπίμη είναι άριστες β-λακτάμες και επαρκούν για τις περισσότερες λοιμώξεις από πνευμονιόκοκκο (*S. pneumoniae*) και αιμόφιλο (*Haemophilus influenzae*). Οι β-λακτάμες αυτές είναι η προτιμώμενη θεραπεία όταν υπάρχει υποψία για σχετικά ασυνήθη παθογόνα, όπως η ψευδομονάδα (*Pseudomonas aeruginosa*), η κλεμψιέλλα (*Klebsiella species*) και άλλα gram αρνητικά βακτηρίδια.¹⁰Πιπερακιλίνη, πιπερακιλίνη-ταζομπακτάμη, ιμιπενέμη ή κεφεπίμη.¹¹Τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι ηλικιωμένοι ασθενείς που λαμβάνουν αμινογλυκοσίδες έχουν χειρότερη έκβαση.¹²Η δόση για νοσοκομειακούς ασθενείς είναι 750mg άπαξ ημερησίως.

Πίνακας 16: Οδηγίες (ΙΦΕΤ 2006) για την αντιμετώπιση της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας σε ασθενείς χωρίς συνοδά νοσήματα (Ξυνός, Κατευθυντήριες οδηγίες)

Εξωνοσοκομειακή κατ' οίκον νοσηλεία σε ενήλικες χωρίς συνοδό νοσηρότητα	
Υγιείς	
Χωρίς προηγηθείσα χορήγηση αντιβιοτικών το τελευταίο τρίμηνο	→ Αμοξυκιλλίνη (1g/6ωρο po) ± Νεότερη Μακρολίδη ^α
Με προηγηθέντα αντιβιοτικά το τελευταίο τρίμηνο	→ Αμοξυκιλλίνη + Νεότερη Μακρολίδη ^{βγδ} ή Κετολίδη (800mg/24ωρο po) ^{γδ}
<p>α. Η μακρολίδη προστίθεται επί ισχυρής υποψίας πνευμονίας από <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ή <i>Chlamydia pneumoniae</i></p> <p>β. Κλαριθρομυκίνη 500 mg/12ωρο po ή Κλαριθρομυκίνη 1000 mg/24ωρο po (2 δισκία 500 mg παρατεταμένης αποδέσμευσης) ή Αζιθρομυκίνη 500 mg/24ωρο po</p> <p>γ. Τα δύο αυτά θεραπευτικά σχήματα δίδονται εναλλακτικά εφόσον δεν έχουν χορηγηθεί τα αντιβιοτικά αυτά το τελευταίο 3μηνο. Σε περίπτωση που και τα τρία αναγραφόμενα αντιβιοτικά έχουν ήδη χορηγηθεί το τελευταίο 3μηνο, τότε μπορεί να δοθεί μια αναπνευστική κινολόνη (Λεβοφλοξασίνη 750mg/24ωρο po ή Μοξιφλοφασίνη 400mg/24ωρο po), με την προϋπόθεση ότι δεν έχει ήδη προηγηθεί χορήγηση οποιασδήποτε κινολόνης το τελευταίο 3μηνο (ακόμη και για ουρολοίμωξη)</p> <p>δ. Η διάρκεια της θεραπείας είναι γενικά 10 ημέρες</p>	

Πίνακας 17: Οδηγίες (ΙΦΕΤ 2006) για την αντιμετώπιση της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας σε ασθενείς με συνοδά νοσήματα (Ξυνός, Κατευθυντήριες οδηγίες)

Εξωνοσοκομειακή κατ' οίκον νοσηλεία σε ενήλικες με συνοδό νοσηρότητα		
Με συνοδό νοσηρότητα		
↓ ΧΑΠ, σακχαρώδης διαβήτης, κακοήθεις νεοπλασίες, αλκοολισμός, νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική ανεπάρκεια, καρδιακή ανεπάρκεια	Χωρίς προηγηθείσα θεραπεία με αντιβιοτικά το τελευταίο τρίμηνο	Με προηγηθέντα αντιβιοτικά το τελευταίο τρίμηνο
	↓	↓
	Αμοξυκιλλίνη (1g/6ωρο po) + Νεότερη Μακρολίδη ^α ή Κετολίδη (800mg/24ωρο po)	Κετολίδη ^β (800mg/24ωρο po) ή Αναπνευστική Κινολόνη ^{βγ}
Με υποψία εισροφίσεως		
↓		
Ένδειξη για νοσοκομειακή νοσηλεία		
α. Κλαριθρομυκίνη 500 mg/12ωρο po ή Κλαριθρομυκίνη 1000 mg/24ωρο po (2 δισκία 500 mg παρατεινόμενης αποδέσμευσης) ή 500 mg/12ωρο po ή Αζιθρομυκίνη 500 mg/24ωρο po		
β. Να δίνονται εναλλακτικά αναλόγως με το αντιβιοτικό που έχει ήδη χορηγηθεί το προηγούμενο 3μηνο		
γ. Λεβοφλοξασίνη 750mg/24ωρο po ή Μοξιφλοφασίνη 400mg/24ωρο po		
Σχόλια		
1. Η διάρκεια της θεραπείας είναι 10 ημέρες (με εξαίρεση την κετολίδη που χορηγείται επί 5 ημέρες).		
2. Τα συχνότερα αίτια πνευμονίας της κοινότητας είναι:		
- <i>Streptococcus pneumoniae</i>		
- <i>Mycoplasma pneumoniae</i>		
- <i>Haemophilus influenzae</i>		
- <i>Chlamydia pneumoniae</i>		
- <i>Moraxella catarrhalis</i>		
- <i>Legionella</i> spp. (απαιτεί επιδημιολογικό ιστορικό)		
- Αναερόβια (εισρόφηση, αλκοολισμός, επιληψία, μυασθένεια, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, διαμονή σε ιδρύματα π.χ. οίκους ευγηρίας)		
- <i>Staphylococcus aureus</i> (ισχυρή υποψία μετά από νόσηση από ιό ινφλουέντζας ή επιδημία γρίπης: απαιτεί είσοδο στο νοσοκομείο)		
3. Οι νεότερες κινολόνες (Μοξιφλοξασίνη-Λεβοφλοξασίνη) διαθέτουν ισχυρή <i>in vitro</i> δραστηριότητα στα Εντεροβακτηριακά, τους Αιμόφιλους αλλά και τους Πνευμονιοκόκκους, περιλαμβανομένων και των στελεχών των ανθεκτικών στη πενικιλίνη. Δεν αποτελούν εν τούτοις αντιμικροβιακά φάρμακα πρώτης επιλογής στη θεραπεία της εξωνοσοκομειακής πνευμονίας η οποία νοσηλεύεται κατ' οίκον ή στο νοσοκομείο, διότι στην Ελλάδα δεν έχουν ακόμα απομονωθεί στελέχη <i>Streptococcus pneumoniae</i> με υψηλή αντοχή στην πενικιλίνη (MIC > 4 μg/ml) και γι' αυτό επιβάλλεται να διαφυλαχθούν ώστε να παραμείνουν δραστικές έναντι των πνευμονιοκόκκων στο μέλλον. Η χορήγησή τους συνιστάται μόνον όταν υπάρχει ιστορικόσοβαρής αντιδράσεως υπερευρυσθησίας (αφυλακτική αντίδραση εκδηλούμενη με οίδημα λάρυγγος, βρογχόσπασμο ή shock) στις β-λακτάμες ή επί απομονώσεως στις καλλιέργειες στελέχους πνευμονιοκόκκου με υψηλή αντοχή στην πενικιλίνη (MIC >4μg/ml) ή εφόσον κετολίδες και μακρολίδες έχουν χορηγηθεί το τελευταίο 3μηνο		

Πίνακας 18: Συστάσεις για εμπειρική αγωγή στη βαρεία πνευμονία της κοινότητας

ERS	Κεφαλοσπορίνη 2 ^{ης} γενιάς (κεφουροξίμη) ή 3 ^{ης} γενιάς κεφοταξίμη (2gr x 3) ή κεφτριαξόνη (2gr x 1). Συγχρησιμοποιείται φλοξασίνη ή σιπροφλοξασίνη (ή εναλλακτική μακρολίδη, π.χ. ερυθρομυκίνη 2gr x 4 iv), ενώ μπορεί να προστεθεί και ριφαμπικίνη (600 mg x 2iv)
IDSA	<ul style="list-style-type: none"> • β-λακτάμη (κεφαταξίμη, κεφτριαξόνη ή συνδυασμό β-λακτάμης με αναστολές λακταμασών) μαζί με ερυθρομυκίνη ή αζιθρομυκίνη ή νεότερη κινολόνη • Σε υποψία εισρόφησης, η αγωγή πρέπει να περιλαμβάνει: α) κλινδαμυκίνη ή μετρονιδαζόλη ή β-λακτάμη με αναστολέα λακταμασών • Σε ασθενείς με υποψία νόσου από <i>P. aeruginosa</i> (βρογχεκτασίες): αντιψευδομοναδική πενικιλίνη (τικαρσιλλίνη ή πιπερακιλλίνη σε συνδυασμό με αναστολέα β-λακταμασών) ή καρβαπενένη ή κεφιπίμη. Συνδυάζεται: α) με αμινογλυκοσίδη μαζί με μακρολίδη ή β) με νεότερη κινολόνη
ATS	<ul style="list-style-type: none"> • Κεφοταξίμη ή κεφτριαξόνη iv MAZI με νεότερη μακρολίδη iv ή κινολόνη iv • Σε περίπτωση <i>P. aeruginosa</i> (Παράγοντες κινδύνου: δομική νόσος του πνεύμονα/βρογχεκτασίες, θεραπεία > 10 mg πρεδνιζόνης ημερησίως, αντιβίωση ευρέως φάσματος για πάνω από 7 ημέρες των τελευταίο μήνα, υποσιτισμός, υποψία HIV λοίμωξης): Α) IV αντιψευδομοναδική β-λακτάμη (πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη, κεφιπίμη, ιμιπενέμη) μαζί με iv αντιψευδομοναδική κινολόνη (σιπροφλοξασίνη). Β) IV αντιψευδομοναδική β-λακτάμη μαζί με iv αμινογλυκοσίδη και iv νεότερη μακρολίδη ή νεότερη κινολόνη
BTS	β-λακτάμη iv (αμοξυσιλλίνη – κλαβουλανικό 1,2 gr x 3 iv ή κεφουροξίμη 1,5 gr x 3 iv ή κεφτριαξόνη 2 gr x 1 iv) μαζί με μακρολίδη (ερυθρομυκίνη 500 mgr x 4 iv ή κλαριθρομυκίνη 500 mgr x 2 iv) και ενδεχομένως και ριφαμπικίνη (600 mgr 1 x 2 iv). Εναλλακτικά μπορεί να δοθεί νεότερη κινολόνη iv σε συνδυασμό με β-λακτάμη (π.χ. πενικιλίνη iv)

12. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη του είδους και της συχνότητας των παθογόνων βακτηρίων που ενέχονται στην πρόκληση της πνευμονίας της κοινότητας στην περιοχή της Θεσσαλίας και ιδιαίτερα ο προσδιορισμός της συχνότητας των άτυπων παθογόνων ώστε να καθορισθεί η κατάλληλη εμπειρική αντιμικροβιακή θεραπεία σε ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας. Επίσης στόχος της μελέτης ήταν η σύγκριση και η διαγνωστική αξία των διαφόρων κλασικών (Gram χρώση, καλλιέργειες σε κοινά στερεά θρεπτικά μέσα), ορολογικών και νεότερων (μοριακές τεχνικές όπως PCR και nested PCR) μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση αυτών. Τέλος εκτιμήθηκε η διαγνωστική αξία της μεθόδου ανίχνευσης αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila* στα ούρα ασθενών με πνευμονία της κοινότητας.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1. Υλικά

1.1.1. Πληθυσμός της μελέτης

Τον πληθυσμό της παρούσας μελέτης αποτέλεσαν 215 ασθενείς (152 (70,7%) άντρες και 63 (29,3%) γυναίκες) με μέσο όρο ηλικίας τα 60 χρόνια (19-90) οι οποίοι νοσηλεύθηκαν στην Πνευμονολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κατά τη διάρκεια των 20 μηνών της μελέτης (Δεκέμβριος 2007-Ιούλιος 2009). Οι 215 ασθενείς νοσηλεύθηκαν με τη διάγνωση της Πνευμονίας της Κοινότητας και πληρούσαν τα πιο κάτω κριτήρια επιλογής ώστε να συμπεριληφθούν στην μελέτη:

1.1.2. Κριτήρια επιλογής πληθυσμού μελέτης

1. ≥ 17 ετών.
2. Καινούργιο ή προϋπάρχον αλλά επιδεινούμενο εύρημα στην ακτινογραφία θώρακος συμβατό με πνευμονία (π.χ πύκνωση, κοιλοτικός σχηματισμός, πλευριτική συλλογή, κυψελιδικές διηθήσεις) και δεν οφειλόταν σε προϋπάρχουσα ή άλλη γνωστή αιτιολογία.
3. Κλινικά ευρήματα είτε ενός από τα κύρια κριτήρια {(1) πυρετός $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$ με ή χωρίς ρίγος ή υποθερμία $\leq 36,1^{\circ}\text{C}$ που δεν οφειλόταν σε άλλη αιτιολογία, (2) καινούργιος ή επιδεινούμενος βήχας, (3) παραγωγή πυωδών πτυέλων ή αλλαγή των χαρακτήρων και της ποσότητας προυπάρχοντων πτυέλων)} είτε τουλάχιστον δύο από τα ελάσσονα κριτήρια {(1) δύσπνοια, (2) πλευριτικό άλγος, (3) λευκοκυττάρωση (ολικά λευκά $\geq 10000/\text{mm}^3$) ή λευκοπενία (ολικά λευκά $\leq 4000/\text{mm}^3$) ή αυξημένη CRP και ΤΚΕ, (4) σύγχυση σε προηγουμένως υγιές άτομο, (5) στοιχεία πνευμονικής πύκνωσης από την ακρόαση του θώρακα (μη μουσικοί ήχοι, βρογχική αναπνοή, μείωση αναπνευστικού ψιθυρίσματος, παράταση εκπνοής, αύξηση φωνητικών δονήσεων και ακροαστικά ευρήματα συνηγορητικά ύπαρξης πλευριτικής συλλογής), (6) επιδείνωση της ανταλλαγής αερίων στις κυψελίδες ($\text{PaO}_2 \leq 60\text{mmHg}$ or $\text{PaO}_2/\text{fiO}_2 \leq 300$)}

1.1.3. Κριτήρια αποκλεισμού από τον πληθυσμό μελέτης

Ασθενείς που ανήκαν στις πιο κάτω κατηγορίες ασθενών αποκλείονταν από τον πληθυσμό μελέτης.

1. Ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς
2. Ασθενείς σε αγωγή με ανοσοκατασταλτικά
3. Ασθενείς με ουδετεροπενία ($<1000/\text{mm}^3$) λόγω χημειοθεραπείας
4. Μεταμοσχευμένοι ασθενείς
5. Όλες οι περιπτώσεις πνευμονίας που παρουσιάστηκαν μετά από τρεις ημέρες νοσηλείας στο νοσοκομείο (Νοσοκομειακή Πνευμονία)
6. Ασθενείς των οποίων η ακτινογραφία θώρακα ήταν συμβατή με άλλες παθήσεις όπως καρδιακή ανεπάρκεια ή μετα-αποφρακτική πνευμονία, λόγω καρκίνου του πνεύμονα
7. Ασθενείς με φυματίωση ή λευχαιμία.

1.1.4. Συλλογή στοιχείων

Τα ακόλουθα στοιχεία λαμβάνονταν από κάθε ασθενή με την εισαγωγή του στην κλινική και καταγράφονταν σε ειδικό έντυπο καταγραφής στοιχείων των ασθενών:

1. Ηλικία, φύλο
2. Διάρκεια συμπτωμάτων πριν προσκομίσουν τα δείγματα (πτύελα, ούρα, ορός)
3. Συμπτώματα [πυρετός, βήχας, απόχρεμψη (χαρακτηριστικά των πτυέλων όπως πυώδη, βλενώδη, αιματηρά), δύσπνοια, πλευριτικός πόνος και άλλα συμπτώματα όπως κεφαλαλγία, αρθραλγίες, μυαλγίες]
4. Ευρήματα κατά την κλινική εξέταση, κυρίως ακροαστικά
5. Κάπνισμα (πακέτα / χρόνια)
6. Αντιμικροβιακή αγωγή πριν την εισαγωγή στο νοσοκομείο
7. Ατομικό αναμνηστικό/Συνυπάρχοντα νοσήματα
8. Εργαστηριακά ευρήματα (αριθμός λευκοκυττάρων και τύπος, Ht, Hb, CRP και TKE)
9. Ακτινογραφία Θώρακος
10. Χρόνος παραμονής στο νοσοκομείο.

1.1.5. Συλλογή δειγμάτων

Από κάθε ασθενή που πληρούσε τα κριτήρια επιλογής ζητήθηκε να προσκομίσει πτύελα σε αποστειρωμένο δοχείο με σκοπό την ανίχνευση σε αυτά παθογόνων βακτηρίων του κατώτερου αναπνευστικού με κλασσικές (gram χρώση, καλλιέργειες) και μοριακές (PCR, nested-PCR) μικροβιολογικές μεθόδους. Αποδεκτά γίνονταν μόνο τα δείγματα πτυέλων με πυώδη ή βλεννώδη σύσταση. Σε αντίθετη περίπτωση ζητείτο από τον ασθενή να προσκομίσει ξανά νέο δείγμα πτυέλων. Καμιά εξειδικευμένη διαδικασία ακολουθείτο αν ο ασθενής αδυνατούσε αυθόρμητα να χορηγήσει δείγμα πτυέλων. Η αντιμικροβιακή αγωγή σε καμιά περίπτωση δεν καθυστέρησε στην έναρξή της με σκοπό να ληφθούν πτύελα.

Επίσης από κάθε ασθενή λαμβανόταν, με την εισαγωγή του στην κλινική, δείγμα αίματος για ορολογικό έλεγχο παρουσίας ειδικών αντισωμάτων έναντι άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* και *Legionella pneumophila*).

Παράλληλα ζητείτο από κάθε ασθενή να προσκομίσει δείγμα ούρων για ανίχνευση του αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila*.

Σε περίπτωση παρουσίας σημαντικής πλευριτικής συλλογής που αντιμετωπιζόταν με παρακέντηση για θεραπευτικούς ή διαγνωστικούς λόγους, λαμβανόταν και δείγμα πλευριτικού υγρού στο οποίο επίσης γινόταν έλεγχος με κλασσικές και μοριακές μεθόδους για την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών, του κατώτερου αναπνευστικού. Όλα τα δείγματα αποστέλλονταν αμέσως στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας όπου ακολουθείτο η περαιτέρω διαδικασία ανίχνευσης παθογόνων μικροοργανισμών (Πίνακας 19).

Πίνακας 19: Συνολικός αριθμός και μέθοδοι επεξεργασίας των δειγμάτων στην παρούσα μελέτη

Υλικά	Αριθμός δειγμάτων	Τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν
Οροί	215	ELISA
Πτύελα	215	Gram χρώση/καλλιέργεια/PCR
Πλευριτικά υγρά	8	Gram χρώση/καλλιέργεια/PCR
Ούρα	215	Αντιγόνο <i>S. pneumoniae</i> / <i>L. pneumophila</i>

1.2. Μεθοδολογία

1.2.1. Πτύελα - Πλευριτικά υγρά

1.2.1.1. Gram χρώση: Έλεγχος καταλληλότητας δείγματος πτυέλων και προσδιορισμός παρουσίας μικροοργανισμών στα πτύελα και πλευριτικά υγρά

Μια σταγόνα από το πυώδες τμήμα των πτυέλων μεταφερόταν πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα, αφηνόταν να στεγνώσει στον αέρα και εν συνεχεία χρωματιζόταν σύμφωνα με τις αρχές χρώσης κατά Gram. Το δείγμα πτυέλων με παρουσία > 25 ουδετεροφίλων και < 10 επιθηλιακών κυττάρων ανά οπτικό πεδίο (x10) αποτελούσε αντιπροσωπευτικό δείγμα πτυέλων προερχόμενο από το κατώτερο αναπνευστικό και γινόταν αποδεκτό ως καλής ποιότητας δείγμα για περαιτέρω έλεγχο. Στη συνέχεια γινόταν έλεγχος σε υψηλής έντασης οπτικό πεδίο (x1000) για την ύπαρξη μορφολογίας παθογόνων μικροοργανισμών του κατώτερου αναπνευστικού.

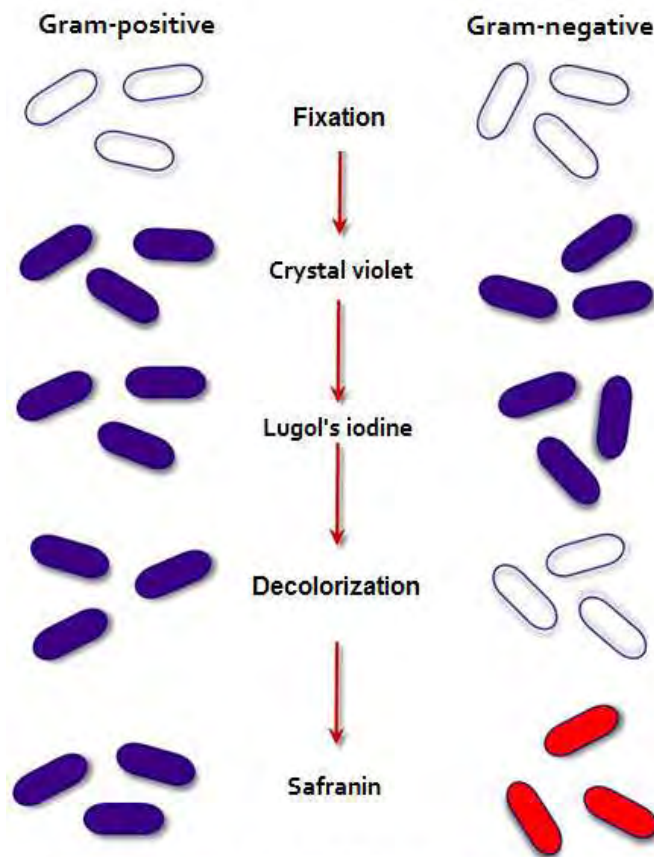
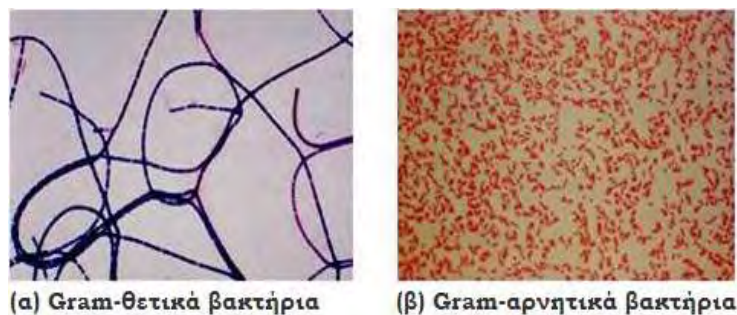
Αρχή της μεθόδου

Η χρώση κατά Gram είναι μια μέθοδος χρώσης η οποία αναπτύχθηκε από το Δανό Gram το 1884. Βοηθεί στην ταυτοποίηση και ταξινόμηση των μικροβίων κατά Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια.

Τα στάδια της χρώσης κατά Gram είναι τα εξής:

- Μια σταγόνα απιονισμένου νερού τοποθετείται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Κύτταρα βακτηρίων ή μέρος του κλινικού δείγματος (πχ πτύελα) μεταφέρονται ασηπτικά με βακτηριολογικό κρίκο και δημιουργείται κατά το δυνατόν ομοιογενές γαλάκτωμα. Στη συνέχεια η σταγόνα εξαπλώνεται στην κεντρική περιοχή της αντικειμενοφόρου πλάκας με τη βοήθεια βακτηριολογικού κρίκου.
- Το παρασκεύασμα προσηλώνεται περνώντας την αντικειμενοφόρο πλάκα πάνω από τη φλόγα λύχνου, χωρίς όμως να υπερθερμανθεί. Θα πρέπει η πλάκα κατά τη διαδικασία της προσήλωσης να είναι ανεκτή όταν τοποθετείται στην εξωτερική όψη του χεριού (όχι στην παλάμη). Η προσήλωση ολοκληρώνεται όταν το παρασκεύασμα στεγνώσει.
- Επί του παρασκευάσματος προστίθενται μερικές σταγόνες κρυσταλλικού ιώδους και η χρωστική επαφίεται να δράσει για 1 min. Το κρυσταλλικό ιώδες χρωματίζει βαθύ κυανό χρώμα όλα ανεξαιρέτως τα βακτηριακά κύτταρα.

- Στη συνέχεια απομακρύνεται η περίσσεια της χρωστικής με νερό και το παρασκεύασμα επεξεργάζεται για 3 min με διάλυμα I₂/KI. Το παρασκεύασμα ξεπλένεται με αλκοόλη (σταγόνα-σταγόνα για 1-3 min) και στη συνέχεια με άφθονο νερό. Στο στάδιο αυτό μερικά μόνο κύτταρα (τα θετικά κατά Gram) διατηρούν το κυανό χρώμα, τα υπόλοιπα αποχρωματίζονται.
- Το παρασκεύασμα καλύπτεται με σαφρανίνη (για 1-2 min) και στη συνέχεια ξεπλένεται η περίσσεια της χρωστικής με νερό.
- Η περίσσεια του νερού απομακρύνεται με απορροφητικό χαρτί, χωρίς αυτό να σύρεται στην επιφάνεια της πλάκας. Ακολουθεί μικροσκοπική παρατήρηση σε μεγέθυνση x10 και στη συνέχεια x1000 (με ελαιοκατάδυση) (Εικόνα 17).



Διαγραμματική απεικόνιση της διαδικασίας χρώσης βακτηρίων

Εικόνα 17: Διαδικασία gram χρώσης.

1.2.1.2. Καλλιέργεια Πτυέλων - Πλευριτικών υγρών: Προσδιορισμός παρουσίας μικροοργανισμών – Αντιβιογράμμα

Μέρος του εναπομείναντος πυώδους τμήματος, των καλής ποιότητας δειγμάτων πτυέλων, καλλιεργείτο με ποσοτική καλλιέργεια σε αιματούχο, σοκολατόχρωμο και McConkey άγαρ και ακολουθούσε επώαση 48 h στους 37°C. Μετά τις 48 h ελεγχόταν η μέτρια ή η μεγάλη ανάπτυξη (10^6 ή 10^5 CFU/ml) γνωστών παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού. Μεμονωμένες αποικίες μικροβίων που θεωρούνταν ως παθογόνα ανακαλλιεργούνταν εκ νέου προκειμένου να γίνει οριστική ταυτοποίηση του μικροοργανισμού (π.χ. με τη χρήση βιοχημικών αντιδράσεων) και καθορισμός της ευαισθησίας του στα διάφορα αντιμικροβιακά φάρμακα (αντιβιογράμμα).

Στην ταυτοποίηση των μικροοργανισμών περιλαμβανόταν αρχικά, η δοκιμασία της κουαγκουλάσης (σε περίπτωση υποψίας *Staphylococcus* spp.), η δοκιμασία της οπτοχίνης σε περίπτωση υποψίας *S. pneumoniae*, η εξάρτηση από τους παράγοντες X, V, XV σε περίπτωση υποψίας *H. influenza* και η δοκιμασία οξειδάσης (υποψία *Pseudomonas* spp.). Στη συνέχεια η ταυτοποίηση των στελεχών ολοκληρωνόταν χρησιμοποιώντας το API NH (*Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis*), API 20E (*Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter*, *Serratia*) και το API Staph (*Staphylococcus* spp.) σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Η ανίχνευση του μικροοργανισμού *Haemophilus Influenza* type b γινόταν με ειδικό αντίσωμα έναντι αντιγόνου με τη χρήση ειδικών αντιωρών. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα δείγματα πλευριτικού υγρού.

Αρχή της μεθόδου

Για την καλλιέργεια των βακτηρίων χρησιμοποιούνται υλικά καλλιέργειας με οργανικά θρεπτικά συστατικά ως πηγή ενέργειας. Πρόκειται για τεχνητά υλικά που περιέχουν θρεπτικές ουσίες και παράγοντες κατάλληλους για την **ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό** των μικροβίων.

Η σπορά στα θρεπτικά υλικά επιτρέπει:

- την απομόνωση του πιθανού αιτίου της λοίμωξης
- την ταυτοποίηση του απομονωθέντος μικροβίου
- τον έλεγχο ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά.

Τα θρεπτικά υλικά διακρίνονται με βάση τη ρευστότητα σε:

Υγρά (χωρίς άγαρ)

Θρεπτικός ζωμός

Θειογλυκολικός ζωμός

Αλκαλικό πεπτονούχο νερό

Ημίρρευστα (άγαρ 0,3-0,5%)

motility άγαρ, Stuart

Στερεά (άγαρ 1,5-2%)

Αιματούχο

Σοκολατόχρωμο

MacConkey άγαρ

Mueller-Hinton άγαρ

Τα θρεπτικά υλικά διακρίνονται με βάση τη σύσταση σε:

- **ΜΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ:** Δεν περιέχουν αναστολείς. Επιτρέπουν την ανάπτυξη των περισσότερων μικροοργανισμών (αιματούχο & σοκολατόχρωμο άγαρ).
- **ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ:** Περιέχουν ανασταλτικές ουσίες. Επιτρέπουν την ανάπτυξη των βακτηρίων εκλεκτικά (MacConkey άγαρ, KVLB άγαρ).
- **ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΤΙΚΑ:** Περιέχουν ουσίες που καταδεικνύουν ιδιότητες των βακτηρίων (MacConkey άγαρ, Chapman).
- **ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΤΙΚΑ:** Περιέχουν ουσίες που καταστέλλουν την ανάπτυξη συγκεκριμένων βακτηρίων και προάγουν την ανάπτυξη άλλων (ζωμός σεληνίτη).
- **ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ:** Περιέχουν συστατικά για επιβίωση μικροβίων για μεγάλο χρονικό διάστημα (Stuart, Amies, Cary-Blair, Skim milk, Brucella broth, Γλυκερόλη).

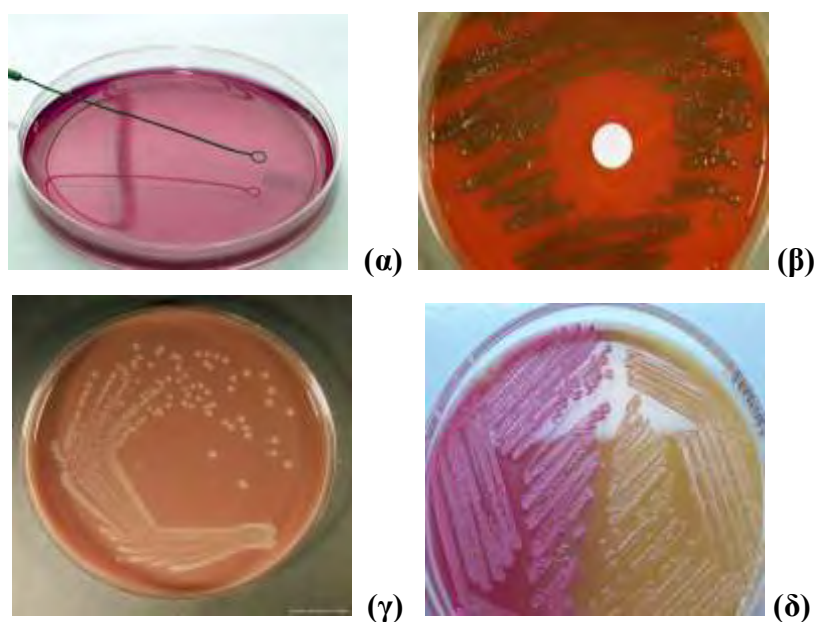
Συνήθη στερεά θρεπτικά υλικά (άγαρ 1,5-2%)

- **Αιματούχο**
- **Σοκολατόχρωμο**
- **MacConkey άγαρ**
- **Mueller-Hinton άγαρ**

Αιματούχο άγαρ: Γενικής χρήσης μη εκλεκτικό θρεπτικό υλικό για σχεδόν όλα τα βακτήρια που μπορούν να αναπτυχθούν στο άγαρ.

Σοκολατόχρουν άγαρ (CHOC) είναι ένα μη εκλεκτικό θρεπτικό άγαρ που περιέχει ερυθρά αιμοσφαίρια τα οποία έχουν λυθεί με θέρμανση στους 56°C. Χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη απαιτητικών μικροβίων όπως του *Haemophilus influenzae*, που για να αναπτυχθεί χρειάζεται παράγοντες, όπως NAD και αιματίνη που περιέχονται μόνο στο εσωτερικό των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

MacConkey άγαρ: είναι ένα εκλεκτικό και διαχωριστικό άγαρ που επιτρέπει την ανάπτυξη των εντεροβακτηριακών (τα διαχωρίζει σε αυτά που ζυμώνουν τη λακτόζη και σε αυτά που δεν ζυμώνουν τη λακτόζη) και των Ψευδομονάδων, αλλά αναστέλλει την ανάπτυξη των gram(+) βακτηρίων (Εικόνα 18).



Εικόνα 18: Συνήθη στερεά θρεπτικά υλικά Αιματούχο (α), Αιματούχο οπτοχίνη (+) *S. pneumoniae* (β), Σοκολατόχρωμο *H. influenzae* (γ), MacConkey άγαρ (Λακτόζη (+), Λακτόζη (-)) (δ).

1.2.1.3. PCR: Ανίχνευση γενετικού υλικού παθογόνων μικροοργανισμών

Από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος (πτυέλων, ούρων, πλευριτικού), 5μl υφίσταντο ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 50 μl. Η αντίδραση περιλάμβανε 5 μl ρυθμιστικού διαλύματος, 100 μM από το κάθε dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 1 pM από κάθε εκκινητή και 0,1U Taq πολυμεράση (Fermentas). Σε κάθε αντίδραση χρησιμοποιούνταν δύο δείγματα με όλα τα υλικά της PCR, εκτός του εκχυλισμένου DNA, ως ελεγκτικά στοιχεία (αρνητικοί μάρτυρες) για πιθανή επιμόλυνση στην αντίδραση. Η αντίδραση επωζόταν σε κατάλληλο πρόγραμμα του κυκλοποιητή (PTC-200 Peltier Cycler, MJ RESEARCH), αναλόγως με τους εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν.

Αρχή της μεθόδου**A. Εξαγωγή DNA**

Από το υπόλοιπο πυώδες τμήμα του δείγματος πτυέλων, από το υπόλοιπο δείγμα πλευριτικού υγρού και από τα δείγματα ούρων (ούρα θετικά για αντιγόνο *Streptococcus pneumoniae* και *Legionella pneumophila*) γινόταν εξαγωγή του DNA, χρησιμοποιώντας εμπορικά αντιδραστήρια (Kit Qiagen). Για την εξαγωγή του DNA στα δείγματα πτυέλων προστίθετο 20 μl πρωτεϊνάσης K (Bioline) σε 200 μl από το δείγμα και αναμειγνύονταν σε σωληνάριο τύπου erpendorf (1,7 ml). Ακολουθούσε σύντομη ανάδευση. Το διάλυμα τοποθετείτο σε υδατόλουτρο για επώαση σε θερμοκρασία 56°C, για 30 min μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση. Ακολουθούσε φυγοκέντρηση για 10 min σε 13000 rpm (μικροφυγόκεντρος 5415R, Eppendorf, Germany). Στη συνέχεια, 100 μl από το σχηματιζόμενο ίζημα τοποθετείτο σε ειδικό μηχάνημα εξαγωγής DNA και ακολουθούσε η εξαγωγή του DNA σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Όσον αφορά στα δείγματα πλευριτικού υγρού και ούρων (ούρα θετικά για αντιγόνο *S.pneumoniae* και *L.pneumophila*) μετά από φυγοκέντρηση στις 13000 rpm για 10 min λαμβανόταν από το σχηματιζόμενο ίζημα 100 μl από τα οποία γινόταν και η εξαγωγή DNA. Το DNA συντηρείτο σε θερμοκρασία -70°C, για την περαιτέρω χρήση του στις μοριακές τεχνικές της μελέτης.

B. PCR

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης είναι μία *in vitro* μέθοδος εκθετικής ενίσχυσης μίας συγκεκριμένης περιοχής DNA. Μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης είναι δυνατό να παραχθούν πολλαπλάσια αντίγραφα μιας επιλεγμένης περιοχής του DNA στόχου. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται πλέον ευρέως και στην ιατρική τόσο για διαγνωστικούς όσο και για ερευνητικούς σκοπούς.

Η μέθοδος στηρίζεται στη χρήση μιας θερμοανθεκτικής DNA πολυμεράσης, η οποία χρησιμοποιώντας μονόκλωνο DNA, ως εκμαγείο, συνθέτει νέο συμπληρωματικό κλώνο. Απαραίτητο για την αντίδραση είναι το αρχικό γενετικό υλικό (δίκλωνο DNA) του στόχου το οποίο θα πρέπει να αποδιαταχθεί σε μονόκλωνες νουκλεοτιδικές αλυσίδες. Επίσης, χρησιμοποιούνται κατάλληλα συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια (εκκινητές – primers), συμπληρωματικά της επιθυμητής ακολουθίας βάσεων. Η όλη διαδικασία γίνεται σε περιβάλλον ρυθμιστικού διαλύματος, [μείγματος 2'-δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPs) και ιόντων $MgCl_2$]. Η αντίδραση, ως θερμοεξαρτώμενη, γίνεται σε ειδικά όργανα, τους θερμοκυκλοποιητές σε τρία στάδια (Εικόνα 19).

1^ο Στάδιο: Αποδιάταξη (Denaturation)

Το δίκλωνο μόριο DNA αποδιατάσσεται σε υψηλή θερμοκρασία (90-95°C). Οι δύο μονόκλωνες νουκλεοτιδικές αλυσίδες που προκύπτουν είναι πλέον προσβάσιμες στους εκκινητές.

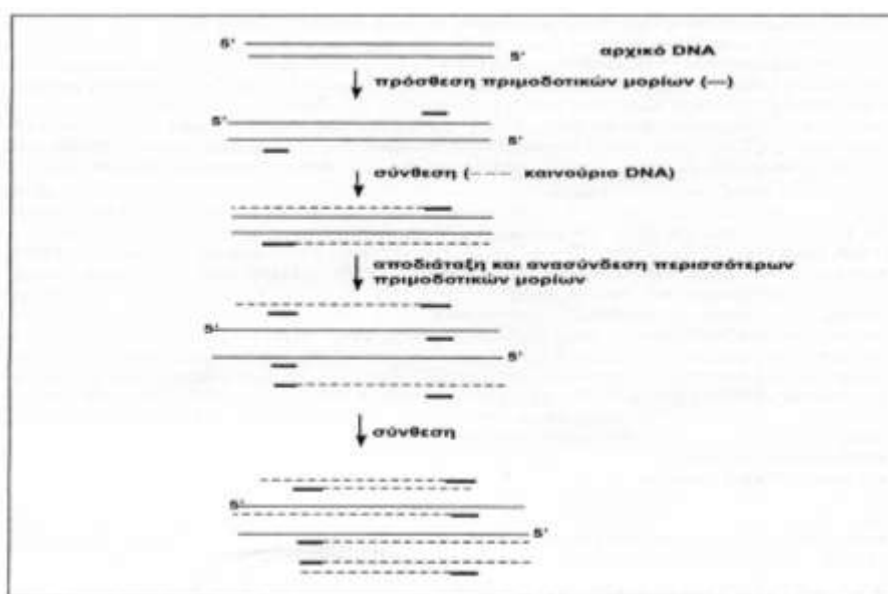
2^ο Στάδιο: Υβριδισμός (Annealing)

Με μείωση της θερμοκρασίας (50-64°C) επιτυγχάνεται η πρόσδεση των εκκινητών στο μονόκλωνο εκμαγείο του DNA μέσω δεσμών υδρογόνου. Δεσμεύεται η DNA πολυμεράση και αρχίζει η σύνθεση τού συμπληρωματικού κλώνου (επιμήκυνση). Η θερμοκρασία επιλογής σε αυτό το στάδιο είναι πολύ κρίσιμη, εξαρτάται από τη σύσταση και το μήκος των εκκινητών και είναι διαφορετική σε κάθε πρωτόκολλο εργασίας.

3^ο Στάδιο: Επιμήκυνση/Πολυμερισμός (Extension/Elongation)

Στο στάδιο αυτό, η DNA πολυμεράση, χρησιμοποιώντας ως εκμαγείο τη μονόκλωνη αλυσίδα και αναγνωρίζοντας την ελεύθερη ομάδα -OH, συνθέτει τη συμπληρωματική αλυσίδα προσθέτοντας νουκλεοτίδια στο 3' άκρο του εκκινητή. Η

θερμοκρασία επιλογής, γι' αυτό το στάδιο, εξαρτάται από τη DNA πολυμεράση που χρησιμοποιείται. Για την Taq πολυμεράση, που συνήθως χρησιμοποιείται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, το βέλτιστο της δράσης της είναι οι 70-74°C, (συνήθως οι 72°C). Η διάρκεια του πολυμερισμού εξαρτάται από το μήκος της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας. Ο κύκλος αυτός επαναλαμβάνεται 30-40 φορές συνήθως και παράγονται 2n μόρια DNA [όπου (n) είναι ο αριθμός των κύκλων]. Στο τέλος των κύκλων, το μείγμα της αντίδρασης παραμένει για 10 min στους 72°C, ώστε να ολοκληρωθεί ο πολυμερισμός σε όλες τις αλυσίδες του DNA.



Εικόνα 19: Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης είναι δυνατό να παραχθούν πολλαπλάσια αντίγραφα μιας επιλεγμένης περιοχής του DNA στόχου.

Στην παρούσα μελέτη, για την ανίχνευση του *Chlamydia pneumoniae*, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της nested-PCR. Στη nested PCR απαιτούνται δύο διαφορετικά ζεύγη εκκινητών σε δύο διαδοχικές αντιδράσεις για την ενίσχυση μιας περιοχής. Το πρώτο ζεύγος εκκινητών ενισχύει την ευρύτερη περιοχή της επιλογής, ενώ το δεύτερο ζεύγος (εσωτερικοί εκκινητές) προσδένεται εσωτερικά του προϊόντος της πρώτης PCR και ενισχύει μικρότερη και πιο συγκεκριμένη περιοχή.

PCR για την ανίχνευση του γονιδίου της B2 σφαιρίνης

Η σωστή εξαγωγή DNA και η απουσία αναστολέων της Taq polymerase ελέγχθηκε σε όλα τα δείγματα με ενίσχυση της περιοχής του γονιδίου της β2-σφαιρίνης. Το γονίδιο αυτό χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο μάρτυρας, καθώς πρόκειται για ένα γονίδιο που περιέχεται σε όλα τα ανθρώπινα κύτταρα.

Συνθήκες αντιδράσεως PCR για ανίχνευση γονιδίου β2 σφαιρίνης

Το μίγμα προ-επωάστηκε για 4 min στους 94°C και ακολούθησαν 35 κύκλοι ενίσχυσης με τις συνθήκες που παρατίθενται ακολούθως: 95°C για 1 min, 58°C για 1 min και 72°C για 1 min. Το προϊόν της PCR αντίδρασης έχει μήκος 280bp.

PCR για ανίχνευση ειδικών γονιδίων των *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus influenzae* τύπου b, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* και *Legionella pneumophila*

Μετά την εξακρίβωση της ύπαρξης βακτηριακού DNA στα δείγματα πτυέλων, εφαρμόστηκε η PCR, χρησιμοποιώντας ζεύγος εκκινητών ειδικών για τους εξής μικροοργανισμούς: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus influenzae* τύπου b, *Mycoplasma pneumoniae*, και *Legionella pneumophila*. Για την ανίχνευση γενετικού υλικού *Chlamydia pneumoniae* χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της nested-PCR για μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα.

*Συνθήκες αντιδράσεως PCR για ανίχνευση των γονιδίων *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, και *Legionella pneumophila**

Χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές *S.pneum-1* και *S.pneum-2*, *H.influ-1* και *H.influ-2*, *M.pneum-1* και *M.pneum-2*, *L.pneum-1* και *L.pneum-2* οι οποίοι περιγράφονται παρακάτω (Πίνακας 20). Οι συνθήκες της ενίσχυσης ήταν οι εξής: 95°C για 1 min, και 35 κύκλοι ενίσχυσης στους 55°C για 40 sec και στους 72°C για 1 min. Το προϊόντα της PCR αντίδρασης είχαν μήκος:

- ✓ ***Streptococcus pneumoniae*** 319bp
- ✓ ***Haemophilus influenzae*** 190bp
- ✓ ***Mycoplasma pneumoniae*** 210bp
- ✓ ***Legionella pneumophila*** 150bp

*Συνθήκες αντιδράσεως PCR για ανίχνευση των γονιδίων *Haemophilus influenzae* type b:*

Χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές *H.influ type b-1* και *H.influ type b-2*. Οι εκκινητές στοχεύουν στο γονίδιο *bex* και σχεδιάστηκαν για τη συγκεκριμένη μελέτη από εμάς. Οι συνθήκες της ενίσχυσης ήταν οι εξής: 95°C για 15 sec και 40 κύκλοι ενίσχυσης στους 50°C για 30 sec και στους 75°C για 30 sec. Το προϊόν της PCR αντίδρασης έχει μήκος περίπου 167 bp.

Συνθήκες αντιδράσεως PCR για ανίχνευση των γονιδίων του Chlamydia pneumoniae

Οι εκκινητές-primers που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση του *Chlamydia pneumoniae* ήταν ειδικοί για μια συγκεκριμένη περιοχή του γονιδίου ompA του *Chlamydia pneumoniae*. Οι συνθήκες της πρώτης ενίσχυσης ήταν οι εξής: 95°C για 4 min, στη συνέχεια 35 κύκλοι ενίσχυσης στους 95°C για 1min, στους 55°C για 1 min και στους 72°C για 1 min και τέλος 5 min στους 72°C. Οι συνθήκες της δεύτερης ενίσχυσης ήταν οι εξής: 95°C για 2 min, στη συνέχεια 30 κύκλοι ενίσχυσης στους 95°C για 1 min, στους 55°C για 1 min και στους 72°C για 1 min και τέλος 5 min στους 72°C. Το προϊόντα της PCR αντίδρασης είχαν μήκος:

- ✓ *Chlamydia pneumoniae single step PCR 1397bp*
- ✓ *Chlamydia pneumoniae nested PCR 858 bp*

Σχεδιασμός των εκκινητών

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν στις PCR αντιδράσεις που περιγράφηκαν ανωτέρω είναι οι ακόλουθοι (Πίνακας 20):

Πίνακας 20: Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη

Εκκινητές	Αλληλουχία 5' → 3'	Μέγεθος προϊόντος αντίδρασης
b2-globulin-1	GAAGAGCCAAGGACAGGTAC	280bp
b2-globulin-2	CAACTTCATCCACGTTACC	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	TTGACATCCTAAGAAGAGCTC	319bp
	TCTCCTTTGAGTTCGCCGACCG	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	GTAATACTTTAGAGGGCGAACG	210bp
	TACTTCTCAGCATAGCTACAC	
<i>H.influ-1 typ b</i>	TAT CAC ACAAATAGCGGTTGG	167bp
<i>H.influ-2 typ b</i>	GGC CAA GAG ATA CTC ATA GAA CGT T	
<i>H influ.-1</i>	TTG ACA TCC TAA GAA GAG CTC	190bp
<i>H influ.-2</i>	TCT CCT TTG AGT TCC CGA CCG	
<i>Legionella pneumonia</i>	ACC GAA CAG CAA ATG AAA GA	150bp
	AAC GCC TGG CTT GTT TTT GT	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Single step PCR</i> ATAATGACTTCGGTTGTTAT	1397bp
	<i>Nested PCR</i> TATAAATAGGTTGAGTCAAC	
	<i>Nested PCR</i> AGTGTAATTAGGCATCTAATAT	858bp
	<i>Nested PCR</i> GCTGTATTTCTACAGTTG	

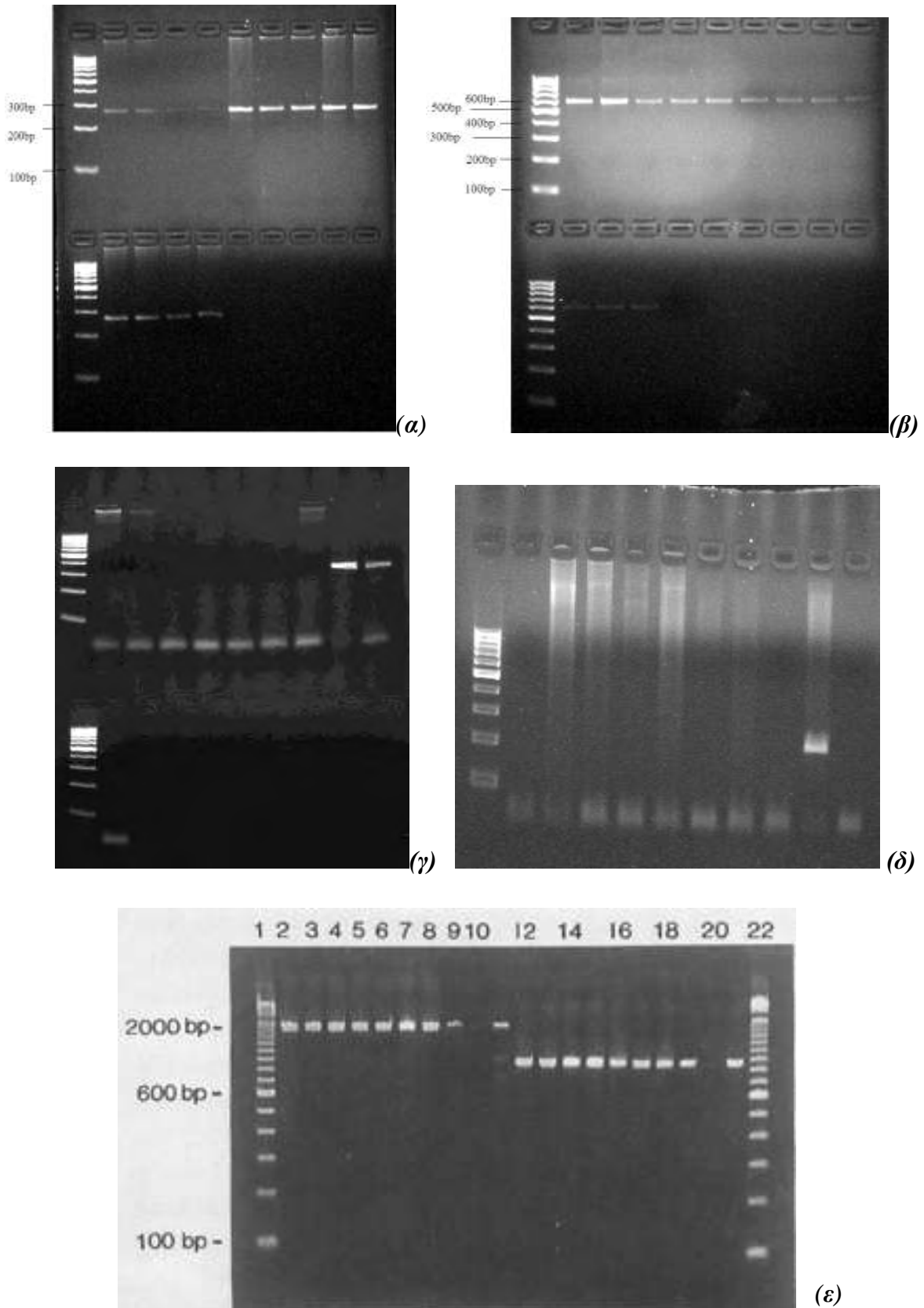
Γ. Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης

Παρασκευή πηκτής αγαρόζης

Όσον αφορά τον τρόπο παρασκευής του πηκτώματος αγαρόζης, ανάλογα με την επιθυμητή πυκνότητα της γέλης, ποσότητα αγαρόζης διαλύεται σε διάλυμα 1xTBE και η αγαρόζη τήκεται με βρασμό σε φούρνο μικροκυμάτων για περίπου 10 min. Το TBE (Ambion) είναι ρυθμιστικό διάλυμα με pH 8,3 το οποίο αποτελείται από 10,8 g/l Tris, 5,5 g/l βορικό οξύ και 0,002M EDTA. Ακολούθως, η αγαρόζη αφήνεται να κρυώσει και προστίθεται βρωμιούχο αιθίδιο, EtBr (Research Organics) σε τελική συγκέντρωση 0,5 µg/ml.

Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης

Το στερεοποιημένο πήκτωμα εμβαπτίζεται σε συσκευή ηλεκτροφόρησης (EC105-LVD Submarine Gel System Classic, Thermo Electron Co) που περιέχει 1xTBE. Το δείγμα DNA που πρόκειται να ηλεκτροφορηθεί, επαναιωρείται σε διάλυμα φόρτωσης (loading buffer, Fermentas) και εφαρμόζεται ηλεκτρική τάση από το τροφοδοτικό (EC105-LVD, Thermo Electron Co). Το διάλυμα φόρτωσης περιέχει 0,25% μπλε της βρωμοφαινόλης, 0,25% κυανό του ξυλενίου και 25% φικόλη. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης οι ζώνες του DNA γίνονται άμεσα ορατές με έκθεση του πηκτώματος σε υπεριώδη (UV) ακτινοβολία (MiniBisPro, Bio-Imaging Systems) (Εικόνα 20).



Εικόνα 20: Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης (α) B2 σφαιρίνη PCR, Προϊόν αντίδρασης 280bp (β) 16SrRNA PCR, Προϊόν αντίδρασης 600bp (γ) *S. pneumoniae* PCR, Προϊόν αντίδρασης 319bp (δ) *Mycoplasma pneumoniae* PCR, Προϊόν αντίδρασης 210bp (ε) *C. pneumoniae*, Προϊόν αντίδρασης 1397bp και 858 bp.

1.2.2. ΟΡΟΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

1.2.2.1. ELISA: Προσδιορισμός ειδικών αντισωμάτων έναντι άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού

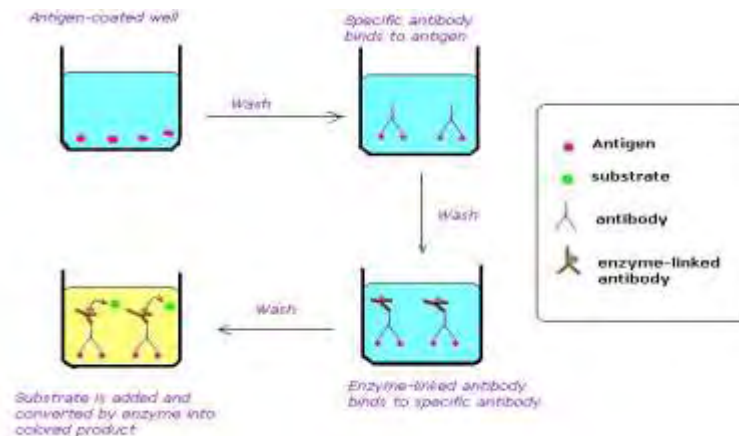
Στους ορούς των 215 ασθενών ελέγχθηκε, με την τεχνική ELISA, η παρουσία ειδικών αντισωμάτων (IgM, IgG και IgA) έναντι των *Mycoplasma pneumoniae* και *Chlamydia pneumoniae* και η παρουσία IgM, και IgG έναντι της *Legionella pneumophila*. Η διαδικασία διεξαγωγής των βημάτων της ELISA, η φασματοφωτομέτρηση και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων έγιναν με βάση τις οδηγίες των κατασκευαστών (Πίνακες 21-29). Θετικό θεωρήθηκε το αποτέλεσμα του δείγματος με τιμή πάνω από την οριακή τιμή (cut off), σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών (Πίνακες 21-29). Για τη διάγνωση των ειδικών αντισωμάτων IgM, IgA, IgG έναντι του *Mycoplasma pneumoniae* χρησιμοποιήθηκε εμπορικό kit της εταιρείας ALPHADIA χρησιμοποιώντας ως επιστρωμένο αντιγόνο στις μικροπλάκες κεκαθαρισμένο αντίγονο του *Mycoplasma pneumoniae*. Για τη διάγνωση των ειδικών αντισωμάτων IgM, IgA, IgG έναντι του *Chlamydia pneumoniae* χρησιμοποιήθηκε εμπορικό kit της εταιρείας savyon diagnostics, Israel με κεκαθαρισμένα στοιχειώδη σωματίδια των *Chlamydia pneumoniae* (TWAR-183). Για τη διάγνωση των ειδικών αντισωμάτων IgM και IgG έναντι της *Legionella pneumophila* χρησιμοποιήθηκε εμπορικό kit της εταιρείας Vircell, με ενσωματωμένο στις μικροπλάκες LPS *Legionella pneumophila* τύπου 1, στέλεχος Philadelphia-1 (ATCC 33152). Όλα τα kit περιλάμβαναν θετικό και αρνητικό μάρτυρα.

Αρχή της μεθόδου

Για την ορολογική διάγνωση των άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική ELISA που βασίζεται στην αντίδραση αντισωμάτων του δείγματος με το αντιγόνο που είναι προσροφημένο στην επιφάνεια της μικροπλάκας πολυστερενίου. Οι ανοσοσφαιρίνες που δεν δεσμεύονται με το αντιγόνο απομακρύνονται με έκπλυση. Η σημασμένη με ένζυμο αντιανθρώπινη σφαιρίνη δεσμεύει το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος σε δεύτερο στάδιο. Μετά από μια νέα έκπλυση, το δεσμευμένο σύζευγμα (conjugate) γίνεται ορατό με τη βοήθεια ενός διαλύματος υποστρώματος (TMB), δίνοντας ένα κυανού χρώματος διαλυτό προϊόν, το οποίο γίνεται κίτρινο με την προσθήκη του όξινου διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης (stop

reagent) (Εικόνα 21). Στη συνέχεια ακολουθεί φασματοφωτομέτρηση των μικροπλακών ELISA με φίλτρα απορρόφησης, σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών.

Η απορρόφηση του φωτός που καταγράφεται, είναι ανάλογη της ποσότητας των ειδικών αντισωμάτων που έχουν δεσμευθεί στα επιστρωμένα αντιγόνα και είχαν δεσμεύσει τη συζευγμένη με ένζυμο αντι-ανθρώπειο σφαιρίνη. Θετικό θεωρείται το αποτέλεσμα του δείγματος με τιμή πάνω από την οριακή τιμή (cut off), σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών.



(β)

Εικόνα 21: Τεχνική ELISA. Βήματα ELISA (α). Μικροπλάκα ELISA (β).

Πίνακας 21: Όρια οπτικών πυκνοτήτων (O.D) ορών ελέγχου για τη διάγνωση λοίμωξης από *Mycoplasma pneumoniae* (IgM, IgA, IgG) (450/620nm)

Controls and performance controls	Expected range
Control -	O.D. < 0,100
Cut off	O.D. > 0,200
Control +	Ratio = pos. contr./cutoff ≥ 1,5

Πίνακας 22: Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (IgM, IgA, IgG *Mycoplasma pneumoniae*) με βάση την οπτική πυκνότητα (O.D) των εξεταζόμενων δειγμάτων

Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
Αρνητικό -	O.D. value sample < *Cut-off value -10%
Αμφίβολο	O.D. value sample \geq Cut-off value -10% O.D. value sample \leq Cut-off value +10%
Θετικό +	O.D. value sample > Cut-off value +10%

*Cut-off value = O.D. αρνητικού ορού ελέγχου + O.D. ορού ελέγχου οριακής τιμής (Cut-off Control)

Πίνακας 23: Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό αντισωμάτων IgG, IgA και IgM για τη διάγνωση λοίμωξης από *Mycoplasma pneumoniae*

IgG	IgM/IgA	Ερμηνεία
-	-	Μη ανιχνεύσιμα ειδικά αντισώματα
+	-	Πιθανή παρελθούσα λοίμωξη
-	+	Πιθανό πρώτο στάδιο μιας πρωτογενούς λοίμωξης
+	+	Πιθανή οξεία λοίμωξη, πιθανή επαναλοίμωξη
+	-	Πιθανή επαναλοίμωξη
	+	

Πίνακας 24: Όρια οπτικών πυκνοτήτων (O.D) ορών ελέγχου για τη διάγνωση λοίμωξης *Legionella pneumophila* (IgM, IgG) (450/620nm)

Έλεγχος	Οπτική πυκνότητα (O.D.)
Θετικός ορός ελέγχου	> 0,9
Αρνητικός ορός ελέγχου	< 0,55
Ορός ελέγχου οριακής τιμής	< 0,7 x (O.D. Θετικού ορού ελέγχου) > 1,5 x (O.D. Αρνητικού ορού ελέγχου)

Πίνακας 25: Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (IgM, IgG *Legionella pneumophila* (serogroup 1) με βάση την οπτική πυκνότητα (O.D) των εξεταζόμενων δειγμάτων

Δείκτης Ab*	Ερμηνεία
< 9	Αρνητικό
9-11	Αμφίβολο
>11	Θετικό

*Δείκτης αντισωμάτων = (O.D. δείγματος/ O.D. ορού ελέγχου οριακής τιμής) x 10.

Πίνακας 26: Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό αντισωμάτων IgG, και IgM για τη διάγνωση λοίμωξης από *Legionella pneumophila*

IgG	IgM	Ερμηνεία
-	-	Μη ανιχνεύσιμα ειδικά αντισώματα
+	-	Πιθανή παρελθούσα λοίμωξη
-	+	Πιθανή πρωτογενής λοίμωξη

Πίνακας 27: Όρια οπτικών πυκνοτήτων (O.D) ορών ελέγχου για τη διάγνωση λοίμωξης *Chlamydia pneumoniae* (IgM, IgG, IgA) (450nm)

Έλεγχος	Οπτική πυκνότητα (O.D.)
Θετικός ορός ελέγχου	$\geq 0,8$
Αρνητικός ορός ελέγχου (NC)	$> 0,1$ και $\leq 0,4$

Πίνακας 28: Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (IgM, IgG, IgA *Chlamydia pneumoniae* με βάση την οπτική πυκνότητα (O.D) των εξεταζόμενων δειγμάτων

Απορρόφηση 450nm	COI*	Αποτελέσματα	Διαγνωστική ερμηνεία
O.D. < COV**	<1,0	Αρνητικό Δεν είναι ανιχνεύσιμα αντισώματα	Καμία ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης από <i>C. pneumoniae</i>
$COV \leq O.D. \leq 1,1 \times COV$	1-1,1	Οριακό Χαμηλό επίπεδο αντισωμάτων	Ένδειξη πιθανής έκθεσης στα <i>C. pneumoniae</i> .
O.D. > 1,1xCOV	>1,1	Θετικό επίπεδο αντισωμάτων	Ένδειξη τρέχουσας ή παρελθούσας λοίμωξης από τα <i>C. pneumoniae</i>

*COI = Απορρόφηση δείγματος ορού στα 450nm / COV

**COV = NC x 2

Πίνακας 29: Ερμηνεία των αποτελεσμάτων με βάση το συνδυασμό αντισωμάτων IgM, IgG, IgA και για τη διάγνωση λοίμωξης από *Chlamydia pneumoniae*

Επίπεδα αντισωμάτων έναντι των <i>C. Pneumoniae</i>			Ερμηνεία των αποτελεσμάτων
IgM	IgG	IgA	
Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Καμία ένδειξη μόλυνσης από <i>C.pneumoniae</i>
Θετικό	Αρνητικό ή Θετικό	Αρνητικό ή Θετικό	Ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης (πιθανόν πρωτογενής)
Αρνητικό	Θετικό ή Αρνητικό	Θετικό	Ένδειξη τρέχουσας, χρόνιας λοίμωξης ή επαναλοίμωξης

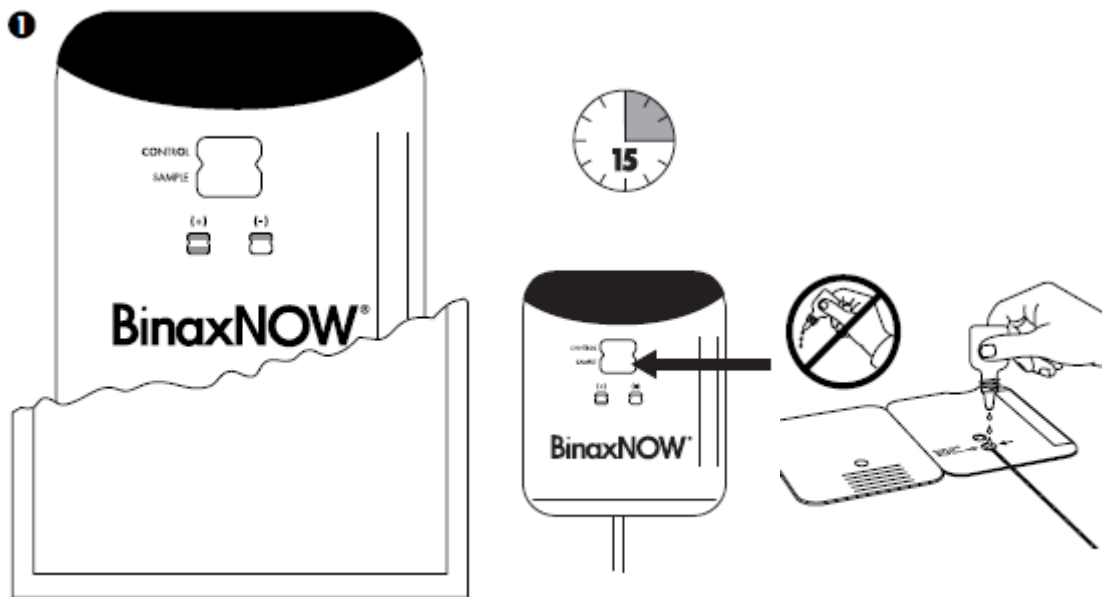
1.2.3. ΟΥΡΑ***1.2.3.1. Ag Streptococcus pneumoniae και Legionella pneumophila: Έλεγχος αντιγόνου Streptococcus pneumonia και Legionella pneumophila σε δείγματα ούρων***

Από τους 215 ασθενείς, λήφθηκε και δείγμα ούρων στο οποίο ελέγχθηκε η παρουσία του αντιγόνου των *Streptococcus pneumoniae* και *Legionella pneumophila* με ειδικό εμπορικό κιτ (BINAX NOW), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Αρχή της μεθόδου

Το τεστ για τον *S. pneumoniae* και την *L. pneumophila* είναι ένας προσδιορισμός ανοσοχρωματογραφικής μεμβράνης που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό του διαλυτού πνευμονιοκοκκικού αντιγόνου και διαλυτού αντιγόνου ορολογικής ομάδας 1 της λεγιωνέλλας στα ανθρώπινα ούρα. Το αντίσωμα αντι-στρεπτοκόκκου πνευμονίας και το αντίσωμα ορολογικής ομάδας 1 *Legionella pneumophila*, η γραμμή του ασθενούς, απορροφάται σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης. Το αντίσωμα μάρτυρα (IgG *Legionella pneumophila* αντι-κουνελιού-κατσίκας, αντι-στρεπτόκοκκου κουνελιού) απορροφάται στην ίδια μεμβράνη ως δεύτερη λωρίδα. Αμφότερα τα αντισώματα αντι-στρεπτόκοκκου, αντι-λεγιωνέλλας και αντι-είδους κουνελιού-κατσίκας είναι συζευγμένα σε σωματίδια απεικόνισης που αποξηραίνονται σε μια αδρανή ινώδη υποστήριξη. Το παράβλημα σύζευξης που προκύπτει και η μεμβράνη με τις λωρίδες, συνδυάζονται για τη δημιουργία της ταινίας του τεστ. Αυτή η ταινία του τεστ και μια μικροκοιλότητα για τη συγκράτηση του μάκτρου λάρυγγα, είναι προσαρμοσμένα σε αντικριστές πλευρές σε συσκευή τεστ σχήματος βιβλίου. Για την πραγματοποίηση του τεστ γίνεται εμβύθιση ενός μάκτρου στο δείγμα, αφαιρείται και κατόπιν εισάγεται στη συσκευή τεστ. Προστίθεται αντιδραστήριο που είναι ρυθμιστικό διάλυμα. Κατόπιν η συσκευή κλείνεται, φέρνοντας το δείγμα σε επαφή με την ταινία του τεστ. Αντιγόνο πνευμονιόκοκκου και λεγιωνέλλας που είναι παρόν στο δείγμα αντιδρά για το σχηματισμό συζευγμένου αντισώματος. Οι συνθέσεις αντιγόνου-σύζευξης που προκύπτουν συλλαμβάνονται από το ακινητοποιημένο αντίσωμα, σχηματίζοντας τη γραμμή δείγματος. Το ακινητοποιημένο αντίσωμα μάρτυρα συλλαμβάνει τη σύζευξη αντι-είδους, σχηματίζοντας τη γραμμή ελέγχου. Τα αποτελέσματα του τεστ ερμηνεύονται από την παρουσία ή απουσία οπτικά εντοπίσιμων ροζ με μοβ γραμμών. Ένα θετικό αποτέλεσμα θα περιλαμβάνει τον εντοπισμό αμφοτέρων των γραμμών ασθενούς και μάρτυρα. Εάν δεν εμφανιστεί η γραμμή μάρτυρα,

είτε έχει εμφανιστεί η γραμμή ασθενούς είτε όχι, αυτό καθορίζει άκυρο το αποτέλεσμα (Εικόνα 22).



Εικόνα 22: Κιτ για την ανίχνευση αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα.

1.3. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΙΓΟΥΡΗΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

Η αιτιολογία της πνευμονίας της κοινότητας ήταν **σίγουρη** όταν ίσχυε ένα από τα ακόλουθα κριτήρια : 1. στην καλλιέργεια πτυέλων αναπτυσσόταν σε μέτρια ή μεγάλη ανάπτυξη (10^6 ή 10^5 CFU/ml) γνωστό παθογόνο βακτήριο του κατώτερου αναπνευστικού (απουσίας γνωστών εξωπνευμονικών εντοπίσεων λοίμωξης) 2. στην καλλιέργεια πλευριτικού υγρού αναπτυσσόταν σε οποιαδήποτε συγκέντρωση παθογόνο βακτήριο του κατώτερου αναπνευστικού (απουσίας γνωστών εξωπνευμονικών εντοπίσεων λοίμωξης) 3. τίτλος IgM έναντι *Chlamydia pneumoniae* ($\geq 1:32$), *Mycoplasma pneumoniae* (οποιοσδήποτε θετικός τίτλος) και *Legionella pneumophila* ορότυπος 1 ($\geq 1:128$), 4. Ανίχνευση γενετικού υλικού παθογόνου βακτηρίου στα δείγματα DNA πτυέλων ή στα δείγματα πλευριτικού υγρού με την PCR, ανάλογο του εκκινητή που χρησιμοποιήθηκε και 5. Θετικό αντιγόνο *Legionella pneumophila* ορότυπος 1 και *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα των ασθενών.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1. Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης

Στον πίνακα 30 παρατίθενται τα χαρακτηριστικά πληθυσμού όπως το φύλο, η ηλικία, τα συνυπάρχοντα νοσήματα, βασική κλινική εικόνα, βασικά εργαστηριακά ευρήματα και ακτινολογικά ευρήματα στην ακτινογραφία θώρακος.

2.2. Δείγματα προς μελέτη - Μικροβιολογική διερεύνηση

Από 215 ασθενείς, με τη διάγνωση Πνευμονία της Κοινότητας μελετήθηκαν τα εξής δείγματα (Πίνακας 30).

- 215 δείγματα πτυέλων και 8 δείγματα πλευριτικού υγρού με κλασσικές (gram χρώση, καλλιέργειες) και μοριακές (PCR) μικροβιολογικές μεθόδους για την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών, του κατώτερου αναπνευστικού.
- 215 δείγματα ορού αίματος για την ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων IgM, IgG, IgA και IgM, IgG έναντι των μικροοργανισμών *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* και *Legionella pneumophila* αντιστοίχως.
- 215 δείγματα ούρων για την παρουσία αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila* (BINAX). Στα θετικά δείγματα γινόταν περαιτέρω έλεγχος με μοριακές μεθόδους (PCR) για την παρουσία γενετικού υλικού των πιο πάνω μικροοργανισμών.

Πίνακας 30: Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης

Χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης	
Φύλο	ΑΡΡΕΝ: 152 (70,7%) ΘΗΛΥ: 63 (29,3%)
Ηλικία	18 – 45: 10 (4,7%) 45 – 65: 70 (32,5%) > 65: 135 (62,8%)
Συνυπάρχοντα νοσήματα	Αναπνευστικό: 81 (37,7%) ΧΑΠ: 56 (26%) Βρογχεκτασίες: 7 (3,3%) Άσθμα: 18 (8,4%) Καρδιαγγειακό: 70 (32,6%) Υπέρταση: 52 (24,2%) Καρδιακή ανεπάρκεια : 18 (8,4%) Σακχαρώδης διαβήτης: 22 (10,2%) Άλλα: 6 (2,8%) Alzheimer: 1 (0,5%) Αυτοάνοσα: 2 (0,9%) Καρκίνος: 2 (0,9%) Γυναικολογικά: 1 (0,5%) Σύνολο: 179 (83,3%) Συνυπάρχον νόσημα > 1 σύστημα: 10 (4,7%)
Κλινική εικόνα	Πυρετός: 200 Βήχας: 120 (πυώδη απόχρεμψη 95) Δύσπνοια: 40 Πλευριτικός πόνος: 35 Άλλα: 197 Κεφαλαλγία/αρθραλγίες/μυαλγίες
Εργαστηριακά ευρήματα	WBC >1200: 130 CRP Θετική: 127 ΤΚΕ > 20mm/h 115 Ht <30% 22
Ακτινογραφία θώρακος	Κυψελδικές διηθήσεις (Αμφω): 135 (62,8%) (32 (15%)) Λοβώδης πύκνωση: 55 (25,6%) > 1 λοβοί: 3 (1,4%) Πλευριτική συλλογή: 19 (8,8%) Ατελεκτασία: 3 (1,4%)

Πίνακας 31: Συνολικός αριθμός και μέθοδοι επεξεργασίας των δειγμάτων στην παρούσα μελέτη

Υλικά	Αριθμός δειγμάτων	Τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν
Πτύελα	215	Gram χρώση / καλλιέργεια/PCR
Πλευριτικά υγρά	8	Gram χρώση / καλλιέργεια/PCR
Οροί	215	ELISA
Ούρα	215	Αντιγόνο <i>S. pneumoniae</i> / <i>L. pneumophila</i>

2.2.1. Πτύελα - Πλευριτικά υγρά**2.2.1.1. Gram χρώση**

Με την Gram χρώση ελέγχθηκε:

A. η ποιότητα των δειγμάτων πτυέλων. Από τους 215 ασθενείς που χορήγησαν καλής ποιότητας δείγματα πτυέλων οι 142 (66%) χορήγησαν καλής ποιότητας δείγμα πτυέλων την πρώτη φορά ενώ 62 (28,8%) ασθενείς χορήγησαν τη δεύτερη φορά καλής ποιότητας δείγμα πτυέλων λόγω ακαταλληλότητας του πρώτου δείγματος. 11 (5,1%) ασθενείς προσκόμισαν και δεύτερη φορά ακατάλληλο δείγμα οπότε και λήφθηκε τρίτη φορά καλής ποιότητας δείγμα πτυέλων.

B. η παρουσία μορφολογίας παθογόνων μικροοργανισμών του κατώτερου αναπνευστικού στα δείγματα πτυέλων και πλευριτικού υγρού. 88 (41%) καλής ποιότητας δείγματα πτυέλων και 4 (50%) δείγματα πλευριτικού υγρού είχαν στην Gram χρώση παρουσία βακτηρίων μορφολογίας παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού (Gram (+) διπλόκοκκοι, Gram (-) βακτηρίδια, Gram (-) κοκκοβακτηρίδια). 56 (26%) δείγματα πτυέλων είχαν στην Gram χρώση παρουσία πολύμορφης γλωρίδας και 71 (33%) χωρίς παρουσία μορφολογίας βακτηρίων. Στον Πίνακα 32 αναφέρονται τα ευρήματα στην Gram χρώση πτυέλων και πλευριτικού υγρού καθώς και οι μικροοργανισμοί που τελικά ανιχνεύθηκαν στις υπόλοιπες διαγνωστικές μεθόδους που έγιναν.

Πίνακας 32: Μορφολογία παθογόνου μικροοργανισμού στην gram χρώση πτυέλων και πλευριτικού υγρού και μικροοργανισμοί που ανιχνεύθηκαν στις καλλιέργειες την PCR και τις ορολογικές μεθόδους

Μορφολογία Gram χρώσης	Αρ. Δειγμάτων Gram χρώσης	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Legionella pneumophilla</i>	<i>GNEB + Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Δείγματα πτυέλων</i>							
Gram (+) Κόκκοι	10	2	2	-	-	-	-
Gram (+) Διπλόκοκκοι	27	15	3	-	-	-	-
Gram (-) Βακτηρίδια	15	-	3	-	-	-	12
Gram (-) Κοκκοβακτηρίδια	20	-	9	-	-	-	2
Gram (-) Κόκκοι/ Διπλόκοκκοι	16	-	3	-	-	1	1
Πολύμορφη χλωρίδα	56	5	10	3	6	-	3
Χωρίς παρουσία Μικροοργανισμού	71	1	8	8	6	2	1
ΣΥΝΟΛΟ	215	23	38	11	12	3	19
<i>Δείγματα πλευριτικού υγρού</i>							
Gram (+) Διπλόκοκκοι	1	1					
Gram (-) Κοκκοβακτηρίδια							
Πολύμορφη χλωρίδα							
Χωρίς παρουσία Μικροοργανισμού	7		1				
ΣΥΝΟΛΟ	8	1	1				

Γ. Ευαισθησία και ειδικότητα της Gram χρώσης στη διάγνωση αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας. Με βάση τα ευρήματα του Πίνακα 32 υπολογίστηκε η ευαισθησία και ειδικότητα της Gram χρώσης στην διάγνωση του *Streptococcus pneumoniae*, του *Haemophilus influenzae* και των Gram (-) βακτηριδίων. Όπως φαίνεται από τους πίνακες 33 και 34 η ειδικότητα της gram χρώσης για τη διάγνωση του *Streptococcus pneumoniae* και του *Haemophilus influenzae* ήταν υψηλή (93,8% και 87% αντίστοιχα) ενώ η ευαισθησία της και για τους ίδιους τους μικροοργανισμούς ήταν χαμηλή (65,2% και 31,6% αντίστοιχα). Όσον αφορά στη διάγνωση Gram (-) βακτηρίων η Gram χρώση είχε ικανοποιητική ευαισθησία (73,7%) και ειδικότητα (89,3%) (Πίνακας 35).

1. STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Πίνακας 33: Ευαισθησία και ειδικότητα της Gram χρώσης στη διάγνωση της λοίμωξης από *Streptococcus pneumoniae*

Gram χρώση/ Gram (+) διπλόκοκκοι	<i>S. pneumoniae</i>	
	Θετικά	Αρνητικά
Θετικά	15	12
Αρνητικά	8	180

ευαισθησία 65,2%, ειδικότητα 93,8%

2. HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Πίνακας 34: Ευαισθησία και ειδικότητα της Gram χρώσης στη διάγνωση της λοίμωξης από *Haemophilus Influenzae*

Gram χρώση/ Gram (-) κοκκοβακτηρίδιο Gram(-) βακτηρίδια	<i>H. Influenzae</i>	
	Θετικά	Αρνητικά
Θετικά	12	23
Αρνητικά	26	154

ευαισθησία 31,6%, ειδικότητα 87%

3. GRAM(-)**Πίνακας 35:** Ευαισθησία και ειδικότητα της Gram χρώσης στη διάγνωση της λοίμωξης από *Gram (-)* (*CNEB+Ps.aeruginosa*)

Gram χρώση/ Gram (-) κοκκοβακτηρίδιο Gram(-) βακτηρίδια	GRAM(-)	
	Θετικά	Αρνητικά
Θετικά	14	21
Αρνητικά	5	175

ευαισθησία 73,7%, ειδικότητα 89,3%

2.2.1.2. Καλλιέργεια

Στις καλλιέργειες πτυέλων στα συνήθη θρεπτικά υλικά (αιματούχο άγαρ, σοκολατόχρουν άγαρ, McConkey άγαρ) απομονώθηκαν 52 (24,2%) παθογόνοι μικροοργανισμοί σε 52 (24,2%) ασθενείς. Σε κανένα από τους 52 ασθενείς δεν απομονώθηκαν 2 μικροοργανισμοί. Η συχνότητα και το είδος των μικροοργανισμών που απομονώθηκαν στις καλλιέργειες πτυέλων ήταν:

- 21 (9,8%) *Streptococcus pneumoniae*
- 10 (4,7%) *Haemophilus influenzae type b*
- 2 (0,9%) *Haemophilus influenzae nontype b*
- 11 (5,1%) GNEB (5 *Acinetobacter baumannii*, 4 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Serratia marcescens*)
- 8 (3,7%) *Pseudomonas aeruginosa*

Στις καλλιέργειες πλευριτικού υγρού στα συνήθη θρεπτικά υλικά απομονώθηκαν 2 (25%) παθογόνοι μικροοργανισμοί σε 2 ασθενείς. Συγκεκριμένα στις καλλιέργειες πλευριτικού υγρού αναπτύχθηκαν:

- 1 *Haemophilus influenzae type-b*
- 1 *Streptococcus pneumoniae* (Πίνακας 36).

Οι 6 ασθενείς που είχαν αρνητικές τις καλλιέργειες πλευριτικού υγρού είχαν επίσης αρνητικές και τις καλλιέργειες πτυέλων, ενώ στους 2 ασθενείς που ανιχνεύθηκαν οι πιο πάνω μικροοργανισμοί, ανιχνεύθηκαν οι ίδιοι μικροοργανισμοί και στις καλλιέργειες πτυέλων τους.

2.2.1.3. Μοριακές μέθοδοι (PCR, nested-PCR)

1. PCR για την ανίχνευση του γονιδίου της B2-σφαιρίνης

Τα 215 (100%) δείγματα πτυέλων και τα 8 (100%) δείγματα πλευριτικού υγρού ήταν θετικά για την παρουσία του γονιδίου της B2-σφαιρίνης, επιβεβαιώνοντας τη σωστή εξαγωγή του DNA και την απουσία ύπαρξης αναστολέων της Taq πολυμεράσης.

2. PCR για ανίχνευση ειδικών γονιδίων των *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus influenzae* τύπου b, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* και *Legionella pneumophila*

Μετά την εφαρμογή της PCR στα δείγματα DNA πτυέλων, χρησιμοποιώντας τους πιο πάνω αναφερόμενους εκκινητές, ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό 72 (33,5%) παθογόνων μικροοργανισμών σε 72 ασθενείς (33,5%). Η συχνότητα και το είδος των μικροοργανισμών των οποίων ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό με την PCR ήταν:

- 23 (10,7%) *Streptococcus pneumoniae*,
- 10 (4,7%) *Haemophilus influenzae* type-b
- 28 (13%) *Haemophilus influenzae* non-type-b ,
- 5 (2,3%) *Mycoplasma pneumoniae*,
- 5 (2,3%) *Chlamydia pneumoniae*
- 1 (0,5%) *Legionella pneumophila*

Η εφαρμογή της PCR στα δείγματα DNA πλευριτικού υγρού ανίχνευσε γενετικό υλικό 2 παθογόνων μικροοργανισμών σε 2 από τους 3 ασθενείς με θετική την 16SrRNA PCR. Συγκεκριμένα ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό:

- 1 *Haemophilus influenzae* type b σε 1 ασθενή και
- 1 *Streptococcus pneumoniae* σε 1 ασθενή (Πίνακας 36).

Οι 6 ασθενείς που είχαν αρνητική την PCR για παρουσία DNA παθογόνου μικροοργανισμού στο πλευριτικό υγρό είχαν επίσης αρνητική την PCR στα δείγματα DNA πτυέλων. Οι ίδιοι ασθενείς είχαν αρνητικές και τις καλλιέργειες πτυέλων.

Με την PCR επιβεβαιώθηκε η λοίμωξη από *Haemophilus influenzae* στους 12 ασθενείς, (10 *Haemophilus influenzae* type b και 2 *Haemophilus influenzae* non type b)

που αναπτύχθηκε και στις καλλιέργειες πτυέλων τους, καθώς και η λοίμωξη από *Streptococcus pneumoniae* στους 21 ασθενείς που επίσης αναπτύχθηκε και στις καλλιέργειες πτυέλων τους (Πίνακας 36).

Προστέθηκαν όμως ακόμη 39 μικροοργανισμοί σε 39 (18,1%) ασθενείς που δεν αναπτύχθηκαν στις καλλιέργειες πτυέλων τους στα συνήθη καλλιεργητικά μέσα. Έτσι σε 39 (18,1%) ασθενείς των οποίων η καλλιέργεια πτυέλων ανέδειξε φυσιολογική χλωρίδα, η εφαρμογή της PCR ανέδειξε παθογόνο μικροοργανισμό.

Η συχνότητα και το είδος των μικροοργανισμών, γενετικό υλικό των οποίων ανιχνεύθηκε με την PCR, αλλά δεν αναπτύχθηκαν στα συνήθη καλλιεργητικά μέσα ήταν:

- 26 *Haemophilus influenzae non type b*,
- 2 *Streptococcus pneumoniae*,
- 5 *Mycoplasma pneumoniae*,
- 5 *Chlamydia pneumoniae* και
- 1 *Legionella pneumophila*

Η εφαρμογή της PCR στα δείγματα DNA πτυέλων, σε συνδυασμό με την καλλιέργεια πτυέλων ανέδειξε παθογόνο μικροοργανισμό σε 91 (42,3%) ασθενείς σε σχέση με 52 (24,1%) ασθενείς με τη χρήση μόνο καλλιέργειας (Πίνακας 40).

Η εφαρμογή της PCR στα δείγματα DNA πλευριτικού υγρού, ανίχνευσε γενετικό υλικό *Haemophilus influenzae type-b* σε 1 ασθενή και γενετικό υλικό *Streptococcus pneumoniae* σε ακόμη 1 ασθενή. Στον ασθενή που ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό *Haemophilus influenzae type-b* στο πλευριτικό υγρό, ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό του ίδιου μικροοργανισμού και με τη PCR στο δείγμα DNA πτυέλων. Στον ίδιο ασθενή απομονώθηκε ο *Haemophilus influenzae type-b* στην καλλιέργεια πλευριτικού υγρού και στην καλλιέργεια πτυέλων. Στον ασθενή που ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό *Streptococcus pneumoniae* στο πλευριτικό υγρό, εκτός από την ανάπτυξη του ίδιου μικροοργανισμού στην καλλιέργεια πτυέλων και στην καλλιέργεια πλευριτικού υγρού, ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό του μικροοργανισμού στο δείγμα πτυέλων καθώς και αντιγόνο του ίδιου μικροοργανισμού στα ούρα (Πίνακας 36).

Πίνακας 36: Ταυτοποίηση των μικροοργανισμών με την καλλιέργεια, την PCR, Ag *S. pneumoniae* και *L. pneumophila* στα ούρα και ορολογικές μεθόδους

Ταυτοποιηθέντες μικροοργανισμοί	Αριθμός ασθενών	Μέσος όρος ηλικίας	ΦΥΛΟ Α/Θ	Διαγνωστικές μέθοδοι			
				Καλλιέργεια	AD	ELISA IgM	PCR
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	23			21	23		23
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	10			10			10
<i>Haemophilus influenzae</i> non typeable	28			2			28
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8			8			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4			4			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5			5			
<i>Serratia marcescens</i>	2			2			
Σύνολο τυπικών παθογόνων	80	58,2	58/22	52	23		61
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	11					11	5
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	12					12	5
<i>Legionella pneumophila</i>	3					3	1
Σύνολο άτυπων παθογόνων	26	37,8	17/9			26	11
ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟ ΥΓΡΟ							
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1			1	1		1
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	1			1			1
Σύνολο	2			2	1		2

AD Ag *S. pneumoniae* και *L. pneumophila* στα ούρα

2.2.2. Ορός αίματος

2.2.2.1. Ορολογικός έλεγχος παρουσίας ειδικών αντισωμάτων έναντι των *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* και *Legionella pneumophila*

Λόγω αδυναμίας λήψης δευτέρου δείγματος ορού αίματος για εκτίμηση τετραπλασιασμού του τίτλου των IgG αντισωμάτων, ως σίγουρη διάγνωση, των μικροοργανισμών που εκτιμήθηκαν ορολογικά, θεωρήθηκε η ύπαρξη παρουσίας θετικού τίτλου μόνο των IgM αντισωμάτων. Παρόλα αυτά, σε όλα τα δείγματα ορού υπολογίσθηκαν οι τίτλοι των IgM, IgG, IgA αντισωμάτων τα αποτελέσματα των οποίων παρατίθενται στον Πίνακα 38. Έτσι σύμφωνα με τα διαγνωστικά κριτήρια για σίγουρη ορολογική διάγνωση είχαμε τα πιο κάτω αποτελέσματα.

1. *Mycoplasma pneumoniae*

Ορολογική ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης (IgM), είχαν 11 (5,1%) ασθενείς. Ορολογική ένδειξη παρελθούσας λοίμωξης (IgG) είχαν 40 (18,6%) ασθενείς. (Πίνακας 37).

2. *Chlamydia pneumoniae*

Ορολογική ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης (πρωτογενής (IgM), είχαν 12 (5,6%) ασθενείς. Ορολογική ένδειξη παρελθούσας λοίμωξης (IgG) είχαν 37 (17,2%) ασθενείς (Πίνακας 37).

3. *Legionella pneumophila*

Ορολογική ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης (IgM) είχαν 3 (1,4%) ασθενείς και ορολογική ένδειξη παρελθούσας λοίμωξης (IgG) είχαν 4 (1,9%) ασθενείς (Πίνακας 37).

Η διάγνωση της λοίμωξης από *Mycoplasma pneumoniae* τέθηκε σε 11 ασθενείς, χρησιμοποιώντας ορολογικές και μοριακές μεθόδους. Απο τους 11 ασθενείς μόνο οι 5 είχαν θετική και την PCR για τον μικροοργανισμό.

Η διάγνωση της λοίμωξης από *Legionella pneumophila* τέθηκε σε 3 ασθενείς χρησιμοποιώντας ορολογικές και μοριακές μεθόδους. Μόνο 1 από τους 3 ασθενείς με ορολογική ένδειξη τρέχουσας λοίμωξης από *Legionella pneumophila* είχε θετική την PCR. Ο ίδιος ασθενής είχε θετική και τη δοκιμασία ελέγχου του αντιγόνου της *Legionella pneumophila* στα ούρα. Οι υπόλοιποι 2 ασθενείς είχαν μόνο ορολογική ένδειξη λοίμωξης από το μικροοργανισμό.

Η διάγνωση της λοίμωξης από *Chlamydia pneumoniae* τέθηκε σε 12 ασθενείς χρησιμοποιώντας ορολογικές και μοριακές μεθόδους. Απο τους 12 ασθενείς μόνο οι 5 είχαν θετική και την PCR για τον μικροοργανισμό (Πίνακας 36).

Πίνακας 37: Ορολογική ένδειξη λοίμωξης από *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* και *Legionella pneumophila*

Μικροοργανισμός	Τρέχουσα λοίμωξη (IgM)	Παρελθούσα λοίμωξη (IgG)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	11	40
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	12	37
<i>Legionella pneumophila</i>	3	4

Πίνακας 38: Επιπολασμός αντισωμάτων έναντι άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού

Μικροοργανισμός	IgM	IgM + IgA	IgM + IgG	IgA	IgA + IgG	IgG	Μη ανιχνεύσιμα αντισώματα
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	12			53	39	37	74
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	11			10	5	40	149
<i>Legionella pneumophila</i>	3					4	208

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, με τις ορολογικές μεθόδους επιβεβαιώθηκε η λοίμωξη από *Mycoplasma pneumoniae* στους 5 ασθενείς που είχαν θετική την PCR στα πτύελα καθώς και η λοίμωξη από *Legionella pneumophila* στον 1 ασθενή με θετική την PCR στα πτύελα και θετική τη μέθοδο ανίχνευσης του αντιγόνου του μικροοργανισμού στα ούρα. Επίσης επιβεβαιώθηκε η λοίμωξη των 5 ασθενών με *Chlamydia pneumoniae* με θετική την PCR για τον μικροοργανισμό

Προστέθηκαν όμως, ακόμη 15 μικροοργανισμοί σε 15 ασθενείς που δεν ανιχνεύθηκαν με τις προηγούμενες διαγνωστικές μεθόδους. Η συχνότητα και το είδος των μικροοργανισμών που ανιχνεύθηκαν ήταν:

- 6 *Mycoplasma pneumoniae*
- 7 *Chlamydia pneumoniae*
- 2 *Legionella pneumophila*

Έτσι σε 15 ασθενείς στους οποίους με τις υπόλοιπες μεθόδους (PCR, καλλιέργειες, Ag *Legionella pneumophila* στα ούρα) δεν ανιχνεύθηκε παθογόνος μικροοργανισμός η χρήση των ορολογικών ανέδειξε παθογόνο μικροοργανισμό.

Όσον αφορά στον επιπολασμό των διαφόρων αντισωμάτων έναντι των άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού, αξιοσημείωτο εύρημα αποτελεί ο μεγάλος αριθμός ασθενών (42,8;92%) στους οποίους ανιχνεύθηκαν θετικοί τίτλοι IgA αντισωμάτων έναντι του μικροοργανισμού *Chlamydia pneumoniae*. Σημαντικό επίσης ποσοστό ασθενών (69,3%) παρά το μέσο όρο ηλικίας των ασθενών της μελέτης (60 χρόνια) δεν έχει εκτεθεί στον μικροοργανισμό *Mycoplasma pneumoniae* (Μη ανιχνεύσιμα αντισώματα).

2.2.3. Ούρα**2.2.3.1. Έλεγχος αντιγόνου *Streptococcus pneumoniae* και *Legionella pneumophila* σε δείγματα ούρων**

Από τα 215 δείγματα ούρων, τα 23 (10,7%) είχαν θετικό το αντιγόνο του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα, ενώ μόνο 1 (0,5%) δείγμα ούρων ήταν θετικό για την παρουσία αντιγόνου της *Legionella pneumophila*. Τα 16 θετικά δείγματα ούρων είχαν θετική την PCR για την παρουσία του γονιδίου της B2 σφαιρίνης αλλά ήταν όλα αρνητικά για την παρουσία DNA *Streptococcus pneumoniae* ή *Legionella pneumophila*.

2.3. Συχνότητα παθογόνων μικροοργανισμών

Με την χρήση όλων των διαγνωστικών δοκιμασιών που έχουν πιο πάνω αναφερθεί ανιχνεύθηκαν 106 (49,3%) μικροοργανισμοί από 106 (49,3%) ασθενείς σε σύγκριση με 52 (24,2%) μικροοργανισμούς από 52 (24,2%) ασθενείς με τη χρήση μόνο της καλλιέργειας και με 72 (33,5%) μικροοργανισμούς σε 72 (33,5%) ασθενείς με τη χρήση μόνο της PCR (Πίνακας 39). Σε 109 (50,7%) ασθενείς παράλληλη τη χρήση όλων των διαγνωστικών δοκιμασιών, ο αιτιολογικός παράγοντας παρέμεινε αταυτοποιήτος. Η συχνότητα και το είδος των μικροοργανισμών που ανιχνεύθηκαν στην παρούσα μελέτη φαίνεται στον Πίνακα 40.

Πίνακας 39: Αριθμός ασθενών που ανιχνεύθηκε μικροοργανισμός με διάφορες μικροβιολογικές μεθόδους

Μικροβιολογική μέθοδος	Ασθενείς
Καλλιέργεια Πτυέλων	52 (24,2%)
PCR πτυέλων	72 (33,5%)
Καλλιέργεια πτυέλων + PCR πτυέλων	91 (42,3%)
Καλλιέργεια πτυέλων + PCR πτυέλων + Ορολογικές μέθοδοι	106 (49,3%)

* Η κ/α και PCR του πλευριτικού όπως και η μέθοδος ανίχνευσης αντιγόνου *S. pneumoniae* και *L. pneumophilla* δεν πρόσθεσαν επιπλέον αποτελέσματα από τα πιο πάνω.

Πίνακας 40: Συχνότητα απομονωθέντων μικροοργανισμών σε ασθενείς με Πνευμονία της κοινότητας

Είδος μικροοργανισμού	Συχνότητα (%) (n=215)	Συχνότητα % (n=106)
<i>Haemophilus influenzae</i>	38 (17,7)	35,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	23 (10,7)	21,7
GNEB	11 (5,1)	10,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (3,7)	7,5
Σύνολο τυπικών	80 (37,2)	75,5
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	12 (5,6)	11,3
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	11 (5,1)	10,4
<i>Legionella pneumonia</i>	3 (1,4)	2,8
Σύνολο άτυπων	26 (12,1)	24,5
Σύνολο	106 (49,3)	-

Η συχνότητα απομόνωσης τυπικών παθογόνων ήταν 37,2% με κυρίαρχα παθογόνα τον *Haemophilus influenzae* (17,7%) και τον *Streptococcus pneumoniae* (10,7%). Η συχνότητα απομόνωσης άτυπων παθογόνων ήταν 12,1% με κυρίαρχο παθογόνο το *Chlamydia pneumoniae* (5,6%). Από τους 106 ασθενείς που ανιχνεύθηκε παθογόνος μικροοργανισμός σε 26 (24,5%) ασθενείς ανιχνεύθηκε κάποιο άτυπο παθογόνο και σε 80 (75,5%) ασθενείς κάποιο από τα τυπικά παθογόνα (Πίνακας 36, Πίνακας 40).

Από τους 38 *Haemophilus influenzae* που ανιχνεύθηκαν, με καλλιέργεια πτυέλων και PCR, οι 36 (94,7%) ανιχνεύθηκαν στα πτύελα ασθενών με ΧΑΠ που νοσηλεύθηκαν λόγω πνευμονίας της κοινότητας. Σε 36 (64,3%) ασθενείς με ΧΑΠ ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε ήταν ο *Haemophilus influenzae*. Από τους 8 ασθενείς με πνευμονία που απομονώθηκε *Pseudomonas aeruginosa* στα πτύελα, οι 7 είχαν συνυπάρχουσα ΧΑΠ. Επίσης οι 9 από τους συνολικά 11 ασθενείς στους οποίους αναπτύχθηκε στην καλλιέργεια πτυέλων τους GNEB είχαν συνυπάρχοντα νοσήματα με πολλαπλές νοσηλείες για αντιμετώπιση και ρύθμιση αυτών.

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πνευμονία της κοινότητας αποτελεί συχνή λοίμωξη. Πρόκειται για την πνευμονία που αναπτύσσεται έξω από το νοσοκομείο σε όχι ανοσοκατασταλμένο άτομο (Niedelman et al., 2005). Μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών ενοχοποιείται στην πρόκλησή της, με κυριότερους τον *Streptococcus pneumoniae* και τον *Haemophilus influenzae*. Αρκετά συχνά ενοχοποιούνται άτυπα βακτήρια (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) και πιο σπάνια, μικροοργανισμοί όπως ο *Staphylococcus aureus*, αερόβια Gram(-) βακτηρίδια, *Coxiella burnetti* και *Chlamydia psittaki* (Κοντοπυργιάς & Χείλας). Είναι νόσος με μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά την επιδημιολογία, την παθογένεια, τη φυσική ιστορία και τη θεραπεία, αποτελώντας σημαντικό αίτιο θνητότητας κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα (Ochoa-Gondar et al., 2008).

Η εργαστηριακή διάγνωση, της βακτηριακής πνευμονίας, βασίζεται κατά βάση, στην καλλιέργεια πτυέλων και σε ορολογικές δοκιμασίες για αναζήτηση αντισωμάτων έναντι μικροβίων που δεν απομονώνονται στις καλλιέργειες. Πρόσφατα, στην κλινική διαγνωστική της πνευμονίας, έχει εισαχθεί η άμεση αναζήτηση, του αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila* σε ούρα ασθενών, καθώς και η χρήση μοριακών μεθόδων (PCR) κυρίως σε δείγματα DNA πτυέλων. Παρόλη όμως τη χρήση των πιο πάνω μεθόδων, σε ποσοστό περισσότερο από το 50% των ασθενών, ο υπεύθυνος μικροοργανισμός συνήθως παραμένει αταυτοποιήτος (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη του είδους και της συχνότητας των παθογόνων βακτηρίων που ενέχονται στην πρόκληση της πνευμονίας που αποκτάται στην κοινότητα (Πνευμονία της Κοινότητας) στην περιοχή της Θεσσαλίας, καθώς και η σύγκριση και η διαγνωστική αξία των διαφόρων κλασσικών (Gram χρώση, καλλιέργειες σε κοινά στερεά θρεπτικά μέσα), ορολογικών και νεότερων (μοριακές τεχνικές όπως PCR και nested PCR) μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση αυτών. Εκτιμήθηκε επίσης η διαγνωστική αξία της μεθόδου ανίχνευσης αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila* στα ούρα ασθενών με πνευμονία.

Στην παρούσα μελέτη υπήρχε σαφής υπεροχή των άρρενων έναντι των θήλεων (70,7% vs 29,3%) νοσηλευόμενων ασθενών με πνευμονία της κοινότητας. Μπορεί να λεχθεί, ότι η πνευμονία της κοινότητας αποτελεί νόσο με μεγαλύτερη επίπτωση στους

άρρηνες, αλλά και ότι οι άρρηνες ασθενείς νοσούν πιο βαριά, με αποτέλεσμα να χρήζουν ενδονοσοκομειακής νοσηλείας σε μεγαλύτερο ποσοστό από τους θήλειες ασθενείς. Το ίδιο υποστηρίζεται από διάφορες επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν σαφή υπεροχή της επίπτωσης της πνευμονίας της κοινότητας, στους άρρηνες ασθενείς (300/100000 vs 200/100000) (Ochoa-Gondar O et al., 2008; Almirall et al., 2000; Jokinen et al., 1993; Marston et al., 1997).

Τα πιο σημαντικά κριτήρια, πέραν της βαρύτητας της κλινικής και εργαστηριακής εικόνας, που καθόρισαν την ενδονοσοκομειακή νοσηλεία του ασθενούς, όπως φαίνεται από τη μελέτη των χαρακτηριστικών του πληθυσμού μελέτης (Πίνακας 30), ήταν η ηλικία και η ύπαρξη συνυπαρχόντων νοσημάτων (87,9% των ασθενών). Τα συγκεκριμένα κριτήρια ανήκουν στα κριτήρια που εξετάζονται στα βαθμονομικά συστήματα βαρύτητας της πνευμονίας CURB-65 και PORT.

Στην παρούσα μελέτη, ο μέσος όρος ηλικίας των νοσηλευόμενων ασθενών με πνευμονία της κοινότητας ήταν τα 60 έτη. Οι περισσότεροι ασθενείς (63%) ανήκαν στην ηλικιακή ομάδα των ασθενών με ηλικία > 65 έτη. Ο παρατηρούμενος μέσος όρος ηλικίας των ασθενών που νοσηλεύθηκε με πνευμονία, βρίσκεται πολύ κοντά στο μέσο όρο ηλικίας ασθενών προηγούμενων μελετών, οι οποίες θεωρούν την πνευμονία, νόσο που χρήζει ενδονοσοκομειακής νοσηλείας πιο συχνά σε ασθενείς με ηλικία μεγαλύτερη από τα 60 έτη (Jackson et al., 2004; Woodhead et al., 2002; Ochoa-Gondar et al., 2008).

Είναι σκόπιμο να αναφερθεί ότι στην παρούσα μελέτη 14% (30) των νοσηλευόμενων ασθενών με πνευμονία, σύμφωνα με τα ισχύοντα βαθμονομικά συστήματα βαρύτητας της πνευμονίας, ανήκαν στη κατηγορία χαμηλού κινδύνου ασθενών με πνευμονία της κοινότητας. Παρόλα αυτά οι εν λόγω ασθενείς νοσηλεύθηκαν. Προφανώς οι ασθενείς αυτοί ενώ ανήκαν στην ομάδα χαμηλού κινδύνου ασθενών, νοσηλεύθηκαν στο νοσοκομείο για άλλους λόγους.

Παρόλο όμως, που η επιλογή των ασθενών για ενδονοσοκομειακή νοσηλεία δεν έγινε αυστηρά με βάση τα κριτήρια των συστημάτων βαθμονόμησης της βαρύτητας της πνευμονίας, οι παράγοντες ηλικία και συνυπάρχοντα νοσήματα, που όπως προαναφέρθηκε, αποτελούν δύο από τα κριτήρια που προτείνουν η ATS και η IDSA για νοσηλεία του ασθενούς με πνευμονία της κοινότητας και βασικούς παράγοντες στην διαμόρφωση των βαθμονομικών συστημάτων βαρύτητας της πνευμονίας CURB-65 και PORT, αποτέλεσαν και στην παρούσα μελέτη τα βασικά κριτήρια για απόφαση ενδονοσοκομειακής νοσηλείας ή όχι. Συμπερασματικά μπορεί να λεχθεί ότι η απόφαση

για εισαγωγή του ασθενούς με πνευμονία στο νοσοκομείο, παραμένει στην κρίση του γιατρού ο οποίος πέραν από τα βασικά κριτήρια που προτείνονται για ενδονοσοκομειακή νοσηλεία του ασθενούς έχει το δικαίωμα και πρέπει να συνεκτιμά και άλλους παράγοντες (π.χ κοινωνικούς, δυνατότητα σωστής θεραπείας στο σπίτι κλπ).

Το υλικό που εξετάζεται κυρίως για την αιτιολογική διάγνωση της βακτηριακής πνευμονίας είναι τα πτύελα. Τα πτύελα αποτελούν ισχυρό διαγνωστικό υλικό, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί με διάφορες μικροβιολογικές τεχνικές, κλασσικές (Gram χρώση/καλλιέργεια) και σύγχρονες-μοριακές (PCR), για την ανίχνευση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας.

Αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό υλικό αφού αποτελεί το μόνο κλινικό υλικό από τον ασθενή με πνευμονία που είναι άμεσα προερχόμενο από την πάσχουσα περιοχή (πνεύμονες, βρόγχοι) και μπορεί εύκολα να συλλεχθεί χωρίς κάποιες ιδιαίτερες-εξειδικευμένες διαδικασίες. Όπως διαπιστώνεται και από τα αποτελέσματα, μετά από επιμονή του θεράποντος ιατρού μπορεί τελικά μεγάλο ποσοστό ασθενών με πνευμονία (100%) να χορηγήσει πτύελα. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι πρέπει να γίνεται ενθάρρυνση των ασθενών να χορηγήσουν πτύελα αφού σημαντικό ποσοστό των ασθενών (29%) χορηγεί τη δεύτερη φορά καλής ποιότητα δείγμα, ενώ μικρό είναι το ποσοστό που τελικά χορηγεί την τρίτη φορά δείγμα πτυέλων καλής ποιότητας (5,1%). Στην παρούσα μελέτη μεγάλο ποσοστό ασθενών (66%) χορήγησε καλής ποιότητας δείγμα πτυέλων στην πρώτη προσπάθεια.

Τα αποτελέσματα, της μικροβιολογικής εξέτασης των πτυέλων, πρέπει πάντοτε να ερμηνεύονται με ιδιαίτερη προσοχή, σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα του ασθενούς και τα αποτελέσματα της ακτινολογικής εξέτασης, επειδή ακόμη και με τις καλύτερες προϋποθέσεις δειγματοληψίας, επιμολύνονται σε κάποιο βαθμό από τη χλωρίδα του στοματοφάρυγγα. Επομένως η συνεκτίμηση των αποτελεσμάτων της μικροβιολογικής εξέτασης των πτυέλων με την υπόλοιπη κλινική και εργαστηριακή εικόνα του ασθενούς μειώνει την πιθανότητα εσφαλμένης διάγνωσης παθογόνου μικροοργανισμού που στην πραγματικότητα μπορεί να είναι μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα.

Αντίθετα με τα δείγματα πτυέλων, τα δείγματα πλευριτικού υγρού από ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας, αποτέλεσαν μικρό αριθμό (8 δείγματα) στο σύνολο των δειγμάτων. Παρόλο που περισσότεροι ασθενείς (19) είχαν ακτινολογική και κλινική εικόνα ύπαρξης πλευριτικής συλλογής τελικά μόνο σε 8 ασθενείς έγινε

θωρακοκέντηση με σκοπό τη λήψη υπεζωκοτικού υγρού. Η παρακέντηση φαίνεται πως διενεργείται περισσότερο για θεραπευτικούς σκοπούς καθώς και όταν υπάρχει αμφιβολία για τη φύση της υπεζωκοτικής συλλογής. Στην παρούσα μελέτη οι 4 ασθενείς παρακεντήθηκαν λόγω ύπαρξης μεγάλης υπεζωκοτικής συλλογής που τους δημιουργούσε δυσκολία στην αναπνοή και οι υπόλοιποι 4 ασθενείς παρακεντήθηκαν λόγω διαγνωστικών αμφιβολιών για την αιτία που προκάλεσε την υπεζωκοτική συλλογή. Οι μικρές πλευριτικές συλλογές παρακολουθούνταν ακτινολογικά και αντιμετωπίζονταν με χορήγηση αντιβίωσης. Έτσι, όπως υποστηρίζεται και από προηγούμενες μελέτες, ενώ το πλευριτικό υγρό αποτελεί σημαντικό κλινικό δείγμα το οποίο μπορεί να συμβάλει καθοριστικά στην αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας, στην καθημερινή κλινική πρακτική, λαμβάνεται σε περιπτώσεις με σημαντική πλευριτική συλλογή, σε μη κλινικά βελτιούμενες πνευμονίες, σε περιπτώσεις με αμφιβολία για τη φύση της υπεζωκοτικής συλλογής, καθώς και σε επιπλεγμένες πνευμονίες (Επίτομη πνευμονολογία Δημήτριος Α. Πατάκας University studio press).

Ο ορός αίματος των ασθενών με πνευμονία της κοινότητας, αποτελεί εύκολα αποκτούμενο κλινικό δείγμα, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας της κοινότητας. Ο ορός χρησιμοποιείται κυρίως για την ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων για τα άτυπα βακτήρια του κατώτερου αναπνευστικού, τα οποία στα συνήθη καλλιεργητικά μέσα δεν μπορούν να αναπτυχθούν. Στην παρούσα μελέτη δεν υπήρχε δυνατότητα λήψης δεύτερου δείγματος ορού με διαφορά τουλάχιστον δύο-τριών εβδομάδων από την λήψη του πρώτου δείγματος και έτσι η ερμηνεία των αποτελεσμάτων, όσον αφορά στην ύπαρξη τρέχουσας λοίμωξης, έγινε με βάση τον υπότυπο των IgM αντισωμάτων καθώς ήταν επισφαλής η ερμηνεία της πιθανότητας ύπαρξης τρέχουσας λοίμωξης από τον συνδυασμό των υπολοίπων υποτύπων (IgA, IgG).

Επίσης, από τους ασθενείς με πνευμονία, μπορεί να ληφθεί εύκολα και δείγμα ούρων, το οποίο χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila*. Στην παρούσα μελέτη δεν προέκυψαν περιορισμοί στη λήψη των πιο πάνω δειγμάτων από τους ασθενείς.

Όσον αφορά στις μεθόδους που εφαρμόστηκαν, η Gram χρώση αποτέλεσε τη μέθοδο με την οποία αξιολογείτο πρώτιστα η ποιότητα του δείγματος των πτυέλων (καλής ποιότητας δείγμα πτυέλων προερχόμενο από το κατώτερο αναπνευστικό). Έτσι σε πρώτη φάση η Gram χρώση, αποτέλεσε χρήσιμο οδηγό ώστε να καθοριστεί σε ποιους ασθενείς έπρεπε να ζητηθεί ξανά δείγμα πτυέλων, με τελικό στόχο όσο το

δυνατό περισσότεροι ασθενείς να χορηγήσουν καλής ποιότητας δείγματα πτυέλων. Επομένως, με τον έλεγχο που γινόταν, αποφεύχθηκε η περεταίρω επεξεργασία μη αντιπροσωπευτικών δειγμάτων πτυέλων. Με βάση τα αποτελέσματα, όπως και πριν έχει αναφερθεί αποκλείστηκαν ως ακατάλληλα αρχικά 73 δείγματα πτυέλων. Από τους ασθενείς που χορήγησαν ακατάλληλα δείγματα πτυέλων, ζητήθηκε να χορηγήσουν ξανά πτύελα μέχρι και που λήφθηκαν καλής ποιότητας δείγματα από όλους τους ασθενείς.

Παράλληλα με τη Gram χρώση υπήρξε η δυνατότητα γρήγορης ανίχνευσης πιθανής παρουσίας παθογόνου μικροοργανισμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγάλη ειδικότητα (93,8%) στην ανίχνευση του *Streptococcus pneumoniae* καθώς και μεγάλη ειδικότητα (87%) στην ανίχνευση *Haemophilus influenzae*. Αντίθετα, και για τους δύο μικροοργανισμούς *Streptococcus pneumoniae* και *Haemophilus influenzae* η ευαισθησία της μεθόδου ήταν πολύ χαμηλή (65,2% και 31,5% αντίστοιχα). Για τη διάγνωση Gram (-) πνευμονιών η ευαισθησία (73,7%) και ειδικότητα (89,3%) της μεθόδου ήταν ικανοποιητική. Έτσι η Gram χρώση (όταν στα ευρήματα της υπάρχει κυρίαρχη μορφολογία παθογόνου μικροοργανισμού) μπορεί να θέσει μια πρώτη ένδειξη για την αιτιολογία της πνευμονίας. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να γίνει έγκαιρη έναρξη του κατάλληλου αντιβιοτικού σχήματος στους ασθενείς μέχρι να επιβεβαιωθεί το αποτέλεσμα της με τις άλλες μεθόδους και να ελεγχθεί η ευαισθησία του μικροοργανισμού στα αντιβιοτικά με την διενέργεια αντιβιογράμματος.

Τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες που θεωρούν την Gram χρώση πολύ ειδική μέθοδο στη διάγνωση της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας (ειδικότητα > 80%) και της πνευμονίας οφειλόμενης σε *Haemophilus influenzae* (Roso'n et al., 2000; Gleckman et al., 1988; Bohte et al., 1996; Dans et al., 1984; Rein et al., 1978; Schmid et al., 1979).

Ενώ η Gram χρώση στην παρούσα μελέτη, ήταν χρήσιμη στις πιο πάνω περιπτώσεις πνευμονίας, (οφειλόμενες σε πνευμονιόκοκκο, σε αιμόφιλο), καθώς και για την αξιολόγηση των δειγμάτων πτυέλων, η δυνατότητα χρησιμοποίησής της ως μοναδικής μεθόδου διάγνωσης του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας περιορίζεται από το γεγονός ότι σε σημαντικό ποσοστό (59%) δειγμάτων πτυέλων η Gram χρώση αναδείκνυε παρουσία πολύμορφης χλωρίδας (26%) ή δεν αναδείκνυε μορφολογία πιθανού παθογόνου μικροοργανισμού (33%). Έτσι, σε 47 (21,9%) ασθενείς που τελικά τέθηκε σίγουρη διάγνωση αιτιολογικού παράγοντα, η Gram χρώση αναδείκνυε παρουσία πολύμορφης χλωρίδας ή δεν είχε μορφολογία πιθανού

παθογόνου μικροοργανισμού χωρίς να μπορεί έτσι να εξαχθεί κάποια υποψία σχετικά με το είδος του μικροοργανισμού που οφειλόταν η πνευμονία. Γι' αυτό η Gram χρώση πάντα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες μικροβιολογικές μεθόδους για επιβεβαίωση του αποτελέσματός της.

Συμπερασματικά, όπως αναφέρουν και προηγούμενες μελέτες, η Gram χρώση μπορεί να θεωρηθεί εύκολη και γρήγορη μέθοδος με την οποία διαπιστώνεται αν το διαθέσιμο δείγμα πτυέλων αποτελεί αντιπροσωπευτικό δείγμα από το κατώτερο αναπνευστικό έτσι ώστε να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω μικροβιολογικό έλεγχο (Roson et al., 2000) καθώς και μέθοδο που παρέχει τη δυνατότητα αναγνώρισης της μορφολογίας των διάφορων παρατηρούμενων μικροοργανισμών και που θέτει μια πρώτη ένδειξη για την αιτιολογία της πνευμονίας (Roson et al., 2000). Η έγκαιρη ένδειξη του πιθανού αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας είναι απαραίτητη ιδιαίτερα σε πνευμονίες από Gram (-) μικροοργανισμούς. Οι πνευμονίες αυτές συνήθως συνοδεύονται με αυξημένη θνητότητα και ως εκ τούτου η gram χρώση βοηθεί στην έγκαιρη αναγνώρισή τους, τη σωστή επιλογή και τη γρήγορη έναρξη του κατάλληλου αντιβιοτικού (Ruiz et al., 1999). Επίσης, η έγκαιρη αναγνώριση πιθανής πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας αποτελεί καθοριστικό σημείο για μονοθεραπεία με β-λακταμικά αντιβιοτικά και η έγκαιρη αναγνώριση πνευμονίας οφειλόμενης στον *Haemophilus influenzae* αποτελεί καθοριστικό σημείο για αποφυγή χρήσης β-λακταμικών αντιβιοτικών (κυρίως αμινοπενικιλίνες) καθώς η παραγωγή β-λακταμασών από τον *Haemophilus influenzae* είναι πολύ συχνή (Berry et al., 1998).

Η επόμενη μέθοδος που εφαρμόστηκε και η οποία αποτελεί την “gold standard” μέθοδο στη μικροβιολογική διερεύνηση της πνευμονίας της κοινότητας ήταν η καλλιέργεια πτυέλων σε κοινά θρεπτικά υλικά (σοκολατόχρουν, αιματούχο, McConkey). Η μέθοδος προτείνεται από τις κατευθυντήριες οδηγίες σχεδόν όλων των εταιρειών θώρακος όσον αφορά στη διάγνωση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας (American Thoracic Society 1993; British Thoracic Society, 1993; Bartlett et al., 2000; Mandell et al., 2000; American Thoracic Society, 2001; Garcí'a-Va'zquez et al., 2004) . Η καλλιέργεια πτυέλων, αντίθετα με την Gram χρώση που υπολείπεται σε ευαισθησία και η χρησιμότητα της βασίζεται κυρίως στην αξιολόγηση της ποιότητας των δειγμάτων πτυέλων αποτελεί μέθοδο περισσότερο αξιόπιστη. Επίσης, σε ορισμένες περιπτώσεις η συμβολή της είναι καθοριστική, αφού μετά την απομόνωση των μικροοργανισμών ακολουθεί έλεγχος της ευαισθησίας αυτών στα διάφορα αντιμικροβιακά φάρμακα. Στην παρούσα μελέτη 52 παθογόνοι μικροοργανισμοί

απομονώθηκαν στις καλλιέργειες πτυέλων 52 (24,2%) διαφορετικών ασθενών, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα να μελετηθεί το αντιβιογράμμα του μικροοργανισμού που απομονώθηκε και πιθανή τροποποίηση της χορηγούμενης αντιβίωσης στον ασθενή εάν αυτό κρινόταν αναγκαίο. Συγκεκριμένα, αυτό κρίθηκε απαραίτητο σε 9 ασθενείς στους οποίους η καλλιέργεια πτυέλων ανέπτυξε *GNEB* (3) και *Pseudomonas aeruginosa* (6). Οι μικροοργανισμοί αυτοί ήταν ανθεκτικοί στα αντιβιοτικά πρώτης γραμμής (αμινοπενικιλίνες) και χρειάστηκε τροποποίηση της αντιβιοτικής αγωγής, σε δραστικά για τους μικροοργανισμούς αυτούς, αντιβιοτικά.

Ωστόσο, πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψη ότι στην καλλιέργεια πτυέλων στα κοινά θρεπτικά μέσα, σημαντικός αριθμός παθογόνων μικροοργανισμών (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetti* και *Chlamydia psittaci*) που ενοχοποιούνται για σημαντικό ποσοστό περιπτώσεων πνευμονίας της κοινότητας δεν μπορούν να αναπτυχθούν. Επιπρόσθετα, ένα από τα βασικά μειονεκτήματα της καλλιέργειας πτυέλων, είναι η δυσκολία εφαρμογής της, λόγω αναγκαιότητας διενέργειας ποσοτικής καλλιέργειας και του σχετικά μεγάλου χρόνου που απαιτείται για αξιολόγηση του αποτελέσματος (48h). Η ποσοτική καλλιέργεια πτυέλων είναι απαραίτητη, αφού και με τις καλύτερες συνθήκες δειγματοληψίας, όπως και προαναφέρθηκε, πάντοτε υπάρχει κάποιος βαθμός επιμόλυνσης από τη φυσιολογική χλωρίδα του στοματοφάρυγγα. Ένα ακόμη σημαντικό μειονέκτημα αποτελεί και η πιθανή αλλοίωση του αποτελέσματος από τη λήψη αντιβίωσης πριν ληφθεί το δείγμα πτυέλων (Lentino and Lucks, 1987; Fine et al 1991; Garcí'a-Va'zquez et al. 2004; San Pedro et al., 1997).

Η καλλιέργεια πτυέλων, παρόλα τα παραπάνω μειονεκτήματα, τα οποία σχετίζονται με τη διενέργειά της, καθώς και με την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της, πάντοτε πρέπει να γίνεται όταν υπάρχει καλής ποιότητας αντιπροσωπευτικό δείγμα, από το κατώτερο αναπνευστικό. Πάντοτε όμως, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, ότι τα αποτελέσματα πρέπει να συνεκτιμώνται με τα αποτελέσματα των υπολοίπων μεθόδων διάγνωσης, μικροβιολογικών και ακτινολογικών, καθώς και από την κλινική εικόνα του ασθενούς. Επίσης, στην εκτίμηση του αποτελέσμάτος της πρέπει πάντοτε να λαμβάνονται υπόψη και οι περιορισμοί / μειονεκτήματα που προκύπτουν από τη διενέργειά της οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Με αυτό τον τρόπο μειώνεται η πιθανότητα των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων της και η περαιτέρω λανθασμένη αντιμετώπιση του ασθενούς με πνευμονία. Οι πιο πάνω περιορισμοί έχουν

καταστήσει ιδιαίτερα ελκυστικές τις νεότερες μοριακές τεχνικές ανίχνευσης παθογόνων, όπως η PCR.

Όπως διαπιστώνεται από τα αποτελέσματα η χρήση της PCR διευρύνει το διαγνωστικό φάσμα όσον αφορά στο είδος των μικροοργανισμών που ανιχνεύονται και αυξάνει τον αριθμό των ασθενών στους οποίους τελικά τίθεται η διάγνωση αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας. Η PCR ως μέθοδος ανίχνευσης παθογόνων μικροοργανισμών είναι πιο γρήγορη, και πιο ευαίσθητη σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους (καλλιέργεια). Τα αποτελέσματά της δεν επηρεάζονται από τη λήψη προηγηθείσας αντιβίωσης και δίνεται η δυνατότητα απόκτησης αποτελεσμάτων σε σύντομο χρόνο ακόμη και για μικροοργανισμούς όπως το *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, η *Coxiella burnetti* και το *Chlamydia psittaci* που σε διαφορετική περίπτωση η καλλιέργειά τους είναι πολύ χρονοβόρα και απαιτεί ειδικά καλλιεργητικά μέσα (San Pedro et al., 1997; Menéndez et al., 1999; Strålin et al., 2006; Yang et al., 2005; Dorigo-Zetsma et al., 2001; Boman et al., 1999). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η PCR επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα της καλλιέργειας πτυέλων όσον αφορά στη διάγνωση του *Streptococcus pneumoniae* και του *Haemophilus influenzae*, αλλά σε σχέση με τις καλλιέργειες ανιχνεύθηκε αιτιολογικός παράγοντας σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών (72;33,4% vs 52;24,2%). Είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί ότι σε 39 (18,1%) ασθενείς, ενώ η καλλιέργεια πτυέλων είχε αναδείξει φυσιολογική χλωρίδα, μετά την εφαρμογή της PCR ανιχνεύθηκε ο αιτιολογικός παράγοντας. Πολύ σημαντικό επίσης είναι ότι με την PCR ανιχνεύθηκαν σε 11 ασθενείς, 11 άτυποι μικροοργανισμοί (5 *Mycoplasma pneumoniae*, 5 *Chlamydia pneumoniae* και 1 *Legionella pneumophila*) οι οποίοι με την καλλιέργεια πτυέλων στα συνήθη θρεπτικά υλικά ήταν αδύνατο να ανιχνευθούν.

Συνεκτιμώντας τα αποτελέσματα των καλλιεργιών και της PCR διαπιστώνεται ότι ο συνδυασμός και των δύο μεθόδων (καλλιέργεια / PCR), μερικές φορές σε συνδυασμό και με την Gram χρώση, οδηγεί σε πιο αξιόπιστα-ασφαλή αποτελέσματα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ανιχνεύθηκε παθογόνος μικροοργανισμός σε 91 (42,3%) ασθενείς με τη χρήση και των δύο μεθόδων (καλλιέργεια και PCR) ενώ με τη χρήση μόνο της καλλιέργειας ανιχνεύθηκε παθογόνος μικροοργανισμός σε 52 (24,2%) ασθενείς και με την χρήση μόνο της PCR ανιχνεύθηκε παθογόνος μικροοργανισμός σε 72 (33,5%) ασθενείς.

Βασικό μειονέκτημα της PCR είναι η αδυναμία διενέργειας αντιβιογράμματος καθώς και η αδυναμία διάκρισης αν ο μικροοργανισμός που απομονώθηκε αποτελεί

τον παθογόνο μικροοργανισμό ή είναι μέλος φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα (Murdoch et al., 2001). Η συμφωνία όμως στα ευρήματα της καλλιέργειας και της PCR, αυξάνει την πιθανότητα ο ανιχνευθείς μικροοργανισμός να μην είναι μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας αλλά να αποτελεί τον παθογόνο μικροοργανισμό.

Πέρα από τα πτύελα, τα οποία όπως έχει συζητηθεί πιο πάνω αποτελούν σημαντικό κλινικό δείγμα για την ανίχνευση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας, στην καθημερινή πρακτική αποτελεί και ο ορός των ασθενών ο οποίος με τις ορολογικές μεθόδους χρησιμοποιείται για την ανίχνευση κυρίως των άτυπων μικροοργανισμών που δεν αναπτύσσονται στα κοινά στερεά θρεπτικά μέσα.

Οι δυσκολίες των ορολογικών μεθόδων συνίστανται στην αναγκαιότητα λήψης δύο δειγμάτων από τον ασθενή σε διάστημα τουλάχιστον δύο εβδομάδων, στην έλλειψη προτυποποιημένων μεθόδων, στην αδυναμία τους να εντοπίζουν τη λοίμωξη, και στην παρουσία διασταυρούμενων αντιδράσεων (Blasi et al., 2009; Dowell et al., 2001). Επίσης η πιθανή απουσία παραγωγής IgM αντισωμάτων καθώς και η πιθανή καθυστερημένη παραγωγή IgG αντισωμάτων, ιδιαίτερα σε υπερήλικες ασθενείς, αποτελούν επιπρόσθετους περιορισμούς στην εφαρμογή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική (Waites and Talkington, 2004). Καθώς για τη διάγνωση της οξείας λοίμωξης απαιτείται η ανεύρεση τετραπλασιασμού του τίτλου αντισωμάτων στη φάση της ανάρρωσης, η διάγνωση τίθεται αναδρομικά και δεν μπορεί να προσφέρει στην επιλογή του κατάλληλου αντιβιοτικού. Ωστόσο, οι ορολογικές μέθοδοι είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στην ανίχνευση των αιτιών μιας επιδημίας και σε επιδημιολογικές μελέτες (Dowell et al., 2001).

Στην παρούσα μελέτη, όπως προαναφέρθηκε, λόγω αδυναμίας λήψης δεύτερου δείγματος ορού σε 2-3 εβδομάδες από την πρώτη λήψη, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων, όσον αφορά στην τρέχουσα λοίμωξη, έγινε με βάση την ανεύρεση θετικού τίτλου των IgM αντισωμάτων. Παρόλο, που σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών μπορούσε να εκτιμηθεί με τον συνδυασμό των διαφόρων υποτύπων αντισωμάτων (IgA, IgG, IgM) η πιθανότητα ύπαρξης τρέχουσας λοίμωξης, στην παρούσα μελέτη σίγουρη ορολογική διάγνωση θεωρήθηκε ότι υπάρχει, μόνο όταν υπάρχει θετικός τίτλος των IgM αντισωμάτων. Όπως είναι προφανές ένας αριθμός ασθενών με άτυπο μικροοργανισμό ως αιτιολογικό παράγοντα της πνευμονίας, που θα ανιχνευόταν σε ασθενείς με τετραπλασιασμό των IgG αντισωμάτων, δεν διαγνώσθηκε. Έτσι, πολύ πιθανόν η συχνότητα των εν λόγω μικροοργανισμών να υποεκτιμήθηκε

στην παρούσα μελέτη. Ο πιο πάνω περιορισμός αποτελεί και τον σημαντικότερο περιορισμό της παρούσας μελέτης.

Παρόλα αυτά υπολογίσθηκε και ο επιπολασμός όλων των υποτύπων των αντισωμάτων (IgM, IgG, IgA) έναντι των άτυπων παθογόνων στους ασθενείς.

Με την χρήση ορολογικών δοκιμασιών ανιχνεύθηκαν 26 άτυποι μικροοργανισμοί σε σχέση με 11 άτυπους μικροοργανισμούς που ανιχνεύθηκαν με την χρήση της PCR. Οι ορολογικές δοκιμασίες επιβεβαίωσαν τη διάγνωση της λοίμωξης από άτυπους μικροοργανισμούς στους 11 ασθενείς που η διάγνωση τέθηκε με την PCR, προστέθηκαν όμως ακόμη 15 άτυποι μικροοργανισμοί σε 15 ασθενείς που είχαν αρνητική την PCR για την παρουσία DNA των μικροοργανισμών στα πτύελα. Το πιο πάνω μπορεί να εξηγηθεί από τη χρονική διάρκεια που μεσολάβησε από την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι τη στιγμή που έγινε η δειγματοληψία, τόσο του ορού όσο και των πτυέλων. Όταν η δειγματοληψία γίνει πολύ νωρίς από την έναρξη των συμπτωμάτων πολύ πιθανόν να προκύψει θετικό αποτέλεσμα στην PCR και αρνητικό αποτέλεσμα στις ορολογικές δοκιμασίες, αφού χρειάζονται κάποιες μέρες για να ανιχνευθούν τα ειδικά αντισώματα στον ορό των ασθενών. Αντίθετα, όταν περάσουν κάποιες μέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων, μπορεί να ανιχνευθούν τα ειδικά αντισώματα αλλά μπορεί να αρνητικοποιηθεί η PCR (Tuuminen et al. 2000). Βέβαια πάντα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι στις ορολογικές δοκιμασίες μπορεί να υπάρχουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω διασταυρούμενων αντιδράσεων με άλλους μικροοργανισμούς.

Έτσι, παρόλο που οι ορολογικές δοκιμασίες φαίνεται να υπερτερούν της PCR, η PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί παράλληλα με τις ορολογικές δοκιμασίες ως ταχεία μέθοδος διάγνωσης των άτυπων παθογόνων που βοηθά στην έγκαιρη έναρξη αιτιολογημένης αντιμικροβιακής θεραπείας.

Ο μεγάλος επιπολασμός των ειδικών αντισωμάτων IgA έναντι του μικροοργανισμού *Chlamydia pneumoniae* στην παρούσα μελέτη, έχει παρατηρηθεί και σε άλλες μελέτες που θεωρούν ότι από τα παιδικά χρόνια η οροθετικότητα στον συγκεκριμένο υπότυπο αντισωμάτων έναντι του μικροοργανισμού αυξάνει στον υγιή πληθυσμό, έτσι ώστε στην ενήλικη ζωή σχεδόν ο μισός πληθυσμός να είναι οροθετικός όσον αφορά στα ειδικά αντισώματα έναντι του μικροοργανισμού (Tuuminen et al. 2000; von Hertzen et al., 1996; Hahn, 1999; Sethi and Murphy, 2001). Άλλες μελέτες θεωρούν ότι ο αυξημένος επιπολασμός των αντισωμάτων έναντι του μικροοργανισμού οφείλεται στο κάπνισμα και ότι η ορομετατροπή συμβαίνει ακόμη και με την απουσία

συμπτωμάτων (Hahn, 1999; Sethi and Murphy, 2001). Επιπρόσθετοι λόγοι που έχουν αναφερθεί βιβλιογραφικά στην αύξηση των συγκεκριμένων αντισωμάτων, είναι διασταυρούμενες αντιδράσεις έναντι άλλων μικροοργανισμών, καθώς και μακράς διάρκειας ανοσολογική μνήμη έναντι του μικροοργανισμού (Tuuminen et al., 2000). Στην παρούσα μελέτη θεωρήθηκε ότι πέραν από την πιθανή χρόνια/εμμένουσα λοίμωξη ή επαναλοίμωξη, τα συγκεκριμένα αντισώματα (IgA) πολύ πιθανόν να αντικατοπτρίζουν παράγοντες πέραν μιας αληθούς λοίμωξης οπότε και δεν θεωρήθηκαν συνηγορητικά υπέρ λοίμωξης.

Πολύ μεγάλος αριθμός ασθενών (149;69,3%) δεν είχε ανιχνεύσιμα IgG αντισώματα έναντι του μικροοργανισμού *Mycoplasma pneumoniae*. Το εύρημα αυτό αντικατοπτρίζει την πιθανότητα οι ασθενείς να μην ήρθαν σε επαφή με τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό παρόλο που ο μικροοργανισμός θεωρείται κοινό παθογόνο του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού στην παιδική ηλικία. Το εύρημα αυτό μπορεί όμως να εξηγηθεί από την πιθανή καθυστέρηση εμφάνισης θετικών τίτλων των IgG αντισωμάτων για τον εν λόγω μικροοργανισμό που όπως και προαναφέρθηκε αποτελεί σημαντικό περιορισμό των ορολογικών μεθόδων. (Waites and Talkington, 2004).

Έτσι, με βάση τα πιο πάνω, ενώ ο ορός αποτελεί κλινικό δείγμα εύκολο να συλλεχθεί και να αποθηκευθεί, η αναγκαιότητα λήψης 2 δειγμάτων ορού σε 2-3 εβδομάδες καθώς και οι υπόλοιποι περιορισμοί που έχουν ήδη αναφερθεί, περιορίζουν τη χρήση των ορολογικών μεθόδων στην καθημερινή κλινική πρακτική.

Στην πρόσφατη διαγνωστική του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila* έχει εισαχθεί η ανίχνευση αντιγόνων τους, κυρίως στα ούρα ασθενών με πνευμονία. Η μέθοδος είναι απλή και γρήγορη στην εφαρμογή της και πολύ σημαντική όσον αφορά στην ταχεία αναγνώριση της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας και της πνευμονίας οφειλόμενης σε *Legionella pneumophila*.

Ακόμη, ενώ η μέθοδος ανίχνευσης αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα, φαίνεται πως δεν προσφέρει επιπρόσθετες πληροφορίες σε σύγκριση με την PCR όσον αφορά στην ανίχνευση του συγκεκριμένου μικροοργανισμού, το θετικό αποτέλεσμα αποτελεί ένα επιπλέον στοιχείο που συνηγορεί ότι *Streptococcus pneumoniae* που ανιχνεύθηκε είναι ο παθογόνος μικροοργανισμός και ότι δεν αποτελεί μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα.

Στην παρούσα μελέτη η χρήση της μεθόδου ανίχνευσης αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα, επιβεβαίωσε όσον αφορά στην ανίχνευση του

Streptococcus pneumoniae τα αποτελέσματα των καλλιεργειών (21 ασθενείς). Επιπλέον, επιβεβαίωσαν το θετικό αποτέλεσμα για τον *Streptococcus pneumoniae* στους 2 επιπλέον ασθενείς που ο μικροοργανισμός ανιχνεύθηκε με την PCR.

Όσον αφορά στη χρήση της μεθόδου στην ανίχνευση της *Legionella pneumophila*, όπως φαίνεται τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της PCR και των ορολογικών μεθόδων. Συγκεκριμένα ο ένας ασθενής στον οποίο ανιχνεύθηκε γενετικό υλικό της *Legionella pneumophila* στα πτύελα και ανιχνεύθηκαν IgM ειδικά αντισώματα στον ορό, ήταν θετικός και στη μέθοδο ανίχνευσης αντιγόνου του μικροοργανισμού στα ούρα. Αντίθετα οι δύο ασθενείς με ορολογική ένδειξη πρωτογενούς λοίμωξης (IgM) από τον μικροοργανισμό είχαν αρνητική την PCR και αρνητική τη μέθοδο ανίχνευσης του αντιγόνου στα ούρα. Αυτό οφείλεται ίσως σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα των ορολογικών μεθόδων λόγω διασταυρούμενων αντιδράσεων αλλά και σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα στα ούρα λόγω μη προηγηθείσας επεξεργασίας τους ώστε να έρθουν σε κατάλληλη συγκέντρωση για ανίχνευση του αντιγόνου του μικροοργανισμού. Γενικά έχει αναφερθεί ότι το αρνητικό αποτέλεσμα της μεθόδου ανίχνευσης αντιγόνων των εν λόγω μικροοργανισμών στα ούρα μπορεί να οφείλεται στη μη κατάλληλη επεξεργασία των ούρων πριν την εφαρμογή της μεθόδου, ώστε αυτά να έρθουν σε συγκεκριμένη συγκέντρωση που απαιτείται για την ανίχνευση του αντιγόνου του μικροοργανισμού (Marcos et al., 2003).

Πέραν των επιπρόσθετων πληροφοριών όσον αφορά στην ανίχνευση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών, η εφαρμογή της μεθόδου στην παρούσα μελέτη βοήθησε στην ταχεία αναγνώριση των μικροοργανισμών ως αίτιου της πνευμονίας και ως εκ τούτου στην έγκαιρη έναρξη της κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής στους ασθενείς.

Η μέθοδος ανίχνευσης του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα έχει χρησιμοποιηθεί σύμφωνα με διάφορες μελέτες στην ανίχνευση του αντιγόνου του μικροοργανισμού και σε διάφορα άλλα κλινικά δείγματα. Πέραν από τα ούρα (Genne et al., 2006) έχει χρησιμοποιηθεί στα πτύελα (Zhang et al., 1988), στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (Samra et al., 2003), στον ορό (Dominguez et al., 2006), καθώς και σε βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (Jacobs et al., 2005).

Το πλευριτικό υγρό όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί πολύ χρήσιμο κλινικό δείγμα για την αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας, ωστόσο αποτελεί κλινικό υλικό που είναι διαθέσιμο από πολύ λίγους ασθενείς. Συνήθως λαμβάνεται σε περιπτώσεις με

σημαντική πλευριτική συλλογή, σε μη κλινικά βελτιούμενες πνευμονίες, καθώς και σε επιπλεγμένες πνευμονίες. Το πλευριτικό υγρό είναι στείρο υλικό, έτσι απομόνωση οποιουδήποτε μικροοργανισμού αποτελεί σίγουρη ένδειξη για λοίμωξη από τον απομονωθέντα μικροοργανισμό. Έτσι, το αποτέλεσμα από το πλευριτικό υγρό, μπορεί να θεωρηθεί ότι επιβεβαιώνει ή θέτει σε αμφιβολία το αποτέλεσμα από τα πτύελα, τον ορό ή τα ούρα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι 6 ασθενείς που είχαν αρνητικές τις διαγνωστικές δοκιμασίες για παρουσία μικροοργανισμού στο πλευριτικό υγρό είχαν αρνητικές και τις δοκιμασίες όταν αυτές εφαρμόζονταν στα πτύελα, στα ούρα ενώ οι 2 ασθενείς που είχαν θετική την παρουσία μικροοργανισμού στο πλευριτικό υγρό είχαν θετικές και τις υπόλοιπες δοκιμασίες στα ούρα και στα πτύελα για τους συγκεκριμένους μικροοργανισμούς.

Επομένως, η χρήση όλων των μεθόδων οδηγεί σε πιο ασφαλή αποτελέσματα και είναι απαραίτητη στο να διαπιστωθεί αν ο μικροοργανισμός που απομονώθηκε αποτελεί τον παθογόνο μικροοργανισμό και δεν είναι μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα. Επίσης, με τη χρήση όλων των διαγνωστικών μεθόδων (καλλιέργειες, μοριακές, ορολογικές μέθοδοι, ανίχνευση αντιγόνων μικροοργανισμών στα ούρα και ορό) μπορεί να εξαχθεί συμπέρασμα όσον αφορά στη συχνότητα των παθογόνων μικροοργανισμών που ενοχοποιούνται στην πρόκληση πνευμονίας της κοινότητας.

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκαν 106 μικροοργανισμοί σε 106 (49,3%) ασθενείς σε σύγκριση με 52 μικροοργανισμούς σε 52 (24,2%) ασθενείς με τη χρήση μόνο της καλλιέργειας και με 72 μικροοργανισμούς σε 72 (33,4%) ασθενείς με τη χρήση μόνο της PCR. Σε 109 (50,7%) ασθενείς παρά τη χρήση όλων των διαγνωστικών δοκιμασιών, ο αιτιολογικός παράγοντας παρέμεινε αταυτοποιήτος. Ένα μέρος των αταυτοποιήτων πνευμονιών πιθανόν να αποτελούν οι ιογενείς πνευμονίες, οι πνευμονίες οφειλόμενες σε μικροοργανισμούς όπως *Coxiella burnetti* και *Chlamydia psittaci* οι οποίοι δεν μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη καθώς και ένας αριθμός ασθενών με πνευμονία από άτυπα βακτήρια που η διάγνωση πιθανόν να ετίθετο με την ανεύρεση τετραπλασιασμού του τίτλου των IgG αντισωμάτων.

Στην συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών (37,2%) απομονώθηκαν τυπικά παθογόνα του κατώτερου αναπνευστικού με κυρίαρχα παθογόνα να αποτελούν ο *Streptococcus pneumoniae* και ο *Haemophilus influenzae*, γεγονός που επιβεβαιώνει προηγούμενες μελέτες που θεωρούν τα τυπικά παθογόνα και κυρίως τον *Streptococcus pneumoniae* και τον *Haemophilus influenzae* κύρια αίτια της πνευμονίας που

αποκτάται στην κοινότητα. Η συχνότητα απομόνωσης άτυπων βακτηρίων (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) στην περιοχή της Θεσσαλίας ήταν ιδιαίτερα αυξημένη (12,1%), γεγονός που δείχνει ότι είναι αναγκαία ως εμπειρική θεραπεία η χρήση αντιβιοτικής αγωγής με σχήματα που περιέχουν μακρολίδες, τετρακυκλίνες ή φθοριοκινολόνες που αποτελούν αντιβιοτικά εκλογής για την αντιμετώπιση των πιο πάνω μικροοργανισμών πέραν των β-λακταμικών που κατά παράδοση ευρέως χρησιμοποιούνται.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, σημαντική διαφορά με προηγούμενες επιδημιολογικές μελέτες, αποτελεί η μεγάλη συχνότητα ανίχνευσης του *Haemophilus influenzae non type b*, που στην παρούσα μελέτη βρίσκεται στην κορυφή της συχνότητας των μικροοργανισμών που ανιχνεύθηκαν. Όσον αφορά στους υπόλοιπους μικροοργανισμούς τα ποσοστά ανίχνευσής τους βρίσκονται σε ευρεία διακύμανση σε σύγκριση με τα ποσοστά ανίχνευσής τους σε άλλες μελέτες που έχουν γίνει σε ευρωπαϊκές χώρες (Woodhead, 2002). Η συχνότητα των διαφόρων μικροοργανισμών που ανιχνεύονται σε ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας ποικίλει ανάλογα με τις μεθόδους ανίχνευσης που χρησιμοποιούνται σε κάθε μελέτη, τα κριτήρια που λαμβάνονται υπόψη για επιλογή των ασθενών και τα κριτήρια που λαμβάνονται υπόψη για την ύπαρξη ή όχι σίγουρης αιτιολογικής διάγνωσης. Η γεωγραφική θέση που διεξάγεται μια μελέτη αποτελεί επίσης σημαντικό παράγοντα που καθορίζει τη συχνότητα των παθολογικών μικροοργανισμών.

Η μεγάλη συχνότητα ανίχνευσης του *Haemophilus influenzae*, στην παρούσα μελέτη, μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι σημαντικός αριθμός ασθενών (26%) του πληθυσμού μελέτης είχε συνυπάρχον νόσημα τη ΧΑΠ. Ο *Haemophilus influenzae* θεωρείται σημαντικό παθογόνο που μολύνει τους αεραγωγούς ασθενών με ΧΑΠ και αποτελεί βιβλιογραφικά το συχνότερο παθογόνο που απομονώνεται από τα πτύελα ασθενών σε περιόδους παροξύνσεων της ΧΑΠ (Sethi and Murphy, 2001; Sethi et al., 2002; Soler et al., 1998). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από τους 38 *Haemophilus influenzae* που ανιχνεύθηκαν, με καλλιέργεια πτυέλων και PCR, οι 36 (94,7%) ανιχνεύθηκαν στα πτύελα ασθενών με ΧΑΠ που νοσηλεύθηκαν λόγω πνευμονίας της κοινότητας. Σε 36 (64,3%) ασθενείς με ΧΑΠ ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε ήταν ο *Haemophilus influenzae*. Επιπρόσθετα από τους 8 ασθενείς με πνευμονία που απομονώθηκε *Pseudomonas aeruginosa* στα πτύελα, οι 7 είχαν συνυπάρχουσα ΧΑΠ.

Τα πιο πάνω ευρήματα είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες που θεωρούν τα Gram(-) βακτήρια, με κυρίαρχο τον *Haemophilus influenzae* και

ακολουθώντας την *Pseudomonas aeruginosa*, πολύ συχνά απομονούμενα βακτήρια σε ασθενείς με ΧΑΠ (Wilson, 2001; Eller et al., 1998; Miravittles et al., 1999; Soler et al. 1998).

Πολύ σημαντικό εύρημα, αποτελεί η υπεροχή της PCR έναντι της καλλιέργειας πτυέλων, στην ανίχνευση του *Haemophilus influenzae* στους ασθενείς με ΧΑΠ και πνευμονία της κοινότητας. 26 από τους 38 *Haemophilus influenzae* ανιχνεύθηκαν μόνο με τη χρήση της PCR. Ενώ ο *Haemophilus influenzae* type b αναπτύχθηκε στην καλλιέργεια στην ίδια συχνότητα που ανιχνεύθηκε και με την PCR, μόνο 2 *Haemophilus influenzae non type b* από τους σύνολο 28 αναπτύχθηκαν στην καλλιέργεια πτυέλων. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν και σε άλλες μελέτες στις οποίες η PCR αναδείκνυε παρουσία DNA του μικροοργανισμού στα πτύελα με ταυτόχρονη αρνητική την καλλιέργεια πτυέλων (Murphy et al., 2004).

Είναι ουσιώδες να αναφερθεί ότι οι 9 από τους συνολικά 11 ασθενείς στους οποίους αναπτύχθηκε στην καλλιέργεια πτυέλων τους *GNEB* είχαν συνυπάρχοντα νοσήματα με πολλαπλές νοσηλείες για αντιμετώπιση και ρύθμιση αυτών. Πολύ πιθανόν η απομόνωση αυτών των νοσοκομειακών παθογόνων να οφείλεται σε αποικισμό του αναπνευστικού από αυτά και στην πραγματικότητα να μην αποτελούν τα παθογόνα στα οποία οφείλεται η πνευμονία.

Τέλος, ακόμη μια φορά είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το κυρίαρχο πρόβλημα-περιορισμός στην παρούσα μελέτη ήταν η διαφοροδιάγνωση, αν ο απομονωθείς μικροοργανισμός στην καλλιέργεια πτυέλων ή ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε με την PCR αποτελούσε παθογόνο μικροοργανισμό ο οποίος προκαλούσε την πνευμονία ή ήταν μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα. Εξίσου σημαντικό πρόβλημα αποτέλεσε η ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ορολογικών μεθόδων λόγω αδυναμίας λήψης δεύτερου δείγματος ορού.

Όσον αφορά τη συχνότητα αποικισμού του ανώτερου κυρίως αναπνευστικού από τον *Streptococcus pneumoniae* αναφέρεται ότι ποικίλει ανάλογα με την ηλικία. Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι ο αποικισμός είναι αρκετά συχνός στα υγιή μικρά παιδιά (20%-40%) και κυρίως στα πρώτα 2 χρόνια και λιγότερο συχνά στους υγιείς ενήλικες (10%-20%) (Ghaffar et al., 1999; Hendley et al., 1975; Musher 2000; Reichler et al., 1992; Sluijter et al., 1998; Lopez et al., 1999; Faden et al., 1997; Ekdahl et al., 1997). Παρόλα αυτά, σε άλλες μελέτες υποστηρίζεται ότι ο αποικισμός των μεγάλων αεραγωγών με δυνητικά παθογόνα του κατώτερου αναπνευστικού, όπως ο *Streptococcus pneumoniae* και ο *Haemophilus influenzae*, δεν είναι φυσιολογικό

φαινόμενο και ότι οι μικροοργανισμοί αυτοί δεν περιορίζονται στους μεγάλους αεραγωγούς αλλά επεκτείνονται και στους περιφερικούς αεραγωγούς. Επίσης, οι μικροοργανισμοί αυτοί βρίσκονται σε μια ενεργή διαδικασία παραγωγής δραστικών ουσιών προάγοντας έτσι τη φλεγμονώδη διαδικασία (Sethi, 2000). Όσον αφορά στον *Haemophilus influenzae* διάφορες *in vitro* και *in vivo* (St. Geme and Falkow, 1990; Van Schilfgaarde et al., 1999; Van Schilfgaarde et al., 1995; Moller et al., 1998; Ketterer et al., 1999) μελέτες δείχνουν ότι όταν αποικίσει το κατώτερο αναπνευστικό, ιδιαίτερα σε ασθενείς με ΧΑΠ, ο μικροοργανισμός μπορεί να βρίσκεται σε διάφορες θέσεις (αυλός του αναπνευστικού, προσκολλημένος στα βλεννώδη κύτταρα, στο διάμεσο ιστό, στη βλέννη ακόμη και ενδοκυττάρια). Με αυτό τον τρόπο προστατεύεται από τα αντιβιοτικά και αποτελεί δεξαμενή για λοιμώξεις αποτελώντας όπως και προαναφέρθηκε κυράρχο παθογόνο μικροοργανισμό στους ασθενείς με ΧΑΠ.

Τα πιο πάνω προβλήματα-περιορισμοί ξεπεράστηκαν εν μέρει με τη χρήση της ποσοτικής καλλιέργειας πτυέλων καθώς και με την εκτίμηση μόνο των IgM αντισωμάτων στις ορολογικές δοκιμασίες. Επίσης, η ύπαρξη θετικών όλων των διαγνωστικών μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν επιβεβαίωσε ότι ο απομονωθείς μικροοργανισμός ήταν ο υπεύθυνος για την πρόκληση της πνευμονίας. Με αυτό τον τρόπο μειώθηκε η πιθανότητα ύπαρξης ψευδών θετικών αποτελεσμάτων αν και εξακολουθούσε να υπάρχει μεγάλη πιθανότητα ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων κυρίως με τη χρήση των ορολογικών μεθόδων λόγω μη δυνατότητας λήψης δεύτερου δείγματος ορού.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην περιοχή της Θεσσαλίας η πνευμονία της κοινότητας αποτελεί νόσο που χρήζει ενδονοσοκομειακής νοσηλείας ιδιαίτερα συχνά στους άρρενες ασθενείς και σε ηλικίες μεγαλύτερες από τα 65 έτη. Οι ασθενείς με πνευμονία που χρήζουν ενδονοσοκομειακής νοσηλείας έχουν συνήθως συνυπάρχοντα νοσήματα, κυρίως από το αναπνευστικό και το καρδιαγγειακό. Μεγάλο ποσοστό των ασθενών νοσηλεύεται χωρίς ιδιαίτερους παράγοντες κινδύνου.

Σημαντικό διαγνωστικό υλικό για την ανίχνευση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας, εύκολα χορηγούμενο και που μπορεί κατόπιν ενθάρρυνσης να χορηγηθεί από μεγάλο ποσοστό των ασθενών με πνευμονία, αποτελούν τα πτύελα. Εξίσου σημαντικά κλινικά δείγματα για την αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας, αποτελεί ο ορός αίματος για την ανίχνευση κυρίως άτυπων βακτηρίων και τα ούρα για την ταχεία αναγνώριση πνευμονίας οφειλόμενης στους *Streptococcus pneumoniae* και *Legionella pneumophila*. Ενώ το πλευριτικό υγρό μπορεί να φανεί ιδιαίτερα χρήσιμο στην αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας, στην καθημερινή κλινική πρακτική, λαμβάνεται σε περιπτώσεις με σημαντική πλευριτική συλλογή, σε μη κλινικά βελτιούμενες πνευμονίες καθώς και σε επιπλεγμένες πνευμονίες.

Η Gram χρώση αποτελεί εύκολη και γρήγορη μέθοδο με την οποία διαπιστώνεται αν το διαθέσιμο δείγμα πτυέλων αποτελεί αντιπροσωπευτικό δείγμα από το κατώτερο αναπνευστικό έτσι ώστε να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω μικροβιολογικό έλεγχο καθώς και μέθοδο που παρέχει τη δυνατότητα αναγνώρισης της μορφολογίας των διάφορων παρατηρούμενων μικροοργανισμών και που θέτει έτσι μια πρώτη ένδειξη για την αιτιολογία της πνευμονίας. Ωστόσο η δυνατότητα χρησιμοποίησής της ως μοναδικής μεθόδου διάγνωσης, περιορίζεται λόγω πιθανότητας μη ανεύρεσης μορφολογίας κυρίαρχου παθογόνου μικροοργανισμού αλλά και της πιθανότητας παρουσίας πολύμορφης χλωρίδας. Γι' αυτό πάντα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες μικροβιολογικές μεθόδους για επιβεβαίωση του αποτελέσματός της.

Η συμβολή της καλλιέργειας πτυέλων πέραν των μειονεκτημάτων (χρονοβόρα, πιθανότητα ανίχνευσης φυσιολογικής χλωρίδας) , είναι καθοριστική στη διάγνωση του αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας αφού με τη μελέτη του αντιβιογράμματος του απομονωθέντος μικροοργανισμού, γίνεται επιλογή του κατάλληλου αντιβιοτικού για το μικροοργανισμό.

Η PCR, ως μέθοδος ανίχνευσης παθογόνων, είναι πιο γρήγορη, σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους (καλλιέργεια), τα αποτελέσματά της δεν επηρεάζονται από τη προηγηθείσα λήψη αντιβίωσης και δίνεται η δυνατότητα απόκτησης αποτελεσμάτων σε σύντομο χρόνο ακόμη και για μικροοργανισμούς που σε διαφορετική περίπτωση η καλλιέργειά τους είναι πολύ χρονοβόρα και απαιτεί ειδικά καλλιεργητικά μέσα. Βασικό μειονέκτημά της είναι η αδυναμία διενέργειας αντιβιογράμματος καθώς και η αδυναμία διάκρισης αν ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε αποτελεί τον παθογόνο μικροοργανισμό ή είναι μέλος φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα.

Οι ορολογικές μέθοδοι αποτελούν σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο στην ανίχνευση άτυπων βακτηρίων. Παρόλο που φαίνεται να υπερτερούν της PCR στην διάγνωση των άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού, η PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί παράλληλα με τις ορολογικές δοκιμασίες ως ταχεία μέθοδος διάγνωσης των άτυπων παθογόνων. Ενώ ο ορός αποτελεί κλινικό δείγμα εύκολο να συλλεχθεί και να αποθηκευθεί, η αναγκαιότητα λήψης 2 δειγμάτων ορού με μεσοδιάστημα 2-3 εβδομάδων καθώς και άλλοι περιορισμοί περιορίζουν την χρήση των ορολογικών μεθόδων στην καθημερινή κλινική πρακτική.

Ο μεγάλος επιπολασμός των ειδικών αντισωμάτων IgA έναντι του μικροοργανισμού *Chlamydia pneumoniae* στους ασθενείς της μελέτης πέραν από την πιθανή χρόνια / εμμένουσα λοίμωξη ή επαναλοίμωξη, πιθανόν να οφείλεται σε άλλους παράγοντες (κάπνισμα, ηλικία) οπότε και δεν μπορούν να θεωρηθούν συνηγορητικά υπέρ αληθούς λοίμωξης.

Ο μεγάλος αριθμός ασθενών που δεν είχε ανιχνεύσιμα IgG αντισώματα έναντι του *Mycoplasma pneumoniae* πιθανόν να οφείλεται στην μη επαφή των ασθενών με το συγκεκριμένο μικροοργανισμό παρόλο που ο μικροοργανισμός θεωρείται κοινό παθογόνο του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού στην παιδική ηλικία. Ωστόσο, το εύρημα αυτό μπορεί να εξηγηθεί και από την πιθανή καθυστέρηση εμφάνισης θετικών τίτλων των IgG αντισωμάτων για τον εν λόγω μικροοργανισμό.

Ενώ η μέθοδος ανίχνευσης αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα φαίνεται πως δεν προσέφερε σε σημαντικό αριθμό ασθενών επιπρόσθετες πληροφορίες από την PCR, το θετικό αποτέλεσμα αποτελεί ένα επιπλέον στοιχείο που συνηγορεί ότι ο *Streptococcus pneumoniae* που ανιχνεύθηκε με τις υπόλοιπες μεθόδους είναι ο παθογόνος μικροοργανισμός και ότι δεν αποτελεί μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα. Επίσης αποτελεί ίσως την γρηγορότερη μέθοδο για διαπίστωση του *Streptococcus pneumoniae* ως αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας.

Η χρήση όλων των διαθέσιμων μικροβιολογικών διαγνωστικών μεθόδων ανίχνευσης παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού, πλεονεκτεί έναντι της μεμονωμένης χρήσης μιας μόνο μεθόδου. Η χρήση όλων των μεθόδων οδηγεί σε πιο ασφαλή αποτελέσματα αφού μπορεί να διαπιστωθεί αν ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε αποτελεί τον παθογόνο μικροοργανισμό στον οποίο οφείλεται η πνευμονία και δεν αποτελεί απλώς μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας. Επίσης με τη χρήση όλων των διαγνωστικών μεθόδων μπορεί να εξαχθεί ασφαλέστερο συμπέρασμα όσον αφορά στη συχνότητα των παθογόνων μικροοργανισμών που ενοχοποιούνται στην πρόκληση πνευμονίας της κοινότητας. Σε συνδυασμό όλες οι διαγνωστικές μέθοδοι αυξάνουν τον αριθμό των ασθενών που τίθεται τελικά αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας και επομένως γίνεται πιο ασφαλής η αντιμετώπισή τους όσον αφορά στη σωστή επιλογή του αντιβιοτικού σχήματος.

Στην συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών (37,2%) απομονώθηκαν τυπικά παθογόνα του κατώτερου αναπνευστικού με κυρίαρχα παθογόνα να αποτελούν ο *Streptococcus pneumoniae* και ο *Haemophilus influenzae*. Η συχνότητα απομόνωσης άτυπων βακτηρίων (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) στην περιοχή της Θεσσαλίας ήταν ιδιαίτερα αυξημένη (12,1%), γεγονός που δείχνει ότι είναι αναγκαία η χρήση αντιβιοτικής αγωγής με σχήματα που περιέχουν πέραν των β-λακταμικών αντιβιοτικών και μακρολίδες, τετρακυκλίνες ή φθοριοκινολόνες που αποτελούν αντιβιοτικά εκλογής για την αντιμετώπιση των πιο πάνω μικροοργανισμών. Στην παρούσα μελέτη κυρίαρχο παθογόνο του κατώτερου αναπνευστικού ήταν ο *Haemophilus influenzae* που ανιχνεύθηκε κυρίως σε ασθενείς με ΧΑΠ οι οποίοι αποτελούσαν σημαντικό ποσοστό του πληθυσμού μελέτης. Η PCR πτυέλων έναντι της καλλιέργειας πτυέλων πλεονεκτεί στην ανίχνευση του *Haemophilus influenzae* στους ασθενείς με ΧΑΠ και πνευμονία της κοινότητας αφού αναδείκνυε παρουσία DNA του μικροοργανισμού στα πτύελα με ταυτόχρονη αρνητική την καλλιέργεια πτυέλων τους.

Παρά τη χρήση όλων των διαγνωστικών μεθόδων, ο αιτιολογικός παράγοντας παρέμεινε αταυτοποιήτος σε περισσότερους από τους μισούς ασθενείς. Ένα μέρος των αταυτοποιήτων πνευμονιών πιθανόν να αποτελούν οι ιογενείς πνευμονίες, οι πνευμονίες οφειλόμενες σε μικροοργανισμούς όπως *Coxiella burnetti* και *Chlamydia psittaci* οι οποίοι δεν μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη καθώς και ένας αριθμός ασθενών με πνευμονία από άτυπα βακτηρία που η διάγνωση πιθανόν να τίθετο με την ανεύρεση τετραπλασιασμού του τίτλου των IgG αντισωμάτων.

4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πνευμονία της κοινότητας ορίζεται η πνευμονία που αναπτύσσεται έξω από νοσοκομειακό περιβάλλον, σε άτομο που δεν έχει πρόσφατα νοσηλευθεί και δεν είναι ανοσοκατασταλμένο. Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη του είδους και της συχνότητας των παθογόνων βακτηρίων που ενέχονται στην πρόκληση της πνευμονίας της κοινότητας στην περιοχή της Θεσσαλίας, καθώς και η σύγκριση των διαφόρων κλασσικών (Gram χρώση, καλλιέργειες σε κοινά στερεά θρεπτικά μέσα), ορολογικών και νεότερων (μοριακές τεχνικές όπως PCR, nested PCR, ανίχνευση αντιγόνου των *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila*) μικροβιολογικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση αυτών.

Συνολικά μελετήθηκαν 215 ενήλικες ασθενείς που νοσηλεύθηκαν με πνευμονία της κοινότητας. Ως διαγνωστικά υλικά χρησιμοποιήθηκαν πτύελα, ορός αίματος, ούρα, και πλευριτικό υγρό. Για την ανίχνευση των συχνότερων παθογόνων μικροοργανισμών που προκαλούν πνευμονία της κοινότητας χρησιμοποιήθηκαν Gram χρώση, καλλιέργειες, PCR και nested-PCR, ορολογικές μέθοδοι και η μέθοδος ανίχνευσης του αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* και της *Legionella pneumophila* στα ούρα.

Με τη χρήση όλων των διαγνωστικών μεθόδων ανιχνεύθηκαν 106 μικροοργανισμοί σε 106 (49,3%) ασθενείς. Σε 109 (50,7%) ασθενείς παρόλη τη χρήση όλων των διαγνωστικών δοκιμασιών, ο αιτιολογικός παράγοντας παρέμεινε αταυτοποιήτος. Στην συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών (37,2%) απομονώθηκαν τυπικά παθογόνα του κατώτερου αναπνευστικού με κυρίαρχα παθογόνα τον *Streptococcus pneumoniae* και τον *Haemophilus influenzae*. Η συχνότητα απομόνωσης άτυπων βακτηρίων (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) στην περιοχή της Θεσσαλίας ήταν ιδιαίτερα αυξημένη (12,1%), γεγονός που δείχνει ότι είναι αναγκαία ως εμπειρική θεραπεία η χρήση αντιβιοτικής αγωγής με σχήματα που περιέχουν μακρολίδες, τετρακυκλίνες ή φθοριοκινολόνες που αποτελούν αντιβιοτικά εκλογής για την αντιμετώπιση των πιο πάνω μικροοργανισμών πέραν των β-λακταμικών που κατά βάση χρησιμοποιούνται.

Κυρίαρχο παθογόνο του κατώτερου αναπνευστικού ήταν ο *Haemophilus influenzae* που ανιχνεύθηκε κυρίως σε ασθενείς με ΧΑΠ οι οποίοι αποτελούσαν σημαντικό ποσοστό του πληθυσμού μελέτης. Από τους 38 *Haemophilus influenzae* που ανιχνεύθηκαν, με καλλιέργεια πτυέλων και PCR, οι 36 (94,7%) ανιχνεύθηκαν στα πτύελα ασθενών με ΧΑΠ που νοσηλεύθηκαν λόγω πνευμονίας της κοινότητας. Σε 36

(64,3%) ασθενείς με ΧΑΠ ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε ήταν ο *Haemophilus influenzae*. Η συχνότητα των υπολοίπων μικροοργανισμών βρίσκεται σε ευρεία διακύμανση σε σύγκριση με την συχνότητα που αναφέρουν προηγούμενες επιδημιολογικές μελέτες.

Ωστόσο, παρά τη χρήση όλων των διαγνωστικών μεθόδων, ο αιτιολογικός παράγοντας παρέμεινε αταυτοποιήτος σε περισσότερους από τους μισούς ασθενείς. Ένα μέρος των αταυτοποιήτων πνευμονιών πιθανόν να αποτελούν οι ιογενείς πνευμονίες, οι πνευμονίες οφειλόμενες σε μικροοργανισμούς όπως *Coxiella burnetti* και *Chlamydia psittaki* οι οποίοι δεν μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη καθώς και ένας αριθμός ασθενών με πνευμονία από άτυπα βακτήρια που η διάγνωση πιθανόν να τίθετο με την ανεύρεση τετραπλασιασμού του τίτλου των IgG αντισωμάτων.

Η PCR έναντι της καλλιέργειας πτυέλων πλεονεκτούσε στην ανίχνευση του *Haemophilus Influenza* στους ασθενείς με ΧΑΠ με πνευμονία της κοινότητας αφού αναδείκνυε παρουσία DNA του μικροοργανισμού στα πτύελα με ταυτόχρονη αρνητική την καλλιέργεια πτυέλων. Οι ορολογικές μέθοδοι υπερτερούσαν της PCR στη διάγνωση των άτυπων παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού. Παρόλα αυτά, η PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί παράλληλα με τις ορολογικές δοκιμασίες ως ταχεία μέθοδος διάγνωσης των άτυπων παθογόνων. Ενώ η μέθοδος ανίχνευσης αντιγόνου του *Streptococcus pneumoniae* στα ούρα φαίνεται πως δεν προσέφερε σε σημαντικό αριθμό ασθενών επιπρόσθετες πληροφορίες από την PCR, το θετικό αποτέλεσμα αποτελεί ένα επιπλέον στοιχείο που συνηγορεί ότι ο *Streptococcus pneumoniae* που ανιχνεύθηκε με τις υπόλοιπες μεθόδους είναι ο παθογόνος μικροοργανισμός και ότι δεν αποτελεί μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα. Επίσης αποτελεί ίσως την γρηγορότερη και ευκολότερη μέθοδο για διαπίστωση του *Streptococcus pneumoniae* ως αιτιολογικού παράγοντα της πνευμονίας.

Συμπερασματικά διαφαίνεται ότι χρήση όλων των διαθέσιμων διαγνωστικών μεθόδων ανίχνευσης παθογόνων του κατώτερου αναπνευστικού, πλεονεκτεί έναντι της μεμονωμένης χρήσης μιας μόνο μεθόδου. Η χρήση όλων των μεθόδων οδηγεί σε πιο ασφαλή αποτελέσματα αφού μπορεί να διαπιστωθεί αν ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε αποτελεί τον παθογόνο μικροοργανισμό στον οποίο οφείλεται η πνευμονία και δεν αποτελεί απλώς μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας. Επίσης με τη χρήση όλων των διαγνωστικών μεθόδων μπορεί να εξαχθεί ασφαλέστερο συμπέρασμα όσον αφορά στη συχνότητα των παθογόνων μικροοργανισμών που ενοχοποιούνται στην πρόκληση πνευμονίας της κοινότητας. Σε συνδυασμό όλες οι διαγνωστικές

μέθοδοι αυξάνουν τον αριθμό των ασθενών με αιτιολογική διάγνωση της πνευμονίας και επομένως γίνεται πιο ασφαλής η αντιμετώπισή τους όσον αφορά στη σωστή επιλογή του αντιβιοτικού σχήματος.

SUMMARY

Community Acquired Pneumonia (CAP) is defined as pneumonia acquired outside of the environment of the hospital and other care facilities, in patients who have not been hospitalized recently and are not immunosuppressed. The aim of the present study was to examine the prevalence of the bacterial pathogens causing CAP in the Thessaly region, as well as to compare classical (Gram stain, sputum cultures), serological (ELISA) and molecular (PCR, nested PCR) microbiological techniques used for the detection of these bacterial pathogens.

The study population consisted of 215 adult patients hospitalized due to CAP. Sputum, serum, urine and pleural fluid samples were used as the diagnostic materials. Sputum Gram stain, sputum cultures, PCR, nested-PCR in sputum samples, serological techniques and antigen detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in urine samples were used for the detection of the bacterial pathogens causing CAP.

By applying the abovementioned methods, 106 microorganisms were detected in 106 (49.3%) patients. However, despite the use of these diagnostic methods the infectious agent remained unidentified in 109 (50.7%) patients. Typical pathogens such as *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* were identified in the majority of the patients (37.2%). The prevalence of the atypical pathogens (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) was significantly high (12.1%) in the Thessaly region. This justifies the use of the combination of β -lactamic antibiotics with macrolides, tetracyclines or fluoroquinolones as the initial empirical treatment in CAP patients.

The predominant causative bacterial pathogen of CAP was *Haemophilus influenzae*, which was mainly detected in patients with COPD, who constituted a significant proportion of the study population. Among the 38 *Haemophilus influenzae* detected with sputum culture and PCR, 36 (94.7%) were detected in the sputum of COPD patients hospitalized due to CAP. *Haemophilus influenzae* was detected in 36 (64.3%) COPD patients. The prevalence of the other bacterial pathogens varied in comparison to the prevalence of those studied in previous epidemiological studies.

However, despite the use of all the above diagnostic techniques, the infectious causative factor remained unidentified in more than half of the patients. Some of the unidentified pneumonias are likely to be viral pneumonias, pneumonias caused by

microorganisms such as *Coxiella burnetti* and *Chlamydia psittaki*, which were not examined in this study, or pneumonias caused by atypical bacteria, which would have been identified by a four-fold increase in the titer of specific IgG antibodies.

It is noteworthy that PCR in sputum samples was superior compared with sputum culture in the detection of *Haemophilus influenzae* in COPD patients hospitalized with CAP. Where DNA of *Haemophilus influenzae* was detected by the PCR method in sputum samples, in the same sputum samples no *Haemophilus influenzae* was cultured. Additionally, serological methods were more effective in the detection of atypical pathogens compared with PCR. However, PCR may be used simultaneously with the serological methods as a rapid diagnostic technique for the detection of atypical pathogens.

The detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in urine did not add any additional information compared to the PCR results. However, the identification of *Streptococcus pneumoniae* antigen in urine confirmed that the *Streptococcus pneumoniae* was the true causative infectious agent. This method may be the most rapid method to detect *Streptococcus pneumoniae*.

In conclusion, when all the available microbiological methods are used, more accurate results can be obtained regarding the identification of the infectious causative pathogen in CAP patients. In this way the microorganisms detected are more likely to be the actual causative pathogens and to not be a part of normal oropharyngeal flora. The combination of all the available microbiological methods increases the proportion of patients in whom a causative pathogen is detected, and helps us to achieve an accurate conclusion regarding the prevalence of the bacterial pathogens causing CAP, as well as to initiate the appropriate antibacterial treatment.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Almirall J., Bolívar I., Vidal J., Sauca G., Coll P., Niklasson B., Bartolomé M., Balanzó X. 2000** Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *Eur Respir J* 15(4):757-63.
- Almirall J., Morató I., Riera F., Verdaguer A., Priu R., Coll P., Vidal J., Murgui L., Valls F., Catalan F., et al. 1993** Incidence of community-acquired pneumonia and Chlamydia pneumoniae infection: a prospective multicentre study. *Eur Respir J* 6(1): 14-8.
- American Thoracic Society 1993** Guidelines for the initial management of adults with community - acquired pneumonia: Diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy. *Am Rev Respir Dis* 148: 1418.
- American Thoracic Society 2001** Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1730-1754.
- American Thoracic Society 2001** Guidelines for the management adults with community-acquired pneumonia: diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention. *Am J Respir Crit Care Med* 163:1730–1754.
- American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. 2005** Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*, 171: 388 - 416.
- Apfalter P., Reischl U., Hammerschlag M. R. 2005** In-house nucleic acid amplification assays in research: how much quality control is needed before one can rely upon the results? *J Clin Microbiol*, 43:5835- 5841.
- ATS guidelines**
- Bals R., Hiemstra P. S. 2004** Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *Eur Respir J* 23(2): 327-33.
- Bartlett J. G., Mundy L. M. 1995** Community acquired pneumonia. *N Engl J Med* 333: 1618-24.
- Bartlett J. G., Dowell S. F., Mandell L. A, File Jr T. M., Musher D. M., Fine M. J. 2000** Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 31:347–382.
- Baudouin S. V. 2002** Critical care management of community-acquired pneumonia. *Thorax* 57: 267-71.

- Benin** A. L., Benson R. F., Besser R. E. **2002** Trends in Legionnaire's disease, 1980-1998: declining mortality and new patterns of diagnosis. *Clin Infect Dis* 35:1039-1046.
- Berri** M., Rekiki A., Boumedine K. S., Rodolakis A. **2009** Simultaneous differential detection of *Chlamydomphila abortus*, *Chlamydomphila pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR. *BMC Microbiol*, 9:130.
- Berry** V., Thornburn C. E., Knott S. J., Woodnutt G. **1998** Bacteriological efficacies of three macrolides compared with those of amoxicillin-clavulanate against *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 42:3193-9.
- Besman** I. R., Lyons H. A. **1959** Aspiration Pneumonia. *Chest* 35: 6-21.
- Blasi** F., Tarsia P., Aliberti S. **2009** *Chlamydomphila pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect* 15:29-35.
- Blasi** F. **2004** Atypical pathogens and respiratory tract infections. *Eur Respir J* 24:171-181.
- Blyth** C. C., Adams D. N., Chen S. C. **2009** Diagnostic and typing methods for investigating *Legionella* infection. *N S W Public Health Bull* 20:157-161.
- Bodmann** K. F. **2005** Current guidelines for the treatment of severe pneumonia and sepsis. *Chemotherapy* 51(5):227- 33.
- Bohte** R., Hermans J., van den Broek P. J. **1996** Early recognition of *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 15:201-5.
- Boman** J., Gaydos C. A., Quinn T. C. **1999** Molecular diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Journal of Clinical Microbiology* 37(12): 3791-3799.
- Boshuizen** H. C., Neppelenbroek S. E., van Vliet H., Schellekens J. F., den Boer J. W., Peeters M. F., Conyn-van Spaendonck M. A. **2001** Subclinical *Legionella* infection in workers near the source of a large outbreak of Legionnaire's disease. *J Infect Dis* 184:515-518.
- Bossi** P., Tegnell A., Baka A., Van Loock F., Hendriks J., Werner A., Maidhof H., Gouvras G.; Task Force on Biological and Chemical Agent Threats, Public Health Directorate, European Commission, Luxembourg. **2004** Bichat guidelines for the clinical management of Q fever and bioterrorism-related Q fever. *Euro Surveill* 9:E19-20.

- Breese C. H. 2001** Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Virus. *N Engl J Med*, 344:1917-28.
- British Thoracic Society and the Public Health Laboratory Service 1987** Community acquired pneumonia in adults in British Hospitals in 1982-3: A survey of aetiology, mortality, prognostic factors and outcome. *Q J Med* 239: 195.
- British Thoracic Society 1993** Guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults admitted to the hospital. *Br J Hosp Med* 49:346–350.
- BTS Guidelines** for the management of community acquired pneumonias in adults. *Thorax* 2001 56: iv1-iv64.
- Burnet F. M., Freeman M. 1937** Experimental studies on virus of "Q" fever. *Med J* 2: 299–305.
- Busse W. W. 1991** Pathogenesis and sequelae of respiratory infections. *Rev Infect Dis* 13 Suppl 6: S477-85.
- Camner P. 1980** Clearance of particles from the human tracheobronchial tree. *Clin Sci (Lond)* 59(2): 79-84.
- Carratalà J., Mykietiuk A., Fernández-Sabé N., Suárez C., Dorca J., Verdaguer R., Manresa F., Gudiol F. 2007** Health care-associated pneumonia requiring hospital admission: epidemiology, antibiotic therapy, and clinical outcomes. *Arch Intern Med* 167(13): 1393-9.
- Chanock R. M. 1963** Mycoplasma pneumoniae: proposed nomenclature for atypical pneumonia organism (Eaton Agent). *Science* 140: 662–663.
- Chatzidimitriou D., Exidari M., Gioula G., Papakonstantinou P., Melidou A., Gavriilaki E, Diza E.** Seroprevalence of *Chlamydia pneumoniae* in Northern Greece. *Eur J Inflam* (in press).
- Chatzidimitriou D. 2007** *Chlamydia pneumoniae*. *Acta Microbiologica Hellenica*. 52:27-41.
- Clements P., Permin H., Norn S. 2002** Chlamydia pneumoniae infection and its role in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Invest Allergol Clin Immunol* 12:73-9.
- Cunha B. A. 2006** The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance. *Clin Microbiol Infect* 12:12-24.
- Dans P. E., Charache P., Fahey M., Otter S. E. 1984** Management of pneumonia in the prospective payment era: a need for more clinician and support service interaction. *Arch Intern Med* 144:1392–7.

- Daxboeck F., Khanakah G., Bauer C., Stadler M., Hofmann H., Stanek G. 2005** Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in serum specimens from patients with mycoplasma pneumonia by PCR. *Int J Med. Microbiol*, 295:279-285.
- Den Boer J. W., Yzerman E. P. F. 2004** Diagnosis of Legionella infection in Legionnaire's disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23:871- 878.
- Dominguez J., Andreo F., Blanco S., Ruiz-Manzano J., Prat C., Latorre I., Galí N., Ravelo R., Matas L., Ausina V. 2006** Rapid detection of pneumococcal antigen in serum samples for diagnosing pneumococcal pneumonia. *J Infect* 53:21-24.
- Dorigo-Zetsma J. W., Wilbrink B., van der Nat H., Bartelds A. I., Heijnen M. L., Dankert J. 2001** Results of molecular detection of *Mycoplasma pneumoniae* among patients with acute respiratory infection and in their household contacts reveals children as human reservoirs. *J Infect Dis* 183:675-678.
- Dorigo-Zetsma J. W., Verkooyen R. P., Van Helden H. P., Van Der Nat H., Van Den Bosch J. M. 2001** Molecular detection of *Mycoplasma pneumoniae* in adults with Community-Acquired Pneumonia requiring hospitalization. *JCM* 39(3):1184–1186.
- Dowell S. F., Peeling R. W., Boman J., Carlone J. M., Fields B. S., Guarner J., Hammerschlag M. R., Jackson L. A., Kuo C. C., Maass M., Messmer T. O., Talkington D. F., Tondella M. L., Zaki S. R.; C. pneumoniae Workshop Participants. 2001** Standardizing Chlamydia pneumoniae Assays: Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). *Clin Infect Dis*, 33:792-803.
- Eaton M. D., Meikejohn G., Van Herick W. 1944** Studies on the etiology of primary atypical pneumonia: a filterable agent transmissible to cotton rats, hamsters, and chick embryos. *J Exp Med* 79:649- 667.
- Edelstein P. H, Cianciotto N. P. 2005** Legionella. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Elsevier, 2711-2724.
- Ekdahl K., Ahlinder I., Hansson H. B., Melander E., Mölstad S., Söderström M., Persson K. 1997** Duration of nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: experiences from the South Swedish Pneumococcal Intervention Project. *Clin Infect Dis* 25:1113–1117.
- Eller J., Ede A., Schaberg T., Niederman M. S., Mauch H., Lode H. 1998** Infective exacerbations of chronic bronchitis: relation between bacteriologic aetiology and lung function. *Chest* 113: 1542–1548.

- Eng R. H., Corrado M. L., Cleri D., Sierra M.F. 1980** Non-type b Haemophilus influenzae infections in adults with reference to biotype. *J Clin Microbiol* 11(6): 669-71.
- European study of community-acquired pneumonia committee. 1998** Guidelines for the management of adult community-acquired lower respiratory tract infections. *Eur Respir J* 11: 986-91.
- Ewig S., Ruiz M., Mensa J., Marcos M. A., Martinez J. A., Arancibia F., Niederman M. S., Torres A. 1998** Severe community-acquired pneumonia. Assessment of severity criteria. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 1102-1108.
- Ewig S., Torres A. 1999** Severe community-acquired pneumonia. *Clin in Chest Med* 20: 575-87.
- Faden H., Duffy L., Wasielewski R., Wolf J., Krystofik D., Tung Y. 1997** Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *J Infect Dis* 175:1440–1445.
- Feikin D. R., Moroney J. F., Talkington D. F., Thacker W. L., Code J. E., Schwartz L. A., Erdman D. D., Butler J. C., Cetron M. S. 1999** An outbreak of acute respiratory disease caused by Mycoplasma pneumoniae and adenovirus at a federal service training academy: new implications from an old scenario. *Clin Infect Dis* 29:1545-1550.
- Fields B. S., Benson R. F., Besser R. E. 2002** Legionella and Legionnaire's disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 15:506- 526.
- Fine M. J., Orloff J. J., Rihs J. D, Vickers R. M., Kominos S., Kapoor W. N., Arena V. C., Yu V. L. 1991** Evaluation of housestaff physicians preparation and interpretation of sputum gram stains for community-acquired pneumonia. *J Gen Intern Med* 6:189–198.
- Fouchier A. M. R., Rimmelzwaan F. G., Kuiken T., Osterhaus D. M. E. A. 2005** Newer respiratory virus infections: human metapneumovirus, avian influenza virus, and human corona viruses. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 18(2):141-146.
- Fournier P. E., Marrie T. J., Raoult D. 1998** Diagnosis of Q fever. *J Clin Microbiol*, 36:1823-1834.
- Frangides C. Y., Pneumatikos I. 2004** Varicella-zoster virus pneumonia in adults: report of 14 cases and review of the literature. *Eur J Intern Med*, 15(6):364-370.
- Franquet T. 2001** Imaging of pneumonia: trends and algorithms. *European Respiratory Journal*, 18:196-208.

- Fraser D. W., Tsai T. R., Orenstein W., Parkin W. E., Beecham H. J., Sharrar R. G., Harris J., Mallison G. F., Martin S. M., McDade J. E., Shepard C. C., Brachman P. S. 1977** Legionnaires' disease: Description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 297:1189-1197.
- Frevert C. W., Huang S., Danaee H., Paulauskis J. D., Kobzik L. 1995** Functional characterization of the rat chemokine KC and its importance in neutrophil recruitment in a rat model of pulmonary inflammation. *J Immunol* 154(1): 335-44.
- Friedlander C. 1882** Ueber die Schizomyceten bei der acuten fibrosen Pneumonie. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klinische Medizin (Berlin)* 87: 319-324.
- Friedlander C. 1883** Die Mikrokokken der Pneumonie. *Fortschr Med* 1: 715-733.
- Froes F. 2003** [Pneumonia in the adult population in continental Portugal -- incidence and mortality in hospitalized patients from 1998 to 2000]. *Rev Port Pneumol* 9(3): 187-94.
- Fry A. M., Shay D. K., Holman R. C., Curns A. T., Anderson L. J. 2005** Trends in Hospitalizations for Pneumonia Among Persons Aged 65 Years or Older in the United States, 1988-2002. *JAMA* 294(21): 2712-2719.
- Fukushi H., Hirai K. 1992** Proposal of Chlamydia pecorum sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants. *Int J Syst Bacteriol* 42:306-8.
- Fuxench-Lopez Z., Ramirez-Ronda C. H. 1978** Pharyngeal flora in ambulatory alcoholic patients: prevalence of gram-negative bacilli. *Arch Intern Med* 138: 1815-6.
- García-Vázquez E., Marcos M. A., Mensa J., de Roux A., Puig J., Font C., Francisco G., Torres A. 2004** Assessment of the Usefulness of Sputum Culture for Diagnosis of Community-Acquired Pneumonia Using the PORT Predictive Scoring System. *Arch Intern Med* 164(13).
- Genne D., Siegrist H. H., Lienhard R. 2006** Enhancing the etiologic diagnosis of community-acquired pneumonia in adults using the urinary antigen assay (Binax NOW). *Int J Infect Dis* 10:124-128.
- Ghaffar F., Friedland I. R., McCracken G. H. Jr. 1999** Dynamics of nasopharyngeal colonization by Streptococcus pneumoniae. *Pediatr Infect Dis* 18: 638-646.
- Gleckman R., DeVita J., Hibert D., Pelleiter C., Martin R. 1988** Sputum Gram stain assessment in community-acquired bacteremic pneumonia. *J Clin Microbiol* 26:846-9.

- Gnarpe J.**, Lundback A., Sundelof B., Gnarpe H. **1992** Prevalence of *Mycoplasma pneumoniae* in subjectively healthy individuals. *Scand J Infect Dis* 24:161-164.
- Gram C.** **1884** Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschr Med* 2(6): 185-189.
- Grayston J. T.**, Kuo C. C., Campbell L. A., Wang S. P. **1989** *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. strain TWAR. *Int J Syst Bacteriol* 39: 88-90.
- Grayston J. T.**, Kuo C. C., Wang S. P., Altman J. **1986** A new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. *N Engl J Med* 315:161–168.
- Greenberg B. S.** **2002** Respiratory viral infections in adults; Current Opinion in *Pulmonary Medicine*, 8(3):201- 208.
- Hahn D. L.** **1999** *Chlamydia pneumoniae*, asthma, and COPD: what is the evidence? *Ann. Allergy Asthma Immunol* 83: 271–292.
- Hanley E. M.**, Welsh H. C. **2003** Current Diagnosis & Treatment in Pulmonary Medicine., Lange Medical Books/ McGraw-Hill.
- Hartzell J. D.**, Wood-Morris R. N., Martinez L. J., Trotta R. F. **2008** Q fever: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc*, 83:574-579.
- Heffron R.** Pneumonia: with special reference to pneumococcus lobar pneumonia. Cambridge MA, USA, Harvard University Press, 1939.
- Hendley J. O.**, Sande M. A., Stewart P. M., Gwaltney J. M. Jr. **1975** Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. I. Carriage rates and distribution of types. *J Infect Dis* 132:55–61.
- Henrichsen J.** **1995** Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 33(10): 2759-62.
- Henriques B.**, Kalin M., Ortqvist A., Olsson Liljequist B., Almela M., Marrie T. J., Mufson M. A., Torres A., Woodhead M. A., Svenson S. B., Källenius G. **2000** Molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in 5 countries. *J Infect Dis* 182(3): 833-9.
- Hippenstiel S.**, Opitz B., Schmeck B., Suttorp N. **2006** Lung epithelium as a sentinel and effector system in pneumonia – molecular mechanisms of pathogen recognition and signal transduction. *Respir Res* 7(1): 97.
- Hogan R. J.**, Mathews S. A., Mukhopadhyay S., Summersgill J. T., Timms P. **2004** Chlamydial Persistence: beyond the Biphasic Paradigm. *Infect Immun* 72:1843-1855.

Infectious Diseases Society of America

- Jackson M. L.**, Neuzil K. M., Thompson W. W., Shay D. K., Yu O., Hanson C. A., Jackson L. A. **2004** The burden of community-acquired pneumonia in seniors: results of a population-based study. *Clin Infect Dis* 39(11): 1651-3.
- Jacobs J. A.**, Stobberingh E. E., Cornelissen E. I., Drent M. **2005** Detection of Streptococcus pneumoniae antigen in bronchoalveolar lavage fluid samples by a rapid immunochromatographic membrane assay. *J Clin Microbiol* 43:4037-4040.
- Janssens J. P.** **2005** Pneumonia in the elderly (geriatric) population. *Curr Opin Pulm Med* 11(3):226-30.
- Johanson W. G.**, Pierce A. K., Sanford J. P. **1969** Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of gram-negative bacilli. *N Engl J Med* 281: 1137-40.
- Johnston S. L.**, Blasi F., Black P. N., Martin R. J., Farrell D. J., Nieman R. B., **2006** TELICAST Investigators. The effect of telithromycin in acutexacerbations of asthma. *N Engl J Med* 35:1589-1600.
- Jokinen C.**, Heiskanen L., Juvonen H., Kallinen S., Karkola K., Korppi M., Kurki S., Rönberg P.-R., Seppä A., Soimakallio S., Stén M., Tanska S., Tarkiainen A., Tukiainen H., Pyörälä K., Mäkelä P. H. **1993** Incidence of community acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 137: 977-988.
- Kalin M.** **1998** The clinical significance of pneumococcal serotypes. *Thorax* 53: 159-62.
- Kaplan V.**, Angus D. C., Griffin M. F., Clermont G., Watson R. S., Linde-Zwirble W. T. **2002** Hospitalized Community-acquired Pneumonia in the Elderly. *Am J Respir Crit Care Med* 165(6): 766-772.
- Kazmierowski J. A.** **1977** Pulmonary host defense: coordinated interaction of mechanical, cellular and humoral immune systems of the lung. *Bull Eur Physiopathol Respir* 13(1): 103-16.
- Kenneth T.** **2008** Haemophilus influenzae. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Ketterer M. R.**, Shao J. Q., Hornick D. B., Buscher B., Bandi V. K., Apicella M. A. **1999** Infection of primary human bronchial epithelial cells by Haemophilus influenzae: macropinocytosis as a mechanism of airway epithelial cell entry. *Infect. Immun* 67:4161-4170.

- Kim A. E., Lee K. S., Primack L. S., Yoon H. K., Byun H. S., Kim T. S., Suh G. Y., Kwon O. J., Han J. 2002** Viral pneumonias in adults: radiologic and pathologic findings. *Radiographics*, 22:S137-S149.
- Klebs E.** Beitrage zur Kenntniss der pathogenen Schistomyceten. **1875** *Arch Exptl Pathol Pharmacol* 4: 409-488.
- Klugman K. P., Madhi S. A., Albrich W. C. 2008** Novel approaches to the identification of *Streptococcus pneumoniae* as the cause of Community-Acquired Pneumonia. *Clin Infect Dis* 47:S202–6.
- Kollef M. H., Shorr A., Tabak Y. P., Gupta V., Liu L. Z., Johannes R. S. 2005** Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: results from a large US database of culture-positive pneumonia. *Chest* 28(6):3854-62.
- Kuhnert P., Christensen H. 2008** Pasteurellaceae: Biology, Genomics and Molecular Aspects. Caister Academic Press.
- Kumar S., Hammerschlag M. R. 2007** Acute respiratory infection due to *Chlamydia pneumoniae*: current status of diagnostic methods. *Clin Infect Dis* 44:568-576.
- Laennec R. T. H.** A treatise on diseases of the chest and mediate auscultation. New York, Samuel Wood & Sons, **1830**.
- Lawrence M., Tierney Jr., Stephen J., McPhee M., Papadakis A.** Current Medical Diagnosis & Treatment **2005**, Lange Medical Books/McGraw-Hill.
- Lentino J. R., Lucks D. A. 1987** Nonvalue of sputum culture in the management of lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 25: 758–762.
- Liang J. L., Dziuban E. J., Craun G. F., Hill V., Moore M. R., Gelting R. J. 2006** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking--United States, 2003-2004. *MMWR Surveill Summ* 55:31-65.
- Lieberman D., Lieberman D., Porath A. 1996** Seasonal variation in community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 9(12): 2630-2634.
- Littman A. J., Jackson L. A., Vaughan T. L. 2005** *Chlamydia pneumoniae* and Lung Cancer: Epidemiologic Evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:773-778.
- Lopez B., Cima M. D., Vázquez F., Fenoll A., Gutiérrez J., Fidalgo C., Caicoya M., Méndez F. J. 1999** Epidemiological study of *Streptococcus pneumoniae* carriers in healthy primary-school children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18:771–776.
- Maass M., Essig A., Marre R., Henkel W. 1993** Growth in serum-free medium improves isolation of *Chlamydia pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 31:3050-3052.

- Maiwald M., Helbig J. H., Luck P. C. 1998** Laboratory methods for the diagnosis of Legionella infections. *J Microbiol Methods* 33:59-79.
- Mandell L. A., Marrie T. J, Grossman R. F., Chow A. W., Hyland R. H. 2000** Canadian guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence-based update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 31:385–421.
- Marcos M.A., Jiménez de Anta M. T., de la Bellacasa J. P., González J., Martínez E., García E., Mensa J., de Roux A., Torres A. 2003** Rapid urinary antigen test for diagnosis of pneumococcal community-acquired pneumonia in adults. *Eur Respir J* 21: 209–214.
- Markowitz J. S., Pashko S., Gutterman E. M., Linde-Zwirble W. T., Newbold R. 3rd. 1996** Death rates among patients hospitalized with community-acquired pneumonia: a reexamination with data from three states. *Am J Public Health* 86(8): 1152-4.
- Marston B. J., Plouffe J. F., File T. M. Jr, Hackman B. A., Salstrom S. J., Lipman H. B., Kolczak M. S., Breiman R. F. 1997** Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance Study in Ohio. The Community-Based Pneumonia Incidence Study Group. *Arch Intern Med* 157(15): 1709-18.
- Mason C. M., Nelson S. 1992** Normal host defenses and impairments associated with the delayed resolution of pneumonia. *Semin Respir Infect* 7(4): 243-55.
- McDade J. E., Shepard C. C., Fraser D. W., Tsai T. R., Redus M. A., Dowdle W. R. 1977** Legionnaires' disease: Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med* 297:1197-1203.
- McDade J. E., Shepard C. C., Fraser D. W., Tsai T. R., Redus M. A., Dowdle W. R. 1977** Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med* 297: 1197–1203.
- McIntosh K. 2002** Community-Acquired Pneumonia in Children. *N Engl J Med* 346(6): 429-37.
- Medzhitov R., Janeway C. Jr. 2000** Innate immunity. *N Engl J Med* 343(5):338-44.
- Menéndez R., Córdoba J., de la Cuadra P., Cremades M. J., López-Hontagas J. L., Salavert M., Gobernado M. 1999** Value of the Polymerase Chain Reaction Assay in Noninvasive Respiratory Samples for Diagnosis of Community-acquired Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 159:1868–1873.

- Michelow I. C., Olsen K., Lozano J., Rollins N. K., Duffy L. B., Ziegler T., Kauppila J., Leinonen M., McCracken G. H. Jr. 2004** Epidemiology and clinical characteristics of community acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* 113: 701-707.
- Mills G. D., Oehley M. R., Arrol B. 2005** Effectiveness of beta lactam antibiotics compared with antibiotics active against atypical pathogens in non-severe community acquired pneumonia:meta-analysis. *BMJ* 330(7489):456.
- Miravittles M., Espinosa C., Fernandez-Laso E., Martos J. A., Maldonado J. A., Gallego M. 1999** Relationship between bacterial flora in sputum and functional impairment in patients with acute exacerbations of COPD. *Chest* 116: 40–46.
- Miyashita N., Obase Y., Fukuda M., Shoji H., Mouri K., Yagi S., Yoshida K., Ouchi K., Oka M. 2006** Evaluation of serological tests detecting Chlamydomphila pneumoniae-specific immunoglobulin M antibody. *Intern Med* 45:1127-1131.
- Miyashita N., Ouchi K., Kishi F., Tabuchi M., Tsumura N., Bannai H., Iwata S., Tanaka T., Oka M. 2008** Rapid and simple diagnosis of Chlamydomphila pneumoniae pneumonia by an immunochromatographic test for detection of immunoglobulin M antibodies. *Clin Vaccine Immunol* 15:1128-1131.
- Mohsen A. H., Peck R. J., Mason Z., Mattock L., McKendrick M. W. 2001** Lung function tests and risk factors for pneumonia in adults with chickenpox. *Thorax*, 56:796-799.
- Moller L. V., Timens W., van der Bij W., Kooi K., de Wever B., Dankert J., van Alphen L. 1998** Haemophilus influenzae in lung explants of patients with end-stage pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 157:950–956.
- Moulder J. W. 1966** The relation of the psittacosis group (chlamydiae) to bacteria and viruses. *Ann Rev Microbiol* 20:107-130.
- Muder R. R., Yu V. L. 2001** Legionella. In: Niederman MS, Sarosi GA, Glassroth J. Eds. Respiratory Infections. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 413-423.
- Murdoch D. R., Laing R. T., Mills G. D., Karalus N. C., Town G. I., Mirrett S., Reller L. B. 2001** Evaluation of a rapid Immunochromatographic Test for detection of Streptococcus pneumoniae antigen in urine samples from adults with Community-Acquired Pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (10): 3495–3498.

- Murphy** T. F., Brauer A. L., Schiffmacher A. T., Sethi S. **2004** Persistent colonization by *Haemophilus influenzae* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J Respir. Crit. Care Med.* 170 (3) 266-72.
- Murray** P. R., Kobayashi G. S., Pfaller M. A., Tenover J. C., Tenover F. C. **1994** Chlamydiae. eds. Medical Microbiology, 2nd ed. Mosby, 371- 380.
- Musher**, D. M. 2000 *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell G. L., Bennett J. E., Dolin R. (ed.), Principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa. p. 2128.
- Nelson** text book of paediatrics
- Niederman** M. S., McCombs J. S., Unger A. N., Kumar A., Popovian R. **1998** The cost of treating community-acquired pneumonia. *Clin Ther* 20: 820-37.
- Niederman** M. S., Peters S. P. **1998** Update in pulmonary medicine. *Ann Intern Med* 128: 208-15.
- Nisar** N., Guleria R., Kumar S., Chand Chawla T., Ranjan Biswas N. **2007** *Mycoplasma pneumoniae* and its role in asthma. *Postgrad Med J* 83:100-104.
- Nocard** E., Roux E. R. **1898** Le microbe de la peripneumonie. *Ann Inst Pasteur* 12:240-262.
- Ochoa-Gondar** O., Vila-Córcoles A., de Diego C., Arija V., Maxenchs M., Grive M., Martin E., Pinyol J. L.; EVAN-65 Study Group. **2008** The burden of community-acquired pneumonia in the elderly: the Spanish EVAN-65 Study. *BMC Public Health* 8: 222, 1471-2458.
- Ortqvist** A. **1994** Initial investigation and treatment of the patient with severe community-acquired pneumonia. *Sem Respir Infect* 9: 966-82.
- Page** L. A. **1966** Revision of the family Chlamydiaceae Rake (Rickettsiales): unification of the psittacosis-lymphogranuloma venereum-trachoma group of organisms in the genus Chlamydia. Jones, Rake and Stearns, 1945. *Int J Syst Bacteriol* 16:223-252.
- Page** L. A. **1968** Proposal for the recognition of two species in the genus Chlamydia. Jones, Rake, and Stearns, 1945. *Int J Syst Bacteriol* 18:51-66.
- Parsons** P., Heffner J. Pulmonary Respiratory Therapy Secrets; 2nd edition, **2002**; Hanley & Belfus inc. Medical editions.
- Pasteur** L. **1881** Note sur la maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. *Bull Acad Med (Paris)* 10: 94–103.

- Pittman M. 1931** Variation and type specificity in the bacterial species *Hemophilus Influenzae*. *J Exp Med* 53(4): 471-92.
- Reichler, M. R., Allphin A. A., Breiman R. F., Schreiber J. R., Arnold J. E., McDougal L. K., Facklam R. R., Boxerbaum B., May D., Walton R. O., et al. 1992** The spread of multiply resistant *Streptococcus pneumoniae* at a day care center in Ohio. *J Infect Dis* 166:1346–1353.
- Reimann H. A. 1938** An acute infection of the respiratory tract with atypical pneumonia. *JAMA* 111:2377-2384.
- Rein M. F., Gwaltney J. M., O'Brien W. M., Jennings R. H., Mandell G. L. 1978** Accuracy of Gram's stain in identifying pneumococci in sputum. *JAMA* 239:2671–3.
- Reiner S. L., Seder R. A. 1995** T helper cell differentiation in immune response. *Curr Opin Immunol* 7(3): 360-6.
- Rennard S. I., Romberger D. J. 2000** Host defenses and pathogenesis. *Semin Respir Infect* 15(1): 7-13.
- Richard A., Stephen S., James J. 1999** Comprehensive Respiratory Medicine, Mosby.
- Ricketts K. D., Yadav R., Joseph C. A.; European Working Group for Legionella Infections. Travel-associated Legionnaires disease in Europe: 2006 Euro Surveill 2008; 13: 18930.**
- Ritter J. 1880** Beitrag zur frage des pneumotyphus (eine hausepidemie in Uster (Schweiz) betreffend). *Dtsch Arch Klin Med (Munich)* 25: 53–96.
- Roso'n B., Carratala J., R. Verdaguer, J. Dorca, F. Manresa, F. Gudiol 2000** Prospective study of the usefulness of sputum Gram stain in the initial approach to Community-Acquired Pneumonia requiring hospitalization. *Clinical Infectious Diseases* 31:869–74.
- Ruiz M., Ewig S., Torres A., Arancibia F., Marco F., Mensa J., Sanchez M., Martinez J. A. 1999** Severe community-acquired pneumonia: risk factors and follow up epidemiology. *Am J Respir Crit Care Med* 160:923–9.
- Samra Z., Shmueli H., Nahum E., Paghis D., Ben-Ari J. 2003** Use of the NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of pneumococcal meningitis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 45:237-240.
- San Pedro G. S., Campbell G. D. Jr. 1997** Limitations of diagnostic testing in the initial management of patients with community-acquired pneumonia. *Semin Respir Infect* 12:300-307.

- Schachter J.**, Stephens R. S., Timms P., Kuo C., Bavoil P. M., Birkelund S., Boman J., Caldwell H., Campbell L. A., Chernesky M., Christiansen G., Clarke I. N., Gaydos C., Grayston J. T., Hackstadt T., Hsia R., Kaltenboeck B., Leinonen M., Ojcius D., McClarty G., Orfila J., Peeling R., Puolakkainen M., Quinn T. C., Rank R. G., Raulston J., Ridgeway G. L., Saikku P., Stamm W. E., Taylor-Robinson D. T., Wang S. P., Wyrick P.B. **2001** Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet. *Int J Syst Evol Microbiol* 51: 249, 251-53.
- Schmid R. E.**, Anhalt J. P., Wold A. D., Keys T. F., Washington J .A. II. **1979** Sputum counterimmunoelectrophoresis in the diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 119:345–8.
- Sethi S.**, Evans N., Grant B. J., Murphy T. F. **2002** New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Eng J Med* 347:465-471.
- Sethi S.** **2000** Bacterial Infection and the Pathogenesis of COPD. *Chest* 117;286S-291S.
- Sethi S.**, Murphy T. F. **2001** Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease in 2000: a State-of-the-Art Review. *Clinical Microbiology Reviews* 14(2):336–363.
- Shaw A. B.**, Fry J. **1955** Acute infections of the chest in general practice. *Br Med J* ii: 1577-1586.
- Sluifjter M.**, Faden H., de Groot R., Lemmens N., Goessens W. H., van Belkum A., Hermans P. W. **1998** Molecular characterization of pneumococcal nasopharynx isolates collected from children during their first 2 years of life. *J Clin Microbiol* 36:2248–2253.
- Smith K. A.**, Bradley K. K., Stobierski M. G., Tengelsen L. A. **2005** National Association of State Public Health Veterinarians Psittacosis Compendium Committee. Compendium of measures to control Chlamydophila psittaci (formerly Chlamydia psittaci) infection among humans (psittacosis) and pet birds. *J Am Vet Med Assoc*, 15: 532-539.
- Smith R. P.**, Lipworth B. J. **1995** C-reactive protein in simple community acquired pneumonia. *Chest*; 107: 1028-1031.
- Smith W.**, Andrewes C. H., Laidlaw P. P. **1933** A virus obtained from influenza patients. *Lancet* ii: 66–68.
- Soler N.**, Torres A., Ewig S., Gonzalez J., Celis R., El-Ebiary M., Hernandez C., Rodriguez-Roisin R. **1998** Bronchial microbial patterns in severe exacerbations of

- chronic obstructive pulmonary disease (COPD) requiring mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 157:1498-1505.
- Souliou E., Almasri M., Papa A., Theodoridou A., Diza E. 2007** Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 26:513-515.
- St. Geme J. W. 3rd., Falkow S. 1990** *Haemophilus influenzae* adheres to and enters cultured human epithelial cells. *Infect Immun* 58:4036–4044.
- Standiford T. J., Kunkel S. L., Strieter R. M. 1997** Role of chemokines in antibacterial host defense. *Methods Enzymol* 288: 220-41.
- Sternberg G. M. 1881** A fatal form of septicaemia in the rabbit, produced by subcutaneous injection of human saliva. An experimental research. *Nat Board Health Bull* 2: 781.
- Strålin K., Toˆrnqvist E., Kaltoft M. S., Olceˆn P., Holmberg H. 2006** Etiologic Diagnosis of Adult Bacterial Pneumonia by Culture and PCR Applied to Respiratory Tract Samples. *J Clin Microb* 44(2):643–645.
- Strieter R. M., Belperio J. A., Keane M. P. 2002** Cytokines in innate host defense in the lung. *J Clin Invest* 109(6): 699-705.
- Taylor-Robinson D. 2002** *Mycoplasmas*. In: Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF eds. *Medical Microbiology*, 16th ed. Churchill Livingstone, 379-389.
- Thacker W. L., Talkington D. F. 2000** Analysis of complement fixation and commercial enzyme immunoassays for detection of antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* in human serum. *Clin Diagn Lab Immunol*, 7:778-780.
- The Centers for Disease Control and Prevention. 1999** "Drug-Resistant *Streptococcus Pneumoniae* (DRSP) Disease.
- Thibodeau K. P., Viera A. J. 2004** Atypical Pathogens and Challenges in Community-Acquired Pneumonia. *Am Fam Physician* 69:1699-1706.
- Thomsen R. W., Riis A., Nˆrsgaard M., Jacobsen J., Christensen S., McDonald C. J., Sˆrensen H. T. 2006** Rising incidence and persistently high mortality of hospitalized pneumonia: a 10-year population-based study in Denmark. *J Intern Med* 259(4): 410-
- Tronel H., Hartemann P. 2009** Overview of diagnostic and detection methods for legionellosis and *Legionella* spp. *Lett Appl Microbiol* 48:653-656.
- Trotter C. L., Stuart J. M., George R., Miller E. 2008** Increasing hospital admissions for pneumonia, England. *Emerg Infect Dis* 14(5): 727-33.

- Trottier S. 1989** Turnover of Nontypable Haemophilus influenza in the Nasopharynxes of Healthy Children. *J Clin Microbiol* 27(10): 2175-2179.
- Tsai W. C., Strieter R. M., Wilkowski J. M., Bucknell K. A., Burdick M. D., Lira S. A., Standiford T.J. 1998** Lung-specific transgenic expression of KC enhances resistance to Klebsiella pneumoniae in mice. *J Immunol* 161(5): 2435-40.
- Tuomanen E. I., Austrian R., Masure. H. R. 1995** Pathogenesis of Pneumococcal Infection. *N Eng J Med* 332(19): 1280-4.
- Turk D. C., May J. R. 1967** Haemophilus influenzae: its clinical importance. p. 13-23, 27-38.
- Tuuminen T. Varjo S., Ingman H., Weber T., Oksi J., Viljanen M. 2000** Prevalence of Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae immunoglobulin G and A antibodies in a healthy Finnish population as analyzed by quantitative enzyme immunoassays. *Immunology* 7(5):734–738.
- Twigg H. L. 2004** Pulmonary host defenses. *3rd Semin Respir Crit Care Med* Feb 25.
- Van Schilfgaarde M., van Alphen L., Eijk P., Everts V., Dankert J. 1995** Paracytosis of Haemophilus influenzae through cell layers of NCIH292 lung epithelial cells. *Infect. Immun.* 63:4729–4737.
- Van Schilfgaarde M., Eijk P., Regelink A., van Ulsen P., Everts V., Dankert J., van Alphen L. 1999** Haemophilus influenzae localized in epithelial cell layers is shielded from antibiotics and antibody-mediated bactericidal activity. *Microb Pathog* 26:249–262.
- Viegi G., Pistelli R., Cazzola M., Falcone F., Cerveri I., Rossi A., Ugo Di Maria G. 2006** Epidemiological survey on incidence and treatment of community acquired pneumonia in Italy. *Respir Med* 100(1): 46-55.
- Villard J., Dayer-Pastore F., Hamacher J., Aubert J. D., Schlegel-Haueter S., Nicod L. P. 1995** GRO alpha and interleukin-8 in Pneumocystis carinii or bacterial pneumonia and adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 1549-1554.
- von Hertzen L., Isoaho R., Leinonen M., Koskinen R., Laippala P., Töyrylä M., Kivelä S. L., Saikku P. 1996** Chlamydia pneumoniae antibodies in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Epidemiol* 25: 658–664.
- Waites K. B., Talkington D. F. 2004** Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 17(4):697-728.

- Wallace R. J., Musher D. M., Martin R. R. 1978** Haemophilus influenzae pneumonia in adults. *Am J Med* 64:87–93.
- Ward M. E. 2002** Chlamydia. In: Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF eds. *Medical Microbiology*, 16th ed. Churchill Livingstone 358-367.
- Watanakunakorn C., Bailey T. A. 1997** Adult bacteremic pneumococcal pneumonia in a community teaching hospital. A detailed analysis of 108 cases. *Arch Intern Med* 157:1965–71.
- Weichselbaum A. 1886** Ueber die Aetiologie der Acuten Lungen und Rippenfellentzündungen. *Mede Jahrb* 1: 484–554.
- WHO**
- Willis T.** Of a peripneumony, or inflammation of the lungs In: Dring T., Harper C., Leigh J., editors. *Dr Willis's practice of phyfick*. London, **1684** 57–70.
- Wilson R. 2001** Bacteria, antibiotics and COPD. *Eur. Respir. J* 17: 995–1007.
- Woodhead M. 2002** Community-acquired pneumonia in Europe: causative pathogens and resistance patterns. *Eur Respir J* 20:20S-27S.
- Woodhead M. A., D. M. 1988** Thesis. Studies on pneumonia in the community and in hospital in Nottingham, University of Nottingham.
- Woodhead M. A., Gialdrone-Grassi G., Huchon G., Léophonte P., Manresa F., Schaberg T. 1996** Use of investigations of lower respiratory tract infection in the community: a European survey. *Eur Respir J* 9: 1596-1600.
- Yang S., Lin S., Khalil A., Gaydos C., Nuemberger E., Juan G., Hardick J., Bartlett J. G., Auwaerter P. G., Rothman R. E. 2005** Quantitative PCR assay using sputum samples for rapid diagnosis of pneumococcal pneumonia in adult emergency department patients. *JCM* 43(7): 3221–3226.
- Yoshizawa H., Dairiki K., Yamazaki T. 1992** Comparison of sensitivity of Hep-2 cells with that of HL cells against Chlamydia pneumonia. *Kansenshogaku Zasshi*; 66:1037-1041.
- Zeller V., Bricaire F. 2003** Influenza pneumonia. *Rev Prat*, 53(13):1442-5.
- Zhang X. P., Deng K. E., Ye Y. Q., Luo W. T. 1988** Rapid detection of pneumococcal antigens in sputa in patients with community-acquired pneumonia by coagglutination. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 177:333-338.
- Βρετανική Θωρακική Εταιρεία**
- Δαμιανός Α., Μάρκου Ν. 2003** Η βαρεία πνευμονία της κοινότητας. Πνεύμων Τεύχος 2.

- Επίτομη Επιδημιολογία**, Οι Μηχανισμοί άμυνας του αναπνευστικού συστήματος
Κεφ. 6.
- Επίτομη Πνευμονιολογία**, Οι Οξείες Λοιμώξεις του αναπνευστικού.
- Κοντοπυργίας Γ.**, Χείλας Γ. Πνευμονία της κοινότητας
- Μανίκα Κ.**, Γαβριηλάκη Ε., Χατζηδημητρίου Δ., Κουμής Ι., Μαλισιόβας Ν. **2010** Ο ρόλος των «άτυπων» παθογόνων μικροοργανισμών στην πνευμονία της κοινότητας. Άτυπα παθογόνα και λοιμώξεις του αναπνευστικού. 55 (1).
- Ξυνός Κ.**, Πνευμονία Κοινότητας (CAP) και νεότερες μακρολύδες. Κατευθυντήριες οδηγίες
- Παπαπαναγιώτου Ι. Κ.**, Κυριαζοπούλου Δαλαΐνα 2004 Μυκοπλάσματα, L-μορφές στο Β εκδ. Ιατρική Μικροβιολογία και Ιολογία 2^η εκδ. University Studio Press Θεσσαλονίκη, 177-182.
- Πατάκας Δ. Α.** Επίτομη Πνευμονολογία, Δεύτερη έκδοση, **2006** University Studio Press, IDSA.
- Τόσκας Α.** Αντιμετώπιση των λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος στην Ελλάδα. Β' μέρος. *Επιστημονικά Θέματα*.
- Τσουκαλάς Γ.**, Κόστιφας Κ., Φιλαδιτάκη Β., Τάτσης Γ. **2005** Ιογενείς πνευμονίες *Nosokomiaka Chronika*, 67: 39-53.

